



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO MONOGRAFICO DE LA DETERMINACION DE
INORGANICOS EN ALGUNOS ALIMENTOS POR
METODOS COLORIMETRICOS

MONOGRAFIA

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO QUIMICO
P R E S E N T A

FERNANDO EUSEBIO BADILLO CHAVEZ

MEXICO, D. F.

1977



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.

CLAS Tesis 1977

ABO M-70

FECHA _____

PROG _____



ADMINIO

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE
SEGUN EL TEMA

PRESIDENTE, Prof. OTHON CANALES VALVERDE
VOCAL, Prof. CARLOS ROMO MEDRANO
SECRETARIO, Prof. JORGE A. CAMPOS ROBLES
1er. SUPLENTE, Prof. ROBERTO CONTRERAS REYES
2do. SUPLENTE, Prof. INES FUENTES NORIEGA

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: FACULTAD DE QUIMICA

SUSTENTANTE: FERNANDO EUSEBIO BADILLO CHAVEZ _____

ASESOR DEL TEMA: Q. CARLOS ROMO MEDRANO _____

A MIS PADRES:

CASTULO BADILLO NIETO
NATALIA CHAVEZ DE BADILLO

CON TODO CARINO POR LA GUIA Y APOYO QUE ME
BRINDARON HASTA ESTA META DE MI VIDA

A MIS HERMANOS

A MI TIO JESUS BADILLO N CON ESPECIAL
GRATITUD Y CARINO

A MI ESCUELA

A MIS GRANDES AMIGOS

AGRADESCO A MI MAESTRO
CARLOS ROMO MEDRANO

LA GUIA Y COOPERACION PARA PODER
LLEVAR A CABO ESTE TRABAJO

F.E.B.CH.

INDICE GENERAL

| | | Página |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| CAPITULO I | INTRODUCCION | 16 |
| CAPITULO II | GENERALIDADES | 17 |
| 2.1 | Ley de Beer | 18 |
| 2.2 | Componentes de los instrumentos para las mediciones | 20 |
| 2.2.1 | Fuentes de energía radiante | 21 |
| 2.2.2 | Selector de longitud de onda | 22 |
| 2.2.3 | Recipientes para muestras | 28 |
| 2.2.4 | Instrumentos de detección y de -- lectura | 30 |
| 2.3 | Aparatos | 37 |
| 2.3.1 | Instrumentos de un solo haz | 37 |
| 2.3.2 | Instrumentos de doble haz | 39 |
| CAPITULO III | PRODUCTOS LACTEOS | |
| 3.1 | Determinación de arsénico por el método- azul de molibdeno | 42 |
| 3.1.1 | Método recomendado | 43 |
| 3.1.2 | Procedimiento | 48 |
| 3.1.3 | Purificación de los reactivos | 66 |
| 3.1.4 | Resultados | 68 |
| 3.2 | Determinación de calcio | 70 |
| 3.2.1 | Experimental | 71 |
| 3.2.2 | Resultados y discusión | 74 |
| 3.3 | Determinación de cobre por el método de- dihidrazona del bis(6-metil-2-piridil) - glioxal | 78 |
| 3.3.1 | Experimental | 79 |
| 3.3.2 | Resultados y discusión | 81 |
| 3.4 | Determinación de cobre por el método de- dietilditiocarbamato de dietilamonio | 86 |
| 3.4.1 | Método | 87 |
| 3.4.2 | Procedimiento | 92 |
| 3.4.3 | Experimental y resultados | 96 |

| | | |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.5 | Determinación del cobre por el método de neocuproína | 101 |
| 3.5.1 | Experimental | 102 |
| 3.5.2 | Método | 104 |
| 3.5.3 | Uso del reactivo de neocuproína - acuoso | 111 |
| 3.5.4 | Uso de la neocuproína como un extractor selectivo | 112 |
| 3.5.5 | Interferencias | 113 |
| 3.6 | Determinación simultánea de hierro y cobre por el método de 3-(2-piridil)-5,6--difenil-1,2,4-triazina (PDT) | 115 |
| 3.6.1 | Experimental | 118 |
| 3.6.2 | Resultados | 122 |
| 3.6.3 | Discusión | 128 |
| 3.7 | Determinación de dióxido de titanio | 130 |
| 3.7.1 | Estudio colaborativo | 131 |
| 3.7.2 | Método | 132 |
| 3.7.3 | Resultados y recomendaciones | 136 |
| 3.8 | Determinación de fósforo por el método - de molibdato de amonio | 138 |
| 3.8.1 | Método | 139 |
| 3.8.2 | Resultados y discusión | 142 |
| 3.9 | Determinación de mercurio por el método- de ditizona en cloroformo o en tetraclo- ruro de carbono | 146 |
| 3.9.1 | Método | 147 |
| 3.9.2 | Procedimiento | 154 |
| 3.9.3 | Resultados | 162 |
| 3.10 | Determinación de nitrato y nitrito | 164 |
| 3.10.1 | Estudio colaborativo | 167 |
| 3.10.2 | Método | 168 |
| 3.10.3 | Resultados y recomendaciones | 177 |

CAPITULO IV CARNE, PESCADO, Y AVES DE CORRAL

| | | |
|-------|---------------------------------------------------------------|-----|
| 4.1 | Determinación de arsénico por el método- de azul de molibdeno | 179 |
| 4.1.1 | Discusión del método | 180 |
| 4.1.2 | Estudio colaborativo | 181 |
| 4.1.3 | Método | 183 |
| 4.1.4 | Resultados y discusión | 192 |

| | | |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2 | Determinación de arsénico por el método de dietilditiocarbamato de plata | 194 |
| 4.2.1 | Método | 195 |
| 4.2.2 | Resultados y discusión | 199 |
| 4.3 | Determinación de boro | 203 |
| 4.3.1 | Método | 205 |
| 4.3.2 | Preparación de la muestra colaborativa | 210 |
| 4.3.3 | Resultados y discusión | 211 |
| 4.4 | Determinación de cobre y mercurio por el método de ditizona y dietilditiocarbamato de plomo | 214 |
| 4.4.1 | Experimental | 215 |
| 4.4.2 | Resultados y discusión | 220 |
| 4.5 | Determinación del estaño por el método de fenilfluorona | 223 |
| 4.5.1 | Método | 224 |
| 4.5.2 | Resultados y discusión | 231 |
| 4.6 | Determinación de estaño por el método de quercetina | 237 |
| 4.6.1 | Estudio preliminar | 238 |
| 4.6.2 | Pre-tratamiento de las muestras | 239 |
| 4.6.3 | Separación del estaño | 241 |
| 4.6.4 | Formación del complejo de quercetina-estaño | 242 |
| 4.6.5 | Método | 244 |
| 4.6.6 | Resultados y discusión | 253 |
| 4.7 | Determinación de mercurio por el método de la oxidación húmeda con los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico | 265 |
| 4.7.1 | Experimental | 269 |
| 4.7.2 | Resultados | 272 |
| 4.7.3 | Discusión | 273 |
| 4.8 | Determinación de nitrito | 275 |
| 4.8.1 | Experimental | 275 |
| 4.8.2 | Método de ensayo | 281 |
| 4.8.3 | Aplicación del método | 282 |
| 4.8.4 | Discusión | 283 |

CAPITULO V GRANOS Y PRODUCTOS DE CEREAL

| | | |
|-------|--------------------------|-----|
| 5.1 | Determinación de bromuro | 286 |
| 5.1.1 | Método | 287 |

| | | |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 5.1.2 | Resultados y discusión | 291 |
| 5.1.3 | Estudio colaborativo | 292 |
| 5.2 | Determinación de cobre por el método de dietilditiocarbamato de dietilamonio | 294 |
| 5.2.1 | Resultados | 294 |
| 5.3 | Determinación de mercurio por el método de la oxidación húmeda con los ácidos nítrico-perclórico | 296 |
| 5.3.1 | Método | 296 |
| 5.3.2 | Resultados y discusión | 298 |
| 5.4 | Determinación de mercurio por el método de la combustión del oxígeno | 302 |
| 5.4.1 | Experimental | 303 |
| 5.4.2 | Resultados y discusión | 307 |
| 5.5 | Determinación de mercurio por el método de la oxidación húmeda con los ácidos nítrico-sulfúrico-perclórico | 311 |
| 5.5.1 | Experimental | 311 |
| 5.5.2 | Resultados | 313 |
| 5.5.3 | Discusión | 314 |
| 5.6 | Determinación de níquel | 316 |
| 5.6.1 | Método | 319 |
| 5.6.2 | Prueba para el níquel en los filtrados | 325 |
| 5.6.3 | Discusión del método | 325 |
| 5.7 | Determinación de nitrógeno | 327 |
| 5.7.1 | Método | 328 |
| 5.7.2 | Experimental | 329 |
| 5.7.3 | Resultados y discusión | 332 |
| 5.8 | Determinación de selenio | 334 |
| 5.8.1 | Método | 334 |
| 5.8.2 | Resultados | 340 |
| 5.8.3 | Discusión y recomendación | 341 |

CAPITULO VI PATATAS

| | | |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.1 | Determinación de arsénico por el método de extracción y reducción del ácido molibdoarsénico | 345 |
| 6.1.1 | Método | 346 |
| 6.1.2 | Análisis de las patatas | 347 |
| 6.1.3 | Resultados y discusión | 349 |

| | | |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| CAPITULO VII | LEGUMBRES | |
| 7.1 | Determinación de estaño por el método -- quercetina | 355 |
| 7.1.1 | Factores que afectan al estaño (- formación del complejo de querce- tina | 356 |
| 7.1.2 | Preparación de la solución de la- muestra | 359 |
| 7.1.3 | Método | 360 |
| 7.1.4 | Resultados y discusión | 363 |
| CAPITULO VIII | VEGETALES | |
| 8.1 | Determinación de estaño por el método de ditiol de zinc | 365 |
| 8.1.1 | Método recomendado | 366 |
| 8.1.2 | Resultados | 371 |
| CAPITULO IX | FRUTAS Y PRODUCTOS DE FRUTAS | |
| 9.1 | Determinación de estaño por el método di- tiol | 373 |
| 9.1.1 | Método | 376 |
| 9.1.2 | Resultados | 385 |
| 9.1.3 | Discusión | 387 |
| 9.2 | Determinación de fósforo por el método - molibdovanadato | 394 |
| 9.2.1 | Experimental | 397 |
| 9.2.2 | Método | 398 |
| 9.2.3 | Resultados y discusión | 403 |
| 9.3 | Determinación de mercurio por la combus- tión modificada de Schoniger | 406 |
| 9.3.1 | Matraz de combustión | 407 |
| 9.3.2 | Procedimiento | 408 |
| 9.3.3 | Resultados y discusión | 411 |
| 9.4 | Determinación de mercurio por el método- de Panel | 414 |
| 9.4.1 | Método recomendado | 416 |
| 9.4.2 | Resultados y discusión | 429 |
| 9.5 | Determinación de mercurio por el método- de ditizona en cloroformo o en tetraclo- ruro de carbono | 433 |
| 9.5.1 | Resultados | 434 |

| | | |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| CAPITULO X | ACEBITES, GRASAS Y MANTECAS | |
| 10.1 | Determinación de cobre por el método bato- cuproina | 435 |
| | 10.1.1 Procedimiento experimental | 438 |
| | 10.1.2 Discusión | 443 |
| 10.2 | Determinación de cobre por el método de dibenzilditiocarbamato de zinc | 447 |
| | 10.2.1 Procedimiento experimental | 451 |
| | 10.2.2 Resultados y discusión | 457 |
| 10.3 | Determinación de mercurio por el método- de ditizona en cloroformo o en tetraclo- ruro de carbono | 463 |
| | 10.3.1 Resultados | 464 |
| CAPITULO XI | AZUCAR | |
| 11.1 | Determinación de arsénico por el método- azul de molibdeno | 466 |
| | 11.1.1 Resultados | 466 |
| 11.2 | Determinación de cobre por el método de- neocuproina | 468 |
| | 11.2.1 Aplicación del método | 468 |
| 11.3 | Determinación de fosfato por la oxida- ción húmeda y el método de molibdato de- amonio | 471 |
| | 11.3.1 Método | 471 |
| | 11.3.2 Discusión y resultados | 475 |
| CAPITULO XII | BEBIDAS | |
| 12.1 | Determinación de cadmio | 482 |
| | 12.1.1 Experimental | 483 |
| | 12.1.2 Método | 484 |
| | 12.1.3 Resultados | 491 |
| 12.2 | Determinación de dióxido de azufre | 493 |
| | 12.2.1 Método | 494 |
| | 12.2.2 Resultados y discusión | 498 |
| 12.3 | Determinación de estaño por el método de violeta de catecol | 502 |
| | 12.3.1 Método | 503 |
| | 12.3.2 Resultados | 510 |

| | | |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| CAPITULO XIII | BOLSA DE MERCADO | |
| 13.1 | Determinación de arsénico por la incineración en seco en la presencia del óxido de magnesio y el nitrato de magnesio, y el método de dietilditiocarbamato de plata | 512 |
| | 13.1.1 Método | 513 |
| | 13.1.2 Resultados y recomendaciones | 518 |
| 13.2 | Determinación de fósforo por el método de molibdato de sodio | 521 |
| | 13.2.1 Sección experimental | 521 |
| | 13.2.2 Resultados y discusión | 525 |
| CAPITULO XIV | TABLAS, GRAFICAS Y FIGURAS | |
| 14.1 | Tablas | 527 |
| 14.2 | Gráficas y figuras | 626 |
| CAPITULO XV | CONCLUSIONES | 651 |
| BIBLIOGRAFIA | | 653 |

CAPITULO I

INTRODUCCION

En este trabajo haremos ver la importancia de la colorimetría como un método de análisis instrumental para la determinación de algunos elementos inorgánicos en los alimentos. La medida de la absorción de la radiación visible proporciona un medio útil para el análisis de numerosas especies inorgánicas. En general, el análisis es muy rápido, una vez que se ha desarrollado el método, a no ser que se necesite un tratamiento preliminar para eliminar las interferencias. El método colorimétrico es generalmente muy conveniente para bajas concentraciones, aunque también lo es para altas concentraciones de constituyente. Los procedimientos colorimétricos son ventajosos, por su rapidez, en trabajos de rutina en el análisis de numerosas muestras. Este tipo de análisis tiene tal importancia, que es el más utilizado en casi todos los laboratorios.

CAPITULO II
GENERALIDADES

La variación del color de un sistema, con la concentración de algún componente, es la base del análisis colorimétrico. El color se debe, generalmente, a un compuesto coloreado formado por medio de la adición de un reactivo adecuado, o del constituyente que se determina. La intensidad del color puede compararse con la obtenida tratando -- una cantidad conocida de la sustancia a determinar, de igual manera que la muestra en análisis.

En colorimetría visual, comúnmente se usa luz blanca natural o artificial, y las determinaciones se efectúan -- con un aparato simple llamado colorímetro. Los métodos colorimétricos visuales adolecen de varios inconvenientes. -- El ojo es sensible a una limitada escala espectral, sufre fatiga y lenta respuesta, y es impreciso para juzgar intensidades absolutas. El ojo puede reemplazarse por una célula fotoeléctrica, con la que se eliminan, en gran parte, -- los errores debidos a las características personales de cada observador. El aparato se denomina entonces colorímetro fotoeléctrico.

Los métodos colorimétricos tienen la ventaja de que

permiten la determinación exacta de cantidades de componentes mucho menores que con los métodos gravimétricos o volumétricos; por consiguiente son muy adecuados para el análisis de trazas.

2.1 LEY DE BEER

En sus estudios muy tempranos de la absorción de la radiación, Beer postuló que la disminución de la energía radiante de un haz de radiación monocromática era proporcional a la intensidad o potencia del haz y a la cantidad de sustancia situada en su trayectoria. Estas hipótesis condujeron a la formulación de la ley de Beer-Lambert, ley de Bouguer-Beer, o simplemente, ley de Beer; expresada por la siguiente ecuación:

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A \quad (A)$$

La ecuación (A) es la expresión fundamental de la colorimetría, en donde P_0 es el poder de la radiación que incide sobre la muestra, P es el poder de la radiación transmitida por la muestra; el término logarítmico situado al lado izquierdo de la ecuación se llama absorbancia, y se le asigna el símbolo A . La constante ϵ se llama absorptivi-

dad molar (comúnmente llamada coeficiente de extinción molar) cuando la concentración c se expresa en moles de absorbente por litro, y la longitud de la trayectoria b se da en centímetros; se llama simplemente absorptividad, y se le da el símbolo a cuando se usan otras unidades para concentración o longitud de trayectoria. En la derivación de la ecuación (A) se supone que: la radiación incidente es monocromática, las especies absorbentes actúan independientemente unas de las otras en el proceso de absorción, y la absorción ocurre dentro de un volumen de sección transversal uniforme.

El término P/P_0 corresponde a la transmitancia (símbolo, T), que es la fracción del poder radiante incidente que transmite la muestra. $T \times 100$ es el porcentaje de transmitancia, por lo tanto, substituyendo este término en la ecuación (A), tenemos:

$$-\log T = A = \epsilon bc \quad (B)$$

Los instrumentos actuales están calibrados para hacer las lecturas ya sea en % de transmitancia, en absorbancia o en ambas.

2.2 COMPONENTES DE LOS INSTRUMENTOS PARA LAS MEDICIONES

Los instrumentos que miden la transmitancia o la absorbancia de las soluciones contienen básicamente:

- a) una fuente de energía radiante,
- b) un selector de longitud de onda,
- c) recipientes transparentes para la muestra, y
- d) un detector de la radiación con un sistema de lectura acoplado (medidor o registrador).

El diagrama de bloques de la figura 2.1 muestra la disposición usual de estos componentes.

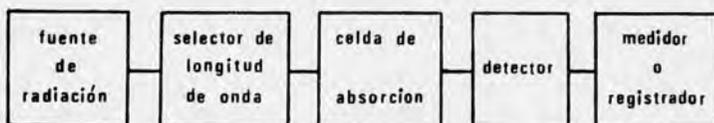


Figura 2.1. Diagrama de bloques de un aparato de absorción.

2.2.1 FUENTES DE ENERGIA RADIANTE

La fuente de radiación debe de cumplir ciertos requisitos, para que sea adecuada para las mediciones de absorción:

- a) debe generar un haz con suficiente potencia para fácil detección y medición,
- b) la fuente debe proporcionar radiación continua - del visible, y
- c) la fuente debe ser estable.

Solo en estas condiciones son reproducibles las mediciones de absorbancia.

La fuente más usual de radiación visible es la lámpara de filamento de tungsteno. La distribución de energía - de esta fuente se aproxima a la de un cuerpo negro, por lo cual depende de la temperatura. En muchos instrumentos de absorción la temperatura de operación del filamento es de 2870° K. El filamento de tungsteno emite radiación continua en la región entre 320 y 2500 nm.

En la región visible la producción de energía de una lámpara de tungsteno varía como la cuarta potencia del vol

taje de operación. Por lo tanto, se requiere un estrecho - control del voltaje para tener una fuente de radiación estable. Se usan con frecuencia transformadores de voltaje - constante o reguladores de voltaje electrónicos para este fin. Como alternativa, la lámpara puede ser operada de una batería de 6 V, la cual proporciona una fuente de voltaje - grandemente estable si se mantiene en buen estado.

El electrodo de carbono produce una radiación más in tensa, sin embargo, rara vez se usa.

2.2.2 SELECTOR DE LONGITUD DE ONDA

Como ya se indicó, las fuentes de radiación que comúnmente se emplean emiten radiación continua dentro de un amplio margen de longitudes de onda. Sin embargo, las ban das angostas presentan muchas ventajas: la radiación de - banda angosta permite la resolución de bandas de absorción muy próximas; con radiación de banda angosta un pico se - puede medir perfectamente en su máximo de absorción, aumen tando así la sensibilidad; y la absorción de radiación de banda angosta se apega más a la ley de Beer porque se mide exclusivamente la radiación que se absorbe.

Se deben, por lo tanto, emplear selectores que reduzcan la radiación policromática de banda ancha de la fuente a bandas angostas o, mejor aún, emplear radiación monocromática. Actualmente se usan dos tipos de selectores, filtros y monocromadores.

a) Filtros. Los filtros, hechos con material sintético especial son los más sencillos y los menos costosos. Pueden obtenerse dos tipos: filtros de absorción y filtros de interferencia.

Filtros de absorción. Los filtros de absorción limitan la radiación absorbiendo ciertas porciones de los espectros. El tipo más común consiste en vidrio coloreado o en un colorante suspendido en gelatina y colocado entre placas de vidrio. Tiene la ventaja de mayor estabilidad térmica.

Los filtros de absorción poseen anchos de banda efectivos que varían de quizá 30 a 250 nm. Los filtros que proporcionan los anchos de banda más reducidos absorben también una fracción importante de la radiación deseada, y pueden tener una transmitancia de 0.1 o menos en sus picos de banda. Pueden obtenerse en el comercio filtros de vidrio con transmitancia máxima en toda la región del visible.

Los filtros de corte tienen transmitancia de casi 100 por 100 en una porción del espectro visible, pero luego disminuyen rápidamente a cero transmitancia en el resto. Puede aislarse una estrecha banda espectral acoplando un filtro de corte con un segundo filtro.

Filtros de interferencia. Los filtros de interferencia se basan en la interferencia óptica para producir bandas relativamente estrechas de radiación. Un filtro de interferencia consiste en un dieléctrico transparente (frecuentemente fluoruro cálcico o fluoruro magnésico) que ocupa el espacio comprendido entre dos películas metálicas semitransparentes revestidas en las superficies interiores de dos placas de vidrio. El espesor de la capa dieléctrica se controla cuidadosamente, y determina la longitud de onda de la radiación transmitida. Cuando un haz perpendicular de radiación colimada incide en esta disposición, una fracción atraviesa la primera capa metálica y el resto es reflejado. La porción que pasa experimenta partición similar al incidir en la segunda película metálica. Si la porción reflejada de esta segunda interacción es de longitud de onda apropiada, se refleja parcialmente del lado interior de la primera capa en fase con la luz incidente de la misma longitud de onda. El resultado es que esta longitud de onda particular se refuerza, mientras que la mayoría de

las otras, estando desfasadas, sufren interferencia destructiva.

Los filtros de interferencia proporcionan anchos de banda considerablemente menores (tan bajos como 10 nm) y mayores transmitancias de la longitud de onda deseada que los filtros de absorción.

b) Monocromadores. Un monocromador es un aparato que desdobra la radiación policromática en las longitudes de onda que la forman y separa estas longitudes de onda en bandas muy angostas. Un monocromador está constituido por: una rendija de entrada por la que penetra la radiación policromática de la fuente; un colimador, bien sea lente o espejo; un dispersor, ya sea prisma o rejilla, que desdobra la radiación en las longitudes de onda componentes; una lente de enfoque o espejo; y una rendija de salida. Todas las partes del monocromador deben ser transparentes dentro del margen de longitudes de onda con las que se trabajan y están montadas dentro de una caja hermética a la luz. En la figura 2.2 se representa esquemáticamente un monocromador con prisma para la dispersión. El ancho de banda efectivo de la radiación que sale del monocromador depende de varios factores, incluyendo el elemento dispersor y la anchura de las rendijas, tanto de entrada como de sa

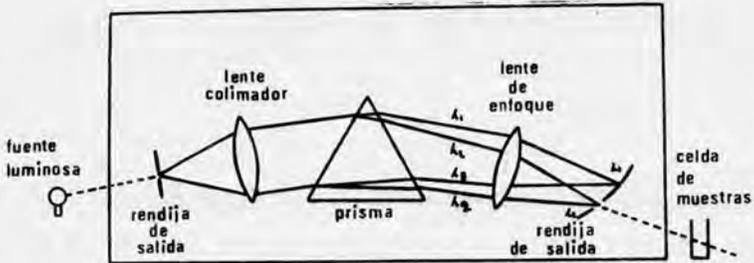


Figura 2.2. Monocromador de prisma.

lida. Con rendijas angostas se separan bandas angostas, pero el ancho de la rendija también limita el poder radiante que llega al detector, por lo que la sensibilidad del detector puede determinar la anchura mínima de la banda.

Dispersión con prisma. El prisma de la figura 2.2 - desdobra la radiación policromática en pequeñas bandas de longitudes de onda que emergen del prisma a ángulos ligeramente diferentes. Para lograr que una determinada longitud de onda de la radiación desdoblada pase a través de la rendija de salida, se hace girar el prisma hasta que la longitud de onda deseada (o, más correctamente, una banda de longitudes de onda centrada en esa longitud de onda) quede enfocada en la rendija de salida.

El material de los prismas que se emplea en los mono

cromadores para el visible, debe seleccionarse cuidadosamente para obtener un funcionamiento óptimo. Se debe tomar en cuenta tanto la transparencia como la dispersión. Para la región del visible se usan generalmente prismas de vidrio y de cuarzo. Sin embargo, en la región de 350 a 800 nm el vidrio es muy superior al cuarzo para la construcción de prismas; debido a su mayor cambio en el índice de refracción con la longitud de onda.

El prisma de cuarzo de Cornu, de 60° , está formado por dos mitades, una de cuarzo dextrógiro (actividad óptica positiva) y la otra de cuarzo levógiro (actividad óptica negativa). De este modo se elimina la birrefringencia de la radiación al atravesar el prisma. El prisma de Littrow es un prisma de 30° que permite el paso de la radiación en ambas direcciones por reflexión sobre una superficie aluminizada o plateada.

Dispersión con rejilla de difracción. Puede obtenerse dispersión de la radiación visible haciendo pasar un haz por una rejilla de transmisión o por un reflejo de una rejilla de reflexión. Una rejilla de transmisión consta de una serie de surcos paralelos y poco espaciados abiertos en un pedazo de vidrio u otro material transparente. Una rejilla apropiada para su empleo en la región visible tie-

ne 15000 líneas por pulgada. Es vital que estas líneas estén igualmente espaciadas en los varios centímetros de longitud de la rejilla. Estas rejillas requieren complicados aparatos para su producción, y por ello son costosas.

Cuando una rejilla de transmisión es iluminada por una radiación procedente de una rendija, cada uno de los surcos actúa como una nueva fuente de luz; la interferencia entre la multitud de haces produce dispersión de la radiación en sus longitudes de onda componentes. Si se enfoca la radiación dispersada sobre una superficie plana, se produce un espectro que consta de una serie de imágenes de la ranura de entrada.

Se obtienen rejillas de reflexión rayando una superficie metálica pulimentada o por evaporación de una delgada película de aluminio en la superficie de una rejilla moldeada.

2.2.3 RECIPIENTES PARA MUESTRAS

Las muestras que se estudian en la región del visible, son soluciones y se colocan en celdas o cubetas. En la región del visible se emplea vidrio común o cuarzo de mayor costo. La longitud de las celdas para las soluciones

tienen longitudes que van de 1 a 10 cm. Las ventanas de las celdas de absorción deben mantenerse escrupulosamente limpias, pues tanto las huellas digitales como los rastros de las muestras anteriores pueden ser causa de error considerable en las determinaciones cuantitativas. Las celdas de cuarzo y de vidrio se pueden limpiar enjuagándolas con agua o, si se requiere mayor limpieza, con soluciones de detergente o ácido nítrico caliente.

Las celdas de absorción se colocan después del monocromador en los aparatos del visible, con objeto de reducir al mínimo la posible descomposición o fluorescencia que pudieran causar otras longitudes de onda de alta energía de la radiación sin desdoblarse. La celda debe colocarse en una posición tal que el haz de la radiación incidente quede perfectamente normal a la ventana o cara de la celda pues de otro modo hay pérdidas notables por reflexión y refracción. Además, el recipiente debe incrustarse a modo de que siempre quede la misma cara de la celda frente al haz de radiación, cuando se hacen mediciones consecutivas.

Las celdas rectangulares se prefieren a las cilíndricas, pero si se usan éstas, que son más baratas, se deben marcar en alguna forma para tener la seguridad de que se han colocado en la misma posición en las diferentes medi-

ciones.

2.2.4 INSTRUMENTOS DE DETECCION Y DE LECTURA

Cualquier tipo de detector absorbe la energía de los fotones que chocan contra él y la convierte en una cantidad mensurable, como es la impresión de una placa fotográfica, una corriente eléctrica o cambios térmicos. La mayoría de los detectores modernos generan una señal eléctrica que puede accionar algún tipo de medidor o registrador. - Cualquier tipo de detector debe generar una señal que esté cuantitativamente relacionada con el poder radiante que recibe. El "ruido" de un detector es la señal de fondo que aparece cuando no hay poder radiante de la muestra que llegue al detector. Este ruido puede ser causado bien sea por cambios fortuitos dentro del detector mismo o por otras señales eléctricas que recoja de los alrededores de la unidad. Los requerimientos más importantes de un detector son alta sensibilidad con un nivel de ruido pequeño para que sea posible detectar poderes radiantes pequeños, tiempo de respuesta corto, estabilidad a largo plazo con objeto de asegurar la exactitud de las respuestas cuantitativas, y señal electrónica que sea fácilmente amplificable por cualquier instrumento de lectura.

Los fotones del visible tienen suficiente energía como para proyectar los electrones de las superficies que inciden cuando éstas se han tratado con determinado tipo de compuestos. Su absorción puede hacer también que los electrones enlazados, no conductores, se desplacen en bandas de conducción dentro de ciertos semiconductores. Ambos procesos generan una corriente eléctrica que es directamente proporcional al poder radiante de los fotones absorbidos. Los instrumentos en los que se emplean estos procesos se llaman detectores fotoeléctricos y se subdividen en celdas fotovoltaicas y fototubos.

a) Celdas fotovoltaicas. La celda fotovoltaica consiste de un electrodo plano de cobre o hierro sobre el cual se deposita una capa de material semiconductor, como selenio u óxido de cobre (I). En la superficie del semiconductor hay una película transparente de oro, plata o plomo que actúa como segundo electrodo o colector; el conjunto se protege con una cubierta transparente. La superficie de separación entre el selenio y la película metálica sirve de barrera al paso de electrones. Pero la irradiación con luz aporta algunos electrones a la capa de óxido con suficiente energía para vencer esta barrera, y fluyen entonces electrones del semiconductor a la película metálica. Si ésta se conecta, mediante un circuito externo, a la placa -

del otro lado de la capa semiconductor y si la resistencia no es muy grande, se produce una corriente de electrones. Generalmente, esta corriente es bastante grande para poder medirse con un galvanómetro o un microamperímetro; si la resistencia del circuito externo es pequeña, la magnitud de la corriente es directamente proporcional a la potencia de la radiación que incide en la celda.

Las celdas fotovoltaicas se usan principalmente para detectar y medir la radiación del visible. Constituye un medio rudimentario para medir la potencia radiante. No se requiere fuente externa de energía eléctrica. Por otra parte, la baja resistencia interna de la celda hace difícil la amplificación de su energía de salida. Así, aunque proporciona una respuesta fácilmente medible en altos niveles de iluminación, tiene el inconveniente de falta de sensibilidad a bajos niveles. La celda fotovoltaica sufre fatiga, descendiendo su respuesta con prolongada iluminación; para eliminar estos inconvenientes se hace un diseño apropiado del circuito y se seleccionan condiciones experimentales adecuadas.

b) Fototubo. Un fototubo está constituido por: una cubierta de vidrio evacuada; un cátodo semicilíndrico con una superficie interna recubierta por un compuesto que ten

ga electrones con una fuerza de unión relativamente pequeña, como son los óxidos de los metales alcalinos o alcalinotérreos; y un ánodo central, de alambre. La diferencia de potencial que se aplica en los electrodos es aproximadamente de 90 voltios. En la figura 2.3 se encuentra el diagrama de un fototubo y su circuito correspondiente. La radiación choca contra la superficie fotoemisora del cátodo. Los fotones se absorben y transfieren su energía a los electrones de pequeña fuerza de unión de la superficie del material. Estos electrones se escapan de dicha superficie-

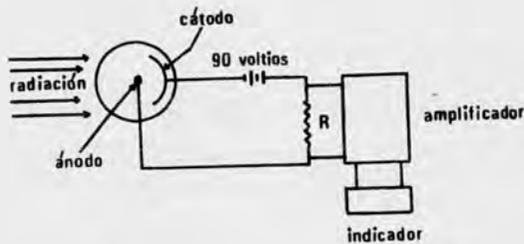


Figura 2.3. Diagrama esquemático del circuito de un fototubo.

y se reúnen en el ánodo, haciendo que la corriente fluya - en el circuito. Si la reunión de los electrones se efectúa con 100% de eficiencia, la corriente del fototubo es proporcional al poder radiante de la radiación incidente. Pero la magnitud de la fotocorriente también depende del voltaje aplicado a los electrodos y de la magnitud de onda de la radiación incidente. La corriente del fototubo, a un poder radiante determinado, aumenta con el voltaje aplicado hasta alcanzar una meseta en donde ya no depende de éste.- En ese punto el voltaje, llamado voltaje de saturación, corresponde al sitio en el que todos los electrones fotoemisores se reúnen con 100% de eficiencia. Consecuentemente, - si se desea que la respuesta del detector al poder radiante sea lineal, se debe operar a un voltaje mayor que el de saturación.

Para la medición de baja potencia radiante el tubo - fotomultiplicador ofrece ventajas si se compara con el fototubo. Al hablar sobre el fototubo se indicó el mecanismo por el cual un electrón se desplaza de una superficie fotoemisora. Si el electrón que se ha desplazado se acelera medianamente un campo eléctrico, adquiere mayor energía y si choca con otra superficie activa, puede transferir parte de - su energía desplazando otros electrones. Estos electrones, a su vez, pueden acelerarse, dirigirse hacia otra superfi-

cie y desplazar aún más electrones y así sucesivamente. En la figura 2.4 se puede ver el esquema de un corte transversal del tubo fotomultiplicador.



Figura 2.4. Diagrama de un corte transversal de un tubo fotomultiplicador.

En la práctica, los tubos fotomultiplicadores se -- usan solo para niveles bajos del poder radiante, pues son muy inestables, y se dañan fácilmente por exposición a -- fuerte radiación.

c) Amplificación y lectura de las señales del detector. La señal electrónica generada por cualquier detector de radiación se debe transformar para que el investigador pueda interpretarla. La transformación se lleva a cabo, co múnmente, con amplificadores, amperímetros, potenciómetros y registradores potenciométricos.

Amplificadores. La mayoría de las señales de los detectores se tienen que amplificar en varios órdenes de magnitud para que sea posible su medición. El amplificador recibe la señal de entrada del circuito del componente sensible v , pasando por una serie de operaciones electrónicas, produce una señal de salida que es varias veces mayor que la de entrada.

Lectura con medidor. El medidor de la señal de la mayoría de los instrumentos para las mediciones de absorción posee una escala lineal que abarca de 0 a 100 unidades. Pueden obtenerse entonces lecturas directas de porcentaje de transmitancia ajustando primero el medidor para leer 0 cuando se bloquea la radiación del detector por un interruptor. Se lleva entonces el medidor a 100, haciendo pasar el haz por el disolvente e incidiendo en el detector; este ajuste se logra haciendo variar la intensidad de la fuente o la sensibilidad del detector. Cuando el recipiente de la muestra se coloca en el haz, el medidor da porcentaje de transmitancia directamente, siempre que el detector responda linealmente a cambios en la potencia radiante. También, puede escribirse una escala logarítmica en el medidor para poder hacer también lecturas directas de absorbancia.

2.3 APARATOS

Los aparatos que se emplean en el estudio de la absorción de la luz en la región del visible son: los colorímetros fotoeléctricos, los espectrofotómetros, y los absorbómetros.

Existen dos modelos básicos de colorímetros fotoeléctricos. El más sencillo tiene un solo haz, mientras que el otro opera con doble haz.

2.3.1 INSTRUMENTOS DE UN SOLO HAZ

La figura 2.5 es un diagrama esquemático de un espectrofotocolorímetro de un solo haz. Un haz de radiación de la fuente entra al monocromador y un prisma o una rejilla lo dispersa. A medida que el elemento dispersor gira, las diversas bandas de radiación que se han desdoblado se enfocan hacia la rejilla. La radiación pasa a través de la celda y llega al detector. El aparato se ajusta y se manipula.

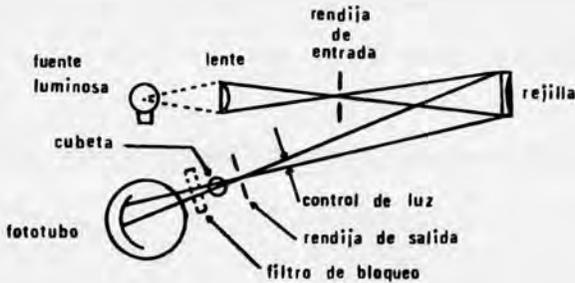


Figura 2.5. Diagrama esquemático de un espectro fotocolorímetro de un haz.

El método de determinación con haz sencillo requiere componentes estables, de alta calidad, en la fuente, en el detector y en el medidor, para mediciones de gran precisión. Los parámetros del instrumento no deben variar en el lapso que media entre el ajuste del 100% de T con la "muestra en blanco" y la determinación de la transmitancia de la muestra. Los aparatos de lectura directa, que tienen medidores, dan una lectura inmediata de la transmitancia con exactitud de ± 0.2 a 3%. A menos que se requiera gran precisión, los aparatos de lectura con medidor satisfacen las necesidades. Los aparatos de un solo haz son más sencillos y menos costosos que los de doble haz, pero no se pueden adaptar para registro debido a que hay necesidad de cali-

brar para cada longitud de onda.

2.3.2 INSTRUMENTOS DE DOBLE HAZ

En la figura 2.6 se encuentra el esquema de un modelo de doble haz. Los aparatos de doble haz tienen un divisor del haz, de cualquier tipo, antes de las celdas de muestras. Uno de los haces está dirigido hacia la celda "en blanco", o celda de referencia, y el otro hacia la celda de la muestra. Estos dos haces se comparan constante o alternativamente varias veces por segundo. En esta forma, en el modelo de doble haz las fluctuaciones de la intensidad de la fuente, la respuesta del detector y la ganancia del amplificador se compensan, puesto que la señal que se observa corresponde a la diferencia entre el "blanco" y la muestra. Los aparatos de doble haz son más complicados, desde el punto de vista electrónico y mecánico, que los de un solo haz, pero son más exactos ($\pm 0.2\%$ en la transmitancia) y costosos.

En los espectrofotocolorímetros de doble haz, la división del haz se efectúa después de pasar el monocromador; se emplean espejos de superficie frontal y, más comúnmente, espejos de sector, giratorios. El espejo de sector, girato

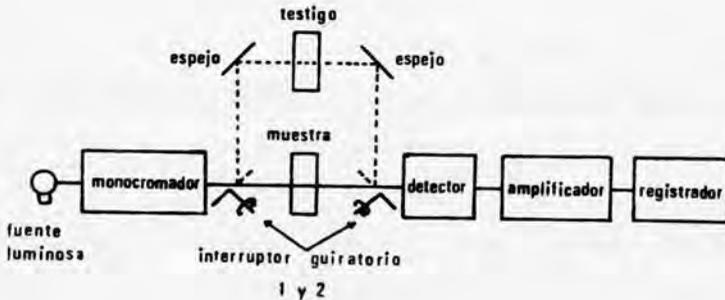


Figura 2.6. Espectrofotocolorímetro de doble haz.

rio, deja pasar y refleja alternativamente el haz varias veces por segundo; en esta forma lo separa y, además lo hace intermitente. La radiación intermitente se emplea como fuente de entrada de un amplificador de c-a que da estabilidad a la amplificación. En este tipo de aparatos se emplea un sistema electrónico de lectura de punto nulo. El haz de la referencia y el de la muestra llegan al detector alternativamente a intervalos que dependen de las frecuencias de rotación de los interruptores. El aparato registra la relación entre la señal de la referencia y la de la muestra. Si el poder radiante de ambos haces es igual, el amplificador de c-a no registra señal de salida, pero si

el poder radiante de ambos haces es diferente, la señal no compensada acciona un servomotor que actúa sobre un registrador potenciométrico, el cual nulifica electrónicamente la señal no compensada. El puente eléctrico del registrador potenciométrico se calibra en porcentajes de transmitancia de la muestra, y así, la posición del punto de equilibrio del punte se emplea para determinar el porcentaje de transmitancia (92,184,201).

CAPITULO III
PRODUCTOS LACTEOS

3.1 DETERMINACION DE ARSENICO POR EL METODO AZUL DE MOLIBDENO

De las diferentes variantes publicadas del método azul de molibdeno (106,158,213,233) el procedimiento recomendado sigue el del método de Wyatt (233). La materia orgánica es destruida por oxidación húmeda, y el arsénico, después de la extracción con solución de dietilditiocarbamato de dietilammonio, es convertido al complejo arsenomolibdato, que es reducido por medio del sulfato de hidracina a un compuesto azul de molibdeno y determinado absorciométricamente (6).

Al final de la investigación se estableció la pequeña cantidad de arsénico que puede ser determinada con razonable exactitud por la determinación final. Se consideró una cantidad no menor que el "blanco" normalmente encontrado en las regiones industriales, y, por lo tanto, se involucró trabajo complejo para minimizar este "blanco". Fueron evitadas a través del método las principales fuentes de error en la de

terminación de las micro cantidades del arsénico.

3.1.1 METODO RECOMENDADO

Si después de la destrucción de la materia orgánica, - la solución contiene más de un total de 1000 μ g de los metales pesados que forman complejos con el dietilditiocarbamato de dietilamonio (ej.: cobre, bismuto, antimonio, mercurio, estaño y los metales nobles) o contiene mucha materia-insoluble, el arsénico puede ser destilado como tricloruro antes de que sea empezado el procedimiento de extracción.

RANGO

Para contenidos de arsénico de 1.5 a 15 μ g (como As) - en la muestra tomada. El rango puede ser extendido hasta - 0.5 g de arsénico usando los reactivos para la extracción-purificados previamente con la solución de dietilditiocarbamato de dietilamonio antes de usarse con objeto de eliminar el As existente en ellos.

APLICABILIDAD

El método es adecuado para el análisis de la mayoría - de los tipos de material orgánico. Es específico para el - arsénico en todas las circunstancias ordinarias, pero la po - sibilidad de la interferencia por el germanio no ha sido in - vestigada.

APARATOS

NOTA 1 Todo el material de vidrio deberá ser de vi -
drio borosilicato y puede ser limpiado completa -
mente con ácido sulfúrico y ácido nítrico y en --
tonces lavado con agua destilada inmediatamente -
antes de usarse para asegurar que no hay trazas -
de arsénico.

Condensadores simples "cold finger". Estos consisten -
de pequeños tubos de ensayo con bocas rebordeadas, montados
libremente en los matraces Erlenmeyer de 50 ml. Cuando el -
condensador está colocado, el fondo del condensador deberá -
estar aproximadamente de 10 a 15 mm del fondo del matraz --

(ver la Fig. 1A, Capítulo XIV).

Embudos de separación. Embudos de separación calibrados de 25, 50 y 100 ml, con válvulas y tapones de vidrio -- bien ajustados; y con los vástagos cortos, aproximadamente de 1/4 de pulgada.

Matraces Kjeldahl. (Se requieren si el procedimiento de destilación es empleado.) Estos deberán tener una capacidad de 100 a 200 ml y ser de vidrio borosilicato o sílica, adaptados por medio de una unión Quickfit (B19 o B24) con un condensador de 2 o 3 bulbos llevando un embudo con llave (ver la Fig. 1B). Es una ventaja tener el condensador intercambiable con la extensión refrigerante al matraz de descomposición, tal que el arsénico puede ser destilado del mismo matraz en el cual la descomposición húmeda es llevada a cabo.

REACTIVOS

El agua debe ser destilada o desionizada y debe estar libre de arsénico.

Los ácidos "para el análisis de los productos alimenticios" pueden ser usados para la determinación del arsénico sin ulterior tratamiento.

Los reactivos para la destrucción de la materia orgánica están especificados en los métodos generales referidos en el "Procedimiento".

Acido clorhídrico, densidad relativa de 1.18. Libre de arsénico.

Solución de ácido tioglicólico. Diluir 12 g de ácido-tioglicólico (al 90% V/V) a 100 ml con agua. Almacenarla en una botella de vidrio de color ambar, y desecharla después de un mes.

Solución de yoduro de potasio-ácido ascórbico. Disolver 15 g de yoduro de potasio y 2.5 g de ácido ascórbico en agua, y diluir a 100 ml con agua. Este reactivo deberá ser preparado cada 2 o 3 días.

Cloroformo. Redestilado.

Reactivo ditiocarbamato. Disolver 1 g de dietilditiocarbamato de dietilamonio cristalino puro (grado reactivo)- en 100 ml de cloroformo redestilado grado reactivo. Almacenar en una botella de vidrio color ambar. Esta solucion no es estable y debera ser desechada despues de una semana.

Acido sulfurico, 1 N. Prepararlo de ácido sulfurico - libre de arsenico (densidad relativa de 1.84). Almacenarlo en una botella de polietileno.

Solucion ácida de molibdeno. Mezclar exactamente 250- ml de ácido sulfurico 10 N con 250 ml de una solucion de mo libdato de amonio al 7% peso/V, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$, en agua. Filtrar en un matraz volumétrico de 1 litro, lavando el filtro con agua, agregar exactamente 250 ml de ácido perclorico 4 N, y diluir a 1 litro a 20° C con agua. Almacenarla - en una botella de polietileno.

Solucion de sulfato de hidracina. Una solucion al -- 0.030% peso/V en agua.

Solucion estandard de arsenico. (a) Disolver 4.17 g -

de arseniato de sodio, $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, (grado reactivo) en agua, y diluir a 1 litro a 20°C con agua.

(b) Diluir 10.0 ml de la solución (a) a 1 litro a 20°C con agua. Preparar la solución (b) recientemente en la cantidad que sea requerida. $1\text{ ml} \equiv 10\text{ }\mu\text{g}$ de arsénico (as).

El siguiente reactivo se requiere si se usa el procedimiento de destilación.

Mezcla de cloruro-hidracina-bromuro. Moler simultáneamente una mezcla (partes por peso) de cloruro de sodio, 5,- sulfato de hidracina, 0.5, y bromuro de potasio, 0.02.

3.1.2 PROCEDIMIENTO

Reactivo "blanco". Llevar a cabo una determinación del "blanco" por todo el procedimiento, usando las cantidades precisas de los reactivos usados en la determinación y omitiendo solamente la muestra.

Hay cuatro métodos (7) para la destrucción de la materia orgánica que son adecuados para los productos alimenticios, el método particular a seleccionar depende de la muestra a ser analizada. La destrucción con los ácidos nítrico y sulfúrico puede hacerse con o sin la ayuda del ácido perclórico para apresurar la digestión y de aquí reducir el uso del ácido nítrico y acortar el tiempo tomado para remover toda la materia orgánica.

a) Método A

Pesar 5 g (ver la Nota 2, p. 53) de la muestra bien mezclada en un matraz Kjeldahl de 100 ml, y agregar 10 ml de ácido nítrico diluido (1+2). Tan pronto como la reacción inicial descienda (ver las Notas 3 y 4, p. 54) calentar suavemente hasta que la nueva reacción vigorosa cese, y entonces enfriar la mezcla. Agregar, gradualmente, hasta 10 ml de ácido sulfúrico (densidad relativa de 1.84) a tal velocidad que no cause excesiva espuma o calentamiento (son requeridos generalmente 5 a 10 minutos), y entonces calentar hasta que el líquido se oscurezca apreciablemente.

Continuar como en la "continuación de los Métodos."

b) Método B

Aplicable para sustancias menos reactivas.

Pesar 5 g (ver la Nota 2, p. 53) de la muestra bienmezclada en un matraz Kjeldahl, y agregar 5 ml de ácido nítrico (densidad relativa de 1.42). Tan pronto como la vigorosa reacción inicial disminuya, calentar ligeramente hasta que la nueva reacción vigorosa cese, y entonces enfriar la mezcla. Agregar, gradualmente, 8 ml de ácido sulfúrico, densidad relativa de 1.84, a tal velocidad que no cause excesiva espuma o calentamiento (son requeridos usualmente de 5 a 10 minutos), y entonces calentar hasta que el líquido se oscurezca apreciablemente.

Continuar como en la "Continuación de los Métodos."

c) Método C

Aplicable para sustancias que se descomponen rápida

mente; más rápido que en el método A o B.

Pesar 5 g (ver la Nota 2, p. 53) de la muestra bienmezclada en un matraz Kjeldahl de 100 ml, y agregar una mezcla de 8 ml de ácido sulfúrico, densidad relativa de 1.42. Calentar cuidadosamente hasta que la reacción disminuya, y entonces llevar a ebullición rápidamente hasta que la solución empiese a oscurecer debido a la carbonización.

Continuar como en la "Continuación de los Métodos".

d) Método D

Tratar 5 g (ver la Nota 2, p. 53) del material en un matraz Kjeldahl de 100 ml con 20 ml de ácido nítrico diluido (1+2), y calentar hasta que la vigorosa reacción inicial haya disminuido. En esta etapa se forma una torta esponjosa. Enfriar la mezcla, vaciar el ácido en un vaso de precipitado, y lavar el residuo con una pequeña cantidad de agua destilada (tres o cuatro porciones de 1 ml), agregar los lavados al licor ácido en el vaso de -

precipitado. Agregar 8 ml de ácido sulfúrico, densidad relativa de 1.84, al residuo, agitar para dispersar la torta, e introducir el ácido nítrico (densidad relativa de 1.42) gota a gota, con calentamiento si es necesario, hasta que la oxidación vigorosa cese. Regresar el licor-ácido original al matraz, y mantener en ebullición hasta que la solución empiece a obscurecerse.

Continuar como en la "Continuación de los Métodos."

c) Continuación de los Métodos

Agregar ácido nítrico, densidad relativa de 1.42, lentamente en porciones pequeñas, calentando después de cada adición, hasta que empiece a obscurecer. No calentar tan fuertemente, evitando que la carbonización sea excesiva, o puede ocurrir pérdida de arsénico; debe encontrarse una pequeña, pero no excesiva, cantidad de ácido nítrico sin reaccionar. Continuar este tratamiento hasta que la solución deje de obscurecerse en prolongado calentamiento (5 a 10 minutos) y sea solamente de color amarillo pálido--

do. Poner en un matraz 0.5 ml de ácido perclórico al 60% peso/peso (ver la Nota 5, p. 55), y un poco de ácido nítrico, y calentar por 15 minutos aproximadamente, entonces agregar 0.5 ml de ácido perclórico, y calentar por unos minutos. Dejar enfriar un poco, y diluir la mezcla con 10 ml de agua destilada. La solución deberá ser completamente incolora, excepto cuando hay mucho hierro, puede ser débilmente amarilla. Llevar a ebullición lentamente, teniendo cuidado para evitar reburburaciones, hasta que aparezcan vapores blancos; dejar enfriar la solución, agregar 5 ml de agua destilada, y de nuevo llevar a ebullición hasta que aparezcan los vapores. Finalmente, enfriar, y diluir la solución con 5 ml de agua destilada.

Nota 2 El peso de la muestra dependerá de la concentración del metal en el material a determinar y de los métodos a usarse para la determinación del metal.

Para cantidades del metal del orden de 10 a 100 partes por millón, 5 g es una cantidad conveniente, pero si los métodos ultrasensibles son

disponibles, 2 g son con frecuencia suficientes, con consecuente ahorro de tiempo y de ácido.

Para los líquidos, tomar de 20 a 50 g de muestra, que contenga no más de 5 g de sólidos, y llevar a ebullición con el ácido nítrico hasta tener una masa pequeña antes de agregar el ácido sulfúrico. Continuar entonces como para las muestras sólidas.

Nota 3 Con materiales tal como el té, o cuando se encuentran muchos carbohidratos, la reacción inicial puede ser violenta y el calentamiento deberá ser retardado, si es necesario toda la noche. Ulterior ácido nítrico puede entonces ser agregado como sea necesario.

Con algunos compuestos orgánicos extremadamente reactivos es necesario llevar a cabo el tratamiento preliminar con el ácido nítrico diluido en un vaso de precipitado de 500 ml, calentando el vaso de precipitado lentamente en un baño de

vapor hasta que la reacción inicial es completada.

Nota 4 Si se experimenta excesiva espuma en las etapas iniciales, puede agregarse una gota o dos de alcohol iso-octílico o el tratamiento preliminar puede llevarse a cabo en un vaso de precipitado de 500 ml de vidrio borosilicato con la adición de unas bolitas de vidrio.

Nota 5 Uso del ácido perclórico. Muchas oxidaciones han sido llevadas a cabo sin peligro por el uso del ácido perclórico, pero se han reportado algunas explosiones con este reactivo. Deberán tomarse máximas precauciones contra los posibles daños en el evento de una explosión, aún en procedimientos bien probados. Es necesario dejar que la oxidación vigorosa de la materia orgánica por el ácido nítrico u sulfúrico descienda, antes que la temperatura sea elevada lo suficientemente para que el ácido perclórico reaccione.

En ninguna circunstancia deberá usarse más de 10 ml de -

ácido sulfúrico.

Cuando el contenido de arsénico es tal que la cantidad de la muestra tomada puede ser menor de 5 g, y si el arsénico es para extraerse directamente de esta solución, la cantidad de ácido sulfúrico puede con ventaja ser reducido proporcionalmente, pero en ningún caso deberá ser menor de 5 ml. - Esta reducción del ácido no tendrá influencia nociva sobre la subsecuente extracción del arsénico.

Todos los reactivos usados en la descomposición deberán ser medidos, tal que las mismas cantidades pueden ser usadas en el "blanco".

NOTA 6 Es aceptado comúnmente que la excesiva carbonización en cualquier etapa de la descomposición húmeda conducirá a pérdidas de arsénico, especialmente en la presencia del cloruro. Gorsuch (84) ha demostrado que en ciertas circunstancias, al menos, tales pérdidas no ocurren en realidad, pero, en vista del limitado rango de los experimentos referidos, se considera que las usuales --

precauciones contra la excesiva carbonización -
deberán ser llevadas en la práctica.

TRATAMIENTO PRELIMINAR DEL DIGERIDO (CUANDO SEA NECESARIO)

Este tratamiento es llevado a cabo en la solución prueba y en la solución del "blanco" después de la destrucción - de la materia orgánica solamente si una o ambas de las siguientes condiciones es encontrada:

- a) El contenido total de los metales pesados de la solución prueba excede los 1000 μg ; o
- b) Hay una excesiva cantidad de materia insoluble en la solución prueba.

NOTA 7 En el método de destilación es importante-
usar las cantidades relativas de los reactivos -
como se especifican, ya que esto asegura una ev
lución constante del gas de ácido clorhídrico por
la destilación, el cual es esencial para el éxi-
to del método. Seria divergencia de las cantidad

des recomendadas obliga a conducir también una vigorosa reacción al principio de la destilación, por medio de la cual el cloruro arsenioso puede ser eliminado a través del receptor, o a la evolución del agua, con consecuente fracaso para obtener arrastre cuantitativo del arsénico.

Si la descomposición húmeda no ha sido llevada a cabo en matraz Kjeldahl transferir la solución al matraz Kjeldahl, enjuagando el otro con la cantidad mínima de agua, -- evaporar hasta que aparezcan los vapores, y dejar enfriar.

Al residuo frío se agregan 7 ml de agua. Agregar 5 g de la mezcla de cloruro-hidracina-bromuro, evitando la contaminación de la parte esmerilada de la boca del matraz, y montar el condensador, humedecer la unión con agua para prevenir fugas. Sujetar el aparato tal que el condensador esté vertical, con su extremo alcanzando el fondo de una probeta de 25 ml conteniendo 15 ml de agua, la cual es enfriada en un baño de hielo y agua. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico a la solución del matraz a través del embudo con --

llave, y cuidadosamente cerrar la llave.

Calentar el matraz con un micromechero a una velocidad que la solución sea llevada a ebullición en no menos de 30 minutos. Después que el condensador se ha llenado de vapor, continuar calentando el matraz para que la destilación proceda suavemente por 3 a 5 minutos. Durante todo este procedimiento, y particularmente al momento cuando el vapor alcance el agua fría en el depósito, deberá tenerse cuidado para prevenir la succión. La destilación no debe llevarse al exceso, es decir, no deben aparecer los vapores del trióxido de azufre. Cuando la destilación sea completa, abrir la llave, quitar el mechero, y desconectar el condensador. - Lavar el condensador una vez con unos mililitros de agua, - recolectando los lavados en la probeta.

SEPARACION DEL ARSENICO

(a) Si el procedimiento de la destilación no ha sido - llevado a cabo. Diluir la solución de la destrucción de la materia orgánica con 15 ml de agua, llevar a ebullición lentamente por unos minutos, enfriar a 70° C aproximadamente, -

agregar 10 ml de ácido clorhídrico, y dejar enfriar. Trans
ferir la solución a un matraz Erlenmeyer de 100 ml, filtran
do si la solución no es clara y lavando con la mínima canti
dad de agua.

(b) Si el procedimiento de destilación ha sido llevado
a cabo. Transferir el destilado, sin posterior adición de-
ácido clorhídrico, a un matraz Erlenmeyer de 100 ml, lavan
do con la mínima cantidad de agua.

Calentar la solución de (a) o (b) a 40° C aproximada-
mente, agregar 2 ml de la solución de ácido tioglicólico, -
mezclar bien, y dejar enfriar por 15 minutos. Entonces en-
friar la solución más rápidamente (ej., en un baño de hielo
y agua) a la temperatura ambiente, agregar 1 ml de la solu-
ción de yoduro de potasio-ácido ascórbico, lavar los lados-
del matraz con unos mililitros de agua, y mezclar cuidadosa
mente. Transferir la solución a un embudo de separación ca
librado de 100 ml conteniendo unos mililitros de cloroformo,
lavar el matraz con varias porciones pequeñas de agua. El-
volumen de la solución en esta etapa deberá ser de 45 a 50-
ml. Agregar 5 ml del reactivo de ditiocarbamato, agitar vi

gorosamente por 40 seg, quitar el tapón, y lavarlo con unas gotas de cloroformo. Dejar que las capas se separen, y entonces dejar correr la capa inferior en un embudo de separación limpio de 25 ml, teniendo cuidado de no dejar entrar nada de la capa acuosa a la llave del primer embudo. Lavar la capa acuosa dos veces con aproximadamente 0.5 ml de cloroformo, sin mezclado, y agregar los lavados al extracto principal. Extraer la capa acuosa con una porción posterior de 2 ml del reactivo de ditiocarbamato, agitando por 30 segundos, y dejar que las capas se separen. Dejar correr la capa de cloroformo en el segundo embudo, lavando dos veces con 0.5 ml de cloroformo, como antes, y agregando los lavados al extracto principal. Rechazar la capa acuosa.

Agregar 10 ml de ácido sulfúrico 1 N a los extractos combinados, agitar por 5 segundos, y dejar que las capas se separen.

Nota 8 El tratamiento con el ácido sulfúrico 1 N es introducido principalmente para prevenir cualquier interferencia del fosfato, posiblemente presente en el material a ser examinado. No obs

tante una traza de fosfato arrastrado formaríamolibdofosfato, que, en la reducción, daría un color azul y tal conducirá a resultados altos para el arsénico.

Dejar correr la capa de cloroformo en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, lavar la capa de ácido sulfúrico con 2 porciones pequeñas de cloroformo, sin mezclado, y agregar los lavados a la solución de cloroformo en el matraz. Durante esta operación debe tenerse cuidado para no dejar entrar nada de la capa acuosa a la llave del embudo.

Agregar 2.0 (\pm 0.02) ml de la solución ácida de molibdato, de una pipeta, a la solución de cloroformo, cerrar la boca del matraz con una trampa Kjeldahl, y evaporar el cloroformo en un baño de agua hirviendo, conduciendo la evaporación lentamente y cuidadosamente. Cuando el cloroformo ha sido quitado, transferir el matraz a una parilla de calentamiento, y evaporar hasta que los vapores del ácido perclórico aparezcan, acompañados por una brusca reacción. — Continuar calentando por 1 minuto aproximadamente, dejar enfriar, y quitar la trampa Kjeldahl, lavandola con unas go--

tas de agua. Evaporar la solución del matraz justo hasta que aparezcan los vapores otra vez, sin la trampa Kjeldahl. Todas las trazas de materia orgánica deberán haber desaparecido por esta etapa.

Insertar en el matraz un condensador "cold finger" - - (Fig. 1A), llenado siempre con agua fría; el exterior del condensador debe estar limpio y seco. Colocar el matraz en la parilla de calentamiento (una parilla de calentamiento con una temperatura de superficie de 250° C aproximadamente es adecuada para esta operación), calentar por 10 minutos a una temperatura para que el matraz se llene de vapores hasta la mitad y la temperatura del agua en el condensador se eleve a 90° C (\pm 5° C) aproximadamente al final del período de calentamiento de 10 minutos. Entonces dejar enfriar la solución.

DETERMINACION DE ARSENICO

Enjuagar el condensador y los lados del matraz con 7.0 ml de ácido sulfúrico 1 N y entonces con 2.0 ml de agua (usar una pipeta para ambas adiciones). Cerrar el matraz con

una trampa Kjeldahl, y mantener en ebullición hasta que el volumen total sea reducido a 6 o 7 ml y el cloro libre haya sido quitado. Enfriar la solución, que deberá ser clara e incolora en esta etapa, agregar 1.0 ml de la solución de -- sulfato de hidracina, mezclar, y transferir a un matraz volumétrico de 10 ml con tapón, lavando el matraz Erlenmeyer con uno o dos mililitros de agua y usando los lavados para diluir la solución a la marca de 10 ml. Mezclar completamente por agitación, y regresar la solución al matraz Erlenmeyer de 50 ml. Cerrar la boca del matraz con una trampa - Kjeldahl, y calentar el matraz en un baño de agua hirviendo por 15 minutos. Quitar el matraz del baño, y dejarlo enfriar por 30 minutos.

Nota 9 Si se observa algún desvanecimiento debido a la presencia de un exceso de cloro, la solución deberá ser rehervida y repetida la reducción con el sulfato de hidracina.

Medir la densidad óptica de la solución prueba contra la solución "blanco" en celdas de 2 cm con un espectrofotómetro a 840 m μ .

Como una comprobación en el procedimiento, la densidad óptica de la solución "blanco" medida contra una solución - consistiendo de 2 ml de la solución ácida de molibdeno y 8-ml de ácido sulfúrico 1 N deberá ser de 0.0 a 0.05 medida - en el espectrofotómetro, usando una celda de 2 cm a una lon- gitud de onda de 840 $m\mu$. El uso de los reactivos purifica- dos especialmente reduce el "blanco" considerablemente.

Leer el número de microgramos de arsénico equivalente- a la densidad óptica observada de la gráfica de calibración establecida como se describe a continuación.

PREPARACION DE LA GRAFICA DE CALIBRACION

Colocar 0, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, y 2.0 ml de la solución estandard de arsénico (b) en los matraces Erlenmeyer de 50-ml, y agregar a cada uno 2.0 ml de la solución ácida de mo- libdeno y 7 ml de ácido sulfúrico 1 N. Mezclar bien, y ca- lentar los matraces en una parilla de calentamiento hasta - que el volumen haya sido reducido a 5 o 6 ml. Enfriar las- soluciones, a cada una agregar 1.0 ml de la solución de sul- fato de hidracina, mezclar, y transferir a tubos de ensayo-

de 10 ml con tapón, lavar los matraces con una pequeña cantidad de agua, y usar los lavados para diluir las soluciones principales a la marca de 10 ml. Mezclar completamente, y regresar cada solución a su matraz Erlenmeyer original de 50 ml. Cerrar la boca de cada matraz con una trampa Kjeldahl, y calentar los matraces en un baño de agua hirviendo por 15 minutos; entonces dejarlos enfriar por 30 minutos. - Medir la densidad óptica de cada solución contra la primera solución (no conteniendo arsénico) en un espectrofotómetro a 840 μ , usando una celda de 2 cm. Construir una gráfica relacionando la densidad óptica al número de microgramos de arsénico.

3.1.3 PURIFICACION DE LOS REACTIVOS

Solución de ácido tioglicólico. Extraer 100 ml con 10 ml del reactivo de ditiocarbamato y con dos porciones de 5 ml de cloroformo. Almacenarla en una botella de vidrio de color ambar, y desecharla después de un mes.

Reactivo de yoduro de potasio-ácido ascórbico. Extraer

100 ml con 10 ml del reactivo de ditiocarbamato y con dos porciones de 5 ml de cloroformo. Almacenarla en una botella de polietileno, y prepararla cada 2 o 3 días.

Acido sulfúrico, N. Preparar del ácido sulfúrico "para el análisis de los productos alimenticios". Almacenar en una botella de polietileno.

Solución ácida de molibdato. Extraer exactamente 250 ml de una solución al 7% peso/V de molibdato de amonio, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, en agua con 2 porciones de 10 ml del reactivo de ditiocarbamato en cloroformo. El extracto final de cloroformo no deberá ser más oscuro que el color de la paja. Algunas soluciones de molibdato de amonio dan un segundo extracto más profundamente coloreado; tal material dará valores altos del "blanco" y no deberá ser usado para la determinación de las trazas de arsénico. Mezclar la solución extraída con exactamente 250 ml de ácido sulfúrico 10 N (preparado del ácido sulfúrico "para el análisis de los productos alimenticios"), filtrar en un matraz calibrado de 1 lt, y lavar el filtro con agua. Agregar exactamente 250 ml de ácido perclórico 4 N (preparado del ácido per-

clórico, al 60% V/V), y diluir a 1 litro a 20° C con agua.- Almacenar en una botella de polietileno.

3.1.4 RESULTADOS

La variación en los resultados para la leche en polvo (Tabla 1, Capítulo XIV), particularmente cuando fueron usados diferentes pesos de la muestra, indicó que el contenido de arsénico estaba bajo el límite inferior de exactitud del método. En la determinación de las trazas de los elementos por un procedimiento colorimétrico es axuomático que el valor del "blanco" no debe exceder el valor experimental neto. Las densidades ópticas de las determinaciones en "blanco" - reportadas por los laboratorios variaron de 0.04 a 0.10, medidas en celdas de 2 cm, correspondiendo a un rango de 0.6- a 1.5 μg de arsénico. De aquí que el límite inferior del método estuvo en el rango de 0.6 a 1.5 μg de arsénico, dependiendo de los reactivos usados. Sin embargo, usando los reactivos purificados por la previa extracción con el dietilditiocarbamato de dietilamonio como se describió, los valores de la densidad óptica del "blanco" fueron reducidos -

de 0.01 a 0.03, correspondiendo al rango de 0.15 a 0.45 μg de arsénico. Un valor de la densidad óptica tan bajo como 0.007 fue reportado de un laboratorio cuando estos reactivos purificados fueron usados, aunque tal "blanco" trae la pregunta de la exactitud del espectrofotómetro en esta región. Es considerado, sin embargo, que el uso de estos reactivos purificados extendería el rango del método hasta 0.5 μg de arsénico; deberán hacerse pruebas a esta concentración.

3.2 DETERMINACION DE CALCIO

Debido a la amplia distribución del calcio en la naturaleza, una gran variedad de procedimientos se han desarrollado para cuantificarlo. La presencia de los metales, sin embargo, con frecuencia interfieren con las reacciones químicas involucradas en la medición del calcio, tal que varios procedimientos deben ser usados para evitar la interferencia.

El calcio que juega un papel importante en las propiedades físicas y químicas de la leche, debe medirse exactamente sobre una base de rutina. Varios métodos reportados en la literatura están basados en la titulación con el ácido etilendiaminotetracético (EDTA) (51,137,218,223) y varios indicadores, pero los iones ortofosfato que se encuentran en la leche pueden interferir con la medición final (82,109,113).

Varios métodos (83,117,231) reportados más recientemente están basados en el color formado con 2,2'-(ethanediyldenedinitrilo) diphenol [glyoxal bis (2-hydroxyanil) (GBHA)], una base Schiff, donde es formada una sal compleja interna roja. La interferencia por otras sales o iones puede ser --

bloqueada fácilmente para dar una prueba específica para el calcio (83). El método presenta la microestimación del calcio en la leche que tiene la ventaja de un procedimiento colorimétrico. Requiere únicamente una pequeña muestra y evita la dificultad de determinar una exacta medición final. - Estas modificaciones son adaptadas para perfeccionar considerablemente el método de Kerr (117) y originar un procedimiento adaptable para los materiales biológicos (171).

3.2.1 EXPERIMENTAL

APARATOS

El espectro inicial se determinó con un espectrofotómetro Beckman Modelo DB, con registrador. La absorbancia del complejo de calcio rojo fue medida con un espectrofotómetro Beckman Modelo DU, usando pares de celdas rectangulares iguales de 1 cm en cada caso. Los valores del pH de las soluciones reguladoras y de las mezclas de las reacciones fueron -- comprobadas con un pH-metro.

REACTIVOS

Solución estándar de calcio. Disolver 2.4972 gramos - de carbonato de calcio grado reactivo, secado a 110° C, en HCl concentrado (lo suficiente para disolver al CaCO_3). Diluir a 1 lt con agua desionizada. Esta solución contiene -- 1.00 mg de calcio por ml (113).

Solución de Glyoxal Bis(2-hydroxyanil), al 0.5%. Disolver 0.5 gramos de glyoxal bis(2-hydroxyanil) en 100 ml de metanol redestilado (117).

Solución reguladora con pH de 12.7. A 1 lt de tris (hidroximetilaminometano) 0.1 M agregar 100 ml de hidróxido de potasio al 10%.

Solución de axalato de amonio-ácido oxálico con pH de 5 (95). Disolver 27 gramos de oxalato de amonio y 1.26 gramos de ácido oxálico cristalino y diluir a 2 lt con agua desionizada.

Los demás reactivos fueron grado reactivo, excepto que-

el metanol y etanol (al 90%) fueron destilados antes de usar se.

PROCEDIMIENTO

Pipetear una muestra de 2 ml (con una concentración de 0.40 a 4.00 mg de calcio por ml) en un tubo centrifugo de -- base redonda de 50 ml, y agregar 10 ml de la solución de oxa lato de amonio-ácido oxálico después que el pH es ajustado a un pH superior de 5 con hidróxido de potasio al 10%, usar 1-gota de rojo congo como indicador. Los tubos son tapados y- dejados reposar por 1 hora.

Después del período de tiempo, se colocan los tubos en- una centrífuga haciendola girar por 15 minutos a 3000 r.p.m. Vaciar cuidadosamente el sobrenadante. El precipitado es di sueldto en HCl 1 N (2 ml aproximadamente). La solución se - transfiere cuantitativamente y se diluye para dar una concen tración de calcio con el rango deseado. Para una muestra de leche descremada, el precipitado se transfiere a un matraz - volumétrico de 200 ml y el volumen es completado con agua -- desionizada.

Después de una ulterior dilución 1:1, pipetear una muestra de 10 ml en un matraz Erlenmeyer, y agregar 5 ml de la solución reguladora (pH de 12.7). El "blanco" son 10 ml de agua desionizada y 5 ml de la solución reguladora (pH de 12.7). Agregar 20 ml del reactivo de color, glyoxal bis(2-hydroxyanil), y 20 ml de etanol en ese orden, mezclando después de cada adición, antes de proceder al próximo matraz. La absorbancia es medida después de 10 min de haber comensado el período de formación del color.

3.2.2 RESULTADOS Y DISCUSION

LONGITUD DE ONDA OPTIMA PARA LA MEDICION DE LA ABSORBANCIA DE LA LUZ

La absorbancia de la luz del complejo de calcium-glyoxal bis(2-hydroxyanil) se estudió sobre un amplio rango del registrador del espectrofotómetro, y entonces en más detalle en el modelo Beckman DU. La absorbancia del color del complejo es máxima a 524 m μ , como se presenta en la figura 2.

EFEECTO DEL SISTEMA DE SOLVENTE

Kerr (117) obtuvo mejor estabilidad del color con una mezcla de etanol y alcohol n-butílico, pero el etanol y el metanol también dieron buena estabilidad. Un estudio de estos sistemas de solvente demostró que el etanol sólo fue apropiado (Figura 3), pero fue esencial destilar los solventes recientemente. Con etanol impuro se obtuvieron resultados inciertos.

ESTABILIDAD DEL COLOR DEL COMPLEJO

Hay un gradual decrecimiento en la absorbancia con el tiempo, pero la lectura es relativamente estable entre 4 y 20 minutos (Figura 4). Se recomienda que la muestra sea leída después de 10 minutos de haber comenzado el período de formación del color.

EFEECTO DEL pH

El color del complejo se encontró que era más estable entre pH de 12.5 y 13.0. Resultados uniformes requirieron --

control exacto del pH. Por lo que se usó más buffer y pH -- ligeramente superior que en el método de Kerr.

CURVA DE CALIBRACION Y PRECISION

Para construir una curva de calibración y determinar la precisión del procedimiento, la absorbancia producida a seis concentraciones diferentes de calcio se determinó 16 veces.-- La Tabla 2 presenta la precisión del método medida por la -- desviación estandard promedio para cada concentración.

RECUPERACION DEL CALCIO AGREGADO

Las recuperaciones del calcio fueron buenas cuando la leche descremada fue medida antes y después de la adición de -- 0.16 a 8.00 mg de calcio por ml. (Tabla 3). Los experimentos de recuperación también demostraron que el procedimiento se compara favorablemente en sensibilidad con el método EDTA (95).

EFEECTO DEL FOSFATO

Pequeñas cantidades de fosfato tuvieron un marcado efecto en la formación del color. A bajas concentraciones ($1\ \mu\text{g}$) de calcio tan pequeñas como $2\ \mu\text{g}$ por ml de fosfato, interfiere. La interferencia es más pronunciada a altas concentraciones de calcio. En el procedimiento, la interferencia por el fosfato se eliminó por la precipitación del calcio con el oxalato previa a la formación del color. En la ausencia de la interferencia del fosfato, el paso de la precipitación del oxalato puede ser eliminado.

EFEECTO DEL MAGNESIO

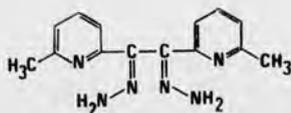
El magnesio interfiere con la formación del color únicamente cuando se tiene una concentración arriba de $40\ \mu\text{g}$ de magnesio por ml.

El procedimiento es aplicable a otros materiales biológicos tan bien como la leche porque el magnesio interfiere solamente a altas concentraciones y la interferencia del fosfato puede ser eliminada. La influencia de otros metales y iones ha sido investigada y eliminada por Goldstein (83) y Kerr (117).

3.3 DETERMINACION DE COBRE POR EL METODO DE DIHIDRAZONA- DEL BIS(6-METIL-2-PIRIDIL) GLIOXAL

La operación descrita en esta sección forma parte de -- una investigación sobre el uso de las hidrazonas para el aná- lisis de las trazas de metal (186). Los reactivos tipo fe-- rroina (2,2'-dipiridilglioal dihidrazona, diacetil hidrazo- na y hidrazona de la fenil 2-piridil cetona) han sido aplica- dos (85) en la determinación espectrofotométrica de las tra- zas de fierro, mientras que la hidrazona del 6-metil-picolin- aldehido se usó como un reactivo selectivo del tipo cuproina para la determinación del cobre.

En este método (221), la dihidrazona del bis (6-metil-2- piridil) glioal fue empleada para la determinación selecti- va de las trazas de cobre en la leche.



**QUIMICA**

3.3.1 EXPERIMENTAL

SINTESIS DEL REACTIVO

Cinco mililitros de hidrato de hidracina al 99% m/m se agregaron a 6 g de bis (6-metil-2-piridil) glioxal disueltos en 150 ml de etanol absoluto caliente y la mezcla fue refluja da por 24 horas. Al enfriar a 0° C, los cristales que se separaron fueron filtrados y recristalizados dos veces con etanol caliente. Los cristales finalmente obtenidos, se separaron a 60° C bajo presión, fueron blancos y fundieron de 154 a 155° C. En el análisis su contenido elemental fue de: C 62.5, H 5.9 y N 31.5%; el contenido calculado para $C_{14}H_{16}N_6$ fue: C 62.67, H 5.96 y N 31.34%.

APARATOS

Espectrofotómetros-Unicam SP800, Unicam SP600 y Beckman DU, equipados con celdas de vidrio o de cuarzo de 1 cm.

pH-metro digital-Philips, PW9408, con electrodos de vidrio y calomel.

SOLUCIONES

Todos los solventes y reactivos fueron de grado reactivo.

Soluciones del reactivo de dihidrazona del bis (6-metil-2-piridil) glioxal. Soluciones con una concentración de 0.1% m/V en etanol y 0.05% m/V en nitrobenzeno.

Soluciones tipo de cobre (II).

Solución reguladora de ácido acético-acetato de sodio, -pH de 4.8.

Solución de extracción. Disolver 5 g de perclorato de sodio monohidratado y 3 g de ácido ascórbico en 250 ml de la solución reguladora de arriba. Esta solución permanece estable por 1 semana.

Acido tricloroacético, solución acuosa al 50% m/V.

PROCEDIMIENTO

A 100 ml de leche en un matraz Erlenmeyer de 300 ml -- agregar 25 ml de solución de ácido tricloroacético al 50% -- m/V, lentamente y con agitación constante. Agitar el matraz vigorosamente, colocarlo en un baño de agua hirviendo por 15 minutos y enfriar en agua con hielo a 10° C. Transferir 25-ml del líquido flotante en un embudo de separación. Agregar 7 ml de la solución de hidróxido de sodio 2 M, 10 ml de la solución de extracción y 10 ml de la solución del reactivo -- al 0.05% m/V en nitrobenceno. Agitar el embudo vigorosamente por 1 minuto, dejar que las fases se separen y transferir la capa inferior en un matraz conteniendo sulfato de sodio -- anhidro. Medir la absorbancia de esta solución a 440 mm contra la solución del reactivo en nitrobenceno. Obtener el -- contenido de cobre, en microgramos o ppm, de una gráfica de calibración preparada substituyendo las soluciones de cobre-- apropiadas y agua destilada por la muestra de leche.

3.3.2 RESULTADOS Y DISCUSION

REACTIVO DE DIHIDRAZONA DEL BIS(6-METIL-2-PIRIDIL) GLIOXAL

El espectro ultravioleta para el reactivo presenta un cambio batocrómico en un medio ácido ($\lambda_{\text{máx}}$ 347 y 268 nm) -- comparada con un medio alcalino ($\lambda_{\text{máx}}$ 295 nm, con un reborde a 266 nm), con dos puntos de máxima absorbancia a 277 y 313-nm. El método de Phillips y Merritt (186) se emplea para la determinación de la constante de ionización; el valor de pK -promedio es de 4.82. Este comportamiento puede ser causado por la protonación de los átomos de nitrógeno en los anillos de piridina; el valor de pK es muy similar al de la piridina y sus derivados.

El reactivo es resistente a la hidrólisis en un medio fuertemente ácido (ácido clorhídrico 6M). Esta propiedad es usual con las α -diminas, en contraste con las correspondientes iminas; la hidrazona del 6-metil-picolin-aldehído se hidroliza en ácido clorhídrico 2M a 20° C en 30 minutos.

Se investigó la reacción del reactivo con 30 cationes -- a varios valores de pH; y se encontró que solamente reacciona con el cobre (I) y el paladio, y el espectro de absorción de las soluciones de estos metales son presentados en la -- Fig. 5. El reactivo actúa como un reactivo del tipo cuproii-

na en que los grupos metil adyacentes al átomo de nitrógeno- en la piridina producen el bien conocido efecto de bloqueo.

REACCION CON EL COBRE (I)

Medio auoso. El complejo de cobre (I) naranja-amari- - llo 1:1 (relación encontrada por el método absortimétrico -- de Job, por el aislamiento del complejo de perclorato, $[Cu-- (C_{14}H_{16}N_6)]$ ClO_4 , en el estado sólido y análisis elemental*) del reactivo se forma completamente sobre el rango de pH de- 4.5 a 11.2 en solución acuosa (ver Fig. 6). Se determinó el efecto de otras variables experimentales. El sistema con- - cuerda con la ley de Beer sobre este rango de pH, la absorti- vidad molar (ϵ) es de $8.7 \times 10^3 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. El rango de - concentración óptimo, evaluado por el método de Ringbom, es- de 2 a 5 ppm de cobre. La intensidad del color de las solu- ciones del complejo permanece constante por varias horas. - El error relativo ($P=0.05$) del método es $\pm 0.13\%$.

* Los resultados del análisis fueron C 38.7, H 3.5 y N- 19.1%; valores calculados, C 38.96, H 3.71 y N 19.48%.

La reacción del color es selectiva para el cobre. La plata, mercurio (II), mercurio (I), cadmio, zinc, fierro - (II), cobalto (II), talio, plomo, estaño (II), uranio (VI), calcio, estroncio y bario no interfieren hasta una concentración de 300 ppm en la solución reguladora de pH de 4.8. El níquel no interfiere a una concentración de 50 ppm, mientras que el fierro (III), bismuto, antimonio (III), y manganeso - (II) precipitan a una concentración de 100 ppm. Las interferencias más serias son del paladio, oro (III), EDTA y oxalato. A un pH de 8.7 las interferencias son muy grandes.

Extracción. El complejo colorido formado en la solución acuosa puede ser extraído en varios solventes orgánicos, tal como pentanol, cloroformo y metil-isobutil-cetona (MIC).

Los iones de cobre (I) son completamente extraídos cualquiera de los dos, nitrobenceno o cloroformo, con perclorato en la fase acuosa. El rango óptimo de pH es de 3.2 a 5.7 (nitrobenceno) y de 4.5 a 5.7 (cloroformo); del pH de 9 a 12 la absorbancia permanece más baja pero estable con el pH y el tiempo (Fig. 6). La ley de Beer se cumple en el intervalo de pH de 4.8 a 10.9 con ambos solventes. Las solu--

ciones orgánicas coloreadas son estables por varias horas.

Los resultados (Tabla 4) son comparables con los obtenidos por Smith (203) en 1967 usando el mismo método con una solución al 0.05% m/v de dibenzilditiocarbamato de zinc en tolueno.

3.4 DETERMINACION DE COBRE POR EL METODO DE DIETILDITIO- CARBAMATO DE DIETILAMONIO

Los reactivos del cobre del tipo ditiocarbamato tuvieron una obvia demanda para consideración, pero, antes de -- adaptar finalmente alguno de este grupo, se consideró tam--- bién los méritos del derivado más recientemente introducido-- 1,10-fenantrolina. De estos derivados, la neocuproina (2,9-- dimetil-1,10-fenantrolina) fue investigada sobre una base -- práctica en experimentos individuales y colaborativos. La - neocuproina puede usarse bajo condiciones en que es virtual- mente específica para el cobre, pero estas condiciones impo- nen un rango de pH estrecho en una región donde, por ejemplo, ciertas sales de los metales alcalinotérreos pueden precipi- tar si se encuentran en cantidades moderadas. La literatura también se refiere a precipitación la cual ha sido atribuida al mismo reactivo o a algún compuesto del reactivo, y este - problema no parece que haya sido aclarado o resuelto.

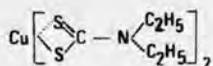
Comparada con los dietilditiocarbamatos, la neocuproina tiene solo 2/3 de la sensibilidad para el cobre, mientras -- que el 2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina (batocuproi

na es aproximadamente 2 veces sensible; el último reactivo-- también ha sido investigado en la forma de su ácido disulfónico soluble en agua. Cuando más experiencia e información-- se haya acumulado sobre el uso de estos derivados de la 1,10--fenantrolina pueden bien ser adaptables a métodos para la aplicación general con algunas ventajas sobre la práctica. -- Entretanto, se pensó que los ditiocarbamatos son adecuados -- para las necesidades actuales (8).

3.4.1 METODO

PRINCIPIO DEL METODO

La materia orgánica en la muestra es destruida por un -- método de oxidación húmeda adecuado. El residuo es diluido-- con agua, son agregados el ácido etilendiaminotetracético -- (EDTA) y el citrato, y el pH es ajustado a 8.5 con la solu-- ción amoniacal diluida. La solución es entonces agitada con una solución de dietilditiocarbamato de dietilamonio en te-- tracloruro de carbono. El complejo de cobre café-dorado es-- formado y extraído, juntamente con los del bismuto y del te--



lurio, si se encuentran en la solución de la capa acuosa en el tetracloruro de carbono. La capa orgánica es separada, y su densidad óptica es medida a 436 $m\mu$.

El extracto de tetracloruro de carbono que contiene el complejo de cobre es probado para el bismuto y el telurio -- por la agitación con la solución acuosa de cianuro de potasio. Si el bismuto o el telurio se encuentran presentes, -- otra porción de la solución de la muestra es extraída por el procedimiento usual, pero la solución de los dietilditiocarbamatos en tetracloruro de carbono es lavada con la solución de hidróxido de sodio para descomponer los complejos de bismuto y telurio, y el complejo de cobre estable es determinado absorptiométricamente como antes.

APLICABILIDAD

El método es de aplicabilidad general, pero el bismuto y el telurio interfieren. Se describe un procedimiento por-

el cual se supera la interferencia de estos 2 metales.

RANGO

La alícuota tomada de la solución de la muestra no deberá contener más de 50 g de cobre. El límite inferior de la medición es de 2 g aproximadamente, pero depende de la magnitud del valor del reactivo "blanco" y el tipo de equipo -- espectrofotométrico disponible.

APARATOS

Todo el material de vidrio deberá ser de vidrio borosilicato y debe limpiarse completamente con ácido sulfúrico y ácido nítrico y entonces lavarse con agua destilada inmediatamente antes de usarse.

REACTIVOS

Todos los reactivos deberán de ser de grado reactivo. Los reactivos para la digestión de la materia orgánica son especificados en los métodos generales referidos -

en el "Procedimiento".

Agua. Usar agua desionizada o agua redestilada en un aparato todo de vidrio para la preparación de los reactivos y para usarse en el procedimiento.

Solución amoniacal, 6 N. Purificar por extracción con porciones de 15 ml de la solución de dietilditiocarbamato de dietilamonio hasta que no sea extraído más color. Alternativamente, la solución amoniacal concentrada puede ser diluida con agua "para el análisis de los productos alimenticios".

Solución de dietilditiocarbamato de dietilamonio. Preparar una solución al 0.1% peso/V en tetracloruro de carbono.

Solución de EDTA-citrato. Disolver 20 g de citrato de amonio y 5 g de etilenediaminotetracetato disódico en agua, y diluir a 100 ml con agua. Purificar por extracción con porciones de 15 ml de dietilamonio hasta que no sea extraído más color.

Solución de cianuro de potasio. Una solución al 5% pe-

so/v en agua.

Solución de hidróxido de sodio, 1 N. Purificar por -- extracción con porciones de 15 ml de la solución de dietil-- ditiocarbamato de dietilamonio hasta que no sea extraído más color.

Solución estandard de cobre. Disolver 0.393 g de sulfato de cobre, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, en ácido sulfúrico 2 N, y diluir a 1 litro con ácido sulfúrico 2 N.

1 ml $\bar{=}$ 100 μg de cobre.

Diluir esta solución con ácido sulfúrico 2 N antes de - usar para obtener una solución estandard de trabajo que con- tenga 2 g de cobre por ml.

Acido sulfúrico, 2 N.

Solución indicadora de azul de timol. Calentar 0.1 g - de azul de timol con 4.3 ml de la solución de hidróxido de-

sodio 0.05 N y 5 ml de etanol al 90% V/V hasta disolver; diluir con etanol al 20% V/V a 250 ml.

3.4.2 PROCEDIMIENTO

VALOR DEL REACTIVO BLANCO

Llevar a cabo una determinación del "blanco", por todo el procedimiento, en las precisas cantidades de los reactivos empleados en la determinación, omitiendo solamente la muestra.

DIGESTION DE LA MATERIA ORGANICA

Usar cualquiera de los métodos A-D (7) para la destrucción de la materia orgánica con la "Continuación de los Métodos," que se encuentran en las pp. 49-53.

La descomposición en seco puede ser preferida en algunas circunstancias para la destrucción de la materia orgánica en la muestra; el método recomendado puede fácilmente ser adaptado a tales procedimientos, y no es intencional excluir tales métodos. La posibilidad de las pérdidas bajo algunas condiciones de la descomposición en seco puede, sin embargo, tenerse presentes; Gorsuch (84) ha demostrado y discutido la extensión de esta pérdida.

Enfriar el residuo de la digestión húmeda, y diluirla con agua. Si hay materia insoluble, filtrar la solución a través de un papel filtro lavado con ácido, y lavar el papel-filtro con agua.

Diluir la solución con agua a cualquier volumen conveniente.

DETERMINACION DE COBRE

Transferir 10 ml de la solución de EDTA-citrato y una alícuota de 25 ml de la solución preparada del residuo de la digestión a un embudo de separación. Agregar 0.25 ml (5 go-

tas) de la solución indicadora de azul de timol y la solución amoniacal 6 N hasta que la solución sea de un color verde o verde azulada; enfriar la solución antes del ajuste final.

Agitar la solución vigorosamente por 2 minutos con 15 ml de la solución de dietilditiocarbamato de dietilamonio, y dejar que las capas se separen. Colocar un pedazo de algodón de lana en el vástago del embudo de separación, y, sin tardanza, dejar correr la capa de tetracloruro de carbono en una celda espectrofotométrica de 1 cm. Tener cuidado para evitar la exposición indebida del extracto a la luz, de otra manera puede ocurrir desvanecimiento. Si hay demora en separar las dos capas después de la extracción puede ocurrir también desvanecimiento.

Medir la densidad óptica inmediatamente contra la solución del reactivo "blanco" a 436 $m\mu$. Convertir la densidad óptica obtenida a microgramos de cobre por referencia a una gráfica de calibración preparada como se describe en la "Calibración."

Prueba cualitativa para el bismuto y telurio. Transferir el extracto de tetracloruro de carbono de la celda a un tubo de ensayo de 25 ml o a un embudo de separación. Agregar 10 ml de la solución de cianuro de potasio, y agitar. Si la capa de tetracloruro de carbono se torna incolora, quiere decir que no hay bismuto y telurio.

