

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

**“DETERMINACION DE COBRE Y MERCURIO EN ALIMENTOS,
CEREALES, VINO Y PESCADO, POR LOS METODOS DE
COLORIMETRIA, ESPECTROMETRIA Y ABSORCION
ATOMICA”**

T E S I S

Que para obtener el Título de :

Q U I M I C O

P r e s e n t a :

JULIETA CASILLAS CARREÑO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Tesis 1977
 AÑO 1977
 FECHA _____
 PROC _____
 S _____

82

DETERMINACIÓN DE COBRE Y MERCURIO EN ALIMENTOS
 GENERALES, VINO Y PESCADO, POR LOS MÉTODOS DE
 COLORIMETRÍA, ESPECTROMETRÍA Y ABSORCIÓN



QUÍMICA

JULIETA CASILLAS CARRERÓN

Jurado asignado originalmente según el tema:

PRESIDENTE ENRIQUE GARCIA GALEANO

VOCAL CARLOS ROMO MEDRANO

SECRETARIO REBECA UGALDE VARGAS

1er. SUPLENTE JORGE A. CAMPOS ROBLES

2do. SUPLENTE BENJAMIN ORTIZ MENDOZA

Sitio dónde se desarrolló el tema:

FACULTAD DE QUIMICA. U.N.A.M.

Nombre y firma del sustentante:

JULIETA CASILLAS CARREÑO

Nombre y firma del asesor del tema:

CARLOS ROMO MEDRANO

A MI QUERIDA MADRE
CON AMOR Y GRATITUD

A MI MAMA CARMEN CON
CARIÑO DE SU NIETA.

A LA MEMORIA DE MI QUERIDO
E INOLVIDABLE TIO PATO.

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS
QUE DE UNA MANERA DIRECTA
O INDIRECTA CONTRIBUYERON
EN MI VIDA PROFESIONAL

CON AGRADECIMIENTO A LOS
MAESTROS QUE COLABORARON
EN MI FORMACION

AGRADEZCO AL QUIM. CARLOS
ROMO MEDRANO SU DIRECCION
Y CONSEJO

I N D I C E

	Pag.
CAPITULO I	
INTRODUCCION	1
✓ - CAPITULO II	
GENERALIDADES	4
12, 19	
- CAPITULO III	
TECNICAS Y DATOS	22
✓ 51-58	
CAPITULO IV	
ESTUDIO Y CONCLUSIONES	175
CAPITULO V	
BIBLIOGRAFIA	180

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

A través de los estudios realizados en algunas partes del mundo, se ha llegado a establecer el reconocimiento y valoración de los niveles de contaminación, requiriéndose información para conocer las magnitudes y características de los contaminantes que permitan fundamentar las bases sobre las cuales habrá de planearse el control.

Algunas fuentes artificiales manejadas por el hombre vierten al medio ambiente elementos químicos en forma sólida, líquida y gaseosa, teniendo entre estos, aquellos elementos que se descargan a la atmósfera en forma de humos o polvos, los que se envían en forma líquida y los que se desplazan en forma de vapores o gases.

Dentro de los elementos que se consideran como contaminantes del medio, existe el grupo de los metales, y dentro de ellos algunos que por sus características individuales provocan serios-

trastornos en el funcionamiento orgánico de los seres vivientes. De esta manera podemos mencionar el Plomo, Mercurio, Arsénico, Cadmio, Cobre, Zinc, Cromo y Níquel entre otros, como elementos metálicos de reconocida toxicidad. Estos metales cuando se emiten en forma elemental o formando compuestos en la atmósfera, en la tierra o en el agua, poseen características agresivas que lesionan al hombre, animales y vegetales aún cuando se encuentran en concentraciones extremadamente bajas.

Dentro de los métodos generales para la valoración de los contaminantes metálicos, existen los procedimientos analíticos de tipo húmedo como técnicas universales para su identificación y cuantificación, entre los que se encuentran las técnicas de Colorimetría, Espectrometría y Absorción Atómica.

El objeto de la presente tesis es determinar la cantidad de Cobre y Mercurio en Cereales - Pescado, Vino y Alimentos por evaluación comparativa de los métodos de Colorimetría, Espectrome - tría y Absorción Atómica.

En el presente trabajo se hizo el análi - sis de Cobre y Mercurio para cuatro tipos diferen tes de materiales (alimentos, cereales, vino y pe ces).

CAPITULO II

GENERALIDADES

GENERALIDADES DE COLORIMETRIA

LEY DE BEER

Cuando un haz de radiación monocromática atraviesa una solución que contiene una especie absorbente, la energía radiante del haz se reduce progresivamente como consecuencia de la absorción de parte de la energía por las partículas de dicha especie química. La disminución de energía depende de la concentración de la substancia responsable de la absorción así como de la longitud del recorrido del haz a través de la solución. La Ley de Beer expresa cuantitativamente estas relaciones.

Sea P_0 la intensidad de la radiación de un haz que incide sobre una sección de una solución que contiene "c" moles de una substancia absorbente por litro. Además sea P la intensidad -

del haz después de atravesar una capa de dicha so
lución de "b" centímetros de espesor. A consecuenci
cia de la absorción, P será menor que P_0 . La Ley
de Beer relaciona estas dos cantidades por medio-
de la expresión:

$$\log \frac{P_0}{P} = \xi bc = A$$

En esta ecuación ξ es una constante lla-
mada absortividad molar, o coeficiente de absor-
ción molar. El logaritmo decimal de la razón de
la intensidad incidente a la transmitida recibe
el nombre de absorbancia de la solución, y se sim
boliza por la letra A. Se ve en la ecuación ante-
rior que la absorbancia de una solución aumenta
directamente con la concentración de la substan-
cia absorbente y con la longitud del camino atra-
vesado por el haz.

En su forma más simple, la colorimetría -- consiste en la comparación visual del color de las soluciones de la substancia problema con una serie de problemas, hasta conseguir la coincidencia. Para ello se suelen emplear los tubos Nessler, cilíndricos de fondo plano que llevan grabado un enrase correspondiente a una longitud dada del espesor - atravesado. Con foco luminoso utilizan la luz natural reflejada por una superficie blanca mate a través del fondo de los tubos. En general, no se procede a restringir a bandas definidas la porción de espectro empleada.

Un procedimiento colorimétrico algo más -- perfeccionado consiste en comparar la solución problema con una sola solución patrón. Para ello se - colocan las dos soluciones en tubos de fondo plano iluminados por su base, el espesor de solución -- atravesado por la luz se ajusta por medio de émbolos transparentes que se pueden desplazar vertical

mente en el interior de las soluciones. Una vez que se ha conseguido igualar visualmente la intensidad del color de las dos soluciones, se miden las distancias de solución atravesada y suponiendo que es aplicable a la Ley de Beer, se procede al cálculo de la concentración del problema se según:

$$\begin{aligned}A_z &= A_s \\b_x C_x &= b_s C_s \\C_x &= C_s \frac{b_s}{b_z}\end{aligned}$$

donde "x" se refiere al problema y "s" al patrón. El colorímetro Duboscq se basa en estos principios y se encuentra equipado con un sistema óptico que permite comparar en un solo ocular los dos haces luminosos que atraviesan ambas soluciones.

Métodos y aparatos fotométricos.- Se consigue un aumento considerable de sensibilidad si se emplea un detector fotoeléctrico en vez del ojo y

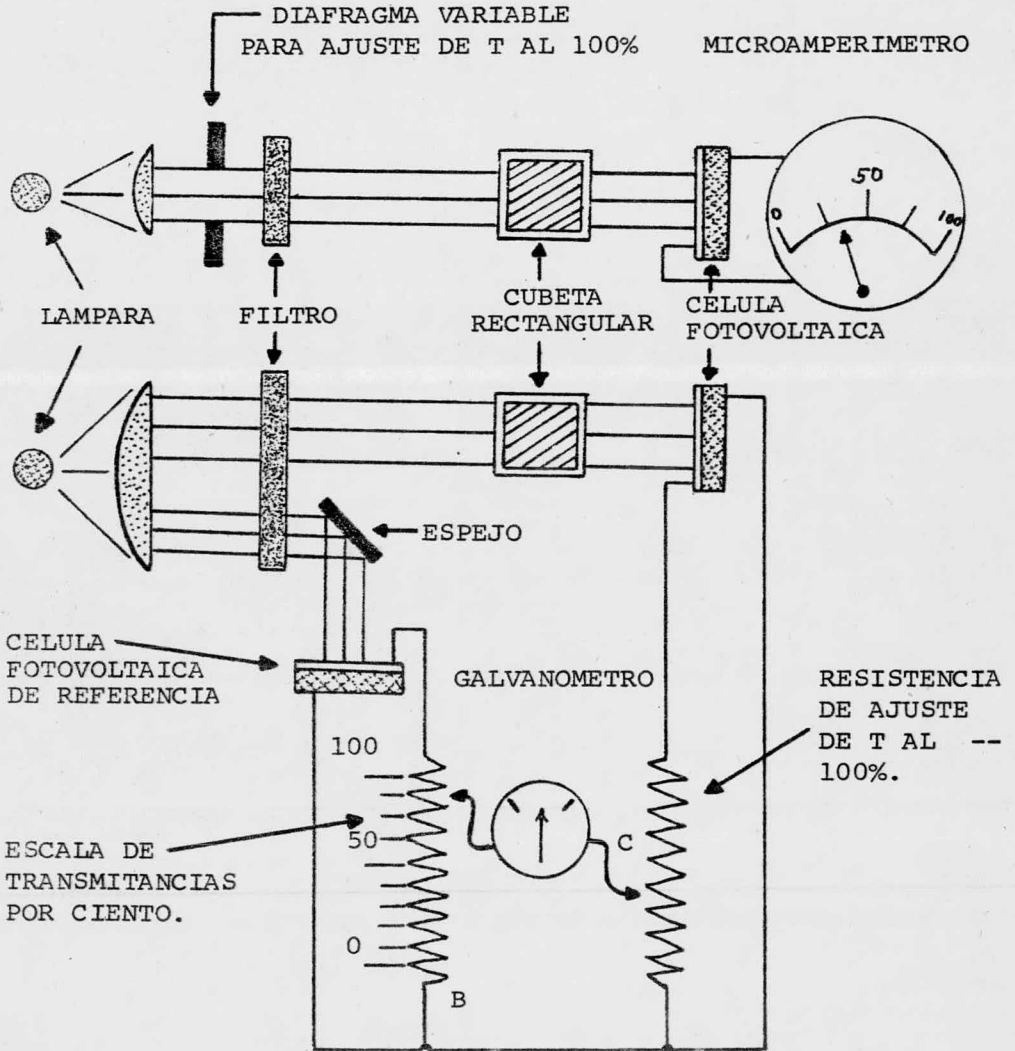
si se limita el campo de la radiación empleada - solamente a las longitudes de onda más fuertemente absorbidas por la substancia problema.

En la figura I se representan los diagramas de dos instrumentos basados en estos principios.

El primero es un fotómetro simple de un solo haz, que consta de una lámpara de filamento de wolframio, una lente que proporciona un haz de luz paralelo, un filtro y una célula fotovoltaica. La corriente producida por esta última se mide con un microamperímetro. La mayor parte de los aparatos de un solo haz se hallan preparados para que se pueda leer directamente la transmitancia por ciento, para lo cual la escala del microamperímetro es lineal y está dividida de 0 a 100. Primeramente se coloca en el camino del haz luminoso una cubeta que mantiene solo el disolvente, y se ajusta la intensidad luminosa hasta-

DIAGRAMAS DE UN FOTOMETRO DE UN SOLO HAZ
(PARTE SUPERIOR) Y DE UN FOTOMETRO DE
DOBLE HAZ (PARTE INFERIOR).

FIGURA I



que la aguja del amperímetro marca 100. Esto se consigue, bien sea modificando el voltaje aplicado a la lámpara o variando la apertura de un diafragma colocado en el camino del haz. A continuación se substituye la cubeta con disolvente por la que contiene la solución problema. Como la señal producida por la celula fotovoltaica es proporcional a la intensidad luminosa que recibe, la lectura que se obtenga en el amperímetro será la transmitancia por ciento (esto es, el tanto por ciento del total de la escala).

El segundo fotómetro es de doble haz y en ellos el haz luminoso es dividido en dos por algún medio. Una de las dos partes atraviesa la solución problema o el disolvente y luego alcanza al detector. La otra parte es dirigida a un segundo detector de referencia que mide directamente la intensidad emitida por la lámpara. La corriente producida por el primer detector se compara en

tonces con la producida por el detector de referencia por medio de un circuito adecuado. En el aparato esquematizado en la figura I, las corrientes de ambas celulas fotovoltaicas circulan a través de sendas resistencias variables, una de las cuales está calibrada como una escala de transmitancia en unidades iguales desde 0 a 100. Un galvanómetro sensible, que se utiliza como detector de punto cero, está conectado a ambas resistencias. Cuando la caída de potencial que tiene lugar entre A y B sea igual a la que hay entre G y D, no circulará corriente por el galvanómetro, mientras que en otras circunstancias cualquiera indicará paso de corriente. Inicialmente se introduce disolvente en la cubeta y el contacto A se coloca en 100, luego se ajusta el contacto C hasta que el galvanómetro indica que no pasa corriente. A continuación se substituye el disolvente de la cubeta por la solución problema; con ello se -

obtiene una disminución de la intensidad luminosa y, por lo tanto, una disminución de la caída de potencial entre C y D; ésta se compensa desplazando A a una posición inferior. Cuando se alcance la posición de compensación, la escala indica el tanto por ciento de transmitancia.