Determinación de cobre en la presencia de bismuto y telurio. Repetir la determinación en otra alícuota de 25 ml de la solución de la muestra. Transferir el extracto de tetracloruro de carbono a un embudo de separación, agregar 10 ml de hidróxido de sodio 1 N, y agitar. Después que la separación ha tenido lugar, quitar la capa acuosa tan completamente como sea posible, repetir el lavado con otra porción de 10 ml de hidróxido de sodio 1 N, y finalmente lavar el extracto de tetracloruro de carbono con 10 ml de agua. Filtrar el extracto a través de un tapón de algodón de lana insertado en el vástago del embudo. La capa acuosa no deberá permanecer en contacto con la capa orgánica más de lo que fuese necesario, de otra manera puede ocurrir descoloración; también deberá tenerse cuidado para evitar la exposición indebida de la capa orgánica a la luz.

Medir la densidad óptica debido al dietilditiocarbamato de cobre en la capa orgánica.

Calibración. Transferir a una serie de embudos de separación porciones de 10 ml de la solución de EDTA-citrato y las siguientes cantidades de la solución estándar de trabajo de cobre y ácido sulfúrico 2 N:

Solución estándar de
trabajo de cobre

| | | | | | | | | |
|-------------------------------|----|----|------|----|----|----|----|----|
| (1 ml = μ g de cobre), ml | 0 | 1 | 2.5 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
| ácido sulfúrico 2 N, ml | 25 | 24 | 22.5 | 20 | 15 | 10 | 5 | 0 |

Aplicar el procedimiento descrito en la "Determinación de Cobre" a cada mezcla; medir la densidad óptica de cada solución contra tetracloruro de carbono, y construir una gráfica relacionando la densidad óptica a 436 $m\mu$ a los microgramos de cobre.

3.4.3 EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

De los diferentes procedimientos en los cuales son usados los ditiocarbamatos, el adoptado por el International --

Union of Pure and Applied Chemistry (8) pareció el más aceptable. Muchos metales reaccionan con los dietilditiocarbamatos, pero, en presencia del etilendiaminotetraacético (EDTA) y el citrato, toda la interferencia excepto la del bismuto y el telurio es superada por los efectos enmascaradores de estos agentes acomplejantes. El dietilditiocarbamato de sodio es usado en el método de la IUPAC. Teniendo presente la superior sensibilidad del dibenzilditiocarbamato de zinc, se investigó la posibilidad de substituir este reactivo en el método de la IUPAC. Se encontró, sin embargo, que en la prueba para detectar el bismuto y el telurio, el cianuro de potasio destruye solamente una pequeña porción del complejo de cobre.

Se hizo una proposición para substituir el dietilditiocarbamato de dietilamonio por la sal de sodio usada en el método de la IUPAC, ya que este reactivo ofrece ciertas ventajas; la solución acuosa de la sal de sodio es inestable, pero la sal de dietilamonio puede disolverse en tetracloruro de carbono para proveer una solución reactivo, mucho más estable. En lugar de agregar la solución acuosa de dietilditiocarbamato de sodio a la solución prueba y extraer el com-

plejo de cobre con el tetracloruro de carbono, el cobre es ahora extraído más simplemente por la agitación de la solución prueba con la solución de la sal de dietilamonio (al 0.1%) en tetracloruro de carbono. Se encontró que esto era más conveniente en el procedimiento analítico y en la purificación de la solución reactivo. Antes de que esta modificación fuera adoptada se sometió a pruebas colaborativas; ver la sec. 5.2, pp. 150-159.

En el laboratorio, los experimentos de recuperación fueron llevados a cabo en una mezcla de sales inorgánicas simulando los productos de la descomposición húmeda de 5 g de leche en polvo saturada con crema. La solución preparada fue:

| | |
|----------------------------------------|----------|
| Alumbre férrico..... | 0.05 g |
| Carbonato de calcio..... | 2.0 g |
| Sulfato de magnesio heptahidrato..... | 0.84 g |
| Ortofosfato monobásico de potasio..... | 2.60 g |
| Acido clorhídrico, concentrado..... | 50 ml |
| Agua..... | a 500 ml |

La solución fue extraída con la solución de dietilditio

carbamato de dietilamonio en tetracloruro de carbono para -- quitar el cobre que puedan tener los productos químicos.

A alícuotas de 25 ml se les agregaron cantidades conocidas de cobre (ver la Tabla 5) o de cobre y bismuto (ver la - Tabla 6), y las soluciones se calentaron con 5 ml de ácido - sulfúrico concentrado hasta que los vapores fueron emitidos. Cada solución fue enfriada y diluida a 25 ml, y fue entonces tratada como se describió en la "Determinación de Cobre", -- p. 101. Los datos de las recuperaciones para el cobre de estos experimentos son presentados en las Tablas 5 y 6.

PRECAUCIONES CONTRA EL DESVANECIMIENTO

En el paso de la extracción se indicó que el color de - la solución de tetracloruro de carbono del complejo del me-- tal puede descolorarse a menos que la capa orgánica sea qui- tada del contacto con la capa acuosa tan pronto como se ha - separado. Un efecto similar también se observó en la deter- minación de cobre en la presencia del bismuto cuando este úl timo fue quitado del extracto de tetracloruro de carbono por la agitación con el hidróxido de sodio 1 N. Se encontró ne-

cesario quitar el tetravloruro de carbono del contacto con la capa acuosa tan rápidamente como era posible y lavar la capa orgánica inmediatamente con agua, de otra manera ocurre el desvanecimiento. Así después de 20 minutos en contacto con la solución de hidróxido de sodio las absorbancias de los dos extractos conteniendo cobre fueron reducidas de 0.140 y 0.544 a 0.108 y 0.492, respectivamente. Preventivos términos contra estas posibles fuentes de error han sido introducidos en el método recomendado.

3.5 DETERMINACION DEL COBRE POR EL METODO DE NEOCUPROINA

El reporte que aquí cito fue parte de un programa de investigaciones emprendidas en diferentes reactivo para la determinación del cobre. Se recomendó un método involucrando el uso del dietilamonio (111), y las razones para esta recomendación serán dadas en esta sección.

El 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproina) fue primero descrito como un reactivo para el cobre por Smith y McCurdy (204). Estos y otros investigadores (144,97) han descubierto que el reactivo es específico para el cobre. Ha sido usado para la determinación de pequeñas cantidades de cobre en metales y óxidos de metal (15,16,45,67,73,76,78,97, - 105,144), agua y bebidas (193), aceite combustible (236), -- fluidos biológicos (235) y fertilizantes (227). No se tiene noticia de algún método en el que los contenidos de cobre en los productos alimenticios hayan sido determinados con neocuproina, aunque al menos un investigador (193) expresó que el reactivo debería ser adecuado para este propósito.

Excelentes métodos son adecuados para la determinación-

del cobre en los productos alimenticios, y la mayoría de ellos involucran el uso de los reactivos del tipo de ditiocarbamato, que son más sensibles que la neocuproina (el dibenzil-ditio-carbamato de zinc, por ejemplo, es doblemente sensible). Sin embargo, en la opinión de Jones (111), el uso de la neocuproina merece mayor atención en virtud de su especificidad. En esta sección indicaremos algunos procedimientos en los que puede ser aplicado ventajosamente.

3.5.1 EXPERIMENTAL

La neocuproina reacciona con el cobre cuproso en el rango de pH de 2 a 9 para formar un complejo amarillo que se puede extraer en varios solventes orgánicos. Se agregó citrato a las soluciones de la muestra y se trabajó en el rango de pH de 5 a 7 para prevenir la precipitación del calcio. Las soluciones que, moderadamente contienen grandes cantidades de calcio están sujetas a formar precipitados cuando se agrega la solución etanólica de neocuproina, pero estos precipitados pueden ser redissueltos agregando más citrato.

El complejo cuproso-neocuproina fue extraído en cloroformo tal como lo describió Gahler (78), y los extractos combinados fueron diluidos con etanol. El etanol es necesario para estabilizar el complejo colorido, pero con tal que al menos 2 ml estén presentes en el volumen final de 25 ml, la cantidad usada no es importante. (El alcohol industrial absoluto desnaturizado puede usarse, pero el alcohol desnaturizado que contiene piridina causa resultados bajos.)

Los reactivos usados en el procedimiento de extracción pueden ser fácilmente purificados por el tratamiento con neocuproina y la extracción subsecuente de cualquier complejo de cobre formado en el cloroformo. Ya que los ácidos y la solución amoniacal no pueden ser purificados por este procedimiento, se usaron los reactivos purificados especialmente para la determinación del plomo en los productos alimenticios, ya que sus contenidos de cobre son algo inferior que el de los reactivos de grado reactivo. Por estos medios, los valores del reactivo "blanco" fueron reducidos a cifras nimias. Las medidas de la densidad óptica se hicieron en celdas de 1 cm con un espectrofotómetro Beckman-DU.

3.5.2 METODO

REACTIVOS

Acidos. Acido sulfúrico, densidad relativa de 1.84; ácido nítrico, densidad relativa de 1.42; y ácido perclórico, densidad relativa de 1.54; todos designados de grado "bajo - en plomo."

Solución amoniacal, densidad relativa de 0.88. De grado "bajo en plomo."

Etanol. Alcohol industrial absoluto desnaturalizado, - 74° O.P.

Solución de neocuproina. Preparar una solución al 0.1% peso/V del reactivo en etanol. Almacenar en una botella de vidrio libre de cobre o de polietileno.

Cloroformo. .Grado reactivo.

Solución de clorhidrato de hidroxilamina-citrato sódico

co. Disolver 25 g de clorhidrato de hidroxilamina y 150 g - de citrato sódico (ambos de grado reactivo) en 500 ml de agua en un embudo de separación grande. Agregar 10 ml de la solución de neocuproina, mezclar, y dejarlo reposar por 10 minutos. Extraer el cobre por agitación vigorosa con sucesivas-
porciones de 10 ml de cloroformo hasta que la capa orgánica-
sea incolora. Desechar los extractos de cloroformo, y alma-
cenar la solución en una botella de vidrio libre de cobre o-
de polietileno.

Solución estandard de cobre. Disolver 0.393 g de sulfato de cobre grado reactivo en agua conteniendo 5 ml de ácido sulfúrico y diluir con agua a 1 li. Diluir esta solución, -
que contiene 100 μ g de cobre por ml, 10- o 100-veces con - -
agua inmediatamente antes de usar.

PREPARACION DE LA GRAFICA DE CALIBRACION

Diluir porciones adecuadas de la solución estandard de-
cobre, cubriendo el rango de 0 a 150 μ g de cobre y poniendo-
las en embudos de separación de 100 ml, a 20 ml con agua. A
cada embudo agregar 10 ml de la solución de clorhidrato de hini

droxilamina-citrato sódico y 10 ml de la solución de neocuproina, mezclando después de cada adición, y dejarlos reposar por 15 minutos. Agregar 5 ml de cloroformo, insertar el tapón, agitar vigorosamente por 30 segundos, y dejar que las capas se separen. Secar el vástago del embudo con un rollo de papel filtro, y dejar correr la capa de cloroformo a través de un embudo pequeño adaptado con un tapón de lana de vidrio en un matraz calibrado de 25 ml conteniendo unos pocos mililitros de etanol; asegurar que nada de la capa acuosa sea transferida al matraz, o se producirá turbiedad. Extraer con 5 ml adicionales de cloroformo agitando por unos segundos, dejar que las capas se separen, y entonces agregar la capa de cloroformo al primer extracto. Diluir la solución en el matraz hasta la marca con etanol, y mezclar. Medir la densidad óptica de esta solución a $457\text{ m}\mu$ en una celda de 1-cm contra una solución "blanco" preparada llevando a cabo el procedimiento en 20 ml de agua. Construir una gráfica relacionando la densidad óptica al número de microgramos del cobre presente; que tal gráfica sea lineal y pase por el origen.

Quando este procedimiento fue usado se obtuvo un coefi-

ciente de extinción molar para el complejo cuproso-neocuproina de 8500 aproximadamente. La solución del complejo coloreado es estable y puede ser guardada en un material de vidrio claro por varias horas sin alteración en la densidad óptica. La medición óptica puede también hacerse con un absorbímetro adaptado con un Ilford No. 601 (violeta) o con filtros equivalentes.

Para evitar la transferencia de agua en el matraz calibrado, se pueden usar embudos de separación de tallo corto y llenando los diámetros interiores de las válvulas con cloroformo antes de usar. Es aconsejable aligerar la presión en el embudo aflojando el tapón y no haciendo girar la válvula.

PRODUCTOS ALIMENTICIOS CONTAMINADOS CON CALCIO

Originalmente, se determinó el cobre con neocuproina a un pH de 4 a 5, pero, cuando este método fue aplicado a digeridos que contenían cantidades apreciables de calcio, un precipitado se formaba ocasionalmente cuando se agregaba la solución etanólica de neocuproina; tal precipitación condujo a recuperaciones bajas del cobre agregado. Se pudo superar-

esta dificultad en dos procedimientos: (i) trabajando a un pH ligeramente superior y agregando más citrato y (ii) usando una solución acuosa de neocuproina. (El uso de la solución acuosa de neocuproina se describe abajo).

Este método se aplicó primero en las muestras preparadas evaporando las soluciones de fosfato monoácido de calcio en ácido sulfúrico diluido, hasta que los vapores fueron emitidos y entonces se trataron las soluciones como se describe en la determinación del cobre con neocuproina en los digeridos de la sacarosa (sección 11.2.1, p. 468). Para una solución derivada de 0.215 g de $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (equivalente a 50 mg de calcio), los resultados de los experimentos de recuperación fueron:

| | | | |
|---------------------|------|-----|------|
| Cobre agregado, g | Nada | 10 | 40 |
| Cobre encontrado, g | 0.0 | 9.5 | 40.0 |

y para una solución derivada de 0.43 g del fosfato (ésto es, 100 mg de calcio), los resultados fueron:

| | | | | | |
|-------------------|------|----|----|----|----|
| Cobre agregado, g | Nada | 10 | 20 | 40 | 40 |
|-------------------|------|----|----|----|----|

Cobre encontrado, g 0.0 10.0 19.5 39.0 40.0

Las pruebas en las soluciones de calcio preparadas similarmente por el método de dietilditiocarbamato de dietilamnio también presentaron la ausencia del cobre del fosfato de calcio.

El método de neocuproina se aplicó entonces para la determinación del cobre en el queso, harina de trigo y leche-- en polvo. Los contenidos de calcio de esta substancias fue- ron determinados después de la incineración en seco por el - método de Ince y Forster (103) y se encontró, 0.92, 0.23, y- 1.12%, respectivamente.

Las muestras fueron calentadas en un matraz Kjeldahl -- con ácido nítrico al 50% hasta que la reacción inicial disminuyó. El líquido se dejó enfriar, y lo grasoso se quitó por filtración. Después de la evaporación del filtrado y los lavados, se le agregó el ácido sulfúrico, y la digestión se -- continuó por el procedimiento usual. Finalmente, se agrega-- ron unos mililitros de ácido perclórico para destruir las últimas trazas de materia orgánica. Después que lo digerido -

se dejó enfriar, se agregaron 20 ml de agua aproximadamente, y la mezcla fue calentada hasta que los vapores fueron emitidos. El cobre fue entonces determinado con neocuproina como se describe en la determinación de cobre con neocuproina en los digeridos de la sacarosa (sec. 11.2.1 p. 468). Los resultados juntamente con los obtenidos en la harina de trigo por el método de dietilditiocarbamato de dietilamonio, son presentados en la Tabla 7. Para la determinación con dietilditiocarbamato de dietilamonio, el cobre fue extraído de la solución amoniacal en presencia del ácido etilendinitrilotetracético y del citrato por 15 ml de una solución al 0.1% del reactivo en tetracloruro de carbono; la densidad óptica del extracto fue medida a 435 m μ , y el contenido de cobre de la muestra fue calculado de una adecuada gráfica de calibración.

Los digeridos de la leche y del queso dieron un precipitado cuando se diluyeron con agua; para estas muestras, después de la adición de la solución de clorhidrato de hidroxilamina-citrato sódico, en lugar de hacer el ajuste usual del pH, la solución amoniacal fue agregada gota a gota, con agitación, hasta que la solución fue clara.

3.5.3 USO DEL REACTIVO DE NEOCUPROINA ACUOSO

La neocuproina es soluble en soluciones acuosas diluidas de ácidos minerales. Una solución acuosa del reactivo se preparó disolviendo 0.1 g de neocuproina en 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y diluyendo a 100 ml con agua destilada. Esta solución fue usada para la determinación del cobre en las soluciones que contenían sulfato de calcio y fosfato monoácido de calcio y también en los digeridos de los productos alimenticios. El procedimiento fue por otra parte idéntico al que se describió anteriormente, y los resultados son presentados en la Tabla 8.

Cuando se agrega una solución etanólica de neocuproina a las soluciones de la muestra se forma una turbiedad, pero ésta no es observada cuando es usado el reactivo acuoso. Se deberá, por lo tanto, usar de ser posible el reactivo acuoso para la determinación del cobre, sin la extracción, por la medida espectrofotométrica o por la comparación visual con adecuados standards. La pequeñísima cantidad de cobre que puede ser detectada en una solución de 50 ml en un cilindro de Nessler es de 0.5 μg .

3.5.4 USO DE LA NEOCUPROINA COMO UN EXTRACTOR SELECTIVO

Se ha determinado la posibilidad de usar la neocuproina y el dibenzilditiocarbamato de zinc sucesivamente en las determinaciones del cobre para tomar ventaja de la especificidad de la neocuproina y la sensibilidad del dibenzilditiocarbamato de zinc. El procedimiento descrito a continuación se usó para determinar la recuperación de 25 μg de cobre en presencia de 100 μg de cada uno de los siguientes elementos: - cobalto, níquel, fierro y bismuto.

En aproximadamente 20 ml de la solución de la muestra agregar 10 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina-citrato sódico, y ajustar el pH entre 5 y 7, si es necesario, con la solución amoniacal. Agregar 10 ml de la solución de neocuproina, mezclar, y dejar reposar por 15 minutos. Agregar 5 ml de cloroformo, y extraer el cobre agitando por 30 segundos; entonces extraer otra vez agitando por unos segundos con 5 ml adicionales de cloroformo. A los extractos de cloroformo-agregarles 50 ml de ácido sulfúrico 1 N aproximadamente y 5 o 6 gotas de permanganato de potasio 0.1 N. Esto -

oxida al cobre cuproso en el complejo al estado cúprico y por medio de éste destruir el complej). Agitar vigorosamente por 30 segundos, dejar que las capas se separen, y desechar la capa de cloroformo. A la capa acuosa agregarle 10 ml de una solución al 0.05% de dibenzilditiocarbamato de zinc en tetracloruro de carbono, y -- agitar vigorosamente por 2 minutos. Dejar reposar, medir la densidad óptica de la capa orgánica a 435 m μ , y calcular el contenido de cobre de la muestra remitiéndose a la gráfica de calibración del dibenzilditiocarbamato de zinc.

Una determinación por este procedimiento toma menos de 30 minutos, y las recuperaciones de 25 μ g de cobre en presencia de otros metales como se enlistan arriba fueron de 24.7, y 24.4 μ g. Su viabilidad ha sido demostrada, no se consideró necesario investigar esta técnica nueva.

3.5.5 INTERFERENCIAS

La neocuproina es específica para el cobre; Smith y Mc-

Curdy (204) encontraron que con ningún otro catión sino sólo con los del cobre cuproso formaba el complejo coloreado extraíble con el reactivo. Luke y Compbell (144) probaron la neocuproina en 56 metales, y Hubbits, Davis y Menke (97) lo probaron en 68 elementos, de los que sólo el oro causó alguna interferencia.

También como los resultados reportados arriba que fueron obtenidos en presencia de otros metales, se ha encontrado que la densidad óptica de una solución conteniendo 40 μg de cobre no fue afectada por la presencia en la solución de 400 μg de cada uno de los siguientes iones: fierro^{II}, cromo^{II}, níquel^{II}, bismuto^{III}, zinc^{II}, estaño^{II}, mercurio^{II}, antimonio^{III} y arsénico^{III}. Los aniones de nitrato, cloruro, perclorato, sulfato, tetraborato, acetato y tartrato no interfirieron con la determinación. El sulfito causó bajos resultados, y en la presencia de grandes cantidades de fosfato o de pirofosfato pueden ser necesarias 2 o 3 extracciones para quitar todo el cobre de la solución acuosa.

3.6 DETERMINACION SIMULTANEA DE HIERRO Y COBRE POR EL --
METODO DE 3-(2-PIRIDIL)-5,6-DIFENIL-1,2,4-TRIAZINA -
(PDT)

Las trazas de hierro y cobre en varias sustancias pueden ser vitales, objeccionables, o tal vez indicativas de contaminación o mal funcionamiento. En los alimentos y las bebidas, tales elementos pueden promover rancidez y mal sabor. En muestras biológicas tal como la orina, suero sanguíneo, tejido de hígado, etc., su determinación puede ser de considerable significancia en los diagnósticos médicos y en las investigaciones bioquímicas. El control de calidad de muchos productos comerciales, incluyendo el papel, petróleo, aleaciones, etc., puede requerir un conocimiento del contenido de hierro y de cobre. De aquí que los métodos rápidos y sensibles para la determinación de estos elementos sean de gran demanda. Los métodos colorimétricos y de emisión o absorción atómica son los más comúnmente usados. Aunque estos métodos son rápidos y disponibles para las determinaciones simultáneas, los métodos colorimétricos son preferidos generalmente ya que ellos involucran instrumentación menos costosa y dan una sensibilidad muy grande cuando los reactivos --

cromogéneos son empleados apropiadamente.

Numerosos reactivos cromogéneos han sido recomendados para la determinación del cobre o del hierro individualmente; sin embargo, relativamente pocos son prácticos para la determinación simultánea de ambos elementos. Afortunadamente, algunos de los más sensibles cromogéneos para el hierro y el cobre están entre aquellos que son adecuados. Estos incluyen la 1,10-fenantrolina; 2,2'-bipiridina, y los compuestos relacionados (196). Varios métodos generales en que estos cromogéneos pueden ser usados para la determinación simultánea del cobre y del hierro están resumidos en la Tabla 9, juntamente con algunos ejemplos específicos de cromogéneos y referencias. Cada uno de los cinco diferentes métodos tiene sus propias condiciones especiales y estrictos requerimientos que deben encontrarse en las aplicaciones prácticas. Una característica común de los primeros cuatro métodos enlistados es que son propensos para cometerse errores, y un resultado bajo de un elemento usualmente es acompañado por un resultado alto para el otro. En los métodos tercero y cuatro enlistados, la separación cuantitativa de los complejos de cobre y de hierro, cada uno en una fase inmiscible, es un requeri-

miento muy difícil de manejar en la práctica. Por ejemplo, en los casos específicos citados, la presencia del perclorato, yoduro, tiocianato, o varios otros aniones difíciles de manejar causa al complejo de fierro (II) extraerse conjuntamente con el complejo de cobre, dando resultados bajos para el fierro y altos para el cobre. El último método enlistado en la Tabla 9 tiene la ventaja sobre los otros de ser simple e inherentemente más exacto, provisto de procedimientos eficientes y rápidos para destruir uno de los dos complejos para poder determinarse.

La determinación simultánea del hierro y del cobre está basada en la técnica general descrita en la última parte de la Tabla 9. Algunos cromogéneos representativos tipo ferrina, fueron seleccionados para el estudio preliminar sobre la base de su alta sensibilidad para el hierro y el cobre: 1,10-fenantrolina; 4,7-difenil-1,10-fenantrolina (batofenantrolina); tris(2-piridil)-1,2,5-triazina (TPTZ); 3-(4-fenil-2-piridil)5,6-difenil-1,2,4-triazina (PPDT); y 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazina (PDT) (195-197). Sus complejos de fierro (II) y de cobre (I) fueron tratados con peróxido de hidrógeno y cianuro de sodio a distintos valores de pH en un intento

to para descubrir un método para destruir el complejo de cobre (I) por oxidación o complejación sin afectar al complejo de fierro (II). Los resultados más satisfactorios fueron dados por el PDT y el PPDT juntamente con el tratamiento del cianuro de sodio. Aunque el PPDT es algunas veces más sensible que el PDT para el fierro y el cobre, es considerablemente más costoso y difícil de sintetizar. El PDT fue seleccionado como el reactivo cromogéneo para usarse en el método planteado (198).

3.6.1 EXPERIMENTAL

REACTIVOS

El 3-(2-piridil)-5,6-difenil-1,2,4-triazina (PDT) fue sintetizado por el método de F. H. Case (32); que por lo general produce un rendimiento del 34%; punto de fusión de 191-2° C. Una solución de PDT 0.001 M se preparó agregando 2 gotas de ácido clorhídrico concentrado a 0.077 g del compuesto, seguidos por 25 ml de etanol.

Las soluciones estándar de fierro y de cobre se prepara

ron en concentraciones conocidas de cantidades pesadas de -- los metales electrolíticos.

Una solución al 10% de clorhidrato de hidroxilamina se preparó disolviendo 100 g en 900 ml de agua destilada. Las trazas de fierro y de cobre fueron quitadas por el tratamiento con un exceso de PDT seguido de una extracción con alcohol isoamilo.

La solución al 0.5% de ácido ascórbico fue preparada -- diariamente disolviendo 0.5 g en 100 ml de etanol.

La solución reguladora con un pH de 4.5 fue preparada -- por la adición de suficiente ácido acético a 1 lit de acetato de sodio 1 M para ajustar el pH. Las trazas de fierro y de cobre fueron quitadas por la adición de 1 gramo de clorhídrato de hidroxilamina, 5 ml de PDT 0.01 M, y extrayendo con el alcohol isoamilo.

La solución de perclorato de sodio, al 50%, se preparó-- disolviendo 100 gramos en 100 ml de agua destilada. Las trazas de fierro y de cobre fueron quitadas por adición de --

0.2 gramos de clorhidrato de hidroxilamina, 2 ml de PDT 0.01 M, y extrayendo con alcohol isoamilo.

El alcohol isoamilo fue de grado purificado, el ácido ascórbico fue grado reactivo, y todos los demás reactivos -- fueron de grado reactivo.

APARATOS

Un espectrofotómetro de registro gráfico de Cary, Modelo 14, usado para las mediciones de la absorbancia y las espectrales; y un pH-metro Corning Modelo 7, con un sistema de electrodos de vidrio y calomel (saturado) para las medidas del pH. Los crisoles de porcelana fueron usados para la incineración en seco de las muestras.

PROCEDIMIENTO PARA LA DIGESTION DE LA LECHE ENTERA

Pipetear 25.00 ml de leche entera lentamente en un crisol caliente, a una velocidad suficiente para evaporar sin formar espuma (1 gota por segundo aproximadamente). Si se desea el peso de la muestra, determine la densidad de una se

gunda muestra. Después que toda la leche ha sido colocada en el crisol, elevar la temperatura lentamente a 450-500° C aproximadamente, evitando pérdidas de la muestra por la formación de espuma, e incinerar a esta temperatura hasta que sea obtenida una ceniza gris. Dejar enfriar el crisol, agregar 1 ml de ácido nítrico concentrado, evaporar a sequedad, e incinerar de nuevo a 450-500° C por 1 hr. Disolver la ceniza blanca resultante en 10 ml de ácido nítrico 1 M, y pasar la solución cuantitativamente a un embudo de separación de 60 ml. Completar el análisis siguiendo el procedimiento recomendado.

PROCEDIMIENTO RECOMENDADO

Pipetear una muestra de tamaño suficiente que contenga de 1-25 μg de Fe y/o 4-80 μg de Cu en el embudo de separación y agregar 5 ml de la solución reguladora, 2 ml de clorhidrato de hidroxilamina al 10%, 2 ml de PDT 0.01 M, y 2 ml de la solución de NaClO_4 al 50%. Ajustar el pH a 4.5 ± 1 , si es necesario, usando papel indicador del pH. Extraer una vez con 6 ml y de nuevo con 2 ml de alcohol isoamilo. Combinar los extractos del alcohol isoamilo en un matraz voluné---

trico de 10 ml, y diluir hasta completar el volumen con ácido ascórbico al 0.5% en etanol. Medir la absorbancia de la solución vs un "blanco" preparado similarmente a 488 $m\mu$; agregar de 5-10 mg de cianuro de sodio a la solución del alcohol isoamilo, y medir las absorbancias a 488 y 555 $m\mu$ vs el "blanco" tratado similarmente. Hacer uso de las curvas de calibración disponibles o de las ecuaciones empíricas para convertir la pérdida en la absorbancia a 488 $m\mu$ a la concentración del Cu y la absorbancia final a 555 $m\mu$ a la concentración del Fe.

3.6.2 RESULTADOS

REDUCTOR ADECUADO Y pH

El pH y la selección del reductor influyen en la recuperación del hierro y del cobre, como se presenta en la Figura 7. El complejo de cobre (I) es propenso a la oxidación por aire y tiende a decolorarse pronto después de la extracción en el alcohol isoamilo. El ácido ascórbico, agregado al extracto, es efectivo para períodos largos para prevenir el --

desvanecimiento del complejo de cobre (I) extraído sobre un amplio rango de pH. El clorhidrato de hidroxilamina es menos efectivo. El complejo de fierro (II) no es susceptible a la oxidación del aire, y su color permanece estable después de la extracción por largos períodos de tiempo. El uso del ácido ascórbico como reductor para la solución acuosa y para la solución del extracto no es tan satisfactorio como el uso del clorhidrato de hidroxilamina para la solución acuosa y del ácido ascórbico para las soluciones del extracto de los complejos. La recuperación del fierro es menos dependiente del pH si ambos reductores son empleados de la manera recomendada. Aunque el ácido ascórbico forma un complejo de fierro (II) relativamente estable, aparentemente interfiere solo en el paso formativo del complejo de fierro (II)-PDT, porque la adición del ácido ascórbico a las soluciones del complejo de fierro (II) después de la formación es sin efecto. Así, la formación máxima, la extracción, y la estabilidad de los complejos de cobre (I) y de fierro (II) pueden ser alcanzados por el ajuste del pH de la solución acuosa entre 3.5 y 6, usando el clorhidrato de hidroxilamina como el reductor en la fase acuosa, y agregando el reductor de ácido ascórbico para la fase de extracción (fase orgánica).

CARACTERISTICAS ESPECTRALES

Los espectros del complejo de cobre (I)-PDT en el alcohol isoamilo antes y después de la adición del cianuro de sodio, juntamente con el espectro del reactivo "blanco", son presentados en la Figura 8. La absorptividad molar del complejo de cobre a la longitud de onda de absorbancia máxima de $488 \text{ m}\mu$ es de 7900. La adición del cianuro de sodio inmediatamente convierte al complejo a uno que tiene una absorptividad molar de 140 a la misma longitud de onda. Una mezcla del complejo ligando de cobre, conteniendo cianuro y PDT, es sugerido por el hecho de que el espectro final no es idéntico al de la solución "blanco" o a la solución de cianuro de cobre. La disminución de la absorbancia en el tratamiento con el cianuro de sodio es directamente proporcional al contenido de cobre, dando una efectiva absorptividad molar a $488 \text{ m}\mu$ de 7850.

La Figura 9 presenta el espectro de absorción de una solución de alcohol isoamilo conteniendo los complejos de hierro (II) y de cobre (I)-PDT antes y después de la adición del cianuro de sodio. El blanqueamiento del complejo de co-

bre con el cianuro de sodio es virtualmente instantáneo, y - el espectro resultante es idéntico al complejo de fierro (II)-PDT en la región de 500 $m\mu$ aproximadamente. La absortividad molar del complejo de fierro (II)-PDT a su longitud de onda de máxima absorbancia de 555 $m\mu$ es de 23 500.

SENSIBILIDAD Y LIMITE DE DETECCION

Usando una muestra de 200 ml, la extracción en 10 ml de alcohol isoamilo, y una celda de absorción de 1 cm, 1 ppb de fierro y/o 4 ppb de cobre pueden ser detectadas, cada uno basado en una diferencia de la absorbancia del "blanco" de - - 0.005 unidades de absorbancia. La extracción de la mayoría de las muestras muy grandes con el mismo volumen de isoamilo es posible pero impráctico. El incremento de la sensibilidad es factible usando grandes celdas de absorción.

Aproximadamente 0.2 μg de fierro y 0.8 μg de cobre pueden así ser detectados. Las determinaciones cuantitativas - requieren aproximadamente 80 veces estas cantidades para una precisión óptima relativa.

EFECTO DE LAS VARIABLES

En el procedimiento recomendado, un exceso de 5 veces la cantidad especificada de cianuro de sodio causa un error no serio, excepto que el complejo de fierro (II)-PDT experimenta desvanecimiento detectable después de una hora. Si se toman menos de 10 ml de la muestra para el análisis, se extraen componentes de la solución reguladora en el alcohol isoamilo y se puede requerir más cianuro de sodio. Si se tiene duda, deberán ser agregadas cantidades adicionales de cianuro de sodio hasta que sea alcanzada una absorbancia constante a 488 $m\mu$. El agregar cantidades en exceso (de 40-50 mg) causarán turbiedad debido a la separación del agua de la solución del alcohol isoamilo.

Debido a que la destrucción del complejo de cobre (I)-PDT es instantánea por la adición del cianuro de sodio, las lecturas de la absorbancia pueden ser hechas inmediatamente. El complejo de fierro (II)-PDT reacciona muy lentamente con el cianuro de sodio, pero los valores de la absorbancia son constantes para la primera hora sino se agrega más de la cantidad recomendada de cianuro.

La adición del perclorato de sodio promueve la velocidad de formación de los complejos de fierro (II) y cobre (I) en la solución diluida por la precipitación de los complejos una vez formados. También aumenta la extractabilidad de los complejos. Un gran exceso no tiene efectos adversos.

El efecto de los iones extraños en la determinación del fierro y del cobre son resumidos en la Tabla 10. Las formas del cobalto (II), complejo coloreado con PDT, da una absorbancia máxima a 500 $m\mu$. Debido a que es blanqueado por la adición del cianuro de sodio, la interferencia con la determinación del cobre es severa. Las formas del níquel (II), complejo coloreado débilmente con PDT que no es decolorado por el cianuro de sodio; así interfiere más seriamente en la determinación del fierro. El cromo (II) y el cobalto (II) pueden también interferir en la determinación del fierro por el consumo de PDT para la formación del complejo. Por la adición de grandes cantidades de PDT, grandes concentraciones de estos iones pueden ser tolerados. Los iones de nitrato, oxalato, y tiosulfato interfieren en la formación del complejo de fierro y de cobre. Estas interferencias pueden ser evitadas por un tratamiento previo de la muestra con el

oxidante.

ANALISIS DE VARIAS MUESTRAS

El procedimiento recomendado fue aplicado a la determinación del fierro y del cobre en 25 muestras diferentes de agua, cada una preparada con concentraciones conocidas de cobre y de fierro. El volumen tomado para el análisis en cada caso fue de 25.0 ml. Los resultados son encontrados en la Tabla 11. Por supuesto, los errores relativos son grandes para las concentraciones bajas; los valores de la absorban--cia calculadas para 0.061 ppm de Fe y 0.248 ppm de Cu son so--lamente 0.066 y 0.076, respectivamente.

Una muestra de leche homogeneizada fue analizada en du--plicado. La recuperación cuantitativa del cobre y del fierro fueron confirmados por el método de las adiciones standard. Los resultados son encontrados en la Tabla 12.

Los resultados demuestran que el método espuesto es --- aplicado para la determinación simultánea del fierro y del cobre en una variedad de diferentes substancias. Requiriendo únicamente un cromogéneo y una alícuota; el método es simple y rápido. La alta sensibilidad del PDT como un reactivo cromogéneo y la favorable extractabilidad de sus complejos de cobre (I) y de fierro (II) facilitan la determinación de cantidades micrográmicas de estos elementos. Además, el PDT, no es caro y es fácilmente sintetizado. Las interferencias son pocas. El método es grandemente recomendado sobre otros métodos semejantes.

Algún mejoramiento en la sensibilidad en la determinación del cobre y del fierro puede lograrse usando PPDT en lugar de PDT como cromogéneo. Ninguna revisión procesal es necesaria, excepto que las medidas de la absorbancia sean hechas a 480 y 561 $m\mu$ para el cobre y el fierro, respectivamente. Sin embargo, el costo y la dificultad de la síntesis del PPDT es una seria limitación para su empleo.

3.7 DETERMINACION DE DIOXIDO DE TITANIO

El dióxido de titanio se usa frecuentemente como blanqueador en la manufactura del queso. Los reportes indican que el uso de este material en el Estado de New York es una industria práctica difundida. En la actualidad las regulaciones federales no tienen estipulaciones para el uso del dióxido de titanio en la manufactura de los quesos. El uso del material y la ausencia de una regulación que cubra su uso iniciaron el trabajo en un método cuantitativo para encontrar demandas regulatorias.

El método cuantitativo consiste en transformar la muestra en cenizas, disolución de la cenizas en ácido sulfúrico a un volumen conocido, y la formación del color amarillo con peróxido de hidrógeno (135). La medida espectrofotométrica se compara con un estándar preparado similarmente. Kolthoff y Sandell (125) declaran que el color de amarillo a naranja formado por las soluciones ácidas de titanio con el peróxido de hidrógeno sea probablemente debido a un ión tal como el $[TiO_2 (SO_4)_2]^-$. El color de la solución oxidada es completamente estable en ausencia del fierro. Las siguientes inter-

ferencias serán notadas, por ejemplo, el níquel, cobre, cobalto, molibdeno, vanadio, y cromo, que producen colores que -- conducen a error (77). Estos minerales, si se encuentran en el queso, será al nivel de trazas. Se encontró que la curva de calibración es lineal para concentraciones de 0.0 a 0.1 - mg/ml que nos dan valores de absorbancia de 0.0 a 0.9.

3.7.1 ESTUDIO COLABORATIVO

El queso mozzarella (queso fresco de origen italiano) -- que no contiene dióxido de titanio fue seleccionado para la preparación de las muestras para contener 0.0, 0.05 y -- 0.1% de dióxido de titanio. Se encontró un producto comercial que contenía dióxido de titanio y fue seleccionado como una cuarta muestra.

Las muestras que contenían aproximadamente 0.05 y 0.1% -- de dióxido de titanio fueron preparadas haciendo una suspensión con agua, agregando la cantidad apropiada de dióxido de titanio, y mezclandolas en un mezclador Waring. Las mues- -- tras se calentaron a 55° C en un horno y periódicamente se --

agitaron para liberar el agua agregada y retornar las muestras a su peso original aproximado.

La muestra de 0.0% y la muestra comercial se prepararon como se describe en la preparación de la muestra. La homogeneidad de las muestras preparadas fue asegurada por repetidos análisis. Preparados los conjuntos de las 4 muestras -- fueron enviadas a los 10 laboratorios para el análisis.

3.7.2 METODO

Este método fue aceptado por la Associate Referre como primera recomendación oficial.

PRECAUCION

Acido sulfúrico. Siempre agregar el H_2SO_4 al H_2O . Usar protector para la cara y guantes pesados de hule para protegerse contra las salpicaduras, sec. 46.030 de la referencia (177).

SOLUCION ESTANDARD

Solución estandard de dióxido de titanio. 0.1 mg/ml. -
Pesar exactamente 50 mg de TiO_2 y pasarlos a un vaso de precipitado de 250 ml; agregar 15 g de Na_2SO_4 anhidro y 50 ml de H_2SO_4 . Agregar bolitas de ebullición, cubrir con un vidrio de reloj, y calentar a ebullición sobre una canasta de calentamiento para disolver. Enfriar, y cuidadosamente agregar 100 ml de H_2O agitando. (Calentar en baño de vapor si la solución se vuelve oscura o turbia). Enfriar, pasar la solución a un matraz volumétrico de 500 ml conteniendo 200 ml de H_2O , y diluir con H_2O hasta completar el volumen.

PREPARACION DE LA MUESTRA

Cortar la muestra en tiras y pasarlas a través de un tajador de alimentos 3 veces. Pulverizar los pedazos en el tajador de alimentos (método preferible), o cortar o desmenuzar muy finamente y mezclar completamente.

Con el queso fresco y los quesos similares, colocar 300-600 g de la muestra a $<15^\circ C$ en una capa del mezclador de -

alta velocidad y mezclar por el tiempo (2-5 min) requerido para obtener una mezcla homogénea. La temperatura final deberá ser $\leq 25^{\circ} \text{C}$; sec. 16.191 de la referencia (177).

DIGESTION DE LA MUESTRA

Pesar exactamente 0.1 g de los 10 g de la muestra preparada en un plato de Pt de 100 ml y carbonizar bajo la lámpara IR. Poner el plato en un horno frío y encender a 850° -- hasta que la ceniza sea blanca.

Enfriar, agregar alrededor de 1.5 g de Na_2SO_4 anhidro y 10 ml de H_2SO_4 , cubrir con un vidrio de reloj, y llevar a ebullición en la canasta de calentamiento hasta disolver. Apagar y dejar enfriar el plato sobre la canasta de calentamiento. Cautelosamente levantar la cubierta, agregar cuidadosamente 30 ml de H_2O , y mezclar con una varilla para dispersar las sales insolubles. Calentar en baño de vapor si las formas materiales insolubles se aglomeran en medio del plato.

Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico --

de 100 ml con ayuda de 40 ml de H_2O aproximadamente. Si la solución es oscura, calentar en baño de vapor o en baño maría para clarificar. Enfriar, y diluir hasta completar el volumen con H_2O .

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Transferir 0,1,2,3,4, y 5 ml de la solución estándar de TiO_2 a los matraces volumétricos de 5 ml y diluir hasta completar el volumen con H_2SO_4 (1+9).. Agregar 0.2 ml de H_2O_2 al 30%, mezclar, y determinar la absorbancia en un espectrofotómetro con registrador en celdas de 1.0 cm de 650 a 325 nm contra 0.2 ml de H_2O_2 al 30% en 5.0 ml de H_2SO_4 (1+9). Determinar la absorbancia máxima alrededor de 408 nm y preparar la curva de calibración.

DETERMINACION

Pasar 3.0 ml de la solución de la muestra a un matraz volumétrico de 5 ml, diluir hasta completar el volumen con H_2SO_4 (1+9), y continuar como en la preparación de la curva de calibración, empezando con "Agregar 0.2 ml de H_2O_2 al - -

30%...".

Determinar los mg de TiO_2 en la muestra de la curva de calibración, y calcular el % de TiO_2 en la muestra.

3.7.3 RESULTADOS Y RECOMENDACIONES

Los resultados de los 10 colaboradores son presentados en la Tabla 13.

La fortificación de las concentraciones de las muestras A y B son aproximadas debido a la dificultad de preparar una concentración absoluta. La muestra C es una verificación -- del blanco y la muestra D es un producto comercial, conteniendo aproximadamente 0.4% de dióxido de titanio.

Los resultados de los colaboradores 2 y 8 estuvieron -- fuera del nivel de confianza de 99%, pero fueron incluidos -- en la evaluación estadística. Los resultados positivos re-- portados para la muestra C parecen ser debido al error de -- instrumentación.

Los comentarios aportados por los colaboradores tratan principalmente sobre la técnica. Algunos de estos comentarios fueron incorporados en este método. Un colaborador sugirió se hiciera un incremento de 5 veces en el volumen final del paso de formación del color por la conveniencia de la manipulación de los volúmenes grandes. No se tiene ninguna objeción para esta práctica pero no se incluyó esta sugerencia en el método. Este método no es rígido o empírico y se presta a la modificación a discreción del analista.

Otros colaboradores comentaron sobre la especificación para carbonizar e incinerar la muestra. Esta sugerencia no fue incluida en el método porque se experimentó que la carbonización e incineración variarían entre los laboratorios, dependiendo de la técnica. El secado en el horno puede ser substituido por el calentamiento de las lámparas, suministrando a la muestra un secado completo. Un horno de mufla frío con incrementos graduados de temperatura puede también substituirse por el calentamiento de las lámparas. Otro colaborador sugirió especificar un tiempo de formación para la reacción del color; no se incluyó pues la formación del color es instantánea y estable por lo menos durante 24 horas.

3.8 DETERMINACION DE FOSFORO POR EL METODO DE MOLIBDATO
DE AMONIO

Un registro de los métodos de la AOAC (176) reveló muchos métodos para el fósforo en los alimentos, pero ninguno específico para la leche. Jacobs (107) se refirió a la determinación del fósforo en los alimentos, pero fue bastante ambiguo sobre el procedimiento preferido. En este método se utiliza un procedimiento de incineración en seco con la determinación final del fósforo total presente por cuantificación colorimétrica. Un registro de la literatura reveló un método para los materiales biológicos por Fiske y Subbarow (70) en el cual es usado el molibdato de amonio y el ácido fosfomolibdico es reducido por el ácido 1,2,4-aminonaftolsulfúrico. En una modificación de éste, Pena (23) también utilizó el molibdato de amonio como un reactivo del color, las interferencias fueron precipitadas con el ácido tricloroacético. Caimi (23) adaptó el procedimiento de Fiske y Subbarow para la leche por el calentamiento de la muestra después de la formación del color y antes de determinar la intensidad del color.

El método descrito a continuación es esencialmente una modificación del método de Smith (206) para la determinación del huevo en el helado (23), actualmente publicado en el Laboratory Manual de la Milk Industry Foundation (130).

3.8.1 METODO

REACTIVOS Y APARATOS

a) Solución alcohólica de nitrato de magnesio. Solución saturada de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en etanol.

b) Solución de bisulfito-hidroquinona. Disolver 15 g de $NaHSO_3$ y 0.5 g de hidroquinona en agua y diluir a 100 ml.

c) Solución de molibdato de amonio. Disolver 25 g de $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (químicamente puro) en 300 ml de agua y 200 ml de H_2SO_4 (3+5).

d) Solución estándar de fósforo. Disolver 0.2197 g de KH_2PO_4 en agua y diluir a 1 lt. Esta solución contiene 0.05 mg de fósforo/ml.

e) Espectrofotómetro. Beckman Modelo B.

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION

Pesar 5 g de la muestra de leche mezclada en un plato de platino. Agregar 1 ml de $Mg(NO_3)_2$ alcohólico. Evaporar a sequedad en un baño de agua hirviendo. Transferir el plato a una canasta de calentamiento y gradualmente incrementar la temperatura hasta que no haya más carbonización. Colocar en el horno de mufla e incinerar por 6 hr a $525^\circ C$. Humedecer las cenizas con agua y lavar los lados del plato con 2 ml de H_2SO_4 (1+1). Filtrar la solución a través de un papel Whatman No. 40 en un matraz volumétrico de 1 lt. Lavar completamente el plato, carbonizar el material, y el papel filtro, y recolectar el lavado. Diluir al volumen y mezclar.

FORMACION DEL COLOR

Transferir una alícuota de 10 ml a un matraz volumétrico graduado de 50 ml. Agregar 2 ml de H_2SO_4 (1+1) y diluir a 20 ml. Agregar 2 ml de la solución de bisulfito-hidroquinona y 2 ml de la solución de molibdato de amonio. Tapar y mezclar completamente por inversión. Quitar el tapón y colocar el matraz en un baño de agua hirviendo por 15 min, qui--

tar, y enfriar rápidamente a la temperatura ambiente. Diluir la solución a 50 ml, tapar, y mezclar bien por inversión. Leer la absorbancia a 650 $m\mu$ en el espectrofotómetro, usando una cubeta de 1 cm. Con cada conjunto de muestras, determinar un "blanco", usando agua destilada. Determinar el contenido de fósforo refiriéndose a la curva de calibración, cuando las diluciones de arriba son usadas, emplear la siguiente fórmula:

$$\text{mg de P/100 g} = (A \times F \times 10\,000) / W$$

donde A= absorbancia a 650 $m\mu$ de la muestra - la absorbancia del "blanco",

F= pendiente de la curva (abscisa /ordenada), y

W= peso de la muestra original.

CURVA DE CALIBRACION

Transferir 50 ml de la solución estándar de fósforo a un matraz volumétrico de 250 ml y diluir al volumen (0.01 mg de P/ml). En cinco matraces volumétricos graduados de 50 ml, pipetear 0,3,5,8, y 10 ml, respectivamente, de la segunda so

lución estándar. A cada matraz agregar 2 ml de H_2SO_4 (1+1). Proceder a la formación del color como se describió antes y diluir a 50 ml. Leer la absorbancia a 650 $m\mu$. Corregir las lecturas substrayendo el "blanco". Graficar mg de P en 50 - ml (abscisa) vs la absorbancia (ordenada). El factor F en la fórmula es la pendiente de la curva y deberá ser de 0.20 - aproximadamente.

3.8.2 RESULTADOS Y DISCUSION

Diez muestras de diferentes lugares fueron analizadas - en duplicado para determinar la cantidad de fósforo por 100 - g de leche. El promedio de los duplicados fue usado para la base del estudio de recuperación. Tres alícuotas, de 5 g aproximadamente, fueron pesadas de cada una de las 10 muestras de leche. Se preparó una solución estándar conteniendo 0.4394 g de KH_2PO_4 /lt (0.1 mg de P/ml). Se agregó 1 ml - de esta solución estándar a las alícuotas A, 3 ml a las alícuotas B, y 5 ml a las alícuotas C. Sobre la base de las alícuotas de 5 g, esto representa una fortificación de 2,6, - y 10 mg de fósforo por 100 g de leche.

Los resultados obtenidos de este estudio de recuperación son presentados en la Tabla 14. Todos los datos son expresados en mg de P/100 g de leche y presentan recuperaciones del fósforo total en el rango de 95 a 105%.

23 muestras de la leche homogeneizada y normal fueron analizadas en duplicado para determinar la reproductibilidad de los resultados obtenidos por este procedimiento, los resultados se encuentran en la Tabla 15. Estas muestras fueron todas de leche embotellada de grado A. Mientras que el número de muestras de leche normal es pequeño y la variación entre los duplicados es comparativamente grande, no hay diferencia significativa en la precisión del método para la leche homogeneizada o regular. Sobre la base de los datos de esta tabla, el método es igualmente satisfactorio para el producto regular u homogeneizado.

19 de estas muestras fueron también analizadas para la grasa y el total de los sólidos. En la Tabla 16 se presentan los mg de fósforo/100 g de leche en orden decreciente de la cantidad total de los sólidos en la muestra. Estos datos no presentan un modelo definido, indicando una relación en--

tre el total de los sólidos y el contenido de fósforo de una leche manufacturada.

El nitrato de magnesio ha sido generalmente usado como un fijador para el fósforo en los materiales orgánicos, sec. 2016 (c) de la referencia (176), particularmente con respecto al azufre, sec. 6.059 de la ref. (176). Surgió una pregunta por la necesidad de esta adición. Si la adición del nitrato de magnesio no fue necesaria, entonces la determinación del fósforo puede correrse en conjunción con el total de los sólidos, sec. 15.014 de la ref. (176), en la determinación de la leche.

9 de las muestras para la determinación del total de los sólidos fueron incineradas y este material fue entonces analizado para el contenido de fósforo. Los resultados obtenidos para el total de los sólidos de las muestras a las cuales no se les agregó nitrato de magnesio fueron comparados con la variación de los resultados del fósforo de las muestras a las que sí se les agregó nitrato de magnesio. Esta comparación es presentada en la Tabla 17. Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que hay aparentemente po-

ca diferencia en la variación entre los dos grupos: uno al que se le agregó nitrato de magnesio y el otro al que no se le agregó.

La estabilidad de la formación del color en este procedimiento fue comprobada a un intervalo de 30 min entre las lecturas duplicadas en el espectrofotómetro. No se detectaron diferencias significantes. Lo cual indica que el color formado es estable por un período de tiempo satisfactorio -- después de la formación.

Observaciones hechas durante este estudio indicaron que la presencia de una pequeña cantidad de material carbonizado en la incineración no tiene efecto en la determinación final, suministrando un filtrado claro. Esta misma observación fue reportada previamente por Mitchell (161).

El método presentado tiene un grado de reproductibilidad satisfactorio. Cuando muchas muestras de leche son analizadas usando este procedimiento, se requiere de 1 hr aproximadamente por muestra.

3.9 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE DITIZONA
EN CLOROFORMO O EN TETRACLORURO DE CARBONO

El mercurio y sus compuestos son altamente tóxicos. -- Los compuestos orgánicos del mercurio son también ampliamente usados como pesticidas y fungicidas. Se requirió, por lo tanto, de un método adecuado para determinar cantidades de mercurio tan pequeñas como $0.5 \mu\text{g}$.

Para este objetivo, una determinación de mercurio con ditizona pareció la mejor selección. La ditizona es el reactivo más ampliamente usado para el mercurio; la extracción del mercurio con la ditizona de la solución ácida es totalmente selectiva y la reacción del color es particularmente sensible.

La más importante contribución que hace este método (9) a la determinación del mercurio es el procedimiento descrito para la preparación de la muestra. La destrucción de la materia orgánica presenta un mayor problema por la volatilidad del mercurio y de sus compuestos covalentes. Los métodos de la incineración en seco no pueden, por tanto, ser usa

dos, y la probabilidad de las pérdidas de volatilización deben también ser consideradas cuando se usan los procedimientos de la digestión húmeda. El método de la digestión húmeda recomendado, involucra el uso de un aparato que permite condiciones vigorosas de oxidación sin riesgo de pérdidas de mercurio.

3.9.1 METODO

PRINCIPIO DEL METODO

Después de la destrucción de la materia orgánica por la oxidación húmeda con el ácido nítrico y el ácido sulfúrico, en el aparato presentado en la Fig. 10, se diluye la solución resultante para dar una concentración ácida de 1 N aproximadamente, y la reducción con el clorhidrato de hidroxilamina para destruir los óxidos del nitrógeno, el mercurio es separado por la extracción con un exceso de una solución de ditizona en tetracloruro de carbono.

El mercurio es removido de este extracto y regresado a-

la fase acuosa por la oxidación con el nitrito de sodio en la solución de ácido clorhídrico 0.1 N. El exceso de nitrito es destruido con el clorhidrato de hidroxilamina, y los óxidos de nitrógeno sobrantes son quitados tratando la solución con urea. Después de la adición del EDTA, que impide la reacción del cobre con la ditizona, el mercurio es extraído titulando con una solución de ditizona en tetracloruro de carbono. Los extractos combinados son diluidos a un volumen estándar de 4.0 ml por la adición de tetracloruro de carbono, y el contenido de mercurio en la muestra es determinado por la medición de la densidad óptica de la solución contra el reactivo "blanco", en celdas de 1 cm, a una longitud de onda de 485 $m\mu$, y refiriéndose a una curva de calibración.

En la presencia de más de 60 μg de cobre, se recomienda que la determinación colorimétrica final deberá hacerse con una solución de ditizona en cloroformo en lugar de en tetracloruro de carbono. En este caso, el extracto combinado es diluido a 4.0 ml con cloroformo y la medición se hace a una longitud de onda de 492 $m\mu$. Por lo demás el procedimiento es idéntico como el que se describe a continuación.

RANGO

Para concentraciones de mercurio de hasta $0.5 \mu\text{g}$ (como-Hg) en la muestra tomada.

APLICABILIDAD

El método es aplicable para los análisis de la mayoría de los diferentes tipos de materia orgánica. El método es específico para el mercurio en todas las circunstancias ordinarias. Por lo menos $60 \mu\text{g}$ de cobre pueden estar presentes cuando se usa tetracloruro de carbono, y al menos $600 \mu\text{g}$ de cobre pueden estar presentes cuando se usa cloroformo en la determinación colorimétrica final, sin interferir. La posibilidad de interferencia de los metales nobles tal como el oro, el paladio y el platino, no ha sido investigada.

APARATOS

Aparato de digestión. Ver la Fig. 10.

Embudos de separación de 150, 500 y 1000 ml de capaci--

dad. Embudos de separación en forma de pera con válvulas y tapones de vidrio bien ajustados.

Nota Todo el material de vidrio deberá ser de vidrio borosilicato y debe ser completamente limpiado con ácido nítrico y ácido sulfúrico, y entonces lavado con agua destilada, inmediatamente antes de usar.

REACTIVOS

El agua debe ser destilada o desmineralizada y libre de mercurio u otras impurezas que reaccionan con la ditizona.

Los ácidos deberán ser de grado "bajo en plomo" o "para análisis de los productos alimenticios"; son adecuados para la determinación del mercurio sin anterior tratamiento.

Los otros reactivos usados deberán ser de grado reactivo. Las soluciones reactivo usadas pueden ser purificadas en orden a reducir los valores del "blanco", lo cual incrementará la exactitud del método a bajas concentraciones

de mercurio. La purificación de la solución de clorhidrato de hidroxilamina se describe más adelante.

Acido sulfúrico, densidad relativa de 1.84.

Acido nítrico, densidad relativa de 1.42.

Solución de clorhidrato de hidroxilamina. Preparar una solución al 20% peso/v en agua y purificarla como sigue. -- Transferir la solución a un embudo de separación. Agregar -- unos mililitros de la solución patrón de ditizona, agitar -- por 2 minutos, y dejar que las capas se separen. Rechazar -- la capa orgánica. Repetir la extracción con ditizona hasta -- que la capa orgánica tenga el color de la solución de ditizo -- na pura. Finalmente, extraer la solución con sucesivas can -- tidades pequeñas de cloroformo hasta que los extractos sean -- incoloros, y descargar los extractos.

Solución patrón de ditizona. Preparar una solución al -- 0.05% peso/v en cloroformo. Esta solución deberá ser alma -- cenada en una botella de vidrio oscura en un refrigerador.--

Nota La ditizona de grado reactivo generalmente — puede usarse sin purificación. Sin embargo, si se considera que la purificación del reactivo es necesaria, la solución reactivo puede prepararse como sigue.

Disolver 0.1 g de ditizona en 150 ml de cloroformo en un embudo de separación y agitar por 10 minutos. Filtrar la solución a través de un papel filtro sin cenizas en un segundo embudo de separación, agregar 100 ml de solución amoniacal 0.1 N — aproximadamente y agitar vigorosamente por 1 minuto. Dejar que las capas se separen y regresar la capa orgánica al primer embudo de separación y agitarlo por 1 minuto con una porción de 100 ml de la solución amoniacal 0.1 N aproximadamente. Descargar la fase orgánica y combinar las soluciones amoniacales en un embudo de separación grande. Lavar la solución con 3 porciones sucesivas de 5 ml de — cloroformo y descargar los lavados. Agregar 200 — ml de cloroformo, neutralizar con ácido sulfúrico — 1 N aproximadamente y agregar 20 ml del ácido en —

exceso. Extraer la ditizona en el cloroformo agitando vigorosamente por 2 minutos, dejar que las capas se separen, y dejar correr la capa orgánica a través de un papel filtro seco sin cenizas, en una botella de vidrio obscura. Almacenar la solución en un refrigerador.

Solución diluida de ditizona en tetracloruro de carbono. Diluir 2 ml de la solución patrón a 100 ml con tetracloruro de carbono.

Solución diluida de ditizona en cloroformo. Diluir 2 ml de la solución patrón a 100 ml con cloroformo.

Nota Las soluciones diluidas de ditizona deberán prepararse resientemente.

Solución de ácido clorhídrico, 0.1 N.*

Solución de nitrato de sodio, al 5% peso/V, acuosa.*

*Estas soluciones pueden ser purificadas como se describió para la solución de clorhidrato de hidroxilamina.

Solución de urea, al 10% peso/V, acuosa.*

Solución de EDTA.* Disolver 2.5 g de EDTA (sal disódica dihidratada) en 100 ml de agua.

Solución de ácido acético, 4 N aproximadamente.*

Tetracloruro de carbono

Cloroformo

Solución patrón estándar de mercurio. Disolver 0.1354 g de cloruro mercuríco en 1 lt de ácido clorhídrico 0.1 N.

1 ml de la solución \equiv 100 μ g de mercurio (Hg).

Solución estándar de mercurio diluida. Diluir 10 ml - de la solución patrón a 1 lt con ácido clorhídrico 0.1 N.

1 ml de la solución \equiv 1 μ g de mercurio (Hg). Esta solución deberá prepararse recientemente en la cantidad que sea requerida.

Valor del reactivo blanco. Llevar a cabo una determinación del "blanco" por todo el procedimiento; usar las cantidades precisas de los reactivos empleados en la determinación y omitir solamente la muestra.

DIGESTION DE LA MATERIA ORGANICA

El aparato de la Fig. 10 deberá ser usado para la descomposición húmeda de la muestra. El procedimiento es adecuado para la oxidación de la mayoría de los materiales. Los pesos de la muestra hasta de 10 g aproximadamente de sólido seco puede oxidarse por este procedimiento con 50 ml de ácido nítrico.

Deberá tenerse cuidado en aplicar el método de la oxidación húmeda a las muestras que contengan grasas, puesto que, aunque el método ha sido aplicado a tales sustancias, algunos trabajadores quienes han posiblemente usado otras condiciones han experimentado reacciones explosivas.

Se llevaron a cabo también digestiones húmedas en muestras de 100 g de papa, equivalente a 18 g aproximadamente de

materia seca, y en este caso no se agregó agua a la mezcla de la digestión y fueron necesarios de 10 a 15 ml más de ácido nítrico.

Otros procedimientos pueden encontrarse más adecuados para la oxidación húmeda de tipos particulares de la materia orgánica. Por ejemplo, la destrucción de los azúcares y otros carbohidratos es facilitada por el calentamiento de la muestra bajo reflujo con el ácido nítrico y el agua por algún tiempo, la muestra se enfría antes de agregar el ácido sulfúrico y completar la digestión. No obstante, el aparato descrito a continuación deberá usarse en el procedimiento.

Descripción del aparato. El matraz tiene una capacidad de 250 ml y el depósito, B, tiene una capacidad de 150 a 200 ml. El condensador es de un tipo de reflujo estándar de su perficie doble o superficie espiral. El termómetro está calibrado para temperaturas hasta de 200° C y todas las conec ciones son hechas por uniones de vidrio esmerilado estándar.

Procedimiento. Transferir una cantidad pesada de la muestra al matraz de oxidación y agregar una mezcla enfriada de-

20 ml de agua, 5 ml de ácido sulfúrico y 50 ml de ácido nítrico. (Si la muestra es húmeda, reducir el volumen del agua agregada, y si el peso de la muestra excede los 10 g de sólido seco agregar hasta 5 ml de ácido nítrico por cada gramo de sólido seco en exceso.) Agregar unas bolitas de vidrio y ensamblar el aparato como se ilustra en la Fig. 10. Dejar que la reacción inicial disminuya y entonces calentar, cuidadosamente al principio; recolectar el destilado en el depósito, B, con la llave A cerrada. Cuando la temperatura (indicada por el termómetro) alcance los 116° C (ver la Nota 1, p. 158), sacar el destilado del depósito por el tubo de purga, C, y recolectarlo en una probeta.

Continuar recolectando el destilado en el depósito y cuando la mezcla de oxidación oscuresca dejar correr un poco del destilado del depósito al matraz. Continuar este procedimiento, mantener un ligero exceso de ácido nítrico en el matraz de oxidación, hasta que la solución cese de oscurecer y los vapores del ácido sulfúrico sean emitidos. Dejar enfriar la mezcla, dejar correr el destilado del depósito en el matraz y agregar el primer destilado en la probeta (ver la Nota 2, p. 158).

Titular 1 ml de esta solución con la solución estandar de hidróxido de sodio para determinar la normalidad del ácido presente. Diluir con agua para producir una solución con una acidéz total de 1 N aproximadamente (ver la Nota 3, p. - 158), calentar a ebullición, quitar de la fuente de color, y agregar rápidamente, con mezclado, un volumen de la solución de clorhidrato de hidroxilamina igual a 1/10 del total de la masa; entonces dejarlo reposar por 15 minutos, y enfriar a - la temperatura ambiente.

NOTAS

1. Mantener esta temperatura a la temperatura de ebullición del ácido nítrico.
2. El volumen del residuo más el destilado es generalmente de 80 a 90 ml aproximadamente.
3. El volumen después de la dilución a 1 N es de 400ml aproximadamente.

SEPARACION DEL MERCURIO

Transferir la solución a un embudo de separación de capacidad adecuada y extraer con el tetracloruro de carbono, si-

es necesario, quitar la grasa. Agregar 10 ml de la solución diluida de ditizona en tetracloruro de carbono, agitar por 1 minuto, dejar que las capas se separen, y dejar correr la capa inferior en un embudo de separación de 150 ml. Continuar la extracción con sucesivas porciones de 1 ml de la solución de ditizona hasta que 2 extractos seguidos permanescan de color verde, y combinar los extractos en el segundo embudo de separación.

Agregar 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y 1 ml de la solución de nitrato de sodio, agitar vigorosamente por 1 minuto, dejar que las capas se separen y cuidadosamente descargar la capa inferior. Agregar 1 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina y dejarla reposar por 15 minutos, agitar ocasionalmente. Agregar 1 ml de la solución de urea y 1 ml de la solución de EDTA.

DETERMINACION DE MERCURIO

Agregar 0.5 ml de la solución diluida de ditizona en tetracloruro de carbono (si hay cobre deberá usarse una solución de ditizona en cloroformo, y las mediciones finales de-

berán hacerse a $492 \text{ m}\mu$) de una bureta de 10 ml. Agitar el embudo vigorosamente por 10 segundos y dejar que las capas se separen. Dejar correr la capa inferior en otro embudo de separación conteniendo 5 ml de ácido acético 4 N (ver la Nota 4, p. 161) y repetir la operación hasta que la capa separada sea de color naranja verdoso; el tiempo de agitación deberá entonces extenderse a 30 segundos y los incrementos de la solución de ditizona reducidos a 0.2 ml. Continuar la titulación y separación, combinando los extractos, hasta que la capa orgánica tenga un color grisáceo, demostrando que el mercurio ha sido extraído completamente y que el extracto — contiene un ligero exceso de ditizona: anotar el volumen requerido de la solución de ditizona. De otra bureta de 10 ml agregar suficiente tetracloruro de carbono (o cloroformo) para ajustar el volumen del extracto a 4.0 ml. Mezclar, secar el vástago del embudo, y dejar correr la capa inferior a través de un pequeño tapón de lana de vidrio, sostenido en un pequeño embudo de vidrio, en una celda espectrofotométrica de vidrio de 1 cm. Medir la densidad óptica a una longitud de onda de $485 \text{ m}\mu$ con la solución "blanco" como referencia.

Leer el número de microgramos de mercurio equivalente a

la lectura de la densidad óptica de la gráfica de calibración, y calcular el mercurio contenido en la muestra.

NOTA 4 Las soluciones del ditizonato mercuríco en los solventes orgánicos son sensibles a la luz. La exposición de las soluciones a la luz del día les causa desvanecimiento, pero el color original es restaurado lentamente si las soluciones descoloridas son puestas en la obscuridad, y es restaurada más rápidamente si se agitan con ácidos diluidos. Esto ha sido demostrado por Reith y Gerritsma (9) que la sensibilidad a la luz sea eliminada en la presencia del ácido acético.

PREPARACION DE LA GRAFICA DE CALIBRACION

Transferir alícuotas de la solución estándar de mercurio diluida para cubrir el rango de 0.5 a 10.0 μg de mercurio a una serie de embudos de separación y diluir cada una a 10.0 ml, si es necesario, agregando ácido clorhídrico 0.1 N. Transferir 10.0 ml de ácido clorhídrico 0.1 N a otro embudo de separación para usarse como una solución "blanco". Tra--

tar cada solución como se describe abajo.

Agregar 1 ml de la solución de nitrato de sodio y 1 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina, mezclar, y dejar reposar por 15 minutos. Agregar 1 ml de la solución de urea y 1 ml de la solución de EDTA y completar la extracción y la medición de cada extracto como se describió en la "Determinación de Mercurio"; ^{a partir de la solución de} usar la misma solución de diti-zona que fue usada en las determinaciones.

Construir una gráfica de calibración relacionando la densidad óptica al número de microgramos de mercurio. La gráfica deberá ser lineal y en la extrapolación, pasar por el origen.

3,9.3 RESULTADOS

Se hicieron pruebas colaborativas para la determinación del mercurio en muestras de leche en polvo, a las cuales se les agregaron cantidades conocidas de mercurio como cloruro-mercúrico y acetato de fenilmercúrico. Los resultados se --

muestran en la Tabla 18.

Se obtuvieron completamente buenos resultados, excepto- que a la concentración de $1 \mu\text{g}$ cuando se usó el cloruro mer- cúrico las recuperaciones fueron significativamente inferiores que las de las concentraciones superiores y también inferio- res con respecto a los resultados correspondientes para el - acetato de fenilmercúrico. Se consideró que, en vista de -- que los resultados para $1 \mu\text{g}$ para el cloruro mercúrico fue-- ron los primeros que se obtuvieron por el método propuesto, - las bajas recuperaciones pudieron deberse simplemente a la - carencia de experiencia con la técnica. Consecuentemente, - esta parte se repitió por uno de los laboratorios. Realmen- te se encontró que las recuperaciones cuantitativas fueron - obtenibles a la concentración de $1 \mu\text{g}$ de mercurio agregado - como cloruro mercúrico. Los resultados se encuentran en la- Tabla 19.

3.10 DETERMINACION DE NITRATO Y NITRITO

Varios métodos han sido propuestos para la determinación del nitrato y del nitrito en los productos alimenticios. Aunque muchos métodos seguros son usados para la determinación de nitritos, su número en varios productos alimenticios es limitado.

El método descrito es esencialmente el de Grau y Mirna (91), modificado para adaptarlo a las varias objeciones hechas por Follet y Ratcliff (71). En resumen, el método involucra la precipitación de la proteína reduciendo el nitrato a nitrito con el metal de cadmio, y la diazotización y acoplamiento con 1-naftilamina.

En el método original de Grau y Mirna (91), el hidróxido de zinc se usa para precipitar la proteína en el extracto acuoso. Sin embargo, una significativa cantidad de iones de zinc pueden premanecer en la solución y precipitar como un hidróxido en una etapa posterior. Las soluciones coloidales turbias que interfieren con los pasos siguientes pueden por lo tanto obtenerse antes, durante, o después de la reacción.

En este método el exceso de los iones de zinc son quitados con la proteína por la adición de un ligero exceso de NaOH al 2% N a la solución y dejandola enfriar a la temperatura ambiente antes de filtrar.

Un control especial del pH es importante en varias etapas del procedimiento. El pH del filtrado enfriado libre de la proteína deberá estar entre 5.5 y 6.5. Arriba de un pH de 6.5 la precipitación de la proteína es incompleta, y algunas pérdidas del nitrato pueden ocurrir abajo de un pH de 5.5. La solución de nitrato debe entonces regularse por la acción de una solución reguladora a un pH de 9.5-9.7 antes de la reducción para asegurar la reducción completa del nitrato en la columna de cadmio.

Pollet y Ratcliff hicieron una mayor objeción al método de Grau y Mirna y es que, en su opinión el reactivo Griess no es confiable. Ya que el agente de acoplamiento contiene un grupo amino primario, experimentaron que era capaz de ser diazotizado, y así pudo acoplarse con el exceso del reactivo.

Nicholas y Fox (170), en su evaluación crítica del método de análisis de la AOAC para nitrito en carne, secs. 24.037-24.038 de la referencia (178), discutieron este defecto en detalle. Ellos demostraron que, en lugar de una reacción competitiva, como se sugirió, predomina un producto de reacción. Fue necesario, sin embargo, usar 1-naftilamina de alta pureza (para evitar la descomposición de los productos) para desarrollar una reacción colorimétrica confiable. En el método propuesto la sal de 1-naftilamina es usada preferentemente en vez de la base libre porque puede fácilmente ser obtenida con alta pureza y es más soluble que la base libre.

La etapa final en el procedimiento involucra un acoplamiento de la sal de diazonio con 1-naftilamina para formar un compuesto azoico rosa brillante (1-sulfanilazonaftilamina) y medir su absorbancia a 522 nm. Como lo recomendó Nicholas y Fox (170), la concentración del reactivo Griess fue incrementada 2.5 veces.

McKay (154) publicó un procedimiento similar al usado en este método colaborativo excepto que el clorhidrato de N-1-

naftiletilendiamina fue usado como un agente de acoplamiento en lugar de 1-naftilamina.

Gales y Both (91) demostraron que el cadmio usado en este método para la reducción del nitrato puede ser el cadmio metálico esponjoso, la amalgama de cadmio, o cobre-cadmio. - También, la sulfanilamida y el clorhidrato de N-1-naftiletilendiamina pueden ser usados para los reactivos Griess originales. El método propuesto como estudio colaborativo empleó cadmio metálico esponjoso para la reducción, con ácido sulfanílico y clorhidrato de 1-naftilamina como reactivos Griess.

3.10.1 ESTUDIO COLABORATIVO

Tres muestras de queso Cheddar fueron preparadas comercialmente por Kraft Foods, Glenview, IL, a las cuales se les agregó nitrato de sodio con las siguientes concentraciones:

- 1) nada de nitrato de sodio,
- 2) baja concentración, y
- 3) alta concentración.

Cinco porciones de queso (muestras C-G) fueron mandadas a cada uno de los 6 colaboradores. La muestra C no contenía nitrato de sodio, la muestra D contenía nitrato de sodio a una baja concentración, las muestras E y G fueron dobles y contenían nitrato de sodio a una concentración alta, y la muestra F fue preparada con $276 \mu\text{g/g}$ (ppm) de nitrato de sodio.

3.1012 METODO

Aplicable a quesos conteniendo $\cong 1$ ppm de NO_3 .

El método fue aceptado por la Associate Referce como primera recomendación oficial.

APARATOS Y REACTIVOS

a) Reductor modificado de Jones. Tubo de vidrio, de 300 X 10 mm de diámetro interno, con válvula, y el depósito-consistente en un embudo de adición de 200 ml con tapón de 24/40 (ver Fig. 11), o una columna cromatográfica con válvula

la equivalente.

b) Solución reguladora de amoníaco. pH de 9.6-9.7. Diluir 20 ml de HCl a 500 ml con H_2O . Mezclar, y agregar 50 ml de NH_4OH . Diluir a 1 lt y mezclar. Comprobar el pH, y ajustar si es necesario.

c) Solución de sulfato de cadmio. 0.14 M. Disolver — 37 g de $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ en agua y diluir a 1 lt.

d) Reactivo del color. Disolver 2.10 g de ácido sulfanílico en 250 ml de HOAc al 15% (V/V) por calentamiento en baño de vapor. Disolver 0.521 g de 1-naftilamina $\cdot H_2O$ (requiere de precauciones especiales para evitar su exposición a las personas, sec. 51.085 de la referencia (178)) en 30 ml de H_2O por calentamiento en baño de vapor. Vaciarlo todavía caliente en 250 ml de HOAc al 15%. Mezclar las 2 soluciones, filtrar si es necesario, y almacenar en una botella graduada de vidrio color café en el refrigerador. Prepararla semanalmente.

e) Zinc. Barras de 10 cm aproximadamente.

f) Solución de sulfato de zinc. 0.42 M. Disolver 120-g de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ en H_2O y diluir a 1 lt.

g) Soluciones estandard de nitrato de potasio. (1) Solución patrón. 1 mg de NO_3^-/ml . Disolver en H_2O 1.6308 g de KNO_3 estandard primario, previamente secado por 1 hr a 110°C , diluir a 1 lt, y mezclar. (2) Solución de trabajo. $10 \mu\text{g}$ de NO_3^-/ml . Transferir 10.0 ml de la solución patrón a un matraz volumétrico de 1 lt, diluir al volumen con H_2O , y mezclar.

h) Soluciones estandard de nitrito de sodio. (1) Solución patrón. 0.2 mg de NO_2^-/ml . Disolver en H_2O 0.3000 g de NaNO_2 estandard primario, previamente secado por 1 hr a 110°C , diluir a 1 lt, y mezclar. (2) Solución de trabajo. $2 \mu\text{g}$ de NO_2^-/ml . Transferir 10 ml de la solución patrón a un matraz volumétrico de 1 lt, diluir al volumen con H_2O , y mezclar.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Quitar cualquier recubrimiento de cera, la porción exte

rrior de la corteza del queso y cualquier superficie del molde.

a) Quesos muy duros ($\leq 25\%$ de la mezcla), duros, y semi-blandos ($< 40\%$ de la mezcla). Cortar en cubitos de ≤ 6 mm -- por lado y mezclar completamente. Moler 3 veces. Las variedades duras pueden ser raspadas.

b) Quesos blandos ($> 40\%$ de la mezcla). Componer y mezclar bien.

Almacenar el queso en vasijas de vidrio con tapas bien ajustadas. Preparar una suspensión de queso-agua (1+2) - -- (factor del queso = $1/3$, que es el inverso de lo que aparece en la ecuación final). Mezclar en un mezclador a alta velocidad hasta quedar homogéneo.

EXTRACCION

Pesar 30 ± 0.1 g de la suspensión en un matraz volumétrico de 200 ml. Agregar 70 ml de H_2O y calentar a $50^\circ C$, agitando ocasionalmente. Agregar 10 ml de la solución de

ZnSO₄ y 12 ml de la solución de NaOH al 2%, agitando después de cada adición. Mantener la temperatura a 50° C por 10 minutos, agitando ocasionalmente. Enfriar a la temperatura ambiente en baño de agua. Diluir al volumen con H₂O y mezclar completamente. Filtrar a través del papel estriado, descartando los primeros 20 ml del filtrado, en un matraz graduado de 250 ml. Refiltrar si el extracto no es claro. Los extractos de la muestra son estables a este punto. Guarde la porción de este filtrado sin reducir para la determinación.

Preparar el reactivo "blanco" de H₂O pmitiendo la suspensión del queso. Reserve el "blanco" para usarlo en el reactor modificado de Jones y en la determinación.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Agregar 0,1,2,3,4,5,10, y 15 ml de solución estándar de trabajo de NaNO₂ a los matraces volumétricos de 50 ml. Agregar 10.0 ml del reactivo formador de color, diluir al volumen con agua, mezclar, y dejar reposar en la obscuridad por 25 min. Medir la absorbancia de las soluciones en celdas de 1 cm a 522 ± 2 nm, contra el "blanco" (0 de la sol. -

estándar). Recorrer de 640 a 440 nm con el registrador espectrofotométrico. Preparar la curva de calibración graficando A contra μg de NO_2 /50 ml a máxima absorbancia.

PREPARACION DEL REDUCTOR MODIFICADO DE JONES

Colocar de 3-5 barras de zinc repartidas en 2 vasos de laboratorio de 800 ml conteniendo 500 ml de la solución de CdSO_4 . Sacar las barras de Zn cada 2-3 hr y raspar el Cd metálico esponjoso frotando las barras una contra la otra. -- Después de 6-8 hr, decantar y lavar los depósitos con 2 porciones de 500 ml de H_2O . (Precaución: el Cd debe ser guardado en una solución acuosa). Transferir el Cd con H_2O a un mezclador de alta-velocidad y mezclar de 2-3 seg. Retener las partículas en una malla de 8-40. Lavar las partículas con HCl 0.1 N, agitando ocasionalmente con una varilla de vidrio. Dejarlas toda la noche en el ácido. Agitar una vez más para desgasificar. Decantar y lavar con dos porciones de 100 ml de agua. Llenar el reductor modificado de Jones a una altura de 8-10 cm con Cd, drenando ocasionalmente durante el llenado pero no dejar que el nivel del líquido baje abajo del tope del lecho. Eliminar las burbujas en el lecho

por golpes ligeros en los lados de la columna.

Con la válvula cerrada, agregar 10 ml de la solución reguladora de NH_3 a la columna. Agregar 40 ml de solución estándar de trabajo de KNO_3 a la columna con el depósito colocado. Ajustar la velocidad del flujo inicial de 3-5 ml/min, y no reajustar. Recolectar el filtrado en un matraz volumétrico de 100 ml. Tan pronto como se vacíe la columna, lavar el depósito y las paredes de la columna con 25 ml de H_2O aproximadamente. Repetir con 2 porciones de 15 ml de H_2O . Después recolectar aproximadamente 100 ml de filtrado, quitar el matraz y diluir al volumen con H_2O . Reacondicionar la columna con 25 ml de HCl 0.1 N seguidos por 2 porciones de 25 ml de H_2O y 25 ml de la solución reguladora de NH_3 , y repetir el procedimiento, usar 40 ml del reactivo "blanco" de H_2O preparado en el paso de extracción. Mezclar, y agregar 5 ml del "blanco" y los filtrados estándar pasarlos a los matraces volumétricos separados de 50 ml. Proceder como en la preparación de la curva de calibración empezando en "Agregar 10.0 ml del reactivo del color..." Medir espectrofotométricamente como en la preparación de la curva de calibración contra el "blanco" tratado similarmente.

Si la concentración de NO_2 , determinada de la curva de calibración es $< 13.4 \mu\text{g}/50 \text{ ml}$ ($< 90\%$ de recuperación), reacondicionar la columna: Transferir las partículas de Cd a un vaso de laboratorio conteniendo HCl 2 N por 1 min. Decantar y lavar con 2 porciones de 100 ml de agua. Proceder como en el primer fragmento, empezando en "Llenar el reductor modificado de Jones...".

El reductor de Jones puede ser almacenado en H_2O entre cada análisis. Reacondicionar la columna antes de cada análisis con 25 ml de HCl 0.1 N seguidos por 2 porciones de 25 ml de H_2O y 25 ml de solución reguladora de NH_3 .

DETERMINACION

Proceder como en la preparación del reductor modificado de Jones fragmento 2, empezando desde "...quitar el matraz y diluir al volumen con H_2O ", excepto agregar 40 ml de la muestra filtrada preparada en el paso de extracción a la columna en lugar de KNO_3 standard.

Agregar 2.0 ml de la muestra filtrada sin reducir, 2.0-

ml del reactivo "blanco" de H_2O preparado en el pago de Extracción, y 5.0 ml del filtrado reducido preparado en el paso de preparación del reductor modificado de Jones a los matraces volumétricos de 50 ml, y proceder como en la preparación de la curva de calibración, empezando en "Agregar 10.0-ml de reactivo del color,..." excepto leer la muestra filtrada sin reducir y el filtrado reducido contra el "blanco". Cambiar las diluciones si es necesario, usando de 1-40 ml del filtrado reducido y del filtrado sin reducir, dependiendo de la concentración de NO_3 de la muestra. Las diluciones finales deberán dar factores de dilución similares. Para las concentraciones muy altas de NO_3 , puede ser necesaria una dilución previa con H_2O .

$$\begin{aligned} \text{ppm de } NaNO_3 &= \left[(R-U) \times D \times 3 \times 1.3478 \times 1.371 \right] / W \\ &= \left[(R-U) \times D \times 5.544 \right] / W \end{aligned}$$

donde R = μg de NO_2 /50 ml del filtrado reducido (de la curva de calibración)

U = μg de NO_2 /50 ml del filtrado sin reducir (de la curva de calibración),

D = factor de dilución, 1/3 factor del queso,

1.3478 = NO_2 a NO_3 factor de conversión,

1.371 = NO_3 a NaNO_3 factor de conversión, y

W = g de la suspensión de la muestra.

3.10.3 RESULTADOS Y RECOMENDACION

Los resultados de los 6 colaboradores (Tabla 20) fueron analizados estadísticamente por los procedimientos de Youden (234). Las estimaciones sobre la variabilidad obtenidas de un análisis de variabilidad en las muestras pares E y G en el laboratorio es de 7.08. La variabilidad estimada entre el laboratorio (desviación estándar) es de 12.03. Sin embargo, cuando los resultados del colaborador 1 son omitidos, el componente de la variación en el laboratorio se reduce, junto con el componente entre el laboratorio. El promedio de la recuperación (de los 5 colaboradores) para la muestra preparada (F) es de 100.4%; el promedio de todas las recuperaciones es de 101.8%.

Los comentarios de los colaboradores versaron principal

mente con la técnica. Algunos de estos comentarios fueron incorporados en el método. Un colaborador sugirió que se deberían obtener más puntos en el rango inferior de la curva estandard para permitir una escala más amplia en la porción inferior de la gráfica. Esta sugestión fue incluida en el método.

Otro colaborador sugirió que los papeles filtro usados para los extractos deberían ser lavados y secados con aire - para eliminar las posibles interferencias. El Associate Referee creyó conveniente que eliminando el primer 10% del filtrado y corriendo una muestra "blanco" sería un procedimiento - alternativo aceptable.

Otros colaboradores comentaron sobre el número de dígitos significativos usados en el método. La mayoría de los - métodos espectrofotométricos modernos son exactos para 3 dígitos significantes. Para los resultados >100 ppm el cuarto dígito fue usado para redondear el dato.

CAPITULO IV

CARNE, PESCADO, Y AVES DE CORRAL

4.1 DETERMINACION DE ARSENICO POR EL METODO DE AZUL DE -
MOLIBDENO

El método colorimétrico descrito en esta sección fue desarrollado en 1963 (31). El método está basado en el reporte de Kingsley y Schaffert (118), del cual se empleó el diseño del material de vidrio, y en las técnicas de preparación de las muestras de Evans y Bandemar (65). Después de su desarrollo, el método ha sido aplicado en varios laboratorios con buenos resultados. Entretanto, han sido desarrollados principalmente los métodos que usan los reactivos de dietil-ditiocarbamato de plata. Aunque estos métodos son tan adecuados como el método bajo estudio para concentraciones muy altas de arsénico, generalmente no son tan satisfactorios para bajas concentraciones. El método colorimétrico de azul de molibdeno aceptado como primera recomendación oficial (177), fue desarrollado para el arsénico inorgánico, usado en las frutas y es aplicable a concentraciones muy altas de

arsénico, como las encontradas en los tejidos animales.

El método estudiado emplea el complejo azul de molibdeno para la lectura espectrofotométrica. La muestra, que es hígado o tejido muscular, es incinerada en la presencia de magnesio a 600° C o menos. La ceniza resultante es disuelta en ácido clorhídrico diluido. El zinc es agregado para generar la arsina, que es atrapada con una solución de yodo. La absorbancia del color formado es leída a 840 nm. El método elimina la necesidad de transferir.

4.1.1 DISCUSION DEL METODO

En este método, como en todos los métodos para residuos, es imperativo que los reactivos no contengan sustancias contaminantes. Es también necesario que todo el material de vidrio y los aparatos estén escrupulosamente limpios.

Una buena recuperación de los residuos de arsénico de los tejidos animales requiere que toda la materia orgánica sea destruída y que el arsénico sea convertido a un estado

inorgánico en el cual es realmente disuelto, ionizado, y reducido. La capacidad para ser reducido es necesaria para la combinación con el hidrógeno para formar el gas de arsina. - El arsénico al estado de oxidación de +5 y combinado con las partes orgánicas no es adecuado para la producción de la arsina. Para superar esta dificultad, la muestra es incinerada antes del posterior tratamiento con los reactivos. Un -- "blanco" (de tejido animal) y al menos una "muestra standard" (de tejido animal fortificado con una concentración conocida de un arsenical orgánico) deberán analizarse con cada conjunto de muestras con concentración desconocida de arsénico. - Por el análisis de las 2 muestras de control con cada conjunto de análisis, uno puede determinar si hay problemas y si los análisis son válidos.

4.1.2 ESTUDIO COLABORATIVO

El estudio colaborativo fue diseñado tal que a) un número de muestras sería analizado, b) un número de muestras sería analizado a un tiempo, y c) algunas conclusiones significantes estadísticamente podrían sacarse. El estudio comprende

día 6 grupos con 4 muestras en cada grupo. Seis laborato- rios participaron analizando un grupo de muestras cada sema- na (en total eran 6 semanas). Tres laboratorios analizaron- cada grupo en un día separado.

El hígado de puerco y el hígado de pollo se obtuvieron- en una cantidad apropiada para la preparación de tres grupos de muestras. A 3 muestras en cada grupo se les agregaron -- concentraciones conocidas, seleccionadas casualmente en 3 -- rangos: 0.25-0.75, 0.76-1.50, y 1.51-1-50 ppm. Una muestra - en cada grupo no fue fortificada. La selección de los gru-- pos del hígado de puerco o de ave de corral fue al azar. El resultado fue que los grupos 1, 3, y 4 fueron preparados de - hígado de ave de corral y los grupos 2, 5, y 6 de hígado de - puerco. El grupo 3 fue preparado de hígado de ave de corral que contenía 0.20 ppm de arsénico. Este solo elevó los valo- res fortificados por esa cantidad y no afectó de otra manera al estudio.

La solución de ácido arsánico fue empleada para la -- fortificación. Después del desarrollo original del método, - los compuestos de arsénico han llegado a considerarse como--

el estándar apropiado y, por lo tanto, el uso del trióxido de arsénico no confirmaría la efectividad del procedimiento de incineración.

La cantidad total de hígado se mezcló por 1 min aproximadamente en un mezclador de 1 gal. Después del mezclado inicial, una cantidad adecuada para preparar una muestra para cada participante fue pesada cuidadosamente en una vasija del mezclador y mezclada mientras la cantidad prescrita de la solución de ácido arsánico fue introducida en el vortex de la mezcla. Se mezcló por lo menos 2 minutos después de la adición de la solución de ácido arsánico. Sin demora la mezcla del hígado fue dividido en porciones de 18 g aproximadamente cada una y puestas en bolsas pequeñas de plástico. Las bolsas fueron selladas con calor, congeladas, y almacenadas a -20° C hasta su uso.

El método desarrollado es descrito a continuación:

Método de azul de molibdeno para carne y aves de corral.
Fue aceptado como primera recomendación oficial.

PRINCIPIO

La muestra es incinerada en presencia de $Mg(NO_3)_2$ a --
600° C. La ceniza es disuelta en HCl diluido; el zinc es a-
gregado para generar el AsH_3 , el cual es atrapado con la so-
lución de I. El color es formado y leído a 840 nm. La prin-
cipal fuente de error es con frecuencia la contaminación. -
Siempre hacer el reactivo "blanco" y, cuando sea posible, la
muestra estándar.

REACTIVOS

El material de vidrio no deberá ser sometido a un proce-
so de lavado con jabón o detergentes, los cuales son amenudo
fuente de contaminación de As. Cuando se usa el jabón o el-
detergente, limpiar con agua regia antes de usar. Enjuagar-
los tubos de conducción del gas sosteniendolos en posición -
inclinada, con el tubo de agua hacia arriba y el chorro de -
agua por dentro del tubo de conducción del gas hasta que sea

llenado; entonces enjuagar por fuera mientras el tubo de con
ducción del gas se vacía. Repetir la operación 3 veces. En
juagar los embudos y extraer el agua por medio de vacío.

a) Mezcla-solvente. CHCl_3 (o benceno)-acetona-alcohol-
 absoluto (1+1+2).

b) Acido clorhídrico diluido. Mezclar 175 ml de HCl y-
 280 ml de H_2O .

c) Solución de yoduro de potasio. Al 15%. Guardar en-
 la obscuridad. Desecharla cuando la solución se torne amari
lla, sec. 25.012(f) de la referencia (177).

d) Solución de cloruro estannoso. Al 40% en HCl dilui-
 do, (b). Almacenar en contacto con Sn metálico.

e) Zinc. Trozos de forma y tamaño uniforme, alrededor-
 de 0.5 g cada uno.

f) Solución de acetato de plomo. Preparar la solución-
 acuosa saturada de $\text{Pb}(\text{OAc})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en un gotero. Preparar se
manalmente o cuando la solución se vuelva tubia.

g) Soluciones de yodo. (1) 0.02 N. Disolver 8 g de KI
 y 2.54 g de I en una cantidad pequeña de agua y diluir a 1 lt.
 con H_2O . Almacenarla en una botella oscura. (2) 0.001 N.-
 Diluir 5 ml de la solución de yodo 0.02 N a 100 ml con H_2O .

Prepararla diariamente.

h) Solución de molibdato de amonio. Disolver 7.0 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en una mezcla caliente de 70 ml de H_2SO_4 y 300 ml de H_2O , enfriar, y diluir a 500 ml con H_2O .

i) Solución de sulfato de hidracina. Disolver 0.3 g de $\text{N}_2\text{H}_4\cdot\text{H}_2\text{SO}_4$ en H_2O y diluir a 200 ml.

j) Soluciones estándar de óxido arsenioso. (1) Solución patrón. 1 mg de As/ml. Disolver 0.1320 g de As_2O_3 en 50% y diluir a 100 ml. (2) Soluciones de trabajo. Diluir porciones de 1 ml de la solución patrón a 100, 200, y 500 ml con H_2O (10, 5, 2 μg de As/ml, respectivamente).

k) Soluciones de ácido arsánfilico. (1) Solución patrón. 1 mg de As/ml. Disolver 0.2897 g de ácido arsánfilico (basarse en las instrucciones de la etiqueta) en H_2O y diluir a 100 ml con H_2O . (2) Soluciones de trabajo. Preparar las mismas concentraciones como en (j).

APARATOS

a) Soporte de las cubetas. Soporte de metal capaz de sostener cubetas de 19 x 105 mm, ver la Fig. 25:C1 de la ref. (177).

b) Aparato de destilación. Aparato de destilación de -
As consistiendo de un matraz de 125 ml, y tubo de dispersión
doblado.

c) Algodón absorbente. Libre de metal. Si hay trazas-
de metal, quitarlas digiriendo el algodón con HCl 0.2 N por-
varias horas, filtrar en el buchner, y finalmente lavar con
abundantes volúmenes de H₂O hasta que no quede ácido, sec. -
25.019(h) de la ref. 177.

PREPARACION DE LA MUESTRA

Asegurarse de la ausencia de las interferencias, surgi-
das del laboratorio y de la contaminación de los reactivos.-
Las recuperaciones de los compuestos agregados deberá ser --
≥90%. Conducir uno o más reactivos "blancos" y muestras es-
tandard juntamente con las muestras.

Para obtener una alícuota representativa de toda mues-
tra (≥100g), molerla ≥2 veces, usando un plato fino (moler-
la muestra de hígado solo una vez o mezclar). Mezclar comple-
tamente y pesar la cantidad calculada en un crisol Vycor de-

50 ml. Agregar 4 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ /10 g de muestra y mezclar, usar una espátula de acero inoxidable o barilla de vidrio, hasta que todo el $Mg(NO_3)_2$ esté disuelto. Extender la mezcla para obtener una superficie plana.

Para muestras muy pequeñas (<100 g), colocar una cantidad conocida o toda la muestra en el homogenizador o en el mezclador, agregar 4 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ /10 g de muestra y bastante mezcla-solvente para ayudar al mezclado, pesar y mezclar 1 min. (Precaución: Usar un mezclador a prueba de explosiones cuando se usa benceno-acetona-alcohol como mezcla-solvente). Pesar una alícuota equivalente de la cantidad deseada de la muestra en un crisol Vycor de 50 ml y evaporar cuidadosamente el exceso de solvente y H_2O del tejido en un baño de vapor o en una estufa a 95° C.

DETERMINACION

Colocar el crisol en el horno frío, incrementar gradualmente la temperatura hasta los 600° C, e incinerar la muestra a esta temperatura hasta que todo el C sea quemado. Enfriar el crisol y el horno. Humedecer la ceniza con H_2O y -

agregar 3 ml de HNO_3 (1+4). Colocarlo en el horno enfriado- (a 100°C) y calentar gradualmente hasta 600°C . Mantener - esta temperatura por 1 hr., hasta que todos los vapores de - HNO_3 sean emitidos. Repetir el tratamiento del HNO_3 diluido si es necesario, para obtener una ceniza blanca.

Quitar los crisoles y dejarlos enfriar. Humedecer la - ceniza con H_2O y disolverla en 10 ml de HCl diluido, (b), -- descargado de una jeringa hipodérmica de vidrio sin aguja. - Transferir cuantitativamente el matraz de 125 ml del aparato de destilación, con la ayuda de 2 porciones de 10 ml de HCl - diluido y lavar los lados del matraz con 4 porciones de 10 - ml. (Usar el mismo volumen del líquido para cada muestra por- que el volumen de aire sobre el líquido afecta la eficiencia de la destilación del H y del AsH_3). Enfriar a la temperatu- ra ambiente. Agregar 2.0 ml de la solución de KI al 15% y - mezclar completamente por agitación. Agregar 1.0 ml de la - solución de SnCl_2 al 40% y mezclar completamente por agita-- ción. Dejar reposar ≥ 15 min., (pero < 30 min.). Colocar -- 7.0 ml de la solución de I 0.001 N en la cubeta. Colocar -- una bola pequeña de algodón absorbente en la cabeza del embu- do y humedecerlo con la solución saturada de $\text{Pb}(\text{OAc})_2$.

Lubricar la uniones del vidrio esmerilado con H_2O y unir firmemente el tubo de conducción del gas al embudo. No se deben formar partes secas por calentamiento antes de usar. -- Las mangas de teflón no son satisfactorias.

Llenar el vaso de laboratorio de 600 ml con hielo finamente triturado acodado entre los niveles del soporte del tubo. Agregar H_2O y hielo a 2/3 de la altura del vaso de laboratorio y colocar la cubeta en el soporte. (Puede ser necesario hacer una senda a través del hielo para meter la cubeta). Lubricar la unión inferior de vidrio esmerilado del embudo con H_2O), agregar 12.5 g de Zn al matraz, unir el matraz y el embudo firmemente, y colocar el tubo de conducción del gas en la cubeta tan rápidamente como sea posible. Dejar -- que la destilación continúe por 1 hr (sin adicionar calor).

Cuidadosamente quitar el tubo de conducción del gas de la cubeta, dejando que el líquido se drene cuando el tubo -- sea quitado. Agregar 0.5 ml de la solución de molibdato de NH_4 y mezclar completamente. Agregar 0.3 ml de la solución de $N_2H_4 \cdot H_2SO_4$ y mezclar completamente. Colocar la cubeta -- (en el soporte de la cubeta) en baño de H_2O hirviendo moderada

damente o en baño de vapor (no vigoroso) por 10 minutos. - Quitar del baño, secar la cubeta con un material suave sin-pelusa, y colocarlo en un lugar frío y oscuro por 1 hr., -- (para asegurar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y se desarrolle el color al máximo). Leer en un espectrofotómetro precalibrado o en un colorímetro a 840 nm - contra H_2O libre de CO_2 . Corregir por los "blancos".

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Preparar los standards de 10 g de hígado sin As, 4 g- de $Mg(NO_3)_2$, y adecuadas cantidades de las soluciones de tra- bajo de ácido arsánico en progresión definida, tal como - 2,4,6,8,10 μg de As. Repetir los análisis de los standards ≥ 3 veces. Ajustar la línea de la curva de calibración por- el método de mínimos cuadrados, sec. 25.048(b) de la ref. - (177), como se describe a continuación: Tomar la ecuación - de la recta que conecta los puntos standards como $Y = a + bX$, y donde $X = \mu g$ de As y $Y = A$; a entonces representa la inter- cepción en el eje de la A (absorbancia) y b representa la - tangente o la pendiente de la recta. Calcular a y b de la - fórmula siguiente, donde n= número de observaciones, inclu-

yendo la de 0 de As.

$$b = \frac{XY - \frac{X Y}{n}}{X^2 - \frac{X X}{n}}, \text{ y } a = \frac{Y}{n} - b \frac{X}{n}.$$

4.1.4 RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 21 es una compilación de todos los datos presentados por los colaboradores. Muchos datos son completamente variables y no son incluidos en el análisis final. Estos datos fueron eliminados por razones estadística y químicas.

El colaborador 8 tuvo dificultad en analizar los primeros 3 grupos y estos resultados fueron eliminados. Los datos presentados por el colaborador 1 fueron tan extremadamente variables que sus resultados fueron eliminados. El criterio para la eliminación fueron los valores altos del "blanco". Si un analista reportó un valor de las muestras (de control) "blanco" de 0.12 o superior, el grupo entero (4 muestras) para ese analista fue eliminado. Esto eliminó-

todos los datos del colaborador 6 más los datos del colaborador 3 para los grupos 5 y 6. Las eliminaciones de arriba fueron hechas sobre la base del criterio químico de cada ejecución del analista. Los datos alejados fueron determinados de los datos originales (234), conforme al método de Dixon con el nivel de confianza del 90%. Si un resultado de un grupo tuvo un dato alejado (es indicado por un asterisco, Tabla 21), los resultados del colaborador para todo el grupo fueron eliminados. Esta decisión eliminó los resultados para el grupo I, colaboradores 2 y 5, y aquellos para el grupo 3, colaborador 2.

Los datos presentados por el grupo 4 fueron muy erráticos y se sospechó que la preparación de la muestra era la causa. Ninguno de estos datos fueron incluidos.

La Tabla 22 es un resumen de los datos, arreglados en orden ascendente de la cantidad de arsénico presente. Los coeficientes de variación calculados para los datos restantes para cada muestra, formaron un rango de 4.63 a 27.04 y un promedio de 13.17; solo 4 valores fueron superiores a 15.00.

4.2 DETERMINACION DE ARSENICO POR EL METODO DE DIETILDITIO CARBAMATO DE PLATA

El arsénico, un metal tóxico potencialmente, se encuentra en la mayoría de los alimentos. El arsénico es bien conocido por su toxicidad en los humanos; la ingestión de 100 mg usualmente causa un severo envenenamiento y de 130 mg se ha comprobado que es fatal (134). Poco se conoce sobre el proceso metabólico del arsénico en los ecosistemas acuáticos. Los investigadores (35,50,57,69,75) han demostrado que el arsénico hace el ciclo a través de los ecosistemas acuáticos y se acumula en las formas superiores de vida, es decir en los peces. En el camarón se ha reportado un residuo tan alto como 174 ppm (en peso húmedo) (35). La metilación biológica del arsénico, similar a la del mercurio en un medio acuático, también ha sido reportada (152). Se han reportado métodos para la destrucción de la materia orgánica previo al análisis y que utilizan la digestión húmeda o la incineración en seco de la muestra (35,65,84,215). Pero se encontró que se produce una pérdida de arsénico cuando se usa la incineración en seco (90,101). Cuando se usó la técnica de digestión húmeda utilizando una mezcla de

ácido nítrico y sulfúrico, seguida por el análisis del arsénico, se obtuvieron resultados erráticos y pobre reproductibilidad con el pescado, hojas de huerto NBS, y standards - agregados al pescado (134). Se investigó el procedimiento de la incineración en seco, usando nitrato de magnesio como auxiliar en la incineración (146). El análisis del digerido para el arsénico se hizo por el método de Gutzeit (17, - 205, 214).

4.2.1 METODO

APARATOS Y REACTIVOS

(Todos los reactivos usados fueron de grado analítico - a menos que se especifique otra cosa).

a) Soluciones estándar de arsénico. 1000 μg de As/ml. Disolver 1.320 g de trióxido de arsénico en 10 ml de agua - destilada conteniendo 4 g de NaOH, y diluir a 1 lt. Preparar diariamente soluciones de arsénico intermedias y de tra bajo, de la solución patrón. (Los standards fueron anali-

zados en las soluciones de agua y en las soluciones patrón).

b) Auxiliar de la incineración. Disolver suficiente nitrato de magnesio. $6H_2O$ para obtener una solución al 50% (peso/V) en agua destilada.

c) Solución de dietilditiocarbamato de plata. Disolver 1.0 g de dietilditiocarbamato de plata (AgDDC) en 200 ml de piridina y almacenarla en una botella ambar.

d) Solución de acetato de plomo. Disolver 10 g en 100 ml de agua destilada.

e) Solución de yoduro de potasio. Solución acuosa al 1.5%. Prepararla diariamente.

f) Agente reductor. Disolver 40 g de cloruro estannoso en 25 ml de HCl concentrado y diluir a 100 ml con agua destilada.

g) Zinc. Malla de 20-30, libre de arsénico.

h) Acido clorhídrico. Concentrado y 6N.

- i) Crisol. Crisol de porcelana Coors de 50 ml.

- j) Aparato pre-incinerador. Lámpara infraroja (IR) y canasta de calentamiento.

- k) Generadores de arsina.

- l) Espectrofotómetro. Bausch and Lomb Modelo Spectronic 70.

- m) Horno de Mufla.

DETERMINACION

Pesar exactamente la muestra (1-4 g para tejido húmedo de pescado y 0.5 g para tejido seco de pescado) en un crisol de Coors de 50 ml. (Las muestras muy grandes causan desvordamiento en el crisol debido a la espumación). Agregar 8 ml de nitrato de magnesio al 50% y mezclarlo bien con la muestra para asegurar una buena incineración. Colocar el crisol bajo la lámpara IR (14). Pre-incinerar la muestra con el calor IR, a una temperatura de 200° C aproximadamente. Cubrir el crisol y colocarlo en el horno de mufla. — Elevar lentamente la temperatura hasta 500° C a incinerar —

la muestra toda la noche (alrededor de 12 hr). Cuando la muestra este fría, disolver la ceniza en 17 ml de HCl (65)- y diluir a 35 ml con agua destilada. Pipetear una alícuota (el tamaño depende de la cantidad de arsénico presente) en un matraz Erlenmeyer. Entonces agregar, en el siguiente orden, 5 ml de HCl concentrado, 2 ml de solución de KI, y 8 - gotas del agente reductor, mezclando después de cada adición. Dejar reposar la mezcla 15 minutos para que el As^{+5} se reduzca a As^{+3} . Al mismo tiempo, impregnar la lana de vidrio en el depurador con 1 ml de la solución de acetato de plomo y agregar 4 ml de AgDDC al tubo recolector por medio de una pipeta. Después de 15 minutos, agregar 3 g de zinc al matraz generador y rápidamente montar el tubo recolector y el depurador. Colocar el aparato bajo la lámpara IR; elevar la temperatura después que la reacción inicial haya disminuído (alrededor de 10 min). Regular la temperatura tal que la corriente del gas pase a través del absorbedor constantemente. Después de 30 min, aproximadamente, desconectar el aparato y colocar la solución de AgDDC recolectada en las cubetas. Tomar las lecturas de la absorbancia a 535 nm - - (214). Analizar los estándares preparados diariamente que contienen de 1-7 μg de arsénico/ml, a las muestras que se -

les agregaron (se empleo pescado y hojas de huerto NRS).

4.2.2 RESULTADOS Y DISCUSION

La técnica de la digestión húmeda, que utiliza una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico, fue probada para el análisis de los tejidos de pescado. Se encontraron dificultades en la recuperación del arsénico y la reproductibilidad de los valores. También, el procedimiento fue largo y tedioso y requirió cuidadosa atención durante el paso de la digestión. Como una consecuencia, se emprendió un estudio para investigar la posibilidad de la incineración en seco del tejido de los pescados. Otros autores han descrito procedimientos para la incineración en seco de los materiales biológicos previo al análisis del arsénico (90,101). La temperatura de la incineración fue investigada inicialmente, usando tejido de pescado y hojas de huerto NBS. El rango de temperatura estudiado fue de 420-580° C. Similares resultados fueron obtenidos para temperaturas arriba de 420° C (Tabla 23) y se decidió que una temperatura de 500° C era suficiente para la incineración. El volumen usado del auxiliar

de la incineración (nitrato de magnesio al 50%) fue también investigado, usando tejido de pescado. Los resultados fueron consistentes y similares cuando se usaron 8 ml o más del auxiliar de la incineración con una muestra de 0.4 g (Tabla 24). Las recuperaciones del arsénico agregado al pescado y a las hojas de huerto NBS formaron un rango de 91 a 98% del arsénico agregado (Tabla 25). Inicialmente, solo una recuperación del 67% fue obtenida para los estándares de arsénico agregados al tejido de pescado y a las hojas de huerto - NBS, mientras que cerca del 100% de los estándares incinerados del arsénico inorgánico fue recuperado. Los resultados de arsénico para un número de especies marinas obtenidos de las técnicas de la incineración seca y de la digestión húmeda no fueron comparables (Tabla 26); los análisis de un -- gran número de otras muestras de pescado (150 aproximadamente) también dieron los mismos resultados. Los coeficientes de variación obtenidos para las concentraciones de arsénico en hojas de huerto y tejidos de pescado As-1 y As-2 fueron 7.0, 6.0, y 8.1 respectivamente (Tabla 27). Los resultados para un número de especies de pescado formaron un rango de 0.4 a 27.0 μg de arsénico/g (ppm) en base de peso húmedo -- (Tabla 28). El pescado analizado en la Tabla 28 fue obteni

do de la misma localización del muestrero. Los resultados del análisis no presentados en este trabajo dieron tendencias similares en el contenido de arsénico entre las especies. La jaiba, conjuntamente con el tiburón, la luja, el lenguado, y la ratfish, contenían concentraciones altísimas de arsénico entre las diferentes especies estudiadas. Finalmente, la reproducibilidad de los resultados para los estandards fue difícil de obtener con el método de Gutzeit para la determinación de arsénico y que los estandards deberán ser analizados, conjuntamente con las muestras, en duplicado.

La técnica de arsénico, en la incineración en seco descrita en este método no presentó ninguna pérdua significante de arsénico, como se demuestra en las Tablas 23 y 25. - La técnica produjo muchos valores muy altos para el arsénico que el método de la digestión húmeda con ácido nítrico y sulfúrico (Tabla 26) para varias especies de pescado. El método debería ser aplicado a otros materiales diferentes del tejido de pescado, ya que las hojas de huerto NBS (no certificadas para el arsénico) fueron también analizadas y dieron resultados para el arsénico similares a los resulta-

dos por la National Bureau of Standards. La incineración-- en seco puede eficientemente hacerse a 500° C, usando 8 ml- de nitrato de magnesio al 50%. La precisión del método es- tá dentro de los límites del laboratorio analítico como lo- demuestran los resultados del arsénico (Tabla 27) para un - número de muestras. El método de la incineración en seco - consume menos tiempo y puede adaptarse a muestras muy gran- des.

Morrison (164) usó un procedimiento similar para la de- terminación del arsénico en las aves de corral. Encontró - que la recuperación del arsénico agregado a las muestras, - dependía del tejido a ser analizado.

Las ecuaciones encontradas por mínimos cuadrados para- hígado, riñón, tejido muscular, y piel de pollo y los datos usados para generar estas ecuaciones son encontrados en la- Tabla 29. El promedio de la recuperación del arsénico agre- gado fue de 87% para hígado y riñón, 82% para tejido muscu- lar, y 75% para piel de pollo.

4.3 DETERMINACION DE BORO

Es necesario establecer un método específico y sensible para el ácido bórico y sus sales por si estos compuestos han sido empleados como agentes inhibidores en el cultivar importado (29).

El método general para la digestión de la muestra, 27.014,* es largo y engorroso. En el primer método y en los métodos 2.092, 2.095, y 34.007, la titulación con manitol requiere del ajuste del pH con indicadores y la adición de varios reactivos. Los buffers pueden interferir con los resultados. La presencia de las sales de calcio inducen, en algunos casos, a que el ácido bórico precipite como borato de calcio. En el método 2.095, se encuentra dificultad en la presencia de los compuestos que contienen nitrógeno. El método quinalizarin, 6.073, y el 34.007 se llevan bastante tiempo. Los métodos espectroscópicos, 41.001, son largos y empíricos.

*Los métodos oficiales citados están referidos al Official Methods of Analysis, 10th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D. C., 1965.

La curcumina ha sido usada ampliamente en el análisis del boro (49,86,192,230). Esto se debe a que es uno de los reactivos orgánicos más sensibles para determinar este elemento. Se requiere de un medio ácido para formar la curcumina protonada, la cual reacciona con el ácido bórico para formar el complejo de color de boro-curcumina llamado rosocianina. Se ha reportado que la reacción entre el boro y la curcumina produce un complejo en la relación 1:3 en ausencia de agua (94). La sensibilidad de la formación del complejo es incrementada bajo condiciones anhidras. El agua inhibe la adición del protón a la curcumina y así la formación del complejo de boro-curcumina.

La curcumina, en la forma protonada, absorbe a la misma longitud de onda como el complejo de boro. La acidez se reduce diluyendo la solución de 100 ml y la curcumina se transforma a su forma normal.

El método es reproducible, sensible, y específico. Las interferencias reportadas para la formación del complejo (94) no fueron encontradas en esta investigación. Los efectos del nitrato son eliminados en el paso de la descompo

sición con el ácido sulfúrico fumante (147). El tiempo para la descomposición de la muestra de caviar se redujo a 20 minutos aproximadamente; el método oficial 27.014, requiere varias horas.

4.3.1 METODO

PRINCIPIO

El boro reacciona con la curcumina en la solución ácida acuosa para formar un complejo de color estable. La intensidad del color es medida espectrofotométricamente a 555 m^μ.

APARATOS Y REACTIVOS

- a) Espectrofotómetro. Beckman Modelo DK-2A, con registrador (o un espectrofotómetro Modelo DU) con celdas estándar de sílica de 1 cm, con tapones de vidrio esmerilado.
- b) Platos de platino. 3 cm de profundidad x 7 cm de diámetro.

c) Solución de curcumina. Al 0.125%. Disolver 125 mg- de curcumina en 100 ml de ácido acético glacial. Prepararla diariamente.

d) Hidróxido de sodio. Al 10%. Almacenarlo en una botella de plástico.

e) Acido sulfúrico-ácido acético glacial. (1+1).

f) Alcohol anhidro. (El metanol es un sustituto aceptable: Dejar reposar 24 hr sobre óxido de calcio, decantar, y destilar 2 veces del hidróxido de potasio).

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES ESTANDARD

a) Solución estándar A. Pesar 57 mg (± 3 mg) de cristales de ácido bórico (ACS) en un matraz volumétrico de 200 ml. Agregar 50 ml de H_2O y colocar en un agitador mecánico por 20 min. Diluir al volumen y mezclar. (Preparar la solución el día que se efectúa la determinación).

b) Solución estándar B. Pipetear 1 ml de la solución estándar A en un matraz volumétrico de 100 ml, diluir al volumen con H_2O , y mezclar.

PREPARACION DE LAS SOLUCIONES DE LA MUESTRA

Tratar la muestra y el caviar sin ácido bórico similarmente. Enjuagar el material de vidrio con agua destilada - antes de usarlo.

Pesar 270 ± 25 mg de caviar en un matraz de fondo redondo de 2 bocas de 250 ml; colocar la muestra en el centro de la base del matraz. Conectar el matraz a un condensador de agua de tubo recto para facilitar el enjuague, y colocar el condensador en la boca del centro del matraz y poner un tapón de vidrio en la otra boca. (No usar grasa lubricante). Agregar 1 ml de H_2SO_4 , tapar el matraz con el tapón de vidrio, aplicar una flama pequeña del mechero bunsen a la solución ácida, y calentar hasta que la superficie del líquido empiece a moverse. Quitar la flama. Promover ligeramente la evolución de las burbujas con flama intermitente. No causar salpicaduras de ácido o emisión copiosa de vapores.- Continuar calentando por 5 min, o hasta que los sólidos sean disueltos; la solución será negra y líquida. Enfriar el matraz en agua con hielo. Si hay humos, dejarlos que se condensen. Con una geringa, agregar rápidamente 1 ml de H_2O_2 al 30%, tapar el matraz inmediatamente, y calentar suavemente la solución con flama intermitente para iniciar la ebu-

llición. Calentar 5 min, o hasta que los vapores empiecen a emitirse. (La solución generalmente deberá ser clara con algunas partículas minutas). Enfriar el matraz en agua con hielo. Enjuagar el condensador directamente en el matraz con H_2O . Desconectar el matraz, transferir cuantitativamente la solución con agua, usando un embudo de vidrio, en un matraz volumétrico de 100 ml, diluir al volumen, y mezclar. (Las soluciones deberán ser amarillo pálido o incoloras).

DETERMINACION

Pipetear en platos de platino individuales lo siguiente: 1 ml de H_2O para el "blanco" estándar; 1,2,3,4, y 5 ml de la solución estándar B; 1 ml de la solución de la muestra de caviar; 1 ml de la solución de caviar sin ácido bórico. Agregar 1 ml de NaOH al 10% a cada plato y agitar para mezclar completamente. Colocar los platos en un baño de vapor vigoroso (exponer directamente al vapor) hasta que se obtenga un gis blanco (de 2.5-3 hr). Transferir los platos a un horno a $100 \pm 5^\circ C$ por 0.5 hr para secar el residuo. (Precaución: Temperaturas muy altas causan salpicaduras). Quitar los platos y enfriarlos. Agregar 3 ml de la solución

de curcumina. Usar una espátula para cada plato y agitar el residuo con la espátula de acero inoxidable o de plástico para disolver. (Nota: Todos los residuos estándar se disolverán en 2-3 min, pero la solución de la muestra no se disolverá completamente y deberá ser agitada por 5 min. Puede aplicarse calentamiento muy ligero para promover la disolución). Enfriar los platos a la temperatura ambiente, y agregar 3 ml de la solución de $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{H}_2\text{SO}_4$ (1+1). Agitar con la misma espátula para mezclar hasta que no permanezca el color amarillo en el plato o en la espátula; continuar agitando y rolando el plato por 2 min después que el color amarillo desaparezca. Dejar reposar la solución 15 min. Transferir las soluciones con 50 ml de etanol aproximadamente (se puede agregar con un gotero) a los matraces volumétricos de 100 ml, usando embudos de vidrio. Enjuagar los platos con etanol y agregar la enjuagadura en los matraces y diluir al volumen 5 ml antes de la marca. Tratar cada solución separadamente como sigue: Diluir al volumen y mezclar. Filtrar la solución a través de un papel filtro seco y descargar los primeros 3 ml. Recolectar el filtrado directamente en las celdas espectrofotométricas y leer la absorbancia de las soluciones contra etanol a 700 y 555 $\text{m}\mu$.

Calcular la absorbancia de las soluciones standards - $(A_{555} - A_{700})$. Substraer la absorbancia del "blanco" estandar de las lecturas standards. Asimismo, calcular la absorbancia de las soluciones de caviar $(A_{555} - A_{700})$. Substraer la absorbancia del caviar sin ácido bórico de la absorbancia de la muestra. Graficar la curva de calibración en papel gráfico: μg de boro/100 ml como abscisa versus la absorbancia $(A_{555} - A_{700})$ como ordenada. Determinar los μg de boro/100 ml para el cavido de la gráfica.

$$\text{g de boro} = \left[\mu\text{g de boro/100 ml (de la gráfica)} \right] / 10^4$$

$$\% \text{ de ácido bórico} = (\text{g de boro} \times 5.7142 \times 100) / \text{g de la muestra.}$$

4.3.2 PREPARACION DE LA MUESTRA COLABORATIVA

Aproximadamente 0.5 g de ácido bórico cristalino (grado ACS) fueron disueltos en 50 ml de agua. Una alícuota de 25 ml fue transferida a un plato de platino con 10 g de caviar. La solución fue cubierta con un vidrio de reloj, el-

cual fue asegurado y sellado con masking tape, y guardado en el refrigerador por 24 hr. El caviar fue transferido a un embudo Buchner, al matraz no se le aplicó vacío, y la muestra se drenó por 1 hr en el refrigerador. Durante ese tiempo, se protegió la muestra con un vidrio de reloj. El caviar fue transferido a una vasija de plástico con tapón de rosca y guardado en el refrigerador hasta que se usó.

4.3.3 RESULTADOS Y DISCUSION

Se hicieron dos determinaciones para el boro, a la primera se le agregó el ácido bórico antes de la digestión del caviar, y a la segunda se le agregó después de la descomposición de la muestra. Los resultados de la recuperación fueron variables lo cual indicó la necesidad de un método para aplicar uniformemente el ácido bórico al caviar antes del análisis. Remojando el caviar en una solución acuosa concentrada de ácido bórico dio una igual captación del caviar del ácido bórico. La solución acuosa retuvo la mitad de la concentración del ácido bórico y el caviar absorbió el sobrante. Ya que cada lote de caviar varió en la cantidad ab

sorbida, se decidió llevar a cabo un estudio colaborativo.

La linealidad de la curva de calibración se demostró - por sucesivas corridas de la solución estandard de ácido bórico en el rango de 0-5 μg de boro/100 ml.

Un espectro típico del complejo de boro-curcumin es -- ilustrado en la Fig. 12.

Los resultados obtenidos en un análisis inicial de caviar y los resultados obtenidos por los colaboradores 3 semanas más tarde en la misma muestra son presentados en la - Tabla 30. Los valores muy altos de la segunda determinación se deben a la ligera deshidratación de la muestra durante - el almacenamiento.

Los aparatos y utensilios fueron enjuagados con agua - destilada antes de usarlos. La grasa de silicona usada en las uniones de vidrio esmerilado del aparato de descomposición aumentó la absorción del complejo. Por lo tanto no se emplearon los lubricantes.

La determinación colorimétrica es altamente específica para el boro. Dible et al. (49) establecieron que el hierro férrico, molibdeno, titanio, zirconio, berilio, y el magnesio también forman complejos con el curcumin. Nemodruk y Karalova (29) incluyeron al tungsteno. Estos metales fueron probados por el método, y ninguno presentó formación del color para las lecturas de absorción.

4.4 DETERMINACION DE COBRE Y MERCURIO POR EL METODO DE DITIZONA Y DIETILDITIOCARBAMATO DE PLOMO

El interés actual sobre el efecto de las cantidades -- (trazas) de varios elementos en el metabolismo de los organismos vivos, conectado con el difundido asunto sobre la posible acumulación de las sustancias tóxicas en el medio ambiente, han creado la necesidad para determinar las siempre bajísimas concentraciones de los metales en las diferentes-especies de alimentos (173).

Algunos de estos metales (tales como el zinc, el cobre, el cobalto, y el manganeso) juegan un papel importante en un número de procesos biológicos esenciales teniendo un efecto beneficioso, mientras que otros (como el mercurio, el plomo, y el cadmio) pueden ser dañinos.

Técnicas sofisticadas como la espectrometría de masa,-- el análisis de la activación del neutrón, y la espectrofotometría de absorción atómica con usualmente empleadas en los laboratorios bien equipados. Además, hay un interés grande

en las métodos analíticos clásicos que emplean la ditizona

y los reactivos similares que forman complejos, especialmente para la estimación de los metales pesados residuales en los alimentos.

Este método presenta un procedimiento para la determinación de dos elementos, cobre y mercurio, en la misma muestra de alimento (167). El mercurio puede determinarse selectivamente en un medio ácido fuerte a un pH de 0 - ej., ácido sulfúrico con una pequeña cantidad de ácido nítrico. El cobre a una concentración de 1 mg no interfiere cuando se usa la solución de ditizona en cloroformo.

4.4.1 EXPERIMENTAL

El método consiste de un procedimiento de oxidación húmeda desarrollado por Gorsuch (84) y modificado por Hordynska et al. (167). Primero el mercurio es determinado en una muestra fuertemente ácida (166). Después de la extracción del mercurio, las partes de la solución de la muestra restante son transferidas cuantitativamente a una probeta de 500-ml y diluida con agua para completar el volumen a 300 ml.

El procedimiento a seguir involucra tres pasos: 1) Ajustar el pH de la solución de la muestra un pH de 3 y la extracción del cobre con una solución de ditizona en cloroformo al 0.01%. 2) Descomposición de los extractos por el nitrito de sodio y la reversión del cobre en ácido sulfúrico 0.1 N. 3) Ajustar el pH de la nueva solución a un pH de 6, seguido por la determinación colorimétrica del cobre usando una solución clorofórmica de dietilditiocarbamato de plomo.

La sensibilidad del procedimiento desarrollado corresponde a $1 \mu\text{g}$ de cobre.

REACTIVOS

Todos los reactivos fueron de grado reactivo, sin impurezas de cobre. El agua fue sin cobre y destilada en un aparato de vidrio.

La solución patrón de ditizona (ver la p.151) se preparó conforme al método de la AMC (9). De esta solución, se preparó una solución al 0.01% (peso/V) diluyendo 1 volumen-

de la solución patrón con 4 volúmenes de cloroformo.

Una solución clorofórmica de dietilditiocarbamato de plomo al 0.04%, $Pb(SCSNET_2)_2$, se preparó de la siguiente forma: se disolvieron 0.05 gramos de $Pb(NO_3)_2$ en unos milímetros de agua en un embudo de separación. Entonces se disolvieron 5 ml de la solución de tartrato de NaK al 5% y 0.1 g de $NaSCSNET_2$ en unos mililitros de agua, y se agregaron a la solución. Se agitó ligeramente la mezcla hasta que apareció un precipitado de $Pb(SCSNET_2)_2$. Se extrajo el precipitado con 250 ml de cloroformo agitando por 3-5 min, y la fase acuosa fue descargada. Se lavó el extracto dos veces con agua filtrándolo a través de un papel filtro seco sin ceniza en una botella de vidrio oscura.

Solución de tartrato de NaK al 5% (peso/vol). Se purificó del cobre con unos mililitros de $Pb(SCSNET_2)_2$ al 0.04%.

Solución estándar de cobre, conteniendo 1 μ g de Cu por ml, fue preparada conforme a Sandell (194). Disolver 0.1964 g de cristales no eflorecidos de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ en agua, agregar bastante ácido clorhídrico (o sulfúrico) para tener una

acidez final de 0.1 N aproximadamente y diluir a 500 ml. - De esta solución diluir 1 ml a 100 ml con ácido clorhídrico.

Solución de cianuro de potasio al 10% (peso/V). Se -- disolvieron 20 g de KCN en 50 ml de agua, y fue filtrada en una botella de 100 ml. Después se diluyó la solución con - agua hasta completar los 100 ml.

PROCEDIMIENTO

Colocar 50 ml de la solución de la muestra que contenga alrededor de $15 \mu\text{g}$ de cobre en un vaso de precipitado de 200 ml. Ajustar el pH a 3 por la adición de unas gotas de amoníaco concentrado por medio de un pH-metro. Si se agregó demasiado amoníaco, corregir el pH con H_2SO_4 2N. Transferir la solución de la muestra a un embudo de separación - de 250 ml y extraer el cobre con porciones de 1 ml de diti-zona al 0.01%, hasta que la última porción permanezca de color verde. Combinar los extractos y transferirlos a un vaso de precipitado de 250 ml con 50 ml de H_2SO_4 0.1N, destruir el complejo cúprico con 20-30 mg de NaNO_2 . Calentar ligeramente la solución a 75°C aproximadamente y agitar para eva

porar completamente el cloroformo y el HNO_2 . Después de enfriar, agregar 5 ml de la solución de Tartrato de NaK al 5% y ajustar el pH a 6 con unas gotas de NH_4OH 2N por medio del pH-metro. Pasar la solución a otro embudo de separación — de 150 ml, saturarla con 2 ml de cloroformo, y drenar la capa clorofórmica. Extraer dos veces la capa acuosa remanente con la solución clorofórmica de $\text{Pb}(\text{SCSNET}_2)_2$ al 0.04%, — usando un volumen total de 5 ml. Se observa una formación del color amarillo pálido del $\text{Cu}(\text{SCSNET}_2)_2$ en la capa orgánica si hay iones de Cu^{2+} . Después de la fase de separación, pasar la fase orgánica a través de un papel filtro seco sin cenizas en un tubo de ensayo de vidrio de 20 ml con tapón. — Medir la absorbancia en una celda espectrofotométrica de 1-cm a 440 nm vs. el "blanco". Preparar una gráfica de calibración por medio de una serie de soluciones estándar de — cobre cubriendo el rango de 0-20 μg de Cu y tratarlas como se describió. Hacer el volumen final del estándar idéntico al de la muestra.

Para comprobar las interferencias del Bi, agregar una gota de la solución de KCN al 10% al extracto clorofórmico de $\text{Cu}(\text{SCSNET}_2)_2$, y al "blanco", para descomponer el comple-

jo cúprico y descolorarlo. Medir la absorbancia residual - vs el "blanco" descolorado, y substraer la lectura de lo -- registrado previamente.

4.4.2 RESULTADOS Y DISCUSION

Muchos procedimientos espectrofotométricos para la determinación selectiva de las cantidades (trazas) de cobre, - que usan varios agentes formadores de complejos, han sido - reportados por Sandell (194), Kiltzoff y Elving (124), y otros (159). El método descrito difiere grandemente de los métodos citados, ya que el cobre puede ser determinado junto con el mercurio en la misma muestra del alimento. El -- mercurio se determina primero en un medio fuertemente ácido con ditizona, y el cobre no coextraído bajo estas condiciones como ha sido demostrado en los experimentos radioquímicos con el ^{64}Cu (166).

Los resultados de este método son apoyados por los cálculos hechos usando las ecuaciones de la monografía de Sandell (194). En conformidad, casi el 98% del complejo prima

rio de cobre ditizona se disocia en el medio fuertemente ácido en el que el mercurio se determina.

Los estudios radioquímicos y los cálculos, proveen las bases para el desarrollo del procedimiento descrito.

Las concentraciones del cobre encontradas usualmente en la muestra de alimento son 100 veces menores que los tomados para el experimento. De aquí que, el cobre puede separarse aún más efectivamente del mercurio.

El efecto de otros metales es inhibido por la extracción preliminar con la ditizona y por el empleo del $\text{pB(SCSN Et}_2)_2$ en cloroformo, también como por el uso del KCN.

El procedimiento se examinó también radioquímicamente poniendo cobre como indicador. Se agregó a la muestra en la cantidad de $2 \times 10^3 - 1.5 \times 10^4$ cpm (cuentas por minuto) de ^{64}Cu en la forma de $^{64}\text{CuSO}_4$. La radioactividad se midió por un contador de centelleo de NaI/Tl.

Los resultados de la determinación espectrofotométrica

de cobre en 50 muestras de carne de pescado y algunos otros alimentos marinos también como en la leche en polvo son presentados en la Tabla 31.

El peso de las muestras de pescado y de los alimentos-marinos fue de 50 g, con algunas excepciones para la perca- (30 g), sardineta Báltica (25 g), muestra de atún (40 g), - y del traicionero albacora (40 g). Las muestras de leche - en polvo pesaron 15 g. Para la determinación de cobre, se usó 1/6 parte de cada muestra. Para cada muestra, unos microgramos de cobre se adicionaron al principio del procedimiento analítico. La recuperación del cobre agregado varió de 87 a 104% y el valor medio fue de 95.4% con una desvia- ción estandard de $\pm 4.2\%$. Una comparación de estos resulta dos con los obtenidos radioquímicamente demuestran una concordancia satisfactoria.

4.5 DETERMINACION DEL ESTAÑO POR EL METODO DE FENILFLUORONA

En una investigación fue necesario determinar las cantidades (tan bajas como 0.5 ppm) de estaño en el camarón enlatado. Varios métodos descritos en la literatura fueron probados. En general, estos métodos fueron lentos y engorrosos, no permitieron determinaciones precisas, o fueron insensibles. Todos ellos requirieron la separación del estaño de los iones que interferían por la destilación, precipitación del sulfuro, o extracción. Entre los métodos investigados estaban los métodos gravimétrico y volumétrico - en el Official Methods of Analysis, secs. 24.072-24.076 de la referencia (175); y los procedimientos colorimétricos empleando hemotoxilina (216) y 8-hidroxiquinolina (207).

El método de fenilfluorona de Luke (143), originalmente aplicado para la determinación del estaño en los productos del acero, aunque dilatadamente, manifestó dar excelentes resultados en términos de la sensibilidad y de la exactitud. La característica notable de este método es el uso de una doble extracción con carbamato para reducir la interfe-

rencia de las grandes cantidades de otros metales. El método original fue desarrollado para materiales que contenían interferencias de metales en grandes cantidades. El método se modificó para usarse con los alimentos que contienen cantidades relativamente pequeñas de tales metales (217).

4.5.1 METODO

APARATOS Y REACTIVOS

a) Colorímetro. Un colorímetro "Spectronic 20" de Bausch and Lomb, con cubetas de 11.67 mm de diámetro interno.

b) Solución estándar de estaño. 20 μg por ml. Colocar 0.2500 g de metal de estaño puro en un matraz de 250 ml, agregar 10 ml de H_2SO_4 , y disolver por calentamiento. Calentar hasta que aparezcan abundantes vapores. Agregar 30 ml de H_2SO_4 , enfriar, agregar cuidadosamente 125 ml de agua, enfriar, transferir a un matraz volumétrico de 250 ml y completar el volumen. Transferir 5.00 ml de esta solución pa-

trón estandard a un matraz volumétrico de 250 ml, agregar - 75 ml de H_2SO_4 diluido (1+2), enfriar, y completar el volumen.

c) Solución de carbamato. Disolver 4 g de dietilditio carbamato de dietilamonio en 200 ml de cloroformo. Preparar la diariamente.

d) Solución de yoduro de potasio-ácido ascórbico. Disolver 6 g de yoduro de potasio más 1 g de ácido ascórbico en 20 ml de agua, y mezclar. Preparar diariamente.

f) Solución reguladora. pH de 5. Disolver 225 g de $NaC_2H_3O_2 \cdot 3H_2O$ o 135 g de $NaC_2H_3O_2$ anhidro en 175 ml de agua aproximadamente. Filtrar si es necesario. Transferir a un matraz volumétrico de 500 ml conteniendo 120 ml de ácido acético, enfriar y completar el volumen.

g) Peróxido de hidrógeno (al 3%). Diluir 5 ml de H_2O_2 al 30% a 50 ml con agua.

h) Solución de goma arábiga. Disolver 0.5 g de goma -

arábica en 50 ml de agua caliente y filtrar. Prepararla -
diariamente.

i) Mezcla tri-ácida. A 120 ml de H_2SO_4 , agregar 60 ml de HNO_3 y 30 ml de $HClO_4$ al 70-72%, y mezclar.

j) Solución de fenilfluorona. Transferir 0.1000 g de fenilfluorona (2,6,7-trihidroxi-9-fenilisojanten-3-ona) a un vaso de precipitado de 400 ml. Agregar 100 ml de metanol y 1 ml de HCl, y agitar hasta disolver. Transferir a un matraz volumétrico de 250 ml seco, y completar el volumen con metanol. Almacenar en una botella de vidrio (no de polietileno) en el refrigerador y desechar después de una semana.

k) Sulfato de hidracina. Grado reactivo, forma cristalina.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Transferir 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, y 2.0 ml de la solución estandard de estaño diluida ($20 \mu g/ml$) a embudos de separación de 12 ml conteniendo respectivamente, 50.0, 49.5, - -

49.0, 48.5, y 48.0 ml de H_2SO_4 (1+9) diluido. Agregar 25 - ml de la solución de carbamato, agitar momentáneamente, aliviar la presión en el embudo, y entonces agitar vigorosamente por 30 segundos. Dejar que las capas se separen, y descargar la capa inferior. Agregar 5 ml de cloroformo, agitar por 10 seg, y descargar la capa inferior. Repetir con una segunda porción de 5 ml de cloroformo.

Drenar la solución acuosa en un matraz Erlenmeyer de - 125 ml, calentar a $50^\circ C$, y regresar la solución al embudo. Agregar 2 ml de la solución de ácido tioglicólico y 2 ml de la solución de yoduro de potasio-ácido ascórbico, taponear el embudo, y mezclar. Dejar reposar sin el tapón por 20 minutos para reducir el estaño.

Agregar 20 ml de la solución de carbamato, taponear el embudo, agitar, aliviar la presión del gas, taponear, y agitar vigorosamente por 30 segundos. Dejar que las capas se separen, y drenar la capa inferior en una cápsula de evaporación de 200 ml de Vycor. Agregar 5 ml de cloroformo al - embudo, agitar 10 segundos, dejar que las capas se separen, y drenar la capa inferior en la cápsula de Vycor. Descar-

gar la solución acuosa del embudo.

Evaporar la solución de la cápsula sobre una canasta - de calentamiento a baja temperatura hasta que sólo permanezca un pequeño residuo de ácido tioglicólico. Agregar 3 ml de la mezcla tri-ácido y evaporar hasta obtener un promontorio seco sobre una flama moderada. Repetir la digestión -- hasta que no quede carbón en la cápsula. Volatizar cualquier ácido condensado en el borde superior de la cápsula.

Enjuagar los lados de la cápsula con 2.5 ml de H_2SO_4 - (1+4) diluido. Calentar hasta que aparezcan los vapores de ácido sulfúrico, mientras agitar suavemente para evitar - - salpicaduras. Usar pinzas cubiertas de asbesto para sujetar la cápsula, no usar forceps de metal.

Evitar que grandes cantidades de ácido sean expulsadas. Enfriar, enjuagar la cápsula con 4.5 ml de agua, y enfriar.

Agregar en el siguiente orden: 0.5 ml de H_2O_2 al 3%, - 5.0 ml de la solución reguladora, 0.5 ml de la solución de goma arábiga, y 5.0 de solución de finilfluorona; agitar en

tre cada adición con una varilla de vidrio. Dejar reposar 5.0 minutos.

Agregar 8 ml de HCl (1+9) diluido, agitar hasta que el precipitado blanco se haya disuelto, y completar el volumen en un matraz volumétrico de 25 ml con HCl (1+9). Transferir una porción de la solución a las cubetas, y leer a 510- $m\mu$ contra el "blanco". Preparar la curva de calibración.

ANALISIS DE LA MUESTRA

Pesar una muestra que contenga entre 0 y 400 μg de estaño, preferiblemente entre 100 y 400 μg (en el caso de camarón enlatado, 10 g de carne de camarón) en un matraz Erlenmeyer de 500 ml de boca ancha. Si la muestra es líquida, evaporar a sequedad. Agregar bolitas de vidrio, 10 ml de H_2SO_4 , y 30 ml de HNO_3 . Digerir sobre una flama tipo Meker hasta que se oscuresca la solución. Quitar de la flama, dejar enfriar un poco, y agregar de 10-20 ml de HNO_3 . Continuar este proceso hasta que lo digerido permanezca de color amarillo paja por 3-4 minutos.

Dejar enfriar. Lavar los lados del matraz con 10 ml de agua, y calentar hasta que aparezcan los vapores de H_2SO_4 . Enfriar ligeramente, agregar 0.3 g de sulfato de hidracina, y evaporar la muestra hasta un volumen de 5 ml aproximadamente. Enfriar.

Transferir a un embudo de separación con agua, y llevar el volumen hasta 50 ml aproximadamente. Si la muestra contiene más de $40 \mu\text{g}$ de estaño/g, transferir el digerido a un matraz volumétrico de 50 ml y diluir una alícuota apropiada a 50 ml en el embudo de separación con H_2SO_4 (1+9). Continuar la determinación como en la preparación de la curva de calibración, empezando con: "Agregar 25 ml de solución de carbamato...".

CALCULOS

Los microgramos de estaño en la muestra puede ser leídos directamente de la curva de calibración y dividiendo por el número de gramos en la muestra para obtener $\mu\text{g/g}$. Para determinaciones más precisas, los standards (en duplicado, al menos) puestos entre paréntesis y la lectura espe-

rada de la muestra a determinar deberán llevarse a través - de la determinación; y calcular los μg de estaño por interpolación como sigue:

$$\frac{\mu\text{g de Sn}}{\text{g de la muestra}} = \text{factor de dilución} \times \frac{\left[\frac{(A_x - A_1)}{(A_2 - A_1)} \times (C_2 - C_1) \right] + C_1}{\text{Peso de la muestra en g.}}$$

donde: A_x = absorbancia de la muestra a determinar a 510 $m\mu$;

A_1 = absorbancia del estandard inferior a 510 $m\mu$,

A_2 = absorbancia del estandard superior a 510 $m\mu$,

C_1 = microgramos del estaño en el estandard inferior,

C_2 = microgramos del estaño en el estandard superior.

4.5.2 RESULTADOS Y DISCUSION

Por el uso de la reducción del sulfato de hidracina, - de la reducción del yoduro de potasio-ácido ascórbico-ácido tioglicólico, y la doble extracción del carbamato, es posible la determinación de cantidades micrográmicas de estaño - en la presencia de los siguientes minerales contaminantes: - cobre, bismuto, mercurio, arsénico (III), antimonio (III) -

plata, cadmio, indio, selenio, telurio, paladio, molibdeno, cromo (VI), y fierro (III). Aunque el estaño (II) es extraído por el carbamato, el estaño (IV) no es extraído; por lo tanto, el método de la doble extracción con carbamato, con reducción intermedia del estaño al estado de valencia más baja, es práctica (4).

La curva de calibración tiene una pendiente de 0.02 μg aproximadamente. La curva sigue la ley de Beer exactamente entre 0 y 40 μg de estaño. Para mayor exactitud, sin embargo, se sugiere que al menos 2 standards sean llevados por el procedimiento conjuntamente con las muestras a determinar, porque la pendiente de la curva de calibración varía con la edad de la solución de fenilfluorona y el carbamato.

En orden a determinar los límites de precisión y exactitud del método, 20.0, 100.0, y 200.0 μg de estaño fueron agregados a 3 grupos de 6 muestras, de 10 gramos cada muestra de carne cocida de camarón. Las carnes de camarón contenían 0.1 $\mu\text{g}/\text{g}$ de estaño previo a la adición de las cantidades de arriba; basado en el promedio de recuperación de las 10 muestras. Cuando fue necesario, las carnes de cama-

rón digeridas fueron transferidas a un matraz volumétrico de 50 ml, y alícuotas adecuadas fueron tomadas para la extracción y subsecuente formación del color.

Las recuperaciones dieron un rango de 83 a 112%, el promedio de recuperación fue del 100%. Las siguientes evaluaciones estadísticas fueron calculadas sobre la base de la cantidad de estaño llevada a través de la formación del color (es decir, Grupo I, 21.0 μg por alícuota conteniendo 10 gramos de carnes de camarón; Grupo II, 20.2 μg por alícuota conteniendo 2 gramos de carnes de camarón; Grupo III, 20.1 μg por alícuota conteniendo 1 gramo de carnes de camarón). El promedio de la desviación fue de 1.2 μg para el total de las alícuotas, con los extremos de 0.6 y 1.8 $\mu\text{g}/\text{alícuota}$. La desviación estandard de las series estuvieron dentro de los valores superior e inferior de los límites de confianza del 90%, (límite superior = 2.0, desviación estandard = 1.4, límite inferior = 1.1). La desviación estandard y el error estandard del promedio de cada grupo están resumidos en la Tabla 32. Una posterior estimación de la precisión pudo hacerse comparando la desviación estandard relativa para cada grupo: Grupo I, 10.6%; Grupo II, 6.2%; y Grupo

III, 3.9%. La exactitud del método a varias concentraciones de estaño está indicada por el error promedio de los grupos, también presentada en la Tabla 32. Los errores relativos de estos tres grupos son: Grupo I, 5.7%; Grupo II, 4.0%; y Grupo III, 2.5%.

Es aparente que la exactitud y la precisión sean incrementadas cuando el tamaño de la muestra a digerirse sea -- ajustada para contener $100 \mu\text{g}$ de estaño o más. Una muestra de 10 g de la mayoría de los alimentos con frecuencia contiene esta cantidad. En vista de la digestión húmeda empleada, es posible usar una muestra muy grande para los alimentos -- que contienen menos de 10 mg de estaño/gramo de la muestra, sin mucha dificultad. Sin embargo, es necesario limitar el tamaño de la muestra, los digeridos de las muestras que contienen tan poco como $20 \mu\text{g}$ de estaño pueden ser utilizadas en su totalidad con la debida consideración del decrecimiento aparente en la exactitud y la precisión. La sensibilidad del método es adecuada y puede ser incrementada por el uso de cantidades muy grandes o por un colorímetro más sensible que el empleado en este procedimiento. El método como se describió, sin embargo, es adecuado para la detección

del estaño en los alimentos enlatados. Aunque es aparentemente largo y tedioso, no lo es tanto como lo son otros métodos estándar cuando se encuentran presentes trazas de los contaminantes, y el alto nivel de recuperación del estaño garantiza su uso.

Varias dificultades pueden surgir durante la aplicación del método, pero una vez que éstas son reconocidas pueden ser superadas con facilidad. La solución de fenilfluorona puede disminuir su concentración con el tiempo; esto causará una disminución en las lecturas para los estándares, las muestras a determinar, y los "blancos". Por lo tanto deberá ser almacenada en el refrigerador y prepararla semanalmente. El carbamato pierde algo de su capacidad de extracción durante el almacenamiento del reactivo en polvo. Esta pérdida del poder de formar el quelato se manifiesta en el decrecimiento de las lecturas de los estándares y de las muestras a determinar pero no del "blanco". Para la reproducción de los resultados, el pH deberá ser controlado exactamente al tiempo de la formación del color y la estabilización con el ácido. El método como es descrito resulta en un pH en ese momento de 1.8; si el pH varía de este valor,-

el color se descolora rápidamente, y los resultados son inválidos. En adición, la contaminación de cualquier clase de metal deberá ser estrictamente evitada después de la primera extracción con el carbamato, ya que la fenilfluorona es extremadamente sensible a las trazas de la mayoría de los metales. Particularmente, para ser evitados está el uso de la piedra de encendedores durante el proceso de la digestión con la mezcla tri-ácida. No es posible eliminar el transporte de los estándares por el proceso de extracción. Alguna pérdida de estaño se experimenta durante la extracción, probablemente debido a una pequeña cantidad de Sn (IV) siendo reducida y subsecuentemente extraída por el mismo carbamato (143).

4.6 DETERMINACION DE ESTAÑO POR EL METODO DE QUERCETINA

Los rangos de concentración del estaño en los dos principales campos de interés en la determinación del estaño en los alimentos son considerablemente diferentes: 10 a 1000 ppm en alimentos enlatados y aproximadamente de 0.01 a 1 ppm para los residuos de organoestaño. Consecuentemente, métodos diferentes son usados con frecuencia para las determinaciones en los dos rangos. Recientemente, el Analytical Methods Committee of the Society for Analytical Chemistry (10) recomendó un método espectrofotométrico basado en la reacción del estaño (IV) con el violeta de catecol para la determinación del estaño en el rango de "hasta 30 μg "; para cantidades entre 30 y 150 μg , el método de ditioi que está bajo consideración y para aquéllos arriba de 150 μg , un método que involucre la titulación del estaño (II) con yodo.

El objeto del siguiente procedimiento es el de demostrar el amplio rango de trabajo del reactivo de la quercetina (3,5,7,3',4'-pentahidroxi flavona), y el de comparar el método espectrofotométrico de quercetina con la determinación por absorción atómica del estaño.

4.6.1 ESTUDIO PRELIMINAR

La conformidad con la ley de Beer indica que el complejo de quercetina-estaño con una alta constante de estabilidad se formó al menos en el rango de 1 a 400 μg (en 50 ml de la solución final), la absorbancia es el factor limitante superior. Cuando las soluciones de quercetina-estaño -- contienen cantidades superiores de estaño (al menos hasta 2000 μg de estaño por 50 ml) son diluidas con la solución de quercetina, tal que sus concentraciones corresponden al rango medible (1 a 400 μg por 50 ml), y por tanto también -- hay conformidad con la ley de Beer. Este resultado indica que el nuevo factor limitante en el análisis de alimentos -- no será la formación del complejo de quercetina-estaño, sino más bien la formación de los compuestos insolubles durante la oxidación húmeda, encontrado por Kirk y Pocklington -- (120).

La absorbancia, calculada de la pendiente de la curva de calibración obtenida con un espectrofotómetro Beckman -- DB-G, es de 20 600 $\text{lt mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, que es aproximadamente un tercio del valor para los dos reactivos bien conocidos del-

estaño, violeta de catecol y fenilfluorona, y aproximadamente 3 veces el valor para el ditiol. Por consiguiente, cuando se usan celdas de 1 cm, el rango óptimo de 0.1 a 1.1 unidades de absorbancia el error relativo es mínimo en la medida espectrofotométrica correspondiente a una concentración de estaño de 0.6 a $6 \mu\text{g ml}^{-1}$, o de 30 a 300 μg en 50 ml de la solución final. Este rango es conveniente para las muestras de los alimentos enlatados. Para los rangos de concentración baja, que en su mayoría se aplican a los residuos de organoestaño, el uso de haces internos de luz o expansión de la escala, o ambos, es justificado por la linealidad de la parte inferior de la gráfica de calibración hasta por lo menos a la concentración de $0.02 \mu\text{g ml}^{-1}$ o $1 \mu\text{g}$ en 50 ml de solución final. El método espectrofotométrico con quercetina parece ser el más adecuado para las concentraciones muy bajas.

4.6.2 PRE-TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Para el pre-tratamiento de las muestras de alimentos, la oxidación húmeda con el ácido sulfúrico más el ácido ní-

trico o el peróxido de hidrógeno es con frecuencia recomendado. Con la mayoría de los alimentos enlatados, jugos de fruta y otras muestras de fácil digestión la oxidación húmeda con ácido sulfúrico y peróxido de hidrógeno es usualmente satisfactoria, conforme a las recomendaciones del - - Analytical Methods Committee (10). Con las determinaciones del organo estaño, sin embargo, Corbin (42) señala que es importante la presencia del ácido nítrico en una cantidad comparable con la del agua contenida en la muestra, especialmente en las etapas iniciales de la incineración, para prevenir la pérdida del organoestaño.

Conforme a los experimentos preliminares realizados el ácido nítrico deberá ser usado como agente oxidante cuando se encuentran presentes ciertos colores naturales o artificiales, especialmente con los carotenoides o con la tartracina, para asegurar una oxidación más completa. La absorción máxima de los carotenoides, por ejemplo, en las zanahorias, así como la de la tartracina, está muy cerca del máximo del complejo de quercetina-estaño y su destrucción completa deberá convertirse en un procedimiento de rutina, como se describe más adelante.

4.6.3 SEPARACION DEL ESTAÑO

Además de los carotenoides y de la tartracina, también otros iones que pueden interferir con la formación del color o la medición, o en ambos, del complejo de quercetina--estaño. Conforme a KOCH y KOCH-DEDIC (58), las sustancias que interfieren incluyen al cromo (VI) (y, conforme a la experiencia, cromo (III)), fierro (III), galio, germanio, hafnio, mercurio (I), molibdeno (VI), niobio, platino, escandio, antimonio (III), tántalo, torio, titanio, vanadio (V), tungsteno (VI), circonio, fluoruro, ortofosfato y oxalato. De éstos, cantidades apreciables de fierro pueden encontrarse en los alimentos enlatados, pero puede ser efectivamente enmascarado con la tiourea. La presencia del cromo puede también esperarse, por lo tanto llevar a la práctica el tratamiento con los alimentos enlatados con latas que contengan compuestos de este metal. Sin embargo, la interferencia espectral del cromo no es eliminada por el uso de la tiourea, lo cual es también cierto para el molibdeno y el titanio, los cuales pueden encontrarse si las muestras de los alimentos están contaminadas con partículas de tierra. Durante los experimentos preliminares esta última in-

interferencia se convirtió en un serio problema en el análisis de las zanahorias frescas por los residuos de los fungi cidas de organoestaño.

La separación del estaño (IV) por su extracción como yoduro de estaño (IV) en tolueno, que fue propuesta por Newman y Jones (169), provee una solución efectiva para la mayoría de estos problemas de interferencia. Las únicas excepciones conocidas son las interferencias de el carotenoide y de la tartracina; y el germanio y antimonio (III), que son parcialmente coextraídos con el yoduro de estaño (IV), la coextracción del antimonio puede impedirse estéricamente usando una concentración de yoduro superior a 1.5 M en la fase ácida. El germanio se encuentra raramente en las muestras de alimentos.

4.6.4 FORMACION DEL COMPLEJO DE QUERCETINA-ESTAÑO

Para la determinación del estaño con quercetina, la influencia de la acidez después de la digestión ha sido especialmente estudiada. Malkus (58) propuso la dilución del -

digerido en ácido sulfúrico con ácido clorhídrico al 10%. - Una alícuota de 1 ml es neutralizada parcialmente con "5 gotas de hidróxido de sodio al 10%", después que la tiourea es agregada como agente enmascarador, seguido por el reactivo etanólico de quercetina. La absorción del complejo de quercetina formado es medido a 437 nm. Karvánek, Curda y Miller (114) demostraron que la formación del complejo es menos dependiente de la acidez cuando es usado el ácido sulfúrico que con el ácido clorhídrico. Ellos agregaron ácido sulfúrico concentrado al digerido para obtener un volumen específico, diluyeron la solución ácida con agua y agregaron tiourea y la solución de quercetina. Kirk y Pocklington (120) recomendaron la neutralización parcial del ácido sulfúrico con carbonato de sodio, señalando que el uso del hidróxido de sodio para este propósito puede conducir a resultados erráticos, posiblemente como resultados de la hidrólisis localizada. Estos autores además mencionan que las soluciones neutralizadas que son dejadas reposar por 20 minutos antes de ser reacidificadas dieron resultados significativamente bajos.

En el método descrito a continuación se adoptó el prin

cipio de Karvánek, Curda y Miller (114), la medición en la solución de ácido sulfúrico es combinada con la extracción del estaño en tolueno como yoduro de estaño (IV) en orden a mejorar la sensibilidad y especificidad del método.

4.6.5 METODO

PRINCIPIO DEL METODO

Después de la incineración húmeda de la muestra con -- ácido sulfúrico, el estaño es extraido como yoduro de estaño (IV) en tolueno y vuelto a extraer como estannato con hidróxido de sodio acuoso. Si la quercetina es usada para la medición cuantitativa, la solución es reacidificada con ácido sulfúrico y el fierro que permanece es enmascarado con - la tiourea antes de la formación del complejo.

REACTIVOS

Agua redestilada y los reactivos de grado reactivo

Acido sulfúrico, densidad relativa de 1.84.

Acido sulfúrico, 9 N aproximadamente. Mezclar cauidosamente 250 ml de ácido sulfúrico, densidad relativa de - - 1.84, con 500 ml de agua, enfriar a la temperatura ambiente y diluir a 1 lt con agua.

Acido nítrico, densidad relativa de 1.43.

Oxalato de amonio, solución acuosa saturada.

Peróxido de hidrógeno, al 30 o 50% m/V.

Solución de yoduro de potasio, 5 M aproximadamente. -
Disolver 83 g de yoduro de potasio en agua y diluir a 100 -
ml. Preparar diariamente.

Tolueno.

Solución de hidróxido de sodio o de potasio, 5 y 0.1 N.

Acido clorhídrico, 6 N.

Solución de ácido ascórbico, al 5% m/V. Prepararla cada semana.

Solución de tiourea, al 10% m/V.

Solución de quercetina, al 0.2% m/V en etanol al 96%.

Etanol, al 96%, destilado.

Solución patrón de estaño (IV). Disolver 0.0951 g de cloruro de estaño (II) ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en 20 ml de ácido sulfúrico, densidad relativa de 1.84, más 30 ml de peróxido de hidrógeno al 30%. Evaporar la solución hasta que aparezcan los vapores y dejarla reposar por 10 minutos. Agregar 43 ml de ácido sulfúrico concentrado y entonces, precavidamente, 50 ml de agua (usar un matraz de digestión Kjeldahl para este procedimiento). Vaciar la solución en un matraz calibrado de 250 ml conteniendo 50 ml de agua aproximadamente. Lavar el matraz Kjeldahl y diluir la solución al volumen con agua. Esta solución permanece estable por varios meses cuando es almacenada en una botella de polietileno.

1 ml de la solución \equiv 200 μg de estaño.

Soluciones estándar de estaño (IV). Preparar las soluciones estándar de trabajo diariamente por la dilución de la solución patrón con ácido sulfúrico 9 N aproximadamente para obtener soluciones conteniendo 20 y 2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de estaño.

Los matraces calibrados, el auto-sacamuestras de vidrio y el demás material de vidrio, que son usados después de la etapa de extracción, deberán estar toda la noche en ácido clorhídrico 6 M antes de ser lavados con agua redestilada. Lavar el material de vidrio restante con ácido clorhídrico 6 M y después con agua redestilada.

INCINERACION DE LA MUESTRA

Para la determinación del estaño en los alimentos enlatados tal como alimentos para niños y muestras fácilmente digeribles, el ácido sulfúrico y el peróxido de hidrógeno se usan conforme a las recomendaciones del Analytical Methods Committee (10).

Agregar 20 ml de ácido sulfúrico concentrado a 2 g de la materia orgánica en el matraz Kjeldahl de 100 ml y, a la mezcla fría, agregar el peróxido de hidrógeno al 50% gota a gota hasta que la reacción disminuya (el calor producido será suficiente para mantener la reacción) o hasta que la solución llegue a ser incolora. Entonces calentar la solución hasta que los vapores del ácido sulfúrico sean emiti---

dos, agregar más peróxido de hidrógeno hasta que sea obtenida una solución incolora.

Para las muestras que contienen colores naturales o artificiales tal como los carotenoides y la tartracina, se prefiere usar el ácido nítrico como un agente oxidante juntamente con el ácido sulfúrico, y para la digestión completa de, por ejemplo, zanahorias, la incineración se continúa hasta que el digerido cese de oscurecerse durante la evolución de los vapores del trióxido de azufre por 15 minutos. Como previamente se mencionó, el uso del ácido nítrico también se prefiere cuando se requiere la digestión de los compuestos de organo estaño.

PROCEDIMIENTO

Después de la incineración húmeda, vaciar el digerido con ácido sulfúrico en una probeta y agregar ácido sulfúrico concentrado para obtener un volumen correspondiente a un cuarto de un adecuado matraz calibrado. El ácido es entonces transferido al matraz calibrado y el matraz de la incineración y la probeta son lavados con agua, los cuales son

agregados al matraz calibrado. (Los procedimientos siguientes deberán ser llevados a cabo rápidamente y con tan pocas interrupciones como sea posible.)

Después de enfriar y de completar el volumen del matraz calibrado con agua, transferir una alícuota que contenga de 0 - 400 μ g de estaño a un embudo de separación y agregar una solución 5 M de yoduro de potasio. Si hay antimonio en la solución, la concentración del yoduro en la mezcla deberá ser 1.5 M, para prevenir la coextracción del antimonio. Si no hay antimonio, agregar 2.5 ml de yoduro de potasio 5 M a los 25 ml de la solución digerida diluida, mezclar la solución y agregar 10 ml de tolueno. Agitar la mezcla vigorosamente por 2 minutos y dejar que las fases se separen, descargar la fase acuosa. Lavar la capa de tolueno, sin agitación, con 5 ml de una mezcla que contiene las mismas proporciones de la solución de yoduro de potasio y del ácido sulfúrico 9 N como el digerido diluido (1 volumen de la solución de yoduro de potasio para 10 volúmenes del ácido). La fase acuosa es de nuevo descargada y la capa de tolueno se colorea de rosa por el yodo extraído. El lavado es repetido sin agitación, la superficie interna del embudo

de separación es lavada y la solución del lavado es descargada; 5.0 ml de agua y 0.50 ml de solución de hidróxido de sodio 5 M son agregados y el embudo es agitado por 30 seg.- La capa de tolueno deberá ser ahora incolora. Si no, agregar solución de sodio 5 M de una pipeta graduada hasta que el color rosa desaparesca, 2 gotas son agregadas en exceso. El volumen total de la solución de hidróxido de sodio agregado es anotado y el embudo es agitado por 30 seg después - de la última adición.

La fase de hidróxido de sodio es transferida cuantitativamente a un matraz calibrado de 20 ml y el tolueno sobrante descargado; 5.0 ml de ácido sulfúrico 9 N son agregados al matraz y la solución es mezclada. Si se usan más de 0.5 ml de la solución de hidróxido de sodio para la extracción, agregar un volumen igual de ácido sulfúrico 9 N en -- adición a los 5.0 ml. La solución reacidificada es coloreada de amarillo por el yodo, que es reducido a yoduro por la adición de 0.5 o 1 ml de solución de ácido ascórbico al 5%.

Una pipeta graduada de 10 ml es llenada con solución - de tiourea y parcialmente vaciada en el matraz calibrado, -

llenandolo hasta la marca. El resto es dividido igualmente entre 2 matraces calibrados de 25 ml. Después de mezclar el contenido del matraz de 20 ml, 10 ml de esta solución -- son transferidos por medio de una pipeta en uno de los matraces de 25 ml, los 20 ml restantes son enjuagados cuantitativamente con etanol en el segundo matraz de 25 ml, que es llenado con etanol hasta la marca. Esta última solución sirve durante la medición espectrofotométrica como un control en el residuo natural o en los colores adicionados que pueden estar presentes en la muestra. Al primer matraz de 25 ml, agregar 2.50 ml del reactivo de quercetina y llenar el matraz con etanol hasta la marca. Se deja reposar la solución por media hora, su temperatura es controlada termostáticamente a $\pm 1^\circ \text{C}$ si se requiere un coeficiente de variación menor del 1%.

MEDICION Y CALCULO

La absorbancia es medida a 437 nm, usando celdas de 4-cm si la cantidad de estaño en la muestra está abajo de -- 20 μg y celdas de 1 cm para cantidades entre 20 y 400 μg . -- Todas las mediciones deberán hacerse contra las referencias

de los reactivos "blancos" que son llevados a través del procedimiento, incluyendo los pasos de extracción. Si se usa una solución de referencia fija para todas las mediciones, deberá usarse un "blanco" sin ser extraído como una referencia para los "blancos" extraídos y las muestras. La solución "blanco" sin ser extraída se prepara mezclando 320 ml de agua con 20 ml de ácido sulfúrico (densidad relativa de 1.84), enfriar y agregar 200 ml de la solución de tiourea y 100 ml de la solución de quercetina. La mezcla es diluida entonces a 1 lit con etanol al 96%. Se recomienda un control termostático de las cubetas si se desea una precisión mayor del ± 1 por ciento. La absorbancia neta medida de la solución sin la quercetina es sustraída de la absorbancia neta de la solución del complejo de quercetina para corregir para que no se origine color de la quercetina o del complejo.

La cantidad de estaño en la masa de la muestra tomada es determinada de una gráfica de calibración, que es lineal al menos dentro del rango considerado, es decir, hasta 400- μ g aproximadamente. Como la variación de día en día es considerable comparada con otras contribuciones a la variación

total es aconsejable en cada una de las series comprobar -- unos pocos puntos de la gráfica de calibración simultánea-- mente con la muestra medida, usando los mismos volúmenes de los reactivos para las muestras y los standards.

4.6.6 RESULTADOS Y DISCUSION

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA PRECISION DEL METODO ESPECTROFO-- TOMETRICO

Las contribuciones de los pasos analíticos individua-- les a la precisión final del método son presentadas en la-- Tabla 33, y están basadas en las mediciones, en celdas de 1 cm, en el rango de 0 a 60 μ g por 50 ml de la solución final, en la que la desviación estandard absoluta es virtualmente-- independiente de la concentración de estaño, tal que las -- desviaciones estandard para las mediciones simples, S_A , son directamente comparables. Los grados de libertad dados son los usados para la determinación de los valores de S_A . Para la medición espectrofotométrica (paso A), el error en la lectura del instrumento es el factor limitante. La desvia-

ción estandard es baja, y escasamente contribuye al error -- en el método completo, se previó que el material de vidrio-- estuviese completamente limpio como se describió anterior-- mente. Resultó un incremento en la desviación estandard -- por dejar reposar las soluciones en los matraces calibrados (paso B). Más marcado, sin embargo, es el aumento que se -- deriva de la adición del reactivo formador del complejo y -- el mezclado de las soluciones finales (paso C), cual refle-- ja probablemente la variación en la absorbancia del mismo -- reactivo de quercetina. No obstante si la absorción máxima de la quercetina sin reaccionar sucede a 409 nm, la contri-- bución a la absorción a 437 nm es todavía significativa. Me dida en celdas de 1 cm contra agua esta absorción blanco -- asciende a 0.09 unidad de absorbancia a 437 nm, que corres-- ponde a una absorbancia neta de 30 μg de estaño como el com plejo de quercetina estaño. En consecuencia, un error del-- 1% en la medición del reactivo de quercetina por la pipeta-- produce una contribución al error total de 0.3 μg por 50 ml de la solución final, así parcialmente explicando el incre-- mento notado del paso C, Tabla 33.

Es inesperado hacer notar que los procedimientos de ex

tracción y de incineración (pasos D y E) no contribuyen mensurablemente a la desviación estándar. Como para el paso de extracción solo, esto fue verificado por experimentos posteriores en los que se usaron celdas de 4 cm para las mediciones. Los resultados obtenidos de estos experimentos son presentados en la Tabla 34, en que son comparados los resultados para la absorbancia y las pendientes de las curvas para las soluciones estándar de estaño con y sin previa extracción (en el último caso, se usó el procedimiento conforma a Karváneek y otros (114)). Basado en estos resultados las siguientes curvas han sido calculadas.

Sin extracción: $Y_1 = 0.003 + 0.0162 X$

$$S_{y.x} = 0.0042 \text{ unidades de absorbancia}$$

Con extracción: $Y_2 = 0.000 + 0.0130 X$

$$S_{y.x} = 0.0033 \text{ unidades de absorbancia}$$

En ambos casos, la desviación estándar de una simple-medida corresponde a $0.25 \mu\text{g}$ de estaño aproximadamente (en 50 ml de la solución final), es decir, la desviación estándar no es afectada por el procedimiento de extracción, den

tro del rango probado (0 a 10 μ g de estaño por 50 ml).

Una diferencia, sin embargo, es notada entre las dos series de resultados de la Tabla 34. Cuando la extracción es incluida en el procedimiento la pendiente de la curva de calibración es aproximadamente 20% inferior que con la formación del complejo y la medida simple. Como la extracción involucra 3 sub-pasos, es decir extracción del yoduro de estaño (IV), re-extracción del estannato y reacidificación, es de interés indicar que un decrecimiento en la pendiente de la misma magnitud puede obtenerse sin la extracción, pero por la adición directamente a la solución de estaño (IV) la misma cantidad del exceso de hidróxido de sodio como se usó en la extracción del yoduro de estaño (IV) del tolueno, seguido por la acidificación con el ácido sulfúrico, que indica que la pérdida en la absorbancia y el decrecimiento en la pendiente son causados más bien por los cambios ácido-alcalino-ácido que por un proceso de extracción incompleto.

También, de la Tabla 33, se manifiesta que hay una variación diaria considerable, medida por un marcado incremento en la desviación estándar cuando se compararon los re--

sultados obtenidos evaluados por el procedimiento analítico completo durante días consecutivos. Esta variación ocurre cuando la extracción es incluida, mientras es encontrado -- que si la solución final es hecha de acuerdo a Karváneek et al. (114) sin previa extracción, la variación de día a día -- es reducida, lo cual indica que la principal dificultad en la determinación cuantitativa del estaño es la tendencia hacia la hidrólisis o la polimerización, o ambas.

Estos efectos se vuelven aparentes cuando las soluciones de estaño (IV) que están aproximadamente neutras, o en las que ningún agente formador de complejos está presente, -- tal como la quercetina, son dejados por más que unos minutos. Durante el procedimiento de extracción, las soluciones son ajustadas a un pH más allá del doble del neutral, -- cuyo tratamiento, como se demuestra arriba, disminuye la -- concentración aparente pero no necesariamente la desviación estandard. Toda la considerable variación de día a día es así explicada, la necesidad es enfatizada para el procedimiento de extracción para ser llevado a cabo rápidamente y con tan pocas interrupciones como sea posible.

Para las mediciones de más de $60 \mu\text{g}$ por 50 ml de la solución final, el error absoluto cesa para ser prácticamente independiente de la concentración y el error tiende a llegar a ser proporcional a la concentración. Una de las razones para este efecto es la influencia de la temperatura en la medición espectrofotométrica. Investigaciones de esta dependencia de la temperatura presentaron que mientras la absorbancia de la solución "blanco" sin extraer fue prácticamente independiente de la temperatura en el rango de 25 a 40°C , la absorbancia del complejo de quercetina-estaño decreció aproximadamente 1.1% por cada 1°C de temperatura. El cambio de densidad, ascendió a 0.07% por 1°C , fue responsable para solo una pequeña fracción de este decrecimiento.

Mientras la dependencia de la temperatura de las soluciones del complejo de quercetina-estaño se encontró que era reversible, un pequeño incremento irreversible en la absorbancia se notó cuando las soluciones "blanco" extraídas fueron guardadas por varios minutos en el haz de luz del espectrofotómetro. Este incremento (aproximadamente 1% de la absorbancia relativa cambia durante 20 minutos, medido con-

tra agua) puede ser visto, a cualquier nivel que la temperatura se haya incrementado o disminuido, y es probalblemente debido a falsa liberación de yodo causada por la luz. Consecuentemente, el uso de los "blancos" sin extraer es recomendado si se usan referencias fijas, y control termostático de los tubos durante la medición espectrofotométrica es necesaria cuando se desean precisiones inferiores al 1% relativo.

RANGO DE TRABAJO

Una estimación del límite de detección del método puede estar basada en las observaciones de arriba. De los resultados de la Tabla 34, se puede ver que la ley de Beer se cumple al menos hasta $1 \mu\text{g}$ de estaño (por 50 ml de la solución final), y de la Tabla 33 que la desviación standard para los pequeños tamaños de las muestras (hasta $1 \mu\text{g}$, o talvez más, y conteniendo menos que $60 \mu\text{g}$ de estaño) es $0.4 \mu\text{g}$ de estaño aproximadamente por 50 ml de solución final. Si se usan celdas de 4 cm la cifra correspondiente es $0.25 \mu\text{g}$ de estaño. Consecuentemente, la pequeñísima cantidad absoluta de estaño que puede ser detectada en las pequeñas mues

tras con un número pequeño razonable, de repetidas determinaciones es de $1 \mu\text{g}$ aproximadamente. Para muestras más grandes como, por ejemplo, aquellas para las determinaciones de organoestaño en vegetales, se obtiene una desviación estándar absoluta incrementada, que, sin embargo, no es proporcional al tamaño de la muestra. Cuando son analizadas muestras de 80 g de zanahoria, la desviación estándar es de $1.3 \mu\text{g}$ de estaño, correspondiendo a $0.015 \mu\text{g g}^{-1}$. En una investigación sobre el contenido de los residuos de organoestaño en las zanahorias, fue determinado un contenido promedio de $4 \mu\text{g}$ o $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ (correspondiendo a 3 veces la desviación estándar de todo el procedimiento) con una significancia unilateral al nivel del 0.5% (con 6 veces la determinación de las diferencias entre las muestras tratadas y sin tratar). El rango de trabajo, es decir; el rango en que no se encontró desviación significativa de la linealidad de la curva de calibración, es de 1 a $400 \mu\text{g}$ aproximadamente (por 50 ml de la solución final).

DETERMINACIONES COMPARATIVAS DEL ESTAÑO EN LOS ALIMENTOS EN
LATADOS PARA BEBES POR LOS METODOS DE QUERCETINA Y DE ABSOR
CION ATOMICA

En la Tabla 35 son presentados los resultados comparativos obtenidos bajo las siguientes condiciones experimentales por los 2 métodos en muestras recientes de alimentos.

Dos Fracciones de 10 g de cada uno de los varios productos diferentes de alimentos enlatados para bebés fueron incinerados con 10 ml de ácido sulfúrico concentrado más la cantidad de peróxido de hidrógeno al 30% necesaria para completar la incineración; 80 μ g de estaño como solución estándar de estaño (IV) se agregaron a una fracción de cada lata. Después de la incineración, el ácido sulfúrico y el agua se agregaron para dar un volumen de 50 ml de ácido sulfúrico al 25% V/V. De estas soluciones, 25 ml fueron usados para la determinación por la quercetina y los otros 25 ml para la determinación por absorción atómica, después de la extracción como se describió anteriormente. Porque el contenido más alto esperado de las latas I, II y III (sin barnizar) del puré de manzana, solo 2 muestras de 5 g fueron incineradas, y las fracciones correspondientes a 0.5 g de la muestra fueron extraídas.

En promedio, 3 latas (o 6 fracciones) fueron examina--

das por día, juntamente con los reactivos estándar y los "blancos". La comparación del incremento de la absorbancia correspondiendo al estaño agregado a las fracciones con la pendiente de la curva de calibración del reactivo obtenida en el mismo día no presentó diferencias significantes entre las curvas de calibración interna y externa, es decir, ninguna diferencia significativa del 100% de recuperación del estaño agregado. Consecuentemente, el promedio de la pendiente de las curvas de calibración interna y externa fueron usadas para el cálculo del estaño contenido en las soluciones de la muestra. Así, los resultados en el rango de 5 a 175 μg de estaño por 50 ml de la solución final fueron obtenidos incluyendo las cantidades agregadas de estaño. Después de la substracción de estas cantidades, los resultados netos expresados en microgramos por gramo de muestra estuvieron en el rango de 1 a 100 $\mu\text{g g}^{-1}$, como se presentan en la Tabla 35.

Como el rango de las concentraciones medidas directamente de, 5 a 175 μg por 50 ml, está más allá el rango dado en la Tabla I, las derivaciones estándar presentadas en esta tabla no pueden ser aplicadas directamente a los presentes-

resultados como desviaciones estandard estimadas para las - muestras de alimentos para bebés. Sin embargo, las conclusiones concernientes a la exactitud y conformidad de los 2- métodos se pueden deducir de estos resultados como sigue.

Como se mencionó anteriormente, la comparación de las- pendientes de las curvas de calibración interna y externa - no revelaron significativa desviación del 100% de la recupe- ración del estaño agregado que es además confirmado por el- cálculo del promedio de las diferencias entre los resultados netos de las fracciones pares después de la substracción de la cantidad de estaño normalmente agregado. Siempre que -- aproximadamente la distribución normal de las diferencias - obtenidad (que no es contradecida por los resultados), pue- de ser visto que la media de las diferencias, que son presen- tadas juntamente con sus desviaciones estandard en la parte media de la Tabla 35, no son significativamente diferentes - de cero para cada uno de los 2 métodos.

Además, la media de las diferencias entre los resulta- dos de los dos métodos (ambos sin desviaciones estandard) - fue calculada, excluyendo una simple, no explicada, muy gran

de desviación. La comparación con la desviación estandar presenta que la media de las diferencias no se desvía significativamente de cero: los resultados dados por los 2 métodos no son significativamente diferentes.

Es interesante indicar que la media de las diferencias y la correspondiente desviación estandar son más pequeñas para los resultados de la absorción atómica que para el espectrofotométrico con quercetina. Consecuentemente, en el rango de concentración cubierto por las muestras de alimentos para bebé, el método de absorción atómica es al menos tan preciso como el método espectrofotométrico con quercetina.

Kirk y Pocklington (120) también determinaron el estaño en los alimentos enlatados con la quercetina. El procedimiento que usó se encuentra en la pág. 139. La Tabla 36 presenta los resultados para la determinación del estaño en tocino y frijoles enlatados, y en cecina de res, por el método de quercetina y el de ditiol, y confirman el descubrimiento de Lyaskovskaya y Krasil'nikova que los dos métodos dan resultados comparables.

4.7 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE LA OXIDACION HUMEDA CON LOS ACIDOS NITRICO, SULFURICO Y PERCLORICO

Los métodos para la determinación de los residuos de mercurio en los materiales vegetales y animales han sido -- analizados (202) recientemente. Cuatro métodos, que involucran la oxidación húmeda con el ácido nítrico y sulfúrico, -- y la terminación colorimétrica del mercurio con la ditizona, han sido recomendados como métodos oficiales o standards -- (9,14,104,190). Ellos difieren en detalles tales como el -- tipo de aparato en el que es llevada a cabo la oxidación húmeda y la purificación del extracto inicial de ditizona. -- Los métodos son todos largos; el de la Joint Mercury Residues Panel (190) permite hacer de 2 a 4 determinaciones en 1 día. Se ha tenido considerable experiencia con este método, y se experimentó que una disminución del procedimiento de la oxidación húmeda sería ventajosa. El uso del ácido -- perclórico conducirá a una oxidación más completa que la -- del ácido nítrico y sulfúrico solamente. Por lo tanto, se investigó el uso de la mezcla de los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico en la oxidación húmeda, en conjunción con

la extracción de la ditizona, la reversión y el procedimiento de la determinación.

Gorsuch (84) encontró primero que la mezcla de los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico puede ser usada, en la determinación de las trazas de mercurio, aunque él no propuso algún método particular específico para los productos -- alimenticios. Su investigación demostró que los compuestos del mercurio son más volátiles cuando son tratados con el ácido perclórico que cuando son digeridos con los ácidos nítrico y sulfúrico solamente, pero que si se usan condensadores eficientes, el mercurio no deberá perderse del sistema.

En 1960, el Analytical Methods Committee of the Society for Analytical Chemistry propuso el uso de los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico en la oxidación húmeda de los -- productos alimenticios conteniendo más de 50 ppm de mercurio, observando que las pérdidas ocurrían cuando el método fue usado para concentraciones muy bajas de mercurio (7). -- Por lo tanto, este método no es adecuado para la mayoría de las determinaciones de residuos.

Hordynska, Legatowa y Bernstein (202) siguieron el planteamiento de Gorsuch usando la oxidación húmeda con los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico, con una trampa en la que las fracciones son destiladas a muy baja ebullición durante la digestión, así elevando el método para las determinaciones en los granos abonados con 96.5 ± 3.8 por ciento de eficiencia. El método también dio 97.7 por ciento de recuperación del 8-hidroxiquinolinato de fenilmercurio de las manzanas. No se dan los detalles para el uso del método -- con otros vegetales o frutas, o con materiales animales.

Ward y McHugh (202) desarrolló un método para determinar el mercurio en los vegetales de 4 ppm hacia arriba, involucrando la oxidación húmeda con los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico, seguida por la determinación cuantitativa con la ditizona. En su método el ácido perclórico es agregado inicialmente, y éste pudo conducir a una reacción no controlada de sustancias fácilmente oxidadas que antes han sido descompuestas parcialmente con el ácido nítrico. El peróxido de hidrógeno es usado para completar la oxidación del material vegetal después de la digestión con la mezcla ácida.

Epps (60) ha usado la digestión con la mezcla de los ácidos nítrico y perclórico para la determinación del residuo de mercurio en el arroz. El método, sin embargo, es solo sensible hasta 0.1 ppm de mercurio. La adición del ácido sulfúrico es deseable para controlar la velocidad de reacción y también para elevar la concentración efectiva del ácido perclórico, así dando una más completa oxidación (53).

Kinoshita (110) ha usado los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico para determinar miligramos de los compuestos de mercurio, pero el método no es aplicable para la determinación de residuos.

Siguiendo la sugestión de Gorsuch, independientemente de los investigadores mencionados anteriormente, se proponen los métodos para determinar los residuos de mercurio en las patatas, y granos (sec. 5.5, p. 311); y en el huevo, tejido muscular de gallina e hígado de borrego; basados en los métodos estandard establecidos en los que se usa la oxidación húmeda con los ácidos nítrico, sulfúrico y perclórico (sin-peróxido de hidrógeno), que son más rápidos que los métodos

originales (202).

Los investigadores quienes usen el método deberán familiarisarse con "las Notas sobre el Acido Perclórico y sus Maniobras en la Investigación Analítica," publicada por el Analytical Methods Committee of the Society for Analytical-Chemistry (5).

4.7.1 EXPERIMENTAL

Aparte de la oxidación húmeda de la muestra y el paso de reversión para el tejido animal, el método es el mismo como el recomendado por la Joint Mercury Residues Panel - - (190). Se prefiere un matraz de 1 lt para la oxidación húmeda.

REACTIVOS

Los siguientes reactivos son requeridos en adición a los enlistados en el reporte de la Joint Mercury Residues Panel; sec 9.4.1, p. 416.

Acido perclórico, al 72%. Grado reactivo.

Nitrato de sodio, al 5%, acuoso.

EDTA, sal disódica, al 2.5%, acuosa.

Urea, al 10%, acuosa.

El peróxido de hidrógeno no es necesario.

Los compuestos organo mercurícos fueron agregados en 1 a 5 ml de acetato (el etanol fue usado con fenilmercurio--urea) a los productos alimenticios contenidos en el matraz de la oxidación húmeda para obtener los resultados de recuperación.

TEJIDO ANIMAL

Colocar 50 g de una muestra representativa de tejido de ave o manífero en el matraz de la reacción, juntamente con unas bolitas de vidrio, y mezclar con 0.1 g de polvo de selenio. Colocar el matraz en una canasta de calentamiento y oxidar como se indica en la oxidación para las patatas, arroz y semillas en grano en la sec. 5.4.1, p. 312.

Son requeridos 20 ml de ácido nítrico adicionales para

los huevos y los hígados y 10 ml para el tejido muscular. -
Los digeridos finales son marcadamente amarillos.