Las aplicaciones más importantes de la fotometría y de la espectrofotometría en la región visible radican en la determinación de trazas de iones inorgánicos. Aunque algunos de ellos son suficientemente coloreados para permitir su determinación directa, la mayor parte de los iones inorgánicos no absorben intensamente la radiación visible o ultravioleta. La mayoría pueden dar, no obstante, soluciones intensamente coloreadas por reacción con reactivos complejantes adecuados, y ser de este modo analizados.

Espectrofotómetros para radiación ultravioleta y visible. Existen en el comercio espec -

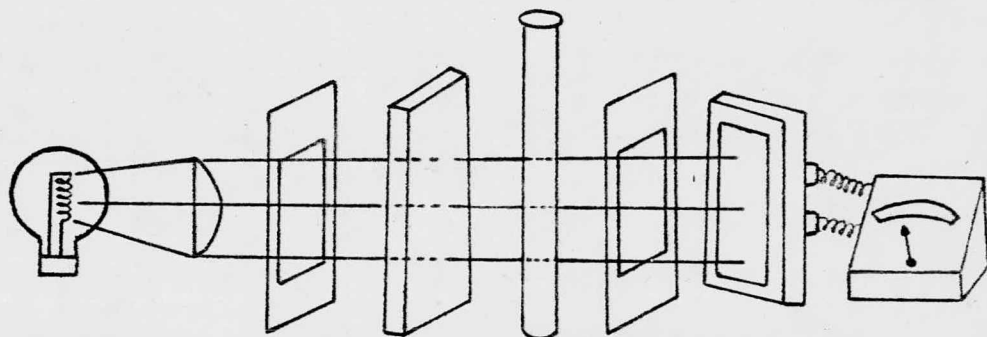
trofotómetros excelentes para trabajar en la región visible del espectro; algunos de éstos pueden utilizarse también en la región ultravioleta pues están equipados con óptica de cuarzo y confototubos sensibles a esta radiación (Figura II).

Los espectrofotómetros de claridad máxima permiten trabajar con anchuras de banda efectivas del orden de las décimas de milimicra, -- mientras, que los instrumentos menos refinados -- operan con bandas de anchuras de 100 a 20 mm. -- También existen instrumentos registradores que -- dan la representación gráfica de la absorbancia -- o de la transmitancia en función de la longitud -- de onda.

En la figura III se representan los componentes del espectrofotómetro Beckman DU, que -- posee óptica de cuarzo y que puede trabajar tan -- to en la región visible como en la ultravioleta.

COMPONENTES DE FOTOMETROS
Y ESPECTROMETROS OPTICOS.

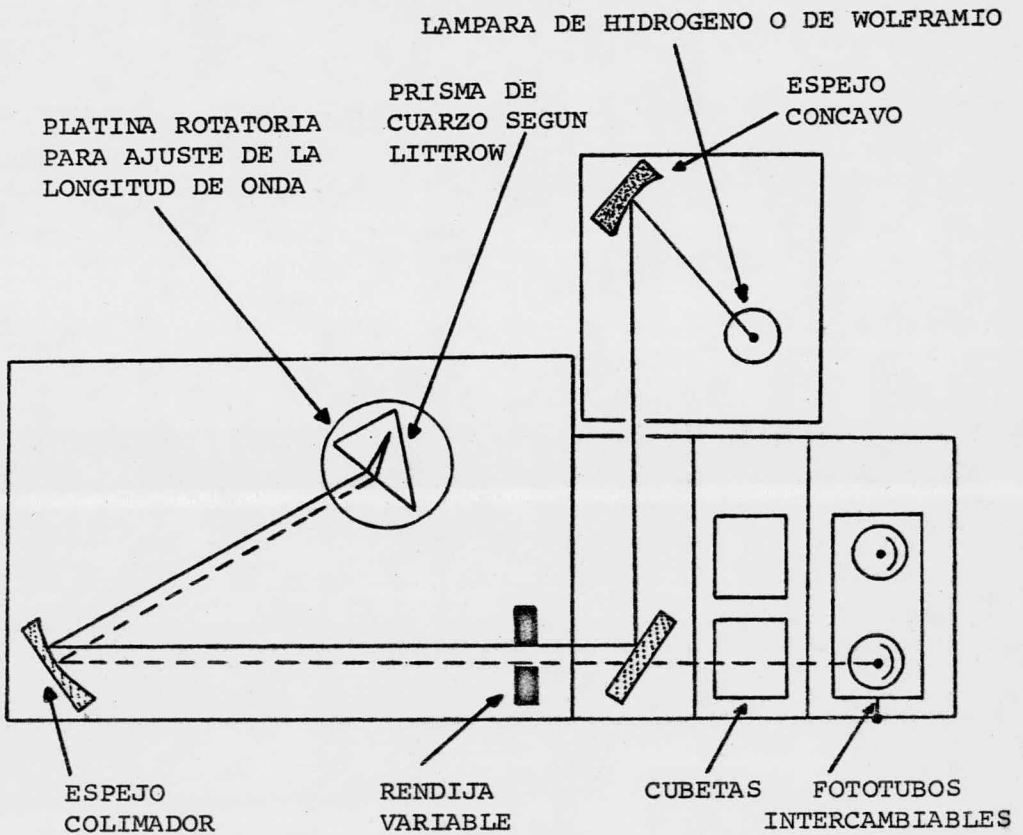
FIGURA II



FUENTE DE ENERGIA RADIANTE	OPTICOS ASOCIADOS	ELEMENTOS DISPERSANTES	RECEPTORES
LAMPARA-W	LENTES	FILTRO DE ABSORCION	OJO
ARCO Xe-Hg	ESPEJOS	FILTRO DE INTERFERENCIA	BARRERA - CAPAS DE CELDAS
LAMPARA DE DESCARGA H ₂ o D ₂	RENDIJAS Y DIAFRAGMAS	PRISMAS	FOTOTUBOS
ABERTURA	CUBETAS	EMPARRILLADOS	TUBOS FOTOMUL TIPLICADORES

DIAGRAMA ESQUEMATICO DEL
ESPECTROFOTOMETRO BECKMAN DU.

FIGURA III



El instrumento contiene dos focos de radiación intercambiables; una lámpara de descarga de hidrógeno para las longitudes de onda más cortas y una - lámpara de filamento de wolframio (alimentada por una batería de acumuladores) para la región visi-ble. Un par de espejos reflejan la radiación a -- través de una rendija ajustable hacia el compartimiento que aloja al monocromador. Después de cru-zar toda la longitud del aparato, la radiación es reflejada hacia un prisma de Littrow, ajustando - la posición del cual se puede enfocar en la rendija luz de la longitud de onda que se desee. El -- montaje óptico está dispuesto de modo que el haz entrante y el saliente resultan desplazados uno - respecto a otro en eje vertical; de este modo, el haz saliente pasa por debajo del espejo de entra-da y penetra en el compartimiento de las cubetas. Después de atravesar la cubeta que contiene la solución problema o la contiene el disolvente, la -

luz penetra en el compartimiento de los fototubos, donde se mide su intensidad por medio del más adecuado de los dos fototubos que contiene. Uno de éstos es sensible a la radiación de longitud de onda mayor que 625 mm. y el otro lo es a la menor longitud de onda. La corriente fotoeléctrica pasa por una resistencia calibrada, y por medio de un circuito potenciométrico se mide la caída de potencial a lo largo de la misma. En las posiciones en que el circuito potenciométrico no está compensado, las corrientes que circulan por él son muy pequeñas, por lo que resulta necesario proceder a su amplificación electrónica.

En el proceso de Absorción Atómica cuando una disolución de una sal metálica se atomiza en una llama a temperatura elevada, se evapora el disolvente, se vaporiza la sal y las moléculas se disocian en átomos neutros. Algunos de estos átomos,

pueden resultar excitados o ionizados por la energía térmica de la llama y al recuperar su estado electrónico normal emiten luz. En la fotometría de absorción atómica la fuente de energía radiante está constituida precisamente por el elemento que se quiere determinar (Figura IV).

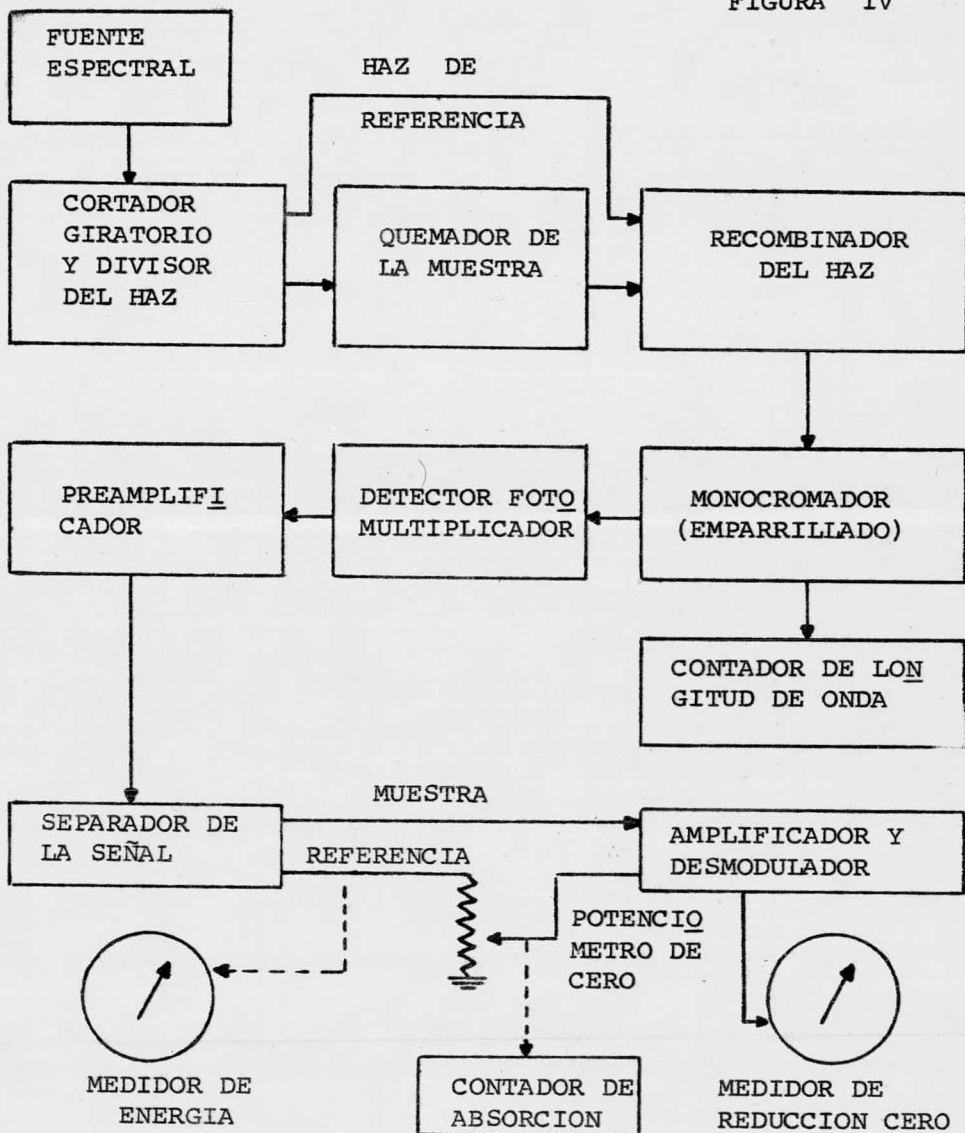
Cuando el paso de un haz de radiación a través de un medio transparente va acompañado de la absorción parcial de aquella, la absorción de radiación electromagnética es equivalente a una absorción de energía.

Cuando un átomo, ión o molécula absorbe un fotón, la energía que recibe da como resultado una alteración de su estado; se dice entonces que la especie en cuestión está excitada. La excitación puede consistir en alguno de los siguientes procesos:

- 1). Transición de un electrón a un nivel energético superior.

ESPECTROFOTOMETRO EMPARRILLADO DE DOBLE
HAZ Y TIEMPO COMPARTIDO PARA FOTOMETRIA
DE ABSORCION ATOMICA MODELO PERKIN-ELMER

FIGURA IV



- 2). Cambio en el modo de vibración de la molécula.
- 3). Alteración en su modo de rotación.

Cada una de estas rotaciones requiere una cantidad definida de energía; la probabilidad de que ocurra una transición particular dada es máxima cuando el fotón absorbido proporciona exactamente la cantidad de energía necesaria para la misma.

La cantidad de energía necesaria para cada uno de los tipos de transiciones indicados varía considerablemente entre ellos. En general, las transiciones que promueven a los electrones a niveles superiores consumen cantidades de energía mayores que las que se precisan para promover cambios vibracionales, y éstos a su vez, mayores que las que producen alteraciones en los modos de rotación. Así, las absorciones que se observan en las regiones de las micro-ondas y del infrarrojo lejano son debidas a desplazamientos en los niveles rotacionales puesto que la energía de la radiación -

es insuficiente para dar lugar a otros tipos de transición. En cambio, las variaciones de los niveles vibracionales son responsables de las absorciones en las regiones infrarroja y visible. Como que para cada nivel vibracional existen una serie de estados rotacionales, en dichas regiones del espectro se observa la absorción de grupos de longitudes de onda cuyas energías solo difieren ligeramente entre sí. La absorción debida a la promoción de un electrón a algún nivel de energía superior tiene lugar en las regiones del espectro correspondientes al visible, al ultravioleta y a los rayos X.

CAPITULO III

TECNICAS Y DATOS

DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA-
DE COBRE EN ALIMENTOS USANDO SALES
DE ACIDO DIBENCILDITIOCARBAMICO.

El ácido dietiltiocarbámico es descom-
puesto en solución ácida. Sin embargo, por el -
uso de sales de ácido dibenciltiocarbámico es -
posible extraer complejos de cobre amarillo de-
soluciones ácidas con tetracloruro de carbono.-
La extracción así como un bajo PH tienen la vent
taja de que la interferencia de otros metales -
es insignificante. Por el uso de cantidades mí-
nimas de reactivos puros, se redujo el blanco a
0.3 mg. de cobre y se determinó el metal en --
aceite y grasas bajo el rango de 0.2 a 2 ppm. -
El siguiente método emplea una solución de di -
benciltiocarbamato de zinc.

METODO:

Para la determinación de cobre en aceii
tes y grasas, calentar 20 g de muestra en un maa

traz de digestión de 200 ml hasta que se produzcan vapores y continuar calentando hasta sólo tener -- cerca de 2 ml. Enfriar el matraz y empezar la oxidación húmeda con 3.5 ml de ácido sulfúrico puro y 3 ml de ácido nítrico puro. Continuar el calentamiento con pequeñas cantidades adicionales de ácido nítrico hasta que el líquido sea menos colorido. Entonces enfriar, agregar 10 ml de agua y calentar hasta numerosos vapores blancos.

Para algunos otros alimentos, la oxidación húmeda empieza inmediatamente usando ácido nítrico y de preferencia no más de 4 ml de ácido sulfúrico puro.

Transferir la solución ácida a un embudo de separación, diluir a 50 ml con agua y remover cualquier vapor nitroso por adición de 1 ml de solución de sulfito de sodio al 5%. Agregar exactamente 10 ml de la solución de dibencilditiocarbamato de zinc 0.05% en tetracloruro de carbono y agi-

tar vigorosamente por lo menos 2 minutos. Filtrar la capa de abajo en un tubo de ensaye a través de fibra de vidrio colocada en el sistema de separación y medir la densidad óptica preferentemente en un espectrofotómetro a 435 nm en una celda de 1 cm. Si es usado un absorciómetro es conveniente que sea de filtro violeta (Ilford No. 601). Llevar a cabo un blanco con los reactivos al mismo tiempo. Para la curva estandar, preparar una solución patrón por disolución de 0.157 g de sulfato de cobre en agua, conteniendo 5 ml de 5% v/v de ácido sulfúrico puro y diluír a 200 ml (1 ml = a 200 mg de Cobre). Usar volúmenes equivalentes de 0 a 50 mg de cobre (diluír en cada caso a 50 ml con 5% v/v de ácido sulfúrico puro) y extraer con 10 ml de reactivo.

DETERMINACION DE MERCURIO EN ALIMENTOS

D Este elemento por lo general viene en contacto con los productos alimenticios porque es un componente de algunos insecticidas y fungicidas. Es tambien el constituyente metálico de muchos antisépticos orgánicos y materiales coloridos como el merthiolate y el mercurocromo.

METODO DITIZONA.

La ditizona tambien puede ser usada para la estimación de mercurio. Este método está basado en los siguientes principios: Cuando una solución de mercurio en medio ácido y otros metales es agitada con una solución de ditizona en cloroformo o tetracloruro de carbono, el color verde normal de la solución de ditizona cambia a un amarillo naranja, atribuible a la formación de un complejo orgánico -

soluble, el cual acerca dos moléculas de ditizona a un átomo de mercurio (1 mg de mercurio reacciona con 2.8 mg de ditizona). El color amarillo persiste tanto como esté el mercurio en exceso. Cuando es agregada suficiente ditizona reacciona con todo el mercurio presente y cualquier exceso de reactivo vira la solución a un verde, rojo o violeta, dependiendo si las trazas de cobre están presentes en la mezcla. El hecho de que el mercurio bajo sus propias condiciones reaccione con la ditizona, es la base de una determinación de mercurio por titulación. Altas concentraciones de cobre pueden ser removidas antes de la titulación del mercurio. Esto puede hacerse por la adición de yoduro de potasio, para que en la presencia del yoduro el cobre sea extraído con ditizona, mientras el mercurio permanece en la solución acuosa. El mercurio no puede ser extraído o titulado con ditizona en solución ácida cuando los yo

duros están presentes pero puede ser extraído con solución amoniacal. Puede ser extraído también de una solución ácida conteniendo yoduros por el uso de dietilditioicarbamato de sodio y cloroformo como extractante.

PROCEDIMIENTO:

Digerir la muestra bajo un condensador a reflujo con cerca de 25 ml de ácido nítrico concentrado, 2 ml de ácido sulfúrico concentrado y suficiente permanganato de potasio hasta que la materia orgánica esté completamente destruída. -- Agregar mas permanganato de potasio y ácido nítrico si es necesario. Remover el exceso de permanganato y el dióxido de manganeso por la adición de gotas de peróxido de hidrógeno al 30%. Expeler el oxígeno disuelto por calentamiento. Enfriar y -- agregar cerca de 0.5 g de clorhidrato de hidroxilamina y extraer la solución por agitación con sucesivas porciones de una solución de ditizona en --

cloroformo conteniendo 25 mg/litro hasta que esté presente en exceso, es decir, hasta que el color-verde de la ditizona predomine en lugar del amarillo del complejo de mercurio.

Tratar el extracto de cloroformo con 50-ml de agua a una temperatura de 50 a 60 °C, 2 ml- de solución de permanganato de potasio al 5% y 2-ml de ácido sulfúrico (1:1). El mercurio pasa a - la capa acuosa y se retira la capa de cloroformo- desechándola. A la solución acuosa se agrega suficiente solución de nitrito de sodio o potasio al- 10% de manera que reaccione con el exceso de per- manganato. Destruir el ácido nitroso libre por la adición de cerca de 0.5 g de clorhidrato de hidro- xilamina y calentar a ebullición.

Si grandes cantidades de cobre están pre sentes el mercurio puede ser inactivado por la -- adición del ión yoduro. En una re-extracción con-

ditizona el cobre es removido y el mercurio contenido en la solución acuosa.

Después de que el exceso de yoduro es destruido el mercurio puede ser estimado por el procedimiento de titulación descrito abajo. Pequeñas cantidades de cobre pueden no interferir con el análisis de mercurio ya que puede extraerse desde un pequeño porcentaje de cobre con ditizona de una solución a un PH de 2, siendo éste lo suficiente mente ácido para permitir la completa extracción del mercurio presente.

Titular la solución fría en un embudo de separación con una solución de ditizona en tetracloruro de carbono conteniendo cerca de 1.25 mg de ditizona por litro. Agregar pequeñas porciones a esta solución hasta que esté presente en exceso. Usar de estandar la solución de nitrato mercúrico conteniendo exactamente 10 mg de mercurio por litro.

Determinar la intensidad del extracto de la solución de ditizona cada vez que se use, por tratamiento de una solución conteniendo 0.1 mg de mercurio como nitrato mercúrico, de la misma manera como se describió para la muestra problema. -- Tratar que todos los reactivos usados sean lo más puro posible así como las determinaciones del --- blanco. Substraer el mercurio encontrado en el -- blanco de el contenido en la muestra problema, de manera de acertar en la cantidad actual presente en el material analizado.

DETERMINACION COLORIMETRICA
DE COBRE EN ALIMENTOS

DESTRUCCION DE MATERIA ORGANICA:

Si el material está oxidado por humedad antes de la determinación de cobre, es aconsejable remover el cloruro por calentamiento preliminar con ácido nítrico antes de agregar ácido sulfúrico. A las cenizas secas es también aconsejable agregarles ácido nítrico así como ácido clorhídrico para su extracción. Si la experiencia es difícil al destruir la materia de carbón, la primera extracción de ácido puede ser pasada a través de un papel filtro. Entonces el papel puede ser regresado al plato y re-encendido, re-extractado y los dos extractos combinados.

METODO:

Cantidades convenientes de cenizas en el material (generalmente de 5 a 10 g) a cerca de 600°C son sometidas a ignición en un plato de sílice. El extracto de la ceniza por calentamiento con 10 ml de una mezcla concentrada de 2 volúmenes de ácido clorhídrico concentrado, un volumen de ácido nítrico concentrado y tres volúmenes de agua es llevado a cabo. Lavar el extracto en un embudo de separación con agua a tener un volumen de 50 ml. Enfriar, agregar 10 ml de mezcla versenato-citrato (conteniendo 20% de citrato de amonio y 5% de sal disódica de EDTA) y dos gotas de rojo cresol. Alcalinizar (rosa) con amonio 0.88, enfriar y agregar 1 ml de solución de dietiltiocarbamato de sodio al 1%. Mezclar. Agregar 10 ml de tetracloruro de carbono de una bureta al separador. Suspender y agitar vigorosamente

te por 2 minutos. Filtrar lentamente la primera capa en un tubo de ensaye a través de fibra de vidrio colocada en el sistema de separación. - Re-extraer con 5 ml de tetracloruro de carbono y agregarlos lentamente a la capa del primer extracto. Mezclar los filtrados combinados y medir la densidad óptica (amarilla) a aproximadamente 440 mm (filtro violeta Ilford No. 601) -- con un absorciómetro con una celda de un centímetro.

Alternativamente el color puede ser medido visualmente en el tintómetro Lovibond. Llevar a cabo un blanco con los reactivos al mismo tiempo. Para la curva estandar preparar una solución reguladora conteniendo 0.3928 g de sulfato de cobre por litro y diluír 100 veces antes de usarse (1 ml = 1 mg de Cu). Entonces usar volúmenes equivalentes de 0 a 50 mg de cobre dilu

yendo en cada caso a 50 ml, antes de agregar la solución de versenato-citrato, etc. Cada lectura de densidad es equivalente al número de microgramos de cobre por 15 ml de solvente.

DETERMINACION DE COBRE EN ALIMENTOS

Límites de estatuto	ppm (por peso)
gelatina	30
salsa de tomate ketchup, catsup	20

LIMITES RECOMENDADOS PARA COBRE

Límites Generales	ppm (por peso)
bebida lista para beber (excepto las especificadas abajo)	2
otros alimentos (excepto las especificadas abajo)	20

Límites Especiales

Bebidas:

vinos, licores alcohólicos, licores
y vinos de cocktail, cerveza, sidra,

bebidas preparadas de sidra no
alcohólica y concentraciones de
bebidas dulces 7

Otros Alimentos

archicoria seca o tostada 30

polvo de cocoa, cocoa en masa,-

licor de cocoa 70

(en grasa de
sust libre)

granos de café 30

colorantes 30

(en materia co
lorida seca)

saborizantes 30

pectina líquida 30

pectina sólida 300

té 150

puré de tomate, en pasta, en
polvo, en jugo y bebidas de-
jugo de tomate 100

(en sólidos de
tomate seco)

levadura y productos de leva-
dura 120

Nota: el límite general para concentrados usados
en la manufactura de bebidas dulces es de-
20 ppm.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE COBRE EN ALIMENTOS POR EL METODO DE XANTATO DE ETIL POTASIO .

Muy pequeñas cantidades de cobre pueden ser determinadas convenientemente por el método colorimétrico de Xantato de etil potasio. El cobre separado de otros metales como sulfuro, es disuelto en ácido nítrico y es agregada solución de xantato de etil potasio al 1%. El color manifestado es comparado en contraste con los estandars tratados por el mismo procedimiento.

PROCEDIMIENTO:

Separar el cobre de otros metales como sulfuro. Disolver en una gota de ácido nítrico, si es posible; de otra manera conservar el ácido nítrico bajo un mínimo. Transferir a un matraz volumétrico de 50 ml y hacer el volúmen. Transferir --

una alícuota de 5 ml a un tubo Nessler conteniendo 10 ml de solución recientemente preparada de xantato de etil potasio a 0.1%. Diluir a 25 ml y mezclar. Colocar 10 ml de reactivo de xantato de etilo en otro tubo Nessler. Diluir a 15 ml. Agregar a una semimicro bureta de 10 ml y añadir una gota al mismo tiempo, agitando continuamente, -- una solución estandar de cobre conteniendo 0.1 mg de cobre por mililitro, es obtenida. Al preparar el estandar disolver 0.3928 g de sulfato de cobre, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, en agua, transferir a un matraz volumétrico de un litro, hacer el volumen y mezclar. Continuar la adición y agitar hasta que el color del tubo conteniendo la solución estandar de cobre aparentemente iguale su color al de la solución problema. Ajustar el volumen a 25 ml y tratar de igualar el color lo más que sea posible. Computar la cantidad de cobre del volumen usado de la solución estandar.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE
COBRE EN ALIMENTOS POR EL ME -
TODO DE TIOCARBAMATO DE SODIO.