Dejar el digerido frío, parcialmente neutralizado (ver el método recomendado de la Joint Mercury Residues Panel) - reposar con 10 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina al 20%. Extraer una alícuota, dependiendo de la concentración de mercurio esperada, por 1 minuto con 10 ml de la solución patrón de ditizona y entonces dos veces cada uno con 10 ml de la solución de ditizona diluida. Combinar los extractos de ditizona en un embudo de separación de 100 ml. Lavar los extractos combinados con 25 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y 5 ml de clorhidrato de hidroxilamina por 1 minuto. Dejar correr la capa de ditizona en un tercer embudo de separación de 100 ml, juntamente con 2 a 3 ml de cloroformo usados para lavar el segundo embudo de separación. Agregar 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y 1 ml la solución acuosa de nitrato de sodio al 5%. Agitar la mezcla por 1 minuto, separar y descargar la capa de cloroformo. Lavar la capa acuosa con 2 a 3 ml de cloroformo y descargar el lavado. Agregar 1 ml de clorhidrato de hidroxilamina al 20% y dejar reposar por 15 minutos, con agitación ocasional. -

Agregar 1 ml de la solución de urea al 10%, 1 ml de la solución de EDTA al 2.5% (sal disódica) y 10 ml de la solución-ditizona diluida. Agitar la mezcla por 1 minuto. Dejar -- que las capas se separen y dejar correr la solución de ditizona en una columna de 0.8 x 3 a 4 cm, empacada apretadamente de algodón absorbente de lana, recolectar la solución en una celda espectrofotométrica de 4 cm. También agregar algo de la capa acuosa en la columna para asegurar que bastante solución de ditizona corra en la celda para el haz del -espectrofotómetro pase a través de la solución. Leer la -- densidad óptica a 490 nm y referirse a la gráfica de cali--bración.

4.7.2 RESULTADOS

TEJIDO ANIMAL

La recuperación de los compuestos de organo mercurio - agregado a los huevos, tejido muscular de gallina e hígado- de borrego por el método de oxidación con el ácido perclório se encuentran en la Tabla 37.

El reactivo total y lote de los "blancos" para las determinaciones fueron 0.4 y 0.7 μg de mercurio para los huevos; 0.6 y 0.7 μg de mercurio para el tejido muscular de gallina; y 0.7 y 0.5 μg de mercurio para el hígado de borrego.

4.7.3 DISCUSION

TEJIDO ANIMAL

La oxidación húmeda modificada del ácido perclórico, y la determinación del mercurio con la ditizona por la técnica de reversión del tiosulfato, usada para las papas y los granos no fue satisfactoria porque la oxidación excesiva de la ditizona. Sin embargo, la etapa de reversión del nitrato de la Metallic Impurities in Organic Matter Sub-Committee of the Analytical Methods Committee método confirmado satisfactorio en lugar de la reversión del tiosulfato. El extracto de ditizona final es limpiado en una columna de algodón de lana; se obtuvo el 85 ± 2 por ciento de las recuperaciones para estos tipos de tejido de ave y manífero. Los compuestos organomercuriales seleccionados para el estudio-

con los huevos y el tejido muscular de gallina son los que surgirían de las aves de corral por comer los granos abonados con mercurio. Aunque no es recomendado como buena práctica agrícola, que los animales pasten ocasionalmente en los huertos fumigados, son algunas veces presentados por el análisis los hígados envenenados en este camino.

La reversión del nítrato toma de 15 a 30 minutos más que la etapa de reversión del tiosulfato, pero el método modificado, como aplicado a los materiales de las aves y animales, es todavía apreciablemente más corto que el método original recomendado.

Este método modificado deberá únicamente ser aplicado a otros materiales con precaución, y no es sugerido para determinar los residuos de mercurio en los tomates y manzanas, para el cual el método original de Panel es más apropiado.

4.8 DETERMINACION DE NITRITO

El uso del nitrito (162) en la preservación de la carne ha estimulado el interés en la determinación del nitrito contenido en la carne. Previos métodos presentan ciertos defectos o son limitados en la aplicación a muy baja concentración de nitrito (237). La propiedad de la diazotización del nitrito se usa comúnmente como la base de la reacción para su determinación (96,129). La determinación colorimétrica con tiocianato no es específica para el nitrito.

Recientemente, se reportó que la bencidina en ácido acético es útil para la detección del nitrito. El siguiente método colorimétrico fotoeléctrico para la determinación del nitrito, involucra el uso del reactivo de bencidina (19).

4.8.1 EXPERIMENTAL

ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

La bencidina en ácido acético glacial dio un color ro-

jo sangre con el nitrito en solución acuosa concentrada. - Antes la prueba fue aplicada para determinar el nitrito en soluciones prueba para examinar otros radicales ácidos con el reactivo de bencidina. Prácticamente, se encontró que - el nitrato, fluoruro, cloruro, bromuro, yoduro, carbonato, - bicarbonato, arsenito, arsenato, oxalato, tartrato, citra-- to, clorato, y nitroprusiato no daban color. Con sulfito, - sulfato, tiosulfato, tungstato, molibdato, y fosfato, se depositó un precipitado blanco.

En consecuencia, esta prueba del color fue considerada como específica para la detección del nitrito entre otros - radicales ácidos, aunque los cationes coloreados tal como - el Fe, Co, y Ni interfirieron.

EQUIPOS Y REACTIVOS

El equipo y los reactivos usados fueron:

- 1) EEL absortímetro. Usar un filtro naranja 607, la - -- respuesta máxima es a 605 m μ , con 5 ml de reactivo de bencidina por 5 ml de agua destilada como el "blanco",

poner a 100% de transmisión.

- 2) Tres pipetas de 5 ml, dos de ellas graduadas.
- 3) Una micropipeta de 1 ml de capacidad, graduada en centésimas de mililitro.
- 4) Bencidina al 1% en peso/V en ácido acético glacial, y filtrada si es necesario.
- 5) Solución patrón estándar de nitrato de sodio preparada disolviendo 0.250 g de nitrito de sodio puro en — agua destilada y completando el volumen a 250 ml en un matraz volumétrico.

PROCEDIMIENTO

Poner x ml de la solución patrón estándar de nitrito de sodio (1 ml representa 1 mg de nitrito de sodio) en un matraz volumétrico de 100 ml. Llenar hasta la marca del matraz con agua destilada, mezclar bien, y dejar reposar por 5 min aproximadamente. 5 ml de esta solución son entonces-

transferidos a una celda del colorímetro, y agregar 5 ml -- del reactivo de bencidina. La solución es bien mezclada, y su porcentaje de transmisión es leída después de 5 minutos en el absortímetro , usando el filtro 607 con una mezcla - de 5 ml del reactivo y bencidina y 5 ml de agua destilada - como el "blanco", poner a 100% de transmisión. X = 20 ml - de la solución patrón estandard de nitrito de sodio (0.250- g por 250 ml) representando una concentración de $1000 \mu\text{g}$ de nitrito de sodio por 5 ml de solución o 16, 12,8,4, y 2 ml- de la solución patrón estandard de nitrito de sodio, repre- sentando concentraciones de 800,600,400,200, y $100 \mu\text{g}$ de ni- trito de sodio por 5 ml de solución.

Para obtener concentraciones muy bajas, 1.6, 1.2, 0.8, 0.4, y 0.2 ml de la solución patrón estandard de nitrito de sodio son diluidas con agua destilada a 100 ml en un matraz estandard, representando concentraciones de 80, 60, 40, 20, y $10 \mu\text{g}$ de nitrato de sodio por 5 ml de solución.

De los resultados se encontró que:

a) Las lecturas de la transmisión deberán ampliarse lo su

ficiente para dar una determinación para hacerse dentro del rango de concentraciones de $10 \mu\text{g}$ a 5 mg de nitrito de sodio por 5 ml .

b) Como la mayoría de los investigadores científicos prefieren usar la absorbancia en vez del porcentaje de transmisión en las curvas de calibración o en las tablas de calibración, el valor de la absorbancia es graficado contra la concentración, como se presenta en las Figs. 13, 14 y 15 -- ilustrando la mejor línea recta cuando se usaron varias concentraciones en el rango de $10 \mu\text{g}$ a 5 mg de nitrito de sodio por 5 ml .

TABLA DE CALIBRACION

De la solución patrón estandar de nitrito de sodio -- (0.250 g por 250 ml), las soluciones estandar son preparadas tal que 5 ml de cada dilución contenga una cantidad de nitrito de sodio en el rango de 200 a $1000 \mu\text{g}$, incrementado en el orden de $200 \mu\text{g}$ y las concentraciones bajas de 100 , -- 80 , 60 , 40 , 20 , y $10 \mu\text{g}$ por 5 ml .

5 ml de cada dilución son medidos exactamente en una celda colorimétrica, y 5 ml del reactivo de bencidina son agregados, mezclar bien, y dejar reposar por 5 minutos. El porcentaje de transmisión de la solución es entonces leído. Los resultados a la temperatura ambiente (21° C) son presentados en la Tabla 38.

ESTABILIDAD DEL COLOR DE LA REACCION

El color de la solución de nitrito (5 mg por 5 ml) con el reactivo de bencidina (5 ml) permanece estable a la temperatura ambiente con la luz del día por 4 hrs ya que el porcentaje de transmisión, usando un filtro 607, permanece constante leyéndolo cada media hora.

El color rosa del nitrito por el método de 1-naftilamina-ácido sulfanílico (237) comienza a descolorarse después de 2 hrs.

SUBSTANCIAS QUE INTERPIEREN

Ninguna interferencia fue observada en la presencia de

hidroxilamina. A 4,3,2, y 1 ml de la solución patrón de nitrito (1 ml = 1 mg de nitrito de sodio) en una celda colorimétrica se les agregó 1,2,3,4 ml de una solución acuosa de clorhidrato de hidroxilamina al 2%, respectivamente, y después se agregaron 5 ml del reactivo de bencidina a cada celda y se mezclaron bien. El porcentaje de transmisión fue - de 17,21,25, y 29 respectivamente, usando el filtro 607 contra un "blanco" puesto a 100% de transmisión (ver Tabla 38). Además, las proteínas y los azúcares no interfirieron en la reacción.

4.8.2 METODO DE ENSAYO

SOLUCIONES PRUEBA

Hacer una dilución de la solución prueba tal que 5 ml- contienen entre 20 μ g y 5 mg de nitrito de sodio. 5 ml de esta dilución es medida en una celda colorimétrica; agregar 5 ml del reactivo de bencidina, mezclar, y dejar reposar -- por 5 minutos. Medir el porcentaje de transmisión de la solución, y leer la cantidad de nitrito de sodio de la tabla-

de calibración o de la curva.

4.8.3 APLICACION DEL METODO

DETERMINACION DE NITRITO EN SALCHICHA

Pesar 5 g de muestra finamente triturada y mezclada -- completamente en un vaso de laboratorio de 50 ml. Agregar aproximadamente 40 ml de agua libre de nitrito calentada a 80° C. Mezclar bien agitando con una varilla de vidrio, te niendo cuidado de disolver todos los grumos, y transferir a un matraz graduado de 100 ml. Lavar el vaso de laboratorio y la varilla completamente con sucesivas porciones de agua caliente (30 ml), agregando todos los lavados al matraz. Agregar suficiente agua caliente para llevar los contenidos del matraz a 80 ml aproximadamente, y pasar el matraz a un baño de vapor por 2 hrs, agitando ocasionalmente. Agregar 5 ml de la solución saturada de cloruro mercurico y mezclar. Enfriar a la temperatura ambiente, completar a la marca con agua libre de nitrito, mezclar otra vez, y filtrar. Pasar 5 ml del filtrado en una celda colorimétrica, y agregar 5 -

ml del reactivo de bencidina, mezclar y dejar reposar por 5 minutos.

Medir el porcentaje de transmisión de la solución, y leer la cantidad de nitrito de sodio de la tabla de calibración. Esta cantidad, multiplicada por 20, da el nitrito de sodio contenido en 5 g de salchicha, y el porcentaje es entonces calculado fácilmente. La Tabla 39 presenta el nitrito determinado en 12 muestras de salchicha cruda.

RECUPERACION DEL NITRITO DE SODIO AGREGADO A LA SALCHICHA

Los experimentos de recuperación se llevaron a cabo — agregando nitrito de sodio a la muestra de salchicha y fue menor que la cantidad originalmente presente. El contenido original de la muestra fue estimado con el reactivo de bencidina, y la recuperación del nitrito de sodio, fue también determinado por el reactivo de bencidina, fue expresada en términos del nitrito de sodio agregado (Tabla 40).

El reactivo de bencidina dio una reacción instantánea y directa del color con el nitrito. En soluciones acuosas concentradas de nitrito el color es rojo sangre, mientras que en soluciones muy diluidas, el color es naranja. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración del nitrito en la solución.

La concentración de nitrito es determinada por la formación de un azoico color rojo sangre producido por el acoplamiento de la bencidina diazotizada con un exceso de bencidina en ácido acético glacial. El color es estable a la temperatura ambiente con luz de día por 4 hrs. Esta prueba de color está disponible para la determinación colorimétrica del nitrito en concentraciones en un rango de 10 μ g a 5-mg por 5 ml de solución.

El método expuesto sobrepasa al método aceptado generalmente, involucrado el acoplamiento del ácido sulfanílico diazotizado con 1-naftilamina, en el que transcurren 2 minutos antes de que aparezca el color rosa. Además, el color obtenido es medido únicamente después de 30 minutos. Este período indudablemente influye en el color, y consecuentemente a

los resultados, especialmente si comprendemos que las sales de diazonio (129) son extremadamente sensible a la luz.

Además, el color del azoico en ese método comienza a decolorarse después de 2 hrs. La presencia de la hidroxilamina (20) no interfiere con la determinación del nitrito -- por el método expuesto; una ventaja sobre el método Griess.

Es evidente que el nitrito de sodio contenido en las 18 muestras de salchicha cruda varía de 4 a 38 mg % (Tablas 39 y 40), del cual únicamente 1 muestra no contiene nitrito. La recuperación del nitrito de sodio agregado en varias -- muestras de salchicha presentan que el porcentaje de recuperación está dentro del $\pm 10\%$ (Tabla 40).

CAPITULO V

GRANOS Y PRODUCTOS DE CEREAL

5.1 DETERMINACION DE BROMURO

La determinación de los residuos de bromuro en los alimentos por la clásica deshalogenación alcalina y el método de fusión del peróxido (149) es tediosa y es complicada por la introducción del bromo presente en los reactivos usados. En adición, el bromo en una matriz fuertemente alcalina no es bien favorecida para la determinación por cualquiera de los métodos altamente sensibles ahora disponibles. En un método ideal sería la muestra transformada completamente en cenizas, dejando al bromo en una solución de agua neutral.- Gutenmann y Lisk (88) describieron un método de combustión de sistema cerrado adaptando la técnica de Schoniger (54).- Se encontró que el filtrado acuoso obtenido puede ser usado directamente para la determinación del bromo por el método de titulación de Kolthoff-Yutzy-Van der Meuler (126) usado en el Manhattan Study (148) o por la determinación espectrofotométrica del yodo liberado en la reacción.

En el laboratorio un método incorporando estos procedimientos dio recuperaciones de 85 a 105% del bromuro agregado a las muestras de leche deshidratada y harina de trigo.- Un estudio colaborativo de este método reveló que un alto "blanco" afectó seriamente los resultados obtenidos y que los detalles de la metodología y la preparación de la muestra serían elucidados. La fuente del bromo en el "blanco" fue determinado y un reactivo adecuado es especificado en el método revisado. Un segundo estudio colaborativo produjo resultados satisfactorios en muestras fumigadas de trigo, harina de trigo, leche deshidratada, y nueces pecana (54).

5.1.1 METODO

REACTIVOS Y APARATOS

- a) Solución de fosfato de sodio (monobásico), al 30% en agua.
- b) Solución de hipoclorito de sodio. No usar si la solución da un "blanco" > 0.1 ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.1 N, determinado directamente sin combustión.

- c) Solución de formiato de sodio: Al 50% en agua.
- d) Solución de molibdato de sodio-fluoruro de potasio. - Preparar la solución acuosa conteniendo 1% de cada una $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y KF.
- e) Solución de yoduro de potasio, al 10% en agua.
- f) Acido sulfúrico 6 N.
- g) Solución de almidón. 1% de almidón soluble en agua.
- h) Solución estándar de bromuro de potasio. Exactamente preparar la solución acuosa conteniendo 74.5 μg de - - KBr/ml (equivalente a 50 μg de Br/ml).
- i) Solución estándar de tiosulfato de sodio. 0.01 N en agua.
- j) Oxígeno.
- k) Matraz de combustión de Gutenmann-Lisk. De 5 y 12 lt- de capacidad.

PREPARACION DE LA MUESTRA

Pesar los productos molidos o pulverizados tal como la harina de trigo, la leche deshidratada, o la harina de maíz. Romper los granos de trigo en el mortero; cortar finamente las carnes de la nuez y los otros productos y mezclar antes

de pesar. Usar un matraz de 5 lt para la mayoría de los -- productos de 1-2 g (1 g para los productos aceitosos como -- las nueces) y un matraz de 12 lt para las muestras de 3-4 g (2-3 g para los productos aceitosos).

COMBUSTION DE LA MUESTRA

Lavar el matraz con agua destilada antes de usar. Co- -- locar 50 ml de agua destilada y un agitador magnético cu- -- bierto con teflón en el matraz, ventilar de 2-3 min con oxi -- geno, y fijar el balón a un lado del tubo. Empacar la mues- -- tra pesada, enrollada apretadamente en papel filtro, acomodarla en el soporte de platino; encender una orilla del pa- -- pel, introducirlo inmediatamente en el matraz, y sujetar -- firmemente el matraz. Dejar quemar la muestra hasta que el resplandor ya no sea visible. (Nota: La muestra no tiene -- que quemarse hasta que la ceniza quede libre de carbón si -- alcanza el brillo rojo durante la combustión. Los bromuros son realmente volatilizados a esta temperatura. Sin embar- -- go, si ocurre combustión pobre, desechar la determinación). Conectar el agitador hasta que la niebla halla desaparecido. Quitar la muestra del soporte, invertir sobre la boca del --

matraz, y lavar la ceniza con una corriente fina de agua. - Volver a poner el soporte y el agitador 1 min. Quitar el balón y trapear la parte de afuera del lado del tubo con papel filtro. Vaciar el matraz a través de un papel filtro de flujo rápido (S&S 597, o equivalente) en un matraz Erlenmeyer de 300 ml. Enjuagar el matraz con una corriente de agua destilada, usando 3 porciones de 50 ml y pasar los enjuagues a través del filtro. Lavar el papel filtro con una pequeña porción de agua.

DETERMINACION DEL BROMURO

Agregar 5 ml de NaH_2PO_4 al 30% y 5 ml de la solución de NaClO y mantener en ebullición por 2 min. Quitar del color, agregar 5 ml de HCOONa al 50%, y mantener en ebullición por 2 min. Proceder como en (a) o (b).

(a) Determinación por titulación

Enfriar la solución a la temperatura ambiente. Agregar 3 gotas de reactivo de molibdato-KF y 5 ml de KI al 10%, y mezclar. Agregar 25 ml de H_2SO_4 6N, agitar, y titular inmediatamente con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.01 N a amarillo pálido. Agregar -

la solución de almidón preparada recientemente y completar la titulación. Determinar el "blanco" por la combustión de un pedazo de papel filtro en el matraz de oxígeno.

$$\text{ppm Br}^- = (133.2 \times \text{ml netos de Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 0.01 \text{ N}) / \text{g de la muestra.}$$

(b) Determinación por espectrofotometría.

Continuar calentando hasta que el volumen de la solución sea alrededor de 250 ml. Enfriar a la temperatura ambiente y pasarla cuantitativamente a un matraz volumétrico de 200 ml. Agregar 3 gotas del reactivo de molibdato-KF y 5 ml de KI al 10%, y mezclar. Adicionar 25 ml de H_2SO_4 6 N, mezclar, diluir hasta completar el volumen con agua, y volver a mezclar. Después de 3 min, determine la absorbancia a 350 nm vs. agua en celdas de 1 cm. Comparar con la absorbancia de la solución estándar de KBr, corrigiendo para la absorbancia obtenida en la determinación del reactivo "blanco".

El intervalo de tiempo de 3 min antes de la lectura de la absorbancia en la determinación espectrofotométrica fue seleccionado por varias razones. La liberación de yodo del KI por el HClO es rápida, pero son requeridos unos minutos para diluir la solución al volumen y mezclar vigorosamente en el matraz volumétrico de 200 ml. Después de 5 min, un pequeño incremento en la absorbancia puede ser observado.

El método es para productos alimenticios que contienen de 0-200 ppm de bromuros. Para concentraciones altas, debe ser usada una alícuota equivalente a 100 μ g aproximadamente.

5.1.3 ESTUDIO COLABORATIVO

Las muestras para el estudio colaborativo fueron mezcladas tan completamente como fue posible para tener un error de muestreo mínimo y hacer a los resultados una prueba del método solamente. La harina de trigo fue agregada para contener 100 ppm de bromo; fue obtenida una recuperación promedio del 90% aproximadamente. La leche deshidratada

da fue una muestra analizada previamente en dos laboratorios diferentes por el método de fusión (149) y se encontró que contenían aproximadamente 90 ppm de bromo. Las nueces pacañ y el trigo fueron recolectadas a mano. La harina de trigo fue de origen comercial. Los 3 productos no contenían bromuro (0.0 ppm), determinado por el análisis espectrofotométrico antes de la fortificación o fumigación. Los resultados de los colaboradores se encuentran en la Tabla 41. -- Así, una variable en la técnica pudo haber sido involucrada que la experiencia con el método lo eliminaría.

Las desviaciones estandard fueron reportadas de los resultados individuales. La distribución de los residuos de bromuro en muestras fumigadas nunca es uniforme y el promedio de varias determinaciones estandards de tales resultados serían materialmente inferiores.

5.2 DETERMINACION DE COBRE POR EL METODO DE DIETILDITIO-
CARBAMATO DE DIETILAMONIO

El método para la determinación de cobre es el mismo de la sec. 3.4, p. 86; desarrollado por el Analytical Methods-Committee (8).

5.2.1 RESULTADOS

A porciones de 5 g de harina hecha de trigo blanco para hacer pan se les agregaron cantidades conocidas de cobre como volúmenes medidos de una solución estándar, las muestras fueron entonces digeridas con ácido nítrico y ácido sulfúrico y el cobre agregado fue determinado por el método descrito anteriormente. La harina se encontró que contenía originalmente 2 p.p.m. aproximadamente de cobre, y las correcciones para el contenido original son incorporados en los datos de la recuperación presentados en la Tabla 42.

El dietilditiocarbamato de cobre es destruido por el cianuro, pero el dietilditiocarbamato de bismuto no es des-

truido. El dietilditiocarbamato de telurio es parcialmente destruido por el cianuro. Si, por lo tanto, la capa de tetracloruro de carbono que contiene el complejo de cobre es agitado con el cianuro y no se torna incolora, el bismuto o el telurio, o ambos, se encuentran presentes. Una posterior serie de experimentos fueron conducidos con muestras de 5 g de la misma harina a la cual se le agregaron cantidades conocidas de bismuto, y se siguió el procedimiento especial -- para separar el bismuto y el telurio descrito anteriormente. El dietilditiocarbamato de cobre es estable durante este -- tratamiento, pero los complejos de bismuto y telurio son -- destruidos (108).

Datos de recuperaciones para el cobre de estos experimentos son presentados en la Tabla 43.

Fue notado que, si la descomposición de la harina con el ácido nítrico y el ácido sulfúrico se completaba rápidamente, la recuperación del cobre era variable. Esto se superó por un tratamiento final del residuo con un poco de ácido perclórico.

5.3 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE LA OXIDACION HUMEDA CON LOS ACIDOS NITRICO-PERCLORICO

En años recientes, algunas áreas de Louisiana han sido afectadas por los hongos (*Piricularia Orizae*) que atacan el arroz. Los campos de prueba del acetato de fenilmercurio - como una medida de control conducen a requisitos para la de terminación de los residuos de mercurio. Hay un número de buenos métodos (88,122,187), pero porque requieren de aparatos no disponibles realmente, fue desarrollado un método mo dificado (60).

5.3.1 METODO

REACTIVOS Y APARATOS

- a) Acido perclórico. Al 70%. A. R.
- b) Acido acético. Al 30% peso/V.
- c) Clorhidrato de hidroxilamina. Al 10% peso/V.
- d) Solución patrón de ditizona. 100 mg/ml en CHCl_3 .

e) Solución estándar de mercurio. 1 mg de Hg/ml - - -
(67.7 mg de HgCl_2 /50 ml).

f) Matraz Erlenmeyer. 300 ml con uniones de 24/40.

g) Condensador. 300 mm X 18 mm de diámetro interno, -
tubo de vidrio borosilicato con uniones de 24/40, empacado-
con 80 mm de anillos Raschig de 6 mm.

PROCEDIMIENTO

Pesar 5 g de muestra en el matraz, agregar unas boli-
tas de vidrio, y fijar el condensador. Agregar 35 ml de --
 HNO_3 a través del condensador y calentar suavemente al empe
zar la reacción. Cuando cese la espumación, re-aplicar ca-
lor y continuar hasta que el matraz esté casi seco. No de-
jar que el residuo llegue a estar seco o puede ocurrir igni-
ción. Se obtienen mejores resultados extrayendo por ebulli-
ción el ácido gradualmente. Agregar 10 ml de HClO_4 y 10 ml
de HNO_3 y calentar hasta que aparezcan los vapores. Cautel-
osamente agregar 10 ml de agua a través del condensador y-
de nuevo calentar hasta que aparezcan los vapores para remo-
ver los óxidos nitrosos. Agregar dos porciones de 25 ml de

agua a través del condensador. Filtrar a través de un papel cualitativo rápido y lavar. Transferir el filtrado y los lavados a un embudo de separación de 250 ml, agregar 5-ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina y 3 ml de ácido acético, y diluir a 200 ml. Extraer con 5 ml de CHCl_3 y descargar el CHCl_3 . Agregar la ditizona y extraer por 15 seg por agitación vigorosa. Para 0-20 μg de Hg, usar 15 ml de la solución de ditizona (5 mg/lt); para 20-50 μg de Hg, usar 25 ml de la solución de ditizona (10 mg/lt). Drenar la capa de CHCl_3 a través de un tapón de algodón en el embudo en la celda de absorción; usar una celda de 2.5 cm para concentraciones muy bajas de Hg. Medir la absorbancia a 440 $\text{m}\mu$ contra la ditizona de concentración apropiada. Preparar una curva de calibración agregando cantidades apropiadas de la solución estándar de mercurio a las soluciones de la muestra sobrante en los embudos de separación y entonces llevar a cabo la extracción de ditizona.

5.3.2 RESULTADOS Y DISCUSION

En la solución débilmente ácida, la ditizona dio com--

plejos coloreados, extraíbles con el cloroformo, con antimonio, bismuto, cobre, oro, mercurio, paladio, platino, plata, y estaño. En la investigación ordinaria con los tejidos de las plantas solo el cobre es probable a interferir. Los otros elementos no son probables a encontrarse; si están presentes, las curvas de equilibrio indican que, excepto para la plata, los ditizonatos no serían extraídos a pH de 0.5. La plata puede causar seria interferencia pero puede ser eliminada con el HCl. A pH de 1, el cobre, excepto en grandes cantidades, se combina tan lentamente con la ditizona que no interfiere. El método propuesto produjo una solución final de un pH de 0.5 aproximadamente; por lo tanto, no se hizo ajuste del pH. Pruebas con 500 μ g de cobre y 30 μ g de mercurio demostraron no interferir. El contenido de cobre de los materiales a ser analizados formó un rango de 6 ppm en el salvado de arroz a 80 ppm en las vainas. Por lo tanto no se hizo provisión para quitar el cobre.

Debido a que el mercurio es realmente perdido por la volatilización, la oxidación húmeda pudo ser usada para preparar los materiales orgánicos para el análisis. Aún entonces, deben tomarse precauciones para prevenir las pérdidas.

Investigadores (9,84) usando técnicas radioquímicas han estudiado completamente las pérdidas de mercurio durante la incineración húmeda. Se encontró necesario condensar los vapores y retornar el condensado al proceso para prevenir las pérdidas. En el laboratorio, la digestión húmeda con el HNO_3 y el HClO_4 ha provisto ser una técnica muy útil. El ácido perclórico es potencialmente un poderoso explosivo y deben ser tomadas precauciones como las recomendadas por la AOAC, p. xviii de la ref. (176).

En investigación de esta clase, el analista debe estar alerta para prevenir la contaminación de los reactivos o del material de vidrio. Las determinaciones "blanco" demostraron que no es necesaria la purificación del agua o de los reactivos usados. Se encontró posible reducir el "blanco" por una extracción con el cloroformo justamente antes de la extracción con la ditizona.

En lugar del material de vidrio caro usado por otros, fue usado un condensador de aire empacado con anillos Raschig para prevenir las pérdidas de mercurio. Las pruebas preliminares demostraron que los productos del arroz (el

salvado contiene de 12-20% de grasa) pudo ser completamente digerido por el HNO_3 y el HClO_4 sin pérdidas de mercurio.

La recuperación del mercurio agregado al arroz comestible previo a la digestión es presentada en la Tabla 44. Estos datos no indican pérdidas. Algunos productos de arroz que contienen altas cantidades de sílica debe ser quitada - por la filtración. La determinación con las vainas de arroz fue incluida para demostrar que no hay pérdidas, por retención en la sílica. La adición de $500 \mu\text{g}$ de Cu no incrementó la absorbancia. La Tabla 45 presenta los resultados típicos del tratamiento experimental del arroz y de la semilla de arroz con el acetato de fenilmercúrico.

Este método es mucho más simple que otros métodos para la determinación de los residuos de mercurio. Es necesario material de vidrio menos complicado y un mínimo de manipulación. El procedimiento es realmente adaptable para la determinación de los residuos del mercurio en otras plantas - y tejidos de animal.

5.4 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE LA COM--
BUSTION DEL OXIGENO

Los compuestos orgánicos de mercurio son utilizados am-
pliamente como fungicidas contra los hongos que atacan a --
los cultivos del arroz. Es por lo tanto, muy importante --
desde el punto de vista de la salud pública determinar los--
residuos de mercurio en los granos del arroz.

Para determinar el mercurio en el arroz, es necesaria-
la digestión del material orgánico. El método de digestión
generalmente aplicado es el procedimiento de la digestión -
húmeda (40), pero este procedimiento es tedioso y se lleva--
mucho tiempo para llevar a cabo la digestión de los materia-
les; también, algunas veces hay pérdidas del mercurio duran-
te la digestión (9). La determinación del mercurio por el
método de la combustión fue reportado por Schoeniger (74) y
otros investigadores (208). Aunque estos métodos son úti--
les por su rapidéz y exactitud, las cantidades de las mues-
tras son también pequeñas, porque la combustión se desarro-
lla en un matraz de vidrio.

En el método siguiente, la combustión se lleva a cabo en un recipiente de presión lleno de oxígeno, de acero inoxidable para facilitar el tratamiento de grandes cantidades del material orgánico. Por este método, puede llevarse a cabo una recuperación satisfactoria del mercurio agregado a las muestras en cantidades conocidas. No se observaron interferencias causadas por el metal del recipiente de presión en la determinación del mercurio (74).

La combustión fue llevada a cabo en presencia de ácido nítrico 1.0 N agregado previamente al recipiente de presión para absorber los productos de la oxidación. Sin el ácido nítrico, la reproducibilidad de los resultados era insatisfactoria. La oxidación de los productos era reducida subsecuentemente por la adición del clorhidrato de hidroxilamina y la solución de urea. El mercurio se extrajo con la solución de ditizona, y el ditizonato de mercurio se sometió a la columna cromatográfica para la separación del exceso de ditizona, y después se midió colorimétricamente.

APARATOS

La combustión se llevó a cabo en un recipiente de presión diseñado por Fujiwara y Narasaki.

La determinación espectrofotométrica se llevó a cabo en un espectrofotómetro Beckman DU con celdas de cuarzo de 1.00- X 0.50- cm.

REACTIVOS Y PRODUCTOS QUIMICOS

Los solventes fueron destilados antes de usar. Todos los productos químicos fueron de la más alta pureza obtenible.

Solución de ditizona: Disolver 5.1 mg de ditizona en 100 ml de tetracloruro de carbono.

Solución de urea: Disolver 10 gramos de urea en 100 ml de agua desionizada y lavar la solución de urea con la solución de ditizona y el tetracloruro de carbono sucesivamente hasta que los extractos sean incoloros.

Solución de clorhidrato de hidroxilamina: Disolver 40-g de clorhidrato de hidroxilamina en 100 ml de agua desionizada. Lavar esta solución con la solución de ditizona y el tetracloruro de carbono como en el caso de la solución de urea.

COLUMNA CROMATOGRAFICA DE OXIDO DE ALUMINIO

La columna (0.3-X10-cm) fue empacada con 0.3 gramos de oxido de aluminio de grado actividad 3.

COMBUSTION DE LAS MUESTRAS Y PREPARACION DE LA SOLUCION DE LA MUESTRA

Las cantidades apropiadas de la muestra para una combustión se encuentran en la Tabla 47. Las muestras fueron envueltas en una hoja de papel de arroz de 7-X 7-cm y atadas con un hilo de algodón y colocadas en la copa para la muestra. En el caso de los aceites, la muestra se vació directamente en la copa de platino y el extremo del hilo de algodón se sumergió en la muestra. La parte sobrante del hilo se pasó por el rollo del alambre de platino como fusi-

ble. Se agregaron 40 ml de ácido nítrico 1.0 N al recipiente de presión, mojando la superficie interior. La bomba se ensambló y el oxígeno se introdujo en el recipiente de presión hasta que se logró una presión de 25 kg/cm^2 . La muestra fue encendida haciendo pasar una pequeña corriente a través del rollo de platino bajo una diferencia de potencial de 12 volts. Después de la ignición, el recipiente a presión se agitó por 15 seg y se enfrió en un baño de hielo a la temperatura ambiente. Después del enfriamiento, los gases se liberaron a la presión atmosférica por un pequeño orificio. El contenido del recipiente a presión se transfirió a un vaso de precipitado de 300 ml. La superficie interna y las partes del recipiente de presión se lavaron con 160 ml de ácido nítrico 1.0 N y los lavados se pasaron al vaso.

La solución combinada se transfirió a un embudo de separación de 500 ml. Se agregaron 2 ml de la solución de urea y 5 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina. La mezcla (la solución de la muestra) se usó para el siguiente análisis.

Pipetear 6 ml de la solución de ditizona en la solución de la muestra y agitar vigorosamente el embudo por 1 minuto. La capa de tetracloruro de carbono se filtró a través de un tapón de algodón. Una alícuota de 5.0 ml del filtrado se puso en la columna de óxido de aluminio y la columna se lavó con 0.5 ml de tetracloruro de carbono. El ditizonato de mercurio se extrajo con la mezcla del solvente de tetracloruro de carbono: cloroformo (1:1). El primer ml del lavado se tomó en un matraz volumétrico de 1 ml conteniendo una gota de ácido acético glacial. Por este procedimiento, el ditizonato de mercurio se separó del exceso de ditizona. La absorbancia del lavado se midió a 490 $m\mu$ usando el solvente como referencia.

5.4.2 RESULTADOS Y DISCUSION

RECUPERACION DEL MERCURIO DEL SALVADO DE ARROZ

La prueba de recuperación se desarrolló usando las muestras de salvado de arroz que contenían cantidades conocidas de mercurio. Las muestras de salvado de arroz se prepararon

por la adición de 0.05 a 0.15 ml de cloruro mercuríco al -- 0.001% en ácido nítrico 1.0 N a 1 gramo de salvado de arroz para tener concentraciones de mercurio de 0.5 a 1.5 μg . Las recuperaciones del mercurio agregado, se presentan en la Ta**bla** 46, con un promedio del 93%. La cantidad de mercurio, -- 0.16 μg , que contenía originalmente el salvado de arroz, -- fue substraído de la cantidad total de mercurio para obte--
ner la cantidad neta.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

La curva de calibración se obtuvo de las determinaciones colorimétricas usando una solución estándar de mercurio (1 μg de mercurio por ml de cloruro mercuríco en ácido nítrico 1.0 N). Alícuotas que contenían 0.2, 0.8, 1.4, y -- 2.0 μg de mercurio se diluyeron con ácido nítrico 1.0 N a 200 ml. A cada una se le agregaron 5 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina y 2 ml de la solución de urea. Cada una fue extraída con la solución de ditizona, y el ditizonato de mercurio fue separado cromatográficamente ~~de~~ extracto en la columna de óxido de aluminio, y la absorbancia se determinó como se describió arriba. La absorbancia fue-

lineal de 0 a 2.0 μg de mercurio.

ANALISIS DE LAS MUESTRAS

El grano de arroz, el salvado de arroz, los aceites vegetales, el cabello humano normal; y el hígado, riñones, y-sesos de ratas envenenadas con mercurio fueron analizados -por el método de la combustión y el método usual de la di-gestión húmeda. Los resultados son presentados en la Tabla 47. Los resultados indican que no hay diferencia significativa entre los valores obtenidos por los dos métodos.

Se encontró que las cantidades máximas que pueden ser-quemadas completamente por este método de combustión eran -de 4 gramos para el grano de arroz y 2 gramos para el salvado de arroz. Los aceites vegetales que fueron digeridos du-ramente por el método usual de la digestión húmeda fueron -completamente quemados por el método de la combustión.

El cobre y los metales nobles son conocidos en la for-ma de complejos con la ditizona en ácido nítrico 0.1 N. Como el cobre es encontrado ampliamente en las plantas y en -

los animales como un componente natural, y también se encuentra como un residuo de los pesticidas, es posible que ciertas muestras por este análisis de mercurio puedan contener una cantidad apreciable de cobre. Pero al cobre puede separarse del mercurio por la cromatografía involucrada en el procedimiento mencionado anteriormente. Por lo tanto, en este método, la contaminación con cobre no tiene efecto en la determinación del mercurio.

En conclusión este método es conveniente por su rápida digestión de las muestras, exacto, y disponible para las -- muestras grandes.

5.5 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE LA OXIDACION HUMEDA CON LOS ACIDOS NITRICO-SULFURICO-PERCLORICO

El método para la determinación del mercurio en las papas, arroz comestible y semillas en grano es el desarrollado por Smart y Hill (202) (ver la sec 4.7, p. 265).

5.5.1 EXPERIMENTAL

Aparte de la oxidación húmeda de la muestra, el método es el mismo como el recomendado por la Joint Mercury Residues Panel (190).

Es preferible un matraz de 1 lt para la oxidación húmeda.

REACTIVOS

El siguiente reactivo es requerido en adición a los enlistados en el reporte de la Joint Mercury Residues Panel, sec 9.4.1, p. 416.

Acido perclórico, al 72%. Grado reactivo.

PAPAS, ARROZ COMESTIBLE Y SEMILLA EN GRANO

Las papas deberán ser cortadas en cuartos, los cuales son completamente mezclados, cortar una alícuota en cubitos y tomar una fracción de 50 g para el análisis. Tomar muestras representativas de 25 g de arroz comestible o 10 g de semillas en grano.

Colocar la muestra preparada en el matraz de la reacción, juntamente con unas bolitas de vidrio, y mezclar con 0.1 g de polvo de selenio. Agregar 25 ml de agua al arroz y 10 ml de agua a la semilla en grano.

Colocar el matraz en la canasta de calentamiento y montar el sistema condensador (con agua fluyendo rápidamente a través de él) y el embudo con llave. Agregar 25 ml de la mezcla de los ácidos nítrico y sulfúrico (1+1) lentamente e intermitentemente, en un período de 10 minutos, teniendo cuidado que la mezcla en ningún momento espume apreciablemente. La solución del matraz deberá agitarse de vez en --

cuando. Entonces agregar de 10 a 20 ml de ácido nítrico para las papas y las semillas en grano, o 50 a 70 ml para el arroz (para prevenir la carbonización). Conectar la canasta de calentamiento e incrementar lentamente la velocidad de calentamiento por 30 minutos aproximadamente. La reacción no deberá llegar a ser violenta. Cuando los sólidos desaparecan, agregar 15 ml del ácido perclórico al 72% y reflujar por 1 hora a pleno color. Al final de este período la mezcla de reacción deberá ser siempre incolora con la papa, y amarillo pálido con el arroz y las semillas en grano. Enfriar el digerido y lavar el condensador con 50 ml de agua.

Proceder como se describe en el método recomendado de la Joint Mercury Residues Panel (p. 423, línea 12).

5.5.2 RESULTADOS

PAPAS Y GRANOS

Las recuperaciones de los compuestos organo mercurícos

de las papas, arroz comestible y cebada con el método de oxidación con el ácido perclórico son encontradas en la Tabla 48.

El reactivo total y el lote de los "blancos" para las determinaciones fueron 0.7 y 1.0 μg de mercurio para las papas; 0.7, 0.6, 0.4 y 0.3 μg de mercurio para el arroz; 0.1, 0.1, 0.0 y 0.5 μg de mercurio para la cebada.

5.5.3 DISCUSION

PAPAS Y GRANOS

La digestión modificada con el ácido perclórico dio aproximadamente el $95 \pm 2\%$ de las recuperaciones para este grupo de materiales. El cloruro de fenilmercurio fue usado para obtener resultados de recuperación. Este compuesto es ampliamente usado para el control de los hongos (*Piricularia Oryzae*) que atacan al trigo en muchas partes del mundo, y fue recuperado del arroz a una concentración de 0.1 ppm, como se ha demostrado que los residuos del mercurio son de

este orden de magnitud. Los organomercuriales usados como abono de las semillas en el trigo y la cebada no dan elevados residuos en el grano cosechado. Sin embargo, es algunas veces necesario comprobar si el grano ha sido abonado con los organomercuriales, si tal, a que extensión. El método propuesto, por lo tanto, ha sido probado para la cebada, usando el acetato de fenilmercurio, el fenilmercurio -- urea y el cloruro de etilmercurio, los organomercuriales -- más comúnmente usados, como fungicidas de las semillas a -- las concentraciones a las que estos compuestos están presentes usualmente en las semillas abonadas. El silicato de -- metoxietilmercurio no fue probado por las dificultades encontradas en preparar una solución estándar satisfactoria para la adición al grano para las pruebas de recuperación.

La digestión modificada acorta el método por aproximadamente 3 hrs, tal que 6 análisis pueden ser completados -- por un analista en 1 día. El método, por lo tanto, toma -- aproximadamente la mitad del tiempo requerido por el método original de Panel. Es también corto y considerablemente -- simple, para las papas y granos, que el método presentado -- por el Analytical Methods Committee (9).

5.6 DETERMINACION DE NIQUEL

Epidemias destructivas de moho en las áreas de cultivo de granos han ocasionado interés en los medios de control químicos. Ahora las variedades de trigo resistentes al moho son con frecuencia atacadas por nuevas razas de moho en pocos años de su desarrollo. El trigo puede ser protegido -- contra la infección por frecuentes aplicaciones de compuestos tales como el etilenobisditiocarbamato de zinc, pero es to involucra un compromiso de considerable tiempo y gasto -- sin prueba de real necesidad en un dado año de cosecha. Ob via ventaja sería ofrecida por un tratamiento erradicativo del moho para usarse solamente cuando el moho se presente -- en las plantas. En un invernadero y campo de pruebas, se -- expuso la actividad fungicida de las sales de níquel a ba-- jas concentraciones contra los mohos de los cereales por me dio de la acción protectora y erradicativa. La aplicación de estas sales al trigo aumentó la producción por área (en -- acres), y los cálculos presentaron superiores rendimientos -- netos después de deducir los gastos de fumigación. Estos -- descubrimientos han estimulado el interés de las compañías -- de plantas patológicas y de productos químicos ocupadas en --

la manufactura y venta de los productos químicos de fungicidas. Sin embargo, la información exacta en términos de la acumulación y distribución del níquel en el grano fue requerida en orden a dar bases sólidas para juzgar cualquier peligro tóxico posible. Fue prevenido que un considerable número de muestras serían involucradas en tal estudio; además, este número sería triplicado por la necesaria para la molienda de las fracciones del trigo en el salvado, forraje y harina para los estudios de distribución.

De los procedimientos analíticos disponibles fue considerado que el método de Forster (72) o el descrito por Alexander, Godar y Linde (3) que pueden ser adaptados para este propósito. Estos procedimientos involucran la extracción múltiple con el solvente del complejo de níquel, y fue pronto evidente que la gran cantidad de tiempo gastado en la manipulación de los embudos de separación sería un serio inconveniente para uno u otro método. Sin embargo, la investigación preliminar demostró que el método de Alexander, Godar y Linde dio resultados confiables, mientras que la inestabilidad del color formado por el método de Forster fue insatisfactorio para determinar el níquel en las frac--

ciones del trigo.

Otros métodos se apartaron de la utilidad de estos, y fue por el peligro potencial introducido por el uso del ácido perclórico y la constante y cerrada atención requerida durante la preliminar digestión húmeda.

El método descrito por Middleton y Stuckey (157) para la destrucción de la materia orgánica tuvo importantes ventajas sobre los otros métodos. El principal reactivo usado fue el ácido nítrico, y solo cantidades relativamente pequeñas fueron necesarias; la única atención requerida fue la adición intermitente del ácido, y no hubo pasos críticos en el procedimiento. Pareció probable que este método de preparación de la muestra pudiera ser extendido para la determinación del níquel.

El procedimiento desarrollado incluye esta digestión más eficiente, mantiene la selectividad de la dimetilgloxima para el níquel y ofrece la conveniencia de una determinación final espectrofotométrica estable (98).

5.6.1 METODO

APARATOS

Aparato de filtración. La armadura presentada en la -- Fig. 1 de la referencia (98) fue ideada para facilitar la -- maniobra de las muestras múltiples. El tubo múltiple al -- fondo consiste de unas series de uniones T conectadas por -- la tubería.

Espectrofotómetro. Un instrumento Beckman DU equipado con celdas de sílica de 1 cm.

Espátula de vidrio. Una manivela de vidrio fue unida a una sección de 0.5 pulgadas tomada de la tubería de vidrio ajustada dentro de un embudo sinter de 15 ml.

REACTIVOS

Mezcla de ácido nítrico-sulfúrico. Mezclar 95 ml de -- ácido nítrico, densidad relativa de 1.42, con 5 ml de ácido sulfúrico, densidad relativa de 1.84.

Acido nítrico, fumante, densidad relativa de 1.50.

Solución de tartrato de sodio dihidrato, al 20% peso/V,
acuosa.

Solución de dimetilgloxima al 1% peso/V, en etanol.

Solución amoniacal, densidad relativa de 0.90.

Solución de bromo en agua, saturada.

Solución de persulfato de potasio, saturada, acuosa.

Solución standard de níquel, 1 mg por ml. Disolver -
6.7301 g de sulfato de níquel amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$,
en agua, y diluir a 1 lt.

TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las semillas de trigo (variedad Thatcher) fueron molidas por el procedimiento descrito por la micro molienda de harina de Ottawa (115), y fueron registrados los pesos del salvado y de la harina de trigo; los rendimientos fueron aproximadamente 65% de harina, 27% de salvado y 8% de forraje.

PROCEDIMIENTO

Colocar una porción pesada de la muestra en un vaso de precipitado de Berzelius de 1 lt sin borde, humedecer con 10 a 15 ml de agua, agregar 10 ml de la mezcla de ácido nítrico-sulfúrico, y evaporar lentamente a sequedad. Dejar que se enfríe el vaso de precipitado y los contenidos carbonizados, agregar suficiente ácido nítrico, densidad relativa de 1.42, para humedecer el residuo, cubrir con un vidrio de reloj, y colocarlo en una canasta de calentamiento a 350° C aproximadamente (registrado por un termómetro de superficie). Evaporar a sequedad, y continuar calentando por 20 minutos aproximadamente. Quitarlo de la canasta de calentamiento, dejarlo enfriar, y repetir la adición del ácido nítrico y subsecuente calentamiento hasta que aparezcan fragmentos blancos en el residuo. Substituir el ácido nítrico fumante por el ácido nítrico, densidad relativa de 1.42, cuando no haya ocurrido incandescencia en la muestra, y repetir la operación hasta que sea obtenido un residuo blanco. Quitar el vidrio de reloj, y continuar calentando hasta que los óxidos de nitrógeno hayan sido expelidos. Enfríar, agregar 15 ml de ácido sulfúrico (1+4) diluido, cu-

brir el vaso de precipitado, y calentar a 350° C hasta que los vapores sean emitidos. Enfriar, lavar los lados del vaso de laboratorio con 15 a 20 ml de agua, y calentar sin cubrir hasta que los vapores sean emitidos; no evaporar a sequedad. Repetir el lavado y el calentamiento, entonces -- transferir la solución ácida a un vaso de precipitado de -- Berzelius de 200 ml; enjuagar repetidamente el vaso de precipitado de 1 lt, con agua, agregando los enjuagues a la solución del vaso de precipitado de 200 ml, hasta que el volumen final sea de 100 ml aproximadamente.

Evaporar hasta 20 ml aproximadamente, dejar enfriar un poco, agregar 5.0 ml de solución de tartrato de sodio, y calentar a 80° C. Entonces agregar 4.0 ml de solución de dimetilglioxima, 2 gotas de la solución indicadora de azul de bromotimol y la solución amoniacal, densidad relativa de 0.90 gota a gota, con agitación constante, hasta que la solución llegue a ser de un color purpurino; el pH, que deberá ser de 8 a 9, puede ser comprobado externamente por medio de un papel indicador. Cubrir el vaso de precipitado, y dejarlo reposar preferiblemente toda la noche.

Con el uso de una varilla de vidrio teniendo un extremo cubierto de hule y repetidos los lavados con pequeñas -- porciones de agua, transferir todo el precipitado a un embudo sinter de porosidad fina de 15 ml, y guardar el vaso de precipitado para el próximo paso (ver la Fig. 1 (c), referencia (98)). Agregar 1.0 ml de la solución de bromo en agua (saturada) a la solución del embudo, y poner el líquido en contacto con toda el área de la pared por medio de la espátula de vidrio. Después de 5 minutos, aplicar la succión, y recolectar el filtrado en el vaso de precipitado -- guardado previamente. Continúe la aplicación de la succión, y lavar el sinter con agua caliente. (El vaso de precipitado interno es cubierto con un disco de polietileno durante esta operación, excluir cualquier "migaja" de hule -- del tapón - ver la Fig. 1 (c), referencia (98); el vástago del embudo sinter pasa por un agujero taladrado en el disco). Agregar una segunda porción de 1 ml de la solución de bromo como antes, y lavar bien con agua caliente.

Llevar a ebullición el filtrado por al menos 15 minutos para expulsar el bromo, manteniendo el volumen constante haciendo adiciones ocasionales de agua. (Si se desea, -

esta es una etapa conveniente en la cual se puede interrumpir el procedimiento). Colocar el vaso de precipitado y la solución en agua fría, y agregar, con agitación después de cada adición, 1 ml de etanol, 3 ml de solución de tartrato de sodio, 5 ml de solución de persulfato de potasio, 5 ml de la solución amoniacal y 2 ml de solución de dimetilglioxima (en ese orden). Transferir la solución a un matraz calibrado de 50 ml, diluir a la marca con los enjuagues del vaso de precipitado, mezclar bien, y medir la densidad óptica a 465 $m\mu$. Si se forma un precipitado blanco, pasar una porción de la solución por un embudo sinter antes de medir la densidad óptica. El color final rojo-café es estable por al menos 3 hrs.

GRAFICA DE CALIBRACION

Colocar adecuadas porciones de la solución estandard de níquel diluida en una serie de vasos de precipitados, -- agregar 1 ml de la solución de dimetilglioxima a cada uno, -- y agitar. Agregar 2 ml de la solución de bromo en agua, -- llevar a ebullición y continuar como se describió en el -- "Procedimiento" para las muestras. Construir una gráfica de

la densidad óptica contra el peso del níquel presente, la cual es lineal (pendiente 0.0045) y pasa por el origen.

5.6.2 PRUEBA PARA EL NIQUEL EN LOS FILTRADOS

Colocar el filtrado en un embudo de separación, y extraer 3 veces con porciones de 5 ml de cloroformo. Combinar las soluciones de cloroformo, y extraer con una porción de 10 ml y entonces una de 5 ml de ácido clorhídrico 0.33 N. Colocar los extractos del ácido combinados en un vaso de precipitado, agregar 2 ml de la solución saturada de bromo en agua, y llevar a ebullición hasta que el cloroformo halla sido expulsado completamente. Colocar el vaso de precipitado y la solución en agua fría, y continuar como se describió en el "Procedimiento" para las muestras.

5.6.3 DISCUSION DEL METODO

La Tabla 49 presenta los resultados para las recuperaciones del níquel agregado a las fracciones (no tratadas) -

del trigo, los pesos tomados son los mismos como los de las muestras. Los resultados satisfactorios y la ausencia del níquel en cualquiera de los filtrados probados confirmó: -- (a) la recuperación del níquel fue completamente y (b) el método de Middleton y Stuckey para la destrucción de la materia orgánica puede ser usado en la determinación del níquel.

El procedimiento propuesto es comparativamente rápido y extremadamente conveniente para la determinación de los contenidos de níquel de un gran número de muestras de trigo.

5.7 DETERMINACION DE NITROGENO

El método oficial micro-Kjeldahl, secs. 42.014-42.016- de la ref. (177), es útil para determinar el nitrógeno en - pqueñas muestras de tejidos de plantas. Sin embargo, es - necesario equipo de destilación especializado y el método - se lleva tiempo cuando el amoníaco es destilado de los dige - ridos uno a la vez. Por lo tanto, se desea medir los iones amonio en los digeridos por otra técnica que no sea la de - destilación cuando se tienen muchas muestras a analizar.

La reacción de Berthelot de amoníaco con fenol e hipoclorito de sodio en un medio alcalino ha sido usada para de - terminar el nitrógeno en los tejidos de animales (34,226).- El nitroprusiato de sodio fue usado como un catalizador pa - ra acelerar la formación del color y para incrementar la -- sensibilidad (142). En una reacción remanente, el EDTA fue usado para eliminar las interferencias de los iones metáli - cos. Beecher y Whitten (24) demostraron la importancia de - controlar el pH de la mezcla de la reacción final alrededor de 11.7. Sin embargo, estos procedimientos involucran volu - menes microlíticos de la digestión y las mezclas de la reac

ción final de 10 ml o menos. Una investigación de la reacción fue llevada a cabo para establecer las condiciones que permitirían determinar el nitrógeno en los tejidos de las plantas bajo condiciones con menores restricciones (160).

5.7.1 METODO

REACTIVOS

Todas las soluciones fueron preparadas con agua destilada la cual se pasó a través de un desmineralizador de lecho mezclado HN del tipo Barinthead para quitar los iones amonio, lo cual es necesario para lograr "blancos" bajos.

(a) Solución A. Disolver 4.8 g de NaOH en agua y diluir a 1 lt.

(b) Solución B. Disolver 5 g de fenol y 25 mg de nitróprusiato de sodio en agua y diluir a 500 ml.

(c) Solución C. Disolver 2.5 g de NaOH, 1.87 g de Na_2HPO_4 anhidro, 15.9 g de $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, y 5 ml de Clorox en agua, y diluir a 500 ml. Almacenar las soluciones B y C en

botellas ambar en el refrigerador y calentar a la temperatura ambiente antes de usar.

(d) Acido etilendiaminotetracético (EDTA). Suspender 1 g de EDTA en 100 ml de agua y agregar NaOH concentrado -- hasta obtener un pH de 10, usando un pH-metro.

(e) Catalizador de la digestión. 2 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ y 30 g de K_2SO_4 o 0.6 g de HgO y 20 g de K_2SO_4 . Moler la mezcla completamente en el mortero.

(f) Solución estándar de nitrógeno. Disolver 0.472 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en agua y diluir a 1 lt. Diluir 10 ml de esta solución a 1 lt. (contiene $1 \mu\text{g}$ de nitrógeno/ml.)

5.7.2 EXPERIMENTAL

Calentar 50 mg de papel filtro con 1 g de catalizador y 1 ml de H_2SO_4 concentrado en un matraz Kjeldahl de 30 ml hasta que la solución se haga clara. Diluir el digerido a 250 ml; 5 ml de esta solución requirieron 1.7 ml de NaOH -- 0.35 N para neutralizar a un pH de 7. La solución A fue entonces preparada tal que 1 ml sería usado por cada ml del digerido en la mezcla de la reacción final.

Preparar las soluciones prueba por combinación, en los matraces de 100 ml, variando las cantidades del papel filtro digerido, el nitrógeno estandard, EDTA, y solución A. - Agregar 10 ml de la solución B y 10 ml de la solución C en ese orden. Diluir las mezclas de la reacción a 100 ml y medir las absorbancias a 625 nm con un espectrofotómetro Beckman DU.

Los datos de la Tabla 50 presentan que los iones de cobre y de mercurio inhibieron la formación del color y que la adición del EDTA eliminó la mayoría de la inhibición. - La omisión de la solución A también abatió la formación del color. La neutralización parcial, con 2.5 ml de la solución A produjo una formación lenta del color, pero la absorbancia final fue comparable con la obtenida cuando se agregaron 5 ml. Adicionando 10 ml de la solución A por 5 ml del digerido produjo una absorbancia ligeramente inferior.

Se encontró que 30 minutos no era tiempo suficiente para la formación del color; ya que incrementos apreciables en la absorbancia ocurrieron subsecuentemente. Sin embargo, los cambios después de 1 hr fueron menores, especialmente -

cuando las adiciones de NaOH fueron cerca del óptimo.

En vista de estos resultados, el procedimiento siguiente fue establecido para la determinación del nitrógeno en los tejidos de las plantas secas:

Digerir 50 mg de la muestra con 1 g de catalizador y 1 ml de H_2SO_4 concentrado. Diluir a 250 ml y transferir 5 ml del digerido a un matraz volumétrico de 100 ml. Agregar 1 ml de la solución de EDTA y 5 ml de la solución A. Agregar 10 ml de la solución B, seguidos por 10 ml de la solución C. Completar a los 100 ml con agua y medir la absorbancia a 625 nm después de 1 hr. Preparar la curva de calibración por la adición de diferentes cantidades de sulfato de amonio a 5 ml de papel filtro digerido y seguir el procedimiento anterior. (La curva de calibración es lineal a concentraciones de 10-50 μg de nitrógeno). Corregir las absorbancias deduciendo la absorbancia del papel filtro digerido que no contiene nitrógeno adicionado.

5.7.3 RESULTADOS Y DISCUSION

Una comparación del método propuesto con el método - - Kjeldahl standard, secs. 2.049-2051 de la ref. (177), es - presentada en la Tabla 51. Los datos para el método estandar fueron obtenidos de un laboratorio de servicio químico. Valores ligeramente más altos fueron obtenidos con el catalizador de CuSO_4 . Sin embargo, hay concordancia entre los tres procedimientos y entre las determinaciones en duplicado fue buena.

El método es altamente reproducible y tiene considerable flexibilidad para las muestras que contienen nitrógeno - diferenciando excesivamente. Con sustancias de mucho nitrógeno, tal como semillas de soya, las mezclas de la reacción - final pueden ser diluidas a 200 ml en el período de mezcla - do o diluidas 1:1 en el tiempo de la lectura. Los valores - de la curva de calibración entonces son multiplicados por 2. Ya que la curva de calibración es lineal y las diluciones - pueden ser hechas con precisión las absorbancias estarán en un rango donde el instrumento puede registrarlas más exacta - mente. Para los tejidos con concentraciones muy bajas de -

nitrógeno, el analista puede evitar referirse a la parte final de la curva usando 100 mg de muestra, diluyendo el digerido a 100 ml en lugar de 250 ml, o usando grandes volume--nes del digerido o por las combinaciones apropiadas de es--tas variables. El método es igualmente adecuado para los -tejidos frescos y los tejidos destilados. Si se hacen mar--cadas variaciones de las condiciones de estado, tal como el uso de grandes muestras, o el uso de más ácido sulfúrico pa--ra la digestión el análisis determinará la cantidad neces--ria de la solución A bajo estas circunstancias para el con--trol adecuado del pH final para obtener los resultados más--precisos.

5.8 DETERMINACION DE SELENIO

Un método para la medición de las cantidades (submicrogramos) de selenio en las plantas, basado en la fluorescencia del piazselenol formado en la reacción de la selenita - con el 2,3-diaminonaftaleno (182), es ahora primera recomendación oficial, secs. 3.074-3.078 de la ref. (177). El método espectrofotométrico, basado en la absorción del piazselenol a 380 nm, fue desarrollado por Lott et al. (141) - -- quien lo usó para medir el selenio en la orina y en algunos productos químicos. El método espectrofotométrico (179) es considerablemente menos sensible que el método fluorométrico, el método anterior puede simplificarse por estudios donde el envenenamiento de selanio es un problema y donde la planimetría de las tierras para el cultivo contienen niveles tóxicos del elemento (sobre 5 ppm aproximadamente) requiere extensivos análisis de las plantas (180).

5.8.1 METODO

APARATOS

(a) Unidad de digestión micro Kjeldahl con tubo de vidro para los vapores. Unir al aspirador de vidrio y usar en una campana para los vapores.

(b) Espectrofotómetro. Beckman DU.

(c) Baños de agua. A 50° C y ebullición.

REACTIVOS

(a) Solución de hidroxilamina-ácido etilendiaminotetracético (EDTA). Agregar NH_4OH 5 N a 2 g de EDTA (forma ácida) lentamente y con agitación hasta que el EDTA se disuelva. (No es peligroso el exceso de NH_4OH). Disolver 6 g de $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en 100 ml de agua aproximadamente, combinarla con la solución de EDTA, y diluir a 250 ml con agua.

(b) Indicador de rojo cresol. Disolver 0.01 g de rojo cresol por la adición de unos ml de agua y 1 gota de la solución de NaOH al 50%. Diluir a 50 ml con agua.

(c) Solución estándar de selenio. 4.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Agregar 10 ml de HNO_3 concentrado a 40.0 mg de Se (pureza $\geq 99\%$) y calentar para disolver. Diluir a 100 ml con agua. Pasar 10.0 ml a un matraz micro Kjeldahl de 30 ml, agregar una bolita de vidrio y 2 ml de HClO_4 (al 70%), y llevar a ebulli-

ción lentamente hasta que aparezcan los vapores de HClO_4 . - Enfriar, agregar 2 ml de HCl 1 N, y calentar 30 min en un baño de agua hirviendo. Transferir a un matraz volumétrico de vidrio de 1 lt con tapón, adicionar 10 ml de HCl concentrado, y diluir hasta completar el volumen con agua. La solución es estable por varias semanas a la temperatura ambiente.

(d) Solución de 2,3-diaminonaftaleno (DAN). Preparar antes de usar, en un cuarto semioscuro o en un cuarto con luz amarilla. Agregar de 2-3 gotas de HCl 1 N a 100 mg de DAN y mezclar bien para humedecer. Agregar 5 ml más de HCl 1 N, agitar bien, y diluir a 50 ml con agua. Extraer agitando vigorosamente con 10 ml de ciclohexano en un embudo de separación de 125 ml con válvula de Teflón y tapón, y desechar el ciclohexano. Agitar de nuevo con 10 ml de ciclohexano y filtrar la capa acuosa a través de un papel filtro saturado con agua, de nuevo desechar el ciclohexano. Para determinaciones > 9, preparar grandes cantidades.

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Moler las muestras secadas al aire de modo que las par

tículas pasen a través del tamiz No. 18 o fino. Cortar finamente las muestras frescas o húmedas con tijeras o cuchillo, o moler en el tajador de alimentos para asegurar una muestra representativa.

Algunas plantas (ej., *Astragalus bisulcatus*, *A. racemosus*, *Stanleya bipinnata*, y *Oenopsis condensata*) contienen Se en forma volátil que es pérdida durante el secado. Analizar estas plantas sin secado. Con las usuales cosechas agrícolas, esto no es un problema si es realizado el secado a 60-70° C; sec. 3.076 de la ref. (177).

DETERMINACION

Pesar muestras ≤ 1 g (en base seca) que contengan de 2-30 μ g de Se en el matraz micro Kjeldahl de 30 ml. Agregar 1 bolita de vidrio y 10 ml de HNO_3 . (Si la mezcla reposa por 4 hrs a la temperatura ambiente, la espuma al principio de la digestión debe reducirse: esto no es esencial si se tiene cuidado al calentar hasta que la espuma descienda). Digerir alrededor de 10 min a bajo calentamiento en la unidad de digestión micro Kjeldahl. Enfriar hasta que la reac

ción vigorosa disminuya y agregar 2 ml de HClO_4 o hasta que el digerido empiece a oscurecerse. En el último caso, quitar el matraz de la unidad de digestión, dejar enfriar, agregar 2-3 ml de HNO_3 , y continuar calentando. En cada caso, calentar de 15-20 min transcurrida la aparición de los vapores de HClO_4 . Enfriar, agregar 2 ml. de HCl 1 N, mezclar, y colocar 30 min en el baño de agua hirviendo. Enfriar a la temperatura ambiente.

Preparar el "blanco" por la adición de 2 ml de HClO_4 al matraz micro Kjeldahl. Preparar el estándar en duplicado por la adición de 5.0 ml de la solución de Se y 2 ml de HClO_4 a los 2 matraces micro Kjeldahl. A todos los matraces agregar 5 ml de la solución de $\text{NH}_2\text{OH-EDTA}$ y 2 gotas del indicador de rojo cresol. Agregar gota a gota el NH_4OH 5 N hasta color amarillo (si se ha agregado mucho, el color de amarillo a púrpura) y entonces agregar gota a gota el HCl 1 N hasta color rosa. A partir de este punto, trabajar en un cuarto semiobsuro o en un cuarto equipado con luz amarilla únicamente. Agregar 5 ml de la solución de DAN. Preparada recientemente a cada matraz. Mezclar y colocar los matraces 30 min en un baño de agua a 50°C . Quitar los matra

ces y enfriarlos a la temperatura ambiente. Agregar 10.0 ml de ciclohexano. En este punto, los matraces no serán llenados más allá del cuello y estarán disponibles para agitarlos sin taparlos. Agitar vigorosamente de 10-15 seg. Repetir la agitación 3 veces, dejar reposar los matraces unos minutos después de cada agitación. Agregar agua para llevar ciclohexano a un tubo Pyrex de 10 mm y leer inmediatamente a 378 nm (ancho de la abertura de 0.06 mm) en el espectrofotómetro ajustado a absorbancia 0 vs ciclohexano.

Corregir todas las lecturas para el "blanco" y calcular el selenio contenido en las muestras por medio de la ecuación siguiente;

$$\text{ppm de Se} = (\text{OD}_u / \text{OD}_s) \times (20 / W)$$

donde 20 = μg de Se en el estandard;

OD_u y OD_s = las absorbancias corregidas para la muestra a determinar y el estandard, respectivamente; y

W = g de la muestra.

5.8.2 RESULTADOS

El espectro de absorción parcial para el piasselenol - en el ciclohexano es mostrado en la Fig. 16. Esto concuerda muy bien con lo que obtuvo Parker y Harver (182), y se eligió para usarse un máximo de 378 nm.

Una curva de calibración típica es mostrada en la Fig. 17. En este ejemplo, la pendiente calculada (210) es de -- 0.0340 y la intercepción en Y es de - 0.0006. El valor para 36 μg se omitió haciendo este cálculo, ya que la línea se curva para las absorbancias arriba de 1.0. Los análisis con valores mayores de 1.0 serán repetidos con muestras más pequeñas. El radio promedio de μg de selenio: el valor de la absorbancia y su desviación estándar por 20 μg fue, en esta instancia, 29.4 ± 0.6 , pero esto varía entre los -- conjuntos de determinaciones y debe ser analizado un estándar con cada conjunto.

La recuperación promedio de selenio selenita agregado a varios materiales de plantas fue del 98% (ver Tabla 52). En un caso (aceite de soya), se hicieron 5 determinaciones-

en días separados sobre un período de 3 semanas. En todos los otros casos, los resultados son el promedio de 2 determinaciones hechas en diferentes días.

5.8.3 DISCUSION Y RECOMENDACION

Para concentraciones de 1.02-20 μg de selenio se obtuvo una línea recta en la absorbancia (fig 17), y varias pruebas han presentado que éste es el caso hasta una absorbancia de 1.0 (30 μg de selenio aproximadamente). Sobre ese límite, sin embargo, la línea se curva y cuando se obtiene un valor de la absorbancia superior a 1.0, el análisis deberá repetirse con una pequeñísima muestra. El método puede adaptarse a otros espectrofotómetros, pero no siempre puede obtenerse una línea recta. En estas investigaciones, por ejemplo, el espectrofotómetro Coleman Modelo 6/20A dio un creciente μg de selenio: la relación de la absorbancia sobre el rango completo de concentraciones hasta de 40 μg de selenio y, en esta situación, es necesario graficar una curva de calibración o usar un estándar de la misma concentración de selenio aproximadamente como la de la muestra a de-

terminar. Usando el procedimiento anterior, el Coleman Modelo 6/20A ha dado excelentes resultados que están en acuerdo con los obtenidos con el Beckman DU.

La reproductibilidad de los resultados fue satisfactoria. Los resultados de los análisis hechos paralelamente en un único conjunto de determinaciones fueron menos variables que los obtenidos analizando una muestra en 5 diferentes tiempos en un período de varias semanas y no fueron muy variables que los obtenidos analizando alícuotas de un predigerido. Otros datos no reportados, sin embargo, apuntan hacia la conveniencia de usar el procedimiento de predigestión donde el error de muestreo pudo ser grande. Es de importancia, también, en el caso de los materiales que contienen más de 100 ppm de selenio.

Para muestras que contienen arriba de 1 ppm de selenio, la concordancia entre los resultados de los métodos fluorométrico y espectrofotométrico fue excelente. Los datos son un poco engañosos para valores abajo de 2 ppm ya que, mientras parece ser que hay absolutamente buena concordancia para los resultados por los 2 métodos, la conformidad

entre las determinaciones dobles por el método espectrofotométrico no fueron buenas. A menos que una muestra contenga menos de 2 ppm del elemento deberá ser reportado como que contiene < 2.0 ppm. La razón para los resultados insatisfactorios a bajas concentraciones del elemento no es clara, pero puede ser, en parte, al resultado de las sustancias no conocidas en los digeridos que son al menos algo solubles en el ciclohexano y que absorben a 378 nm. Para grandes concentraciones de selenio éstas son aparentemente de pequeñas consecuencias.

El ciclohexano es algo volátil, y la lectura en el espectrofotómetro serán hechas sin demora. Esto y la sensibilidad a la luz del DAN y el piazselenol hacen esencial que, una vez que el reactivo DAN ha sido preparado, el análisis se procederá sin demora. El estudio a presentado que, si son tomadas las precauciones para prevenir la volatilización del ciclohexano, las lecturas del espectrofotómetro son esencialmente iguales para períodos de al menos 1 hr en el cuarto semioscuro.

Este método es muy similar al método fluorométrico pa-

ra plantas, pero en algunas situaciones tiene ventajas. Es tal vez más útil para materiales de plantas de altas concentraciones de selenio, tal como las encontradas en donde el envenenamiento de selenio es un problema. El método requiere un espectrofotómetro, la mayoría de los laboratorios lo tienen y que tal vez no tendrían un fluorómetro. El método es razonablemente simple y requiere una única transferencia y muy poco material de vidrio. Porque de la simplicidad de la extracción del piazselenol sería más realmente adaptable al análisis rutinario de un gran número de muestras.

CAPITULO VI

PATATAS

6.1 DETERMINACION DE ARSENICO POR EL METODO DE EXTRAC--
CION Y REDUCCION DEL ACIDO MOLIBDOARSENICO

Una modificación del procedimiento de Akkseew (138) descrita por Wadelin y Mellon (225) para la separación del fósforo previa a la determinación del arsénico. El molibdato de sodio en ácido clorhídrico es agregado a una solución -- que contiene iones fosfato y arseniato para formar los respectivos ácidos molíbdicos. Sucesivas extracciones de la solución con una mezcla de 1-butanol-cloroformo para quitar la interferencia del fósforo como ácido molibdofosfórico. - El arsénico es entonces removido como ácido molibdoarsénico por la extracción con el butanol, el cual es determinado espectrofotométricamente. El método no es completamente sensible lo bastante para determinar las trazas del arsénico.

En esta investigación, el método de Wadelin y Mellon - es usado para separar el fósforo y el arsénico contenidos en una solución ácida de patata, el tejido es incinerado --

con óxido de magnesio. Una solución de ácido sulfúrico-alcohol etílico es entonces agregada al 1-butanol seguida por una solución de cloruro estannoso en alcohol etílico que reduce el ácido molibdoarsénico al heteropoli azul. Se hace entonces la medida espectrofotométrica del color azul a 740 $m\mu$.

6.1.1 METODO

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

(0 a 50 γ de arsénico). Pipetear alícuotas de 0,2,4,6, 8, y 10 ml de una solución conteniendo 5 γ de arsénico por ml (prepararla por la dilución de una solución patrón de arsénico, p. 397 de la ref. (174) en una serie de embudos de separación de 250 ml. Agregar agua para completar el volumen total a 50 ml. Tratar cada muestra separadamente como se describe a continuación. Agregar 25 ml de una solución de ácido clorhídrico 2 N conteniendo 0.03 g de molibdato de sodio por ml. Vaciar en el embudo 50 ml de la mezcla 1 a 3 por volumen de 1-butanol-cloroformo. Agitar por 30 seg y -

dejar que las capas se separen. Descargar la capa inferior y repetir la extracción con 1-butanol-cloroformo tres veces más descargando la capa inferior cada vez. Agregar exactamente 20 ml de 1-butanol (117° a 118.5° C) a la solución acuosa y agitar por 30 seg. Después que las capas se han separado descargar la capa acuosa inferior y drenar la capa de 1-butanol en un matraz Erlenmeyer de 50 ml. Agregar exactamente 2 ml de una solución de ácido sulfúrico 12 N en alcohol etílico al 95% y mezclar. Agregar 0.5 ml de una solución conteniendo 2 mg de cloruro estannoso dihidrato por ml de alcohol etílico. Tapar y mezclar. Después de 15 minutos, medir la absorbancia a $740 \text{ m}\mu$ usando una celda de 1 cm con 1-butanol en la celda de referencia.

6.1.2 ANALISIS DE LAS PATATAS

El método de Evans y Bandemer (65) es usado para la ignición del tejido de la papa con el nitrato de magnesio. Quitar la tierra, etc., de la superficie de los tubérculos que pueden contener arsénico. Mezclar completamente una muestra representativa de las patatas en su propio líquido.

Doblar un disco de 12.5 cm de diámetro de papel pergamino vegetal como para filtrar. El segundo doblar deberá, sin embargo, ser hecho tal que el cono ajuste dentro del crisol y no salga la punta. Doblar la punta del cono y ajustar el cono truncado en un crisol de porcelana coors No. 4. Entonces doblar un disco similar de papel filtro Whatman No. 40 y ajustarlo dentro del disco de pergamino. Pesar en el papel filtro 15 g de tejido de papa del mezclador. Mezclar suficiente tejido tal que la muestra pueda ser tomada mientras el mezclador esta operando. Esto previene la separación del sólido y líquido en la muestra. Agregar 7 ml de la solución saturada de nitrito de magnesio y mezclar bien con el tejido usando una fina varilla de agitación. Para los estudios de recuperación, se agrega también una alícuota apropiada de la solución estándar de arsénico y se mezcla. Lavar cualquier tejido restante en la varilla de agitación en el papel filtro con unas gotas de agua. Evaporar a sequedad en un baño de vapor. Incinerar en un horno de mufla (al principio frío), elevando lentamente la temperatura a 600° C, y calentar toda la noche a esta temperatura. Después de este período de incineración se obtiene una ceniza blanca.

Humedecer las cenizas con agua y agregar suficiente solución de ácido clorhídrico 4 N para justamente disolverlo. Agregar el ácido gota a gota con agitación intermitente, se requieren 12 ml aproximadamente. Transferir cuantitativamente la solución a un matraz volumétrico de 50 ml. Ajustar el pH de la solución entre 5 y 9 con hidróxido de sodio 1 M. Completar el volumen con agua y mezclar. Pipetear una alícuota de 25 ml de esta solución de un embudo de separación de 250 ml y agregar 25 ml de agua. Proceder como en la preparación de la curva de calibración.

6.1.3 RESULTADOS Y DISCUSION

La temperatura fue elevada lentamente a 600° C en un período de 4 a 5 hrs y los crisoles fueron enfriados lentamente después de la ignición.

Si se usa el procedimiento de Wadelin y Mellon, la alícuota de la solución de las cenizas no puede contener más de 2 mg de fósforo. En el procedimiento de arriba los volúmenes de los reactivos son incrementados por un factor de -

2.5 en orden a que una porción muy grande, 25 ml, de la solución de la muestra puede ser tomada. El límite superior para el fósforo que puede ser removido es, por lo tanto, -- 5 mg. Se obtuvo una absorbancia de 0.123 cuando la extracción de 6 mg de fósforo fue intentada en la ausencia del arsénico. Wooster (138) dio el contenido aproximado de fósforo de las patatas blancas, no manufacturadas, como 56 mg -- por 100 g. Por lo tanto, una alícuota de 25 ml de la solución de las cenizas representa 7.5 g de patata o aproximadamente 4.2 mg de fósforo.

Cuatro extracciones con 1-butanol-cloroformo son necesarias para remover virtualmente todo el fósforo. Una absorbancia de 0.016 (Tabla 53) fue obtenida cuando una solución conteniendo 5 mg de fósforo fue extraída cuatro veces con 1-butanol-cloroformo. La absorbancia fue de 0.041 cuando fueron usadas solamente tres extracciones. Tres extracciones son suficientes si se determinan cantidades muy grandes de arsénico como en el procedimiento de Wadelin y Me---llon.

La mezcla de ácido sulfúrico-alcohol etílico disuelve-

las gotitas de agua que dan una solución azul clara. El uso de un volumen pequeño de ácido sulfúrico-alcohol etílico y cloruro estañoso disuelto en el alcohol etílico es una adaptación del procedimiento de Clarck y Lindsay (138) para determinar el fósforo en las soluciones de tierra después de la extracción del ácido molibdofosfórico con una solución de benceno-alcohol isobutílico (151). La solución de cloruro estannoso en el alcohol etílico deberá ser preparada mensualmente.

Un espectrofotómetro Beckman DU con un slit de 0.03 mm fue usado para medir la absorbancia. La formación del color no es completa hasta 12 minutos después de la adición de la solución de cloruro estannoso. El color azul es estable por al menos 24 horas. Muchos alcoholes etílicos al 95% causan inestabilidad del color en la determinación del fósforo (132). El U.S. grado industrial no causó inestabilidad del color en la determinación del arsénico.

La relación entre la absorbancia en la presencia y ausencia del arsénico y la concentración del ácido sulfúrico en la solución de 1-butanol es presentada en la Fig. 18.

En la presencia del arsénico la absorbancia es constante -- cuando la concentración del ácido sulfúrico está entre 0.2- y 0.8 M. Altas concentraciones causan un decrecimiento en la absorbancia. Los resultados de Berenblum y Chain (25) -- con el fósforo en la solución acuosa son algo similares. -- La concentración del ácido sulfúrico en 1-butanol en este -- procedimiento es de 0.54 M. El control de la absorbancia -- es muy pequeña a esta acidez.

La absorbancia del color azul fue medida y es constante cuando la solución de 1-butanol está entre 0.05 y 2.0 mM con un color verde que pronto se torna azul. La concentración del ión estannoso en este procedimiento es de 0.2 mM.

El espectro de absorción del heteropoli de color azul-- a dos concentraciones de arsénico es presentada en la Fig.-- 19. El máximo ocurre a 740 $m\mu$. La curva de calibración es muy reproducible. El método detectará aproximadamente 1 μ -- de arsénico usando una celda de 1 cm.

Lampitt y Goldenberg (132) encontraron que el silicón-- contenido en las patatas forma un rango entre 7.7 y 58.7 --

ppm. Por lo tanto es posible tener de 60 a 440 γ aproximadamente de silicón en 7.5 g de patata representados en este procedimiento. El método fue usado para recuperar el arsénico en la presencia del fósforo y del silicón en soluciones sintéticas de 50 ml. El fósforo estuvo como fosfato diácido de potasio y el silicón como metasilicato de sodio. La cantidad agregada de silicón representa aproximadamente el límite encontrado por Lampitt y Goldenberg (132). La Tabla 53 presenta la cantidad de arsénico no corregida por el "blanco" que fue recobrado en cada estudio.

La presencia de 5 mg de fósforo causa un pequeño incremento en la absorbancia. La interferencia por el silicón es más seria especialmente a la concentración de 450 γ . Esta interferencia puede ser minimizada por el procediendo a través de la formación del color con cada muestra tan rápidamente como sea posible después de la adición del reactivo de molibdato (225). El uso de una mezcla 1 a 1 en volumen de 1-butanol y acetato de etilo en lugar de 1-butanol para la extracción del ácido molibdoarsénico es más selectiva en la presencia del silicón (Tabla 53). El espectro de absorción y la curva de calibración del heteropoli de color a--

zul en 1-butanol-acetato de etilo son idénticos con aquellos en 1-butanol. La misma mezcla de solvente (1-butanol-cloroformo) es siempre usada para quitar el fósforo. La recuperación del arsénico (Tabla 54) es igual de satisfactoria -- cuando se usa el 1-butanol comparada con el 1-butanol-acetato de etilo. Hay cosechas (ciertas grasas, por ejemplo, -- que contienen grandes cantidades de sílica) para las cuales el 1-butanol-acetato de etilo (extractante) puede ser mucho más ventajoso que con las patatas. Para los materiales de las plantas que contienen más de 8 ppm aproximadamente de silicón, deberá usarse, por lo tanto la mezcla de 1-butanol-acetato de etilo.

La recuperación del arsénico agregado al tejido de papa es presentada en la Tabla 54. Se dan los resultados usando el 1-butanol y el 1-butanol-acetato de etilo. El promedio de la recuperación usando la extracción del 1-butanol es del 94.1%. El contenido aparente del arsénico de las papas promedió ligeramente sobre 1 ppm. Esto aconteció, en parte, por la muy grande variabilidad en la recuperación del arsénico en las cantidades abajo de 2 ppm.

CAPITULO VII

LEGUMBRES

7.1 DETERMINACION DE ESTAÑO POR EL METODO QUERCETINA

El estaño ha sido determinado en los alimentos enlatados, a niveles superiores de trazas por los métodos gravimétricos y titrimétricos, p. 380 de la ref. (176); y por varios procedimientos colorimétricos basados en el ditiol - - (183). La morina (3,5,7,2',4'-pentahidroxi flavona) fue introducida por Feigl (67) como un reactivo de prueba de mancha para el estaño, y Coyle y White (43) usaron el flavonal (3-hidroxi flavona) para la determinación fluorométrica de las trazas de estaño. Grimaldi y White (87), determinaron las trazas de circonio colorimétricamente con la quercetina - - (3,5,7,3',4'-pentahidroxi flavona), notaron la gran interferencia causada por el estaño, y sugirieron su posible uso para la determinación de ese metal. Liska (139) describió un método en el que la quercetina fue usada para la determinación de pequeñas cantidades de estaño en las aleaciones de cobre. Lyaskovskaya y Krasil'Nikova (145) adaptaron el método de Liska para la determinación del estaño en los ali

mentos, y más tarde, en la carne enlatada (146), y compararon los métodos de quercetina y ditiol.

Se ha examinado críticamente la aplicabilidad del método de Lyaskovkaya y Krasil'nikova a los alimentos enlatados y, con alguna modificación, se ha encontrado que es aplicable para el rango de 10 a 500 ppm de estaño. La técnica desarrollada se describe a continuación (120).

7.1.1 FACTORES QUE AFECTAN AL ESTAÑO (FORMACION DEL COMPLEJO DE QUERCETINA)

La quercetina es un sólido amarillo que, cuando es agregado en solución etanólica a una solución acidificada de estaño (IV), produce un color brillante amarillo-naranja. La Fig. 20 muestra el espectro de absorción del complejo y de la quercetina. El complejo de estaño tiene una absorción máxima a 437 nm, y esta longitud de onda fue usada para todas las lecturas subsecuentes de absorción. Se estudiaron los factores que afectaron las condiciones óptimas para la formación del complejo.

La quercetina y su complejo de estaño coloreado son solubles en etanol acuoso al 50%, pero la quercetina no permanece disuelta en etanol más diluido. El efecto de la concentración de la quercetina en 50 ml de solución conteniendo estaño está indicado en la Fig. 21. Entre 4 y 6 ml de una solución al 0.2% de quercetina en etanol dio una respuesta óptima de color, correspondiendo, en la ausencia de estaño, a una extinción de precisamente bajo 0.4 en una celda de 4 cm. Como la quercetina es insoluble en solución alcalina, las soluciones de la muestra ácida y la oxidación húmeda requieren de cuidadosa neutralización antes de ajustar a una acidéz standard. Esto fue logrado por Karvanek, Zurda y Miller (114) controlando la cantidad de ácido usado en el proceso de la digestión, evitando así la neutralización. El volumen final de la solución de la digestión de la muestra concentrada fue ajustado a 5.0 ml con ácido sulfúrico concentrado; ésto requiere de considerable destreza experimental. La técnica de neutralización descrita en esta sección, sin embargo, ha probado ser satisfactoria y relativamente simple. Se encontró que la solución de carbonato de sodio es el álcali más satisfactorio para la neutralización, dando resultados más consistentes que la solución amo

61060

400282

niacal; el hidróxido de sodio también dio resultados erráticos, indicando así posibles efectos de hidrólisis. El 2,4-dinitrofenol es un indicador apropiado para este propósito, es incoloro a un pH inferior a 2 y amarillo a un pH superior. El resultado de variar la cantidad de ácido clorhídrico agregada a la solución neutralizada se ilustra en la Fig. 22, - que muestra que son necesarios entre 4 y 6 ml de ácido clorhídrico 2.5 N para la formación del color óptimo en 50 ml de solución. Las soluciones neutralizadas dejadas reposar por 20 minutos antes de comenzar la reacidificación dieron resultados significativamente inferiores.

La formación del complejo coloreado fue substancialmente completa después de 15 minutos, con ningún cambio posterior después de 30 minutos. Las soluciones de quercetina y la de su complejo de estaño se encontró que son estables, - una disminución de solamente 0.02 unidades de extinción en una celda de 4 cm ocurre después de 3 días. Después de 5 días, la solución patrón de quercetina dio una lectura ligeramente inferior del reactivo "blanco" durante la prueba, - pero no sufrió pérdidas de sensibilidad.

Una gráfica de calibración, preparada bajo las condiciones óptimas, siguió la ley de Beer sobre el rango útil - de 0 a 50 μg de estaño ($E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2250$ a 437 nm). Para la determinación, la concentración del estaño se conserva dentro de este rango tomando alícuotas de 2.0 ml de las diluciones de 50 ml de las muestras digeridas. Mayores alícuotas causan opalescencia en la formación del color por el incremento de la concentración de la materia orgánica en la mezcla etanólica.

7.1.2 PREPARACION DE LA SOLUCION DE LA MUESTRA

Para evitar el riesgo de la formación del estaño insoluble por la incineración en seco, las muestras de los alimentos enlatados son preparados por el análisis de la oxidación húmeda con los ácidos nítrico y sulfúrico. Cuando los matraces de sílica son usados con un mechero tipo Meker para incrementar la velocidad de oxidación, unos 5 g de muestra de carne pueden ser digeridos en 15 minutos.

7.1.3 METODO

REACTIVOS

Acido nítrico, densidad relativa de 1.42. Grado reactivo.

Acido sulfúrico, densidad relativa de 1.84. Grado -- reactivo.

Solución de 2,4-dinitrofenol, al 0.1% en etanol acuoso al 50%.

Solución de carbonato de sodio, al 10% peso/V, acuosa.

Acido clorhídrico, 2.5 N.

Tiourea, solución acuosa saturada.

Quercetina, al 0.2% peso/V en etanol.

Etanol, al 95%.

PROCEDIMIENTO

Transferir una muestra pulverizada de peso conocido, que contenga no más de 1000 μg de estaño, a un matraz de digestión de sílica. Agregar 5 ml de ácido sulfúrico concentra-

do. Mantener la mezcla en ebullición vigorosa. La carbonización comienza inmediatamente. Agregar pequeñas cantidades de ácido nítrico concentrado. Continuar la oxidación de esta manera hasta que la carbonización cese y entonces llevar a ebullición hasta que aparezcan los vapores blancos del trióxido de azufre. Enfriar la mezcla. (Si se usan los matrazes de sílica éstos son afectados instantáneamente por la inmersión en el agua fría). Agregar 20 ml de agua y pasar la solución oxidada cuantitativamente a un matraz calibrado de 50 ml. Completar con agua hasta la marca y mezclar. Con la pipeta, introducir 2.0 ml de esta solución en otro matraz calibrado de 50 ml y agregar 0.2 ml de la solución de 2,4-dinitrofenol. Agregar la solución de carbonato de sodio al 10%, gota a gota con agitación continua del matraz, hasta que aparezca el color amarillo. Suprimir este color por la adición gota a gota del ácido clorhídrico 2.5N e inmediatamente agregar 5.0 ml de ácido. Agregar 3 ml de la solución de tiourea y 5.0 ml del reactivo de quercetina, y también 25 ml de etanol; diluir con agua a 50 ml y mezclar. Después de 30 minutos, medir la extinción en una celda de 4 cm a 437 nm contra una solución del reactivo "blanco" obtenida de la misma manera que la muestra; se prefieren las-

celdas de 2 cm si la concentración de estaño es grande. De una gráfica de calibración determinar la cantidad de estaño en el peso tomado de la muestra.

CONSTRUCCION DE LA GRAFICA DE CALIBRACION

Preparar una solución estándar de estaño disolviendo 0.0500 g de estaño puro en 50 ml de ácido sulfúrico concentrado en ebullición. Enfriar y agregar cuidadosamente esta solución a 120 ml de agua, con ulteriores enfriamientos, y transferir a un matraz calibrado de 200 ml; completar con ácido sulfúrico al 25% hasta la marca (1 ml de solución = 250 μ g de estaño). A una serie de matraces de digestión — que contengan 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y 10 ml de ácido nítrico concentrado, agregar 0, 1.0, 2.0, 3.0, y 4.0-ml de la solución estándar de estaño. Llevar a ebullición hasta que el ácido nítrico sea expulsado y aparezcan los vapores blancos. Enfriar, agregar 20 ml de agua y proceder con la formación del color exactamente como se describió antes. Construir la gráfica de calibración relacionando la extinción a los microgramos de estaño.