PROCEDIMIENTO:

Después de que el cobre ha sido separa -
do de otros metales como sulfuro, disolverlo en -
una mínima cantidad de ácido nítrico. Evaporar ca
si a sequedad sacando el exceso de ácido si es ne
cesario. Disolver en agua, transferir a un matraz
volumétrico y hacer el volúmen. Tomar una alícuo
ta de 50 ml, agregar a 5 ml de solución de hidró
xido de amonio (1:5) y filtrar si se forma preci
pitado. Transferir a un tubo Nessler y agregar 5-
ml de solución de dietiltiocarbamato de sodio al
0.1% (1 g de dietiltiocarbamato de sodio, - - -
 $N(C_2H_5)_2CS_2Na$, disolver en agua y diluír a un li
tro). Comparar el color producido en una hora. En

este tiempo el estandar es tratado de igual manera. Los estandars pueden ser preparados por dilución de 25 ml de 0.1 mg de cobre por mililitro estandar de el método de Xantato de etil potasio a 250 ml. Los estandars convenientes contienen de 0.005 a 0.05 mg de cobre.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE COBRE -
EN ALIMENTOS POR EL METODO DE DITIZONA

El cobre a veces puede presentarse solo con plomo y zinc. Puede estimarse en semejantes-muestras por el método de ditizona.

PROCEDIMIENTO:

Lavar el extracto inicial de ditizona - de plomo, zinc y cobre con dilución de solución- de hidróxido de amonio para remover el exceso de ditizona libre. Tratar con ácido clorhídrico al- 1% y retener la capa acuosa para la estimación - de zinc y plomo. Agitar la solución de cloroformo con la mitad del volúmen de la solución al - 0.5% de cianuro de potasio y titularlo con la solución estandar de plomo. La presencia de cianuro de potasio hace innecesaria la descomposición

del complejo de cobre-ditizona por el ácido. La diferencia entre el volúmen de la solución de plomo usada en esta titulación y que es usada para la titulación de zinc y plomo juntos, multiplicada por 3.07 iguala las cantidades de cobre en mg, presentes en la alícuota tomada para el análisis.

TRAZAS DE ELEMENTOS EN ALIMENTOS

El término "trazas de elementos" se refiere a los elementos inorgánicos (casi metales) los cuales pueden estar presentes en los alimentos en cantidades abajo de 50 ppm. El cobre se encuentra dentro de los elementos esenciales nutritivos y el mercurio dentro de los elementos no nutritivos tóxicos.

METODO DIRECTO:

Con algunos materiales alimenticios solubles (sal, bicarbonato de sodio, crema de tarta, ácido cítrico) sí es posible sostener la estimación de trazas de metales en la solución obtenida por disolución del material en agua o ácido frío.

CENIZA SECA.- Secar cenizas de 450 a 600°C (de acuerdo con el elemento particular), es un método conveniente para la destrucción de materia orgánica. Se toman precauciones contra los resultados bajos, los cuales pueden ser debidos a: a) volatilización del elemento, b) combinación o absorción del elemento con los constituyentes de la ceniza o el recipiente, y c) extracción incompleta de la ceniza. Estas dificultades pueden generalmente ser evitadas por el uso del control de precisión del horno y por la ayuda de agregar algo de ceniza (nitratos u óxidos de magnesio o calcio) al alimento, antes de incinerar y por el uso de un procedimiento de extracción aprobado.

En el secado de cenizas es preferible lavar con sílica. Después de pesar, calentar el plato suavemente hasta que los humos cesen y -

entonces transferirlo al horno.

El siguiente procedimiento es adecuado para más determinaciones.

En un matraz de digestión Kjeldahl colocar una cantidad adecuada de la muestra (usualmente de 5 a 10 gramos), 20 ml de ácido nítrico concentrado a 20 ml de agua (dependiendo el agua del contenido de la muestra). Calentar hasta que el volúmen sea reducido cerca de 20 ml (\pm 10 minutos), enfriar y agregar 10 ml de ácido sulfúrico concentrado. Calentar nuevamente y agregar además pequeñas cantidades de ácido nítrico, inmediatamente el líquido empieza a ennegrecer, se continua el calentamiento hasta tener humos blancos como buena evidencia. Enfriar y agregar 10 ml de solución saturada de oxalato y calentar nuevamente hasta producir de nuevo humos blancos. El oxalato de amonio remueve coloraciones amari-

llas debido a los compuestos nitro, así que la solución final es menos colorida. El blanco puede ser preparado por "calentamiento fuera" del mismo volúmen de ácido nítrico junto con el ácido sulfúrico que es usado para la muestra.

Una alternativa del procedimiento es la adición de ambos ácidos, nítrico y sulfúrico al principio. El uso de ácido sulfúrico solo, prolonga indebidamente la oxidación, pero el tiempo puede ser acortado considerablemente si una substancia es agregada, aumentando el punto de ebullición (sulfato de potasio).

METODO DE OXIDACION HUMEDA:

En un matraz de un litro, colocar de 5 a 10 g de muestra y un poco más de 20 ml de agua (dependiendo el agua del contenido de la muestra) y de 5 a 10 ml de ácido nítrico concentra -

do, conteniendo 5% de ácido sulfúrico. Evaporar la mezcla en una hornilla eléctrica. Dejar descubierto el matraz hasta no haber un nuevo cambio visible. Enfriar y humedecer el residuo con ácido nítrico concentrado, tapar la boca del matraz con un vidrio de reloj y evaporar la mezcla en la hornilla. Continuar el calentamiento por 5 minutos después de que el residuo ha sido secado. Repetir el tratamiento con ácido nítrico hasta que el residuo esté blanquecino con manchas oscuras. Entonces continuar el tratamiento hasta que un residuo blanco sea producido.

ALTOS NIVELES DE MERCURIO EN ALIMENTOS

En Canadá sometieron granos de cereales, alimentos, pescado, aves de corral, productos de leche, té, aves de caza, vegetales, fruta, alimentos de bebés y vino; en el análisis encontraron que más de la mitad de las muestras exceden de los límites de seguridad de 0.05 ppm de mercurio, el análisis se llevó a cabo por el método de Neutrón Activación.

Específicamente en Estados Unidos, Canadá y en otros países se encontró que el contenido en los trigos era de 0.02 a 0.085 ppm de mercurio. El arroz de norteamérica contiene "solamente" 0.05 ppm de mercurio, pero las muestras asiáticas muestran de 0.2 a 0.4 ppm de mercurio.

Algunas muestras de leche pulverizada contenían más de 0.1 ppm.

El mercurio está aparentemente presente en excesivas cantidades en todas las manzanas y nueces, en habas y tomates, zanahoras y perejil, alimentos de bebé y en espinacas.

DETERMINACION DE COBRE Y MERCURIO EN CEREALES
POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA .

APARATOS:

Espectrofotómetro de absorción atómica.-

Algunos modelos están disponibles para esta deter
minación. Desde que cada diseño o proyecto tiene
una diferencia con requerimientos variados de --
fuentes de luz, velocidad de flujo y la sensibili
dad del detector, sólo en general los parámetros-
de operación son dados en la tabla I. La opera --
ción puede empezar a ser familiar con el ambiente
y procedimientos adaptados a su propia aplicación
y usando la tabla solamente como guía de rangos -
de concentración y condiciones de flama.

SOLUCIONES ESTANDAR

(No usar pipetas menores a 2 ml y matra-
ces volumétricos menores a 25 ml. Puede ser apli-

TABLA I.

PARAMETROS DE OPERACION

ELEMENTO	ONDA LARGA A°	FLAMA	RANGO mg/ml	OBSERVACIONES
Ca	4227	rico en aire-C ₂ H ₂	2-20	1% La. 1% HCl
	4227	rico en N ₂ O-C ₂ H ₂	2-20	requiere meche- ro especial
✓ Cu	3247	aire-C ₂ H ₂	2-20	
Fe	2483	rico en aire-C ₂ H ₂	2-20	
Mg	5852	rico en aire-C ₂ H ₂	0.2-2	puede necesitar La
✓ Mn	2795	aire-C ₂ H ₂	2-20	
Zn	2138	aire-C ₂ H ₂	0.5-5	

cada dilución automática. Preparar soluciones es tandar en el rango de 0 a 20 mg diariamente).

a) Soluciones de Calcio.- 1) solución reguladora.- 25 mg Ca/ml. Disolver 1.249 g de -- carbonato de calcio en ácido clorhídrico 3N. Diluír a un litro. Diluír 50 ml a un litro. 2) soluciones estandar de trabajo.- 0, 5, 10, 15 y 20 mg de calcio por mililitro conteniendo 1% de La. En un matraz de 25 ml agregar 0, 5, 10, 15 y 20-ml de solución reguladora de La y diluír a 25 ml.

b) Solución reguladora de cobre.- 1000- mg de cobre/ml. Disolver 1.000 g de cobre metal-puro en ácido nítrico y agregar 5 ml de ácido -- clorhídrico. Evaporar casi a sequedad y diluír a un litro con ácido clorhídrico 0.1 N.

c) Solución reguladora de Fierro.- 1000 mg de fierro/ ml. Disolver 1.000 g de alumbre pu ro de fierro en 30 ml de ácido clorhídrico 6 N - con calentamiento. Diluír a un litro.

d) Solución reguladora de Lantano.- 50 g de lantano/ml. Disolver 58.65 g de óxido de lantano en 250 ml de ácido clorhídrico, agregando el ácido lentamente. Diluír a un litro.

e) Solución reguladora de magnesio.- -- 1000 mg de magnesio/ml. Colocar 1.000 g de magnesio metal puro en 50 ml de agua y lentamente agregar 10 ml de ácido clorhídrico 6 N. Diluír a un litro.

f) Solución reguladora de manganeso.- -- 1000 mg de manganeso/ml. Disolver 1.582 g de óxido de manganeso en 30 ml de ácido clorhídrico 6 N. Calentar a renovar el cloro y diluír a un litro.

g) Solución reguladora de zinc.- 1000 mg de zinc/ml. Disolver 1.000 g de zinc metal puro en 10 ml de ácido clorhídrico 6 N y diluír a un litro.

h) Otras soluciones reguladoras. Diluir - alícuotas de las soluciones b), c), e), f) y g) - con ácido clorhídrico 0.5 N de manera de hacer solu - ciones estandar de cada elemento dentro de un rango de determinación.

PREPARACION DE SOLUCIONES DE MUESTRA

a) Materiales inorgánicos y fertilizantes - mixtos.- Disolver 1.00 g de muestra bien molida en - 10 ml de ácido clorhídrico en 150 ml. Ebulir y eva - porar la solución casi a sequedad en un plato ca - -- liente. No hornear el residuo. Redisolver el resi - duo en 20 ml de ácido clorhídrico 2 N, calentar sua - vemente si es necesario. Filtrar a través de papel - en un matraz volumétrico de 100 ml, lavando el pa - pel y el residuo con agua. Medir la absorción de la solución directa o diluir con ácido sulfúrico 0.5 N para obtener soluciones dentro de los rangos del -- instrumento. Si el calcio es determinado, agregar - suficiente solución reguladora de lantano y hacer -

una dilución final de lantano al 1%.

b) Fertilizantes conteniendo materia orgánica. Colocar 1.00 g de muestra en un (pyrex) de 150 ml. En una charola o plato caliente hacer la ignición durante una hora a 500°C con mufla con una puerta apropiada para permitir el acceso de aire. Disolver el residuo con agitación por medio de una varilla y disolverlo en 10 ml de ácido clorhídrico como en a).

c) Fertilizantes conteniendo fragmentos de trazas de elementos. Disolver aproximadamente 1.00 g de muestra bien molida en 5 ml de HClO_4 y 5 ml de ácido fluorhídrico. Ebulir y evaporar a tener densos humos de HClO_4 . Diluir cuidadosamente con agua, filtrar y proceder como en a). Alternadamente disolver la muestra en 10 ml de ácido clorhídrico, 5 ml de ácido fluorhídrico y 10 ml de metanol. Evaporar a sequedad. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico y evaporar. Disolver los residuos como en a).

DETERMINACION:

Leer 4 ó más soluciones estandar dentro de un rango analítico antes y después de cada grupo de 6 a 12 muestras. Nivelar el mechero entre las muestras y establecer el punto de absorción en cero después de cada tiempo.

Preparar la calibración de la curva de cada estandar antes y después del grupo de muestras. -- Leer la concentración de las muestras para la medición de absorción contra mg/ml.

CALCULOS:

$\% \text{ elemento} = (\text{mg/ml}) \times (\text{F/peso de muestra}) \times 10^{-4}$
F= a ml de la disolución original X ml de dilución final/ml alícuotas. Si el original son 100 ml el volumen es diluido.

DETERMINACION COLORIMETRICA
DE COBRE EN CEREALES.

El método consiste en la digestión húmeda de la muestra con ácido nítrico y ácido sulfúrico. El cobre se aísla y se determina colorimétricamente a un PH de 8.5 como dietilditiocarbamato en presencia de un agente quelante ácido etiléndiaminotetracético (EDTA) sal disódica. El complejo de cobre es estable. El rango del desarrollo del color es de 0 a 50 mg. El blanco es de 1 mg de cobre.