7.1.4 RESULTADOS Y DISCUSION

Las recuperaciones del estaño agregado a las muestras de los frijoles en salsa de tomate son presentadas en la Tabla 55. Las bajas recuperaciones del estaño se obtuvieron cuando la concentración del estaño por matraz excedió los $1000 \mu\text{g}$. Esto pareció ser causado por la condensación del estaño, bajo la influencia del ácido nítrico, a ácido metatánico. Cuando se encuentran más de $2000 \mu\text{g}$ de estaño se manifiesta con frecuencia una opalescencia, se aconseja rechazar las soluciones de la digestión que no son claras y brillantes y usar una muestra más pequeña para la oxidación.

El efecto de las sustancias en la cenizas húmedas del alimento, que pueden interferir, fueron examinadas. El hierro a una concentración correspondiente a una contaminación grande del alimento (10000 ppm) es efectivamente anulado por la adición de la tiourea. Ninguna dificultad se experimentó con las muestras que contenían hasta 300 ppm de cobre cuando las condiciones indicadas del pH eran seguidas. Las concentraciones normales de los iones de sulfato y nitrato resultantes de la oxidación húmeda no presentaron efectos -

en el color del complejo, pero ocurre una disminución del color con las muestras que contienen fosfato (como P) en exceso de 500 mg por 100 g. Esta dificultad puede evitarse tomando una fracción más pequeña para el análisis.

La Tabla 36 presenta los resultados para la determinación del estaño en tocino y frijoles enlatados, y en cecina de res, por el método de quarcetina y el de ditiol, y confirman el descubrimiento de Lyaskovskaya y Krasil'Nikova que los dos métodos dan resultados comparables.

El análisis de 6 muestras de un producto de carne o alimentos enlatados para las trazas de estaño puede hacerse en 3 1/2 horas por este método cuando los matraces de sílica son usados para la oxidación húmeda.

CAPITULO VIII

VEGETALES

8.1 DETERMINACION DE ESTAÑO POR EL METODO DE DITIOL DE-
ZINC

Como el estaño puede estar presente en la materia orgánica, particularmente en los productos alimenticios, sobre un amplio rango de concentraciones, fue requerido un método para determinar las cantidades superiores a $30 \mu\text{g}$. En consecuencia, se investigó un método colorimétrico involucrando el uso del complejo de zinc del tolueno 3,4-ditioi. Este método ha sido encontrado satisfactorio, y es recomendado para la determinación del estaño de 15 ppm hacia arriba (12).

El método (para cantidades de estaño de 30 a $150 \mu\text{g}$) - recomendado está basado en la modificación del método de Clark (38,39) propuesta por Ovenston y Kenyon (116,181). El lauril sulfato de sodio es usado como agente de dispersión para prevenir la coagulación del complejo rojo de ditioi-estaño.

8.1.1 METODO RECOMENDADO

Para cantidades de estaño en la materia orgánica de 30 a 150 μg .

PRINCIPIO DEL METODO

La materia orgánica en la muestra es destruida por la oxidación húmeda con los ácidos nítrico y sulfúrico; con -- los ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico (7); o con peróxido de hidrógeno al 50% peso/v (libre de estaño) y ácido - sulfúrico (11). El residuo es diluido con agua y extraído con una solución de ditizona en tetracloruro de carbono para quitar el cobre presente. La solución acuosa se deja en tonces reaccionar con el ditiol de zinc en la presencia del ácido tioglicólico, y el lauril sulfato de sodio, que actúa como un agente de dispersión para el complejo de ditiol-estaño. La extinción de la suspensión de color rojo es medida a 535 $m\mu$.

RANGO

La alícuota tomada de la solución de la muestra deberá contener entre 30 y 150 μg de estaño.

REACTIVOS

Todos los reactivos deberán ser de grado reactivo y — analítico a no ser que se especifique otra cosa.

Solución de ditizona. Preparar una solución al 0.02%— peso/V en tetracloruro de carbono. Esta solución deberá — ser preparada recientemente o almacenada en el refrigerador.

Solución de lauril sulfato de sodio. Preparar una solución acuosa al 1% peso/V usando el lauril sulfato de sodio— de grado B.P.

Acido sulfúrico, al 20% V/V. A 50 ml de agua agregar— cuidadosamente 20 ml de ácido sulfúrico concentrado (densi— dad relativa de 1.84). Enfriar y diluir a 100 ml.

Solución patrón de estaño. Disolver 0.100 g de estaño granulado puro en 20 ml de ácido sulfúrico (densidad relativa

va de 1.84) calentando hasta que aparezcan los vapores. Enfriar, diluir cuidadosamente con 150 ml de agua, y enfriar otra vez. Agregar 65 ml de ácido sulfúrico (densidad relativa de 1.84), enfriar de nuevo, y transferir a un matraz calibrado de 500 ml. Diluir a la marca con agua.

Solución estándar de estaño. Diluir 10 ml de la solución patrón de estaño a 100 ml con agua. Prepararla diariamente. (1 ml de la solución \equiv 20 μ g de estaño).

Ditiol de zinc. Disolver 0.2 g de ditiol de zinc en la solución de hidróxido de sodio al 1% conteniendo unas gotas de etanol. Agregar 1 ml de ácido tioglicólico y diluir a 100 ml con la solución de hidróxido de sodio al 1%. Prepararla inmediatamente antes de usarla.

PROCEDIMIENTO

Destruir la materia orgánica en una cantidad apropiada de la muestra por la oxidación húmeda con los ácidos sulfúrico y nítrico (usar cualquiera de los métodos A-D sin la "Continuación de los Métodos", pp. 49-52); con los ácidos -

sulfúrico, perclórico y nítrico (usar cualquiera de los métodos A-D con la "Continuación de los Métodos", pp. 49-52); o con el ácido sulfúrico y el peróxido de hidrógeno al 50% peso/V (usar el procedimiento de la "Incineración de la Muestra" de la sec. 4.6.5, p. 247). Cuando sea terminada la oxidación, diluir la solución con 10 ml de agua y llevar a ebullición lentamente hasta que aparezcan los vapores. Transferir la solución final clara a un matraz calibrado de tal volumen que la solución diluida contenga no más que el equivalente de 4 ml de ácido sulfúrico concentrado por 100 ml.

Transferir, por la pipeta, 20 ml de esta solución conteniendo entre 30 y 150 μg de estaño en un embudo de separación, agregar 5 ml de la solución de ditizona, y agitar el embudo. Dejar que las capas se separen, y descargar la capa inferior de ditizona. Continuar la extracción con porciones sucesivas de 5 ml de la solución de ditizona hasta que los extractos permanescan de color verde. Lavar la solución acuosa con 2 porciones sucesivas de 5 ml de tetracloruro de carbono, y descargar los lavados.

Transferir la fase acuosa a un matraz calibrado de 20-

ml y agregar ácido sulfúrico al 20%, tal que la solución final contenga el equivalente entre 0.7 y 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Agregar 1 ml de la solución de lauril sulfato de sodio, mezclar, y entonces agregar 1 ml del reactivo de ditiol de zinc.

Diluir a la marca con agua, mezclar completamente, y sumergir en un baño de agua hirviendo por 1 minuto exactamente. Dejar enfriar la solución a la temperatura ambiente por 20 a 30 minutos, y entonces medir la extracción de la solución a una longitud de onda de 535 $m\mu$, usando celdas de 1 cm con una solución del reactivo "blanco" en la celda de comparación.

Leer el número de microgramos de estaño equivalentes a la extinción observada de una gráfica de calibración preparada previamente.

PREPARACION DE LA GRAFICA DE CALIBRACION

Transferir alícuotas de la solución estándar de estaño para cubrir el rango de 30 a 150 μg de estaño a una se-

rie de matraces calibrados de 20 ml. Agregar 5 ml de ácido sulfúrico al 20%, mezclar, y proceder como se describió arriba empezando en "Agregar 1 ml de la solución de lauril - sulfato de sodio..."

Medir las extinciones de las soluciones, y construir una gráfica relacionando las extinciones al número de microgramos de estaño.

8.1.2 RESULTADOS

Se decidió probar el método llevando a cabo un estudio colaborativo con una muestra de zanahorias secas. Cada laboratorio llevó a cabo una serie de experimentos de recuperación agregando cantidades conocidas de estaño a la muestra antes de la oxidación húmeda. El estaño fue agregado como alícuotas de una solución estándar de estaño. Los resultados obtenidos son presentados en la Tabla 56. El laboratorio B solo llevó a cabo algunos experimentos de recuperación en los cuales se usó pulpa de fruta. Los resultados obtenidos son presentados en la Tabla 57.

Se encontró que eran obtenidos resultados erráticos si la concentración del ácido en la solución colorimétrica final variaba apreciablemente del equivalente de 1 ml de ácido sulfúrico concentrado en 20 ml de la solución.

Diferentes resultados también fueron obtenidos a menos que la cantidad de ácido nítrico usado para la digestión -- fuera mínima, y todo el ácido nítrico fuera removido del residuo final de ácido sulfúrico.

CAPITULO IX

FRUTAS Y PRODUCTOS DE FRUTAS

9.1 DETERMINACION DE ESTAÑO POR EL METODO DITIOI

Se requirió de un método para los residuos del estaño-abajo de 1 ppm durante la evaluación del hidróxido de triciclohexil estaño para usarse como un insecticida contra los ácaros para las manzanas, peras, y frutas cítricas. Aunque el método trata primariamente con los residuos del hidróxido de triciclohexil estaño en las frutas, el método se ha usado también para los residuos provenientes de otros compuestos que contienen estaño y en las muestras de los tejidos animales como resultado de los análisis toxicológicos de tales compuestos.

El laboratorio experimental expuso al hidróxido de triciclohexil estaño a la luz ultravioleta y observó que el compuesto se degradaba a diciclohexil estaño, monociclohexil estaño, y estaño inorgánico. También se encontró que, cuando la fruta se recolectaba a diferentes períodos después del tratamiento de fumigación, la relación del trici-

clohexil estaño al estaño total decrece con el tiempo. Así que cualquier método para el estaño total producirá resultados exactos en la presencia de cualquiera de las formas anteriores.

La carencia de la especificidad de los reactivos colorimétricos (ditiol, hematoxilina, 8-hidroxiquinolina, y la fenilfluorona) se han citado (66) para indicar la necesidad de una separación eficiente del estaño antes de la medición. La violeta de pirocatequina no está especificada (156,169,-191). El método de destilación (66), que usa una mezcla de HBr y HCl con CO_2 como un gas portador en el matraz de destilación Scherrer, ha sido aplicado con éxito a una gran variedad de materiales. Sin embargo, involucra indudablemente complicados aparatos y requiere de la atención del analista. Ya que la gran mayoría de las muestras biológicas no contienen antimonio o grandes cantidades de otros elementos que interfieren, es posible usar un aparato simplificado para este tipo de destilación. El método de destilación emplea un único matraz para el tratamiento de digestión y el de destilación. Es posible destilar el estaño sin el uso del CO_2 u otro gas. La técnica es así más adaptable a -

la manipulación de muchas muestras.

Una alternativa del método de separación para el estaño es la extracción del yoduro estánnico del H_2SO_4 -KI acuoso con n-hexano. Esta es una separación eficiente de la mayoría de los elementos y usa solamente el aparato simplificado.

Ambas formas de separación del estaño son usadas con el mismo método de medición final, es decir, el método espectrofotométrico de ditiol. Durante un período de tiempo se encontró que el procedimiento es adecuadamente sensible (el límite de detección al menos de 0.2 mg de estaño a una concentración de 3 ppb), preciso (desviación estándar relativa de 0.6%), y adaptable a las mediciones del estaño (sin alícuotas) en cantidades hasta de 4 mg por la selección de un volumen apropiado (50-250 ml) y de una longitud de la celda (1-10 cm). Inesperadamente grandes cantidades de estaño — pueden ser determinadas sin pérdida de la muestra por el ajuste del volumen y las cantidades de los reactivos al tiempo que el color es medido. Otras ventajas son la ausencia de color en la solución del "blanco" (sin estaño) y la rápida

da formación del color sin calentamiento (42).

9.1.1 METODO

REACTIVOS

(a) Acidos. Usar HNO_3 , H_2SO_4 , HCl , y HClO_4 concentrados y de grado reactivo.

(b) Soluciones estandard de estaño. 200 ppm de estaño: Disolver 0.2000 g de estaño puro en 125 ml de HCl . Diluir con agua, agregar 250 ml de H_2SO_4 (3+7), y diluir a 1 lt. 4 ppm de estaño: Diluir 20 ml del estandard de arriba y 500 ml de H_2SO_4 (3+7) a 1 lt con agua.

(c) Acido tioglicólico. Usar el ácido al 98% (mínimo)

(d) Dodecil sulfato de sodio, al 2%. Disolver 20 g -- del material al 95% (de preferencia de grado USP) en agua y diluir a 1 lt; la solución deberá ser clara e incolora.

(e) Tolueno-3,4-ditiol. (Ampolletas de 1 ml). Calentar hasta fundirla, pasarla a un frasco pequeño, y almacenarla en el refrigerador. Ditiol al 0.30%: Pasar 4 gotas -- del reactivo fundido (0.075 g) a un matraz pequeño, agregar

4 gotas del ácido tioglicólico y 10 ml de NaOH al 5%, y agitar para disolver. Diluir con 15 ml de agua y mezclar; la solución deberá ser clara e incolora. Prepararla diariamente.

(f) HCl-HBr (1+2). Mezclar un volumen de HCl concentrado con 2 volúmenes de HBr concentrado.

(g) Yoduro de Potasio, al 20%. Disolver 200 g de KI en agua y diluir a 1 lt.

(h) n-hexano. Grado reactivo; al 95% es satisfactorio si el contenido del residuo no vátil es bajo.

(i) Solución de lavado de ácido-yoduro. Mezclar 3 volúmenes de H_2SO_4 (1+2) diluido con un volumen de KI (al 20%); prepararla en la cantidad que se vaya a usar diariamente.

APARATOS

Limpia el material de vidrio que se vaya a usar con ácido crómico seguido por el HCl concentrado.

(a) Aparato de destilación. (Ver la Fig. 16). Usar matraces Erlenmeyer para la digestión y la destilación y cabeza de destilación con tubo de seguridad. Usar matraces de 250 a 300 ml para las muestras pequeñas, y matraces de -

500 ml para las muestras de fruta de 100 g. Para el análisis de las piezas individuales de fruta, el cuello debe ser de 40/50 para que permitan la inserción de las secciones -- grandes de la muestra con un manejo mínimo de la muestra.

(b) Parrilla. Capaz de proveer una temperatura en su superficie de por lo menos 900° F.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Agregar 1 ml de solución estándar de estaño (4ppm) a un matraz volumétrico de 50 ml y diluir a 20 ml con H_2SO_4 - diluido (15+85). Agregar 3 gotas del ácido tioglicólico y 2 ml de dodecil sulfato de sodio (al 2%). Mezclar, agregar 0.5 ml de ditiol (al 0.30%), y agitar 1 min. Diluir hasta-completar el volumen con agua y mezclar. Transferir una -- porción a una celda de 10 cm y leer la absorbancia a 530 nm vs agua. Repetir el procedimiento usando 5, 10, 15 y 20 ml - de solución estándar de estaño, diluir cada porción a 20 - ml con H_2SO_4 diluido antes de la dilución final a 50 ml. - Graficar la absorbancia vs la concentración que deberá ser-lineal para concentraciones $> 4 \mu g$ de estaño, y con la pen-diente de 0.01 unidad de absorbancias $1 \mu g$ de estaño aproxi-

madamente.

PREPARACION DE LA MUESTRA

Triturar las muestras grandes en mezclador de alimen--
tos, preferentemente de acero inoxidable, que macere las --
muestras sin adicionar estaño (< 0.1 ppm de estaño). Conge--
lar las muestras en bolsas de plástico.

Transferir suficiente muestra congelada o triturada re--
cientemente a un mezclador y llenarlo de la mitad a dos ter--
ceras partes. Homogeneizar completamente la muestra.

PROCEDIMIENTO

Oxidación húmeda. Transferir 100 g de la muestra a un
matraz Erlenmeyer de 500 ml. Agregar de 7-8 g de bolitas -
de vidrio de 4 mm, 125 ml de HNO_3 , y 25 ml de H_2SO_4 . Dejar
reposar de 15-20 minutos con mezclado ocasional; después ca--
lentar a ebullición hasta que aparezcan los vapores. En--
friar lentamente y completar la digestión con la adición de
 HNO_3 (alrededor de 10 ml) y de 1-2 ml de HClO_4 . Enfriar, -

lavar con 75 ml de agua, y mantener en ebullición hasta que aparezcan los vapores. Sostener el matraz con tenazas, agitar de 1-2 minutos sobre la flama del mechero. Las muestras puede ser conservada a este punto sin pérdida de estaño.

SEPARACION DEL ESTAÑO

(a) Destilación. Usar vasos de precipitados de 300 ml de forma alta. Agregar 25 ml de H_2SO_4 diluido y 50 ml de agua al vaso de precipitado; colocarlo en un baño de hielo. Agregar 15 ml de H_2SO_4 y 35 ml de agua al matraz y mezclar. Lubricar las uniones de la cabeza de destilación con H_2SO_4 . Agregar 45 ml de HCl/HBr (1+2) al matraz, unir la cabeza, y mezclar. Colocar el matraz sobre la parrilla precalentada y poner a alto calentamiento con el tubo de conducción delgas sumergido 0.5-1 pulgadas bajo la superficie del agua en el vaso de precipitado. Destilar hasta que los vapores de SO_3 sean visibles y continuar calentando de 4-5 minutos adicionales tal que el H_2SO_4 se refluje sobre la pared del matraz. Poner más abajo el vaso de precipitado bajo la salida del tubo y proceder con la destilación 1 minuto.

Agregar 25 ml de HNO_3 y 3 gotas de HClO_4 al destilado, introducir una barra magnética (para promover una ebullición uniforme), y mezclar. Poner la parrilla en calentamiento medio hasta que la reacción empiece. Calentar a ebullición a velocidad moderada hasta que aparezcan los vapores de SO_3 . Evaporar a alto calentamiento para quitar el HClO_4 y el agua. Enfriar, limpiar con 10-15 ml de agua, quitar entonces la varilla, y evaporar bajo ebullición hasta que aparezcan los vapores. Evaporar el agua; cubrir y poner a alto calentamiento para emitir los vapores vigorosamente por 1 minuto. La solución deberá ser clara y blanca; la solución puede ser retirada.

(b) Separación del estaño por extracción. Agregar 50 ml de agua a la muestra y enfriar. Pasar la solución a un embudo de separación de 250 ml dejando las bolitas de vidrio en el matraz. Lavar las paredes del matraz con 25 ml de KI al 20%, transferirla al embudo, y agitar para mezclar. Lavar el matraz y las bolitas de vidrio con 50 ml de n-hexano; pasar el lavado al embudo. Extraer por 1.5 min, y dejar que las capas se separen. Drenar la capa acuosa en el matraz original. Lavar el hexano con 10 ml de la solución de

H_2SO_4 -KI. Si la solución lavada es de color más intenso -- que el reactivo "blanco" repetir el lavado con una segunda-
porción de 10 ml.

Separar y decantar el hexano de cualquier materia in-- soluble en un vaso de precipitado de 200 ml de forma alta.- Si el digerido original tubo más de una traza de materia in soluble (ejemplo, mucho calcio), o si la adición del KI cau só precipitación, combinar la solución y los lavados en el embudo y extraer una segunda vez con 50 ml de n-hexano. La var una vez o dos veces como en la primera extracción, la-- var el embudo con 5 ml de hexano y combinar el lavado con el extracto.

Agregar 5 ml de HNO_3 y dejar evaporar al hexano sin a- gregar calor. Agregar 4 ml de H_2SO_4 y de 3-4 gotas de $HClO_4$. Cubrir y calentar hasta que el HNO_3 se refluje de la cubier ta de vidrio. Quitar la cubierta y calentar la solución -- hasta que aparezcan los vapores. Evaporar el $HClO_4$; enton- ces evaporar el H_2SO_4 por 1 minuto con el vaso de laborato- rio cubierto. Enfriar, limpiar con 10 ml de agua, y agre-- gar 3 gotas de $HClO_4$. Evaporar bajo ebullición y evaporar--

el agua y el HClO_4 . Cubrir con un vidrio de reloj plano y calentar brevemente para refluja el H_2SO_4 ; la muestra puede ser retirada.

DETERMINACION

Limpiar las paredes del vaso de precipitado de los dos procedimientos de separación con 15 ml de agua y enfriar en un baño de agua. Adicionar 1 ml de la solución estándar de estaño, 3 gotas de ácido tioglicólico, y 2 ml de la solución de dodecil sulfato de sodio y agitar para mezclar. Diluir en un matraz volumétrico de 50 ml, mezclar, y leer la absorbancia en una celda de 10 cm a 530 nm. Deducir la lectura obtenida de la solución del "blanco" que contiene 1 ml de estaño estándar más los otros reactivos; calcular el estaño en la muestra de la diferencia. Corregir la cantidad de estaño encontrada para el reactivo "blanco" llevado a través del procedimiento.

INTERFERENCIAS

Modificación para quitar el arsénico. (Aplicable a -

los dos procedimientos, destilación y extracción). Agregar 0.2 g de sulfato de hidracina a la muestra digerida con H_2SO_4 . Calentar vigorosamente 2 minutos en la flama del mechero. Enfriar y agregar 0.2 g de sulfato de hidracina, 25 ml de agua, y 50 ml de HCl. Destilar hasta que aparezcan los vapores de H_2SO_4 y agitar el matraz en la flama por 2 minutos.

Modificación para quitar el antimonio. (Necesariamente solo en el procedimiento de destilación). Diluir la muestra digerida con el H_2SO_4 con 150 ml de agua y agregar 10 ml de HCl. Enfriar completamente en un baño de hielo. Agregar 1 solución de KMnO_4 al 1% gota a gota en exceso y transferir a un embudo de separación. Adicionar 4 ml de la solución de cupferrón (al 9%) y mezclar. Extraer tres veces con porciones de 20, 10, y 10 ml de CHCl_3 , recolectando el CHCl_3 en el matraz de digestión-destilación original con 25 ml de agua. Agregar 25 ml de HNO_3 al matraz y extraer por ebullición el CHCl_3 sobre la canasta de calentamiento. Agregar de 25-40 ml de H_2SO_4 , dependiendo del tamaño del matraz, y calentar hasta que aparezcan los vapores. Completar la digestión con HNO_3 y HClO_4 y quitar el HNO_3 calentan

do a ebullición con agua como en la digestión original de la muestra. Destilar el estaño y proceder con la "Determinación".

9.1.2 RESULTADOS

PRECISION DE LA MEDICION COLORIMETRICA

La precisión de la medición colorimétrica es ilustrada por los datos para una curva de calibración presentada en la Tabla 58. El estaño presente se calculó de las soluciones estandar y de los valores de calibración del equipo volumétrico usado. Los valores para el estaño presente y el estaño encontrado son calculados a la segunda determinación para estimar la precisión. En el rango de 2 a 40 μg la desviación estandar indica que pueden detectarse 0.16 μg de estaño. En el rango de 40 a 180 μg la desviación estandar relativa indica una precisión de 0.6%.

PRECISION DEL ANALISIS

Los datos para las dos determinaciones se encuentran en la Tabla 59, por el método de la destilación en las muestras fortificadas con estaño como fue indicado. La precisión es de 0.004 ppm de estaño para 0.0-0.2 ppm de estaño y 4.0% para 0.4-4.2 ppm de estaño. Los resultados por el procedimiento de extracción son también encontrados en la Tabla 59, que incluye las muestras de fruta tratadas en el campo con el insecticida contra los ácaros conteniendo triciclohexil estaño. La precisión fue de 0.098 ppm de estaño para 0.0-0.3 ppm de estaño y 2.4% para 0.3-4.2 ppm. Los resultados de los métodos no tienen diferencia significativa: las diferencias entre los dos métodos de separación son menores comparados a las variaciones debidas al muestreo, preparación, y a la medición. Los datos fueron combinados y se obtuvo una desviación estándar de 0.007 ppm para 0.0 a 0.3 ppm de estaño y 2.9% para 0.4 a 4.2 ppm de Sn. En la tabla, se encuentran los valores para el estaño encontrado referidos al total del estaño, incluyendo la cantidad presente en la fruta no tratada.

La exactitud de los métodos de análisis está indicada por los resultados de las pruebas de recuperación cuando cantidades conocidas de estaño en varias formas se agregaron a la fruta sin tratar. Estos datos se encuentran en las Tablas 60 y 61. El promedio por ciento de las recuperaciones para las diferentes categorías se encuentran en la Tabla 62. No se encontraron diferencias significantes para las diferentes formas de estaño o para manzana vs muestras de peras por cada uno de los métodos. Puede ser ligeramente mejor la recuperación por el método de extracción cuando el nivel de estaño es superior a 1 ppm por 100 g de muestra.

9.1.3 DISCUSION

PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Varios tipos de mezcladores fueron probados para la preparación de las muestras. El estaño removido de los molinos varió de 0.00 a 1.4 ppm de estaño, lo cual demuestra la necesidad para probar el equipo que se usa en el proceso de los materiales para la determinación de las trazas de es

taño. El tratamiento preparativo será capaz de preparar -- las muestras con una captación menor de 0.1 ppm de estaño.- El acero inoxidable, limpiado con HCl 6 n, si es necesario, es superior al níquel, aluminio, y al acero enchapado con - estaño.

El mezclado de las muestras trituradas suma tiempo al análisis. Para probar el efecto del tratamiento de mezclado en la precisión, muestras dobles de 100 g, de manzanas - enteras y manzanas descortezadas fueron analizadas con y -- sin mezclado, por el método de extracción. Los resultados- presentaron que este paso es útil; el promedio por ciento - de la diferencia de los dos fue reducido desde 12 a 1.5% en muestras similares, aunque no idénticas.

Para el programa de prueba de la evaluación y el con-- trol de rutina del producto, la acumulación de un gran núme-- ro de muestras y los requerimientos del almacenamiento ha-- cen deseable usar muestras representativas congeladas. Ya- que los análisis fueron necesarios en compuestos de 20 a 30 piezas de fruta, también como en piezas individuales, una - muestra de 100 g fue adaptada y seleccionada por ser práctica

ca y capaz de dar determinaciones precisas. Los métodos -- que utilizan 100 g de muestra pueden ser ampliados a piezas individuales de frutas sin la necesidad de subdividir la -- muestra.

OXIDACION ACIDA DE LA MATERIA ORGANICA

En el tratamiento inicial con HNO_3 y H_2SO_4 , es importante que haya bastante HNO_3 para prevenir pérdidas de organo estaño. La cantidad de HNO_3 presente será por lo menos igual al contenido de agua de la muestra. Las pérdidas han sido observadas para los mismos compuestos de organo estaño cuando la cantidad de HNO_3 era solamente el 10% del agua -- presente.

DESTILACION DEL ESTAÑO

Para observar el progreso de la destilación del estaño 1 mg de estaño fue destilado bajo las mismas condiciones -- trazadas en el procedimiento, empezando en la canasta de calentamiento precalentada hasta el altísimo calentamiento. -- Se tomaron muestras a intervalos de 3 minutos para analizar.

La primera fracción, al 9% del tiempo total de calentamiento de 33 minutos, contenía menos del 0.1% del total del estaño. En la destilación completa; el 99.9% del total de estaño estaba en la fracción representando la primera aparición de los vapores pesados de SO_3 . Una gráfica de los datos (estaño destilado acumulativo vs tiempo) forman una curva ojiva regular.

EXTRACCION DEL HEXANO DEL YODURO ESTANNICO

El hexano es un solvente eficiente para la separación del estaño de la solución de yoduro-ácido. Más del 99.5% del estaño es separado por una extracción con 50 ml de n-hexano de los 100 ml de la solución de H_2SO_4 -KI que contiene de 0.2-16.5 mg de estaño. El método general para la extracción, que incluye lavar el extracto de hexano, provee la separación del estaño decantidades apreciables de otros elementos. En la práctica la gran mayoría de las muestras de origen biológico no requieren el lavado de la solución de hexano.

MEDICION COLORIMETRICA

El rango de trabajo del método de ditiol es de 0.05 a 8 ppm aproximadamente, usando la cantidad especificada, es decir, 0.5 ml, del reactivo de ditiol al 0.3%. Si la concentración de estaño se incrementa sobre el límite inferior por la adición de unos microgramos de estaño, diferencias de 0.003 ppm en la solución son detectables. Cuando la concentración excede el límite inferior, es innecesario agregar estaño. Una simple medición de una pequeña cantidad conocida de estaño es bastante para proveer la corrección de la absorbancia de la muestra.

EFFECTO DE OTROS ELEMENTOS EN EL METODO DE EXTRACCION

El antimonio es la interferencia más seria en el método de ditiol. Un máximo de 20 μg aproximadamente no afectan el resultado de la determinación del estaño. Las pruebas han indicado que una extracción de $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-KI}$ con un medio volumen de hexano extrae aproximadamente el 1% del antimonio. El método de extracción tiene una tolerancia de 2 mg de antimonio aproximadamente para una extracción sin lavado; 10 mg de antimonio son tolerados si el hexano es lavado con la solución de $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-KI}$. En los casos especiales —

puede ser factible incrementar la tolerancia para el antimonio por el incremento de la cantidad de reactivo de ditioi.

El arsénico también interfiere en la medición, aunque no en el mismo grado como el antimonio. Aproximadamente -- 0.15 mg de arsénico no causan un error arriba de $1 \mu\text{g}$ de estaño. Sin embargo, el arsénico acompaña al estaño más completamente que el antimonio. La destilación del HCl para quitar el arsénico no prolonga el análisis por mucho tiempo.

Varios otros elementos han sido probados para ver su efecto en la determinación de ditioi. Para la mayoría de los elementos que no volatilizan con el HCl o HBr de la solución de H_2SO_4 , la adición de los elementos fue tratada -- con HCl-HBr y H_2SO_4 y concentrada por ebullición para quitar las trazas de estaño. Se agregaron cantidades conocidas de estaño (variando de 8 a $50 \mu\text{g}$), y el procedimiento completo de extracción-separación fue llevado a cabo y después se efectuó la medición del color. Las cantidades de otros elementos tolerados por el método son arbitrariamente tomados como el arsénico que causa un error de $\pm 1 \mu\text{g}$ de estaño. Así, los elementos que no interfieren son: Ca, Mg, -

Na, P_2O_5 , SiO_2 (mezclados, probados a 200 mg cada uno); B,-
F, P, Si (probados a 100 mg); Fe (probado a 50 mg); Ag, Au,
Bi, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Ge, Hg, Zn, La, Mn, Ni, Pb, Pt, Se,
Te, Ti, V, In. (probados a 10 mg).

9.2 DETERMINACION DE FOSFORO POR EL METODO MOLIBDOVANA-
DATA

Ahora, los dos métodos oficiales de la AOAC para determinar la cantidad de fósforo en las frutas y en sus productos son el método colorimétrico, 20.033-20.035 (176), adaptado en 1939, y el método volumétrico, 20.031-20.032*, adaptado en 1943. Ninguno de estos métodos es enteramente satisfactorio. El método colorimétrico se lleva bastante tiempo, requiere el uso del peligroso ácido perclórico y de otros ácidos concentrados, y especifica el uso de un baño de agua hirviendo para la formación del color; también, otra porción de la muestra debe ser usada para determinar el peso de las cenizas. Una seria desventaja del método volumétrico oficial es que no es suficientemente sensible para medir exactamente las concentraciones bajas del fósforo presente en algunas clases de productos de fruta.

*Los métodos oficiales citados están referidos al Official Methods of Analysis, 10th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D.C., 1965.

En años recientes, dos excelentes métodos fueron adoptados para el fósforo total en los fertilizantes: el método -espectrofotométrico vanadomolibdato, 2.018-2.022, adoptado en 1957, y el método gravimétrico molibdato de quinolina, -2.023-2.025, adoptado en 1961. Ambos métodos son simples, -rápidos, exactos, y precisos. El método espectrofotométrico en el cual el 2.018-2.022 está basado fue propuesto originalmente por Misson (62) en 1908; ha sido usado en el análisis del hierro, mineral de hierro, acero, fertilizantes, -y materiales biológicos. En los últimos años, el método espectrofotométrico vanadomolibdato, con ligeras modificaciones, ha sido también adoptado por la AOAC como oficial para la determinación del fósforo en los cereales, forraje, jarabes de frutas, licores aromáticos, licores fuertes (aguardiente, ron, ginebra o whisky), y vinos.

En 1942, Koenig y Johnson (123) publicaron una variación del método de Misson, empleando la incineración húmeda con el HNO_3 y el HClO_4 . Lo emplearon para analizar 80 materiales biológicos diferentes incluyendo frutas y semillas - en una comparación con los métodos gravimétrico oficial y -volumétrico.

Brammell (62) en 1958, desarrolló otra variación del método de Misson en el cual la solución de la ceniza fue usada para la determinación del fósforo como en el método volumétrico oficial, 20.031-20.032. Este método espectrofotométrico molibdo vanadato fue comparado con el método volumétrico molibdato de amonio oficial, 2.026-2.028, en 21 muestras de bebidas de frutas y fue encontrado ser muy simple, muy rápido, y más exacto. Ya que el método espectrofotométrico no requiere el uso del peligroso ácido clorhídrico y después que el peso de la ceniza y el contenido de fósforo pueden ser determinados en la misma alícuota de la muestra, este método fue seleccionado para el presente estudio.

En el estudio colaborativo de Whitley (228), el nitrato de magnesio fue agregado a las muestras antes de la incineración como se especificó para la determinación del fósforo en las plantas, 6.061. Una desventaja es que la ceniza resultante no puede ser usada como una medida oficial del peso de la ceniza en la muestra. Por lo tanto, en la presente investigación las muestras fueron incineradas por el 20.017 y la solución de la ceniza fue preparada como se describe en el 20.032.

9.2.1 EXPERIMENTAL

Las soluciones de varios tipos de productos de fruta, preparados de acuerdo a 20.003, fueron seleccionados para este estudio. Para cada solución, 300 g fueron diluidos a 1 l después de agregar 5 ml de formaldehído como un preservativo. Después, alícuotas de 100 ml fueron secadas e incineradas a 525° C como en 20.017 y 29.012, las soluciones de la ceniza fueron diluidas a 100 ml y el contenido de fósforo de las muestras fue determinado en alícuotas de 10 ml. - Esto fue hecho para eliminar la incineración y la preparación de la solución de la ceniza como variables para obtener una comparación más válida de los pasos de la determinación.

Se hizo un estudio repetidamente usando las soluciones estándar para determinar si una curva de calibración deberá ser corrida con cada grupo de muestras analizadas. Se investigó también la precisión del método. Diariamente, -- por cinco días, una nueva curva de calibración fue preparada como se describe en la "Preparación de la Curva de Calibración", y nuevas soluciones de la ceniza, preparadas de -

cinco de las once muestras, fueron re-analizadas en cada uno de los días como en la "Determinación".

Un espectrofotómetro Beckman Modelo B fue usado para determinar el contenido de fósforo de las once muestras, para el estudio de la curva de calibración, y el estudio de precisión. Nuevas soluciones de la ceniza de estas cinco muestras fueron re-analizadas, usando un espectrofotómetro Beckman Modelo DU, para comparar los resultados por los diferentes instrumentos.

9.2.2 METODO

(No limpiar el material de vidrio con los detergentes que contienen fósforo.)

APARATOS Y REACTIVOS

a) Espectrofotómetro. Beckman Modelo B o DU, con celdas de 1 cm.

b) Reactivo de molibdovanadato. Disolver 60 g de molibdato de amonio tetrahidrato en 900 ml de agua caliente, enfriar, y diluir a 1 lt. Disolver 1.5 g de metavanadato de amonio en 690 ml de agua caliente, agregar 300 ml de HNO_3 , enfriar, y diluir a 1 lt. Gradualmente agregar la solución de molibdato a la solución de vanadato con agitación. Almacenar a la temperatura ambiente en una botella de vidrio Pyrex o de polietileno con tapón. (El reactivo parece ser estable indefinidamente en el polietileno, pero en el Pyrex se forma gradualmente un precipitado después de varios meses. Desechar el reactivo si se forma el precipitado.)

c) Soluciones estándar. Disolver 0.2397 g de fosfato de potasio monobásico estándar primario puro (si el ensayo es KH_2PO_4 al 100%, dividir 0.2397 g por el % del KH_2PO_4 para obtener el peso correcto, y secarlo 2 hrs a 105°C) en agua y diluir a 250 ml (0.5 mg de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{ml}$). Diluir alícuotas de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, y 35 ml de esta solución a 500 ml para obtener soluciones estándar conteniendo 0.00, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, y 0.35 mg de $\text{P}_2\text{O}_5/\text{ml}$, respectivamente.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Pipetear 10 ml de cada solución estándar en matraces-Erlenmeyer de 25 ml, y taparlos inmediatamente para prevenir pérdidas por evaporación. Tan rápidamente como sea posible, agregar 5 ml del reactivo de molibdovanadato a cada matraz por medio de una pipeta volumétrica, y mezclar. Dejar reposar al menos 10 min para la formación del color y leer las absorbancias dentro de 1 hr para superior exactitud.

Seleccionar 4 celdas iguales y llenarlas cada una con el estándar de 0.00 mg. Poner el espectrofotómetro a $400\text{-m}\mu$ y ajustar a absorbancia cero con una celda. Leer la absorbancia de cada celda contra la celda de referencia de arriba. Escoger la celda con la menor absorbancia para usar con la solución estándar de 0.00 mg y con las futuras mediciones. Si las absorbancias de la solución estándar de 0.00 mg en las otras celdas son > 0.001 vs esta solución estándar, substraer las lecturas de la absorbancia de las celdas de las subsecuentes lecturas. Determinar la absorbancia de cada solución estándar con el instrumento ajusta

do a absorbancia cero por el estándar de 0.00 mg. Después de cada conjunto de tres determinaciones, vaciar y volver a llenar la celda que contiene el estándar de 0.00 mg, para evitar el error debido a la evaporación y a los cambios de temperatura. Graficar la absorbancia vs la concentración - en mg de P_2O_5 /10 ml de la solución estándar.

PREPARACION DE LA SOLUCION DE LA CENIZA

La muestra es incinerada como se describe en 20.017. (Agregar una cucharadita de sacarosa a las muestras con bajo contenido de azúcar para apresurar la incineración.) Disol ver la ceniza en 10 ml de HCl (1+3) y evaporar a sequedad - en un baño de vapor. Disolver el residuo en 10 ml de HCl - (1+9) en el baño de vapor y transferir a un matraz volumé-- trico de 100 ml. Enfriar, diluir a la marca, y mezclar --- bien. (La preparación de la solución de la ceniza es esen-- cialmente la misma como en 20.032.) Examinar la solución - de la ceniza; filtrar a través de un filtro seco si se ob-- serva alguna materia insoluble. Si la ceniza tuviera > - 3.5 mg de P_2O_5 , hacer diluciones secundarias tal que una --- alícuota de 10 ml no contenga >0.35 mg de P_2O_5 (alrededor-

de 0.20 mg de P_2O_5 da una exactitud muy grande). Si no se desea el peso de la ceniza, usar alícuotas pequeñas de la muestra para reducir el tiempo de la incineración.

DETERMINACION

Pipetear en matraces Erlenmeyer de 25 ml, alícuotas de 10 ml de las soluciones estandard que contengan 0.00 y 0.20 mg de P_2O_5 /10 ml, respectivamente, y formar el color como se describe en la "Preparación de la Curva de Calibración." Ajustar el instrumento a absorbancia cero por el estandard de 0.00 mg y determinar la absorbancia del estandard de --- 0.20 mg. (La absorbancia del último estandard deberá ser prácticamente idéntico con el valor correspondiente en la curva de calibración; si no, preparar una nueva curva de calibración.) Formar el color y determinar la absorbancia de las soluciones de la ceniza de la muestra concurrentemente con y de la misma manera como para las soluciones estandard.

$$\text{mg de } P_2O_5 / 100 \text{ g de muestra} = 100 \times (\text{mg de } P_2O_5 / 10 \text{ ml de la curva de calibración} / \text{g de la muestra en 10 ml de la solución de la ceniza}).$$

9.2.3 RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos en la Tabla 63 demuestran la buena concordancia que fue obtenida para la mayoría de las muestras, y muy buena conformidad para los promedios de la muestra. El método molibdovanadato dio muy bajos resultados en todas las muestras pero 2 conservas, para las cuales fueron obtenidos los mismos valores por ambos métodos. El contenido promedio de fósforo por el método molibdovanadato fue de 0.3 mg de $P_2O_5/100$ g (1.7%) más bajo que por el método volumétrico oficial. Una determinación pareada demostró una diferencia significativa estadísticamente ($p < 0.05$) entre los promedios de los dos métodos. Cinco de estas muestras fueron re-incineradas y analizadas, usando el espectrofotómetro Beckman - Modelo DU. Los valores promedio obtenidos concuerdan bien con los del espectrofotómetro Modelo B.

En la investigación espectrofotométrica, una consideración importante es la necesidad de preparar una curva de calibración nueva cada vez que un grupo de muestras es analizado. A menos que se quiera una exactitud grandísima, la misma curva puede ser usada diariamente, como una comproba-

ción del desarrollo del método y del instrumento pueden analizarse uno o dos standards en la porción media de la curva con cada conjunto de muestras. Las lecturas de la absor**u** bancia de estos standards deberán concordar dentro de los límites aceptables con los de la curva de calibración; de lo contrario, deberá ser preparada una nueva curva de calibración si la fuente del problema no puede ser detectada y corregida.

Para preparar la curva patrón, es mejor hacer las lecturas de la absorbancia en los standards cada día por varios días, y entonces graficar los valores promedio. La variación encontrada en las lecturas diarias demostrará si una nueva curva deberá ser preparada por cada conjunto de muestras.

Las lecturas diarias de la absorbancia obtenidas con el Beckman Modelo B para las soluciones standard concordaron con los valores promedio; ver la Tabla 64. Sin embargo, las lecturas muy bajas obtenidas generalmente el primer día demuestran que pueden ocurrir desviaciones diarias significantes en la pendiente de la curva, ilustrando la impor

tancia de basar la curva patrón en el promedio de las diferentes lecturas para cada estandard y la necesidad de comprobar uno o dos puntos en la curva cada vez que son corridas las muestras. La Tabla 64 también presenta que hubo poca variación diaria en las lecturas de la absorbancia obtenidas para las soluciones de la ceniza de cinco muestras de productos de fruta analizadas diariamente por cinco días.

En general, el método molibdovanadato presentó muy buena precisión, con un rango de la desviación estandard de -- 0.09 a 0.13, con la excepción de una de 0.30 causado por un extraordinariamente bajo valor obtenido el primer día (Tabla 65). Los resultados en esta tabla fueron calculados de una curva de calibración preparada del promedio de las lecturas de la absorbancia de la Tabla 64.

9.3 DETERMINACION DE MERCURIO POR LA COMBUSTION MODIFI-
CADA DE SCHONIGER

Los fungicidas mercuriales han sido usados últimamente para el control de la roña en las manzanas. Durante los análisis de estas manzanas para los residuos de mercurio el Pesticide Residue Laboratory de N. Y. fue incapaz para recuperar cantidades pequeñas del mercurio por los procedimientos de la incineración húmeda. Aunque fueron mantenidas siempre las condiciones de oxidación, el mercurio fue perdido por la volatilización durante la digestión ácida de los tejidos de la manzana. Los intentos para reducir esta pérdida por el uso de una digestión a baja temperatura inicial, el peróxido de hidrógeno, el selenio, y varios sistemas condensantes fracasaron.

Southworth, Hodecker, y Fleischer (208) determinaron recientemente el mercurio en los compuestos orgánicos por la combustión en un matraz de Schöniger (88). En este método es usado un matraz de Schöniger modificado para determinar el mercurio en las manzanas. El tejido de la manzana conteniendo fungicidas de mercurio es secado en celofán e incine

rado en un matraz llenado con oxígeno. Los productos de la combustión son absorbidos en el ácido clorhídrico 0.1 N y el mercurio es determinado espectrofotométricamente después de la extracción de la solución absorbente con ditizona, -- pp. 441-442 de la ref. (174). La pérdida del mercurio por la volatilización no puede ocurrir en el sistema cerrado y la recuperación del mercurio es consistentemente buena (88).

9.3.1 MATRAZ DE COMBUSTION

El matraz de la combustión y el soporte de platino son presentados en la Fig. 24.

El matraz es de fondo redondo, de 5 lt de capacidad, y de vidrio borosilicato. Un tapón estandar 40/50 (ver la Fig. 24 B), la unión hembra esmerilada está unida en el cuello. Un brazo (1 cm de diámetro interno, 4 cm de longitud) lateral está unido al matraz como se ilustra en la Fig. 24. Un balón de hule, 8 cm aproximadamente de largo, es asegurado al brazo lateral con una banda de hule.

El soporte de platino está construido uniendo una longitud de 12 cm de alambre de platino No. 16 B. y S. a la punta del tapón estandar 40/35, la unión macho esmerilada a 8 cm de la porción esmerilada. Una hoja de platino perforada, 2.5 cm de ancho y 7.5 cm de largo, y doblada como se muestra en la figura es soldada eléctricamente a los últimos 3 cm de este alambre. Dos tiras pequeñas de platino (1.25 x 2.5 cm) son soldadas para formar los dos lados restantes del soporte y guardar la muestra comprimida. La base del soporte resultante es de 1 x 2.5 cm y la profundidad del soporte es de 3 cm.

9.3.2 PROCEDIMIENTO

PREPARACION DE LA MUESTRA PARA LA COMBUSTION

Mezclar las manzanas en su propio líquido hasta que sea obtenida una mezcla homogénea. Esparcir una porción de 10-g de la muestra en un cuadro de 3 x 3 cm de celofán soportado en un vidrio de reloj. Colocar el vidrio de reloj y la muestra en un desecador conteniendo ácido sulfúrico. Varias

muestras pueden ser secadas a un tiempo. Evacuar el desecador y dejar las muestras bajo vacío toda la noche.

COMBUSTION Y DETERMINACION DE LOS RESIDUOS

Quitar las muestras del desecador y envolver el celofán alrededor de él doblando los lados opuestos hacia arriba. Colocar el paquete en el soporte de platino parcialmente abierto y comprimir por la flexión de las tiras pequeñas alrededor de él. Insertar una fracción de papel filtro - - (0,5 x 10 cm) en la muestra, a manera de mecha. Colocar -- 200 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y una barra magnética - - (2 1/2 pulgadas de largo, forrada con Teglón) en el matraz de combustión. Colocar el matraz sobre un agitador magnético y soportarlo en un anillo. Purgar completamente el matraz con oxígeno. Prender la mecha y colocar el soporte en el matraz tan pronto como se haya quemado aproximadamente - 1 pulgada de la mecha. Mantener tapado el matraz hasta que la combustión sea completa y el balón se haya doblado. Conectar el agitador magnético y operarlo bastante rápido para lavar la superficie interna del matraz con la solución.- Es usualmente suficiente agitar de 7 a 10 minutos. Quitar-

el matraz del agitador e inclinarlo para enjuagar la porción superior del matraz. No dejar que el ácido entre al balón, ya que el hule absorbe el mercurio. La barra magnética es removida usando externamente una herradura magnética para sacar la del matraz. Vaciar la solución absorbente en un embudo de separación de 500 ml, mientras, enjuagar el soporte de platino. Enjuagar el matraz, el soporte, y el balón con 50 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y agregar los enjuagues al embudo. Repetir con una segunda porción de 50 ml de ácido.

A la solución ácida en el embudo agregar 20 ml de clorhidrato de hidroxilamina al 20% y 5 ml de ácido acético al 30% y mezclar. Agregar exactamente 25 ml de ditizona en cloroformo (4 mg por litro) y agitar exactamente por 1 minuto. Drenar la capa inferior a través de un tapón de algodón colocado en el vástago del embudo en una cubeta de 5 cm. Medir la absorbancia de la solución a 490 $m\mu$ con ditizona en la celda de referencia. Usar ditizona reciente con cada muestra.

Preparar la curva de calibración (de 0 a 10 μ de mercurio) como sigue:

Pipetear 0, 1, 2, 3, 4, y 5 ml de una solución estándar de cloruro mercuríco en ácido clorhídrico 0.1 N (2 μ de mercurio por ml) en una serie de embudos de separación de 500 ml, y agregar ácido clorhídrico 0.1 N para completar el volumen total de 300 ml. Proceder como en el análisis de las muestras, empezando con la adición de la solución de hidroxilamina.

9.3.3 RESULTADOS Y DISCUSION

El método fue usado para recuperar el acetato de fenilmercuríco, el oxiquinolato de fenilmercuríco, el oxiquinolato de fenilmercuríco, y el di (fenilmercuríco) oxiquinolato de amonio de las manzanas. Estos fungicidas han sido usados para el control de la roña de la manzana.

Las soluciones de estos fungicidas en ácido acético -- glacial fueron agregadas al tejido de la manzana de 10 g en

el celofán antes del secado. Las recuperaciones obtenidas del tejido después del secado y la combustión son presentadas en la Tabla 66.

El valor registrado para los 29 análisis promedio fue de 0.037 ppm de mercurio. El método detectó aproximadamente 0.01 ppm de mercurio en una muestra de 10 g de manzana.

Durante 1959, diferentes variedades de árboles de manzana y fruta fueron tratados con el di (fenilmercurio) oxiquinolato de amonio para el control de la roña de la manzana. Aproximadamente 12 galones de este spray diluido fue aplicado a cada árbol (aproximadamente un galón por tonelada de fruta). La Tabla 67 presenta los residuos de mercurio encontrados en el análisis de las muestras dobles.

El peso de una manzana seca fue de 2 g aproximadamente, que representa aproximadamente 10 g de tejido fresco de manzana. Si se usa un peso muy grande de tejido, la combustión es incompleta. La expansión de los gases en el balón permite a la combustión ser llevada sin peligro. El tamaño de la muestra y la rápida velocidad de la incineración del celo

fán necesitó el uso de un balón, que fue reemplazado después de 5 combustiones. Casi 200 combustiones han sido conducidas en el matraz. Alrededor de 12 muestras pueden ser quemadas y analizadas en un día.

9.4 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE PANEL

Un estudio colaborativo fue emprendido con el objeto de recomendar un método detallado que diera resultados exactos y reproducibles. Este reporte describe los descubrimientos del Panel y da los detalles de un método apropiado para determinar el mercurio en las manzanas y los tomates.

Un método (no publicado) para la determinación de los residuos del mercurio en las manzanas se desarrolló en el Department of Scientific and Industrial Research, Laboratory of the Government Chemist (entonces el Department of the Government Chemist), sobre la base del método de Klein modificado por Abbott y Johnson (1). Este método (Department of the Government Chemist Report No. GC/17/17) se ha encontrado que es seguro para los residuos de un amplio rango de los compuestos organo mercurícos. En líneas generales, consiste en digerir la muestra con los ácidos nítrico y sulfúrico concentrado y con el peróxido de hidrógeno, extracción del digerido parcialmente neutralizado con la ditizona en cloroformo y la medición del color del complejo de ditizona-mercurio a 490 $m\mu$ después emplear una técnica de rever-

sión del tiosulfato para quitar los cationes que interfieren en la determinación. Se dio atención a las sugerencias para modificar este resumen. También se advirtió que dos métodos especiales para la descomposición húmeda de la materia orgánica para la determinación del mercurio han sido publicados por el Analytical Methods Committee of the Society for Analytical Chemistry (7). El primero de estos es aplicable a las muestras que contienen altos residuos de mercurio (> 5 ppm o, alternativamente, > 5 mg por kg) y el segundo es para muy bajas concentraciones de mercurio en la orina o tejido animal. El método usado en esta investigación ha sido considerado en relación a los bajos residuos de mercurio en el material vegetal.

El acetato de fenilmercurio fue usado como un compuesto organomercurio conveniente en esta investigación, después que ha sido demostrado ser más volátil que otros de su clase usado como fungicida en spray y aerosol (185). Cuando se agregó a las manzanas y se digirieron con los ácidos, el acetato de fenilmercurio dio una muy baja recuperación que produjo el salicilato o el nitrato. Se consideró que un método satisfactorio para el acetato de fenilmercurio -

sería en general satisfactorio (190).

9.4.1 METODO RECOMENDADO

APARATOS

Todos los aparatos deben ser limpiados escrupulosamente. Se recomienda que, después de ensamblar el aparato de digestión, sea mantenida en ebullición bajo reflujo en el aparato una mezcla de ácido sulfúrico-nítrico (30 ml + 20 ml).

Matraz de fondo redondo (500 ml), con dos cuellos cortos llevando cavidades B24 (central) y B19 (lateral).

Condensador de aire, aproximadamente de 2.5 cm de diámetro, 30 cm de longitud, como B34 y cavidad B24.

Condensador de agua. Este deberá ser eficiente; superficie doble de 15 cm o espiral empacada de 25 cm. El condensador de agua montado en la cabeza del condensador de --

aire y deberá tener un cono B24.

Canasta de calentamiento, 250 watts (500 ml), con control de calor variable (preferible continuo).

Espectrofotómetro.

Embudo con llave. Cono B19.

REACTIVOS

Los reactivos deberán ser de grado analítico excepto cuando se especifique otra cosa.

Agua. Redestilada en un aparato todo de vidrio

Polvo de selenio. Seleccionar para bajo contenido de mercurio.

Acido sulfúrico, densidad relativa de 1.84.

Acido nítrico, densidad relativa de 1.42.

Peroxido de hidrógeno, 100-volúmenes.

Cloroformo, B. P., purificado (4).

Amoníaco, densidad relativa de 0.880.

Acido acético. Diluir a 30% V/V.

Acido clorhídrico, 0.1 N aproximadamente. Diluir 50 ml de ácido, densidad relativa de 1.18, a 5 litros.

Hidróxido de sodio, 0.1 N aproximadamente. Disolver 20 g de hidróxido de sodio grado reactivo general en 5 litros de agua.

Solución de tiosulfato de sodio. Pesar porciones de 1.5 g en tubos de ensayo limpios, y disolver en 100 ml de agua. Preparar las soluciones diariamente.

Solución de hipoclorito de sodio. Seleccionar la solución de hipoclorito de sodio al 10% peso/peso con un bajo contenido de mercurio. Almacenar a 3° C aproximadamente cuando no se use. Normalizar con la solución de tiosulfato de sodio, y diluir a aproximadamente 4.5% de disponible cloro.

Solución de clorhidrato de hidroxilamina, al 20% peso/V, acuosa. Extraer con la solución patrón de ditizona hasta que el color del reactivo no cambie, entonces lavar completamente con el cloroformo hasta que tres lavados sucesi-

vos sean incoloros.

Solución de ditizona, purificada (159). Preparar (i)- una solución patrón de 200 mg por litro de cloroformo (ésta deberá ser almacenada a 3° C aproximadamente) y (ii) dos soluciones diluidas de 4 mg por litro de cloroformo por extracción y como una solución estándar.

Solución de cloruro mercúrico. (i) Solución patrón de 1.355 g de cloruro mercúrico en 1 litro de ácido clorhídrico 0.1 N; esta solución es estable al menos por 6 meses. - (ii) Solución diluida preparada recientemente por la dilu- ción de la solución patrón en dos etapas con el ácido clor- hídrico a una concentración de 1 μ g de mercurio por ml; las soluciones de cloruro mercúrico diluidas son estables al menos por 24 horas en el ácido diluido, pero no en las solu- ciones neutrales.

Algodón de lana, BPC.

CURVA DE CALIBRACION DE DITIZONA-MERCURIO

Por la pipeta, colocar de 1 a 5 ml de la solución de -

cloruro mercuríco diluida recientemente ($1 \mu\text{g}$ por ml) en un embudo de separación conteniendo 50 ml de la solución de -- ácido clorhídrico, 5 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina y 3 ml de la solución de ácido acético. Agre-- gar de 2 a 3 ml de cloroformo, y agitar el embudo vigorosa-- mente por 30 segundos. Dejar que las capas se separen, y -- rechazar el cloroformo. Extraer el mercurio con 10.0 ml de la solución estándar de ditizona, diluida recientemente de la solución patrón, agitar vigorosamente por 1 minuto. Se-- car el vástago del embudo de separación con un segmento del papel filtro, adaptar un tapón holgado de algodón de lana -- en la parte inferior del vástago, dejar correr un poco del-- extracto de ditizona para humedecer el tapón de algodón de-- lana, y entonces recolectar el restante en la celda espec-- trofotométrica. Deberá tenerse cuidado para asegurar que -- el tapón de algodón de lana no sea contaminado mientras se-- coloca en el vástago del embudo y también que no sea desalo-- jado por el flujo de la solución de cloroformo. Evitar el-- goteo muy lento, o puede formarse un color rojo; también -- evitar un flujo rápido, que puede causar la entrada del a-- gua. Trapear las caras ópticas de la celda, y colocar cui-- dadosamente en el porta celda. Leer la densidad óptica a --

490 $m\mu$ contra cloroformo. Una celda de 4 cm Unicam requiere aproximadamente de 8 ml de la solución para una lectura-satisfactoria.

La inconveniente grande absorción de la solución de ditizona, ocupando la parte más sensible de la escala, puede ser suprimida remplazando el cloroformo de la celda de referencia con un grueso discordante de, por ejemplo, malla de cobre de 29/30 s.w.g. (0.345 a 0.315 mm), la cual es sostenida firmemente en el porta celda. El cero en la curva de calibración puede así ser reducido a una densidad óptica de 0.1 aproximadamente.

Con cloroformo libre de fosgeno, las soluciones de ditizona diluidas pueden ser usadas por unas semanas. El valor cero deberá ser comprobado diariamente antes de medir la solución y, si es necesario, aplicar una pequeña corrección a la densidad óptica de la última antes de leer su correspondiente contenido de mercurio en la curva de calibración. Desechar cualquier solución de ditizona para la cual el valor cero ha caído marcadamente con el tiempo o cuando se ha usado el 90%, al cual el riesgo de la autoxidación es

muy grande. Las soluciones diluidas de ditizona se descoloran en 30 segundos cuando son expuestas a la luz del día.

DIGESTION DE LA MUESTRA DE FRUTA

Macerar una muestra de tomates, y tomar una porción de 50 g para el análisis; cortar las manzanas en cubitos o segmentos, y usar una porción de 50 g. Colocar la muestra en el matraz de reacción juntamente con unas bolitas de vidrio, y mezclar con 0.1 g de polvo de selenio. Colocar el matraz en la canasta de calentamiento, y montar el sistema de condensador (con agua fluyendo rápidamente a través de él) y el embudo con llave. Agregar cuidadosamente del embudo - - con llave 20 ml de ácido sulfúrico-nítrico (3+1) en aproximadamente 10 minutos, teniendo cuidado de que la reacción - en ningún momento llegue a ser violeta. La mezcla de reacción ebulle suavemente por su calor exotérmico, la canasta de calentamiento ayuda a detener el matraz. Cuando la reacción inicial ha disminuido, conectar la canasta de calentamiento y lentamente incrementar la velocidad de calentamiento en 1/2 a 3/4 de hora como vaya disminuyendo la espuma. - Además puede ser necesario agregar pequeñas cantidades de -

ácido nítrico para prevenir la carbonización, que puede ocurrir bruscamente. Hasta 20 ml de ácido nítrico pueden ser requeridos, dependiendo de las especies y del contenido de la mezcla de la muestra. Cuando esté a "pleno calor", mantener en ebullición bajo reflujo por 3 horas. Al final de este período deberá aparecer un color verde oscuro y homogéneo; el digerido del tomate es amarillo. Enfriar, y agregar 20 ml de peróxido de hidrógeno del embudo con llave. - Mantener en ebullición bajo reflujo por 1 hora. Enfriar el digerido (ahora un verde pálido para las manzanas), y lavar el condensador con 50 ml de agua.

Este es el único paso en que, si es necesario, el proceso puede ser interrumpido.

Filtrar el digerido frío a través de un papel filtro - Whatman No. 541 en un recipiente graduado, y diluir a 250 ml. Transferir a un embudo de separación de 500 ml, enjuagar el recipiente graduado con 50 ml de agua, y transferir los enjuagues al embudo de separación. Titular una alícuota de 1 ml de los 300 ml (ahora aproximadamente 2.5 N) con hidróxido de sodio 0.1 N (= S ml) con el indicador rojo de-

metilo, y ajustar la acidez del digerido a uno normal con -
la solución amoniaca (= X N).

$$\text{Volumen de amoníaco a ser agregado} = 300 \frac{(S/10 - 1)}{(X + 1)} \text{ ml.}$$

EXTRACCION DEL MERCURIO DEL DIGERIDO

Enfriar la solución completamente antes de agregar 5 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina para evitar que la ditizona sea oxidada o el selenio sea precipitado. - Dejar reposar por 10 minutos para permitir que la hidroxilamina reaccione, y entonces agregar 10 ml de la solución de extracción de ditizona diluida. Agitar suavemente, y aligerar la presión cautelosamente; entonces agitar el embudo vigorosamente por 1 minuto. Dejar que las dos capas se separen, y examinar el color de la capa de cloroformo. Agitar por 1 minuto, y valorar el color; hay tres situaciones:

- (I) El primer color es verde o gris, y no cambia marcadamente por una agitación subsecuente. Transferir la fase de cloroformo a un embudo de separación de 150 ml conteniendo 25 ml de ácido clorhídrico y 5-

ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina. Extraer la solución acuosa inicial dos veces más - con 5 ml de la solución de ditizona, agitando el - embudo por 1 minuto, y transferir cada extracto al embudo de separación de 150 ml. Agitar vigorosa- mente el último por 1 minuto.

- (II) El primer color es gris cambiando a naranja amari- lloso. Esto sugiere la oxidación de la ditizona - sin reaccionar. Transferir la solución de cloro- formo a un embudo de separación de 150 ml, y ex- traer la solución acuosa inicial con 10 ml de la - solución de ditizona. Esta vez el color, verde o- posiblemente gris, deberá ser más permanente. Re- petido el desvanecimiento de la solución de extrac- ción de ditizona indica que se encuentra una canti- dad excesiva de oxidante. Asegurarse que la solu- ción esté fría, y probar agregando más clorhidrato de hidroxilamina. Terminar con 2 extracciones más como en (I).

- (III) Se forma inmediatamente un color naranja. Esto --

indica una concentración grande de mercurio. Transferir la solución de cloroformo a un embudo de separación de 150 ml, y extraer la solución digerida con 10 ml de ditizona. Un color gris sugiere que la masa de mercurio ha sido removida, y la extracción es terminada como en (I). Si se forma de nuevo un color naranja intenso, deberán usarse soluciones de extracción más concentradas; más convenientemente, agregar 1 a 2 ml de la solución pa-trón de ditizona a 8 ml de cloroformo. Completar como en (I).

La extracción no deberá ser considerada completa hasta que dos extractos sucesivos retengan el color azul-verde -- del reactivo. Es útil indicar que la cantidad de ditizona usada en la extracción, después que, descontando al final -- las dos porciones de 5 ml y suponiendo una eficiencia del -- 80% de la extracción del ácido sulfúrico normal, pueden ser deducidos el contenido aproximado de mercurio y de aquí el -- apropiado rango en las combinaciones del volumen y la concentración de la solución de ditizona y el tamaño de la celda (ver la Tabla 71).

Transferir los extractos de la solución de ditizona a un tercer embudo de separación de 150 ml conteniendo 50 ml de ácido clorhídrico y 2 ml de la solución de tiosulfato de sodio. Inmediatamente agitar el embudo de separación vigorosamente por 1 minuto, y descargar la capa de cloroformo; el ditizonato de mercurio es así disociado y regresado a la capa acuosa, mientras que el ditizonato de cobre permanece en la capa de cloroformo. Mucha de la materia orgánica amarilla nitrada ha sido ahora removida de la solución que contiene el mercurio, y el tratamiento subsecuente del hipoclorito removerá el resto. Agitar los lavador del ácido clorhídrico que fueron dejados en el segundo embudo de separación con unos mililitros de cloroformo para recolectar la pequeña fracción del aducto distribuido en la capa acuosa, y agregar el cloroformo a la solución del tercer embudo de separación. Agitar vigorosamente, y descargar todas las gotas restantes de cloroformo. Si el extracto original se ha dejado reposar por algún tiempo con el clorhidrato de hidroxilamina y el ácido clorhídrico, el exceso del reactivo pudo haber sido oxidado; el color deberá sugerir esto, extraer los lavados del ácido clorhídrico con 2 a 3 ml del reactivo de ditizona diluido, y entonces agitar en el tercer embudo de se

paración antes de lavar las soluciones acuosas con el cloroformo. Agregar 4 ml de la solución diluida de hipoclorito de sodio. Dar al embudo de separación una agitación preliminar para desprender algo de cloro. Agitar, cuidadosamente al principio y entonces vigorosamente por 1 minuto, cautelosamente aligerar la presión a través de la llave. Poco o nada de cloro deberá ahora ser emitido, aunque deberá encontrarse un exceso. Invertir el embudo de separación, -- abrir la llave, y enjuagar el vástago con un poco de agua.- Agregar 5 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina, asegurar que los lados del tapón y el cuello del embudo de separación estén completamente mojados con el reactivo, y -- agitar vigorosamente por 1 minuto. Este tratamiento reduce al hipoclorito no reducido y al cloro residual. Evacuar -- los gases, y agitar el embudo otra vez. Lavar la solución acuosa dos veces por la agitación vigorosa con unos mililitros de cloroformo, y rechazar ambos lavados. El primer lavado algunas veces aparece azul, pero el segundo deberá ser incoloro. Asegura que no sean retenidas burbujas de cloroformo en la llave del embudo de separación. Agregar 3 ml -- de ácido acético.

DETERMINACION

Por medio de la pipeta, colocar el volumen apropiado - (ver la Tabla 71) de la solución estándar de ditizonato en el embudo de separación, y agitar vigorosamente por 1 minuto. Proceder como se describió en la "Curva de Calibración de Ditizona-Mercurio". Ajustar el valor observado de la densidad óptica para cualquier corrección del cero, y determinar este valor substrayendo el valor del reactivo "blanco", obteniendo así el contenido de mercurio de la muestra.

9.4.2 RESULTADOS Y DISCUSION

Los laboratorios consiguieron pequeñas cantidades de ditizona a intervalos de 3 meses aproximadamente, debido a la inestabilidad del reactivo. El material adquirido no siempre aseguró una solución estándar satisfactoria, e instrucciones para la purificación de la ditizona (159) fueron insertadas en el método. El cloroformo fue purificado conforme al método del Analytical Methods Committee (4). Las soluciones de hipoclorito de sodio son inestables y algunas -

veces tienen alto contenido de mercurio. Una solución de hipoclorito de sodio al 10% peso/peso de grado "bajo en mercurio" conteniendo cantidades de mercurio del orden de 0.12 ppm es adecuada para usarse en la determinación del mercurio como lo describió Abbott y Johnson (1). Algunas muestras de selenio también presentan un indeseable alto contenido de mercurio, y se han encontrado concentraciones de 12, 16 y más de 50 ppm. Aún con estas precauciones, algunos laboratorios obtuvieron valores altos del reactivo (Tabla 68). Aunque los "blancos" variaron en cada laboratorio fueron completamente consistentes en cualquier laboratorio. El Panel consideró conveniente mantener los reactivos "blanco" de aproximadamente $1\ \mu\text{g}$ o menores.

Inicialmente se usó el método GC/17/17 para la recuperación de $5\ \mu\text{g}$ de mercurio agregados a 50 g de manzana (0.1 ppm). Sin embargo, los valores del "blanco" obtenidos para las manzanas y la recuperación del mercurio agregado fueron variables (ver la Tabla 69, columna A), debido tal vez a que cada laboratorio usó su propia muestra de manzanas. Una muestra de puré de manzana fue usada para el segundo estudio. Satisfactorios valores del "blanco" y de las recupe

raciones fueron obtenidas con esto. Las recuperaciones netas son expuestas en la Tabla 69, columna B. Se notó, sin embargo, que después que se ha separado la cáscara y el corazón de las manzanas durante la preparación del puré la etapa de la digestión procedió bastante fácilmente. Se acentuó la necesidad para la digestión cuidadosa de la pulpa con los ácidos, juntamente con la necesidad para que la solución de clorhidrato de hidroxilamina reaccione suficiente tiempo con la materia residual oxidándose antes de extraer el digerido neutralizado parcialmente con la ditizona.

Ahora, pequeñas ampolletas de vidrio conteniendo una cantidad conocida de la solución de acetato de fenilmercurio fueron mandadas a los laboratorios, para usarse enteras. En este método fue agregada y recuperada una cantidad de mercurio ($3.4 \mu\text{g}$) no conocida para los investigadores. Los resultados (ver la Tabla 69, columna C) presentan una recuperación promedio del 80% con una desviación estandar de $\pm 0.4 \mu\text{g}$. Se concluyó que el método fue satisfactorio para la determinación de los residuos de mercurio en las manzanas.

Un planteamiento similar fue adoptado en los experimentos de recuperación con una muestra de puré de tomate enlatado preparada de la fruta entera. Una recuperación neta promedio del 80% con una desviación estandard de $\pm 0.6 \mu\text{g}$ fue obtenida cuando $4.0 \mu\text{g}$ de mercurio (0.08 ppm) fueron agregados al puré y una recuperación neta promedio del 95% con una desviación estandard de $9.0 \mu\text{g}$ cuando $20.1 \mu\text{g}$ (0.40 ppm) fueron agregados (ver la Tabla 70). El Panel, concluyó, por lo tanto, que el método fue también satisfactorio para determinar los residuos del mercurio en los tomates. La experiencia de algunos miembros sugirieron que el selenio puede ser omitido del método para los tomates a muy bajas concentraciones de mercurio.

Los experimentos de recuperación son considerados como una necesidad preliminar. Cuando el contenido del material es bajo es necesario agregar inicialmente agua (5 a 10 ml - por 50 g de la muestra) a la solución del matraz de digestión.

9.5 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE DITIZONA
EN CLOROFORMO O EN TETRACLORURO DE CARBONO

El método para la determinación del mercurio en el ca-
cao es el mismo de la sec. 3.9, p. 146; desarrollado por el
Analytical Methods Committee (9).

Se hicieron experimentos de recuperación de cantidades
pequeñas de mercurio, hasta de $1\mu\text{g}$, los cuales se obtuvie-
ron por la separación recomendada y el procedimiento de la-
determinación.

Se aceptó generalmente que la ditizona en cloroformo -
fue menos satisfactoria para la extracción inicial de mercu-
rio que con la solución de ditizona en tetracloruro de car-
bono. Se estuvo de acuerdo para recomendar el uso de una -
solución de ditizona en tetracloruro de carbono para ambas-
extracciones, excepto en la presencia de relativamente gran-
des cantidades de cobre, para el cual una solución de dit-
izona en cloroformo es preferible para la segunda extracción.

9.5.1 RESULTADOS

Se llevaron experimentos de recuperación de las cantidades de mercurio agregadas a muestras de 10 g de cacao. El mercurio fue agregado como cloruro mercúrico. Inicialmente, cuando la mezcla ácida fue agregada a la muestra, se formó demasiada espuma, y se dejó reposar por 10 minutos para que descendiera la espuma antes de calentar la mezcla. Después de la digestión, la grasa sobrante en la mezcla fue quitada por la extracción con el tetracloruro de carbono antes de proceder con la determinación del mercurio. En el paso de separación, el cobre fue extraído con el mercurio, impartiendo un matiz lila al extracto. No hubo interferencia del cobre en la subsecuente determinación del mercurio. Los resultados de estas determinaciones son presentadas en la Tabla 72.

Se llevó a cabo un rastreo radioquímico para la determinación del cacao, agregando $4 \mu\text{g}$ de mercurio marcado con mercurio-203. Se obtuvo una recuperación del 93 por ciento.

CAPITULO X

ACEITES, GRASAS Y MANTECAS

10.1 DETERMINACION DE COBRE POR EL METODO BATOCUPROINA

El análisis cuantitativo del cobre en los aceites y mantecas comestibles es necesario en el control de calidad y en el desarrollo experimental. Varios métodos se encuentran en la literatura, pero son imprácticos o irrealizables para el cotidiano uso en el laboratorio. El método descrito a continuación no es solo preciso y exacto, sino también aplicable a grandes volúmenes de análisis de cobre en las mantecas y aceites con un mínimo de equipo y tiempo. Mientras que una muestra puede ser analizada en 3 horas, 6 muestras pueden fácilmente ser corridas por un analista en un día.

List et al. (140) seleccionó un incinerador en seco a baja temperatura, un aparato en que el plasma de oxígeno es generado en un radio de campo frecuencia bajo alto vacío, para la incineración de los aceites glicéridos. Los residuos eran analizados por un procedimiento colorimétrico usando el reactivo de dibenzilditiocarbamato de zinc. El --

error relativo que reportaron de una determinación es de $\pm 13\%$ y el promedio de las determinaciones dobles es de ± 9 por ciento. Usaron el nitrato de cobre puro como reactivo para preparar los aceites que contenían concentraciones conocidas (0.04-5.0 ppm) de cobre. Una muestra requirió de 60-72 hrs, para incinerarla en su sistema. Para bajas concentraciones de cobre, se necesitaron 15 g de muestra, tal que de 3 a 5 muestras tenían que combinarse antes de la determinación. Presentaron concentraciones de cobre en aceites de soya procesados comercialmente (no hidrogenados) que varían de 0.03-0.10 ppm. Labuza y Karel (131) describieron un procedimiento directo de extracción con solvente para el cobre y el fierro en ácidos grasos y en los metil esterés de ácidos grasos. La aplicación de este método a las mantecas y aceites no lo demostraron.

Høgdahl y Melsom (100) determinaron el cobre en 2 muestras de grasa hidrogenada por el análisis de la activación del neutrón. Una muestra de grasa fue irradiada por 24 hrs y el cobre radioactivo fue extraído con HCl 6 N de una solución de tolueno de la grasa irradiada. La actividad gamma fue medida con un contador de centelleo, de NaI/Tl. Se hi-

zo también una medición colorimétrica (como dibenzilditio-- carbamato de cobre) y se calculó la cantidad absoluta del - cobre en la muestra. La sensibilidad reportada es de 1-3 - ppm aproximadamente con una reproductibilidad de $\pm 7\%$ cuando se usan 2 g de grasa.

Dos trabajos describen la determinación del cobre en-- los productos lácteos, Cranston y Thompson (44) redujeron-- el pH de la leche con el ácido perclórico hasta que fueron-- divididos los complejos de cobre-proteína. Después de fil-- trar la grasa y precipitar la proteína, el cobre fue enton-- ces concentrado por un procedimiento de intercambio del ión y determinado polarográficamente. Las cantidades de cobre-- recuperadas eran erráticas, ya que variando las cantidades-- de los azúcares, de las sales y de la caseína influían nota-- blemente en el método polarográfico. Este inconveniente -- fue corregido usando un estándar interno. Willis (232) en-- contró necesario extraer la mantequilla y el aceite de man-- tequilla con el ácido nítrico y analizar el extracto de co-- bre por espectrometría de absorción atómica. Los resulta-- dos a concentraciones de 0.1 ppm fueron completamente dis-- persos y determinaron el límite inferior del método.

Van de Bogart y Beinert (222) publicaron un excelente reporte técnico sobre el análisis de cobre en los materiales biológicos por la oxidación húmeda, evaporación del exceso de ácido, reducción, neutralización, formación del color y concentración del complejo coloreado por la extracción con una pequeña cantidad de solvente orgánico.

Hay una amplia selección de reactivos colorimétricos para el cobre. Algunos de los más comunes, son enlistados con sus propiedades e inconvenientes en la Tabla 73. El reactivo seleccionado es la batocuproina (2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina), un reactivo grandemente especificado y excepcionalmente sensible para la determinación colorimétrica del cobre (47).

10.1.1 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

ESTANDARDS

Tres clases de materiales fueron usados como standards. El primero era alambre de cobre puro (al 995). La superfi-

cie del alambre se limpio antes de ser usado para quitar -- los óxidos. El segundo tipo eran jabones de cobre de dos -- ácidos grasos, esteárico y linoleico. En teoría, las dos -- muestras deberían contener 10.08% y 10.21% de cobre respec-- tivamente. Después de disolver los jabones en el HNO_3 en -- una relación 1:1 se determinó su contenido de cobre colori-- métricamente y se encontró que tenían 10.10% y 10.40% de co-- bre, respectivamente. El tercer material empleado era un -- aceite soluble de cobre standard, bis(1-fenil-1,3-butano-- diona) de cobre (II), al 16.5% de cobre.

SEPARACION DEL COBRE

El mayor problema es separar cuantitativamente solo -- unos cuantos mg de cobre de las mantecas y aceites. Los mé todos investigados para este propósito fueron la incinera-- ción en seco y la extracción ácida. La oxidación húmeda no fue investigada debido a los riesgos de seguridad asociados con este método cuando se aplicaron a aceites comestibles.

El procedimiento de incineración en seco tiene una -- desventaja mayor por el excesivo calor que es requerido pa

ra destruir toda la materia orgánica. Esto puede causar -- pérdidas de los metales volátiles, por ejemplo, jabones de cobre. Los metales adsorbidos en el vado de la incineración pueden causar bajos resultados en una muestra o contaminación de las muestras subsecuentes.

Resultados más positivos se obtuvieron con un procedimiento de extracción ácida. Todo el material de vidrio debe ser limpiado con HNO_3 concentrado, enjuagando con agua - destilada desionizada, y secado previamente a su uso. Pesar una muestra que contenga de 1-10 μg de cobre aproximadamente, reflujar con 50 ml de una solución de EDTA al 0.01% en HCl al 25% por 30 minutos. Usar fragmentos de carborundum lavados con ácido para prevenir las reburburaciones. - Este paso de reflujo procede sin la formación de emulsiones para dar un extracto claro. Después de 30 minutos, la muestra se enfría y se transfiere cuantitativamente en un embudo de 4 pulgadas con papel filtro Whatman No. 40 de 18.5 cm, humedecido con agua destilada desionizada. La fase acuosa es recolectada en un vaso de precipitado de 400 ml y el - - aceite remanente en el papel filtro se lava con varios volúmenes pequeños de agua destilada desionizada, los lavados -

son recolectados en el vaso de precipitado de 400 ml, y el aceite es desechado. Diez mililitros de HNO_3 concentrado - ultra puro se agregan al vaso de precipitado y la solución se evapora a 5 ml en una canasta de calentamiento y finalmente a sequedad en un baño de vapor. Ya que la muestra es te seca, agregar de 5-10 ml de agua destilada desionizada, - calentar en un baño de vapor, y transferir cuantitativamente la solución del vaso de precipitado a un embudo de separación de 60 ml para el análisis colorimétrico del cobre.

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL COBRE

↓

Menos de $1 \mu\text{g}$ de cobre puede determinarse cuantitativa-
mente usando el reactivo colorimétrico específico, 2,4-dime-
til-4,7-difenil-1,10-fenantrolina (batocuproina). Debe te-
nerse cuidado para eliminar y evitar la contaminación de --
las trazas de cobre tal como se indica a continuación. Lim-
piar todo el material de vidrio con HNO_3 concentrado y en-
juagar completamente con agua destilada desionizada. La ba-
tocuproina (0.3600 g) es disuelta en 100 ml de n-hexanol --
destilado resientemente; 100 ml de una solución de clorhi-
drato de hidroxilamina al 10% en agua destilada desionizada

son agitados en un embudo de separación con 10 ml de la solución de batocuproina y de 6-8 gotas de NH_4OH ultra puro.- Descargar la fase orgánica. Lo anterior elimina las trazas de cobre de la solución acuosa de clorhidrato de hidroxilamina. Cien mililitros de una solución de acetato de amonio al 10% en agua destilada desionizada quedan libres del cobre por la agitación en un embudo de separación con 5 ml de clorhidrato de hidroxilamina sin cobre, 5 ml de la solución de batocuproina, y 5 ml de n-hexanol destilado. De nuevo la fase orgánica es descargada.

A la muestra del embudo de separación de 60 ml pipetear 2 ml de clorhidrato de hidroxilamina libre de cobre y ajustar el pH de la solución a 7 ± 0.5 con NH_4OH ultra puro. Diez mililitros del acetato de amonio libre de cobre, 1 ml de la solución de batocuproina y 5 ml de n-hexanol son pipeteados en el embudo de separación y agitados vigorosamente por 2 minutos. Dejar que las fases se separen, extraer y desechar la fase acuosa y guardar la fase orgánica. Si las muestras son turbias pueden filtrarse a través de un papel-filtro Whatman No. 40 de 9.0 cm antes de determinar la absorbancia. Un espectrofotómetro Beckman Modelo B colocado-

a 479 nm es ajustado con n-hexanol en una celda de 2 cm. -- Las absorbancias de las muestras y un "blanco" derivado de todos los reactivos usados en el procedimiento de arriba -- son determinados a 479 nm en celdas de 2 cm. La absorban-- cia corregida se obtiene substrayendo la absorbancia del -- "blanco" de cada muestra.

La cantidad de cobre presente en la muestra puede obte-- nerse de la curva de calibración preparada a partir de can-- tidades conocidas del alambre de cobre puro disuelto en -- HNO_3 . Las concentraciones de estas soluciones son grafica-- das contra la formación del color (absorbancia a 479) con -- el reactivo de batocuproina. La concentración del cobre -- puede también calcularse usando una absortividad molar (ϵ)-- de 14 000.

10.1.2 DISCUSION

En el procedimiento de la incineración en seco, se ex-- perimentó una baja recuperación (0-84%) de los compuestos -- de cobre orgánico agregados, debido tal vez a la volatiliza--

ción. Los datos de la Tabla 74, se obtuvieron agregando el tipo indicado y la cantidad de cobre a 100 g de aceite vegetal en un recipiente de incineración de Vycor o platino. - Se aplicó calor al fondo de la cápsula con una flama del mechero hasta que el aceite empezó a humear. Los vapores del aceite fueron encendidos con una flama. Después que la flama se apago, los residuos se colocaron en un horno de mufla a la temperatura indicada hasta que el carbón fue extraído. La ceniza fue entonces analizada para el cobre por el procedimiento colorimétrico descrito.

La extracción del cobre con EDTA al 0.01% en HCl al -- 25% dio una extracción cuantitativa del cobre de las muestras de manteca y aceite. Los extractos fueron analizados para el cobre por el procedimiento colorimétrico descrito.- Estos se encuentran en la Tabla 75. Se obtuvo una recuperación promedio del 99.8%, con una desviación estandard de -- 0.002 ppm establecida a una concentración de 0.05 ppm durante la aplicación de rutina del método a una variedad de mantecas y aceites.

Usando el HCl al 25% sin agregar el EDTA dio una baja -

recuperación (88-90%) del cobre agregado. Dos métodos algo similares son adecuados para la determinación de las trazas de los metales en los destilados del petróleo. Barney II (21) extrajo un aceite con el ácido sulfúrico y entonces -- con una mezcla de ácido clorhídrico, acetona y agua. El extracto fue analizado por el análisis espectrográfico. El ácido sulfúrico carboniza el aceite comestible tal que no puede usarse después. Hackett (89) extrajo los aceites minerales con el ácido clorhídrico alcohólico y determino colorimétricamente el cobre por la extracción del complejo -- 2,2-diquinolil con cloroformo. El método opera satisfactoriamente cuando hay más de 10 μ g de cobre. El EDTA no fue necesario para la extracción cuantitativa del cobre en los aceites minerales pero si fue necesaria para los aceites y mantecas comestibles.

Menos del 90% del cobre agregado fue extraído de las mantecas y de los aceites comestibles con solo HCl al 25%. La adición del EDTA permitió una extracción cuantitativa del cobre de las mantecas y aceites.

El método es aplicable particularmente para la determinación

nación del cobre en las mantecas y en los aceites a bajas -
concentraciones (0.002-0.10 ppm), pero puede también apli--
carse al análisis del cobre en otro medio. Es completamen-
te aparente que el procedimiento de separación puede exten-
derse a otros metales (ejemplo, níquel en aceite, hidrogenaci
ción con catalizadores).

10.2 DETERMINACION DEL COBRE POR EL METODO DE DIBENZIL-DITIOCARBAMATO DE ZINC

Ciertas investigaciones (127,128) han demostrado que ciertos catalizadores que contienen cobre son extremadamente selectivos para la reducción de los grupos linolenil en los aceites de soya. Estos catalizadores tienen capacidad para la producción de los aceites con bajo contenido de linoleato. El uso de tales catalizadores en la hidrogenación del aceite de soya han conducido a la re-examinación del problema del análisis de las trazas de cobre en los aceites glicéridos. El cobre ejerce una fuerte efectividad pro-oxidante en las grasas comestibles y una cantidad tan pequeña como 0.03 ppm disminuye rápidamente el sabor del aceite de soya (63). El ensayo del mineral para las trazas de cobre en los aceites glicéridos es difícil porque este metal se encuentra en los aceites naturales en muy pequeñas cantidades (64), generalmente a centésimas de ppm; se han propuesto métodos de extracción directa (21,131) para las determinaciones del cobre en los aceites del petróleo, pero carecen de la sensibilidad requerida para los aceites glicéridos. También, hay evidencia de que los metales pueden en-

contrarse en los aceites glicéridos en una forma no adecuada para la extracción por los agentes ácidos o quelatador.- Cooney et al. (41) propusieron que los metales pueden encontrarse como un quelato entre los hidroperóxidos grasos y -- los productos de la oxidación secundaria y que antes los de puradores de metal ácido pueden ser efectivos, una grasa debe ser calentada para descomponer el complejo de metal-peróxido.

El método usual para el análisis de las trazas de cobre en los materiales biológicos consiste en hacer reaccionar el cobre con un reactivo específico para formar un complejo coloreado que puede ser extraído y determinado por espectrofotometría del visible. Para los aceites glicéridos, se requiere de la incineración para obtener una solución acuosa adecuada para el análisis. Las incineraciones pueden realizarse por varios procedimientos, y estas técnicas han sido revisadas por Snell y Snell (207). Fuertes ácidos minerales pueden ser usados, pero la experiencia demuestra -- que varios ácidos grado reactivo contienen significantes -- contaminantes metálicos que los hacen inadecuados. La incineración a altas temperaturas puede usarse, pero pueden su-

ceder pérdidas por la volatilidad. Se encontró un incinerador en seco a baja temperatura que ha llegado a ser útil. En la incineración en seco, un plasma de oxígeno se genera dentro de un campo de radio frecuencia bajo alto vacío, y este plasma sirve como agente oxidante. La incineración a baja temperatura se produce de 80° C a 200° C. Se ha adoptado esta técnica para la incineración de los aceites grasos. Aunque la velocidad de la incineración es lenta, se encontraron pérdidas por la volatilidad (140).

Se han propuesto muchos reactivos colorimétricos para el cobre. Algunos incluyen la ditizona, la cuproina y el dietilditiocarbamato de sodio. Estos reactivos y los procedimientos analíticos relacionados han sido revisados por Sandell (194). El dibenzilditiocarbamato de zinc fue investigado primero por Martens y Githens (150) en 1952 quien lo aplicó como un reactivo colorimétrico para la determinación del cobre en los colorantes y en los productos químicos orgánicos. Varios años más tarde Abbot y Polhill (2) lo adoptaron para la determinación del cobre en los aceites de girasol y olivo. El dibenzilditiocarbamato de zinc y otros derivados de los ácidos de dibenzilditiocarbamato tienen cien

ventajas sobre otros reactivos colorimétricos para el cobre. Estos incluyen buena estabilidad en los solventes orgánicos, baja interferencia de otros metales y la fácil formación de los complejos coloridos estables con el cobre.

Aunque la incineración parece ser un requisito esencial para los análisis colorimétricos de bajas concentraciones de cobre, otros métodos analíticos, particularmente el de activación del neutrón (100) y la absorción atómica, no requieren de la incineración. Estas técnicas, sin embargo, involucran equipo elaborado y costoso. Aparte del tiempo necesario para la incineración en seco, el análisis colorimétrico descrito en esta sección se lleva 30 minutos aproximadamente. La incineración en seco se compara favorablemente, desde el punto de vista de la simplicidad, con cualquier otro método. El método consiste de la incineración a baja temperatura y de la técnica colorimétrica empleada para determinar el contenido de cobre del aceite comestible de soya hidrogenado con catalizadores que contienen cobre. Se presentan también los datos para las muestras analizadas por las técnicas de la activación del neutrón y de la absorción atómica.

10.2.1 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Los aceites comerciales de soya fueron o refinados y - decolorados o refinados, decolorados y desodorizados. Las - muestras de aceite de soya hidrogenada con catalizadores -- que contenían cobre se prepararon como lo describió Korita - la y Dutton (128). El dibenzilditiocarbamato de zinc fue - de grado reactivo y usado sin previa purificación. Ya que - el ácido sulfúrico grado reactivo ordinario contenía canti - dades significantes de cobre, no fue usado en el procedi - miento colorimétrico. El ácido sulfúrico (al 95%) destila - do doblemente fue bajo en su contenido de metal y dio muy - bajos "blancos" de cobre. El tetracloruro de carbono fue - de calidad espectral. El aparato usado en el procedimiento para la incineración en seco a baja temperatura fue manufac - turado por la Tracerlab Corporation.

El aparato es adaptado a un tubo diseñado con 5 prolon - gaciones laterales de 5 recámaras conjuntamente con el va - cío y la radio frecuencia calibrada y los controles neces - rios para la incineración óptima. La alimentación del oxí - geno es controlada por una válvula de afuja y por el moni -

tor con un medidor de flujo en el sistema.

INCINERACION EN SECO

Los pasos de la incineración es seco son: Las muestras de aceite (3-5 g) son pesadas con una exactitud de ± 0.1 mg en las cápsulas de ignición. Las cápsulas de ignición son de $3\frac{1}{2} \times 1\frac{1}{2} \times \frac{1}{2}$ pulgadas y tienen una capacidad de 20 g aproximadamente. (Las muestras más grandes de 5 g tienden a salpicar durante la desgasificación.) Las cápsulas de las muestras son colocadas en las 5 recámaras y se hace un sello de vacío con las placas de vidrio engrasadas. El vacío se aplica lentamente al sistema mientras que las muestras son desgasificadas. La presión final dentro del sistema deberá ser de 0.05 mm de Hg o menor. El campo de radiofrecuencia se genera y se sintoniza a una fuerza reflejada mínima. La descarga a este punto es un azul brillante. El oxígeno es inyectado en el sistema para mantener una presión de 1 mm de Hg aproximadamente. El campo de radio frecuencia se retorna a la fuerza reflejada mínima. El aparato puede entonces operar casi solo con solamente una ocasional sintonización. Hasta que la oxidación es completa, la-

descarga es de un color rojizo.

CURVA DE CALIBRACION

El cobre (100 mg, 99.9% de pureza) fue disuelto en varios mililitros de ácido nítrico concentrado y diluido a 100 ml con etanol absoluto. Esta solución patrón contiene 1000 μg de cobre/ml. Un mililitro del patrón fue diluido a 1000 ml con agua (destilada dos veces en vidrio). Alícuotas de la solución de 1 μg de cobre/ml fueron pipeteadas en embudos de separación y el agua (destilada doblemente) se agregó hasta dar un volumen de 25 ml. Se agregó un volumen igual de ácido sulfúrico diluido (diluido 1:20 en agua destilada doblemente). El cobre fue extraído por la agitación vigorosa por 60 seg con 2 ml de dibenzilditiocarbamato de zinc (al 0.05% peso/V) en tetracloruro de carbono. La solución del complejo de cobre se dejó precipitar, y después el complejo fue sacado y centrifugado para quitar cualquier turbiedad.

La absorbancia de todas las muestras se determinó en el visible a 435 $m\mu$ contra un "blanco" preparado llevando

volumenes iguales del ácido y el agua a través del procedimiento. Existe una relación lineal entre la absorbancia a 435 $m\mu$ y las concentraciones del cobre hasta 8 μg aproximadamente. Sucede una desviación a concentraciones muy altas y los valores de la absorbancia decrecen con los incrementos de las concentraciones de cobre. El ajuste al rango lineal puede hacerse fácilmente por la variación del volumen del reactivo extractor o por el ajuste de la cantidad de aceite en el paso de la incineración.

PREPARACION DE LOS ESTANDARDS

La preparación de los aceites con cantidades conocidas de cobre presentó una considerable dificultad. A las muestras que se les agregó cobre en forma de oleato cúprico (grado comercial) dieron valores muy bajos de la cantidad teórica cuando se analizaron por los métodos de activación y colorimétrico. Estos resultados indicaron que los jabones grasos de cobre no son adecuados para la preparación de los aceites standard con concentraciones conocidas de cobre.

La adición de soluciones etanólicas de sales de cobre a los aceites por la agitación magnética bajo una corriente de nitrógeno dieron aceites que tenían contenidos erráticos de cobre ya que las determinaciones dobles estuvieron en pobre conformidad.

Para superar estos problemas, el nitrato de cobre puro se preparó de las composiciones del metal de cobre y el ácido nítrico se usó como la fuente de los aceites standard-- con concentraciones conocidas de cobre. Diluciones adecuadas de la solución patrón etanólica que contenía 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de cobre se agregaron a las muestras del aceite de soya que fueron después desodorizados con vapor a baja temperatura - (200).

Dos conjuntos de muestras standard de aceite fueron -- preparados para contener 5.0, 1.0, 0.10, y 0.04 ppm de cobre de la siguiente manera: Los aceites fueron desodorizados con vapor a baja temperatura por 6 horas para quitar el etanol del aceite y para agitar las muestras. Este procedi-- miento dio los mejores resultados de homogeneidad ya que -- las determinaciones dobles concordaron. Sin embargo, los -

aceites tal como fueron preparados dieron valores consistentes que fueron ligeramente bajos para el cobre por los métodos de activación del neutrón y colorimétrico. (Tabla 76).-- Ya que el análisis de activación no requirió incineración, la conformidad entre los dos métodos indica que la incineración en seco no causó pérdidas de cobre por la volatilización.

ANALISIS DE COBRE CON DIBENZILDITIOCARBAMATO DE ZINC

El procedimiento seguido es esencialmente el descrito por Abbot y Polhill (2) excepto por las muestras muy pequeñas usadas en la incineración y 2 ml del reactivo colorimétrico en lugar de 10. Estas modificaciones aumentan los límites de detección 5 veces. Después de la incineración en seco, los residuos son disueltos en H_2SO_4 1:20 y la solución es diluida a un volumen conocido en un matraz volumétrico.-- Las alícuotas son transferidas a un embudo de separación y diluidas con un volumen igual de agua destilada. El cobre es extraído por 60 seg. con 2 ml de dibencilditiocarbamato de zinc en tetracloruro de carbono. El complejo es precipitado, sacado, y centrifugado para quitar cualquier turbie--

dad en la muestra. La absorción es leída a 435 $m\mu$ y el contenido de cobre es determinado de la curva de calibración.

10.2.2 RESULTADOS Y DISCUSION

El efecto del tamaño de la muestra en la velocidad de incineración en seco del aceite de soya se presenta en la Fig 25. Los tamaños de la muestra de 0.5, 1.5 y 2.5 por cápsula requirieron, respectivamente, 9, 24 y 27 horas, con flujos de oxígeno de 30-50 ml/minuto y una fuerza de expulsión de 180-200 w. Una muestra de 3 g, comunmente empleada requirió de 60-70 hr. La incineración es lenta porque las formas polimerizadas que resisten la oxidación. La oxidación puede ser incrementada por la adición de discos de papel filtro al aceite para exponer una área de superficie grande al plasma oxidante. Se encontraron problemas por la contaminación de las muestras de cobre en los discos del papel filtro.

Las muestras que contienen de 3-5 ppm de cobre requieren de 1-2 g de aceite. Para concentraciones muy bajas, --

tal como 0.2 y 0.04 ppm, 9 a 15 g de aceite deben ser usados. Después que la muestra pesada es de 3-5 g, los residuos de las 3-5 cápsulas deben ser combinadas antes de la determinación.

La Tabla 76 presenta la recuperación del cobre agregada a los aceites vegetales de soya determinado por los métodos: colorimétrico, activación del neutrón y absorción atómica. Los datos para cada concentración (excepto de la 0.04 ppm) representan el promedio de los 4 determinaciones por cada método. Aunque los datos de los métodos de activación y el colorimétrico están en amplio acuerdo con la cantidad de cobre agregada, los valores son consistentes y bajos, cuyo resultado puede significar que alguna cantidad de cobre se perdió durante la desodorización y la agitación.

Los métodos de absorción atómica se han propuesto para la determinación de todos los metales. Las trazas de cobre y fierro en los aceites lubricantes son comunmente estimados por las técnicas de absorción atómica (30). Aplicando estas técnicas al análisis de las trazas de cobre encontradas en los aceites vegetales ha tenido más dificultades.

Solamente 2 de los 6 laboratorios emplean técnicas de absorción atómica y sus resultados están en conformidad con los otros métodos. Cuatro de los laboratorios no fueron capaces de cuantificar los contenidos de cobre de los aceites glicéridos, algunos no obstante después de haber desarrollado la incineración. Sin embargo, dos obtuvieron resultados exactos directamente en una dilución 1:4 del aceite en metil isobutil cetona. Los resultados fueron mejores cuando los standards usados en la calibración del instrumento tuvieron aproximadamente la misma viscosidad de los aceites vegetales. También los resultados fueron buenos con los instrumentos que tenían mecheros de consumo total de la flama. Aparentemente la aplicación de la absorción atómica al análisis de las trazas de cobre en los aceites vegetales requiere vigorosa estandarización antes de producir resultados exactos.

Los datos de la absorción atómica indican que los análisis son bajos por un factor de 2 aproximadamente, un nivel que no es realmente explicado. La cantidad de cobre agregada contra la cantidad recuperada por cada método fue graficada en un papel logarítmico (Fig. 26). Los tres méto

dos presentaron una relación lineal entre las cantidades de cobre agregado y el cobre recuperado, excepto a la concentración de 0.04 ppm para la absorción atómica. Ya que las pendientes de las tres líneas, estimadas por mínimos cuadrados, están en buen acuerdo, evidentemente los resultados son consistentes por los 3 métodos en el rango de 0.04-5.0-ppm de cobre agregado. Una evaluación estadística de los análisis puede resumirse como sigue: Los métodos colorimétrico y activación del neutrón dieron los mismos resultados; la absorción atómica presenta la mitad de la recuperación de los otros dos métodos; el error relativo de una determinación es de $\pm 13\%$ y el promedio de determinaciones dobles es de $\pm 9\%$; esto es, 68.2% de las muestras estarían en error por lo menos de $\pm 13\%$ o $\pm 9\%$ en duplicados; los resultados son independientes de los aceites vegetales de soya (materia prima); y cuando la relación de los 2 promedios basados en las determinaciones dobles excede de 1.31, los promedios son significativamente diferentes al nivel de probabilidad de 0.95.

La Tabla 77 presenta el contenido de cobre de los mismos aceites naturales de soya hidrogenados (con catalizado-

res que contienen cobre) por los análisis colorimétrico y de activación. Los aceites A, B, C, y D no son hidrogenados, - aceites de soya, comercialmente procesados; sus contenidos de cobre varían de 0.03-0.1 ppm. Los aceites E, F y G son aceites hidrogenados con catalizadores que contienen cobre; sus contenidos de cobre se incrementan desde menos de 0.1 a 3-5 ppm después de la hidrogenación.

Cinco muestras de aceite (E, F, H, I, J) fueron analizadas por cuatro diferentes laboratorios (Tabla 78). Existe buena concordancia entre los primeros 3 laboratorios para los contenidos de cobre de todas las muestras. Para algunas muestras hay considerable desacuerdo entre los datos reportados por un laboratorio (dados en la columna de absorción-atómica II) y que fueron reportados por los otros 3 laboratorios. De particular interés son los aceites I y J. El aceite I es un aceite de soya reprocesado%. Por reprocesado, entendemos: hidrogenado con un catalizador de cobre, filtrado, redecolorado, tratado con ácido cítrico y desodorizado. El contenido de cobre de esta muestra es bajo (0.04 ppm) y es igual, en el error experimental, al del aceite antes de la hidrogenación. Estos datos son preliminares, pero en --

acuerdo con los resultados de Dutton et al. y de Beal et al. (140) quienes presentaron que aproximadamente todo el cobre puede ser quitado del aceite de soya hidrogenado (con catalizadores conteniendo cobre) por ciertas técnicas de procesamiento. El aceite J es una mezcla del 10% de E y 90% de un aceite de soya natural no hidrogenado (H), y su análisis fue desarrollado para una posterior comprobación de los métodos usados. El valor esperado para la muestra estimado del aceite E (Tabla 77) sería de 0.36 ppm aproximadamente, el cual está próximo al valor encontrado por los métodos de análisis.

10.3 DETERMINACION DE MERCURIO POR EL METODO DE DITIZONA
EN CLOROFORMO O EN TETRACLORURO DE CARBONO

El método para la determinación del mercurio en la manteca es el desarrollado por el Analytical Methods Committee (9) que se encuentra en la sec. 3.9, p. 146.

El método consiste de los siguientes pasos:

- (a) La muestra es oxidada con los ácidos nítrico- y sulfúrico y el destilado de esta oxidación es recolectado y subsecuentemente combinado con el residuo.
- (b) El digerido combinado es diluido hasta que su acidez sea N aproximadamente. Entonces es tratado con el clorhidrato de hidroxilamina para quitar -- los óxidos de nitrógeno.
- (c) El mercurio es extraído con el exceso de ditizona en tetracloruro de carbono. El cobre presente en la muestra será extraído en este paso con el mercurio.
- (d) La ditizona en el extracto es destruida con el nitrato de sodio en el ácido clorhídrico 0.1 N. El

mercurio vuelve a la fase acuosa y la fase orgánica es descargada.

- (e) Después del tratamiento con el clorhidrato de hidroxilamina, la urea y el EDTA, el mercurio es extraído con pequeñas porciones sucesivas de una solución de ditizona en tetracloruro de carbono. El mercurio es separado del cobre en este paso. Los extractos son combinados y diluidos a 4.0 ml con el tetracloruro de carbono.
- (f) El mercurio es determinado por la medición espectrofotométrica de la solución de tetracloruro de carbono a una longitud de onda de 485 $m\mu$, o de la solución de cloroformo a una longitud de onda de 492 $m\mu$.

10.3.1 RESULTADOS

Se llevaron a cabo pruebas de recuperación agregando mercurio, como una solución de cloruro mercúrico, a las muestras de 5 g de manteca pura. La digestión fue llevada a cabo como se describió en el método de la sec. 3.9, p. --

146; y la oxidación tomó 7 horas para completarse. La espuma se formó al principio de la oxidación, pero fue controlable. Solamente unas gotas de grasa permanecieron al final de la oxidación y fueron removidas por la extracción con el tetracloruro de carbono. Los resultados son presentados en la Tabla 79.

CAPITULO XI

AZUCAR

11.1 DETERMINACION DE ARSENICO POR EL METODO AZUL DE MO-
LIBDENO

El método para la determinación del arsénico fue desarrollado por el Analytical Methods Committe (7). El método descrito en la sec. 3.1, p. 42; es capaz de dar consistentemente resultados exactos para el contenido de arsénico de la materia orgánica en el rango de 1.5 a 15 μg de arsénico. El rango del método puede ser extendido hasta una concentración de 0.5 μg de arsénico por el uso de los reactivos purificados especialmente. Adecuada seguridad es prevista contra la interferencia del silicón y del fósforo; también puede interferir el germanio, pero este raro elemento no es probable a encontrarse en la muestra.

11.1.1 RESULTADOS

Para completar la investigación en la determinación del

arsénico se decidió que los experimentos de recuperación se desarrollaran en el rango de 0.5 a 10 μg de arsénico, cada uno de los 4 laboratorios involucrados en las pruebas colaborativas del método agregó las cantidades requeridas de arsénico a las muestras de sacarosa (libre de arsénico), con lo cual se evitó el posible problema debido a la falta de homogeneidad en las muestras. En el rango inferior de 0.5- a 1.0 μg de arsénico, los reactivos usados se extrajeron -- con el dietilditiocarbamato de dietilamonio antes de usarlos. Los resultados de estas pruebas están registradas en la Tabla 80. Estos resultados fueron tratados estadísticamente y las desviaciones estandar $D.S. = (\sqrt{\sum d^2})/(n-1)$ y los coeficientes de variación $(100 \times D.S. / M)$ son presentados en la Tabla 81.

De la Tabla 81 puede verse que los coeficientes de variación a las bajísimas concentraciones de 2.0, 1.0, y 0.5- μg de arsénico, no son significativamente diferentes. Esta inesperada ocurrencia es sostenida para confirmar plenamente el valor de usar los reactivos purificados para esta baja concentración de arsénico y con lo cual entender el rango del método.

11.2 DETERMINACION DE COBRE POR EL METODO DE NEUCUPROI-NA

La determinación del cobre en la sacarosa por el método de 2,9-dimetil-1,10-fenantrolina (neocuproina) desarrollado por Jones y Newman (111) el cual está descrito en la sec. 3.5, p.101. En esa sección se demostró que la neocuproina es un reactivo satisfactorio para la determinación del cobre en los digeridos de los productos alimenticios, incluyendo los que contienen suficiente calcio para producir un precipitado cuando el digerido es diluido con agua. Aunque el reactivo es menos sensible que los ditiocarbamatos, tiene la ventaja de ser específico para el cobre, y esta especificidad puede ser usada para separar el cobre antes de determinarlo por otros métodos.

11.2.1 APLICACION DEL METODO

SACAROSA

Se aplicó primero el procedimiento para digerir la sa-

carosa por medio de la oxidación húmeda, después que el ácido sobrante de la digestión se neutralizó, se tuvo interés en averiguar si los valores, del "blanco" serían satisfactoriamente bajos y si los resultados serían afectados adversamente por la alta concentración de las sales. (Las altas concentraciones de las sales algunas veces causan resultados inciertos en la determinación similar del fierro con 4,7-difenil-1,10-fenantrolina).

La digestión se llevó a cabo en muestras de 2 g de sacarosa por un procedimiento convencional involucrando el uso de los ácidos sulfúrico y nítrico. Los experimentos de recuperación fueron hechos agregando cantidades conocidas de cobre, y en series paralelas de pruebas el cobre fue determinado con dibenzilditiocarbamato de zinc.

En la determinación del cobre con neocuproina, el digerido fue transferido a un embudo de separación de 100 ml con agua, se agregaron 10 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina-citrato sódico, y el pH de la solución fue ajustado entre 5 y 7 con solución amoniacal. A la solución enfriada se le agregaron entonces 10 ml de la solución de -

neocuproina, y la determinación se completó como se describió en la "Preparación de la gráfica de calibración", p.105.

En la determinación de cobre con dibenzilditiocarbamato de zinc, se transfirió el digerido a un embudo de separación con suficiente agua para dar una concentración final del ácido sulfúrico menor de 1.8 N; la solución fue entonces enfriada. El cobre fue extraído agitando por 2 minutos con 10 ml de una solución al 0.05% de dibenzilditiocarbamato de zinc en tetracloruro de carbono, la densidad óptica del extracto se midió a 435 $m\mu$, y el contenido de cobre de la muestra fue calculado por la referencia a una adecuada gráfica de calibración. Este procedimiento es similar al descrito por Martens y Githens (150), y se usó su método para superar la interferencia del bismuto en las muestras a las cuales se les agregaron otros metales. Ninguna modificación se hizo para la determinación con neocuproina cuando se agregaron otros metales. Los resultados son presentados en la Tabla 82.

11.3 DETERMINACION DE FOSFATO POR LA OXIDACION HUMEDA Y
EL METODO DE MOLIBDATO DE AMONIO

No se encuentra en la literatura un método que sea rápido y adecuado para la determinación cuantitativa de la cantidad de fosfato inorgánico y total en los productos del azúcar. En esta investigación se usó una prueba fotométrica de fosfovanadomolibdato de amonio para desarrollar un método adecuado para este propósito (37). Se desarrolló un método que ha sido usado para la determinación del fósforo en acero (165), mineral de oro (33), caliza (27,189), roca fosfatada (22), plantas (123), y fertilizantes (61). Kitson y Mellon (121) hicieron una investigación extensiva de este método.

11.3.1 METODO

APARATOS

Colorímetro fotoeléctrico Lumetron Photovolt, Modelo - 402-E. Un filtro Corning Glass 420 $m\mu$. Tubos de ensayo co

lorimétricos estándar de 18 mm de diámetro externo.

Agitador mecánico.

REACTIVOS

Solución estándar de fosfato. Disolver una cantidad apropiada de fosfato monobásico de potasio puro en agua destilada tal que 1 ml de la solución contenga 0.10 mg de pentóxido de fósforo.

Solución de vanadato de amonio conteniendo 0.20% de vanadato. Agregar cuidadosamente 2.35 g de metavanadato de amonio, NH_4VO_3 , grado reactivo, a 500 ml de agua destilada hirviendo. Después agregar 100 ml de ácido sulfúrico diluido (1+12). Después de enfriar la solución, transferirla a un matraz volumétrico de 1 lt y diluirla hasta la marca con agua destilada.

Solución de molibdato de amonio conteniendo 5% de trioxido de molibdeno (MoO_3). Disolver una cantidad apropiada de molibdato de amonio puro, $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, grado reactivo en agua destilada.

Acido nítrico concentrado, ácido sulfúrico concentrado, y ácido sulfúrico diluido (1 a 1).

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Agregar de 0 a 15 ml de la solución estándar de fosfato con una bureta, cubriendo el rango de 0 a 1.50 mg de pentóxido de fósforo, en 16 matraces volumétricos de 100 ml. - Diluir cada matraz con agua destilada a 50 ml aproximadamente. Pipetear 7 ml de ácido sulfúrico diluido (1 a 1) en cada matraz y agitar. Pipetear 10 ml de la solución de vanadato y 21 ml de la solución de molibdato con agitación en cada matraz, y finalmente diluir a 100 ml con agua. Después dejar reposar las soluciones estándar por 15 minutos, determinar la absorbancia a 420 $m\mu$ para cada solución después de ajustar el instrumento para leer la absorbancia cero usando el reactivo "blanco". Finalmente, graficar las lecturas de las absorbancia vs los miligramos de pentóxido de fósforo en papel gráfico rectangular y ajustar la mejor línea recta a través de los puntos.

DETERMINACION DEL FOSFATO TOTAL (INORGANICO Y ORGANICO).

Pipetear 10 ml de agua destilada que contenga un gramo de azúcar en un matraz volumétrico de vidrio borosilicato.- Digerir la muestra con 30 ml de ácido nítrico concentrado y agitar continuamente sobre una flama tenue hasta que el volumen de la solución sea reducido a 5 ml aproximadamente -- (20 min aproximadamente). Enfriar, agregar 7 ml de ácido sulfúrico concentrado, y calentar sobre una flama tenue con agitación continua hasta que la solución se torne amarillo-pálido, después incolora y aparezcan los vapores del trióxido de azufre (10 minutos aproximadamente). Si ocurre la carbonización (que es muy raro), es el resultado de la destrucción incompleta de la materia orgánica. El mejor procedimiento en este caso es repetir la digestión teniendo cuidado de calentar el ácido nítrico más lentamente, usar más ácido nítrico, o usar una cantidad más pequeña de la muestra inicial. Cuando aparezcan los vapores del trióxido de azufre, enfriar el matraz cuidadosamente, agregar 25 ml de agua, y llevar a ebullición la solución por 10 minutos, con agitación continua. Enfriar y diluir la solución hasta la marca con agua. Pipetear 50 ml de esta solución en otro matraz volumétrico de 100 ml y no adicionar ácido y entonces preparar una solución del reactivo "blanco" por la adición de 50

ml de agua y 7 ml de ácido sulfúrico diluido (1 a 1) a un tercer matraz volumétrico de 100 ml. Si la muestra a determinar contiene una concentración muy baja de fosfato, agregar una cantidad conocida de fosfato con una bureta estandarizada en orden a llevar la absorbancia de esta solución a un rango más sensible de la curva de calibración. Ahora, agregar los reactivos de vanadato y molibdato y obtener la absorbancia de esta solución como se describió en la "Preparación de la Curva de Calibración".

DETERMINACION DEL ORTOFOSFATO INORGANICO

Seguir el mismo procedimiento del fosfato total, omitiendo los pasos de la digestión ácida y agregar 7 ml de ácido sulfúrico diluido (1 a 1) a la solución a determinar antes de la adición de los reactivos de vanadato y molibdato al matraz.

11.3.2 DISCUSION Y RESULTADOS

COMPORTAMIENTO DE LA ABSORCION DEL COMPLEJO COLOREADO DE FOS

FOVANADOMOLIBDATO DE AMONIO

El complejo coloreado siguió la ley de Lambert-Beer para el rango de 0 a 1.50 mg de pentóxido de fósforo a una longitud de onda de 420 $m\mu$. Esta longitud de onda fue usada por su semejanza a la longitud de onda de la extensión máxima entre una solución que contenía 0.5 mg de pentóxido de fósforo por 100 ml de solución y una solución "blanco". La intensidad máxima del color se desarrolla en 15 minutos y permanece estable al menos por 1 hora. El color no es muy sensible a las variaciones de la temperatura, como las absorbancias de las soluciones fueron medidas a la temperatura ambiente la cual varió en una extensión de 4° con un error despreciable.

ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos usados en este método permanecieron estables por al menos 3 meses.

DIVERSOS IONES

Los iones silicato, pirofosfato, sulfato, cloruro, nitrato, calcio, ferroso, férrico, magnesio, potasio, y sodio no interfirieron en el método. Para probar, estos iones, - 1 mg de cada uno de los iones de arriba se agregó a la solución que contenía 0.5 mg de pentóxido de fósforo. Se observó que un mg de cada uno de estos iones fue equivalente eno más de 0.01 mg de pentóxido de fósforo. Estos iones se agregaron en las formas de sodio o cloruro, excepto para los ferrosos que fueron agregados en la forma de sulfato.

Sin embargo, el ión silicato interfiere grandemente si se emplea una acidez de 0.5 N, determinada por Kitson y Mellon. A una acidez de 0.5 N, 1 mg de dióxido de silicón — agregado como metasilicato de sodio es equivalente a 0.7 mg de pentóxido de fósforo. En el método descrito se usó una acidez de 1.2 N, con lo cual se eliminó la interferencia — del silicato. La presencia de hasta 20 gramos de sacarosa — por 100 ml de la solución no causaron interferencia con la formación del color.

CONCENTRACION DEL ACIDO

Se empleó una acidez de 1.2 N. Los ácidos sulfúrico, -clorhídrico, nítrico, o perclórico se pueden usar para obtener esta acidez. En vista de estas propiedades, se decidió usar los ácidos sulfúrico y nítrico como un medio adecuado de digestión preferiblemente que los ácidos perclórico y nítrico que son los más peligrosos. Ma y McKinley (37) encontraron que la digestión con una mezcla de ácido sulfúrico y nítrico es suficiente para la descomposición de los diferentes compuestos orgánicos de fosfato. Hardin (93) reportó - que la digestión ácida sulfúrico-nítrico adecuadamente produce la solución completa y la ionización del fósforo contenido en el fertilizante.

La digestión ácida como un procedimiento para la destrucción de la materia orgánica de las muestras se prefiere sobre el procedimiento de la incineración en seco porque el precedente procedimiento convierte todos los fosfatos a ortofosfato al mismo tiempo que remueve toda la materia orgánica. La digestión ácida es también más adecuada para las determinaciones en series, en tantas como 5 digestiones se pueden llevar a cabo simultáneamente, con muy poca atención por parte del analista, si se emplea un agitador mecánico.

El método de la incineración, convierte algunos de los fosfatos a meta- o a pirofosfato, preferentemente que a ortofosfato. Esto conduce a resultados bajos del fosfato total, ya que solo los ortofosfatos son determinados por el método fotométrico.

Como prueba para el fosfato total, 7 ml de ácido sulfúrico concentrado se usaron porque provee un volumen adecuado como medio de digestión para una muestra de 1 g de azúcar y resultó una acidez (1.2 N) que elimina las interferencias del silicato.

Quando la prueba para el fosfato inorgánico en la presencia de los fosfatos orgánicos como en el caso de los productos del azúcar, la concentración ácida de la solución -- prueba, conjuntamente con su temperatura y posición de tiempo, es de máxima importancia. Gee, Domínguez, y Deitz (80) usaron una acidez de 0.25 N para la prueba del fosfato inorgánico. El método de Spencer y Meade para el fosfato inorgánico (209) emplea soluciones 0.38 N. La prueba del fosfovanadomolibdato inorgánico puede también llevarse a cabo en una acidez de 0.25 N con buena exactitud, con tal que no ha

ya silicato. Las curvas de calibración obtenidas usando -- una acidez de 0.25 N y 1.2 N siempre coinciden.

Para obtener una estimación de la extensión de la hidrólisis de los fosfatos del azúcar a fosfato inorgánico -- usando una acidez de 1.2 N, se seleccionaron los tres compuestos enlistados en la Tabla 83 como representativos de los fosfatos del azúcar. Empleando el método descrito, se determinó el fosfato inorgánico de cada uno de estos compuestos cuatro veces usando una acidez de 0.25 N y de 1.20-N. En la literatura aparece que la despreciable hidrólisis de los fosfatos del azúcar ocurre a 0.25 N. Por lo tanto, la diferencia entre el contenido de fosfato inorgánico contenido de estas dos acideces se tomó como una medida de la extensión de la hidrólisis de estos compuestos debido a la muy alta acidez en la Tabla 81.

CORRECCION PARA EL COLOR AMARILLO INICIAL DE ALGUNAS SOLUCIONES DEL AZUCAR

Si una solución coloreada tal como un azúcar crudo (no manufacturada) se probó para el fosfato inorgánico conside-

rando el hecho que las soluciones de azúcar cruda son inicialmente de color amarillo. Esto se puede realizar por la medición de la absorbancia de 100 ml de una solución de azúcar que contenga 7 ml de ácido sulfúrico diluido (1 a 1) después de colocar el colorímetro a una absorbancia de cero usando agua destilada a la misma acidez. Si el valor de la absorbancia obtenido por la adición del vanadato y el molibdato a una solución de azúcar cruda, se obtiene el valor de la absorbancia corregido.

PRECISION DE LOS PROCEDIMIENTOS PARA EL FOSFATO TOTAL Y EL ORTOFOSFATO INORGANICO

Para evaluar la precisión del procedimiento para el fosfato total, 28 muestras de varios productos de azúcar se analizaron por triplicado. Como puede calcularse de la Tabla 84, la desviación estandard del procedimiento para el fosfato total es de ± 0.010 mg. La precisión del método para el ortofosfato inorgánico se evaluó analizando 27 muestras de varios productos del azúcar coloreados y 6 productos incoloros. La desviación estandard para los productos coloreados fue de ± 0.015 mg, mientras que para las muestras incoloras fue de ± 0.005 mg.

CAPITULO XII

BEBIDAS

12.1 DETERMINACION DE CADMIO

El cadmio es uno de los metales más tóxicos. Ocasionamente se encuentra en los alimentos enlatados en los recipientes enchapados con cadmio y en los alimentos que están en contacto con los aparatos que contienen este metal. Las sales de cadmio de los ácidos orgánicos son usadas como estabilizadores y como catalizadores en la manufactura de los polímeros sintéticos. Los compuestos de cadmio son también usados como pigmentos, fungicidas y vermífugos.

Los métodos apropiados para la determinación del cadmio son los métodos colorimétrico, polarográfico y absorción atómica.

El método colorimétrico (13) está basado en el método de la junta del A.B.D.M.-S.A.C. Committee on Methods for the Analysis of Trade Effluents (110), en el cual el cadmio se determina como su complejo rojo con ditizona.

El método polarográfico está basado en el procedimiento descrito por Cholok y Hubbard (36). Después de la oxidación húmeda y la extracción con la ditizona el cadmio es determinado polarográficamente en ácido clorhídrico 0.2 N.

El método de absorción atómica consiste de una oxidación húmeda seguida por una dilución con agua y atomización de la solución diluida en el equipo de absorción atómica.

12.1.1 EXPERIMENTAL

Al comienzo de la investigación se obtuvieron resultados variables cuando el ácido sulfúrico y el peróxido de hidrógeno al 50% peso/V, se usaron para la oxidación húmeda. Por lo tanto, se llevó a cabo un estudio radioquímico para ver si había pérdida de cadmio debido a la volatilización (55). El cadmio ($2\mu\text{g}$) que contenía cadmio-109 se agregó a una película de polietileno de 2 g y la mezcla fue digerida por la digestión húmeda con el ácido sulfúrico y el peróxido de hidrógeno al 50% peso/V en el aparato de la oxidación controlada recomendado en el reporte del Sub-Committee so--

bre el mercurio (9). Se recolectó el líquido destilado durante los pasos de la evaporación. La distribución del cadmio entre el destilado y el digerido se determinó por el método radioquímico. Los resultados demostraron que el cadmio no se pierde por la volatilización.

El método espectrofotométrico descrito en esta sección fue probado llevando a cabo experimentos colaborativos sobre las muestras de la película de polietileno, hoja de PVC, jugo de naranja y jugo de lima.

12.1.2 METODO

PREPARACION DE LA MUESTRA

Destruir la materia orgánica con una cantidad apropiada de la muestra por la oxidación húmeda con los ácidos sulfúrico y nítrico (usar cualquiera de los métodos A-D sin la "Continuación de los Métodos," pp. 49-52)(7); con los ácidos sulfúrico, perclórico y nítrico (usar cualquiera de los métodos A-D con la "Continuación de los Métodos," pp. 49 -

53)(7); o con el ácido sulfúrico y el peróxido de hidrógeno al 50% peso/V (11), cuyo procedimiento se describe a continuación.

A un matraz Kjeldahl agregar varias bolitas de vidrio- y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Agregar la muestra- (no más de 50 ml) y entonces 20 ml de peróxido de hidrógeno al 50%, y calentar suavemente hasta que la reacción inicial haya terminado. Entonces calentar hasta que sean emitidos- los vapores del ácido sulfúrico. Si ocurre carbonización,- agregar porciones de 1 ml (no mayores) de peróxido de hidró- geno. La digestión es completa cuando los vapores del áci- do sulfúrico permanescan incoloros. Si en cualquier etapa- parece que el ácido sulfúrico se aproxima a la sequedad, en- friar, agregar de 2 a 3 ml de ácido sulfúrico, y continuar.

Cuando la oxidación sea completa, con cualquiera de -- los tres procedimientos, diluir la solución con 50 ml de -- agua y calentar hasta que aparezcan los vapores.

PRINCIPIO DEL METODO

Después de la destrucción de la materia orgánica, el cadmio se determina colorimétricamente como su complejo con la ditiizona.

RANGO

Para contenidos de cadmio de hasta $50 \mu\text{g}$.

APLICABILIDAD

El método es generalmente aplicable, pero el cobre y el níquel interfieren a menos que se forme el complejo cianuro.

REACTIVOS

Solución de hidróxido de sodio, al 40% peso/V.

Solución de tartrato doble de sodio y potasio. Disolver 25 g de tartrato doble de sodio y potasio, $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en 100 ml de H_2O .

Solución A de hidróxido de sodio-cianuro de potasio. -
Disolver 40 g de hidróxido de sodio y 1 g de cianuro de potasio en 100 ml de agua.

Solución B de hidróxido de sodio-cianuro de potasio. -
Disolver 40 g de hidróxido de sodio y 0.05 g de cianuro de potasio en 100 ml de agua.

Solución de clorhidrato de hidroxilamina. Disolver 20 g de clorhidrato de hidroxilamina en 100 ml de agua. Transferir la solución a un embudo de separación y extraer con porciones de 5 ml de una solución de ditizona al 0.01% peso /V en tetracloruro de carbono, hasta que el último extracto permanezca de color verde, entonces lavar la solución para que quede libre del exceso de ditizona repitiendo la extracción con porciones de 10 ml de tetracloruro de carbono. --- Transferir la solución a un vaso de precipitado, calentar para quitar el exceso de tetracloruro de carbono, enfriar y filtrar en un matraz de 100 ml.

Tetracloruro de carbono, grado reactivo y analítico.

Solución patrón de ditizona, al 0.1% peso/V en tetra--

cloruro de carbono.

Solución de extracción de ditizona. Extraer 75 ml de la solución patrón de ditizona con 2 porciones de 50 ml de la solución amoniacal diluida (que contiene 10 ml de solución amoniacal 10 M en 50 ml) y drenar la capa extraída de tetracloruro de carbono. Acidular el extracto con ácido clorhídrico al 5% y extraer la ditizona precipitada con 500 ml de tetracloruro de carbono. Lavar el extracto con 2 porciones de 50 ml de agua y filtrar a través de un papel filtro seco. Preparar solución suficiente para el análisis de todas las muestras y de las soluciones estándar.

Solución de ácido tartárico. Disolver 2 g de ácido tartárico en 100 ml de agua.

Solución estándar de cadmio. Disolver 2.282 g de sulfato de cadmio, $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$, en agua y diluir a 1 lt. Diluir 10 ml de esta solución a 1 lt (1 ml de solución \equiv 10 μ g de cadmio). Esta solución diluida deberá prepararse recientemente en la cantidad que se requiera.

PROCEDIMIENTO

Neutralizar el ácido sulfúrico residual de la oxidación húmeda de la muestra con la solución de hidróxido de sodio, y ajustar el volumen a 25 ml.

Agregar 1 ml de la solución de tartrato doble de sodio y potasio, 5 ml de la solución A de hidróxido de sodio-cianuro de potasio y 1 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina, mezclar después de cada adición. Transferir la solución a un embudo de separación y extraer con porciones sucesivas de 10, 10, 5, 5, y 5 ml de la solución de extracción de ditizona, agitar el embudo por 1 minuto en cada extracción, y dejar correr las capas inferiores en un segundo embudo de separación que contenga 25 ml de la solución de ácido tartárico.

Agitar los extractos combinados con la solución de ácido tartárico por 2 minutos. Descargar la capa inferior, -- agregar 5 ml de tetracloruro de carbono, agitar la mezcla -- por 1 minuto y otra vez descargar la capa inferior. Agregar 0.25 ml de la solución de clorhidrato de hidroxilamina-

y 10 ml de la solución de extracción de ditizona seguidos-- por 5 ml de la solución B de hidróxido de sodio-cianuro de potasio, y agitar la mezcla por 1 minuto. Filtrar la capa- acuosa con porciones sucesivas de 10, 5, 5, y 5 ml de la so- lución de extracción de ditizona y filtrar cada extracto en el matraz de 50 ml. Diluir el extracto hasta la marca con- tetracloruro de carbono y mezclar.

Llevar a cabo un procedimiento en "blanco" con todos - los reactivos usados. Medir las densidades ópticas de las- pruebas y de las soluciones "blanco" en un espectrofotóme-- tro a una longitud de onda de 525 nm, o en un absortímetro- con un filtro verde adecuado, usando una celda de 1 cm y -- con tetracloruro de carbono en la celda de comparación. -- Substraer el "blanco" de la lectura de la muestra y leer de una gráfica de calibración el número de microgramos de cad- mio equivalentes a la densidad óptica neta.

GRAFICA DE CALIBRACION

Medir las cantidades apropiadas de la solución estan-- dard de cadmio diluida que contenga no más de 50 μ g en em-

budos de separación. Neutralizar si es necesario y ajustar el volumen a 25 ml. Proceder como se describió anteriormente, empezando en "Agregar 1 ml de la solución de tartrato - doble de sodio y potasio....," con el mismo volumen del baño de la solución de extracción de ditizona que fue usado para la muestra.

Preparar una solución "blanco" de todos los reactivos- usados. Medir la densidad óptica de cada solución, subs- - traer el valor "blanco", y construir una gráfica relacionando las densidades ópticas netas al número de microgramos de cadmio.

12.1.3 RESULTADOS

Para los experimentos colaborativos en el jugo de naranja se mandaron 2 muestras a cada laboratorio participante.- A una muestra se le agregó el equivalente a 2 ppm de cadmio y a la otra muestra no se le agregó cadmio. Cada laborato- rio determinó el contenido de cadmio de las 2 muestras y de los resultados se calculó la recuperación del cadmio agrega

do. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 85.-

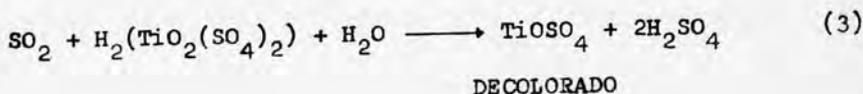
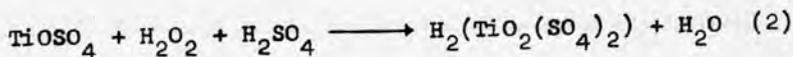
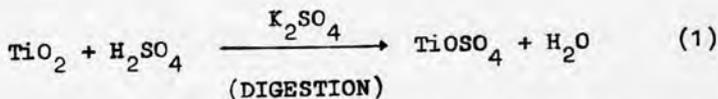
Como los resultados del método de ditizona fueron bajos, el método se modificó para incorporar las observaciones de los laboratorios colaborantes. Se encontró que las recuperaciones bajas eran obtenidas a menos que el mismo volumen del baño de la solución de extracción purificada fue usado para los standards y las muestras.

Se decidió llevar a cabo otro estudio colaborativo de la recuperación del cadmio, esta vez del jugo de lima. Dos muestras se mandaron como antes, pero el cadmio agregado a una fue el equivalente a 20 ppm, y cada laboratorio determinó el contenido de cadmio de la muestra recibida, y después de la dilución con más jugo de lima para dar una solución que contenía 2 ppm de cadmio. Los resultados obtenidos están en la Tabla 86.

12.2 DETERMINACION DE DIOXIDO DE AZUFRE

Detallados reportes sobre la química del dióxido de azufre y los métodos analíticos para su determinación han sido publicados por Joslyn y Braverman (112), Gehman y Osman (81), y Schuller y Veen (199). Hay métodos gravimétrico y volumétrico, secs. 20.089-20.098 de la ref. (177); yodométrico (112), y colorimétrico (199) para la determinación de dióxido de azufre en los alimentos. Los métodos gravimétricos y volumétricos se llevan más tiempo que otros, aunque son relativamente exactos. El método de Monier-Williams se ha usado como un método patrón con el que se comparan los demás métodos (28,172). La mayoría de los métodos colorimétricos se basan en la técnica de Steigman (211), que es una modificación de la bien conocida reacción para la detección de los aldehídos con el ácido sulfuroso-fusina. Otros métodos colorimétricos se basan en el blanqueado de la solución verde de malaquita por el dióxido de azufre (26). El siguiente método (168) descrito a continuación involucra la decoloración del ácido peroxodisulfato tilánico amarillo por el dióxido de azufre (67,155). Las reacciones involucradas son las siguientes:

REACCIONES



12.2.1 METODO

APARATOS

(a) Colorímetro. Fotoeléctrico Klett-Summerson con filtro No. 42 (azul).

(b) Matraz de destilación. Matraz de tres bocas de -- fondo redondo de 100 ml con uniones de vidrio esmerilado de 14/23.

(c) Condensador de agua. Empacado 22 cm y con uniones de vidrio esmerilado de 14/23. Ver la Fig. 1 de la referencia (168).

(d) Embudo con llave. Con uniones de vidrio esmerilado de 14/23.

(e) Tubo recolector. De 100 ml, 19 cm de longitud y uniones de vidrio esmerilado de 14/23 y con brazo lateral como ventana de gas.

(f) Baño de hielo. De 0-4° C.

REACTIVOS

(a) Peróxido de hidrógeno. 0.005 M calibrado previamente con KMnO_4 0.1 N. Pipetear 5.7 ml de H_2O_2 al 3.0% en un matraz volumétrico de 1 lt y diluir el volumen con agua.

(b) Solución patrón de ácido peroxodisulfato tilánico (PDT). Digerir 1 g de TiO_2 y 10 g de K_2SO_4 en 150 ml de H_2SO_4 concentrado por calentamiento de 6-8 horas (después que haya empezado la ebullición, la temperatura $> 300^\circ \text{C}$ con flama bajo campana. (1) Solución patrón A. Enfriar, agitar, y pasar el digerido a una botella de vidrio con tapón, limpio y seco. (2) Solución patrón B. Transferir 30-ml de la solución patrón A a un matraz volumétrico de 1 lt. Agregar 70 ml de H_2SO_4 concentrado, agitar vigorosamente por 2-3 minutos, diluir cuidadosamente hasta completar el volu-

men con agua destilada, y filtrar.

(c) Reactivo ácido peroxodisulfato titánico (PDT). -- Mezclar completamente 200 ml de H_2O_2 0.005 M, 500 ml de la solución patrón B, y 200 ml de H_2SO_4 1 N. Almacenarla en una botella ambar. El reactivo es estable durante 2 meses.

(d) Solución patrón de SO_2 . (1) Solución patrón. Disolver 1 g de metabisulfito de potasio grado reactivo en un matraz volumétrico de 1 lt y diluir hasta completar el volumen con agua. Calibrar la solución contra la solución estandar de yodo. (2) Estandar de trabajo. Diluir cantidades calculadas de la solución patrón para obtener la concentración de trabajo de 100 g de SO_2 /ml.

(e) Solución de NaOH. Diluir 4 g de NaOH en agua y diluir a 1 lt en un matraz volumétrico.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Pipetear 5 ml del reactivo PDT en 7 tubos de ensayo graduados con tapón de 10 ml. Pipetear 0.0, 0.5, 1.0, 1.5, --

2.0, 2.5, y 3.0 ml de solución patrón de trabajo ($100 \mu\text{g}$ de SO_2/ml) a cada tubo de ensayo. Diluir hasta completar el volumen con agua destilada y mezclar completamente. Medir la intensidad del color en un colorímetro Fotoeléctrico -- Klett-Summer, usando un filtro No. 42 (azul) (absorción máxima a 410 nm). Graficar μg de SO_2'/ml vs unidades Klett -- después de la substracción de los controles adecuados (sin SO_2) para obtener la curva de calibración.

ESTIMACION DEL SO_2 EN JARABES DE FRUTAS Y LIQUIDOS CONCEN-- TRADOS

Armar el aparato como se presenta en la Fig. 1 de la referencia (168). Circular agua fría a través del condensador. Pipetear 5 ml de NaOH 0.1 N en el tubo recolector. Mezclar el jarabe o el líquido concentrado, pesar de 10-12 g de la muestra (conteniendo de 2-3 mg de SO_2) en un vaso de precipitado, y lavarlo en el matraz de destilación a través del embudo con llave. Agregar 10 ml de HCl diluido (alrededor de 1 N) al matraz de destilación, limpiar completamente con 35-40 ml de agua destilada, y agregar 2 o 3 bolitas de vidrio. Tener cuidado de que las conecciones estén hermética

mente cerradas e inclinar el tubo recolector que contiene la solución diluida de NaOH. Calentar la muestra cuidadosamente sobre el mechero, destilar el SO_2 por 15 minutos después que la solución empieza a hervir, y recolectar de 35--40 ml del destilado. Transferir el destilado a un matraz volumétrico de 100 ml. Lavar el tubo recolector con agua y pasar el lavado al matraz volumétrico. Diluir hasta completar el volumen con agua. Pipetear alícuotas del destilado (1-5 ml) en tubos de ensayo graduados y con tapón de 10 ml, cada uno conteniendo 5.0 ml de reactivo PDT, y diluir hasta completar el volumen con agua. Agitar para mezclar y leer las intensidades del color como los standards. Obtener -- las concentraciones del SO_2 en las muestras de la curva de calibración.

12.2.2 RESULTADOS Y DISCUSION

Las recuperaciones de dióxido de azufre de los jarabes de fruta y de los líquidos concentrados son enlistados en las Tablas 87 y 88. Las interferencias probables de encontrarse son debido a otras sustancias volátiles reducidas,-

se encuentran en la Tabla 89-A.

El método es simple y rápido y no requiere de elaborados ensamblajes de equipo o de reactivos complicados. Los errores de pipeteo son minimizados, ya que sólo un reactivo se requiere. El reactivo PDT es fácil de preparar y es altamente sensible a las trazas del dióxido de azufre; puede ser almacenado por 2-3 meses. Los valores obtenidos a diferentes concentraciones de dióxido de azufre exhibieron una relación lineal y están en acuerdo con la ley de Beer para concentraciones de 0 a 30 $\mu\text{g/ml}$. Los resultados son reproducibles.

Las desviaciones estándar entre las determinaciones dobles por cada método y muestras son mostradas en la Tabla 87. Las desviaciones estándar obtenidas por el método dan un rango de 0.05 a 6.10 y están en acuerdo con el método de Nonier-Williams como fue modificado por Shipton (168). Las recuperaciones del dióxido de azufre dan un rango de 89.5 a 97.8%; éstos son también comparables a los resultados de la referencia 5.

La aplicabilidad de este método a otros procedimientos para frutas tal como fruta deshidratada y líquidos concentrados comerciales (concentrado de naranja, piña, y limón) fueron también examinados (Tabla 88). Las frutas secas fueron preparadas para análisis por el mezclado de 25 g de fruta - rebanada con agua (1:1) en un mezclador por 3-4 minutos. - La suspensión resultante fue usada para su análisis.

Los valores obtenidos por el método (aunque consistentemente bajos) son comparables a los obtenidos por el método de Monier-Williams.

Otros constituyentes volátiles como el etanol, acetaldehído, aceites esenciales, furfuraldehído, probablemente se encuentran en el destilado del jugo de fruta, no parecen interferir en la reacción entre el dióxido de azufre y el reactivo PDT (Tabla 89). La reacción es, por lo tanto, específica para el dióxido de azufre.

La estimación directa del dióxido de azufre sin previa destilación sería ideal para los productos alimenticios. -

Los esfuerzos para lograr este objetivo, sin embargo, no -- fueron exitosos, porque muchas de las bebidas poseen colo-- res naturales (amarillo o rojo) que interfieren con la medi-- ción del color. No obstante, el método puede ser de inmen-- sa utilidad para la industria de los alimentos por su simpli-- cidad, confiabilidad, y reproductibilidad.

12.3 DETERMINACION DE ESTAÑO POR EL METODO DE VIOLETA -
DE CATECOL

El estaño puede estar presente en los materiales orgánicos, tal como en los productos alimenticios, en concentraciones de menos que una parte a varios cientos de partes -- por millón. Se han considerado los métodos colorimétrico, titrimétrico y polarográfico para la determinación de pequeñas cantidades de estaño, y se concluyó que ningún método -- pudo ser adaptado convenientemente para la determinación de tal en el amplio rango de las concentraciones del estaño en la materia orgánica. Por lo tanto, se dividió una investigación en la examinación de los métodos para determinar el estaño en los dos rangos de concentración. Para las cantidades de estaño hasta de $30 \mu\text{g}$ es recomendado un método colorimétrico basado en la reacción del estaño (IV) con el violeta de catecol; el otro método es el método colorimétrico-involucrando el uso del complejo de zinc de tolueno-3,4-ditiol para cantidades en el rango de 30 a $150 \mu\text{g}$. Para cantidades arriba de $150 \mu\text{g}$ es adecuado el método espectrofotométrico con quercetina.

El método para cantidades de estaño no mayores de 30 - μg está basado en el de Newman y Jones (169), pero contiene modificaciones de los procedimientos de Tanaka y Yamayoshi (10). Este método fue escogido porque contiene un paso de extracción con solvente designado para la extracción selectiva del estaño de las soluciones del ácido sulfúrico tal como serían producidas de las oxidaciones húmedas de la materia orgánica.

12.3.1 METODO

PRINCIPIO DEL METODO

Después de la destrucción de la materia orgánica por la oxidación húmeda con los ácidos nítrico y sulfúrico (usar cualquiera de los métodos A-D sin la "Continuación de los Métodos," pp. 49-52); con los ácidos nítrico, perclórico y sulfúrico (usar cualquiera de los métodos A-D con la "Continuación de los Métodos," pp. 49-53) (7); o con el peróxido de hidrógeno al 50% en presencia del ácido sulfúrico (usar el procedimiento de la "Preparación de la Muestra," p. 247,

empezando en "A un matraz Kjeldahl..." (11) el ácido sulfúrico residual es diluido a cuatro veces su volumen con agua para dar una concentración del ácido de 9 N aproximadamente.

El estaño es separado selectivamente de esta solución tratandola con el yoduro de potasio y extrayendo el yoduro de estaño (IV) en tolueno. El estaño (IV) es entonces regresado a la solución acuosa agitando el extracto de tolueno con una solución de hidróxido de sodio. Después de la acidificación y de remover el yodo libre de la solución, el estaño (IV) es determinado espectrofotométricamente como su complejo coloreado con el violeta de catecol, la solución es regulada por la acción de un buffer a pH de 3.8 con el acetato.

RANGO

Para contenidos de estaño en el rango de 1 a 30 μg en la muestra tomada.

APLICABILIDAD

La reacción del color entre el estaño (IV) y el violeta de catecol está distante de ser selectiva. Sin embargo, Newman y Jones (169) han demostrado que el paso de la extracción con el solvente es altamente selectivo o aún específico. Para la presente aplicación, por lo tanto, el método recomendado puede ser considerado como específico.

REACTIVOS

Todos los reactivos deberán ser de grado analítico.

Agua. Purificar el agua destilada (en un aparato de vidrio) pasandola a través de una mezcla de resina fuertemente ácida (intercambio del catión) y de una resina fuertemente básica (intercambio del ión).

Acido sulfúrico, 9 N. Mezclar cuidadosamente 250 ml de ácido sulfúrico, densidad relativa de 1.84, con 500 ml de agua, enfriar a la temperatura ambiente, y diluir a 1 lt -- con agua.

Yoduro de potasio, 5 M. Disolver 83 g de yoduro de po

tasio en agua para producir 100 ml. Preparar diariamente.

Tolueno (bajo en benceno).

Hidróxido de sodio, 5 N y 0.1 N.

Acido clorhídrico, 5 N.

Solución de ácido ascórbico. Una solución acuosa al -
5% peso/V preparada recientemente.

Solución de violeta de catecol. Una solución acuosa -
al 0.05% peso/V. Preparada semanalmente.

Solución de acetato sódico trihidrato. Una solución -
acuosa al 20% peso/V.

Solución amoniacal, 5 N.

Solución patrón de estaño (IV). Disolver 0.1000 g de -
estaño granulado puro en 20 ml de ácido sulfúrico, densidad
relativa de 1.84, calentar hasta que aparezcan los vapores.
Enfriar, diluir cuidadosamente con 150 ml de agua, y enfriar
de nuevo. Agregar 65 ml de ácido sulfúrico, densidad rela-

tiva de 1.84, enfriar, y transferir a un matraz calibrado - de 500 ml. Diluir a la marca con agua.

1 ml de la solución \equiv 200 μ g de estaño.

Solución estándar de estaño (IV) diluida. Diluir 5.0 ml de la solución patrón de estaño (IV) a 100 ml con agua - en un matraz calibrado. Prepararla diariamente.

1 ml de la solución \equiv 10 μ g de estaño.

PREPARACION DE LA GRAFICA DE CALIBRACION

Transferir por medio de una pipeta, o de una bureta de poca capacidad, adecuados volúmenes de la solución estándar de estaño diluida, para cubrir el rango de 0 a 30 μ g de estaño, a una serie de vasos de precipitados de 50 ml y tratar cada uno como sigue: diluir a 7 ml con agua, agregar 1 ml - de hidróxido de sodio 5 N, y mezclar. Agregar 2.5 ml de ácido clorhídrico 5 N, mezclar, agregar 2.0 ml de la solución de violeta de catecol, mezclar otra vez, y agregar 5 - ml de la solución de acetato sódico (ver la Nota 1). Ajustar

tar el pH de la solución amoniaca a 3.8 ± 0.1 , con la ayuda de un pH-metro. Transferir a un matraz calibrado de 25-ml, diluir a la marca con agua, mezclar completamente, y dejar reposar por 30 minutos. Medir la densidad óptica de la solución en una celda de 1 cm a una longitud de onda de 552 $m\mu$, con la solución que no contiene estaño en la celda de referencia. Construir una gráfica relacionando la cantidad de estaño a la densidad óptica (ver la Nota 2). La gráfica deberá ser rectilínea y pasar por el origen.

NOTA 1 El orden de la adición de los reactivos es importante, y el orden formulado deberá ser seguido estrictamente.

NOTA 2 Cuando sea usada una botella nueva o un lote de violeta de catecol deberá ser preparada una nueva gráfica de calibración.

PROCEDIMIENTO

Diluir la solución de ácido sulfúrico conteniendo no más de 30 μ g de estaño a 9 N aproximadamente, enfriar, y trans-

ferirla a un embudo de separación. Por cada 25 ml de la solución agregar 2.5 ml de yoduro de potasio 5 M, mezclar y - agregar 10 ml de tolueno. Agitar vigorosamente el embudo - por 2 minutos, dejar que las capas se separen, y descargar- la fase acuosa. Lavar la capa de tolueno, sin agitarla, -- con 5 ml de una solución preparada mezclando 25 ml de ácido sulfúrico 9 N y 2.5 ml de yoduro de potasio 5 M, y descar - los lavados. La capa de tolueno será de color rosa con el- yodo extraído.

Agregar 5 ml de agua al extracto de tolueno y entonces gotear el hidróxido de sodio 5 N, con agitación, hasta que- la capa de tolueno sea incolora. Agregar dos gotas de hidró^oxido de sodio 5 N en exceso (generalmente es requerido un total de 8 a 10 gotas). Agitar el embudo por 30 segundos, dejar que las capas se separen, y transferir la capa acuosa - en un vaso de precipitado de 50 ml. Agitar la capa de to--lueno con 3 ml de hidróxido de sodio 0.1 N por 30 segundos, dejar que las capas se separen, y agregar la capa acuosa a- la solución del vaso de precipitado de 50 ml. Retener la - fase orgánica (tolueno).

Acidular la solución acuosa en el vaso de precipitado con 2.5 ml de ácido clorhídrico 5 N, y decolorar el yodo liberado por la adición gota a gota de la solución de ácido ascórbico. Agregar 2.0 ml de la solución de violeta de catecol, y mezclar. Lavar el tolueno retenido, sin agitación, con 5 ml de la solución de acetato sódico. Agregar los lavados a la solución del vaso de precipitado, mezclar, y - - ajustar el pH de la solución a 3.8 ± 0.1 con la solución amoniacal por medio de un pH-metro. Transferir la solución a un matraz calibrado de 25 ml, y completar la determinación del estaño como se describió anteriormente en la "Preparación de la Curva de Calibración." Calcular la cantidad de estaño presente refiriéndose a la curva de calibración.

12.3.2 RESULTADOS

Una muestra de jugo de naranja fue dividida entre los laboratorios participantes en el estudio colaborativo. Cada laboratorio determinó el contenido de estaño por el método después de la oxidación con los ácidos nítrico y sulfúrico, o con peróxido de hidrógeno al 50% y ácido sulfúrico.

Las pruebas de recuperación también fueron conducidas en que las cantidades de estaño equivalente a 1.0, 2.0 y 10.0 ppm fueron agregadas a la muestra antes de la oxidación húmeda. El estaño fue agregado como porciones de la solución de estaño diluida (sulfato de estaño (IV) preparada como se describió en el "Método." En un laboratorio, el estaño fue -- agregado también como cloruro de estaño (IV) para averiguar si las pérdidas del cloruro de estaño (IV) por la volatilización pueden ocurrir durante las primeras etapas de la digestión.

Los resultados obtenidos son presentados en la Tabla - 89. Los cálculos para el contenido de estaño de la muestra están en buen acuerdo y las recuperaciones del estaño agregado fueron todas satisfactorias.

Dos de los laboratorios colaborantes encontraron que -- durante los experimentos preliminares en el jugo de naranja los resultados reproducibles fueron obtenidos solamente -- cuando fueron producidos digeridos completamente incoloros.

CAPITULO XIII
BOLSA DE MERCADO

13.1 DETERMINACION DE ARSENICO POR LA INCINERACION EN --
SECO EN LA PRESENCIA DEL OXIDO DE MAGNESIO Y EL NI-
TRATO DE MAGNESIO, Y EL METODO DE DIETILDITIOCARBA-
MATO DE PLATA

Vasak y Sedivec (224) reportaron que el arsénico (AsH_3) produce un complejo rojo con una solución de piridina de -- diétilditiocarbamato de plata (Ag-DDC), que hace posible de de tectar $0.5 \mu g$ de arsénico. La reacción es adecuada para la determinación colorimétrica del arsénico, especialmente en los materiales biológicos mineralizados.

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) debe ser removido con el acetato de plomo previo a la reacción del complejo. Powers et al. (188) reportó una pérdida de la arsina para el agua de la solución de acetato de plomo en el lavador y sugirió un procedimiento para el secado parcial del acetato de plomo impregnado en la lana de vidrio.

Liederman et al. (136) investigó la presencia de cobalto, mercurio, níquel, platino, plata, y paladio y grandes cantidades de cobre, antimonio, cromo, y molibdeno como posibles interferencias. La única aparente interferencia en la formación del color fue del antimonio, que formó un color rojo que produjo una absorbancia a 510 nm. Hoffman y Gordon (99) de mostraron que la adición de un exceso de SnCl_2 prevenía la interferencia del antimonio.

Morrison (163) presentó un método para el arsénico total en el alimento especial para animales, utilizando el procedimiento oficial de la incineración en seco de la AOAC seguido por la formación del color con el Ag-DDC. Morrison y George (164) han presentado un método para la determinación de arsénico en los tejidos, que está basado en el color del complejo de arsénico con Ag-DDC y utiliza el procedimiento de la incineración en seco modificado por Stone (212). El método presentado en esta sección es una modificación y compilación de los procedimientos referidos previamente (102).

REACTIVOS

(Usar productos químicos grado reactivo a menos que se especifique otra cosa).

(a) Polvo de fibra de celulosa. Whatman CF-1.

(b) Solución de yoduro de potasio al 15% de KI en agua.

(c) Solución de cloruro estañoso al 40% de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en HCl concentrado.

(d) Solución de dietilditiocarbamato de plata. Preparar Ag-DDC al 0.5% en piridina de calidad espectral. (Almacenar en recipiente oscuro; la solución es estable por varios meses).

(e) Acetato de plomo. Solución acuosa saturada.

(f) Zinc. Malla granular de 20 o 30, conteniendo $\leq 0.00001\%$ de As.

(g) Soluciones estándar de arsénico. (1) Solución patrón. Disolver 0.660 g de As_2O_3 en 25 ml de NaOH al 10%, diluir a 1 lt con agua, y mezclar. Diluir alícuotas de --

20.0 ml a 1 lt con agua y mezclar (10 μ g de arsénico/ml).--

(2) Estandar de trabajo. Preparar el día de la determinación. Diluir 10.0 ml de la solución patrón a 50.0 ml con agua y mezclar (2 μ g de arsénico/ml).

APARATOS

(Lavar todos los aparatos con HNO_3 (1+1) y enjuagar completamente antes de usar.)

(a) Cápsulas de evaporación. De 250 ml de capacidad;- Coors No. 180, tamaño 3A.

(b) Aparato de evolución de la Arsina. Preparado de acuerdo a 33.002 (b) (176), usar un matraz de 250 ml; ver la Fig. 27. Saturar la lana de vidrio con la solución de acetato de plomo y secar en una corriente de aire de un horno; colocar el tapón en el extremo más corto del tubo de engrega del aparato. Envolver el otro extremo del tubo de engrega con lana de vidrio sin impregnar para eliminar las burbujas. Usar tubos de ensayo cónicos de 15 ml para recolectar la solución.

PREPARACION DE LA MUESTRA

Separar los alimentos en los grupos de la Tabla 90 para el análisis.

Procesar cada alimento como normalmente sería preparado para el consumo.

Mezclar cada alimento para producir una suspensión homogénea.

INCINERACION EN SECO

Pesar 20.0 g de la muestra en una cápsula de evaporación limpia. Adicionar 3 g de MgO y 1 nivel de un vaso de laboratorio de 10 ml de polvo de celulosa Whatman y mezclar, adicionar bastante agua para formar la suspensión. Limpiar el agitador en la cápsula y secar en la corriente de aire del horno; entonces pre-carbonizar bajo una lámpara infrarroja hasta que termine la emisión de humo. Enfriar, cubrir con 3 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, y poner en un horno de mufla tibio. Calentar a 550° C y carbonizar 2 hrs después que el horno ha

ya alcanzado la temperatura de operación. Enfriar, humedecer las cenizas con agua, y disolver el residuo en 50 ml de HCl (1+1). Pasar la solución y el residuo al matraz de 250 ml con 2 porciones adicionales de 20 ml de HCl (1+1). Limpiar la cápsula de evaporación con varias porciones de agua y pasar los lavados al matraz hasta que el volumen total obtenido en el matraz sea de 175 ml.

EVOLUCION DE ARSINA

Pipetear 5,0 ml de la solución de Ag-DDC en tubos de ensayo cónicos. Agregar 2 ml de solución de KI y 1 ml de solución de SnCl_2 al matraz; agitar la solución después de cada adición. Agregar 6 g de zinc al matraz, rápidamente conectar el tubo de entrega en el matraz con el tubo de entrega dentro del tubo de ensayo cónico de este modo la arsina emitida pasa por la solución de Ag-DDC, y dejar que la evolución proceda por un mínimo de 1 hr (o hasta que cese el burbujeo).

Medir la absorbancia de la solución de Ag-DDC con el espectrofotómetro a la máxima absorbancia (alrededor de 540

nm) contra el reactivo "blanco" dentro de siguientes 4 horas.

NOTA Use celdas de 1 cm con tapones de Teflón.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Transferir alícuotas de 1.0, 3.0, 6.0, y 10.0 ml de alícuotas del estandard de trabajo en matraces de 250 ml. -- Agregar 90 ml de HCl (1+1) y 85 ml de agua y proceder como en la evolución de la evolución de la arsina. Graficar la absorbancia VS μg de arsénico. Calcular las ppm de arsénico como sigue:

$$\text{ppm de As} = \frac{\mu\text{g de As (de la curva de calibracion)}}{\text{g de la muestra.}}$$

13.1.2 RESULTADOS Y RECOMENDACIONES

La coloración roja producida de la reacción de la arsina y del Ag-DDC fue lineal para 1 a 20 μg de arsénico y la-

absorbancia fue reproducible. Aunque las recuperaciones de las muestras fortificadas fueron determinadas únicamente en 4 diferentes compuestos, todas las categorías de alimentos fueron examinadas para el arsénico y no se obtuvieron significantes interferencias.

El método presentado y las recuperaciones obtenidas fueron comparadas por el procedimiento de la incineración húmeda y la determinación colorimétrica, usando los reactivos de hipobromito de sodio y azul de molibdeno método oficial requiere un promedio de 80 hrs para el análisis de las 12 categorías de alimentos como están especificadas en el Programa de Dietas Totales. El mismo número de análisis puede ser realizado en 20-24 hrs, usando el método presentado.

Con un valor de la absorbancia de 0.05 como el límite mínimo para las lecturas fotométricas confiables, el método oficial tiene una sensibilidad mínima de $4 \mu\text{g}$, o 0.20 ppm - para el desarrollo de una muestra de 20 g. El método reportado tiene una sensibilidad mínima de $0.75 \mu\text{g}$, o 0.04 ppm - en esta misma base. Un substancial perfeccionamiento en recobrar el arsénico agregado es obtenido por el presente mé-

todo como comparado al método oficial; ver la Tabla 91.

El complejo rojo formado es estable hasta 4 hrs, pero después de este período se desvanecerá proporcionalmente. Sin embargo, solamente alrededor de un 10% menos en la absorbancia fue observado después de 24 hrs.

13.2 DETERMINACION DE FOSFORO POR EL METODO DE MOLIBDA-
TO DE SODIO

Esta sección describe un procedimiento para el análisis del fósforo y puede ser aplicado también a otros metales, si la presión de vapor del metal no es apreciable a la temperatura dada en el método por el paso de la incineración en seco. La composición de la bolsa de mercurio se encuentra en la Tabla 90. La bolsa de mercado representa la dieta recomendada para 2 semanas de un hombre o una mujer de 15 a 20 años (153).

13.2.1 SECCION EXPERIMENTAL

Los reactivos y los aparatos usados son:

a) Acido clorhídrico 0.1 N. Diluir 8.9 ml de HCl grado reactivo y analítico a 1 lt con agua destilada.

b) Acido clorhídrico (1+1).

c) Acido nítrico 2.5 N. Diluir 162.5 ml de HNO_3 grado

reactivo y analítico a 1 lt con agua destilada.

d) Molibdato de sodio al 10%. Pesar 100 g de molibdato de sodio, ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), grado reactivo y analítico, di solver, y diluir a 1 lt con agua destilada.

e) Solución estándar de fósforo, Pesar 0.2197 g de fosfato monobásico de potasio, grado reactivo, y disolver con agua destilada. Transferir a un matraz volumétrico de 500 ml y diluir al volumen con agua destilada (la concentración de fósforo es de $100 \mu\text{g/ml}$).

f) Espectrofotómetro Beckman DU.

g) Crisoles de platino (100 ml de capacidad). Lavar con HNO_3 (1+1) antes y después de usar y entonces enjuagar con agua destilada.

PROCEDIMIENTO

Pesar 5.00 g de cada muestra (excepto usar 10.0 g para las muestras del grupo 12) (ver la Tabla 90) en los crisoles de platino. Colocar los crisoles en un horno a 105°C

por 2 hrs aproximadamente. Carbonizar bajo las lámparas infrarojas hasta que cesen los humos e incinerar a 525° C en un horno de mufla (elevar lentamente la temperatura hasta 525° C para evitar la ignición) hasta que quede libre de carbón (una pequeña cantidad de carbón permanece generalmente en las muestras de los grupos 4 y 11 pero no parece interferir en los análisis). Disolver la ceniza bajo un vidrio de reloj con 5 ml de HCl (1+1). Agregar 20 ml de H_2O destilada y evaporar casi a sequedad en un baño de vapor. Agregar 20 ml de HCl 0.1 N y continuar calentando por unos minutos. Enjuagar cuidadosamente el vidrio de reloj en el crisol y transferir cuantitativamente la solución a través de un papel filtro Whatman No. 41 en un matraz volumétrico de 100 ml, excepto usar un matraz volumétrico de 200 ml para las muestras del grupo 2. Lavar el crisol con varias porciones de HCl 0.1 N, transferir cada una al matraz volumétrico, y diluir al volumen con HCl 0.1 N. Porciones dobles de 5 ml de HCl 0.1 N son llevadas por el procedimiento para los "blancos." Uno es diluido a 100 ml y el otro es diluido a 200 ml con HCl 0.1 N. Usar el "blanco" de 200 ml para las muestras del grupo 2 y el "blanco" de 100 ml para las demás.

ANALISIS DEL FOSFORO

Una tercera serie de diluciones es hecha de las diluciones ácidas iniciales. Transferir una alícuota a un matraz volumétrico de 50 ml. Agregar H_2O destilada hasta un volumen de 40 ml aproximadamente y agregar cuantitativamente 5,0 ml del reactivo de molibdato de sodio a cada matraz para la formación del color amarillo. Diluir cada matraz al volumen con agua destilada y agitar. Leer la absorbancia de la solución amarilla usando el espectrofotómetro con celdas de 1 cm contra H_2O destilada a 380 nm.

PREPARACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

Transferir la solución estándar de fósforo a los matraces volumétricos de 50 ml para preparar los estándares - conteniendo de 0-10 μg de fósforo/ml y proceder como en el "Análisis del Fósforo" empezando con "agregar 5 ml de HNO_3 2.5 N...".

CALCULOS

Determinar el fósforo de la curva de calibración obtenida graficando la absorbancia contra los microgramos por mililitro de las soluciones estandard;

$$\text{ppm de P} = \left[\begin{array}{l} (\mu\text{g/ml de la curva de calibración}) \\ (\text{factor de dilución, ml}) \end{array} \right] / \text{g de la muestra.}$$

13.2.2 RESULTADOS Y DISCUSION

El rango lineal de trabajo del fósforo dependerá del instrumento usado en el análisis. El rango lineal determinado para el fósforo usando un espectrofotómetro Beckman DU es de 0-10 $\mu\text{g/ml}$.

Es de interés indicar que las soluciones estandard han sido usadas hasta por 6 meses, guardadas a la temperatura ambiente, para hacer las curvas de calibración con ningún cambio significativo.

Los resultados del análisis del fósforo (para 20 bolsas de mercado) se encuentran en la Tabla 92. Las cifras represe

sentan los valores promedio de los grupos de la bolsa de mer
cado.

La eficiencia del método se determinó agregando cantidades conocidas de fósforo a las muestras de cada grupo y - 93). Las recuperaciones obtenidas indican que hay una buena precisión en la determinación de las trazas de este elemento por la metodología propuesta en los productos alimenti
cios.

CAPITULO XIV
TABLAS, GRAFICAS Y FIGURAS

14.1 TABLAS

Tabla 1. Determinación de arsénico en la leche en polvo conteniendo diferentes concentraciones de arsénico.

| Laboratorio | Peso de la muestra, g | Arsénico (As) encontrado, ppm |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|
| A | 5.0 | Nada |
| | 10.0 | 0.05 |
| | 10.0 | 0.10 |
| B | 5.0 | 0.18 |
| | 10.0 | 0.20 |
| | 10.0 | 0.2 |
| C | | 0.3 |
| | 2.0 | 0.5 |
| | 4.0 | 0.3 |
| D | 10.0 | 0.04 |
| | 5.0 | 0.14 |
| | 5.0 | 0.10 |
| E | 5.0 | 0.06 |
| | 10.0 | 0.04 |
| | 10.0 | 0.04 |
| F | 0.149 | 0.045 |
| | | 0.047 |
| | 0.175 | 0.038 |
| G* | | 0.040 |
| | 1.65 | 0.041 |
| | | 0.042 |
| | 1.34 | 0.043 |

*Estos resultados fueron obtenidos por la activación del neutrón.

Tabla 2. Precisión del Método.

| Calcio utilizado, g/ml | Absorbancia a 524 m μ | Desviación Estd. |
|------------------------------|------------------------------|------------------|
| 1 | 0.164 | + 0.004 |
| 2 | 0.322 | + 0.008 |
| 3 | 0.496 | + 0.004 |
| 5 | 0.801 | + 0.007 |
| 7 | 1.13 | + 0.02 |
| 10 | 1.64 | + 0.03 |

Tabla 3. Comparación de la exactitud del método-espectrofotométrico GBHA y el método de titulación EDTA para la determinación del calcio en la leche descremada.

| Calcio agregado mg/ml | METODO GBHA | | METODO EDTA | |
|-----------------------------|----------------------|-----------|----------------------|-----------|
| | Calcio enc. mg/ml | Rec. % | Calcio enc. mg/ml | Rec. % |
| 0 | 1.40 | ... | 1.27 | ... |
| 0.16 | 1.50 | 96.2 | 1.42 | 99.3 |
| 0.80 | 2.17 | 98.6 | 2.00 | 96.6 |
| 1.60 | 2.93 | 97.7 | 2.76 | 96.2 |
| 2.40 | 3.74 | 98.4 | 3.52 | 95.9 |
| 3.20 | 4.52 | 98.3 | 4.34 | 97.1 |
| 4.00 | 5.37 | 99.4 | 5.02 | 95.3 |
| 8.00 | 8.87 | 94.4 | 7.74 | 83.5 |

Tabla 4. Determinación de Cobre en la Leche.

| Muestra Comercial | Número de determinaciones | Conc. promedio de cobre/ μg por 100 ml | Limites de confianza (95%) |
|-------------------|---------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 6 | 34.5 | \pm 3.6 |
| 2 | 6 | 8 | \pm 2.3 |
| 3 | 6 | 12 | \pm 2.6 |

Tabla 5. Recuperación del cobre de los productos simulados de la descomposición húmeda de la leche en polvo.

| | | | | | | |
|---------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Cobre agregado, μg | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 40.0 | 40.0 | 40.0 |
| Cobre recuperado, μg | 10.3 | 10.0 | 10.4 | 40.3 | 40.6 | 40.4 |

Tabla 6. Recuperación del cobre en presencia del bismuto de los productos simulados de la descomposición húmeda de la leche en polvo.

| Cobre agregado, μg | Bismuto agregado, μg | Cobre recuperado μg |
|----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 10.0 | 20.0 | 9.7 |
| 10.0 | 20.0 | 10.1 |
| 10.0 | 20.0 | 9.8 |
| 40.0 | 20.0 | 39.5 |
| 40.0 | 20.0 | 39.0 |
| 40.0 | 20.0 | 40.0 |
| 10.0 | 40.0 | 10.7 |
| 10.0 | 40.0 | 9.7 |
| 10.0 | 40.0 | 9.7 |
| 40.0 | 40.0 | 39.5 |
| 40.0 | 40.0 | 39.0 |
| 40.0 | 40.0 | 39.5 |

Tabla 7. Resultados para el cobre en la leche en polvo, - - queso, y harina de trigo.

| Peso de la muestra, μg | Cobre agregado, μg | Cobre encontrado por el: | |
|--------------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| | | Método de neocupróina, μg | Método de dietilditiocarbamato de dietilamonio, μg |
| Muestras de leche en polvo: | | | |
| 3 | Nada | 3.5 | - |
| | 40 | 43.5, 43.7, 42.8 | - |
| 10 | Nada | 11.3 | - |
| | 40 | 47.6, 51.6 | - |
| Muestras de queso: | | | |
| 10 | Nada | 4.5, 4.7 | - |
| | 40 | 45.2, 45.1 | - |
| Muestras de harina de trigo: | | | |
| 5 | Nada | 10.5, 9.0 | 9.0, 9.0 |
| | 10 | - | 19.0, 18.8 |
| | 40 | 48.5, 49.2, 47.6 | 48.0, 48.0 |

Tabla 8. Cobre encontrado con el uso de la solución acuosa de neocuproina.

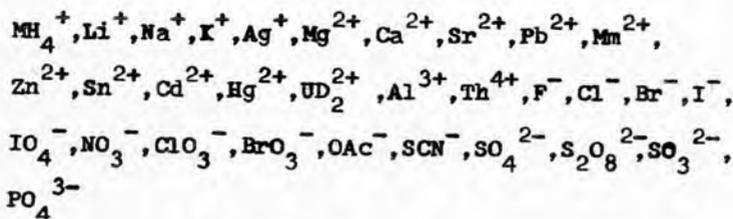
| Muestra | Peso de la muestra, g | Cu agre- gado, μ g | Cobre encontra- do, μ g |
|--------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.215 (equivalente a 50 mg de Ca) | Nada | 0.0 |
| | | 10 | 9.1 |
| | | 20 | 20.0 |
| | | 40 | 40.6, 41.0 |
| $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.43 (equivalente a 100 mg de Ca) | Nada | 0.0 |
| | | 10 | 10.2 |
| | | 20 | 18.6 |
| | | 40 | 40.2, 41.0 |
| $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.218 (equivalente a 50 mg de Ca) | Nada | 0.0 |
| | | 25 | 25.0, 27.0 |
| Harina de trigo | 5 | Nada | 9.0 |
| | | 40 | 45.3, 49.5 |
| Leche en polvo | 3 | Nada | 3.5 |
| | | 40 | 43.1, 43.5, 42.7 |
| Queso | 10 | Nada | 4.5, 4.5 |
| | | 20 | 24.6, 25.0 |
| | | 40 | 42.2, 43.4, 44.1 |

Tabla 9. Métodos Espectrofotométricos para la determinación de Hierro y Cobre en una única alícuota

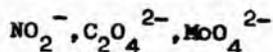
| Cromogéneos | Fases | Técnica | Referencias |
|--------------------------------------------------|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Uno (2,2'-dipiridina) | Una | Medir las absorbancias a dos apropiadas longitudes de onda y resolver: $A_1 = a_1 b C_{Cu} + a_1' b C_{Fe}$ $A_2 = a_2 b C_{Cu} + a_2' b C_{Fe}$ | (18)(219) |
| Dos (1,10-fenantrolina neocuproina) | Una | Igual como arriba, excepto un cromogéneo -- complejos el Fe el otro el Cu. | (133)(235) |
| Uno (1,10-fenantrolina) | Dos | Medir las absorbancias después de la distribución cuantitativa de los complejos entre las fases inmiscibles, y resolver: $A_1 = a_1 b C_{Cu}$ $A_2 = a_2 b C_{Fe}$ | (229) |
| Dos (2,2'-dipiridina diethyltioscarbamate) | Dos | Igual como arriba, excepto un cromogéneo -- complejos el Fe y el otro el Cu. | (235) |
| Uno (PDT) | Uno | Medir la absorbancia, destruir el complejo de cobre, medir la absorbancia debida al complejo del fierro y pérdidas en la absorbancia -- debido al complejo del cobre, y resolver: $\Delta A_1 = a_1 b C_{Cu}$ $(A_2)_{FINAL} = a_2 b C_{Fe}$ | (sec. 3.6) |

Tabla 10. Efecto de Varios Iones en la determinación de --
Fierro y Cobre por el Procedimiento Recomendado.

Iones tolerados a 1000 ppm:



Iones tolerados a 500 ppm:



Iones que interfieren y concentración aproximada de tolerancia en ppm dada en paréntesis:

| | | | |
|----------------------------|-------|---------------------------------------|------|
| $\text{CO}^{2+ \text{Fe}}$ | (50) | $\text{S}_2\text{O}_3^{2- \text{Cu}}$ | (20) |
| Cr^{3+} | (200) | Co^{2+} | (<1) |
| Ni^{2+} | (10) | Ni^{2+} | (50) |

Tabla 11. Exactitud y Precisión del Análisis de Agua.

Determinación de Hierro en presencia de Cobre (0.248-2.96 ppm)

| n | Fe, ppm | | Error Promedio | Desv. Estd. |
|---|---------|-----------|----------------|-------------|
| | | \bar{x} | % | Rel. |
| 5 | 0.061 | 0.065 | 6.5 | 7.4 |
| 5 | 0.122 | 0.125 | 2.5 | 3.3 |
| 5 | 0.306 | 0.304 | 0.6 | 1.1 |
| 5 | 0.612 | 0.612 | 0.0 | 1.2 |
| 5 | 0.736 | 0.732 | 0.5 | 0.8 |

Determinación de Cobre en Presencia de Hierro (0.061-0.736 ppm)

| n | Cu, ppm | | Error promedio | Desv. Estd. |
|---|---------|-----------|----------------|-------------|
| | | \bar{x} | % | Rel. |
| 5 | 0.248 | 0.239 | 3.6 | 5.1 |
| 5 | 0.496 | 0.496 | 0.0 | 1.6 |
| 5 | 1.24 | 1.24 | 0.0 | 0.9 |
| 5 | 2.48 | 2.50 | 0.8 | 1.4 |
| 5 | 2.96 | 3.02 | 2.0 | 1.9 |

Tabla 12. Análisis de leche homogeneizada.

| Muestra | Fe, ppm | | Cu, ppm | |
|--------------|------------------|------------|------------------|------------|
| | Presente | Encontrado | Presente | Encontrado |
| Leche | X | 0.212 | Y | 0.234 |
| | | 0.221 | | 0.249 |
| Leche con Fe | X + 0.220 | 0.453 | Y + 0.635 | 0.878 |
| | | 0.438 | | 0.878 |
| | | 0.451 | | 0.875 |
| | Promedio de X = | 0.223 | Promedio de Y = | 0.242 |
| | Desv. Estandar = | 0.009 | Desv. Estandar = | 0.006 |

Tabla 13. Resultados del estudio colaborativo del dióxido de titanio en el queso.

| Colaborador | M U E S T R A | | | |
|--------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | A | B | C | D |
| | 0.100 | 0.50 | 0.000 | Producto comercial |
| 1 | 0.100 | 0.052 | 0.001 | 0.381 |
| 2 | 0.087 ^a | 0.047 ^a | 0.000 | 0.325 ^a |
| 3 | 0.102 | 0.048 | 0.000 | 0.380 |
| 4 | 0.099 | 0.053 | 0.003 ^a | 0.376 |
| 5 | 0.102 | 0.052 | 0.000 | 0.374 |
| 6 | 0.100 | 0.050 | 0.000 | 0.380 |
| 7 | 0.098 | 0.048 | 0.000 | 0.375 |
| 8 | 0.120 ^a | 0.057 ^a | 0.003 ^a | 0.426 ^a |
| 9 | 0.100 | 0.051 | 0.002 | 0.386 |
| 10 | 0.104 | 0.053 | 0.000 | 0.387 |
| Promedio (\bar{x}) | 0.101 | 0.051 | 0.001 | 0.379 |
| Desviación Estand. (s) | 0.008 | 0.003 | 0.001 | 0.024 |
| Error Estandard ($s\bar{x}$) | 0.003 | 0.001 | 0.0004 | 0.008 |

^aNo se encuentra dentro del nivel de confianza del 99%

$$x = \frac{\sum x}{n}, \quad s = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}, \quad s\bar{x} = \frac{s}{n}.$$

Tabla 14. Recuperación del fósforo de la leche por el procedimiento espectrofotométrico con la incineración en seco (todos los datos están expresados como mg de P/100 g de leche.

| Muestra No. | P en la leche (promedio) | A L I C U O T A | | |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------------|-----------|------------|
| | | Calc. del P agregado | P Rec. | Rec., % |
| 1 | 93.71 | 1.52 | 94.73 | 99.47 |
| 2 | 90.09 | 2.30 | 93.07 | 100.74 |
| 3 | 94.67 | 1.93 | 96.98 | 100.39 |
| 4 | 92.19 | 2.16 | 94.11 | 99.75 |
| 5 | 91.86 | 2.40 | 94.50 | 100.25 |
| 6 | 91.25 | 2.45 | 95.34 | 101.75 |
| 7 | 98.33 | 1.56 | 97.44 | 97.55 |
| 8 | 99.20 | 1.83 | 99.05 | 98.04 |
| 9 | 92.78 | 1.70 | 94.95 | 100.50 |
| 10 | 95.42 | 1.64 | 98.69 | 101.68 |
| Recuperación promedio, % | | | | 100.01 |

Tabla 14. Continuación.

| A L I C U O T A B | | | A L I C U O T A C | | |
|---------------------------|-----------|------------|-------------------------|-----------|------------|
| Calc. del P agregado | P Rec. | Rec., % | Calc. del P agregado | P Rec. | Rec., % |
| 4.41 | 97.07 | 98.93 | 7.52 | 98.20 | 97.01 |
| 7.44 | 96.03 | 98.46 | 9.57 | 96.15 | 96.48 |
| 4.50 | 98.54 | 99.36 | 7.41 | 102.67 | 100.58 |
| 9.02 | 100.46 | 99.26 | 11.49 | 98.46 | 94.97 |
| 6.81 | 97.93 | 99.25 | 10.62 | 100.82 | 98.42 |
| 5.19 | 92.67 | 96.09 | 9.76 | 106.19 | 105.13 |
| 7.47 | 105.40 | 99.62 | 9.38 | 110.57 | 102.66 |
| 4.77 | 101.90 | 98.01 | 9.38 | 109.46 | 100.81 |
| 5.34 | 99.22 | 101.12 | 8.93 | 99.30 | 97.63 |
| 4.73 | 98.85 | 98.70 | 9.93 | 105.30 | 99.95 |
| Recuperación promedio, %: | | | | | 99.36 |
| | | | | | 98.88 |

Tabla 15. Reproducibilidad de los resultados por el método espectrofotométrico con la incineración en seco (mg de P/100 g de leche).

| Muestra No. | Análisis dobles | Promedio | Variación del promedio | Leche tipo* |
|-------------|-----------------|----------|------------------------|-------------|
| 1 | 93.11, 94.31 | 93.71 | 0.60 | H |
| 2 | 90.78, 89.40 | 90.09 | 0.69 | H |
| 3 | 94.76, 94.58 | 94.67 | 0.09 | H |
| 4 | 89.66, 94.72 | 92.19 | 2.53 | H |
| 5 | 91.97, 91.74 | 91.86 | 0.12 | H |
| 6 | 92.27, 90.23 | 91.25 | 1.02 | R |
| 7 | 97.12, 99.53 | 98.33 | 1.20 | H |
| 8 | 98.37, 100.03 | 99.20 | 0.83 | H |
| 9 | 92.02, 93.54 | 92.78 | 0.76 | R |
| 10 | 96.81, 94.04 | 95.42 | 1.38 | H |
| 11 | 97.45, 97.54 | 97.50 | 0.05 | H |
| 12 | 94.66, 92.31 | 93.49 | 1.18 | R |
| 13 | 93.85, 94.45 | 94.15 | 0.30 | H |
| 14 | 96.04, 97.10 | 96.57 | 0.53 | H |
| 15 | 94.46, 94.22 | 94.34 | 0.12 | H |
| 16 | 97.48, 98.27 | 97.88 | 0.39 | H |
| 17 | 92.73, 93.37 | 93.05 | 0.32 | H |
| 18 | 92.56, 93.73 | 93.15 | 0.58 | H |
| 19 | 94.03, 93.09 | 93.56 | 0.47 | H |
| 20 | 95.56, 96.07 | 95.82 | 0.26 | H |
| 21 | 92.82, 93.05 | 92.94 | 0.12 | R |
| 22 | 94.36, 94.57 | 94.47 | 0.10 | R |
| 23 | 103.96, 103.20 | 103.58 | 0.38 | R |

*H = Homogeneizada; R = regular.

Tabla 16. Comparación de los mg de P/100 g de leche con - el contenido total de los sólidos de la muestra

| Muestra No. | P (valor promedio) | Total de sólidos, % | Grasa, % |
|-------------|--------------------|---------------------|----------|
| 7 | 98.33 | 13.58 | 4.50 |
| 23 | 103.58 | 13.40 | 4.10 |
| 14 | 96.57 | 12.87 | 3.95 |
| 12 | 93.49 | 12.74 | 4.00 |
| 20 | 95.82 | 12.76 | 3.65 |
| 6 | 91.25 | 12.67 | 3.90 |
| 8 | 99.20 | 12.56 | 3.50 |
| 10 | 95.42 | 12.56 | 3.80 |
| 5 | 91.86 | 12.55 | 3.60 |
| 9 | 92.78 | 12.42 | 3.80 |
| 13 | 94.15 | 12.38 | 3.20 |
| 17 | 93.05 | 12.38 | 3.50 |
| 21 | 92.94 | 12.32 | 3.50 |
| 18 | 93.15 | 12.30 | 3.50 |
| 22 | 94.47 | 12.29 | 3.50 |
| 15 | 94.34 | 12.28 | 3.40 |
| 19 | 93.56 | 12.21 | 3.40 |
| 16 | 97.88 | 12.10 | 3.20 |
| 11 | 97.50 | 12.07 | 3.00 |

Tabla 17. Efecto del $Mg(NO_3)_2$ en la incineración en seco del método espectro fotométrico para el fósforo (todos los resultados convertidos a — mg de P/100 g de leche).

| Muestra No. | Con | Sin | Variación | Con | Variación |
|----------------|--------------------------------|-------|-----------|----------------|---------------|
| | $Mg(NO_3)_2$ * (valor base) | | | $Mg(NO_3)_2$ * | |
| 5 | 91.97 | 96.32 | + 4.35 | 91.97 | 91.74 - 0.23 |
| 6 | 92.27 | 92.04 | - 0.23 | 92.27 | 90.23 - 2.04 |
| 7 | 97.12 | 97.22 | + 0.10 | 97.12 | 99.53 + 2.40 |
| 8 | 98.37 | 98.60 | + 0.23 | 98.37 | 100.03 + 1.66 |
| 9 | 92.02 | 89.67 | - 0.35 | 92.02 | 93.54 + 1.52 |
| 10 | 96.81 | 95.55 | - 1.26 | 96.81 | 94.04 - 2.77 |
| 11 | 97.54 | 99.98 | + 2.44 | 97.45 | 97.54 + 0.09 |
| 12 | 93.85 | 93.05 | - 0.80 | 93.85 | 94.45 + 0.60 |
| 14 | 96.04 | 96.08 | + 0.04 | 96.04 | 97.10 + 1.06 |

*De la Tabla 15.