PRECAUSIONES: Limpiar el material de vidrio con ácido nítrico caliente. Usar petrolatum (unguento de petróleo, obtenido como residuo de la destilación del petróleo purificado) blanco para lubricar las llaves de los separadores y no use cadenas de latón. Purificar el agua y el ácido nítrico por destilación.

REACTIVOS:

a) Dietilditiocarbamato de sodio (solución de carbamato). Disolver 1 g de la sal en agua, diluír a 100 ml y filtrar. Almacenar en el refrigerador y prepararse semanalmente.

b) Solución de EDTA citrato. Disolver 20 g de citrato de amonio dibásico y 5 g de ácido etiléndiamíntetracético, sal disódica (Eastman) en agua y diluír a 100 ml. Remover los indicios de cobre por adición de 0.1 ml de solución de carbamato y extraer con 10 ml de tetracloruro de carbono. Repetir la extracción hasta que el tetracloruro de carbono sea incoloro.

c) Solución estándar de cobre.- 1 mg por mililitro. Colocar 0.2000 g de alambre de cobre en un matraz erlenmeyer de 125 ml. Añadir 15 ml de ácido nítrico (1+4) cubra el matraz con un vidrio de reloj y deje que el cobre se disuelva, calentar para completar la solución.

Hervir para expulsar los vapores, enfriar y diluir a 200 ml. Diluir 20 ml a 200 ml para tener un estandar intervenido (0.1 mg/ml). Preparar un estandar de trabajo, 2 mg/ml diariamente por disolución de 5 ml de estandar intervenido a -- 250 ml con ácido sulfúrico 2N.

d) Hidróxido de amonio.- 6N. Purificar como en (b).

PREPARACION DE LA MUESTRA:

Pesar la muestra y que no contenga más de 20 g de sólidos, dependiendo del contenido de cobre esperado. Si la muestra contiene menos del 75% de agua, añada agua para obtener esta disolución. Añada el volumen inicial de ácido nítrico para igualar dos veces el peso de la seca y 5 ml de ácido sulfúrico, ó tantos mililitros de ácido sulfúrico como gramos de muestra-seca, pero cuando menos 5 ml. Digerir la muestra.

Cuando la muestra contiene gran cantidad de grasa, haga la digestión parcial con ácido nítrico hasta que sólo la grasa no se haya disuelto. Enfriar, filtrar dejando libre de sólidos grasos, lavar el residuo con agua, añadir ácido sulfúrico para filtrar y completar la digestión. Después de la digestión, enfriar y añadir 25 ml de agua y remover el ácido nitrosulfónico por calentamiento hasta que halla vapores. Si después de enfriar y diluír está presente materia insoluble, filtrar a través de papel haciendo un lavado ácido y enjuagar el papel con agua y diluír a 100 ml.

AISLAMIENTO Y DETERMINACION DE COBRE:

Pipetear 25 ml de la solución muestra en un separador de 100 ó 250 ml y añada 10 ml de reactivo EDTA citrato. Agregar 2 gotas de -- indicador azul de timol y gotas de hidroxido de

amonio 6N hasta que el color vire a verde ó azul verde. Enfriar y agregar 1 ml de solución de carbamato y 15 ml de tetracloruro de carbono Agitar vigorosamente durante dos minutos. Dejar que las capas se separen y vaciar el tetracloruro de carbono a través de un tapón de algodón en un tubo g-s ó en un matraz. Determinar la absorbancia o transmitancia en un instrumento apropiado a 400 mm aproximadamente.

Si más de 50 mg de cobre están presentes en una alícuota de 25 ml, usar una alícuota mas pequeña y diluír a 25 ml con ácido sulfúrico 2N. La más elevada aproximación se obtiene a 25 mg nivel de cobre (absorbancia aproximada 0.3 en una celda de 1 cm).

PREPARACION DE ESTANDARS Y CURVAS DE CALIBRACION.

Transferir a los matraces 0, 1, 2.5, 5

10, 15, 20 y 25 ml de la solución estandar de cobre (2 mg/ml), y añada ácido sulfúrico 2N -- para hacer un volumen total de 25 ml.

Añada 10 ml de reactivo EDTA citrato y proceda de la forma antes mencionada iniciando la adición con dos gotas de indicador azul de timol.

Grafique absorbancia contra mg de cobre en papel gráfico ordinario. Si las lecturas están en % de transmitancia use papel semilogarítmico y grafique transmitancia en escala logarítmica, ya que generalmente hay desviación lineal. Lea los valores de la muestra en la curva uniforme.

DETERMINACION DE MERCURIO EN CEREALES A NIVEL MICROGRAMO POR EL METODO DE CONCENTRACION REDUCCION-VENTILACION.

El método propuesto utiliza un procedimiento concentrado de ventilación en un cuarto de temperatura, seguida de la digestión de las muestras con ácido sulfúrico, peróxido de hidrógeno y permanganato de potasio. Las principales ventajas son: la eliminación de filtración, aplicable a las soluciones de mercurio en ácido sulfúrico 22 N, ácido cítrico 8 N y mezcla de ácidos sulfúrico-nítrico 8 N y 4 N respectivamente y la habilidad de concentrar soluciones diluidas de mercurio durante el proceso de separación de mercurio de la muestra que puede ser tomada para el análisis. Los análisis finales son hechos de soluciones de composición y volumen constantes, sin hacer caso del material original y el volumen de la digestión o solución.

PARTE EXPERIMENTAL:

REACTIVOS.

Agua.- Usar agua destilada

Peróxido de hidrógeno al 50%

Sulfato de hidroxilamonio al 25% extracción con ditizona.

Cloruro de sodio grado ACS, 5 N, extracción con ditizona.

Solución de cloruro estanoso.- Disolver 70 g. de estaño grado ACS de 20 a 30 mallas en 200 ml de ácido clorhídrico concentrado.

Solución reducida A.- Mezclar 250 ml. de cloruro de sodio 5 N, 75 ml de sulfato de hidroxilamonio al 25% y 175 ml de agua.

Solución reducida B.- Mezclar 60 ml de sulfato de hidroxilamonio al 25% y 50 ml de cloruro de sodio 5 N y diluir a 500 ml.

Solución de ácido sulfúrico 1.8 N.- Mezclar 100 ml de ácido sulfúrico 18 N, 750 ml. de agua, 5 ml de sulfato de hidroxilamonio al 25% y 10 ml de

cloruro de sodio 5 N y diluir a un litro.

Solución absorbida.- Diluir 125 ml de permanganato de potasio al 5% a un litro. Agregar --- 5 ml de ácido sulfúrico 18 N por cada 20 ml de permanganato de potasio diluido, justamente antes de usarse.

Cloroformo.- Agitar cloroformo USP con ácido sulfúrico concentrado, vaciar la capa de cloroformo en un frasco conteniendo cal, reagitar, dejar asentar y decantar el cloroformo en un matraz de -- destilación Pyrex. Filtrar el residuo. Agregar 2 g. de cal, 20 ml de etanol y calentar por 4 horas, -- destilar entonces en una columna de 25 X 100 mm rellena de fibra de vidrio usando una unidad total Pyrex y verter en un frasco ámbar conteniendo etanol (reflujado y redestilado con hidroxido de sodio) -- equivalente en volúmen a 0.5% de el cloroformo es -- destilado. El cloroformo empleado se descompone -- sobre calor como lagunas veces sucede con cloroformo-

mo reprocesado por lo que es tratado con Darco --- G-60 activado con polvo de carbón, filtrar en papel Whatman No. 2 usando vacío y redestilar.

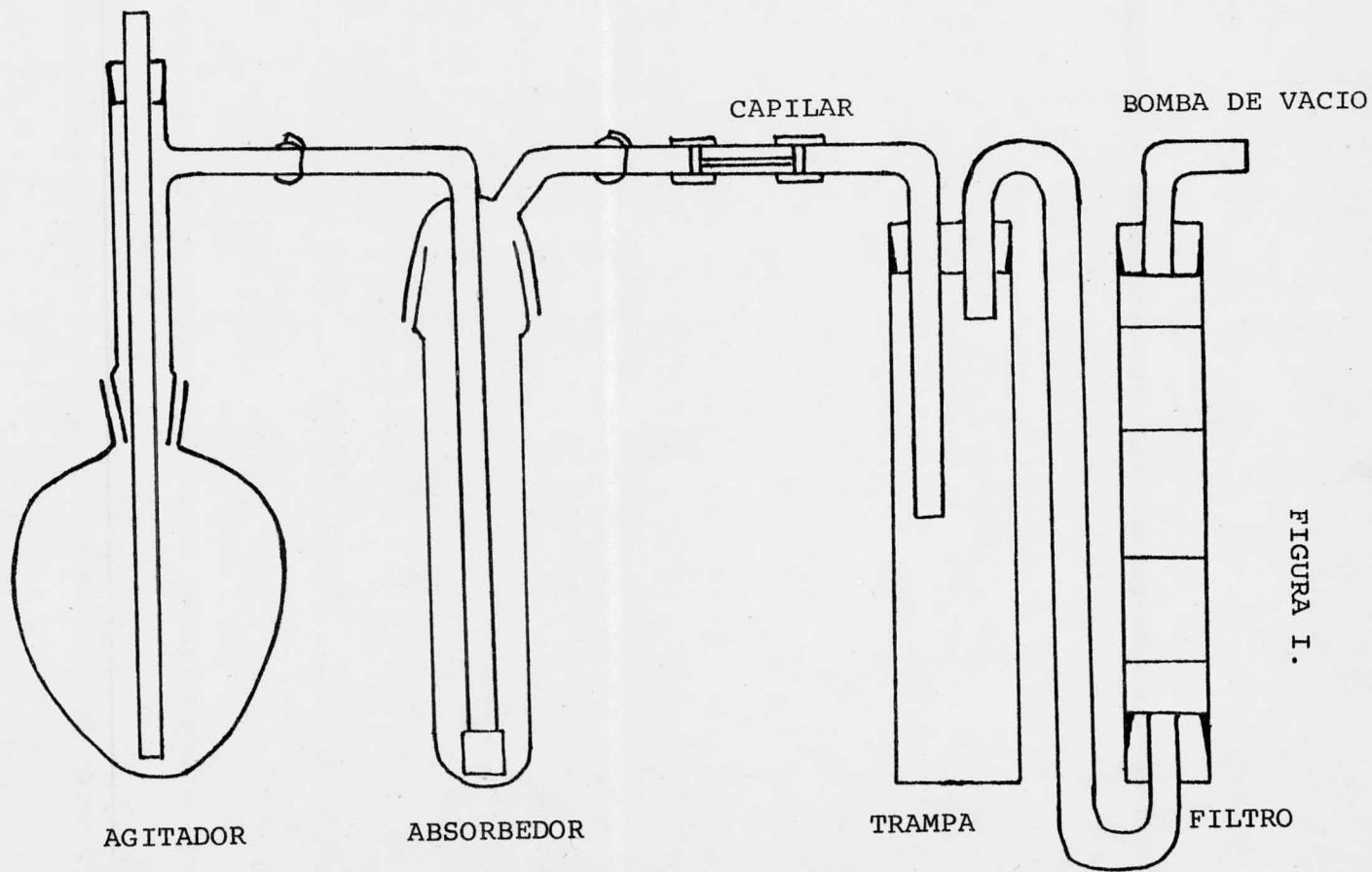
Solución de ditizona.- Diluir 1 mg/ml de solución de ditizona comercial y tener la solución refrigerada, almacenándola en un cuarto de temperatura y estandarizar con cada uno, protegerla de la luz.

Mercurio estandar.- Disolver 0.1354 g. de cloruro mercúrico grado ACS por 100 ml de ácido sulfúrico 1N. Diluir 1 ml de esta solución y 4 ml de solución de cloruro de sodio 5 N a un volumen de -- 100 ml con agua. La solución elaborada (10 mg /ml) es estable por lo menos 14 días.

Dicromato de potasio grado ACS al 10% ó -- cromo equivalente en otras sales.

APARATO (Figura I)

Un matraz cónico de ebullición de 250 ml - con estándar 24/40



APARATO DE REDUCCION-VENTILACION DE MERCURIO

FIGURA I.

Agitador-ventilador con estándar 24/40, el cual tiene un brazo lateral con articulación di-esfera 12/5 que ha sido sellado. La tapa es cerrada directamente con un tapón de polietileno No. 2 ó 3 al cuál se le ha hecho una perforación para introducir un tubo Pyrex de 8 mm.

Lavado de gas en un bote taón (Pyrex No. - 31770) de forma alta con cilindro EC y esfera 12/5 y articulada a un cubo.

Cilindro absorbedor con estándar interior de disminución 29/42, sellado 25 mm más abajo de la disminución con un tubo de ensayo Pyrex 32 X 200, - reducido a 155 mm.

Capilar (regulador de aire), tubo capilar ID 50 X 0.5 mm.

Filtro tubo con tapón 36 X 250 mm. en cada terminación con tapón de goma y cargado con 50 mm - de 8 a 14 mallas de cal sosa pasada por fibra de vi drio.

METODO DE DIGESTION:

Para muestras de grano conteniendo Hg (II) metilmercurio, etilmercurio y compuestos fenilmercurio, son suficientes 5 g de muestra, colocándolos en un matraz cónico. Agregar 1 ml de solución de cromo. Colocar un matraz de 300 ml tipo West estándar en un condensador, agregar de 20 a 30 ml de ácido sulfúrico a través del condensador y mezclar vigorosamente. Colocar muestras con agitación intermitente por 30 minutos y enfriar en un cuarto de temperatura. Agregar peróxido de hidrógeno al 50% en porciones de 0.5 ml con mezcla vigorosa después de cada adición. Dejar suficiente tiempo para que el peróxido se descomponga después de cada adición. La descomposición del peróxido de hidrógeno siendo exotérmica puede tener un aumento gradualmente en la temperatura a cerca de 150°C. Cuando el peligro de espuma termina se incrementa la cantidad de cada adición a 1 ml. Se continúa la adición del peróxi-

do a una velocidad suficiente de manera de conser--
var la solución suavemente burbujeada. Cuando la -
temperatura desciende abajo de la temperatura de --
reacción y dos sucesivas adiciones de peróxido sus-
penden la descomposición, se utiliza un microburner
aumentando la temperatura. No se pueden hacer nue-
vas adiciones de peróxido se empiezan a descompo---
ner. La adición de peróxido es discontinua después
de que la solución se vuelve azul-verde ó en la au-
sencia del cromo, amarilla luminosa. El peroxido
residual se deja descomponer con el uso de calor --
suave, después de que ha sido lavado con agua. Cuando
la descomposición aparentemente ha cesado, agre-
gar 5% de permanganato a dar unos 5 ml. de exceso y
su temperatura es mantenida. El permanganato es --
agregado en porciones de 5 ml. o menos, hasta que -
el color de la mezcla persista por 15 minutos. En-
friar la muestra y agregar 20 ml. de la solución re
ducida A.

VENTILACION.- Insertar el ventilador-agitador en el matraz. El matraz puede ser llenado de $1/2$ a $2/3$. El absorbedor contiene 25 ml de solución absorbadora. La presión de la conexión de los capilares es reducida a 30 pulgadas de mercurio, fluyendo al aire a través del sistema cerca de una hora. Ajustar el tubo y cerrar lo más abajo del matraz que sea posible, para conservar las partículas en constante suspensión. Continuar la ventilación por 30 minutos después de la adición de ml. de solución de cloruro estanoso a través de la entrada de aire. Reducir la solución de absorción con 5 ml de solución reducida B y transferirla a un matraz volumétrico de 50 ml. Dejar reposar la solución por lo menos entre la reducción del permanganato y el análisis.

DETERMINACION.- Transferir una alícuota conveniente ó la muestra entera conteniendo no más de 10 mg de mercurio a un embudo de separación de -

125 ml y diluir a 50 ml con solución de ácido sulfúrico 1.8 N. Agregar 3.5 ml de solución de ditizona (conteniendo 11 mg/litro) y agitar por un minuto. - Transferir la fase de cloroformo a un tubo de ensaye limpio de 13 X 100 mm. sin dejar ningún residuo de agua en las paredes, entonces transferir a 1 cm. pasar el exceso de ditizona a 650 mu. Leer tan --- pronto como sea posible después de agitar con la solución de mercurio. Las soluciones de mercurio --- acuoso pueden ser dejadas en reposo en el embudo de separación. Conocidas las cantidades de mercurio - (0.0 - 10 mg) son corridas simultáneamente con -- las muestras. El rango es de 0-4 mg.

DISCUSION Y RESULTADOS.

La reducción del mercurio (II) en pequeñas concentraciones por cloruro estanoso, es aparente-- mente inmediata sin la aplicación de calor; de 95 a 97% del mercurio en la solución puede ser removido por ventilación en un cuarto de temperatura con 7 -

litros de aire, en un período de 6 minutos, mientras que del 98 al 99% es removido por 14 litros -- (Tabla I).

La reducción en un cuarto de temperatura - puede ser efectuado en amplios rangos de concentraciones de ácidos sulfúricos y nítrico. La tabla II muestra una recuperación cuantitativa de mercurio - de ácido sulfúrico arriba de 22 N, de ácido nítrico arriba de 8 N y una mezcla de ácidos nítrico-sulfúrico arriba de 4 N y 8 N respectivamente. En ácido sulfúrico 16 N empieza la evolución con cloruro de hidrógeno. Desde el cloruro baja la reacción mercurio-ditizona, un carbonato-fosfato absorbido fué -- usado antes de absorber el permanganato debido a -- las altas concentraciones del ácido sulfúrico. En ácido sulfúrico 27 N hay casi una precipitación total de estaño (II) con sólo 40% de mercurio recuperado. Si la solución es diluida con agua después - de la precipitación con estaño (II), la recupera---

CAPITULO IV

ESTUDIO Y CONCLUSIONES

TABLA I

RECUPERACION DE MERCURIO DE SOLUCIONES DE ACIDO SULFURICO DESPUES DE PERIODOS DE VARIACION DE VENTILACION^a

SOLUCION DE ACIDO SULFURICO^b

INTERVALO DE TIEMPO EN MIN.	MERCURIO RECUPERADO (100 mg ORIGINAL)			
	I	II	III	IV
0 - 5	97.30	98.00	95.40	96.30
5 - 10	1.84	1.16	2.42	2.92
10 - 15	0.28	0.24	0.28	0.62
15 - 20	0.00	0.12	0.08	0.00
20 - 40	0.00	0.14	--	0.00
40 - 50	0.00	--	--	--
Total Recuperado	99.4	99.7	98.2	99.8

a Velocidad de flujo de aire ca. 80 l/h

b 150 ml. de ácido sulfúrico 5 N.

TABLA II

RECUPERACION DE MERCURIO AGREGADO POR VARIAS CONCENTRACIONES DE ACIDO SULFURICO, ACIDO NITRICO Y MEZCLA DE ACIDOS SULFURICO-NITRICO POR LA TECNICA DE REDUCCION VENTILACION.

NORMALIDAD		mg DE Hg	NORMALIDAD		mg DE Hg
H ₂ SO ₄	HNO ₃	RECUPERADO	H ₂ SO ₄	HNO ₃	RECUPERADO
0.6		101. ^a	6	3	5.17
12		100. ^a	6	4	7.07
17		99.0 ^a	6	6	3.98
22		5.03	6	8	0.56
23		4.92	7	2	5.10
24		4.63	7	4	5.07
27		2.17	7	6	2.74
	8	0.02 ^b	8	4	5.08
	8	5.08	9	1	5.16
	9	4.86	9	2	4.75
	10	4.32	9	4	4.17
	13	0.10			
5	3	5.03			
5	4	5.12			

5 5 4.63

5 8 1.87

a En estas instancias, 145 ml de solución
conteniendo 100 mg de mercurio fueron analizados. -
En los casos en donde permanecian 100 ml de solución
conteniendo 5 mg de mercurio fueron usados.

b No fué agregado mercurio.

ción de mercurio se incrementa a 97%.

La tabla III indica que el mercurio en algunas formas puede ser digerido y ventilado de cebada digerida.

Para muestras de 5 g. de cebada entera y picada, conteniendo 5 mg. de mercurio ó menos, se encontró que las desviaciones estándar de una simple determinación fueron de 0.12, 0.15 y 0.23 mg. respectivamente, usando celdas ópticas cilíndricas de 2 cm.

El mercurio es concentrado durante la separación y es determinado por un procedimiento directo fotométrico ditizona. Esta técnica es aplicable a 0.10 mg. de mercurio por muestra, con una desviación estándar para una determinación sencilla de 0.05 mg. de mercurio y en el rango de 0 a 0.5 mg.

TABLA III

RECUPERACION DE MERCURIO

MUESTRA	MERCURIO AGREGADO (mg)	TOTAL DE MERCURIO ENCONTRADO (mg)	MERCURIO AGREGADO RECUPERADO (mg)
---------	--------------------------------	--	--

(AGREGADO COMO $HgCl_2$)

5 g de cebada	0.00	0.09	----
entera y picada	0.20	0.40	0.31
	0.50	0.56	0.47

(AGREGADO COMO CLORURO DE METILMERCURIO)

5 g de trigo	0.11	0.18	----
(contaminado	1.11	1.30	1.12
con semillas			
de granos			



QUINDIO

CAPITULO V

BIBLIOGRAFIA

NIVEL SUBMICROGRAMO DE DETERMINACION DE -
MERCURIO EN SEMILLAS, GRANOS Y PRODUCTOS
ALIMENTICIOS, POR EL METODO DE ESPECTRO -
METRIA DE ABSORCION ATOMICA DE VAPOR FRIO

Una técnica de Espectrometría de absor -
ción Atómica de Vapor Frío ha sido empleada para la
determinación total de mercurio en algunas muestras
biológicas, como semillas, granos, frutas, vegeta -
les, pescado y alimentos. Las muestras biológicas -
fueron digeridas con una mezcla concentrada de áci -
dos sulfúrico y nítrico.

Las muestras de mercurio orgánicamente -
ligadas, fueron convertidas a la forma divalente --
por digestión de 3 a 5 horas a 60°C con ácidos sul -
fúrico y nítrico, usando matraces earlenmeyer. Las -
muestras digeridas fueron subsecuentemente reduci -
das con cloruro estanoso, para la determinación por
recirculación de vapor frío bajo AAS, a 0.01 mg. --

Las cantidades máximas de mercurio, 9.45 y 7.15 ppm, fueron encontradas en semillas de tomate estufadas y en semillas de trigo tratadas.

Un proceso relativamente simple de digestión es desarrollado, el cual puede ser aplicado a varias muestras biológicas. Las muestras biológicas fueron digeridas de 3 a 5 horas, en una mezcla concentrada de ácidos sulfúrico y nítrico, en un baño de agua a 60°C. El mercurio químicamente ligado, es entonces convertido a mercurio divalente el cual es subsecuentemente reducido a mercurio libre usando una mezcla de cloruro estanoso, hidrocloreuro de hidroxilamina y cloruro de sodio, y determinado usando el método de Espectrometría de Absorción Atómica de vapor frío a 2536.5 A. El método es preciso y rápido y no requiere de una constante supervisión. La recuperación de mercurio estandar con 9 diferentes-compuestos fué mejor que el 90%.

SECCION EXPERIMENTAL:

INSTRUMENTACION.- El instrumento usado en la determinación de mercurio fué un espectrofotómetro de absorción atómica Jarrel-Ash Maximun Versatility modelo 28-500. Una lámpara de mercurio con un cátodo fué usada como fuente de radiación a 2536.5 A. La parte superior del mechero fué reemplazada por una celda de cuarzo, el vapor de mercurio fué sacado y en un intervalo llenado con ácido nítrico diluído. Un monitor de velocidad de tiempo de flujo Brooks Sho-Rate "250" modelo 1357 fué usado durante el tiempo de flujo. Un filtro de aire Pall-modelo ACB 4463 EL fué usado. Un concentrado digital sin lectura Perkin-Elmer modelo DCR 2B y un Honewell Electronic con anotación 194 fué conectado al espectrofotómetro de absorción atómica. Toda el agua usada fué preparada pasando por los laboratorios directos de destilación de agua en un deionizador Illco--Way, un baño de agua Eberbach automático e instantá-

neo equipado con un termoregulador y fué usado para agitar las muestras durante el proceso de digestión. Todos los parámetros instrumentales fueron optimizados y consisten en lo siguiente: lámpara de corriente, 10 mA; onda larga 25.36.5 A; velocidad de aire-de flujo, 800 ml/min; registro, 1 pulg/min, 0.25 --seg tiempo de respuesta, ancho de la banda, entrada 100 mg, salida 150.

REACTIVOS.- Alta pureza de los compues -
tos organo-mercúricos fué obtenida. El material mer -
cúrico estandar fué reactivo ACS grado cloruro mer -
cúrico.

PROCESO DE DIGESTION.- Las muestras bio -
lógicas fueron pesadas con exactitud, previamente -
secadas y limpiadas, y colocadas en un matraz ear -
lenmeyer de 125 ml. El rango del tamaño de la mues -
tra fué de 0.1 a 10 g, dependiendo del tipo de mues -
tra. Para semillas, granos y productos alimenticios,

unos 5 g de muestra son recomendados. Cinco gotas de Silicón antiespumante serie 5441, un producto de Unión Carburo, 100% activo y usado para sistemas acuosos, son agregados a la mezcla de 10 ml de ácido nítrico concentrado y 15 ml de ácido sulfúrico 18 N. La muestra es digerida y agitada en un baño de agua a 60° de 3 a 5 horas dependiendo del tipo de muestra biológica. El material lípido es filtrado sobre papel estando entonces la muestra lista para su determinación usando el espectrofotómetro de absorción atómica de vapor frío. El material digerido es normalmente una solución clara en este punto.

PROCEDIMIENTO DE CALIBRACION.- Solución de cloruro mercúrico con 0.1% de mercurio, es diluída con ácido sulfúrico 1 N, así que 0.1 mg de mercurio por ml es obtenido. Una conocida cantidad de solución estandar es puesta en un matraz de tres bocas y 10 ml de ácido nítrico concentrado y-

15 ml de ácido sulfúrico 18 N son agregados. El volúmen es ajustado exactamente a 100 ml. Es importante- que el volúmen total del sistema de ventilación se - mantenga constante.