Tabla 18. Determinación de mercurio agregado a la leche en polvo.

| Laboratorio | Mercurio (Hg) agregado como cloruro mercúrico | | | Mercurio (Hg) agregado como acetato de fenilmercúrico | | |
|-------------|-----------------------------------------------|----------------------|---------------|-------------------------------------------------------|----------------------|---------------|
| | Cantidad agregada, | Cantidad recuperada, | Recuperación, | Cantidad agregada, | Cantidad recuperada, | Recuperación, |
| | μg | μg | % | μg | μg | % |
| A | 1 | 0.90 | 90 | 0.96 | 0.95 | 99 |
| | 1 | 0.85 | 85 | 0.96 | 0.98 | 102 |
| | 1 | 0.82 | 82 | | | |
| | 1 | 0.88 | 88 | | | |
| | 2 | 1.80 | 90 | 1.92 | 1.88 | 98 |
| | 2 | 1.95 | 98 | 1.92 | 2.00 | 104 |
| | 2 | 2.09 | 105 | | | |
| | 2 | 1.82 | 91 | | | |
| | 3 | 2.82 | 94 | 2.88 | 2.57 | 89 |
| | 5 | 4.75 | 95 | 2.88 | 2.69 | 93 |
| | 5 | 4.46 | 89 | | | |
| | 5 | 4.57 | 91 | | | |
| B | 5 | 4.3 | 86 | 2.0 | 1.9 | 95 |
| | 5 | 4.4 | 88 | | | |
| C | 1 | 0.85 | 85 | 1.03 | 1.09 | 106 |
| | 5 | 4.44 | 89 | 5.16 | 4.69 | 91 |

Tabla 19. Determinación de mercurio agregado a la leche en polvo.

1.0 μg de mercurio agregado como cloruro mercurico a cada determinación.

| Determinación No. | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|------------------------------------|------|------|------|------|------|------|
| Mercurio recuperado, μg | 0.96 | 1.02 | 1.03 | 1.00 | 0.98 | 0.99 |

Tabla 20. Resultados de los colaboradores para la Determinación de los nitratos (ppm) en el queso

| Colaborador | MUESTRA | | | | | Rec. F, % |
|------------------------|---------|------|-------|-------|-------|-----------|
| | C | D | E | G | F | |
| 1* | 0 | 64.7 | 195.9 | 175.5 | 301.2 | 109.1 |
| 2 | 0 | 57.3 | 153.4 | 155.2 | 269.8 | 97.8 |
| 3 | 0 | 55.4 | 162.1 | 162.1 | 285.1 | 103.3 |
| 4 | 0 | 53.6 | 151.5 | 153.4 | 275.3 | 99.7 |
| 5 | 0 | 59.1 | 157.1 | 164.5 | 277.2 | 100.4 |
| 6 | 0 | 51.2 | 146.2 | 151.3 | 278.3 | 100.8 |
| Promedio | 0 | 56.9 | 161.0 | 160.3 | 281.1 | 101.8 |
| Desviación Estandard | 0 | 4.7 | 17.9 | 9.0 | 11.0 | |
| Coef. de Var. | | 8.3 | 11.1 | 5.6 | 3.9 | |
| Promedio** | 0 | 55.3 | 154.0 | 157.2 | 277.0 | 100.4 |
| Desviación Estandard** | 0 | 3.1 | 6.0 | 5.7 | 5.5 | |
| Coef. de Var.** | | 5.6 | 3.9 | 3.6 | 2.0 | |

Estimación del error de la componente (muestras dobles E y G)

| | | |
|------------------------------|-------|-------|
| Variabilidad dentro del lab. | 7.08 | 3.0** |
| Variabilidad entre los labs. | 12.03 | 5.0** |

* Los resultados altos fueron obtenidos debido a la parte inferior de la curva de calibración y a la carencia de precisión.

** Con los resultados del colaborador 1 excluidos.

Tabla 21. Datos de los colaboradores (ppm de As) para la determinación de arsénico en la carne roja y en las aves de corral.

| Cantidad presente + As agregado | COLABORADOR | | | | | | | | |
|---------------------------------------|-------------|-------|------|------|-------|------|------|--------|------|
| | 1* | 2 | 3 | 4 | 5 | 6* | 7 | 8 | 9 |
| GRUPO 1 | | | | | | | | | |
| 0.0 | 0.0 | 0.0* | 0.0 | 0.0 | 0.0* | 0.14 | 0.0 | 0.16* | 0.01 |
| 0.28 | 0.13 | 0.39* | 0.22 | 0.29 | 0.20* | 0.44 | 0.29 | 0.87** | 0.30 |
| 1.12 | 0.89 | 1.07* | 1.11 | 1.02 | 0.49* | 1.35 | 1.36 | 1.32* | 1.01 |
| 2.32 | 1.82 | 1.86* | 2.33 | 2.10 | 2.17* | 2.40 | 2.31 | 1.39** | 2.26 |
| GRUPO 2 | | | | | | | | | |
| 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.10 | 0.0 | 0.14 | 0.0 | 0.43* | 0.11 |
| 0.64 | 0.50 | 0.56 | 0.59 | 0.65 | 0.55 | 0.56 | 0.60 | 0.48** | 0.53 |
| 0.81 | 0.67 | 0.84 | 0.77 | 0.82 | 0.56 | 0.70 | 0.97 | 0.65** | 0.72 |
| 1.81 | 0.45** | 1.96 | 1.82 | 1.53 | 1.46 | 1.64 | 1.98 | 1.37** | 1.60 |
| GRUPO 3 | | | | | | | | | |
| 0.28 | 0.15 | 0.13* | 0.39 | 0.20 | 0.27 | 0.44 | 0.35 | 0.0* | 0.24 |
| 0.58 | 0.50 | 0.51* | 0.60 | 0.53 | 0.62 | 0.70 | 0.77 | 0.0* | 0.51 |
| 1.29 | 1.23 | 1.07* | 1.43 | 1.13 | 1.35 | 1.34 | 1.40 | 0.0* | 1.23 |
| 2.41 | 2.23 | 2.45* | 2.51 | 2.23 | 2.55 | 2.60 | 2.76 | 0.0* | 2.25 |
| GRUPO 4 | | | | | | | | | |
| 0.0 | 0.65 | 0.05 | 0.0 | 0.43 | 0.05 | 0.38 | 0.12 | 0.0 | 0.0 |
| 0.74 | 1.45 | 0.73 | 1.03 | 1.10 | 0.78 | 1.10 | 0.68 | 0.44 | 0.69 |
| 0.90 | 0.45 | 1.22 | 0.73 | 1.12 | 0.96 | 1.28 | 1.08 | 0.73 | 0.76 |
| 1.96 | 1.33 | 2.02 | 1.70 | 2.10 | 1.92 | 2.08 | 2.01 | 1.24 | 1.89 |

Tabla 21. Continuación.

| GRUPO 5 | | | | | | | | | |
|----------------|------|------|--------|------|------|-------|-------|-------|------|
| 0.0 | 0.05 | 0.0 | 0.76* | 0.0 | 0.02 | 0.14 | 0.07 | 0.04 | 0.01 |
| 0.43 | 0.45 | 0.45 | 1.26** | 0.40 | 0.56 | 0.40 | 0.41 | 0.50 | 0.50 |
| 0.54 | 0.46 | 0.41 | 2.12** | 0.49 | 0.64 | 0.56 | 0.49 | 0.56 | 0.55 |
| 1.45 | 1.24 | 1.65 | 1.49* | 1.35 | 1.56 | 1.40 | 1.57 | 1.35 | 1.34 |
| GRUPO 6 | | | | | | | | | |
| 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.20* | 0.0 | 0.0 | 0.22 | 0.0 | 0.0 | 0.04 |
| 0.46 | 0.20 | 0.32 | 0.49* | 0.41 | 0.31 | 0.40 | 0.43 | 0.53 | 0.42 |
| 1.30 | 0.69 | 1.16 | 1.32* | 1.23 | 1.21 | 1.00 | 1.29 | 1.39 | 1.18 |
| 1.55 | 1.28 | 1.06 | 1.68* | 1.48 | 1.44 | 1.46 | 1.43 | 1.62 | 1.47 |
| Prom.de Rec.,% | 76.9 | 94.2 | 103.9 | 92.5 | 92.3 | 106.3 | 107.5 | 106.6 | 94.7 |
| Desv. Estd. | 18.2 | 22.6 | 13.4 | 7.5 | 21.7 | 25.2 | 13.8 | 8.5 | 8.7 |

* No incluido en el análisis estadístico.

** Indica un dato alejado; si un resultado fue un dato apartado, el grupo entero fue excluido del análisis estadístico.

Tabla 22. Comparación de los resultados seleccionados de los colaboradores, ordenados en un orden ascendente de la cantidad del arsénico presente*.

| As, ppm agregado y presente | Promedio, ppm | Recuperación, % | Desviación estandard | Coefficiente de Variac. |
|-----------------------------------|------------------|--------------------|-------------------------|----------------------------|
| 0.28 | 0.275 | 98.2 | 0.037 | 13.44 |
| 0.28 | 0.290 | 103.6 | 0.078 | 27.04 |
| 0.43 | 0.470 | 109.3 | 0.061 | 13.05 |
| 0.46 | 0.403 | 87.6 | 0.081 | 20.06 |
| 0.54 | 0.523 | 93.4 | 0.078 | 14.98 |
| 0.58 | 0.606 | 96.9 | 0.103 | 16.93 |
| 0.64 | 0.580 | 90.6 | 0.043 | 7.40 |
| 0.81 | 0.780 | 96.3 | 0.137 | 17.52 |
| 1.12 | 1.125 | 100.4 | 0.163 | 14.49 |
| 1.29 | 1.308 | 100.6 | 0.125 | 9.59 |
| 1.30 | 1.243 | 95.6 | 0.085 | 6.82 |
| 1.45 | 1.470 | 101.4 | 0.139 | 9.44 |
| 1.55 | 1.417 | 91.4 | 0.188 | 13.25 |
| 1.81 | 1.725 | 95.3 | 0.225 | 13.04 |
| 2.32 | 2.25 | 97.0 | 0.104 | 4.63 |
| 2.41 | 2.46 | 101.7 | 0.222 | 9.04 |

*Ver la Tabla 21 para los datos incluidos de los colaboradores.

Tabla 23. Efecto de la temperatura de incineración - en la determinación del arsénico en las -- muestras (40 g), sin agregar arsénico.

| Muestra | Temp., °C | As, μg/g |
|---------------------|--------------|-------------|
| OL-A ^a | 420 | 0.25 |
| OL-B | 420 | 0.25 |
| OL-C | 460 | 12.8 |
| OL-D | 460 | 15.2 |
| OL-E | 520 | 13.1 |
| OL-F | 520 | 12.8 |
| OL-G | 580 | 13.0 |
| As-1-A ^b | 420 | 2.3 |
| As-1-B | 420 | 2.3 |
| As -1-C | 460 | 7.7 |
| As-1-D | 460 | 7.0 |
| As-1-F | 520 | 7.2 |
| As-1-G | 520 | 7.0 |

^aOL = Hojas de huerto NBS; valor NBS (no certificado) = 14.0 g As/g.

^bAs = Muestra homogénea de tejido seco de pescado marino.

Tabla 24 Efecto del volumen de nitrato de magnesio - en la determinación del arsénico en las muestras (40 g), sin agregar arsénico.

| Muestra | Mg(NO ₃) ₂ agregado, ml | As, μg/g |
|---------|---------------------------------------------------|-------------|
| As-1-1* | 0 | 3.0 |
| As-1-2 | 0 | 6.9 |
| As-1-3 | 0 | 5.1 |
| As-1-4 | 5 | 6.9 |
| As-1-5 | 5 | 5.7 |
| As-1-6 | 5 | 5.4 |
| As-1-7 | 8 | 7.2 |
| As-1-8 | 8 | 6.8 |
| As-1-9 | 8 | 7.7 |
| As-1-10 | 10 | 7.5 |
| As-1-11 | 10 | 7.5 |
| As-1-12 | 12 | 7.3 |

* As-1, muestra homogénea de tejido de pescado marino.

Tabla 25. Recuperaciones del arsénico agregado (muestra - 40 g).

| Muestra | As agregado como As_2O_3 , μg | Recuperación, % |
|-----------------|-------------------------------------------------------------|--------------------|
| Hojas de huerto | 2 | 91 |
| Hojas de huerto | 3 | 92 |
| As-2* | 3 | 98 |
| As-2 | 5 | 93 |

* As-2, muestra homogénea de tejido seco de pescado marino.

Tabla 26. Comparación de las técnicas de la incineración en seco y de la digestión húmeda para la determinación del As.

| Muestra | As encontrado, $\mu\text{g/g}$ | |
|-----------|--------------------------------|---------------------|
| | Incineración en seco | Digestión húmeda |
| Jaiba-1 | 3.9 | 0.04 |
| Jaiba-2 | 3.5 | 0.04 |
| Jaiba-3 | 2.7 | 0.13 |
| Jaiba-4 | 5.4 | 0.26 |
| Almeja-1 | 3.0 | 0.29 |
| Almeja-2 | 0.9 | 0.09 |
| Escorpina | 0.6 | 0.04 |
| Lija-1 | 5.6 | 0.18 |
| Lija-2 | 2.3 | 0.39 |
| Lija-3 | 4.7 | 0.07 |

Tabla 27. Resultados del análisis de arsénico en las muestras estandarads.

| Muestra | Número de muestras analizadas | Rango, $\mu\text{g As/g}$ | Promedio $\mu\text{g/g}$ | Desviación estandar, $\mu\text{g/g}$ | Coficiente de variación, % |
|----------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------------------|----------------------------|
| Hojas de huerto* NBS | 8 | 12.8-15.2 | 13.4 | 0.93 | 7.0 |
| As-1 pescado marino | 13 | 6.2- 7.7 | 7.0 | 0.42 | 6.0 |
| As-2 pescado marino | 5 | 3.9- 4.8 | 4.4 | 0.36 | 8.1 |

* Valor del NBS (no certificado) = 14 g As/g

Tabla 28. Niveles de arsénico encontrados en varias especies de pescado marino.

| Especies | No. de muestras analizadas | $\mu\text{g As/g}$ (peso húmedo) | | |
|------------------|----------------------------|----------------------------------|---------|--------|
| | | mínimo | mediano | máximo |
| Jaiba | 18 | 2.2 | 8.6 | 27.0 |
| Almeja | 6 | 0.8 | 0.9 | 3.0 |
| Tiburón | 6 | 1.9 | 4.5 | 5.9 |
| Lija | 10 | 1.7 | 3.0 | 5.6 |
| Raya | 1 | - | - | 16.2 |
| | 3 | 0.4 | 10.2 | 10.3 |
| Salmón | 5 | - | - | 0.4 |
| Trucha arco iris | 1 | - | - | 0.4 |
| Bacalao | 1 | - | - | 0.3 |
| Escorpina | 27 | 0.3 | 0.3 | 2.6 |
| Hexagramo | 2 | - | - | 0.4 |
| Lenguado | 3 | 0.6 | 1.1 | 11.5 |

Tabla 29. Recuperación del arsénico agregado para el control de los tejidos de gallina (no corregido por las pérdidas en la recuperación).

| Agregado, ppm | HIGADO | | | RIÑON | | |
|------------------|------------------------------|------------|--------------------|------------------------------|------------|---------------------------------|
| | A, ^a 560 μ | C.V., % | Encontrado, ppm | A, ^d 560 μ | C.V., % | Encontrado, ^c ppm |
| 0.00 | 0.009 | - | 0.00 | 0.026 | - | 0.02 |
| 0.10 | 0.054 | 9.8 | 0.08 | 0.074 | 4.3 | 0.07 |
| 0.30 | 0.151 | 1.9 | 0.26 | 0.192 | 9.3 | 0.28 |
| 0.60 | 0.294 | 5.0 | 0.51 | 0.305 | 7.2 | 0.49 |
| 0.90 | 0.467 | 3.8 | 0.82 | 0.465 | 6.8 | 0.78 |
| 1.20 | 0.590 | 10.2 | 1.04 | 0.631 | 8.1 | 1.06 |
| 1.50 | 0.759 | 4.1 | 1.32 | 0.791 | 5.4 | 1.34 |

Ec. de mínimos cuadrados:

$$y = 0.005 + 0.050x$$

$$y = 0.023 + 0.050x$$

Recíproco de la pendiente: 20.0

20.0

Tabla 29. Continuación.

| Agregado, ppm | TEJIDO MUSCULAR | | | PIEL | | |
|------------------|---------------------------|------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------------|
| | A, ^b 560 mμ | C.V., % | Encontrado, ppm | A, ^b 560 mμ | C.V., % | Encontrado, ppm |
| 0.00 | 0.003 | - | 0.00 | 0.005 | - | 0.00 |
| 0.10 | 0.053 | 9.1 | 0.08 | 0.049 | 4.4 | 0.07 |
| 0.30 | 0.151 | 7.4 | 0.26 | 0.131 | 9.0 | 0.22 |
| 0.60 | 0.282 | 5.4 | 0.49 | 0.271 | 3.3 | 0.47 |
| 0.90 | 0.420 | 4.3 | 0.73 | 0.425 | 8.2 | 0.71 |
| 1.20 | 0.569 | 4.6 | 1.00 | 0.556 | 11.3 | 0.92 |
| 1.50 | 0.710 | 4.1 | 1.25 | 0.662 | 2.11 | 1.11 |

Ec. de mínimos cuadrados:

$$y = 0.005 + 0.047x$$

$$y = 0.010 + 0.042x$$

Recíproco de la pendiente: 21.3

23.8

^a Promedio de 8 determinaciones a cada concentración

^b Promedio de 4 determinaciones a cada concentración

^c Corregido para el control de la absorbancia del riñón de 0.026, excepto para 0.00 ppm.

Tabla 30. Datos de los análisis del ensayo colaborativo - del caviar preparado.

| % de ácido bórico encontrado en el caviar | | | |
|-------------------------------------------|-------|-----------------------|--------------------|
| <u>Análisis inicial</u> | | <u>Análisis final</u> | |
| | 0.599 | | 0.717 ^a |
| | 0.631 | | 0.715 ^a |
| | 0.642 | | 0.736 ^a |
| | 0.613 | | 0.727 ^a |
| | | | 0.718 ^a |
| | | | 0.710 ^a |
| | | | 0.721 ^b |
| | | | 0.753 ^b |
| | | | 0.748 ^b |
| | | | 0.752 ^c |
| Promedio | 0.621 | Promedio | 0.730 |
| Desv. Estandard | 0.019 | Desv. Estandard | 0.016 |
| Rango | 0.043 | Rango | 0.043 |
| Desv. promedio | 0.015 | Desv. promedio | 0.014 |

a, b, c Designados a diferentes colaboradores.

Tabla 31. Resultados de las Determinaciones Espectrofotométricas del Cobre y la Prueba de Recuperación en la Carne de Pescado y Leche en Polvo.

| No. de Análisis | Cu presente, μg | | Cu adicionado, μg | | Cu recuperado, % | |
|----------------------------------|----------------------------|--------|------------------------------|--------|------------------|--------|
| | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo | Mínimo | Máximo |
| PESCADO ^a | | | | | | |
| 32 | 2.6 | 13.9 | 2.0 | 5.0 | 87 | 104 |
| CALAMAR VOLADOR (Cephalopods) | | | | | | |
| 2 | 30.0 | 36.0 | 3.0 | | 101 | 104 |
| CAMARON (Peneus Sp.) | | | | | | |
| 2 | 30.0 | 36.0 | 3.0 | | 91 | 96 |
| LECHE EN POLVO | | | | | | |
| 14 | 1.5 | 2.0 | 2.0 | 5.0 | 87 | 100 |

^a Los análisis de pescado incluyeron sardineta blanca, pescado de agua dulce, tenca, lucio o sollo, perca, salmón, bacalao Báltico y sardineta, atún, traicionero albacora, y atún (caballa).

Tabla 32. Recuperación de cantidades micrográmicas del estaño de tres grupos de camarón cocido (20.0 μg de estaño por alícuota agregados a la muestra).

| Dobles | Estaño total encontrado, μg por alícuota | Desviación del contenido de estaño, μg por alícuota | Recuperación, % |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-----------------|
| GRUPO I: 20.0 μg de estaño agregado/10g de muestra; 1.0 μg de estaño presente/alícuota. | | | |
| 1 | 20.5 | - 0.5 | 98 |
| 2 | 22.4 | + 1.4 | 107 |
| 3 | 18.6 | - 2.4 | 88 |
| 4 | 17.9 | - 3.1 | 85 |
| 5 | 17.6 | - 3.4 | 83 |
| 6 | 21.9 | + 0.9 | 105 |
| Promedio | 19.8 | - 1.2 | 94 |
| GRUPO II: 100 μg de estaño agregado/10 g de muestra; 0.2 μg de estaño presente/alícuota. | | | |
| 1 | 21.8 | + 1.6 | 108 |
| 2 | 19.0 | - 1.2 | 94 |
| 3 | 20.2 | 0.0 | 100 |
| 4 | 21.8 | + 1.6 | 108 |
| 5 | 20.4 | + 0.2 | 101 |
| 6 | 22.6 | + 2.4 | 112 |
| Promedio | 21.0 | + 0.8 | 104 |
| GRUPO III: 200.0 μg de estaño agregado/10 g de muestra; 0.1 μg de estaño presente/alícuota. | | | |
| 1 | 20.0 | - 0.1 | 100 |
| 2 | 20.5 | + 0.4 | 102 |
| 3 | 20.5 | + 0.4 | 102 |
| 4 | 21.6 | + 1.5 | 108 |
| 5 | 21.4 | + 1.3 | 107 |
| 6 | 19.4 | - 0.7 | 97 |
| Promedio | 20.6 | + 0.5 | 103 |

Tabla 32. Continuación.

| | GRUPO I | GRUPO II | GRUPO III |
|------------------------------------------------------------------------|------------|-------------|--------------|
| Desviación promedio del valor medio, μg | 1.8 | 1.1 | 0.6 |
| Desviación estandar, μg | 2.1 | 1.3 | 0.8 |
| Límites de confianza superior, 90% | 4.3 | 2.8 | 1.7 |
| Límites de confianza inferior, 90% | 1.4 | 0.9 | 0.6 |
| Error estandar del valor medio, μg | 0.8 | 0.5 | 0.3 |
| % de la recuperación total: 100% | | | |
| Desviación promedio total del valor medio: 1.2 μg /alícuota | | | |
| Desviación estandar total: 1.4 μg | | | |
| Límites de confianza superior, 90%: | 2.0 | | |
| Límites de confianza inferior, 90%: | 1.1 | | |

Tabla 33. Relaciones entre la desviación estándar estimada, S_A (para mediciones simples), y pasos analíticos implicados.

| Pasos analíticos | Rango de concentración de 0 a 60 μg de estaño por 50 ml de solución final | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------|
| | Desv. Estd. estimada, S_A | Unidades de absorbancia μg por 50 ml | grados de libertad |
| NO INCLUYENDO VARIACION DE DIA EN DIA | | | |
| A | 0.0004 | 0.1 | 6 |
| A + B | 0.0005 | 0.15 | 5 |
| A + B + C | 0.0015 | 0.5 | 6 |
| A + B + C + D + E (muestras standards y pequeñas; relación del volumen de extracción 25:10) | 0.0012 | 0.4 | 11 |
| A + B + C + D + E (muestras de 100 g; relación del volumen de extracción 100:10) | 0.004 | 1.5 | 12 |
| INCLUYENDO VARIACION DE DIA EN DIA | | | |
| A + B + C + D + E (muestras standards y pequeñas; relación del volumen de extracción 25:10) | 0.014 | 5 | 8 |

A = Medición espectrofotométrica.

B = Almacenamiento de las soluciones finales en matraces calibrados por 1 hr antes de la medición espectrofotométrica.

C = Preparación de la solución final (no incluyendo el paso de extracción)

D = Extracción y extracción inversa.

E = Oxidación húmeda.

Tabla 34. Curvas de calibración con y sin previa extracción (1 a 12 μg por 50 ml).

| | | | | | | | | | |
|-------------------|--------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | $x = \mu\text{g de Sn}$ por 50 ml | 1.37 | 2.74 | 4.11 | 5.48 | 6.85 | 8.22 | 9.59 | 10.96 |
| | $y_1 = \text{Absorbancia}$ | 0.0223 | 0.0550 | 0.0655 | 0.0915 | 0.1107 | 0.1397 | 0.158 | 0.1805 |
| sin extracción | $\frac{y_1}{x} = \text{Pendiente}$ | 1.62 | 2.00 | 1.59 | 1.69 | 1.62 | 1.69 | 1.65 | 1.64 |
| | $y_2 = \text{Absorbancia}$ | 0.0175 | 0.0353 | 0.0512 | - | 0.0907 | 0.1088 | 0.1277 | 0.1375 |
| con extracción | $\frac{y_2}{x} = \text{Pendiente}$ | 1.35 | 1.29 | 1.24 | - | 1.32 | 1.32 | 1.34 | 1.25 |

Tabla 35. Determinaciones comparativas del estaño en alimentos enlatados para bebé por los dos métodos.

Todos los valores son dados en microgramos de estaño por gramo de muestra

| Muestra | METODO CON QUERCETINA | | | | METODO DE ABSORCION ATOMICA | | | | (a)-(b) |
|--------------------------------------|-----------------------|--------------|---------------|-----------------|-----------------------------|--------------|---------------|-----------------|--------------|
| | Total (a) | Agrega do | Conte nido | Di fe rencia | Total (b) | Agrega do | Conte nido | Di fe rencia | |
| Filete de pescado, lata I | 8.4 | 0.0 | 8.4 | + 0.1 | 8.6 | 0.0 | 8.6 | - 0.2 | - 0.2 |
| Filete de pescado, lata II | 11.4 | 0.0 | 11.4 | - 0.5 | 11.9 | 0.0 | 11.9 | + 1.4 | - 0.5 |
| Filete de carne y tomate, late I | 24.0 | 0.0 | 24.0 | - 1.1 | 24.0 | 0.0 | 24.0 | - 0.6 | 0.0 |
| Filete de carne y Tomate, lata II | 30.9 | 8.0 | 22.9 | + 2.8 | 31.4 | 8.0 | 23.4 | 0.0 | + 0.8 |
| Vegetales y carne, lata I | 24.1 | 0.0 | 24.2 | - 0.8 | 23.4 | 0.0 | 23.4 | - 0.8 | - 0.7 |
| Vegetales y carne, lata II | 35.0 | 8.0 | 27.0 | - 0.3 | 31.4 | 8.0 | 23.4 | - 0.2 | + 2.9 |
| Pure de manzana, lata I | 12.3 | 0.0 | 12.3 | - 2.8 | 9.4 | 0.0 | 9.4 | + 1.6 | +(9.6) |
| Pure de manzana, lata II | 71.2 | 0.0 | 71.2 | + 2.0 | 61.6 | 0.0 | 61.6 | - 1.0 | - 1.0 |
| Pure de manzana, lata III | 84.4 | 0.0 | 84.4 | - 1.0 | 79.2 | 0.0 | 79.2 | - 0.8 | + 2.8 |
| Pure de manzana, lata IV | 70.6 | 0.0 | 70.6 | - 0.6 | 71.6 | 0.0 | 71.6 | - 0.5 | + 0.4 |
| Promedio de la diferencia | 88.6 | 8.0 | 80.6 | | 86.6 | 8.0 | 78.6 | | |
| | 97.0 | 0.0 | 97.0 | | 94.2 | 0.0 | 94.2 | | |
| | 112.0 | 8.0 | 104.0 | | 109.4 | 8.0 | 101.4 | | |
| | 1.3 | 0.0 | 1.3 | | 0.9 | 0.0 | 0.9 | | |
| | 8.7 | 8.0 | 0.7 | | 7.6 | 8.0 | - 0.4 | | |
| | | | | - 0.22 ± 0.5 | | | | - 0.1 ± 0.3 | 0.5 ± 0.5 |

Tabla 36. Determinación de estaño con ditiol y quercetina

| | | Contenido de Sn, ppm, por | |
|-------------------|---|---------------------------|------------|
| | | Ditiol | Quercetina |
| Tocino y frijoles | A | 800 | 840 |
| | B | 470 | 495 |
| | C | 550 | 455 |
| | D | 230 | 245 |
| Cecina de res | X | 75 | 78 |
| | X | 86 | 78 |
| | X | 78 | 86 |

Tabla 38. Tabla de Calibración.

| Nitrado de sodio (mg) | Transmisión (%) | Nitrado de sodio (μ g) | Transmisión (%) |
|--------------------------|--------------------|--------------------------------|--------------------|
| 5 | 14 | 1000 | 29 |
| | | 800 | 32 |
| | | 600 | 38 |
| 4 | 17 | 400 | 44 |
| | | 200 | 50 |
| 3 | 21 | 100 | 58 |
| | | 80 | 62 |
| 2 | 25 | 60 | 68 |
| | | 40 | 79 |
| | | 20 | 84 |
| 1 | 29 | 10 | 94 |

Tabla 39. Contenido de Nitrito en Salchicha Cruda.

| Muestra de salchicha No. | Contenido de nitrito de sodio (mg %) |
|-----------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 4 |
| 2 | 4 |
| 3 | 4.5 |
| 4 | 20 |
| 5 | 4 |
| 6 | 20 |
| 7 | 4 |
| 8 | 30 |
| 9 | 8 |
| 10 | 20 |
| 11 | 10 |
| 12 | 20 |

Tabla 40. Recuperación del nitrato de sodio agregado a la salchicha (mg %).

| Muestra No. | Contenido original de la muestra | Nitrado de sodio agregado | Recuperación de nitrito de sodio agregado | Recuperación % |
|-------------|----------------------------------|---------------------------|-------------------------------------------|----------------|
| 1 | 38 | 20 | 18 | 90 |
| | | 40 | 42 | 105 |
| 2 | 8 | 10 | 11 | 110 |
| | | 40 | 39 | 97.50 |
| 3 | 20 | 80 | 81 | 101.25 |
| | | 20 | 20 | 100 |
| 4 | CERO | 100 | 99 | 99 |
| | | 50 | 49 | 98 |
| 5 | 10 | 90 | 92 | 102.22 |
| | | 10 | 10 | 100 |
| 6 | 30 | 70 | 70 | 100 |
| | | 10 | 10 | 100 |

Tabla 41. Resultados de las pruebas colaborativas: ppm de bromuro encontradas por los métodos titrimétrico (T) y espectrofotométrico (S).

| Colaborador | HARINA DE TRIGO | | LECHE DESHIDRAT. | | NUECES PACANA | | TRIGO | |
|-------------|-----------------|-------|------------------|-------|---------------|-------|-------|------|
| | T | S | T | S | T | S | T | S |
| 1 | 98.7 | 80.6 | 87.6 | 68.8 | 359.0 | 300.6 | 24.3 | 16.0 |
| | 101.4 | 77.3 | 91.3 | 67.7 | 355.7 | 272.1 | 29.5 | 20.4 |
| 2 | 73.8 | 75.4 | 70.4 | 77.9 | 262.3 | 267.8 | 24.2 | 21.2 |
| 3 | 102.6 | 97.9 | 97.2 | 104.0 | 298.4 | 319.2 | 24.0 | 22.8 |
| | 106.6 | 96.6 | 95.9 | 101.0 | 303.7 | 321.1 | 24.0 | 21.7 |
| 4 | 88.0 | 107.0 | 101.0 | 105.0 | 321.0 | 278.0 | 20.0 | 23.0 |
| | 97.0 | 102.0 | 90.0 | 98.0 | 258.0 | 320.0 | 18.0 | 27.0 |
| | | | | | 310.0 | 335.0 | | |
| 5 | 77.1 | 76.6 | 87.2 | 87.8 | 275.6 | 299.6 | 25.3 | 22.8 |
| | 72.0 | 83.0 | 102.4 | 79.3 | 260.4 | 295.6 | 31.1 | 23.9 |
| | | 88.5 | | | | 26.5 | | |
| Promedio | 90.8 | 88.5 | 82.5 | 87.7 | 300.4 | 300.9 | 24.7 | 22.1 |
| Desv. Estd. | 12.7 | 11.6 | 12.3 | 15.5 | 35.3 | 21.8 | 3.7 | 2.8 |

Tabla 42. Recuperación de cobre*.

| Laboratorio | Cobre agregado, μg | Cobre recuperado, μg |
|-------------|----------------------------------|------------------------------------|
| A | 10.00 | 10.0 |
| | 10.00 | 9.8 |
| | 40.00 | 39.0 |
| | 40.00 | 39.5 |
| B | 10.00 | 12.0 |
| | 10.00 | 10.0 |
| | 40.00 | 42.0 |
| | 40.00 | 38.0 |
| C | 10.00 | 9.5 |
| | 10.00 | 10.0 |
| | 40.00 | 41.0 |
| | 40.00 | 40.5 |
| D | 10.00 | 10.7 |
| | 40.00 | 41.8 |
| E | 10.00 | 10.2 |
| | 10.00 | 11.5 |
| | 10.00 | 11.5 |
| | 10.00 | 9.5 |
| | 40.00 | 38.0 |
| | 40.00 | 40.0 |

* Todos los resultados fueron obtenidos sobre la totalidad del residuo de la descomposición húmeda con la excepción de aquellos para el Laboratorio B, donde el residuo después de la descomposición fue diluido a 100 ml y se tomó a una alícuota de 25 ml.

Tabla 43. Recuperación de cobre en la presencia del bismuto*

| Laboratorio | Cobre agregado, μg | Bismuto agregado, μg | Cobre recuperado, μg |
|-------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| A | 10.0 | 250 | 9.5 |
| | 10.0 | 250 | 9.8 |
| B | 10.0 | 250 | 12.0 |
| | 10.0 | 250 | 14.0 |
| | 10.0 | 250 | 10.0 |
| C | 10.0 | 250 | 10.5 |
| | 10.0 | 250 | 10.0 |
| D | 10.0 | 250 | 9.5 |
| E | 10.0 | 250 | 11.0 |
| | 10.0 | 250 | 11.5 |

* Todos los resultados fueron obtenidos sobre la totalidad del residuo de la descomposición húmeda con la excepción de aquellos para el Laboratorio B, donde el residuo después de la descomposición fue diluido a 100 ml y se tomó una alícuota de 25 ml.

Tabla 44. Recuperación de mercurio agregado al arroz.

| Muestra | μg de Hg | | Absorbancia | |
|---------------------------------|---------------------|------------|-------------|----------|
| | Agregado | Encontrado | Muestra | Estandar |
| Arroz | 2 | 2.0 | 0.08 | 0.08 |
| Arroz | 5 | 4.0 | 0.14 | 0.17 |
| Arroz | 10 | 10.0 | 0.33 | 0.33 |
| Arroz | 20 | 19.1 | 0.19 | 0.20 |
| Arroz | 30 | 32.0 | 0.32 | 0.31 |
| Vaina de arroz | 30 | 28.1 | 0.29 | 0.31 |
| Arroz + 500 μg de Cu | 30 | 30.0 | 0.30 | 0.30 |
| Arroz | 40 | 39.1 | 0.41 | 0.42 |

Tabla 45. Residuos de mercurio encontrados en el arroz tratado en el campo con acetato de fenilmercurico.

| Parte de la planta* | ppm de mercurio |
|----------------------------|-----------------|
| BP paja (no tratada) | 0.0 |
| BP vaina (no tratada) | 0.0 |
| BP salvado (no tratado) | 0.1 |
| BP endosperma (no tratada) | 0.0 |
| Paja | 1.3 |
| Vaina | 0.4 |
| Salvado | 0.8 |
| Endosperma | 0.2 |
| BP paja | 0.2 |
| BP vaina | 0.1 |
| BP salvado | 0.2 |
| BP endosperma | 0.1 |
| Semilla de arroz I | 8.6 |
| Semilla de arroz II | 6.4 |
| Semilla de arroz III | 8.2 |

* BP = Producto de arroz.

Tabla 46. Recuperación del mercurio agregado como $HgCl_2$ a un grano de salvado de arroz.

| Adición, μg | MERCURIO, μg | | MERCURIO, μg | |
|------------------|----------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| | Total Encontrado (A) | Neto Encontrado (A-0.16) | Adicionado Recuperado % | Promedio Recuperado % |
| 0 | 0.16 | - | - | - |
| 0.5 | 0.58 | 0.42 | 84 | |
| 0.5 | 0.63 | 0.47 | 94 | 93 |
| 0.5 | 0.67 | 0.51 | 102 | |
| 1.0 | 1.01 | 0.85 | 85 | |
| 1.0 | 1.23 | 1.07 | 107 | 96 |
| 1.0 | 1.13 | 0.97 | 97 | |
| 1.5 | 1.59 | 1.43 | 95 | |
| 1.5 | 1.51 | 1.35 | 90 | 91 |
| 1.5 | 1.47 | 1.31 | 88 | |

Tabla 47. Análisis del contenido de mercurio.

| Muestras | Digestión húmeda Hg encontrado ppm | RECIPIENTE DE COMB. | |
|---------------------------------|------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------|
| | | Hg encon- trado ppm | peso de la muestra a- nalizada, g |
| Cabello | 4.0 | 4.60 | 0.50 |
| Cabello | 6.5 | 6.35 | 0.50 |
| Salvado de arroz | 1.58 | 1.72 | 2.00 |
| Salvado de arroz | 1.58 | 1.66 ^a | 2.00 |
| Salvado de arroz | 1.45 | 1.51 | 2.00 |
| Arroz | 0.61 | 0.80 | 4.00 |
| Arroz | 0.097 | 0.18 | 4.00 |
| Arroz | 0.11 | 0.17 | 4.00 |
| Hígado | 24.6 | 25.99 | 0.34 ^c |
| Riñón | 19.2 | 13.07 | 0.28 ^c |
| Sesos | 2.17 | 2.27 | 0.405 ^c |
| Sesos | - | 2.95 | 0.62 ^c |
| Aceite vegetal ^b | - | trazas ^a | 1.00 |
| Aceite de ajonjolí ^b | - | trazas ^a | 1.00 |

^a Los datos obtenidos por la combustión en el recipiente de presión del cual el recipiente interior de platino — fue separado.

^b Las muestras fueron vaciadas directamente en la copa de platino e incineradas.

^c Las muestras fueron secadas en vacío sobre pentóxido de fósforo.

Tabla 48. Recuperación de los compuestos organomercúricos agregados a las patatas, al arroz y a la cebada.

| | | Mercurio, μg (netos), recuperado de | | |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | | Urea de fenilmercurio (100 μg de mercurio) agregado a la cebada (10 g) | Acetato de fenilmercurio (100 μg de mercurio) agregado a la cebada (10 g) | Cloruro de etilmercurio (10 μg de mercurio) agregado a la cebada (10 g) |
| Cloruro de fenilmercurio (5 μg de mercurio) agregado a las | | | | |
| patatas (50 g) | arroz (25 g) | | | |
| 4.7 | 4.4 | 99 | 97 | 9.5 |
| 4.7 | 4.6 | 95 | 93 | 8.8 |
| 4.7 | 5.1 | 98 | 97 | 9.7 |
| 4.9 | 4.7 | 90 | 98 | 8.7 |
| 4.8 | 4.6 | 94 | 100 | 8.9 |
| 4.7 | 4.7 | 97 | 98 | 9.2 |
| 4.9 | 4.5 | 97 | 101 | 8.6 |
| Promedio: | | | | |
| 4.7 (5) | 4.6 (5) | 95 | 97 (.5) | 8.9 (5) |
| (95%) | (93%) | (95%) | (97.5%) | (89.5%) |
| Desviación estandard: | | | | |
| ± 0.1 | ± 0.2 | ± 3 | ± 3 | ± 0.3 |

Tabla 49. Recuperación del níquel de la harina de trigo.

| Muestra | Peso de la muestra, g | Ni agregado <i>μg</i> | Ni recuperado <i>μg</i> |
|-----------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|
| Harina de trigo | 10.000 | 10.0 | 10.2 |
| | | 30.0 | 32.3 |
| | | 30.0 | 31.6 |
| | | 60.0 | 60.0 |
| | | 60.0 | 59.0 |

Tabla 50. Efecto de las condiciones de reacción en la forma -
ción del color.

| N, μ g | Digerido, ml | EDTA, ml | Soln. A, ml | ABSORBANCIA NETA A | | | |
|--------------------------------|-----------------|-------------|----------------|--------------------|-------|-------|-------|
| | | | | 0.5 hr | 1 hr | 2 hr | 3 hr |
| CATALIZADOR DE CuSO_4 | | | | | | | |
| 0 | 5 | 1 | 5 | 0.010 | 0.010 | 0.010 | 0.010 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 0.269 | 0.277 | 0.278 | 0.278 |
| 20 | 5 | 0 | 5 | 0.028 | 0.178 | 0.198 | 0.207 |
| 20 | 5 | 1 | 0 | 0.171 | 0.242 | 0.267 | 0.270 |
| 20 | 5 | 1 | 2.5 | 0.218 | 0.275 | 0.286 | 0.285 |
| 20 | 5 | 1 | 5 | 0.230 | 0.277 | 0.285 | 0.285 |
| 20 | 5 | 1 | 10 | 0.229 | 0.268 | 0.272 | 0.272 |
| 20 | 10 | 1 | 10 | 0.215 | 0.274 | 0.274 | 0.288 |
| CATALIZADOR DE HgO | | | | | | | |
| 0 | 5 | 1 | 5 | 0.010 | 0.010 | 0.011 | 0.011 |
| 20 | 5 | 0 | 5 | 0.157 | 0.166 | 0.168 | 0.171 |
| 20 | 5 | 1 | 5 | 0.229 | 0.260 | 0.280 | 0.288 |

Tabla 51. Comparación del método propuesto con el método - Kjeldahl, secs. 2.049-2.051 de la ref. (177).

| Muestra | METODO PROPUESTO | | | METODO KJELDAHL | |
|---------------------------|-------------------|------|-------------------|-----------------|---------------|
| | Catalizador | N, % | Equiv. proteína % | N, % | Equiv Prot. % |
| Maíz 1 | CuSO ₄ | 1.86 | 11.6 | 1.78 | 11.1 |
| | | 1.91 | 11.9 | 1.81 | 11.3 |
| | HgO | 1.76 | 11.0 | | |
| | | 1.79 | 11.2 | | |
| Maíz 2 | CuSO ₄ | 1.62 | 10.1 | 1.55 | 9.7 |
| | | 1.66 | 10.4 | 1.58 | 9.9 |
| | HgO | 1.55 | 9.7 | | |
| | | 1.57 | 9.8 | | |
| Trigo (planta y grano) | CuSO ₄ | 1.89 | 10.8 | 1.81 | 10.3 |
| | | 1.89 | 10.8 | 1.86 | 10.6 |
| | HgO | 1.81 | 10.3 | | |
| | | 1.82 | 10.4 | | |
| Alfalfa | CuSO ₄ | 3.06 | 19.1 | 2.96 | 18.5 |
| | | 3.10 | 19.4 | 3.02 | 18.9 |
| | HgO | 2.98 | 18.6 | | |
| | | 3.01 | 18.8 | | |
| Semilla de soya | CuSO ₄ | 5.74 | 35.9 | 5.63 | 35.2 |
| | | 5.81 | 36.3 | 5.70 | 35.6 |
| | HgO | 5.57 | 34.8 | | |
| | | 5.63 | 35.2 | | |

Tabla 52. Recuperación del selenio agregado a varios productos de las plantas^a.

| Producto de la planta | Se en el producto de la planta, ^b ppm | Se agregado, ppm | Contenido de Se de la mezcla por espectrofotometría, ppm | Recuperación del Se agregado, % |
|----------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| Aceite de harina de soya | 0.4 | 20.0 | 20.0 ± 1.0 ^c | 98 |
| Maíz | 0.1 | 20.0 | 20.5 | 102 |
| Aceite de harina de linaza | 0.8 | 20.0 | 20.0 | 96 |
| Salvado de trigo | 0.6 | 20.0 | 19.6 | 95 |

^a El selenio fue agregado como selenita de sodio y la mezcla fue molida por 24 hrs. con un molino de bola.

^b Por análisis fluorométrico, secs. 3.074-3.078 de la ref. (177).

^c Promedio de 5 determinaciones hechas en un período de 3 semanas con la -- desviación estandar.

Tabla 53. Efecto del fósforo y del silicón en la recuperación del arsénico de las soluciones sintéticas

| As agregado, % | P | Si | As encontrado, % |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|-----|---------------------|
| Extracción del fósforo con 1-butanol-cloroformo. Extracción del arsénico con 1-butanol. | | | |
| 0 | 5000 | | 1.3 |
| 15 | 5000 | | 17.1 |
| 30 | 5000 | | 31.0 |
| Extracción del fósforo con 1-butanol-cloroformo. Extracción del arsénico con 1-butanol. | | | |
| 0 | 1000 | 50 | 1.0 |
| 15 | 1000 | 50 | 17.5 |
| 30 | 1000 | 50 | 33.5 |
| Extracción del fósforo con 1-butanol-cloroformo. Extracción del arsénico con 1-butanol-acetato de etilo. | | | |
| 0 | 1000 | 50 | 0.6 |
| 15 | 1000 | 50 | 17.7 |
| 30 | 1000 | 50 | 31.6 |
| Extracción de fósforo con 1-butanol-cloroformo. Extracción del arsénico con 1-butanol. | | | |
| 0 | 5000 | 450 | 8.2 |
| 15 | 5000 | 450 | 21.0 |
| 30 | 5000 | 450 | 37.3 |
| Extracción del fósforo con 1-butanol-cloroformo. Extracción del arsénico con 1-butanol-acetato de etilo. | | | |
| 0 | 5000 | 450 | 5.5 |
| 15 | 5000 | 450 | 18.3 |
| 30 | 5000 | 450 | 35.5 |

Tabla 54. Recuperación del arsénico de las patatas.

| Agregado, ppm | Encontrado, ppm | Recuperación % |
|-----------------------------------------|--------------------|-------------------|
| Extracción con 1-butanol | | |
| 1.00 | 1.05 | 105.3 |
| 1.00 | 0.68 | 68.0 |
| 1.33 | 0.93 | 69.5 |
| 1.33 | 1.55 | 116.0 |
| 1.33 | 0.93 | 70.0 |
| 1.33 | 1.17 | 87.5 |
| 1.33 | 1.53 | 115.0 |
| 2.00 | 1.95 | 97.7 |
| 2.00 | 2.17 | 108.3 |
| 2.00 | 1.87 | 93.3 |
| 2.00 | 2.27 | 113.3 |
| 2.00 | 1.60 | 80.0 |
| 2.00 | 1.56 | 78.0 |
| 2.00 | 2.03 | 101.7 |
| 2.00 | 1.70 | 85.0 |
| 2.00 | 1.69 | 84.7 |
| 2.00 | 2.08 | 104.0 |
| 2.00 | 1.68 | 84.0 |
| 2.00 | 1.93 | 96.7 |
| 2.00 | 1.99 | 99.3 |
| 8.00* | 8.59 | 107.3 |
| 8.00* | 8.09 | 101.2 |
| 8.00* | 7.82 | 97.8 |
| Extracción de 1-butanol-acetato de etil | | |
| 1.00 | 0.76 | 76.0 |
| 1.33 | 1.41 | 106.0 |
| 1.33 | 1.31 | 98.0 |

* Se analizó una alícuota de 10 ml de la solución de ceniza.

Tabla 55. Recuperación del estaño agregado a las muestras de frijoles en salsa de tomate.

| Peso de la muestra, g | Sn en el peso de la muestra, μg | Estaño agregado, μg | Estaño total encontrado, μg | Estaño (agregado) recuperado, μg | Porcentaje recuperac. |
|-----------------------|--------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------|
| 5.0 | 575 | 500 | 1035 | 460 | 92 |
| 5.0 | 575 | 1250 | 1660 | 1085 | 87 |
| 5.0 | 575 | 2500 | 2400 | 1825 | 73 |
| 2.0 | 230 | 500 | 740 | 510 | 102 |
| 2.0 | 230 | 750 | 970 | 740 | 99 |
| 5.0 | 290 | 500 | 750 | 460 | 92 |
| 5.0 | 290 | 1000 | 1175 | 885 | 89 |
| 2.0 | 116 | 125 | 240 | 124 | 99 |
| 2.0 | 116 | 250 | 350 | 234 | 93 |
| 2.0 | 116 | 500 | 596 | 480 | 96 |
| 2.0 | 116 | 750 | 856 | 740 | 99 |

Tabla 56. Recuperación del estaño de porciones de 10 g de las zanahorias deshidratadas.

| Laboratorio | Estaño agregado, ppm | Estaño recuperado, ppm |
|-------------|----------------------|------------------------|
| A | 15.0 ^c | 15.2 |
| | 15.0 ^c | 15.6 |
| | 15.0 ^c | 16.2 |
| | 30.0 ^c | 30.4 |
| | 30.0 ^c | 30.4 |
| | 30.0 ^c | 31.0 |
| B | 15.0 ^a | 19.0 |
| | 15.0 ^a | 18.5 |
| | 15.0 ^a | 16.3 |
| | 30.0 ^a | 33.5 |
| | 30.0 ^a | 33.0 |
| | 30.0 ^a | 31.3 |
| C | 10.0 ^b | 9.5 |
| | 15.0 ^c | 14.5 |
| | 15.0 ^c | 14.5 |
| | 30.0 ^c | 28.0 |
| | 30.0 ^c | 30.0 |
| | 30.0 ^c | 29.0 |

^a Las muestras fueron oxidadas con los ácidos nítrico, -perclórico y sulfúrico.

^b Las muestras fueron oxidadas con los ácidos nítrico, -y sulfúrico.

^c Las muestras fueron oxidadas con peróxido de hidrógeno al 50% y ácido sulfúrico.

Tabla 57. Recuperación del estaño de porciones de 10 g de pulpa de fruta.

| Estaño agregado, ppm | Estaño recuperado, ppm |
|----------------------------|------------------------------|
| 15.0 | 12.7 |
| 15.0 | 13.5 |
| 30.0 | 28.7 |
| 30.0 | 29.5 |

Tabla 58. Datos para la curva de calibración* del estaño -
medido colorimétricamente por el método de di-
tiol.

| Estaño presente, μg | Absorbancia | Estaño encontrado, μg |
|-----------------------------------|-------------|-------------------------------------|
| 2.02 | 0.020 | 1.93 |
| 3.99 | 0.044 | 4.24 |
| 7.99 | 0.083 | 7.99 |
| 19.93 | 0.205 | 19.74 |
| 39.93 | 0.415 | 39.96 |
| 59.92 | 0.627 | 60.38 |
| 80.03 | 0.841 | 80.99 |
| 99.83 | 1.030 | 99.19 |
| 119.78 | 1.250 | 120.37 |
| 139.64 | 1.449 | 139.54 |
| 159.73 | 1.659 | 159.76 |
| 179.74 | 1.849 | 178.06 |

* Volumen = 50 ml, longitud de onda = 530 nm, longitud de la celda = 10 cm.

Tabla 59. Dobles determinaciones por los dos procedimientos de extracción.

| Muestra y forma del estaño* | Estaño encontrado, ppm | Dif. |
|------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| PROCEDIMIENTO DE DESTILACION | | |
| Peras + estaño inorganico | 0.129,0.137 | 0.008 |
| Peras + $C_{y3}SnOH$ | 0.205,0.200 | 0.005 |
| Naranjas + estaño inorganico | 0.011,0.010 0.020,0.020 | 0.001 0.000 |
| Manzanas + estaño inorganico | 0.035,0.035 0.038,0.036 0.045,0.039 0.075,0.074 0.142,0.131 0.449,0.446 1.035,1.069 4.178,4.142 | 0.000 0.002 0.006 0.001 0.011 0.003 0.034 0.036 |
| Manzanas + $C_{y2}SnO + C_ySnO_2H$ | 0.187,0.196 0.406,0.463 1.536,1.571 3.837,3.908 | 0.009 0.057 0.035 0.071 |
| Manzanas + $C_{y3}SnOH$ | 0.103,0.107 | 0.004 |

Tabla 59. Continuación

| Muestra y forma del estaño* | Estaño encontrado, ppm | Dif. |
|---------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-------|
| PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION | | |
| Manzanas (lavadas), control | 0.000,0.000 | 0.000 |
| Manzanas descortezadas, control | 0.024,0.026 | 0.002 |
| Manzanas + estaño inorganico | 0.030,0.028 | 0.002 |
| | 0.064,0.064 | 0.000 |
| | 0.106,0.126 | 0.020 |
| | 0.409,0.439 | 0.030 |
| | 1.110,1.089 | 0.021 |
| | 4.160,4.276 | 0.116 |
| Manzanas + C _{y2} SnO + C _y SnO ₂ H | 0.048,0.041 | 0.007 |
| | 0.210,0.190 | 0.020 |
| | 0.440,0.420 | 0.020 |
| | 1.580,1.617 | 0.037 |
| | 3.904,3.939 | 0.035 |
| Manzanas + C _{y3} SnOH Residuo de fumigación | 0.238,0.230 | 0.008 |
| | 0.269,0.268 | 0.001 |
| Manzanas descortezadas + C _{y3} SnOH residuo de fumigación | 1.674,1.641 | 0.033 |
| | 1.595,1.602 | 0.007 |
| | 2.609,2.571 | 0.038 |
| Peras + C _{y3} SnOH residuo de fumigación | 0.228,0.205 | 0.023 |
| | 0.263,0.248 | 0.015 |
| | 0.282,0.275 | 0.007 |
| | 0.313,0.313 | 0.000 |
| | 0.447,0.440 | 0.007 |
| | 0.610,0.602 | 0.008 |
| | 0.436,0.411 | 0.025 |

* C_y = ciclohexil (C₆H₁₁)

Tabla 60. Recuperación del ciclohexil estaño y del estaño inorgánico por el método de destilación

| Muestra y forma del estaño | Estaño agregado, ppm | ESTAÑO RECOBRADO | |
|---------------------------------|-------------------------|------------------|-------|
| | | ppm* | % |
| Manzanas + C _{y2} SnOH | 0.101 | 0.103 | 102.0 |
| | 0.101 | 0.107 | 105.9 |
| | 0.267 | 0.259 | 97.0 |
| | 0.366 | 0.363 | 99.2 |
| | 0.732 | 0.740 | 101.1 |
| | 0.871 | 0.839 | 96.3 |
| | 1.595 | 1.516 | 95.0 |
| | 1.660 | 1.572 | 94.7 |
| | 1.707 | 1.605 | 94.0 |
| Peras + C _{y3} SnOH | 0.101 | 0.090 | 89.1 |
| | 0.101 | 0.091 | 90.1 |
| | 0.198 | 0.196 | 99.0 |
| | 0.200 | 0.200 | 100.0 |
| | 0.200 | 0.205 | 102.5 |
| | 0.275 | 0.257 | 93.5 |
| | 0.275 | 0.269 | 97.8 |
| | 0.300 | 0.292 | 97.3 |
| | 0.466 | 0.432 | 92.7 |
| | 0.684 | 0.700 | 102.3 |
| | 0.946 | 0.915 | 96.7 |
| | 1.654 | 1.576 | 95.3 |
| | 1.740 | 1.695 | 96.3 |
| Manzanas + C _{y2} SnO | 0.200 | 0.298 | 99.0 |
| | 0.272 | 0.271 | 99.6 |
| | 0.752 | 0.704 | 93.6 |
| | 1.712 | 1.616 | 94.4 |
| | 1.597 | 1.571 | 98.4 |
| | 3.887 | 3.908 | 100.5 |

* El estaño encontrado corregido para el valor de estaño para el control (muestra no fortificada).

Tabla 60. Continuación.

| | | | |
|----------------------------------------------|-------|-------|-------|
| Peras + C _y SnO | 0.203 | 0.198 | 97.5 |
| | 0.230 | 0.227 | 98.7 |
| | 0.310 | 0.342 | 110.3 |
| | 0.390 | 0.403 | 103.3 |
| | 0.550 | 0.529 | 96.2 |
| | 0.702 | 0.736 | 104.8 |
| | 1.150 | 1.138 | 99.0 |
| | 1.702 | 1.586 | 93.2 |
| | 2.150 | 1.168 | 100.8 |
| Manzanas + C _y SnO ₂ H | 0.195 | 0.196 | 100.5 |
| | 0.202 | 0.187 | 92.6 |
| | 0.231 | 0.241 | 104.3 |
| | 0.438 | 0.463 | 105.7 |
| | 0.439 | 0.406 | 92.5 |
| | 0.686 | 0.674 | 98.3 |
| | 1.609 | 1.536 | 95.5 |
| | 3.835 | 3.837 | 99.0 |
| Peras + C _y SnO ₂ H | 0.200 | 0.212 | 106.0 |
| | 0.692 | 0.688 | 99.4 |
| | 1.676 | 1.572 | 93.8 |
| Manzanas + estaño inorgánico | 0.080 | 0.075 | 93.8 |
| | 0.080 | 0.074 | 92.5 |
| | 0.137 | 0.142 | 103.6 |
| | 0.137 | 0.131 | 95.6 |
| | 0.181 | 0.181 | 100.0 |
| | 0.450 | 0.449 | 99.8 |
| | 0.450 | 0.446 | 99.1 |
| | 0.686 | 0.670 | 97.7 |
| | 1.078 | 1.035 | 96.0 |
| | 1.078 | 1.069 | 99.2 |
| | 1.696 | 1.668 | 98.3 |
| | 4.217 | 4.178 | 99.1 |
| | 4.217 | 4.142 | 98.2 |
| Peras + estaño inorgánico | 0.142 | 0.133 | 93.7 |
| | 0.674 | 0.642 | 95.3 |
| | 1.738 | 1.696 | 97.6 |

Tabla 61. Recuperación del ciclohexil estaño y del estaño inorgánico por el método de extracción.

| Muestra y forma del estaño | Estaño agregado, ppm | ESTAÑO RECOBRADO* | |
|--------------------------------------|----------------------|-------------------|-------|
| | | ppm | % |
| Peras + $C_{y2}SnO$ | 0.226 | 0.220 | 97.3 |
| | 0.306 | 0.317 | 103.6 |
| | 0.386 | 0.386 | 100.0 |
| | 0.546 | 0.543 | 99.5 |
| | 1.146 | 1.123 | 98.0 |
| | 2.146 | 2.097 | 97.7 |
| Manzanas + $C_{y2}SnO$ + C_ySnO_2H | 0.194 | 0.190 | 97.9 |
| | 0.201 | 0.210 | 104.5 |
| | 0.436 | 0.440 | 100.9 |
| | 0.437 | 0.420 | 96.1 |
| | 1.596 | 1.617 | 101.3 |
| | 1.606 | 1.580 | 98.4 |
| | 3.872 | 3.904 | 100.8 |
| | 3.886 | 3.939 | 101.4 |
| Manzanas + estaño inorgánico | 0.069 | 0.064 | 92.8 |
| | 0.069 | 0.064 | 92.8 |
| | 0.126 | 0.106 | 84.1 |
| | 0.126 | 0.126 | 100.0 |
| | 0.439 | 0.409 | 93.2 |
| | 0.439 | 0.439 | 100.0 |
| | 1.067 | 1.110 | 104.0 |
| | 1.067 | 1.089 | 102.1 |
| | 4.206 | 4.178 | 99.3 |
| 4.206 | 4.142 | 98.5 | |

*Estaño encontrado corregido para el valor de estaño para

Tabla 61. Recuperación del ciclohexil estaño y del estaño inorgánico por el método de extracción.

| Muestra y forma del estaño | Estaño agregado, ppm | ESTAÑO RECOBRADO* | |
|---------------------------------------|-------------------------|-------------------|-------|
| | | ppm | % |
| Peras + $C_{y_2}SnO$ | 0.226 | 0.220 | 97.3 |
| | 0.306 | 0.317 | 103.6 |
| | 0.386 | 0.386 | 100.0 |
| | 0.546 | 0.543 | 99.5 |
| | 1.146 | 1.123 | 98.0 |
| | 2.146 | 2.097 | 97.7 |
| Manzanas + $C_{y_2}SnO$ + C_ySnO_2H | 0.194 | 0.190 | 97.9 |
| | 0.201 | 0.210 | 104.5 |
| | 0.436 | 0.440 | 100.9 |
| | 0.437 | 0.420 | 96.1 |
| | 1.596 | 1.617 | 101.3 |
| | 1.606 | 1.580 | 98.4 |
| | 3.872 | 3.904 | 100.8 |
| 3.886 | 3.939 | 101.4 | |
| Manzanas + estaño inorgánico | 0.069 | 0.064 | 92.8 |
| | 0.069 | 0.064 | 92.8 |
| | 0.126 | 0.106 | 84.1 |
| | 0.126 | 0.126 | 100.0 |
| | 0.439 | 0.409 | 93.2 |
| | 0.439 | 0.439 | 100.0 |
| | 1.067 | 1.110 | 104.0 |
| | 1.067 | 1.089 | 102.1 |
| | 4.206 | 4.178 | 99.3 |
| 4.206 | 4.142 | 98.5 | |

* Estaño encontrado corregido para el valor de estaño para el control (muestra no fortificada.)

Tabla 62. Promedio de la recuperación del estaño en la fruta.

| Categoría | PORCIENTO RECOBRADO* | |
|-------------------|----------------------|----------------------|
| | por destilación | por extracción |
| Manzanas | 98.1 (36) | 98.2 (18) |
| Peras | 97.9 (28) | 99.4 (6) |
| Formas orgánicas | 98.2 (48) | 99.8 (14) |
| Estaño inorgánico | 97.5 (16) | 96.7 (10) |
| Arriba de 0.1 ppm | 98.2 \pm 6.1 (56) | 99.7 \pm 5.5 (20) |
| Arriba de 1.0 ppm | 96.9 \pm 4.7 (20) | 100.2 \pm 4.2 (10) |
| Todo | 98.0 (64) | 98.5 (24) |

*Los valores entre paréntesis son el número de mediciones. Los límites son dos valores sigma.

Tabla 63. Comparación del método espectrofotométrico molibdomolibdato (A) y el método volumétrico oficial (B)*

| Producto | mg de $P_2O_5/100$ g | | | |
|---------------------------|----------------------|------|------|-----|
| | A** | | B | A- |
| | 1 | 2 | | |
| Mermelada de ciruela | 13.8 | 14.5 | 14.6 | -0. |
| Conserva de cereza | 23.5 | 24.1 | 24.0 | -0. |
| Conserva de fresa | 17.5 | - | 17.5 | 0. |
| Conserva de frambuesa | 17.9 | - | 18.1 | -0. |
| Jalea de uva 1 | 7.3 | 8.0 | 7.4 | -0. |
| Jalea de uva 2 | 11.9 | - | 12.0 | -0. |
| Jugo de uva | 15.3 | - | 15.8 | -0. |
| Mermelada de uva | 15.7 | - | 15.8 | -0. |
| Conserva de durazno | 21.5 | 20.0 | 21.9 | -0. |
| Conserva de albaricoque 1 | 25.7 | 26.5 | 25.7 | 0. |
| Conserva de albaricoque 2 | 22.7 | - | 23.1 | -0. |
| Promedio | 17.5 | | 17.8 | -0. |

*Métodos A1 y B: determinaciones simples en la misma solución de la ceniza para cada muestra por ambos métodos. Método A2: análisis simple en la muestra re-incinerada.

**A1- Beckman Modelo B; A2- Beckman Modelo DU.

Tabla 64. Estudio de reproductibilidad de la absorbancia del método molibdo vanadato.

| Concentrado o producto | Lecturas de la absorbancia* en el día: | | | | | Promedio |
|---------------------------------------------|----------------------------------------|-------|-------|-------|-------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| SOLUCIONES ESTANDARD: mg de P_2O_5 /10 ml | | | | | | |
| 0.00 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 0.05 | 0.105 | 0.110 | 0.105 | 0.105 | 0.105 | 0.106 |
| 0.10 | 0.210 | 0.220 | 0.210 | 0.210 | 0.215 | 0.213 |
| 0.15 | 0.315 | 0.325 | 0.320 | 0.320 | 0.325 | 0.321 |
| 0.20 | 0.420 | 0.430 | 0.430 | 0.430 | 0.430 | 0.428 |
| 0.25 | 0.525 | 0.540 | 0.540 | 0.540 | 0.540 | 0.537 |
| 0.30 | 0.630 | 0.650 | 0.650 | 0.660 | 0.650 | 0.646 |
| 0.35 | 0.758 | 0.750 | 0.760 | 0.760 | 0.760 | 0.757 |
| SOLUCIONES DE LA CENIZA | | | | | | |
| Mermelada de ciruela | 0.465 | 0.470 | 0.465 | 0.470 | 0.470 | 0.468 |
| Conserva de cereza | 0.780 | 0.782 | 0.788 | 0.790 | 0.790 | 0.786 |
| Jalea de uva | 0.258 | 0.260 | 0.260 | 0.258 | 0.255 | 0.258 |
| Conserva de durazno | 0.660 | 0.660 | 0.660 | 0.660 | 0.650 | 0.658 |
| Conserva de albaricoque | 0.344 | 0.348 | 0.350 | 0.348 | 0.348 | 0.348 |

*Determinaciones simples en el mismo estandard o en la solución de la ceniza para cada día.

Tabla 65. Precisión de los resultados por el método espectrofotométrico molibdo vanadato.

| Producto | mg de P_2O_5 /100 g* en el día: | | | | | Promedio | Desviación estandar. |
|---------------------------|-----------------------------------|------|------|------|------|----------|-------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| Mermelada de ciruela | 14.3 | 14.5 | 14.3 | 14.5 | 14.5 | 14.4 | 0.11 |
| Conserva de cereza | 24.0 | 24.1 | 24.2 | 24.3 | 24.3 | 24.2 | 0.13 |
| Jalea de uva 1 | 8.1 | 8.1 | 8.1 | 8.0 | 7.9 | 8.0 | 0.09 |
| Conserva de durazno | 20.3 | 20.3 | 20.3 | 20.3 | 20.0 | 20.2 | 0.13 |
| Conserva de albaricoque 2 | 26.7 | 27.3 | 27.5 | 27.3 | 27.3 | 27.2 | 0.30 |

*Determinaciones simples, calculadas de los promedios de la absorbancia estandar y de las lecturas de la absorbancia de la muestra individual de la Tabla 64.

Tabla 66. Recuperación (%) de los fungicidas* mercuriales de las manzanas.

| Variedad de la manzana | Acetato de fenilmercuríco | Oxiquinolato de fenilmercuríco | Di (fenilmercuríco) oxiquinolato de amonio |
|------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|
| MacIntosh | 81.9 | | |
| | 71.5 | | |
| | 84.9 | | |
| | 80.0 | | |
| | 81.7 | | |
| | 79.7 | | |
| | 74.7 | | |
| | 78.5 | | |
| | 82.9 | | |
| 82.2 | | | |
| Cortland | 89.3 | 85.0 | |
| | 84.1 | 83.2 | |
| | 79.2 | 75.0 | |
| | | 80.6 | |
| | | 80.6 | |
| Roja Deliciosa | 82.9 | 76.8 | 80.7 |
| | 84.1 | 83.8 | 80.5 |
| | 86.9 | 63.5 | 103.9 |
| | | 89.6 | 106.3 |
| | | 70.1 | |
| Roma Hermosa | 83.9 | 77.2 | 94.7 |
| | 85.6 | 89.8 | 100.8 |
| | 82.5 | | 93.8 |
| | | | 109.9 |
| Rhode Island verde | 77.8 | 76.7 | 98.8 |
| | 91.9 | 69.3 | 63.5 |
| | 85.4 | | |

*Se agregaron 0.60 ppm (calculados como mercurio) de fungicida a cada muestra excepto las primeras 2 muestras de manzanas de MacIntosh tratadas con acetato de fenilmercuríco, a las cuales se les agregaron 0.30 ppm.

Tabla 67. Residuos de mercurio en las manzanas tratadas con el mercurial orgánico de oxiquinolato.

| Variedad de la manzana | Oxiquinolato de fenilmercúrico (ppm) | Di (fenilmercúrico) oxiquinolato de amonio |
|---------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------|
| Cortland ^a | 0.03 | |
| | 0.00 | |
| | 0.07 | |
| Roja Deliciosa ^a | 0.05 | |
| | 0.06 | 0.00 |
| | 0.05 | |
| Roma Hermosa ^a | 0.04 | 0.00 |
| | 0.05 | |
| | 0.02 | |
| Rhode Island verde ^a | 0.04 | 0.00 |
| | 0.04 | |
| | 0.02 | |
| Cortland ^b | 0.13 | |
| | 0.06 | |
| | 0.15 | |
| | 0.14 | |
| Roja Deliciosa ^b | 0.15 | |
| | 0.18 | |
| Cortland ^c | 0.00 | |
| | 0.00 | |
| Roja Deliciosa ^c | 0.02 | 0.00 |
| | 0.00 | 0.00 |
| Roma Hermosa ^c | | 0.05 |
| | | 0.02 |
| Cortland ^d | 0.02 | |
| | 0.04 | |
| Roja Deliciosa ^d | 0.03 | |
| | 0.03 | |

^a7 aplicaciones en mayo 26; muestreo de manzanas julio 16.

^b7 aplicaciones en mayo 26, subsecuentemente cada dos meses; muestreo de manzanas en julio 16.

^c7 aplicaciones en mayo 26; muestreo de manzanas septiembre 16.

^d7 aplicaciones en mayo 26 con aplicaciones cada 2 meses hasta agosto 16; muestreo de manzanas en septiembre 16.

Tabla 68. Valores promedio del "blanco" de mercurio para los reactivos y la fruta.

| Laboratorio | MERCURIO ENCONTRADO EN: | | |
|-------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| | Reactivos, μg | 50 g de manzana (menos el reac- tivo "blanco"), μg | 50 g de tomate (menos el reac- tivo "blanco"), μg |
| 1 | 0.7 | 0.4 | 0.3 |
| 2 | 0.3 | 0.2 | 0.3 |
| 3 | 1.7 | nada | nada |
| 4 | 1.3 | nada | 0.3 |
| 5 | 3.4 | 1.5 | 0.9 |
| 6 | 0.6 | 0.6 | 0.3 |
| 7 | 1.2 | 0.3 | 0.2 |
| 8 | 1.2 | 0.1 | nada |
| 9 | 0.1 | 0.2 | 0.4 |
| 10 | 2.5 | - | 0.1 |

Tabla 69. Recuperación neta del acetato de fenilmercurico agregado a la manzana.

| Laboratorio | Recuperación neta de | | |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| | 5 μ g de mercurio (conocidos) de todos los componentes de la muestra de manzana, A, μ g | 5 μ g de mercurio (conocidos) del puré de manzana menos la cáscara y el corazón, B, μ g | 3.4 μ g de mercurio (no conocidos) del puré de la manzana entera, C, μ g |
| 1 | 5.1, 4.9 | 4.6, 4.7, 5.1, 5.5 | 2.5, 2.5, 3.0, 2.8 2.4 |
| 2 | 4.7, 4.3, 4.0, 4.4 | 4.8, 4.9, 4.8 | 2.8, 2.6, 2.5, 2.7, 2.9, 2.5 |
| 3 | 3.1, 3.3, 1.3, 5.2, 3.2 | 4.4, 4.2, 4.4 | 3.0, 3.3, 3.0 |
| 4 | 3.2, 4.7, 3.3, 4.3, 4.6 | 4.5, 4.6, 4.8 | 3.0, 2.5, 2.4, 2.9 |
| 5 | 4.4, 4.4 4.7 | - | - |
| 6 | 4.6, 5.1 4.8 | 4.5, 4.3, 4.6 | 2.3, 2.9, 2.5, 2.3 |
| 7 | 4.5, 4.4 4.8, 4.7 4.6, 4.3 4.5, 4.3 4.3, 4.1 | 4.6, 4.4, 4.4 | 2.5, 2.9, 1.9 |
| 8 | 3.4, 3.0, 4.7 | 5.2, 5.0, 6.0, 5.4, 5.2 | 2.0, 2.5, 2.2, 2.0, 2.2 |
| 9 | - | 4.2, 4.5, 4.1 | 2.8, 2.8, 2.6, 3.1 |
| Promedio | 4.2 | 4.7 | 2.6 |

Tabla 70. Recuperación neta del acetato de fenilmercurio agregado al tomate.

| Laboratorio | Recuperación neta de: | | |
|-------------|-----------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------|
| | 4.0 μg de mercurio (no conocidos), | | 20.1 μg de mercurio (no conocidos), |
| | (sin selenio), | | |
| | μg | μg | μg |
| 1 | 3.5, 3.5, 3.4, 3.4, 3.4 | 3.4, 3.6 | 18.2, 18.1, 18.0, 17.6, |
| 2 | 3.7, 3.6, 3.8, 3.4, 3.9, 3.6 | - | 18.9, 19.4, 19.5, 19.6, 18.8, 19.2 |
| 3 | 3.7, 4.0 | - | 19.5, 19.7 |
| 4 | 3.1, 3.1, 3.0, 3.3 | - | 18.7, 19.3, 19.0, 19.1 |
| 5 | 1.6, 3.1, 1.7, 4.0 | - | 18.6, 17.4, 18.8, 20.8 |
| 6 | 3.2, 3.2, 3.2 | - | 19.6, 18.3, 18.7 |
| 7 | 3.3, 3.4, 3.4 | 3.3, 3.4, 3.3 | 17.5, 18.9, 17.5 |
| 8 | 2.6, 2.6, 2.8, 2.8, 2.5, 2.4 | - | 20, 20, 20.5, 20, 19.5, 20.4 |
| 9 | 3.1, 3.3, 3.8 | - | 20.5, 19.5 |
| Promedio | 3.2 | - | 19.1 |

Tabla 71. Tamaño de la celda, concentración y volumen de la solución de ditizona a ser usados.

| Rango de mercurio, μg | Concentración de ditizona μg por ml | Volumen de la solución de ditizona, ml | Celda cm | Densidad óptica a 490 m * | Máxima densidad óptica satisfactoria a 490 m * | Densidad óptica por g de mercurio |
|----------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------|----------|---------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------|
| 0 - 10 | 4 | 10 | 4 | 0.08 | 1.05 | 0.097 |
| 0.- 40 | 8 | 20 | 2 | 0.08 | 1.05 | 0.0243 |
| 0 -100 | 16 | 25 | 1 | 0.08 | 1.05 | 0.0097 |

*Suponiendo que la densidad óptica de la malla es de 0.4.

Tabla 72. Determinación de mercurio agregado al cacao.

| Mercurio agregado, μg | Mercurio recuperado, μg | Recuperación, % |
|----------------------------------------|------------------------------------------|--------------------|
| 1 | 0.89 | 89 |
| 1 | 0.83 | 83 |
| 1 | 0.89 | 89 |
| 2 | 2.04 | 102 |
| 2 | 1.84 | 92 |
| 2 | 1.78 | 89 |
| 5 | 4.25 | 85 |

Tabla 73. Reactivos del color para el cobre.

| Reactivo | Solvente | λ máx. nm | Absorbancia molar | Desventajas |
|----------------------------------------------------------|------------------|----------------------|----------------------|---------------------------------------------------------|
| Dietilditiocarbamato | Agua | 440 | 8000 | Inestable en ácido, sensible a la luz. |
| | Alcohol isoamilo | 440 | 12700 | |
| | CCl ₄ | 435 | 14700 | |
| Dibenzilditiocarbamato | CCl ₄ | 435 | 16200 | Interferencia del Fe ⁺⁺⁺ y Ni ⁺ . |
| Ditizona | CCl ₄ | 508 | 24600 | No es específico para el cobre. |
| 2,2'-Biquinolina (cuproina) | Alcohol isoamilo | 546 | 5220 | Baja sensibilidad. |
| 2,9-Dimetil-1,2-fenantrolina (neocuproina) | Alcohol isoamilo | 454 | 7950 | Baja sensibilidad. |
| 2,9-Dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina (batocuproina) | n-hexanol | 479 | 14160 | |

Tabla 74. Análisis del cobre por la incineración en seco.

| Sal cúprica agregada | Recipiente de la incineración | Temperatura de la mufla, °C | Cobre agregado μg | Cobre encontrado*, μg | Recuperación, % |
|-------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------------|--------------------|
| Estearato | Vycor | 450 | 2.01 | 1.56 | 77.6 |
| Linoleato | Vycor | 450 | 2.04 | 1.73 | 84.3 |
| Estearato | Vycor | 450 | 8.06 | 4.67 | 57.9 |
| Linoleato | Vycor | 450 | 8.16 | 3.93 | 48.2 |
| Estearato | Vycor | 500 | 5.04 | 3.24 | 64.1 |
| Estearato | Platino | 500 | 5.04 | 2.25 | 44.6 |
| Estearato | Platino | 550 | 5.04 | 3.50 | 66.5 |
| Estearato | Platino | 550 | 8.06 | 18.00 | ? |
| Estandard NBS** | Platino | 550 | 4.97 | NF | 0.0 |
| Estandard NBS** | Platino | 550 | 4.97 | 1.60 | 34.2 |

*Corregido para la concentración de cobre usada en las muestras.

**Estandard NBS, bis(1-fenil-1,3-butandiona) de cobre (II), material de aceite soluble con teniendo 16.5% de Cu.

Tabla 75. Análisis de cobre por extracción.

| | Cobre agregado al aceite vegetal | | Cobre encontrado* | Recuperación, |
|-------------------|-------------------------------------|---------------|----------------------|---------------|
| | ppm | μg | μg | % |
| Estandar NBS** | 0.002 | 1.00 | 0.93 | 93.0 |
| | 0.010 | 1.00 | 1.00 | 100.0 |
| | 0.010 | 1.00 | 0.95 | 95.0 |
| | 0.010 | 1.00 | 1.05 | 105.0 |
| | 0.010 | 5.00 | 4.80 | 96.0 |
| | 0.010 | 5.00 | 4.35 | 87.0 |
| | 0.014 | 7.00 | 6.48 | 92.6 |
| | 0.040 | 4.00 | 4.20 | 105.0 |
| | 0.050 | 4.97 | 4.90 | 98.6 |
| | 0.050 | 4.97 | 4.90 | 98.6 |
| | 0.050 | 5.00 | 4.99 | 99.8 |
| | 0.050 | 5.00 | 5.10 | 102.0 |
| | 0.050 | 5.00 | 5.20 | 104.0 |
| | 0.100 | 9.95 | 9.60 | 96.5 |
| | 0.22 | 2.00 | 2.10 | 105.0 |
| | 0.22 | 2.00 | 1.85 | 92.5 |
| 0.22 | 2.00 | 2.00 | 100.0 | |
| Estearato cúprico | 0.01 | 1.00 | 1.20 | 120.0 |
| | 0.01 | 1.00 | 1.05 | 105.0 |
| | 0.02 | 2.00 | 1.95 | 97.5 |
| | 0.03 | 3.00 | 3.00 | 100.0 |
| | 0.07 | 7.00 | 7.10 | 101.4 |
| Promedio = | | | | 99.8 |

*Corregido para las concentraciones iniciales de cobre en las muestras usadas. El metal de cobre, 400 a 475 μg , en los límites - normalmente encontrados bien puede ser determinado por este procedimiento.

**Estandar NBS, bis(1-fenil-1,3-butandiona) de cobre (II) (material de aceite soluble conteniendo 16.5% de Cu).

Tabla 76. Análisis de los aceites de soya conteniendo cobre - agregado por colorimetría, activación, y absorción atómica.

| Cobre adicionado, ppm | METODO | | |
|---------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| | Colorimétrico | Activación ^a | Abs. Atómica ^b |
| | ----- COBRE ENCONTRADO, ppm ^c ----- | | |
| 5.00 | 4.70 | 4.43 | 2.46 |
| 1.00 | 0.912 | 0.837 | 0.556 |
| 0.20 | 0.160 | 0.167 | 0.089 |
| 0.04 | 0.036 | 0.042 | 0.061 |

^a Determinado en aceite puro.

^b Aceite diluido 1:4 en metil-isobutil-cetona.

^c Corregido para el contenido de cobre de los aceites (materia prima). Las primeras 3 concentraciones (5.00, 1.00, 0.20-ppm) representan el promedio de 4 determinaciones, la última - concentración representa el promedio de 6 determinaciones para los métodos colorimétrico y activación.

Tabla 77. Contenidos de cobre de algunos aceites de soya naturales e hidrogenados con catalizadores que contienen cobre.

| Muestra | ACEITE | METODO DE ANALISIS | |
|---------|------------------------------------|--------------------|----------------------------|
| | | Colorimétrico | Activación (ppm, cobre) |
| A | Refinado, blanqueado, desodorizado | 0.046(3)* | 0.058(3) |
| B | Refinado, blanqueado, desodorizado | 0.067(3) | 0.088(3) |
| C | Refinado y blanqueado | 0.035(2) | 0.026(1) |
| D | Refinado y blanqueado | 0.102(1) | 0.131(1) |
| E | Hidrogenado** | 3.21 (2) | 3.25 (2) |
| F | Hidrogenado | 4.70 (2) | 4.55 (1) |
| G | Hidrogenado | 4.14 (2) | 3.82 (1) |

*Los números entre paréntesis indican el número de determinaciones.

**Con catalizadores que contienen Cu.

Tabla 78. Comparación de los métodos por el análisis de cobre en aceites de soya.

| Muestra | Aceite | METODO | | | |
|---------|----------------------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|------|
| | | Colorimétrico ^a | Activación ^a | Abs. Atómica ^b | |
| | | | | I | II |
| | | (ppm de cobre) | | | |
| E | Hidrogenado ^d | 3.21 | 3.25 | 3.36 | 1.60 |
| F | Hidrogenado | 4.70 | 4.55 | 4.92 | 2.13 |
| H | Refinado, blanqueado, desodorizado | 0.035 | 0.026 | 0.04 | 0.05 |
| I | Hidrogenado, reprocesado ^c | 0.039 | 0.039 | 0.02 | 0.10 |
| J | Mezcla: 10% E + 90% H (no hidrogenado) | 0.29 | 0.35 | 0.27 | 0.29 |

^aDeterminado en aceite puro.

^bAceite diluido 1:4 en metil-isobutil-cetona.

^cVer texto.

^dCon catalizador conteniendo Cu.

Tabla 79. Determinación de mercurio agregado a la manteca.

| Mercurio agregado, μg | Mercurio recuperado, μg | Recuperación, % |
|----------------------------------------|------------------------------------------|--------------------|
| 1 | 1.04 | 104 |
| 1 | 1.04 | 104 |
| 1 | 0.97 | 97 |
| 2 | 2.05 | 103 |
| 2 | 1.90 | 95 |
| 2 | 1.86 | 93 |

Tabla 80. Resultados de los experimentos de recuperación.

Arsénico agregado a 5 muestras de 5 g de sacarosa; se usaron reactivos purificados para el rango inferior de 0.5 a 1.0 μg de arsénico, pero reactivos no purificados para las concentraciones superiores.

| Arsénico (As) agregado, μg | Arsénico (As) encontrado por: | | | |
|------------------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Laboratorio A, μg | Laboratorio E, μg | Laboratorio F, μg | Laboratorio H, μg |
| 0.5 | 0.53 | 0.5 | 0.6 | 0.5 |
| | 0.45 | 0.4 | 0.5 | 0.6 |
| 1.0 | 1.03 | 1.0 | 1.0 | 0.92 |
| | 1.09 | 0.85 | 0.9 | 1.40 |
| 2.0 | 2.2 | 1.5 | 1.5 | 1.8 |
| | 2.1 | 2.2 | 1.8 | 1.8 |
| | | | 1.5 | |
| 5.0 | 5.2 | 5.7 | 5.1 | 4.7 |
| | 5.1 | 5.5 | 4.6 | 4.7 |
| | | | 4.9 | |
| 10.0 | 10.7 | 9.7 | 9.2 | 9.9 |
| | 9.0 | 9.8 | 9.8 | 10.0 |
| | | | 9.6 | |

Tabla 81. Tratamiento estadístico de los resultados de la Tabla 80.

| Concentración de arsénico, μg | Número de determinaciones | Promedio de los resultados (M) | Desviación estandard | Coefficiente de variación, % |
|------------------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|------------------------------------|
| 10 | 9 | 9.7 | 0.49 | 5.0 |
| 5 | 9 | 5.1 | 0.38 | 7.4 |
| 2 | 9 | 1.8 | 0.29 | 16.2 |
| 1 | 8 | 1.02 | 0.17 | 16.7 |
| 0.5 | 8 | 0.51 | 0.07 | 13.2 |

Tabla 82. Resultados para muestras de 2 g de sacarosa.

| Muestra | Cobre encontrado por el: | |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| | Método neocuproina μg | Método dibenzilditiocarbama de zinc μg |
| Sacarosa | 0.8, 0.8 | 0.8, 1.0 |
| Sacarosa + 25 μg de Cu | 25.8, 25.1 | 25.9, 25.9 |
| Sacarosa + 25 μg de Cu + otros metales* | 24.8, 25.1 | 27.4, 25.8 |

*Los otros metales agregados fueron 20 μg de cada uno: cobalto, níquel, manganeso, arsénico, mercurio, plomo y bismuto y 200 μg de fierro.

Tabla 83. Extensión de la hidrólisis de algunos fosfatos de azúcar a ortofosfato inorgánico después de un periodo de reposo de 15 minutos a la temperatura ambiente y en una acidez de 1.20 N.

| Compuesto | Rango del % hidrolizado | Promedio % hidroliza |
|-----------------------|-------------------------------|----------------------------|
| Glucosa-1-fosfato | 5.5 - 6.2 | 5.8 |
| Fructuosa-6-fosfato | 6.0 - 6.5 | 6.4 |
| Fructuosa-1,6-fosfato | 9.0 - 9.8 | 9.5 |

Tabla 84. Precisión del método para el fosfato total y el ortofosfato inorgánico.

| Producto ^a | FOSFATO TOTAL | | ORTOFOSFATO INORGANICO | |
|------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------|
| | Promedio del contenido de P_2O_5 , mg ^b | Desviación promedio, mg | Promedio del contenido de P_2O_5 , mg ^b | Desviación promedio, mg |
| Azucar cruda filipina | | | | |
| A | 0.063 | 0.011 | 0.083 ^C | 0.015 |
| B | 0.107 | 0.008 | 0.190 ^C | 0.012 |
| C | 0.159 | 0.007 | 0.300 ^C | 0.010 |
| D | 0.210 | 0.004 | 0.295 ^C | 0.012 |
| E | 0.110 | 0.009 | 0.120 ^C | 0.015 |
| F | 0.104 | 0.010 | 0.132 ^C | 0.014 |
| Azucar cruda cubana | | | | |
| A | 0.026 | 0.012 | - | - |
| B | 0.038 | 0.014 | 0.061 ^C | 0.019 |
| C | 0.024 | 0.012 | 0.016 ^C | 0.016 |
| D | 0.052 | 0.011 | 0.080 ^C | 0.018 |
| E | 0.071 | 0.009 | 0.083 ^C | 0.023 |
| Azucar cruda de Puerto Rico | | | | |
| A | 0.044 | 0.013 | 0.068 ^C | 0.019 |
| B | 0.054 | 0.010 | 0.010 ^C | 0.008 |
| Azucar cruda peruana | | | | |
| | 0.050 | 0.012 | 0.012 ^C | 0.008 |
| Mezcla refinada | | | | |
| A | 0.087 | 0.013 | 0.010 | 0.007 |
| B | 0.221 | 0.007 | 0.021 | 0.008 |

Tabla 84. Continuación.

| | | | | |
|-------------------------------------|---|---|--------------------|-------|
| Jarabe sometido a inversión parcial | | | | |
| A | - | - | 0.046 ^d | 0.004 |
| B | - | - | 0.051 ^d | 0.005 |
| C | - | - | 0.102 ^e | 0.003 |

^a Las muestras usadas fueron de 0.500 g para todos los análisis menos las indicadas.

^b Promedio de tres análisis.

^c Muestras de 1.000 g.

^d Muestra de 10.000 g.

^e Muestras de 20.000 g.