El matraz es conectado al instrumento por un tubo Tygon, y son agregados 10 ml al 10% de cloru ro estanoso, 20 ml de una mezcla de solución de clo- ruro de sodio (30%), hidrocloreuro de hidroxilamina - (25%) y 5 gotas de antiespuma. El aire es pasado di- rectamente al matraz y directamente a la celda de -- cuarzo ya que ésta absorbe la luz de radiación a --- 2536.5 A en proporción a esta concentración. La pre- sente absorción es medida y registrada en la banda - del diagrama de registro. Una típica calibración de- la curva es mostrada en la figura 2.

RESULTADOS Y DISCUSION.- Inicialmente 6 - diferentes muestras de semillas fueron analizadas. - Como se observa en las tablas I y II, el contenido -

TABLA I .

ANALISIS DE SEMILLAS Y GRAMOS CON CANTIDADES CONOCIDAS DE COMPUESTOS DE MERCURIO

MUESTRA	COMPUESTO DE Hg AGREGADO	TOTAL DE MERCURIO		% recuperado
		<u>ENCONTRADO</u> mg	ppm	
CLOVER, LADINO	NINGUNO	0.200	0.040	
	Hg(SCN) ₂	0.650		92.8
	Hg(OAc) ₂	0.705		100.7
	Hg(NO ₃) ₂	0.640		91.4
CORN	NINGUNO	0.205		
	MeHgC ₂ N ₃ H ₄	0.540		103.9
	C ₆ H ₅ HgCl	0.710		100.7
DESPEDEZA (c)	NINGUNO	0.167	0.033	
	C ₆ H ₅ HgOAc	0.670		100.8
	C ₆ H ₅ HgOH	0.660		99.25
	CH ₃ HgCl	0.655		98.5
SOYBEAN	NINGUNO	0.215	0.043	
	HgCl ₂	0.690		97.2
WHEAT	NINGUNO	0.080	0.016	
	HgCl ₂	0.565		97.5

Unos 5 g de muestra fueron usados en cada caso. La adición de compuestos fué hecha con 0.5 mg. de mercurio que se agregaron, excepto para el caso de dicianodiamida metilmercurio, para el cual las cantidades de mercurio agregadas fueron de 0.315 mg.

TABLA II.

ANALISIS DE SEMILLAS Y GRANOS
PARA CONTENIDO DE MERCURIO .

MUESTRA	TOTAL DE MERCURIO, ppm
BARLEY	0.019
BEANS, lima	0.013
BEANS, pole	0.058
BEANS, red eye	0.025
BEANS, wax	0.017
BEANS, white kidney	0.035
BEETS (A)	0.026
BEETS (B)	0.042
CABBAGE	0.048
CANTALOUPE	0.029
CARROT (A)	0.027
CARROT (B)	0.030
CHARD	0.103
CLOVER, red	0.017
CUCUMBER	0.021
FESCUE, Ky. 31	0.018
KALE	0.019
LETTUCE, black	0.044
LETTUCE, Great Lakes	0.030
LESPEDEZA (A)	0.017
LESPEDEZA (B)	0.018
OATS	0.012
OKRA	0.043
PARASNIPS	0.035

PEAS, Alaska	0.012
PEAS, blackeye	0.022
PEPPER, banana	0.218
PEPPER, pimento	0.051
PEPPER, sweet	0.020
RADISH, scarlet	0.016
RADISH, icicle	0.013
SORGUM	0.022
SPINACH	0.076
SQUASH	0.015
SUNFLOWER	0.012
TOMATO, hothouse	9.45
TOMATO, Oxheart	0.090
TOMATO, Ponderosa	0.050
WATERMELON	0.064
WHEAT (A)	7.15

El rango del tamaño de la muestra fué de 0.1 a 5.0 g. Se duplicaron los análisis en cada caso y el valor numérico total para mercurio representa un promedio de los dos valores experimentales obtenidos.

de mercurio en semillas y granos varía de 0.01 a 9.45 ppm de mercurio. En el trigo tratado se encontró un contenido de 7.15 ppm de mercurio debido al uso de fungicidas de mercurio.

Dependiendo de la concentración de mercurio en diferentes muestras de semillas, el tamaño de la muestra fué ajustado para 0.1 g para semillas de tomate estufado y de 0.5 para otras muestras de semillas. Cada muestra de semilla fué finamente pulverizada antes de la digestión. El problema de espuma durante el inicio de la preparación de digestión, fué efectivamente controlado por el uso de agentes de silicón antiespumantes.

Como se muestra en la tabla III, frutas frescas, alimentos y vegetales fueron analizados para contenido total de mercurio.

El orden de aplicabilidad de este método al mayor tipo de muestras biológicas dió los valores entre el rango de 0.225 a 1.32 ppm de mercurio para las muestras analizadas.

TABLA III.

ANALISIS DE CIERTOS PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONTENIDO DE MERCURIO .

MUESTRA	TOTAL DE MERCURIO, ppm
APPLE	0.010
BACON	0.072
BANANA	0.011
BEANS, green	0.017
BEEF, fat	0.020
BEEF, muscle	0.007
CHICKEN, gizzard	0.007
CHICKEN, liver	0.009
CHICKEN, lungs	0.012
CRAB, King	0.032
CUCUMBER	0.011
EGG, white	0.112
FISH, cooked	0.375
FISH, bream	0.051
FISH, crappie	0.099
FISH, salmon	0.021
GRAPEFRUIT	0.010
HAM, cooked	0.010
HAMBURGER	0.011
LEMON	0.043
LIME	0.048
ONION	0.007
PEPPER, green	0.011

PORK, muscle	0.007
PORK, sausage	0.047
POTATO	0.012
SQUASH	0.010
STEAK, ribeye	0.017
STRAWBERRY	0.019
TOMATO (A)	0.175
TOMATO (B)	0.012
TOMATO, canned	0.009
TOMATO, chili sauce	0.13
TOMATO, juice	0.034
TOMATO, ketchup	0.009
TOMATO, paste	0.010
TOMATO, puree	0.005
TOMATO, sauce	0.004
TURNIPGREENS	0.014
WEINER	0.008

Las muestras fueron obtenidas de tiendas de alimentos. El rango del tamaño de la muestra fué de 0.250 a 10.0 g. Todas las muestras fueron de peso húmedo excepto el tomate (A), ya que fué secada a vacío.

DETERMINACION DE COBRE EN
VINO POR EL METODO COLORI
METRICO ZDBT.

REACTIVOS:

Destilar agua y alcohol y recibirlo en un matraz pyrex conteniendo cobre libre.

SOLUCIONES ESTANDANDAR DE COBRE:

Solución reguladora.- 0.2 mg/ml. Disolver 0.393 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (libre de cualquier deposito blanquecino) en agua contenida en un matraz volumétrico de 500 ml y 2 ml de ácido -- sulfúrico. Diluír a tener el volumen y mezclar.

Solución de trabajo.- 0.004 mg/ml. -- prepararla diariamente por dilución de 2 ml de solución reguladora a un volumen de 100 ml.

Solución de Dibencil Tiocarbamato de Zinc (ZDBT)-tetracloruro de carbono.- 0.2%. Disolver 2 g de ZDBT en un litro de tetracloruro de carbono por calentamiento en un baño de ---

agua a menos de 77 °C. Filtrar a través de papel Whatman No. 41 y colocarlo en un frasco --- obscuro. Tenerla en refrigeración.

APARATOS:

SEPARADORES.- Separadores de 60 a 125-ml en forma de pera con llave de paso. Limpiarlos separadores con solución limpiadora de ácido crómico caliente y enjuagar con agua. Antes de cada análisis, agitar la mezcla de 10 ml, -- 0.5 ml de ácido sulfúrico 6N y 10 ml de solu--- ción de ZDBT-tetracloruro de carbono en cada se parador un minuto. Limpiar dentro del sistema - con un escobón de algodón empapado en solución de ZDBT - tetracloruro de carbono, lavar y en--juagar con agua los separadores.

PREPARACION DE LAS CURVAS ESTANDAR:

a) Muestras de pruebas de alcoholes de 80-135. A los separadores conteniendo 5 ml de -

alcohol, agregar 0, 0,50, 1.00, 2.00 y 3.00 ml de la solución estandar de cobre de trabajo y 5, 4.5, 4, 3 y 2 ml de agua respectivamente. A los separadores conteniendo las soluciones de 0.0, 0.20, 0.40, 0.80 y 1.20 mg de cobre por mililitro (ppm) respectivamente determinarles el cobre en partes por millón.

b) Muestras acuosas de vinos.- Preparar como en (a) excepto en el uso de agua en lugar de alcohol.

DETERMINACION:

Al separador conteniendo 10 ml de muestra (muestra diluída mayor a 135 prueba de 80- a 135) ó estandar, agregar 0.5 ml de ácido sulfúrico 6N y 10 ml de solución de ZDBT-tetracloruro de carbono. Tapar y agitar brevemente y liberar la presión quitando el tapón. Tapar de nuevo y agitar vigorosamente 100 veces. Si el -

embudo no está seco, remover las gotas de líquido con un pequeño rollo de papel lavado en ácido para prevenir que queden gotas de agua. Insertar en la boca fibra de vidrio o algodón en cada sistema para filtrar los materiales brumosos. En un rango de 10 a 60 minutos, determinar A de la capa de tetracloruro de carbono a 438 mm. Dejar pocos mililitros de la capa de tetracloruro de carbono que pasen a través del filtrado antes de coleccionar la muestra en la celda. Usar la capa de solución de tetracloruro de carbono de 0 ppm de cobre (preparada como para la curva estandar (a) o (b) como referencia). Determinar la concentración de cobre de la curva estandar apropiada y multiplicar por el factor de dilución, si la muestra fué diluída.

DETERMINACION DE COBRE EN VINO
POR EL METODO DE ABSORCION ATOMICA

Destilar agua y alcohol y recibirlo en un matraz Pyrex conteniendo cobre libre.

SOLUCIONES ESTANDAR DE COBRE:

1) Solución Reguladora.- 0.2 mg/ml. Disolver 0.393 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (libre de cualquier depósito blanquecino) en agua contenida en un matraz volumétrico de 500 ml y 2 ml de ácido sulfúrico. Diluir a tener el volumen y mezclar.

2) Solución de trabajo.- 0.004 mg/ml. Prepararla diariamente por dilución de 2 ml de solución reguladora a un volumen de 100 ml.

PREPARACION DE LA CURVA ESTANDAR:

Ajustar el instrumento a 0 A de manera de tener el blanco. Leer a 324.7 nm cuatro o más soluciones estandar dentro del rango analítico antes y después del grupo de muestras. Usar la curva estandar para convertir los valores de A para cada muestra en ppm de cobre.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE COBRE EN VINOS

El cobre algunas veces ocasiona obscurecimiento en vinos blancos de mesa y cuando el obscurecimiento en tales vinos ocurre, es importante saber si es o no debido a trazas de cobre.

METODO DE MARSH:

Pipetear 10 ml de vino en un tubo de ensaye Pyrex de 25 X 150 mm. Agregar 1 ml de reactivo ácido clorhídrico-cítrico, agitar y luego añadir 2 ml de hidróxido de amonio 5 N (333 ml de hidróxido de amonio concentrado por cultivo) y luego agitar. Agregar 1 ml de una solución de dietilditiocarbamato de sodio al 1%, agitar y dejar reposar por un minuto antes de añadir 10 ml de acetato de amilo. Continuese con 5 ml de alcohol metílico absoluto.

Tapar el tubo de ensaye y agitar vigorosamente por lo menos durante 30 segundos. Dejar reposar

para que las dos fases se separen. Cuando la separación se ha completado, desechar la capa acuosa insertando un tubo de vidrio hasta el fondo del tubo de ensaye y aplicar succión. Secar la fase orgánica añadiendo sulfato de sodio anhidro con una espátula y agitar. Agregar la cantidad necesaria para tal propósito. Transferir la fase orgánica ya seca a tubos de ensaye limpios para comparar el color con un grupo de estandares.

El alcohol metílico absoluto que se agrega a la mezcla de reacción sirve para dos propósitos; reduce marcadamente la tendencia de las dos fases a emulsificarse con lo cual ayuda a una rápida y limpia separación de las fases acuosas y orgánica. La intensidad del color es extraído por el acetato amílico de la fase acuosa que depende del valor del PH de la fase acuosa. A un PH de 8 a 8.5 se produce la intensidad máxima del color y debe tenerse mucho-

cuidado al ajustar el valor del PH si se obtienen - valores aproximados.

Se encontró en el desarrollo del proceso descrito arriba que cuando se añade el alcohol metálico a los tubos que contienen muestras ajustadas a los valores de PH variados, que no había ninguna diferencia en la intensidad en el extracto de la solución colorida y por lo tanto no podía detectarse. - Sin el alcohol metálico la intensidad de la solu -- ción colorida extraída, dependía del valor del PH - de fase acuosa. Con el alcohol metálico presente el valor del PH de la fase acuosa puede variar por encima o más bien sobre amplios límites sin ningún -- efecto en la intensidad del color.