Tabla 84. Continuación.

| | | | | |
|----------------------------------|-------|-------|--------------------|-------|
| Jarabe refinado | | | | |
| A | 0.172 | 0.010 | 0.105 | 0.015 |
| B | 0.257 | 0.006 | 0.172 | 0.013 |
| Miel tratada con ácido fosfórico | | | | |
| A | 1.108 | 0.006 | 0.926 | 0.012 |
| B | 1.004 | 0.007 | 0.819 | 0.014 |
| Jarabe muy licuado | | | | |
| A | 0.496 | 0.013 | 0.298 | 0.017 |
| B | 0.434 | 0.010 | 0.276 | 0.019 |
| Jarabe licuado | | | | |
| A | 0.778 | 0.012 | 0.479 | 0.013 |
| B | 0.852 | 0.010 | 0.506 | 0.012 |
| Miel | | | | |
| A | 1.025 | 0.006 | 0.674 | 0.012 |
| B | 1.184 | 0.007 | 0.703 | 0.015 |
| Azucar en polvo | | | | |
| A | 0.364 | 0.010 | 0.288 | 0.014 |
| B | 0.316 | 0.011 | 0.262 | 0.016 |
| Azucar granulada | | | | |
| A | - | - | 0.058 ^d | 0.006 |
| B | - | - | 0.071 ^d | 0.005 |
| C | - | - | 0.120 ^e | 0.003 |

Tabla 85. Recuperación de cadmio de jugo de naranja.

| Laboratorio | RECUPERACION DEL CADMIO POR EL: | | |
|-------------|---------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | Método de ditiizona, ppm | Método polarográfico, ppm | Método Absorción At. ppm |
| A | 1.6,1.5 | - | 1.8,1.5 |
| B | 2.1 | 2.0,1.9 | - |
| C | 1.5,1.6,1.3,1.5 | 1.9,1.9 | - |
| D | - | - | 2.0,2.0 |
| E | 1.6 | - | 1.7 |
| F | - | - | 1.9,1.7 |

Tabla 86. Recuperación del cadmio del jugo de lima.

| Laboratorio | RECUPERACION DEL CADMIO POR EL: | | |
|-------------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| | Método de ditizona ppm | Método polarográfico ppm | Método de absorción at., ppm |
| (a) Cadmio agregado equivalente a 2 ppm- | | | |
| A | - | - | 2.2, 2.2, 2.1, 2.2 |
| B | 1.5, 1.9 | 2.0, 2.0 | - |
| C | 1.6, 1.8, 1.9, 1.7 | 1.8, 1.8, 1.9 | - |
| D | 1.3 | - | 1.5 |
| E | - | - | 1.8, 1.9 |
| (b) Cadmio agregado equivalente a 20 ppm- | | | |
| A | - | - | 19.6, 19.7, 19.5, 20.0, 20.1 19.5, 19.7, 19.0, 19.1, 19.5 19.6, 19.5, 19.5, 19.6 |
| B | 19.6, 20.2 | 19.8, 19.8 | - |
| C | 19.3, 19.7, 21.0, 20.8 | 20.5, 20.5, 20.5, 21.3 | - |
| D | 13.5 | - | 18.2 |
| E | - | - | 19.4, 19.4, 19.8, 18.0, 19.5 19.1 |
| F | - | - | 19.9, 20.1 |

Tabla 87. Recuperación del dióxido de azufre del jarabe, del concentrado de fruta, y de las bebidas de fruta.

| Muestra No. ^a | SO ₂ Agregado, ppm | METODO DE SHIPTON | | | METODO COLORIMETRICO | | | |
|-------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------------------|---------|-----------------------|--------------------------|---------|---|
| | | Encontrado, ppm | | Rec., % | Encontrado, ppm | | Rec., % | |
| | | Promedio ^b | Desv. Estd. ^c | | Promedio ^b | Desv. Estd. ^c | | |
| JARABE DE SACAROSA PURO ^d | | | | | | | | |
| 1 | Nada | - | - | - | - | - | - | - |
| 2 | 50 | 44.18 ± 2.22 | 88.4 | 1.05 | 44.82 ± 0.10 | 89.6 | 0.35 | |
| 3 | 75 | 71.67 ± 0.53 | 95.6 | 0.64 | 70.76 ± 0.28 | 94.3 | 0.71 | |
| 4 | 100 | 93.21 ± 0.52 | 93.2 | 0.61 | 92.35 ± 2.88 | 93.2 | 0.05 | |
| 5 | 200 | 181.30 ± 0.45 | 90.7 | 2.21 | 178.90 ± 0.73 | 89.5 | 0.56 | |
| 6 | 250 | 242.20 ± 2.28 | 96.9 | 3.35 | 235.20 ± 0.27 | 94.1 | 2.68 | |
| 7 | 300 | 292.40 ± 3.55 | 97.5 | 7.36 | 286.40 ± 1.80 | 95.5 | 1.02 | |
| 8 | 350 | 327.70 ± 1.33 | 93.6 | 2.06 | 319.80 ± 1.00 | 91.4 | 2.34 | |
| 9 | 400 | 377.20 ± 0.40 | 94.3 | 2.40 | 369.90 ± 4.70 | 92.5 | 4.65 | |
| LIQUIDO CONCENTRADO DE MANGO ^e | | | | | | | | |
| 10 | Nada | - | - | - | - | - | - | |
| 11 | 200 | 185.60 ± 0.37 | 92.8 | 1.01 | 184.90 ± 1.70 | 92.5 | 3.11 | |
| 12 | 250 | 238.60 ± 3.55 | 95.4 | 1.31 | 238.50 ± 0.80 | 95.4 | 0.51 | |
| 13 | 300 | 296.50 ± 2.23 | 98.8 | 3.64 | 286.80 ± 0.15 | 95.6 | 0.98 | |
| 14 | 350 | 332.30 ± 1.45 | 94.9 | 5.17 | 323.80 ± 1.13 | 91.8 | 6.10 | |
| 15 | 400 | 372.50 ± 3.83 | 93.1 | 2.16 | 369.00 ± 2.08 | 92.3 | 0.21 | |

Tabla 87. Continuación.

| BEBIDA DE MANGO ^f | | | | | | | | | |
|------------------------------|-----|-------|------|------|------|-------|------|------|------|
| 16 | 50 | 47.84 | 0.09 | 95.7 | 3.16 | 47.78 | 0.65 | 95.5 | 1.51 |
| 17 | 75 | 70.91 | 0.80 | 94.5 | 1.60 | 69.12 | 0.65 | 92.5 | 0.69 |
| 18 | 100 | 97.84 | 0.22 | 97.8 | 1.50 | 96.47 | 0.86 | 97.8 | 0.83 |

a Se realizaron determinaciones dobles en cada una de las 12 muestras seleccionadas casualmente.

b Error estandar del promedio de las lecturas dobles de las 2 muestras.

c Desviación estandar de las lecturas dobles combinada en ambas muestras.

d Las muestras 1, 5, 6, 7, 8, y 9: 45° Brix*, 1.2% de ácido cítrico; las muestras 2, 3, y 4: 15° Brix, 0.3% de ácido cítrico.

e 45° Brix, 1.2% de ácido cítrico.

f 15° Brix, 0.3% de ácido cítrico.

* Escala Brix. Una escala hidrométrica para soluciones del azúcar, graduadas de modo - que sus lecturas a una temperatura especifica representan porcentajes por peso de azúcar en la solución.

Tabla 88. Dióxido de azufre en los productos de fruta comercial de contenido no conocido de dióxido de azufre.

| Muestra | ppm*, ENCONTRADOS | |
|---------------------|-------------------|-----------------|
| | Método de Shipton | Método presente |
| FRUTA DESHIDRATADA | | |
| Mango | 944.0 | 928.0 |
| Platano | 714.8 | 717.2 |
| LIQUIDO CONCENTRADO | | |
| Naranja | 184.05 | 178.85 |
| Piña | 310.05 | 300.60 |
| Limón | 255.25 | 249.60 |

*Los resultados son el promedio de dos lecturas por muestra.

Tabla 89-A. Efecto de algunos vapores volátiles en los resultados para el dióxido de azufre determinado por el método colorimétrico.

| Muestra No | Substancias agregadas | Cantidad $\mu\text{g/ml}$ | Unidades Klett (410 nm) | Variación del control % |
|------------|------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1 | Control* | - | 45 | - |
| 2 | Etanol | 50 | 45 | 0 |
| 3 | Etanol | 100 | 45 | 0 |
| 4 | Acetaldehido | 10 | 45 | 0 |
| 5 | Acetaldehido | 20 | 45 | 0 |
| 6 | Furfural | 10 | 46 | -2.2 |
| 7 | Furfural | 20 | 46 | -2.2 |
| 8 | Aceite esencial (lima) | 10 | 45 | 0 |
| 9 | Aceite esencial (lima) | 20 | 46 | -2.2 |

*5 ml de reactivo PDT y 200 g de dióxido de azufre en un volumen total de 10 ml.

Tabla 89. Determinación de estaño en el jugo de naranja.

| Laboratorio | Estaño agregado, ppm | Estaño encontrado, ppm | Estaño recuperado, ppm | |
|-------------|----------------------|------------------------|------------------------|-----|
| A | 0 | 2.0 | - | |
| | 1.0 | 3.0 | 1.0 | |
| | 5.0 | 6.7 | 4.7 | |
| | 10.0 | 10.9 | 8.9 | |
| | 0 | 2.2 | - | |
| | 1.0 | 3.2 | 1.0 | |
| | 5.0 | 6.8 | 4.6 | |
| | 10.0 | 11.9 | 9.7 | |
| | B | 0 | 2.1 | - |
| | | 0 | 2.4 | - |
| | | 1.0 | 3.3 | 1.1 |
| | | 1.0 | 3.4 | 1.2 |
| | | 5.0 | 7.8 | 5.6 |
| | | 5.0 | 7.8 | 5.6 |
| 10.0 | | 12.3 | 10.1 | |
| 10.0 | | 12.2 | 10.0 | |
| C | | 0 | 2.3 | - |
| | 0 | 2.2 | - | |
| | 0 | 2.1 | - | |
| | 1.0* | 3.3 | 1.1 | |
| | 1.0* | 3.1 | 0.9 | |
| | 1.0** | 3.3 | 1.1 | |
| | 5.0* | 7.0 | 4.8 | |
| | 5.0* | 7.2 | 5.0 | |
| | 5.0** | 7.3 | 5.1 | |
| | 10.0* | 12.5 | 10.3 | |
| | 10.0* | 11.8 | 9.6 | |
| | 10.0** | 12.1 | 9.9 | |

Tabla 89. Continuación.

| | | | |
|------|------|------|------|
| D*** | 0 | 2.7 | - |
| | 0 | 2.7 | - |
| | 1.0 | 3.6 | 0.9 |
| | 1.0 | 3.6 | 0.9 |
| | 5.0 | 8.1 | 5.4 |
| | 5.0 | 7.7 | 5.0 |
| | 10.0 | 13.6 | 10.9 |
| | 10.0 | 13.1 | 10.4 |
| | 0 | 2.5 | - |
| | 0 | 2.3 | - |
| | 1.0 | 3.3 | 0.9 |
| | 1.0 | 3.5 | 1.1 |
| | 5.0 | 7.0 | 4.6 |
| | 5.0 | 7.3 | 4.9 |
| | 10.0 | 11.8 | 9.4 |
| | 10.0 | 12.6 | 10.2 |

*Estaño agregado como cloruro.

**Estaño agregado como el sulfato.

***Los dos conjuntos de resultados citados fueron obtenidos con diferentes suministros de violeta de catecol. Una gráfica de calibración fue preparada para cada uno.

Tabla 90. Composición de la bolsa de mercado.

| Grupo | Productos |
|-------|----------------------------------|
| 1 | Productos lácteos |
| 2 | Carne, pescado, y aves de corral |
| 3 | Granos, productos de cereal |
| 4 | Papas |
| 5 | Vegetales en hoja |
| 6 | Legumbres |
| 7 | Vegetales en raíz |
| 8 | Frutas de muerto |
| 9 | Frutas |
| 10 | Aceites, mantecas, y grasas |
| 11 | Azúcar y accesorios |
| 12 | Bebidas |

Tabla 91. Recuperaciones del arsénico de los grupos de alimentos (20 g) por el método oficial, secs. 24.011-24.015 de la ref. (176), y el método (Ag-DDC).

| Compuesto | Arsénico agregado, g (ppm) | ARSENICO RECOBRADO | | | |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------|----|--------|-----|
| | | Oficial | | Ag-DDC | |
| | | ppm | % | ppm | % |
| BOLSA DE MERCADO A* | | | | | |
| Productos lácteos | 2.0(0.10) | 0.03 | 30 | 0.08 | 80 |
| | 2.0(0.10) | - | - | 0.11 | 110 |
| Frutas | 20.0(1.00) | 0.31 | 31 | 0.82 | 82 |
| | 10.0(0.50) | - | - | 0.44 | 88 |
| Bebidas | 10.0(0.50) | 0.36 | 72 | 0.41 | 82 |
| Carne, pescado, y aves de corral | 20.0(1.00) | - | - | 0.93 | 93 |
| BOLSA DE MERCADO B | | | | | |
| Productos lácteos | 2.0(0.10) | 0.01 | 10 | 0.11 | 110 |
| Frutas | 20.0(1.00) | 0.58 | 58 | 0.83 | 83 |
| Bebidas | 10.0(0.50) | 0.12 | 24 | 0.44 | 88 |
| BOLSA DE MERCADO C | | | | | |
| Productos lácteos | 2.0(0.10) | 0.08 | 80 | 0.10 | 100 |
| Frutas | 20.0(1.00) | 0.80 | 80 | 1.00 | 100 |
| Bebidas | 10.0(0.50) | 0.34 | 68 | 0.58 | 116 |
| BOLSA DE MERCADO D | | | | | |
| Productos lácteos | 2.0(0.10) | 0.06 | 60 | 0.12 | 120 |
| Frutas | 20.0(1.00) | 0.58 | 58 | 0.98 | 98 |
| Bebidas | 10.0(0.50) | 0.35 | 70 | 0.53 | 106 |

*El segundo conjunto de los datos de recuperación con el procedimiento Ag-DDC fue obtenido por un análisis adicional.

Tabla 92. Fósforo encontrado en los grupos de la bolsa de mercado.

| Grupo | Fósforo encontrado, ppm* |
|-------|--------------------------|
| 1 | 1131 |
| 2 | 2000 |
| 3 | 1478 |
| 4 | 686 |
| 5 | 297 |
| 6 | 836 |
| 7 | 281 |
| 8 | 266 |
| 9 | 159 |
| 10 | 660 |
| 11 | 707 |
| 12 | 89 |

*Promedio de 20 productos de cada grupo.

Tabla 93. Recuperación de fósforo agregado a los grupos de la bolsa de mercado.

| Grupo | No. de Determinaciones | Agregado, ppm | Encontrado, ppm | Recuperación, % | Desviación Estandard. |
|-------|------------------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------------|
| 1 | 3 | 800 | 783 | 98.0 | 3.6 |
| 2 | 5 | 800 | 792 | 99.0 | 4.7 |
| 3 | 3 | 800 | 772 | 96.7 | 7.5 |
| 4 | 6 | 800 | 796 | 99.3 | 3.3 |
| 5 | 4 | 800 | 771 | 96.5 | 2.4 |
| 6 | 4 | 800 | 773 | 96.8 | 1.5 |
| 7 | 2 | 800 | 767 | 96.0 | 0.0 |
| 8 | 2 | 800 | 788 | 98.5 | 2.1 |
| 9 | 2 | 800 | 786 | 98.0 | 0.0 |
| 10 | 8 | 800 | 800 | 100.1 | 6.3 |
| 11 | 4 | 800 | 786 | 98.2 | 9.3 |
| 12 | 2 | 800 | 781 | 97.5 | 2.1 |

14.2 GRAFICAS Y FIGURAS

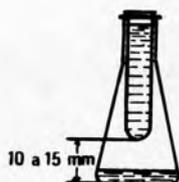


Fig. 1A. Condensador "cold finger".

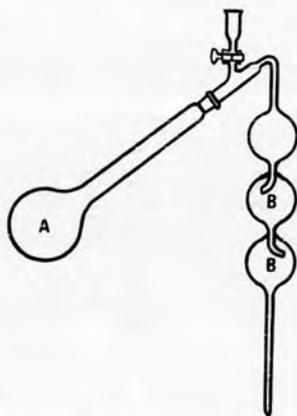


Fig. 1B. Matraz Kjeldahl. El matraz A tiene una capacidad de 100 o 200 ml y un cuello - de 7 a 8 pulgadas de longitud; la parte B del condensador es de 25 ml, la longitud total del condensador es de 18 a 20 pulgadas.

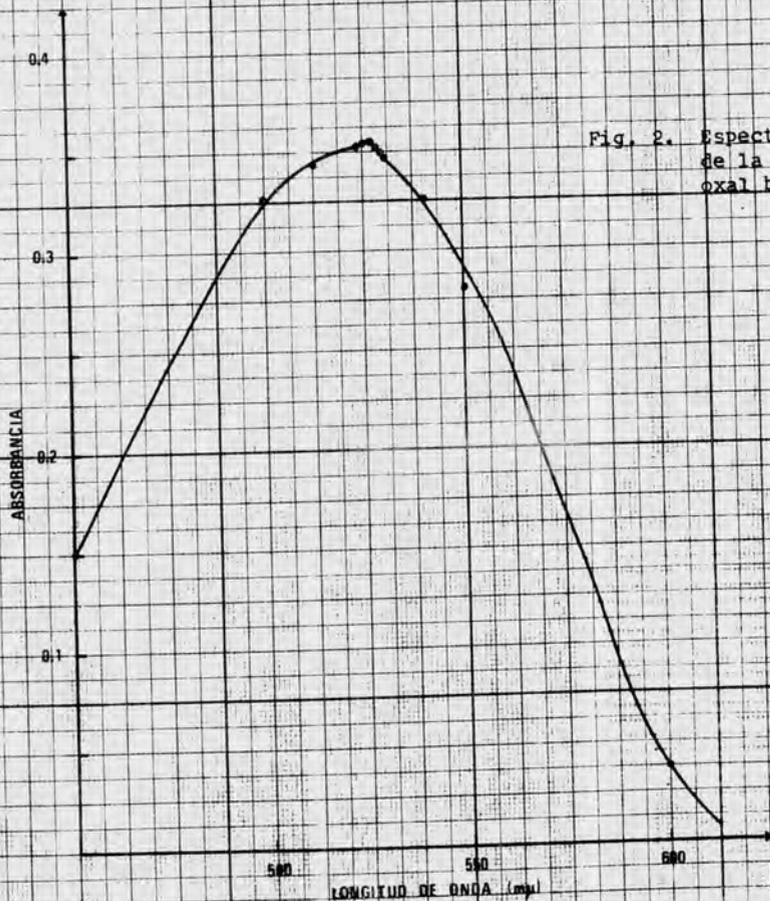


Fig. 2. Espectro de absorción del producto de la reacción del calcio y el glyoxal bis-2-hydroxyanil.

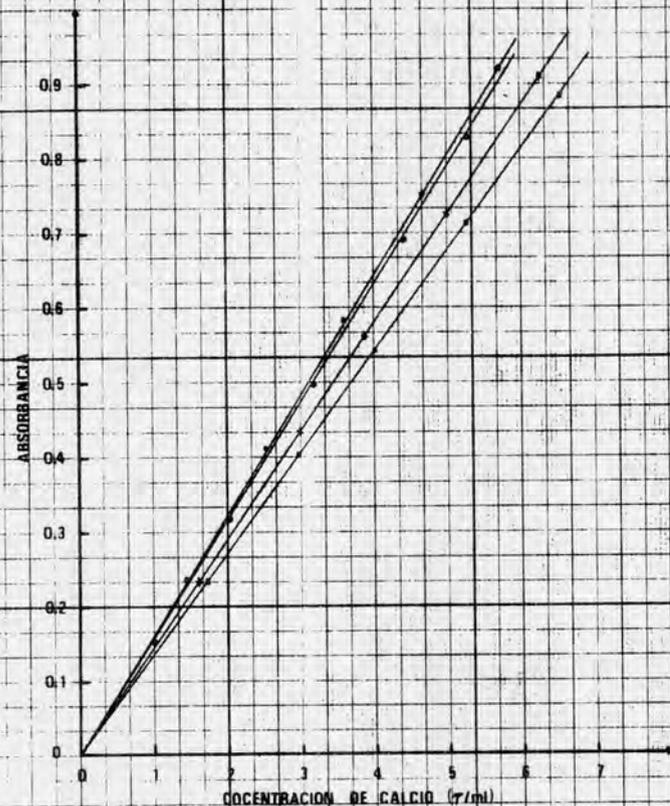


Fig. 3. Efecto del sistema de solvente en la curva de calibración.

- Etanol-butanol (1:1), solvente de Kerr(117)
- Etanol (al 95%)
- Metanol
- × Metanol-butanol (1:1)

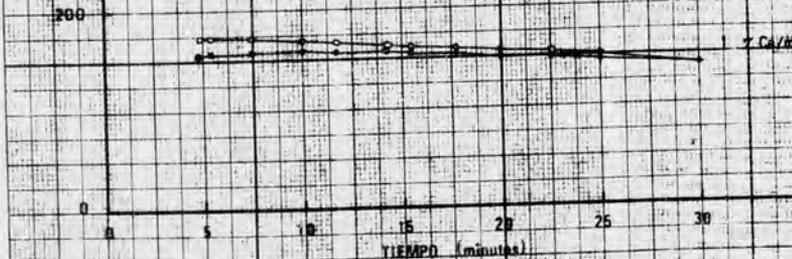
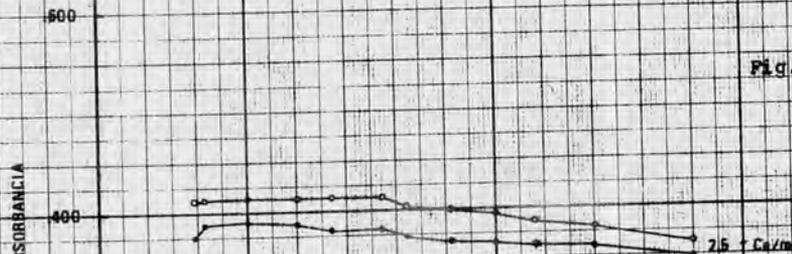


Fig. 4. Efecto del tiempo en la intensidad del color.

○ Etanol (solvente)
 ▼ Etanol-butanol (solvente de Kerr (117))

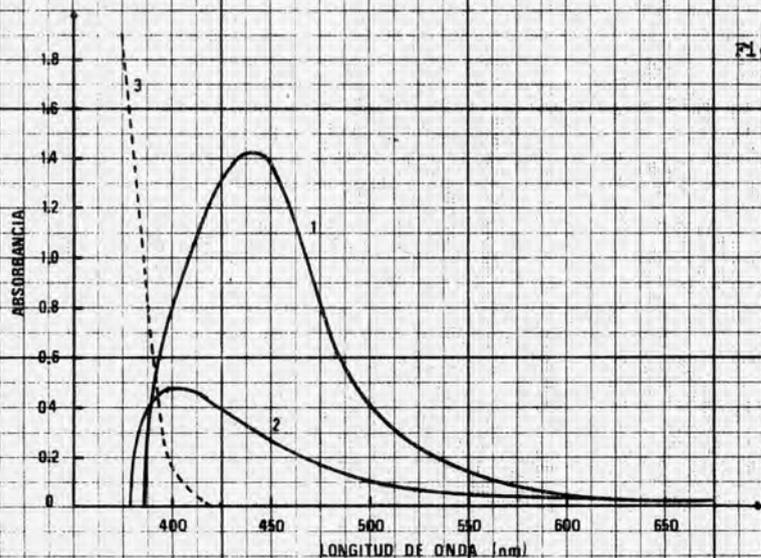
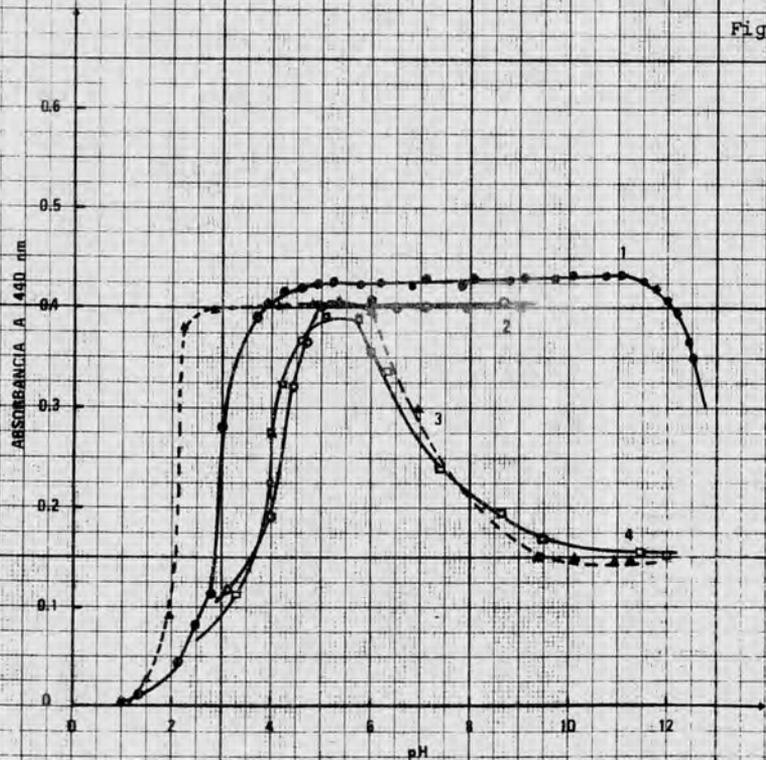


Fig. 5. Espectros de absorción de las soluciones de los complejos - formados con el reactivo:

- 1 10 ppm de cobre (I)
- 2 10 ppm de paladio
- 3 reactivo "blanco" sólo

Fig. 6. Efecto del pH en la formación del complejo de cobre (I):

- 1 en agua
- 2 en pentanol
- 3 en nitrobenzeno
- 4 en cloroformo



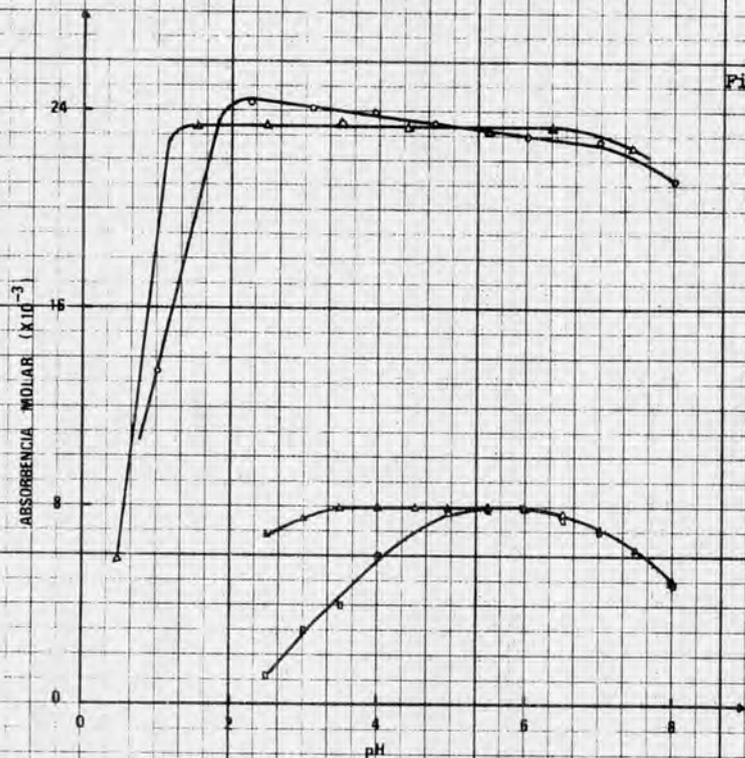


Fig. 7. Efecto del pH y las selecciones de los reductores en las en las absorptividades molares y la recuperación del fierro (conjunto superior de curvas) y cobre (conjunto inferior de curvas).

- Acido ascórbico agregado a la fase acuosa y a la fase del alcohol isoamilo
- Clorhidrato de hidroxilamina agregado a ambas fases
- △ Clorhidrato de hidroxilamina a la acuosa, y el ácido ascórbico a la fase alcohol

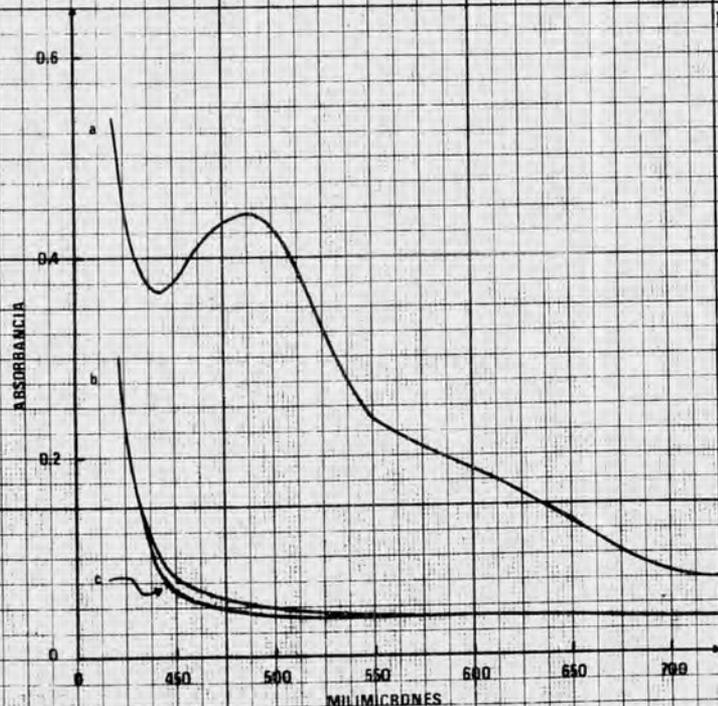


Fig. 8. Espectro de absorción del PDT-cobre (I) 4.84×10^{-4} M en alcohol isoamilo vs aire, curva a; después de la adición del cianuro de sodio, curva b; y el espectro del reactivo "blanco", curva c.

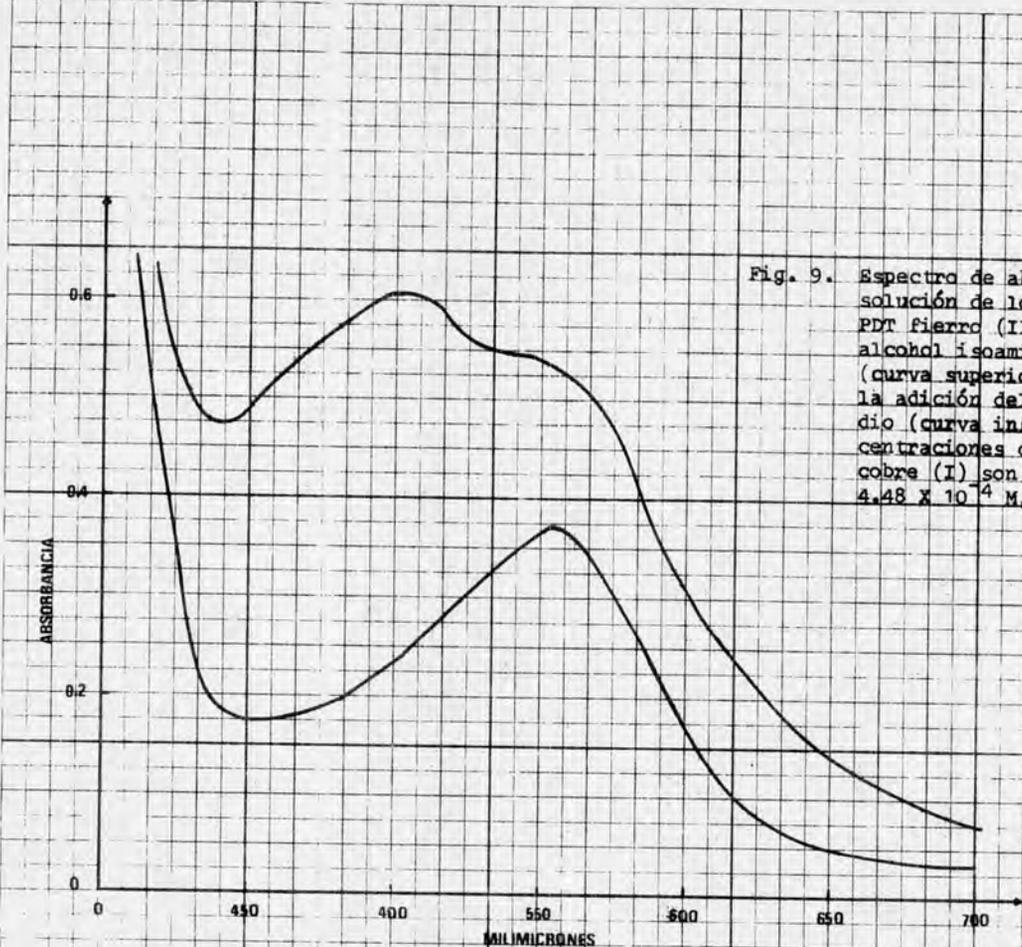


Fig. 9. Espectro de absorción de una solución de los complejos de PDT hierro (II) y cobre (I) en alcohol isoamilo vs aire antes (curva superior) y después de la adición del cianuro de sodio (curva inferior). Las concentraciones del hierro (II) y cobre (I) son 1.37×10^{-4} y 4.48×10^{-4} M, respectivamente.

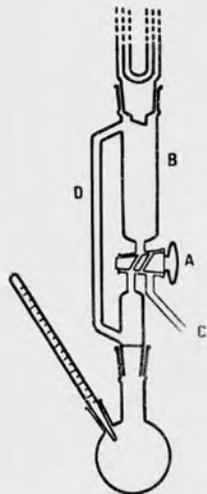


Fig. 10. Aparato para la descomposición húmeda de la materia orgánica.

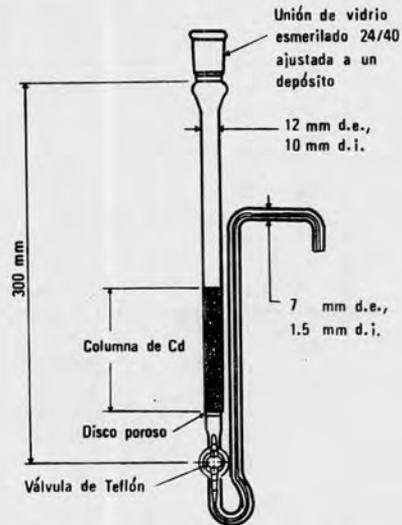


Fig. 11. Reductor modificado de Jones.

Fig. 12. Espectro del complejo de curcumina-boro.
Espectrofotómetro Beckman Modelo DK-2A,
con registrador: celdas de sílica de --
1 cm.

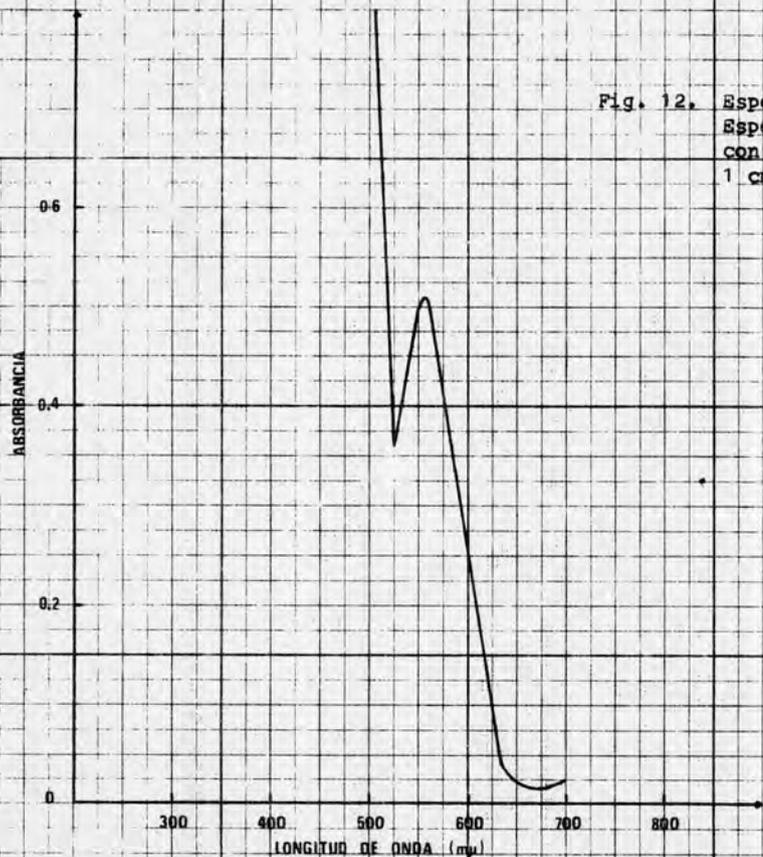


Fig. 13. Curva de calibración típica para la de-
terminación de nitrito en el rango de
10 a 100 μ g.

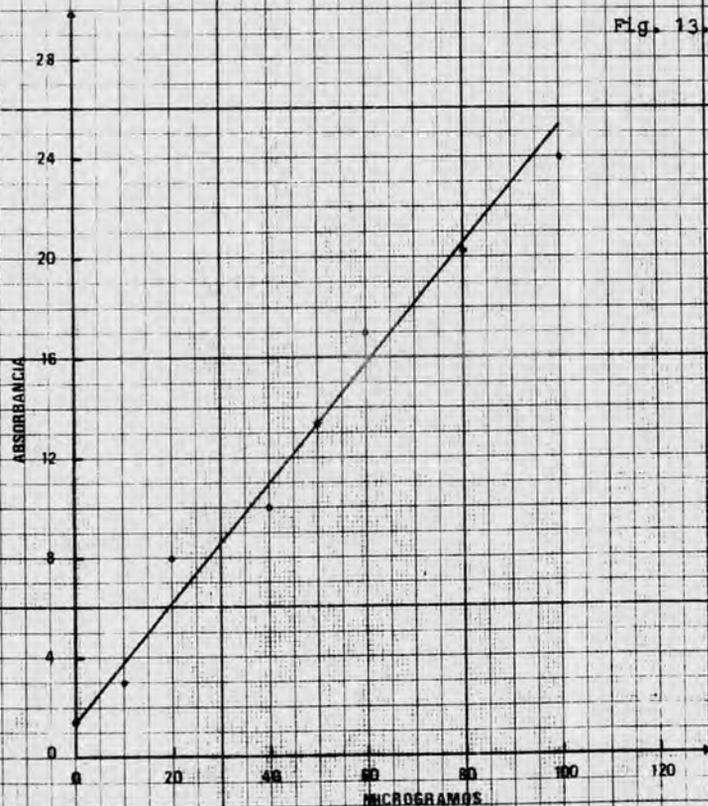
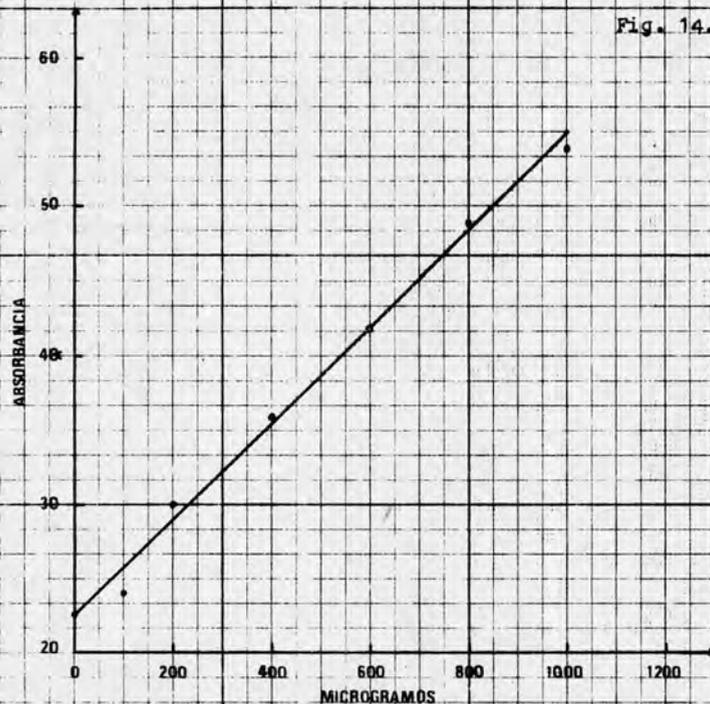


Fig. 14. Curva de calibración para la determinación del nitrito entre las concentraciones de 100 y 1000 μg .



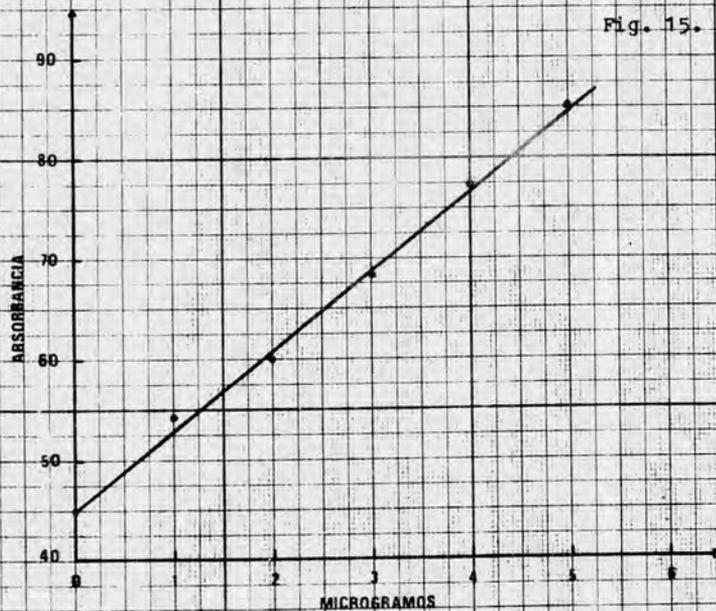


Fig. 15. Curva de calibración para determinar - nitrito entre 1 y 5 mg.

Fig. 16. Espectro de absorción del extracto de ciclohexano de una mezcla de reacción conteniendo 20 μ g de selenio vs ciclohexano como referencia.

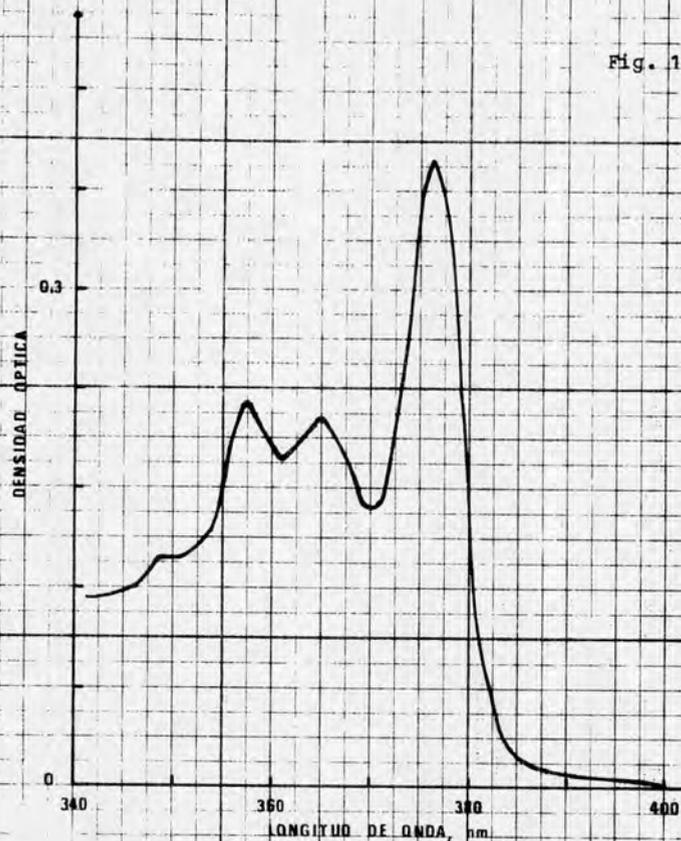


Fig. 17. Curva de calibración a 378 nm, usando un ancho de banda de 0.06 nm.

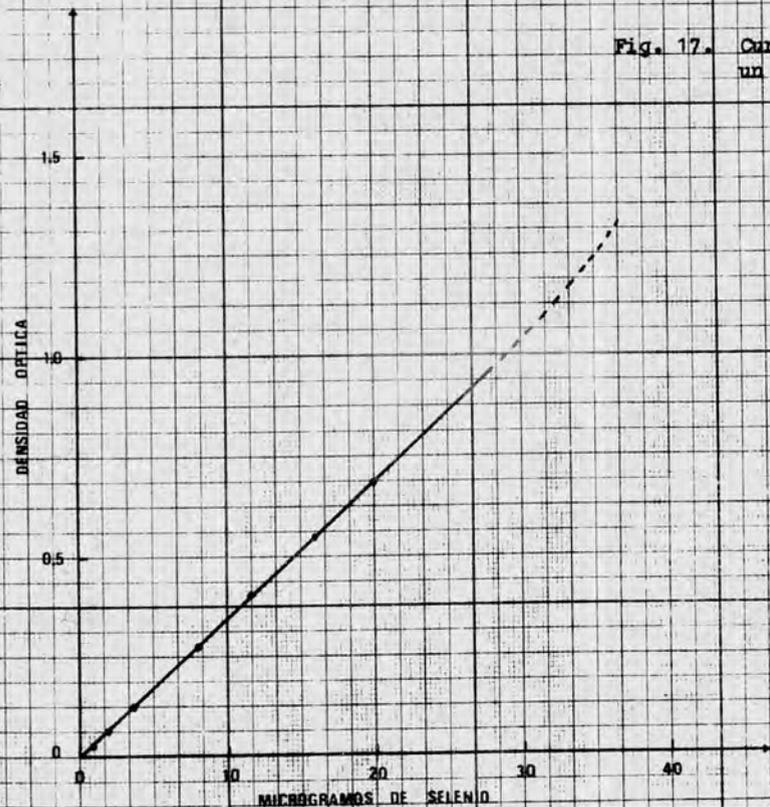


Fig. 18. Relación entre la absorbancia del metoropoli de color azul y la concentración del ácido sulfúrico en butanol.

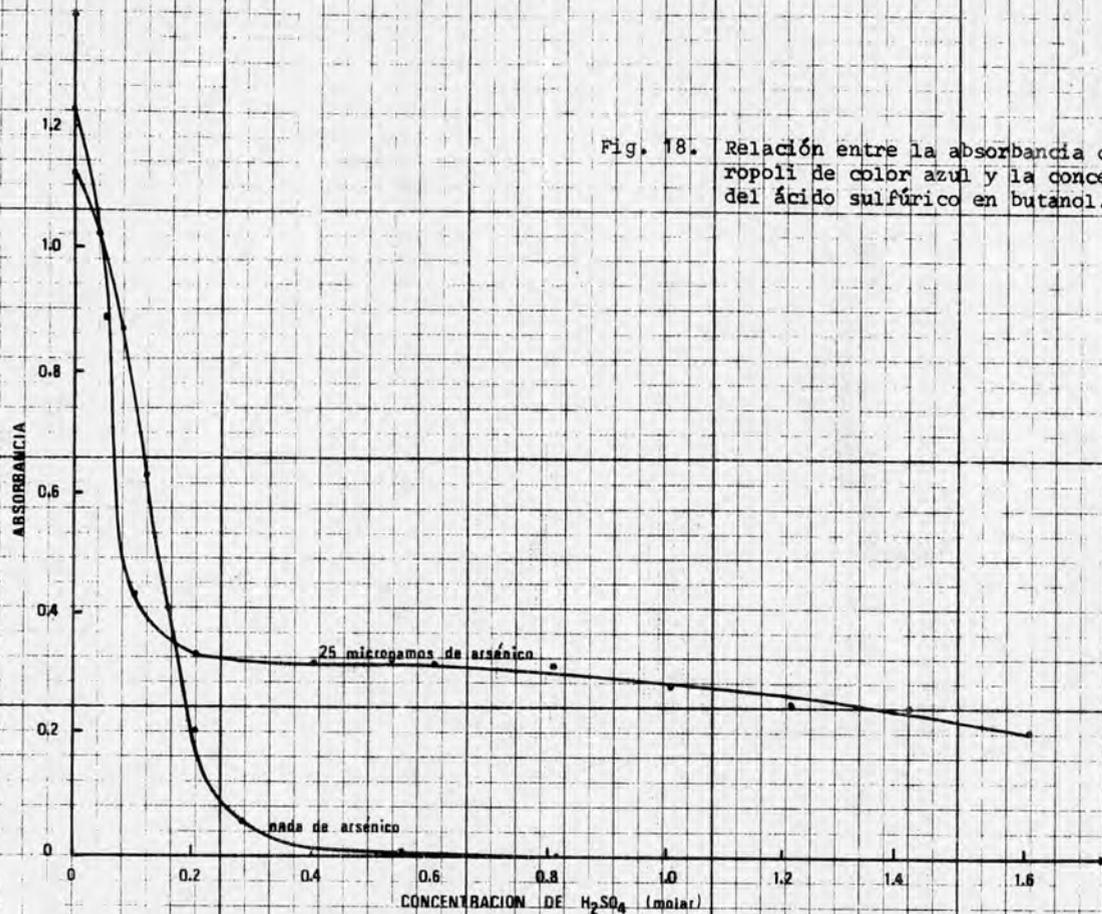


Fig. 19. Espectros de absorción del heteropoli de color azul.

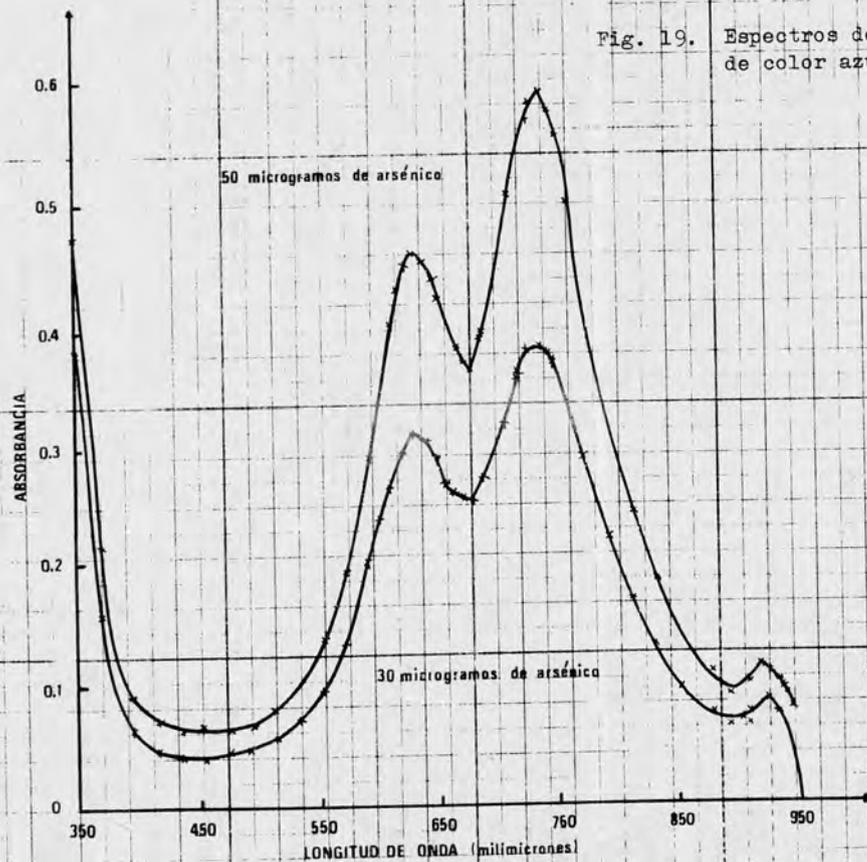


Fig. 20. Espectros de absorción del:

- A complejo más quercetina
- B quercetina
- C Complejo

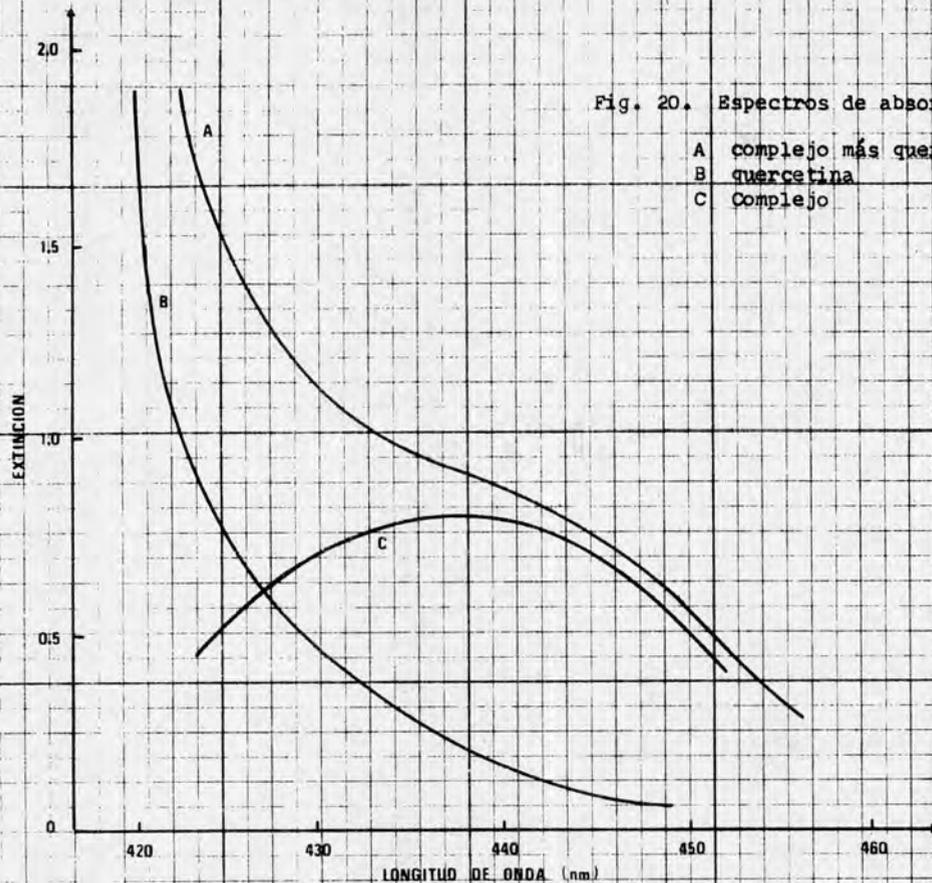
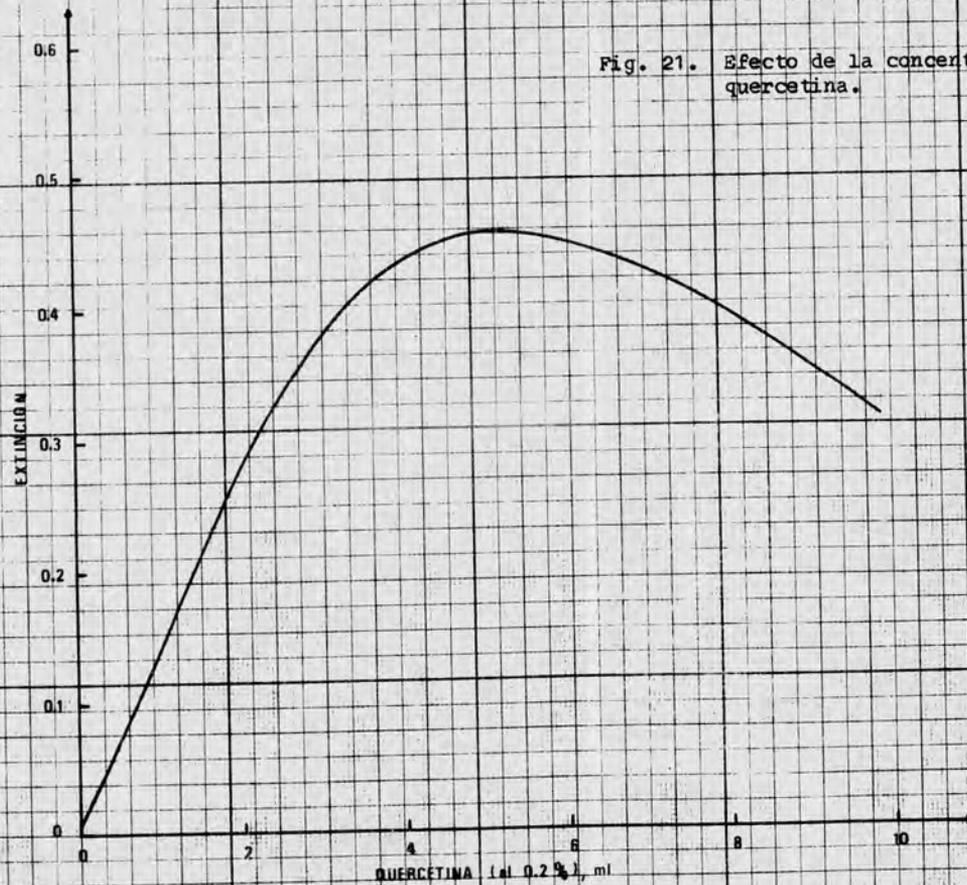


Fig. 21. Efecto de la concentración de la quercetina.



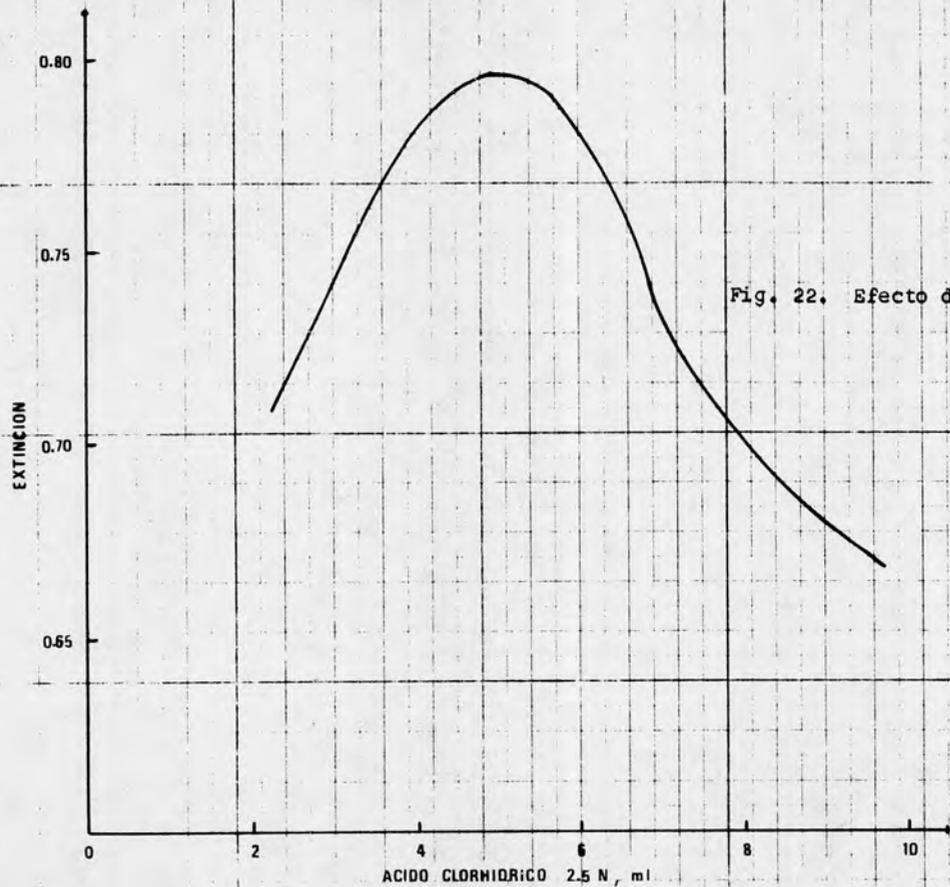


Fig. 22. Efecto de la acidez.

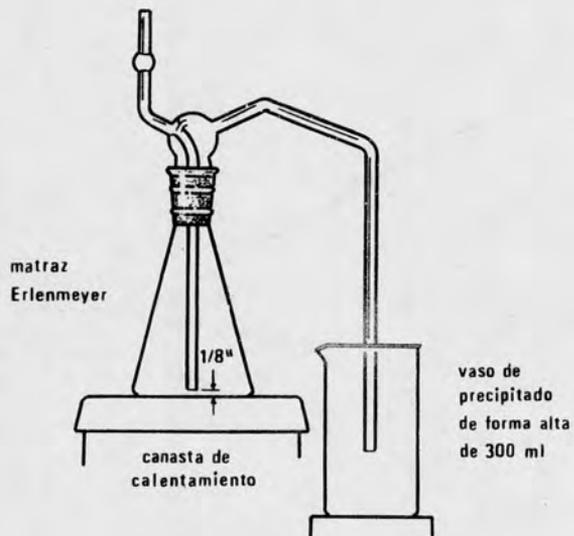


Fig. 23. Aparato de destilación para la determinación de estaño.



Fig. 24. Equipo para la combustión.

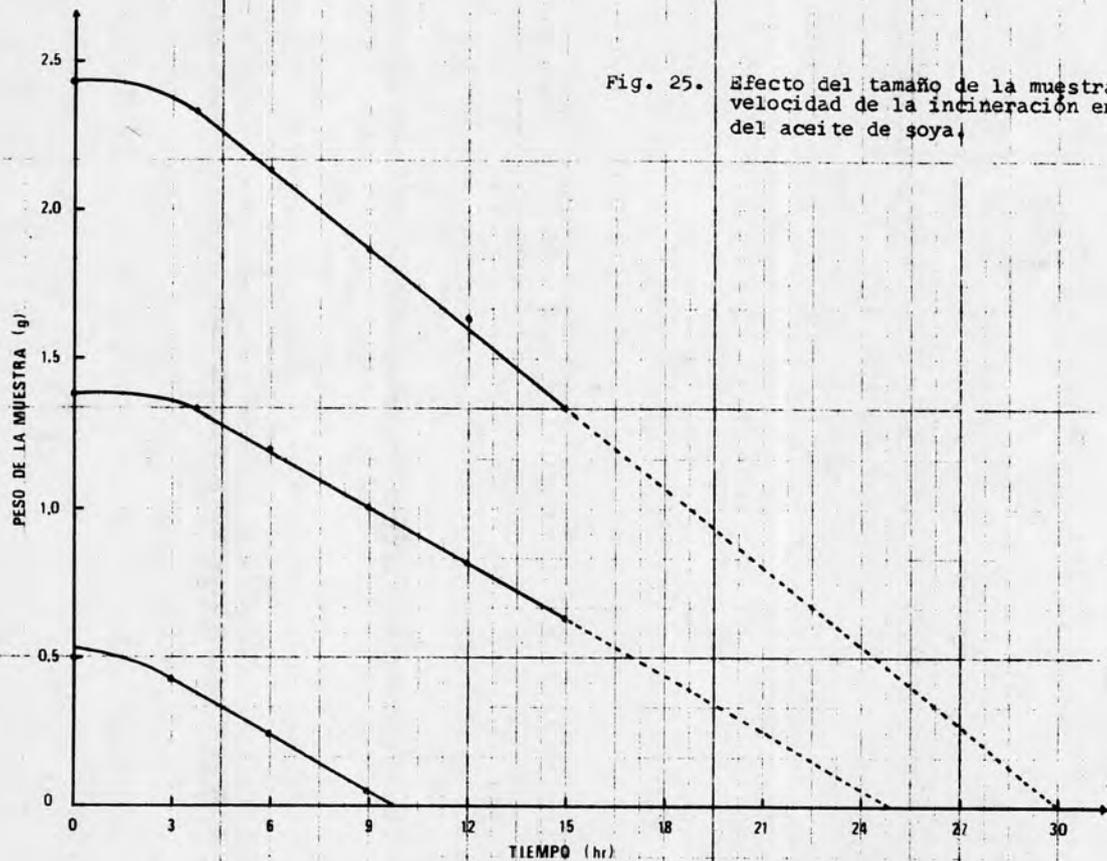


Fig. 25. Efecto del tamaño de la muestra en la velocidad de la incineración en secado del aceite de soya.

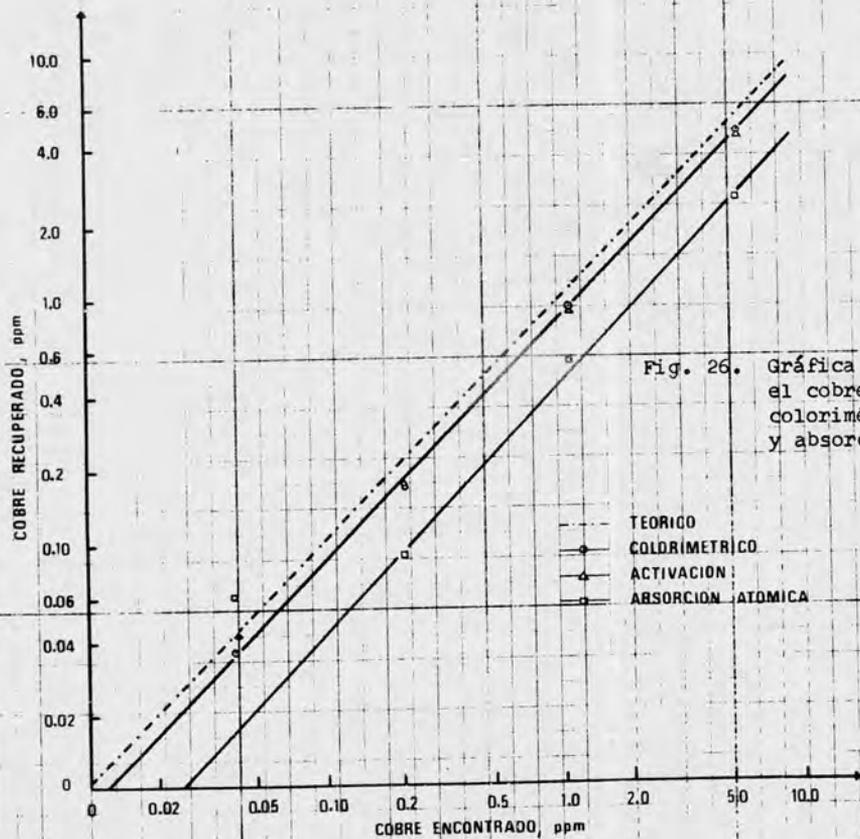


Fig. 26. Gráfica log-log del cobre agregado vs el cobre encontrado por los análisis colorimétrico, activación del neutrón y absorción atómica.

- - - - - TEORICO
 ○ - - - - - COLORIMETRICO
 △ - - - - - ACTIVACION
 □ - - - - - ABSORCION ATOMICA

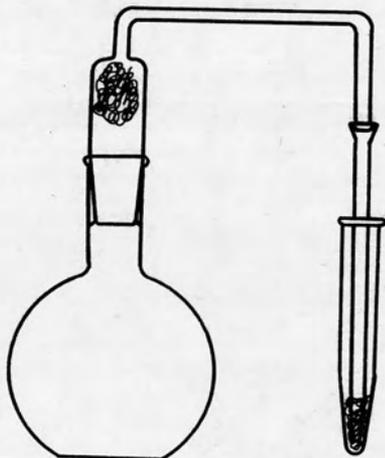


Fig. 27. Aparato para la evolución de la arsina.

CAPITULO XV
CONCLUSIONES

Como hemos hecho constar a través de los Capítulos - III a XIII, una gran variedad de especies inorgánicas absorben en las longitudes de onda visible, y por ello, son susceptibles de determinación cuantitativa. Esto hace -- que la colorimetría tenga una importancia muy grande como un método de análisis instrumental para la determinación de una gran variedad de elementos inorgánicos en los alimentos.

Una de las grandes ventajas de este tipo de análisis es su alta sensibilidad a bajas y altas concentraciones, con una precisión que depende principalmente del grado de pureza de los reactivos y del tipo de instrumento empleado para la medición de la absorción de la radiación.

Por la juiciosa elección de condiciones, puede ser -- posible encontrar una región de longitud de onda en la -- que el único componente absorbente de una muestra sea la substancia que se determina. Además, cuando hay transla-

po de bandas de absorción, a menudo son posibles las correcciones basadas en más mediciones en otras longitudes de onda. Como consecuencia, puede omitirse el paso de la separación.

Se realizan mediciones colorimétricas con facilidad y rapidez en las soluciones de las muestras de alimentos usando instrumentos modernos. Todo esto hace que este tipo de análisis compita y sea en casi todas las ocasiones superior a los demás métodos de análisis.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Abbott, D. C., y Johnson, E. I.
Analyst, 82, 206(1957).
- (2) Abbott, D. C., y Polhill, R. D. A.
Ibid., 79, 547(1954).
- (3) Alexander, O. R., Godar, E. M, y Linde, N. J.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 18, 206(1946).
- (4) Analytical Methods Committee
Analyst, 84, 127(1959).
- (5) Analytical Methods Committee
Ibid., 214(1959).
- (6) Analytical Methods Committee
Ibid., 85, 629(1960).
- (7) Analytical Methods Committee
Ibid., 643(1960).
- (8) Analytical Methods Committee
Ibid., 88, 253(1963).
- (9) Analytical Methods Committee
Ibid., 90, 515(1965).
- (10) Analytical Methods Committee
Ibid., 92, 320(1967).
- (11) Analytical Methods Committee
Ibid., 403(1967).
- (12) Analytical Methods Committee
Ibid., 93, 414(1968).
- (13) Analytical Methods Committee
Ibid., 94, 1153(1969).

- (14) Association of Official Agricultural Chemists.
J. Ass. Off. Agric. Chem., 35, 80(1952).
- (15) "A.S.T.M. Methods of Chemical Analysis of Metals," --
American Society for Testing Materials, Philadelph
phia, 1956, p. 223.
- (16) Baba, H.
Anal. Abstr., 4, 2929 (1957).
- (17) Ballinger, D. G., Lishka, R. J., y Gales, M. E.
J. Amer. Water Works Ass., 54, 1424(1962).
- (18) Banerjea, D., y Tripathi, K. K.
Anal. Chem., 32, 1196(1960).
- (19) Barakat, M. Z., y Sadek, I.
Food Technol., 18, 242(1964).
- (20) Barnes, H.
J. Marine Biol. Assoc. United Kingdom, 25, - - -
109(1941).
- (21) Barney II, J. E.
Anal. Chem., 27, 1283(1955).
- (22) Barton, C. J.
Ibid., 20, 1068(1948).
- (23) Bedessem, R. V, Alioto, P., y Moubry, R. J.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 52, 917(1969).
- (24) Beecher, G. R., y Whitten, B. K.
Anal. Biochem., 36, 243(1970).
- (25) Berenblum, I., y Chain, E.
Biochem. J., 32, 286(1938).
- (26) Borginon, H.
Anal. Chem., 37, 71R(1965).
- (27) Brabson, J. A., Karchmer, H. H., y Katz, M. S.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 16, 533(1944).

- (28) Brekke, J. E.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 46, 618(1963).
- (29) Brunstad, J. W.
Ibid., 51, 987(1968).
- (30) Burrows, J. A., Heerdt, J. C., y Willis, J. B.
Anal. Chem., 37, 579(1965).
- (31) Buttril, W. Hearon
J. Ass. Off. Anal. Chem., 56, 1144(1973).
- (32) Case, F. H.
J. Org. Chem., 30, 931(1965).
- (33) Center, E. J., y Willard, H. H.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 14, 287(1942).
- (34) Chaney, A. L., y Marbach, E. P.
Clin. Chem., 8, 130(1962).
- (35) Chapman, A. C., y Linden, H.
Analyst, 51, 563(1926).
- (36) Cholak, J., y Hubbard, D. M.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 16, 333(1944).
- (37) Cincotta, Joseph J.
J. Agric. Food Chem., 8, 145(1960).
- (38) Clark, R. E. D.
Analyst, 61, 242(1936).
- (39) Clark, R. E. D.
Ibid., 62, 661(1937).
- (40) Committee on Editing Methods of Analysis, "Official Methods of Analysis of the Association of Official-Agricultural Chemists." 10th Ed., Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D. C., 1965, p. 375.

- (41) Cooney, Patricia M., et al.
Anal. Chem., 35, 152(1958).
- (42) Corbin, Homer B.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 53, 140(1970).
- (43) Coyle, C. F., y White, C. E.
Anal. Chem., 29, 1486(1957).
- (44) Cranston, H. A., y Thompson, J. B.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 18, 323(1946).
- (45) Crawley, R. H. A.
Anal. Chim. Acta, 13, 373(1955).
- (46) Dalton, E. F., y Malanoski, A. J.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 52, 1035(1969).
- (47) Deck, Rudolph E., y Kaiser, Kay K.
J. Amer. Oil Chem. Soc., 47, 126(1970).
- (48) Dejonge, A. J., Coenen, W. E., y Okkerse, C.
Nature, 206, 573(1965).
- (49) Dible, W. T., Truog, E., y Berger, K. C.
Anal. Chem., 26, 478(1954).
- (50) Dick, J., y Pugsley, L. I.
Can. J. Res., 28, 199(1950).
- (51) Diehl, H., y Ellingboe, J.
Anal. Chem., 32, 1120(1960).
- (52) Diehl, H., y Smith, G. F., "The Copper Reagents: Cuproine, Neocuproine, Bathocuproine," The G. Frederick Smith Chemical Company, Columbus, Ohio, 1958.
- (53) Diehl, H., y Smith, G. F.
Talanta, 2, 209(1959).
- (54) Dow, Matthew L.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 53, 1040(1970).

- (55) Down, J. L., y Gorsuch, T. T.
Analyst, 92, 378(1967).
- (56) Downey, T. A.
Plating, 44, 383(1957).
- (57) Ellis, M. M.
Copeia, 2, 97(1934).
- (58) Engberg, Ase
Analyst, 98, 137(1973).
- (59) Entienne, Guillermo, "Diccionario de Química e Ingeniería Química." 1a. Ed., México, Editorial Lumnsa, S. A., 1975.
- (60) Epps, E. A.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 49, 793(1966).
- (61) Epps, E. A., Jr.
Anal. Chem., 22, 1062(1950).
- (62) Estrin, Ben, y Brammell, Wallace S.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 52, 865(1969).
- (63) Evans, C. D. et al.
J. Amer. Oil Chem. Soc., 28, 68(1951).
- (64) Evans, C. D., et al.
Ibid., 29, 61(1952).
- (65) Evans, R. J., y Bandemer, S. L.
Anal. Chem., 26, 595(1954).
- (66) Farnsworth, M., y Pekola, J., "Treatise on Analytical-Chemistry," I. M. Kolthoff, P. J. Elving, and E.-B. Sandell (Eds.), Interscience Publishers, New - York, 1961, pp. 351, 363.
- (67) Feigl, F., "Qualitative Analysis by Spot Tests: Inorganic and Organic Applications," Elsevier Publishing Co., New York, 1947, p. 150.

- (68) Feigl, F., "Sport Tests, Inorganic Applications," Volume I, 4th Ed., Elsevier Publishing Co., Amsterdam and New York; Cleave-Hume Press Ltd., London, -- 1954.
- (69) Fernandez del Riego, A.
Bol. Inst. Espan. Oceanogr., 134, 3(1968).
- (70) Fiske, C. H., y Subbarow, Y.
J. Biol. Chem., 66, 375(1926).
- (71) Follet, M. J., y Ratcliff, P. W.
J. Sci. Food Agric., 14, 138(1963).
- (72) Forster, W. A.
Analyst, 78, 560(1953).
- (73) Frank, A. J., Goulston, A. B., y Deacutis, A. A.
Anal. Chem., 29, 750(1957).
- (74) Fujita, Masahijo, et al.
Ibid., 40, 2042(1968).
- (75) Fukai, R., y Meinke, W. W.
Nature, 184, 815(1959).
- (76) Fulton, J. W., y Hastings, J.
Anal. Chem., 28, 174(1956).
- (77) Furman, N. H. (Ed.) Scott's. "Standard Methods of Chemical Analysis," Vol 1, 6th Ed., D. Van Nostrand-Co., Inc., Princeton, 1962, p. 1106.
- (78) Gahler, A. R.
Anal. Chem., 26, 577(1954).
- (79) Gamez, Tana de., "Diccionario Internacional Simon and-Schuster, Inglés/Español." Simon and Schuster, -- Inc., New York, 1973.
- (80) Gee, A., Domingues, L. P., y Deitz, V. R.
Anal. Chem., 26, 1487(1954).

- (81) Gehman, H., y Osman, E. M.
Advan. Food Res., 5, 53(1954).
- (82) Gehrke, C. W., Affsprung, H. E., y Yung, C. L.
Anal. Chem., 26, 1944(1954).
- (83) Goldstein, D., y Stark-Mayer, C.
Anal. Chim. Acta, 19, 437(1958).
- (84) Gorsuch, T. T.
Analyst, 84, 135(1959).
- (85) Graciani, E., Ph. D. Tesis, Universidad de Sevilla, --
1969(Tesis no publicada).
- (86) Greenhalgh, R., y Riley, J.
Analyst, 87, 970(1962).
- (87) Grimaldi, F. S., y White, C. E.
Anal. Chem., 25, 1866(1953).
- (88) Gutenmann, W. H., y Lisk, D. J.
J. Agr. Food Chem., 8, 306(1960).
- (89) Hackett, C. E. S.
Anal. Chim. Acta, 12, 358(1955).
- (90) Hamilton, E. I., Minski, M. J., y Cleary, J. J.
Analyst, 92, 257(1967).
- (91) Hamilton, James E.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 59, 284(1976).
- (92) Hamilton, Leicester F., y Simpson, Stephen G., "Quantitative Chemical Analysis." 12th. Ed., Collier-Macmillan Student Edition, New York, 1967.
- (93) Hardin, L. J.
J. Ass. Off. Agr. Chem., 36, 874(1953).
- (94) Hayes, M. R., y Metcalfe, J.
Analyst, 87, 956(1962).

- (95) Henly, A. A., y Saunders, R. A.
Ibid., 83, 584(1958).
- (96) Hernández-Gutiérrez, F.
Anales real soc. españ. fís. y quím., Madrid, 47B,
649(1951).
- (97) Hibbits, J. O., Davis, W. F., y Menke, M. R.
Talanta, 4, 101(1960).
- (98) Hoffman, I
Analyst, 87, 650(1962).
- (99) Hoffman, I., y Gordon, A. D.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 47, 629(1964).
- (100) Høgdahl, O. T., y Melsom, S.
Anal. Chem., 38, 1414(1966).
- (101) Hoogland, P. L.
Anal. Chem. Acta, 2, 831(1948).
- (102) Hundley, H. K, y Underwood, J. C.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 53, 1176(1970).
- (103) Ince, A. D., y Forster, W. A.
Analyst, 85, 608(1960).
- (104) International Union Of Pure and Applied Chemistry
Pure Appl. Chem., 10, 77(1965).
- (105) Ishihara, Y., y Taguchi, Y.
Anal. Abstr., 5, 2525(1958).
- (106) Jacobs, M. B., y Nagler, J.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 14, 442(1942).
- (107) Jacobs, M. B., "The Chemical Analysis of Foods and Food
Products," 3rd Ed., D. Van Nostrand Co., Inc., --
Princeton, N. J., 1958, p. 751.
- (108) Jenkins, E. N.
Analyst, 79, 209(1954).

- (109) Jenness, R.
Anal. Chem., 25, 966(1953).
- (110) Joint ABCM/SAC Committee On Methods For the Analysis-
of Trade Effluents
Analyst, 82, 764(1957).
- (111) Jones, P. D., y Newman, E. J.
Ibid., 87, 637(1962).
- (112) Joslyn, M. A., y Braverman, J. B.
Advan. Food Res., 5, 97(1954).
- (113) Kamal, T. H.
Agr. Food Chem., 8, 156(1960).
- (114) Karvánek, M., Curda, D., y Miler, V.
Anal. Abstr., 13, 6510(1966).
- (115) Kemp, J. G., et al.
Cereal Chem., 38, 50(1961).
- (116) Kenyon, C., y Ovenston, T. C. J.
Nature, 167, 727(1951).
- (117) Kerr, J. R. W.
Analyst, 85, 867(1960).
- (118) Kingsley, G. R., y Schaffert, R. R.
Anal. Chem., 23, 914(1951).
- (119) Kinoshita, S.
Microchem. J., 8, 79(1964).
- (120) Kirk, R. S., y Pocklington, W. D.
Analyst, 94, 71(1969).
- (121) Kitson, R. E., y Mellon, M. G.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 16, 379(1944).
- (122) Klein, A. K.
This Journal, 35, 537(1952).

- (123) Koening, R. A., y Johnson, C. R.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 14, 155(1942).
- (124) Kolthoff, I. M., y Elving, P. J., "Treatise on Analytical Chemistry," Part II, Vol. 3, Interscience Publishers, New York-London, 1961, p. 31.
- (125) Kolthoff, I. M., y Sandell, E. B. "Textbook of Quantitative Inorganic Analysis," 3rd Ed., The Macmillan Co., New York, 1952. p. 706.
- (126) Kolthoff, I. M., y Yutzy, H.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 9, 75(1937).
- (127) Koritala, S., y Dutton, H. J.
J. Amer. Oil Chem. Soc., 43, 86(1966).
- (128) Koritala, S., y Dutton, H. E. J.
Ibid., 43, 556(1966).
- (129) Kuemmel, D. F., y Mellon, M. G.
Anal. Chem., 28, 1674(1956).
- (130) Laboratory Manual: Methods of Analysis of Milk and its Products, Milk Industry Foundation, 1145 19th St., N. W., Washington, D. C., 1959, pp. 457-461.
- (131) Labuza, T. P., y Karel, M.
J. Food Sci., 32, 572(1967).
- (132) Lampitt, L. H., y Goldenberg, N.
Chem. and Ind., 18, 748(1940).
- (133) Lander, J. W., y Zak, B.
Amer. J. Clin. Pathol., 29, 590(1958).
- (134) Leblanc, Patric J., y Jackson, Adrian L.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 56, 383(1973).
- (135) Leone, Joseph L.
Ibid., 535(1973).
- (136) Liederman, D., Bowen, J. E., y Milner, O. I.
Anal. Chem., 31, 2052(1959).

- (137) Lindstrom, F., y Diehl, H.
Ibid., 32, 1123(1960).
- (138) Lisk, Donald J.
Agric. Food Chem., 8, 121(1960).
- (139) Liska, K.
Anal. Abstr., 3, 3590(1956).
- (140) List, G. R., et al.
J. Amer. Oil Chem. Soc., 45, 872(1968).
- (141) Lott, P. F., et al.
Anal. Chem., 35, 1159(1963).
- (142) Lubochinsky, B, y Zalta, J. P.
Bull. Soc. Chim. Biol., 36, 1363(1954).
- (143) Luke, C. L.
Anal. Chem., 28, 1276(1956).
- (144) Luke, C. L., y Campbell, M. E.
Ibid., 25, 1588(1953).
- (145) Lyaskovskaya, Y., y Krasil' Nikova, T. F.
Anal. Abstr., 10, 1177(1963).
- (146) Lyaskovskaya, Y, y Krasil' Nikova, T. F.
Chem. Abstr., 60, 13794(1964).
- (147) Maeck, W. J., et al.
Anal. Chem., 35, 62(1963).
- (148) Mapes, D. A., y Shrader, S. A.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 40, 180(1957).
- (149) Mapes, D. A., y Shrader, S. A.
Ibid., 189(1957).
- (150) Martens, R. I., y Githens, R. E.
Anal. Chem., 24, 991(1952).
- (151) Martin, J. B., y Doty, D. M.
Ibid., 21, 965(1949).

- (152) McBride, B. C., y Wolfe, R. S.
Biochemistry, 10, 4312(1971).
- (153) McGary, E. D., y Young, B. E.
J. Agric. Food Chem., 24, 539(1976).
- (154) McKay, A. J.
Aust. J. Dairy Technol., 29, 34(1974).
- (155) Mehta, S. M., y Patel, S. R.
J. Amer. Chem. Soc., 73, 224(1951).
- (156) Metallic Impurities In Organic Matter Subcommittee.
Analyst, 92, 320(1967).
- (157) Middleton, G, y Stuckey, R. E.
Ibid., 79, 138(1954).
- (158) Milton, R., y Duffield, W. D.
Ibid., 67, 279(1942).
- (159) Milton, R. F., y Hoskins, J. L.
Ibid., 72, 6(1947).
- (160) Mitchell, H. L.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 55, 1(1972).
- (161) Mitchell. L. C.
This Journal, 16, 298(1933).
- (162) Morris, H. A. L.
Analyst, 77, 98(1952).
- (163) Morrison, J. I.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 44, 740(1961).
- (164) Morrison, J. L., y George, G. M.
Ibid., 52, 930(1969).
- (165) Murray, W. M., Jr., y Ashley, S. E. Q.
Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 10, 1(1938).

- (166) Nabrzyski, M.
Anal. Chem., 45, 2438(1973).
- (167) Nabrzyski, Michal
Ibid., 47, 552(1975).
- (168) Nagaraja, K. V., y Manjrekar, S. P.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 54, 1146(1971).
- (169) Newman, E. J., and Jones, P. D.
Analyst, 91, 406(1966).
- (170) Nicholas, R. A., y Fox, J. B., Jr.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 56, 922(1973).
- (171) Nickerson, Thomas A., Moore, Edwin E., y Zimmer, Arthur A.
Anal. Chem. 36, 1676(1964).
- (172) Nury, F. S., Taylor, D. H., y Brekke, J. E.
J. Agr. Food Chem., 7, 351(1959).
- (173) Nuzzi, R.
Nature (London), 237, 38(1972).
- (174) Official Methods of Analysis, 8th Ed., AOAC, Washington,
D. C., 1955.
- (175) Official Methods of Analysis, 9th Ed., AOAC, Washington,
D. C., 1960).
- (176) Official Methods Of Analysis, 10th Ed., AOAC, Washington,
D. C., 1965.
- (177) Official Methods of Analysis, 11th Ed., AOAC, Washington,
D. C., 1970..
- (178) Official Methods of Analysis, 12th Ed., AOAC, Washington,
D. C., 1975.
- (179) Olson, Oscar E.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 56, 1073(1973).
- (180) Olson, O. E., Jornlyn, D. F., y Moxon, A. L.
J. Amer. Soc. Agron., 34, 607(1942).

- (181) Ovenston, T. C. J., y Kenyon, C.
Analyst, 80, 566(1955).
- (182) Parker, C. A., y Harvey, L. G.
Ibid., 87, 558(1962).
- (183) Pearson, D., "The Chemical Analysis of Food," 5th Edition, J. and A. Churchill Ltd., London, 1962..
- (184) Pecsok, Robert L., y Shields, L. Donald, "Métodos Modernos de Análisis Químicos." 1a. Ed. México, Limusa, A. A., 1973.
- (185) Phillips, G. F., Dixon, B. E., y Lidzey, R. G.
J. Sci. Food Agric., 10, 604(1959).
- (186) Phillips, J. P., y Merritt, L. L.
J. Amer. Chem. Soc., 70, 410(1948).
- (187) Polley, Dorothy, y Miller, V. L.
Anal. Chem., 27, 1162(1955).
- (188) Powers et al.
Ibid., 31, 1589(1959).
- (189) Racicot, E. L.
Ibid., 23, 1873(1951).
- (190) Report by the Joint Mercury Residues Panel of the Advisory Committee on Poisonous Substances Used in -- Agriculture and Food Storage, the Analytical Methods Committee and the Association of British Manufacturers of Agricultural Chemicals.
Analyst, 86, 608(1961).
- (191) Ross, W. J., y White, J. C.
Anal. Chem., 33, 421(1961).
- (192) Rynasiewicz, J, Sleeper, M. P., y Ryan, J. W.
Ibid., 26, 935(1954).
- (193) Sallavo, K. R.
Chem. Abstr., 48, 14008G(1954).

- (194) Sandell, E. B., "Colorimetric Determination of traces of Metals," 3rd ed., Interscience Publishers, New York and London, 1959.
- (195) Schilt, A. A.
Talanta, 13, 895(1966).
- (196) Schilt, A. A., "Analytical Applications of 1,10-Phenanthroline and Related Compounds," Pergamon Press, New York, N. Y., 1969.
- (197) Schilt, A. A., y Hoyle, W. C.
Anal. Chem., 39, 114(1967).
- (198) Schilt, Alfred A., y Taylor, Paul J.
Ibid., 42, 220(1970).
- (199) Schuller, P. L., y Veen, E.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 50, 1127(1967).
- (200) Schwab, A. W., y Dutton, H. J.
J. Amer. Oil Chem. Soc., 25, 57(1948).
- (201) Skoog, Douglas A., y West, Donald M., "Análisis Instrumental." 2a. Ed., Interamericana, 1975.
- (202) Smart, N. A., y Hill, A. R. C.
Analyst, 94, 143(1969).
- (203) Smith, A. C.
J. Dairy Sci., 50, 664(1967).
- (204) Smith, G. F., y McCurdy, W. H., jun.
Anal. Chem., 24, 371(1952).
- (205) Smith, H.
Ibid., 31, 1361(1959).
- (206) Smith, N. C., "Determination of Egg in Ice Cream," Calif Dept. Agr. Bull., 19, 692(703).

- (207) Snell, F. D., Snell, Cornelia T., y Snell. C. A., "Colorimetric Methods of Analysis," Vol IIA, D. Van-
Nostrand and Co., Inc., New York, 1959.
- (208) Southworth, B. C., Hodecker, J. H., y Fleischer, K. D.
Anal. Chem., 30, 1152(1958).
- (209) Spencer, G. L., y Meade, G. P., "Cane Sugar Handbook,"
8th ed., Wiley, New York, 1945, pp. 521-2.
- (210) Steel, R. G. D., y Torrie, J. H. "Principles and Proce-
dures of Statistics," Mc Graw-Hetl Book Co., Inc.,
New York, 1960.
- (211) Steigman, A.
Anal, Chem., 22, 492(1950).
- (212) Stone, L. R.
J. Ass. Off. Anal. Chem., 50, 1361(1967).
- (213) Strafford, N., Wyatt, P. F., y Kershaw, F. G.
Analyst, 70, 232(1945); 78, 624(1953).
- (214) Stratton, G., y Whitehead, H. C.
J. Amer. Water Works Ass., 54, 861(1962).
- (215) Sultzaberger, J. A.
Ind. Eng., 15, 6(1943).
- (216) Teicher, H., y Gordon, L.
Anal. Chem., 25, 1182(1953).
- (217) Thompson, Mary H. y George McClellam
J. Ass. Off. Anal. Chem., 45, 979(1962).
- (218) Toribara, T. Y., y Koval, L.
Talanta, 7, 248(1961).
- (219) Trabanelli, G.
Chem. Abstr., 55, 12153(1961).

- (220) United States Pharmacopeia, 17th Rev., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1965, pp. 434-435.
- (221) Valcarcel, M., y Pino, F.
Analyst, 98, 246(1973).
- (222) Van de Bogart, M., y Beinert, H.
Anal. Biochem., 20, 325(1967).
- (223) Van Schouwenburg, J. Ch.
Anal. Chem., 32, 709(1960).
- (224) Vasak, V, y Sedivec, V.
Chem. Abstr., 47, 67c(1953).
- (225) Wadelin, C., y Mellon, M. G.
Analyst, 77, 708(1952).
- (226) Weatherburn, M. W.
Anal. Chem., 39, 971(1967).
- (227) Webb, H. J., y Nance, L. E.
J. Ass. Off. Agric. Chem., 43, 506(1960).
- (228) Whittle, V. P.
This Journal, 49, 284(1966).
- (229) Wilkins, D. H., y Smith, G. F.
Anal. Chim. Acta, 9, 538(1953).
- (230) Williams, D. E., y Vlamis, J.
Anal. Chem., 33, 1098(1961).
- (231) William, K. T., y Wilson, J. R.
Ibid., 244(1961).
- (232) Willis, J. B.
Australian J. Dairy Technol., 19, 70(1964).
- (233) Wyatt, P. F.
Analyst, 80, 368(1955).

- (234) Youden, W. J.,
"Statistical Techniques for Collaborative Tests,"
AOAC, Washington, DC, 1973.
- (235) Zak, B., y Ressler, N.
Anal. Chem., 28, 1158(1956).
- (236) Zall, D. M., McMichael, R. E., y Fischer, D. W.
Ibid., 29, 88(1957).
- (237) Zeller, H. D.
Analyst, 80, 632(1955).