Una solución estandar de cobre para este procedimiento es mejor preparada con cobre metálico a fin de contener 0.50 mg de cobre por ml. Las soluciones para la preparación de las series estandar - fueron las siguientes: se pipetearon 1, 2, 3, 4, 5,

6, 8 y 10 ml de la mencionada solución reguladora en distintos matraces volumétricos de 1 litro, -- agregando 150 ml de alcohol etílico al 95% y haciendo cada una al volúmen con agua destilada. Estas soluciones contienen entonces =.5, 1.0, 1.5, - 2.0, 2.5, 3.0, 4.0 y 5.0 ppm de cobre respectivamente.

Pipetear 10 ml de cada solución en distintos tubos de ensaye de 25 X 150 mm y proceda como se ha mencionado para el desconocido. Las soluciones obtenidas pueden ser utilizadas como series de estandars o pueden ser utilizadas para establecer curvas estandar para el uso con fotómetros fotoeléctricos.

METODO COLORIMETRICO PARA LA
DETERMINACION DE COBRE EN VINOS

Los vinos normalmente contienen muy pequeñas cantidades de cobre, cerca de 0.1 a 0.3 mg/lt. Sin embargo los esprays de cobre empleados en los viñedos pueden introducir grandes cantidades.

PROCEDIMIENTO:

SOLUCION ESTANDAR DE COBRE.- Disolver 0.5000 g de reactivo con la cualidad de cobre metal en ácido nítrico diluído y aforar a un litro con agua. Pipetear 1, 2, 3, etc. ml de esta solución en frascos volumétricos de 1000 ml agregar a cada uno 150 ml de etanol al 95% y diluír el volumen con agua. La concentración del cobre en estas soluciones diluídas es de 0.5, 1.0, 1.5, etc. ml/lt.

REACTIVO ACIDO CLORHIDRICO-ACIDO CITRI

CO.- Disolver 75 g de ácido cítrico en 300 ml de agua en un matraz volumétrico de 500 ml. Agregar 50 ml de ácido sulfúrico concentrado y diluir el volúmen con agua.

SOLUCION DE DIETILTIOCARBAMATO DE SO -

DIO.- Disolver 1 g de dietiltiocarbamato en unos pocos mililitros de etanol, lavar con agua en un matraz volumétrico de 100 ml y diluir el volúmen.

Pipetear 10 ml de cada solución estandar de cobre en embudos de separación limpios. - Agregar 1 ml de reactivo ácido clorhídrico-ácido-cítrico a cada uno de los tubos, mezclar, agregar 2 ml de hidróxido de amonio 5 N y remezclar, agregar 1 ml de solución de dietiltiocarbamato de sodio a cada tubo y agitar. Colocar el contenido de los tubos en los embudos y agitar por 30 segundos, dejar reposar entonces hasta que las capas se se-

paren. Extraer completamente la fase acuosa lentamente y verter la capa orgánica coloreada del embudo a un vaso de precipitado. Agregar sulfato de soanhidro al líquido hasta desaparecer cualquier turbiedad. Agitar y filtrar a secar la fase orgánica a través de un papel filtro, en un limpio y seco tubo de ensayo.

Preparar una curva estandar trazando -- concentración contra % de transmisión en un colorímetro fotoeléctrico con un filtro verde a 540 nm, - o determinar la densidad óptica en un espectrofotómetro a 540 nm.

Para el análisis de vino rojo o blanco, seguir el procedimiento de arriba, substituyendo - 10 ml de la muestra de vino por la solución estandar.

CONTENIDO DE CATIONES EN VARIOS VINOS

COBRE

RANGO	%	REGION
g/ lt		
0.04 - 0.11	0.11	California
0.54 - 1.78	1.28	Francia
0.00 - 3.68	1.24	Alemania
0.12 - 1.12	0.36	Italia

MERCURIO

RANGO	%	REGION
g/ lt		
0.074 - 0.165	0.123	California Francia
0.073 - 0.091	0.084	Alemania
0.060 - 0.173	0.109	Italia

DETERMINACION COLORIMETRICA DE COBRE EN VINO

REACTIVOS:

a) Dibencil tiocarbamato de zinc (ZDBT) solución al 5%. Disolver 5 g de ZDBT en tolueno y diluír a un litro con tolueno. Filtrar si es necesario a través de papel Whatman No. 42 y colocarlo en un frasco café en frío en un lugar obscuro. Tetracloruro de carbono puede ser usado en lugar de tolueno.

b) Solución estandar de cobre.- Disolver 3.93 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (libre de depósito blanquecino) y diluír a un litro con agua (1 ml = 1 mg de Cu) o disolver 1.000 g de alambre o laminilla de cobre puro en 75 ml de ácido nítrico (1 + 4) por calentamiento, calentar a expeler humos, enfriar y diluír a un litro con agua. Ya preparada, diluír la solución estandar (1 ml = 0.01 mg de Cu) inmediatamente antes de usarse diluyendo 5 ml de solución estandar con cobre libre y hacer el volúmen con agua destilada a --

500 ml en un frasco volumétrico.

c) Cobre libre destilado con agua.- Agitar el destilado de agua con solución de ZDBT en el separador.

APARATOS:

a) Fotómetro.- Cualquier instrumento comercial con filtro azul (430 - 460 nm) o un espectrofotómetro a 435 nm.

b) Tubos de centrífuga para cobre libre, limpiar y enjuagar tubos de centrífuga de 50 ml; -- agregar 15 ml de agua, 3 ml de ácido sulfúrico --- (1 + 3) y 5 ml de solución de ZDBT. Tapar con tapón de corcho o de vidrio y agitar. Desechar la solución y dejar el tubo escurrir.

PREPARACION DE LA CURVA ESTANDAR

En tubos de centrífuga de 50 ml agregar 0.0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 y 5.0 ml de solución estandar de cobre equivalente a 0.0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6- y 2.0 ppm de cobre. Agregar 25 ml de cerveza y una-

gota de alcohol n-hexílico mezclar y proceder a la determinación.

Calcular el factor de conversión de absorbancia en ppm de cobre después de substraer la absorbancia del estandar conteniendo 0.0 ppm de cobre, de aquellas a las que se les ha agregado co - bre.

PREPARACION DE LA MUESTRA:

Enfriar el frasco o agitarlo inmediatamente antes de abrirlo. Dejar salir las burbujas - del gas antes de remover la cápsula. Descartar ca. 1/3 de la muestra y remover el contenido de la -- muestra directa.

DETERMINACION:

En tubos limpios de centrífuga de 50 ml agregar 25 ml de la muestra fría, medir en un cilindro graduado, 3 ml de ácido sulfúrico (1 + 3) y 1 ml de peróxido de hidrógeno al 30%. Si interfie-

re espuma con el paso de la muestra, agregar una gota de alcohol hexílico. Remover el tubo y en -
friar a 25°. Agregar 5 ó 10 ml medidos exactamen -
te de solución ZDBT, dependiendo del tamaño de -
la celda fotométrica y del tapón del tubo. Ex --
traer a 25° con agitación vigorosa 60 veces. Re -
extraer cuatro veces, dando 60 períodos cortos, -
agitando cada vez de manera de obrenar una fina -
emulsión, dejando una separación parcial entre -
las extracciones. Digerir la muestra siendo agi -
tada vigorosamente con la solución de ZDBT.

Centrifugar el tubo por 2 ó 3 minutos
y extraer la capa coloreada del fotómetro de la
misma medida usada en la calibración y determi -
nar la absorbancia, A-muestra. Si las gotas de -
la capa acuosa son llevadas a una pipeta, remover
por un flujo de solvente de la pared de la pipe -
ta de manera de dejarla limpia, enjuagar el tubo

de ensaye. Gotas de agua podrían adherirse al tubo de ensaye por lo que es limpiado con solvente.

Preparación del blanco de reactivo por un tubo de centrífuga limpio de 50 ml conteniendo 25 ml de cobre libre, agua a 25 y 3 ml de ácido -- sulfúrico (1 + 3) con 5 (ó 10) ml de solución de ZDBT y determinar la absorbancia, A_1 . Lo correcto para la absorbancia del color extraído por solvente, funciona en toda la determinación, omitiendo la solución de ZDBT, pero agitando con tolueno -- (ó CCl_4) y determinando la absorbancia A_2 . No dá tubos utilizados para este solvente extractable al color blanco de la cerveza, preliminarmente limpiado con solución de ZDBT y desde que se omite la solución de ZDBT puede dar altas lecturas.

$$\text{ppm de Cu} = \left(A_{\text{muestra}} - (A_1 + A_2) \right) \times f$$

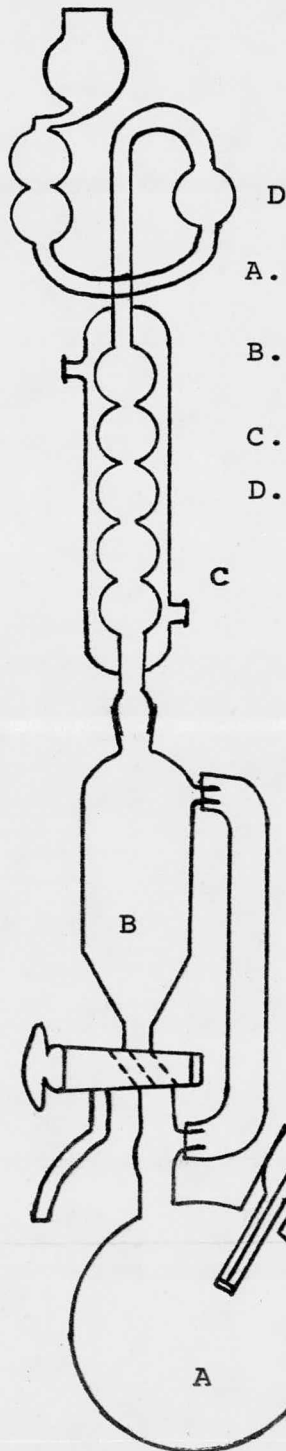
donde f es el factor para convertir absorbancia en ppm.

DETERMINACION COLORIMETRICA DE MERCURIO
EN CONCENTRADOS PROTEINICOS DE PESCADO.

Los concentrados preparados de pescado tomados de superficies diferentes locales, contenían de 0.3 a 0.9 ppm de mercurio. Estas concentraciones parecieron consistentes con el enriquecimiento de factores conocidos, los cuales ocurren en cadena: agua-pescado-concentrado.

Los productos de FPC fueron obtenidos del Centro Nacional para Concentrado Proteínico de Pescado, se determinaron los concentrados por disolución de 10 g de muestra con ácidos concentrados nítrico y sulfúrico en el aparato Bethge que se muestra en la Figura I. Una alta actividad específica de Hg^{203} (0.1 Ci/g) fué usada en la determinación de mercurio, directa de la disolución, extracción con solventes y finalmente determina -

FIGURA I



- A. Matraz de destilación de 150 ml.
- B. Depósito con 2 tomas y - un tubo de paso.
- C. Condensador.
- D. Rociador de cabeza.

APARATO

BETHGE

ción colorimétrica usando como acomplejante ditizona. Algunos concentrados fueron analizados dos veces: uno como receptor y otro un segundo tiempo después de la adición de una cantidad conocida de mercurio. Esto se hizo para confirmar la validez del rendimiento de las determinaciones usando Hg^{203} .

Los resultados en la tabla I indican las concentraciones significativas de mercurio en estos procesos.

Se reportaron concentraciones uniformes de mercurio de 0.1 mg/litro en aguas superficiales y un factor de acumulación de 10^3 para mercurio en pescado, concentraciones de mercurio en peso húmedo de pescados alimenticios podrían aproximarse a 0.1-ppm de mercurio, desde un factor de concentración adicional de aproximadamente 5 ocurre en la preparación de concentrados proteínicos de pescado hasta concentraciones de mercurio de cerca de 0.5 ppm de esos productos pueden ser esperados.

TABLA I

PROMEDIO DE CONCENTRACION DE MERCURIO EN -
CONCENTRADOS PROTEINICOS DE PESCADO.

MUESTRA	LOCALIZACION	CONCENTRACION DE MERCURIO (mg Hg/g de concentrado - seco) \pm 5 %
ALEWIFE (ALOSA PSEUDO HARENGUS)	LAGO MICHIGAN	0.90
ANCHOVY (ENGRAULIS MORDAX)	COSTAS DE CALIFORNIA	0.44
ATLANTIC HERRING (CLUPEA HARENGUS HARENGUS)	COSTAS DE MASSACHUSETTS	0.60
GULF MENHADEN (BREVOORTIA PATRONUS)	COSTAS DEL MISSISSIPPI	0.51
OCEAN POUT (MACROZOARCES AMERICANUS)	COSTAS DE MASSACHUSETTS	0.42
MENHADEN (BREVOORTIA TYRANNUS)	BAHIA DE CHESAPEAKE	0.34

Las cantidades de mercurio medidas exceden el límite de "residuo práctico" para productos marinos de 0.02 a 0.05 ppm y algunos exceden el nivel de acción de 0.05 ppm.

DETERMINACION DE MERCURIO EN PESCADO POR EL
METODO DE ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

La determinación de mercurio por el método de absorción atómica ha sido una de las técnicas más desarrolladas recientemente por la química analítica cuantitativa, tiene ventajas como la rapidez y facilidad con que se elaboran cada una de las determinaciones y la facilidad de manejo del aparato.

La determinación de mercurio en pescado se llevó a cabo en un espectrómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 403, el cual da la lectura directamente en concentración en ppm.

La digestión de la muestra se hace con ácidos sulfúrico-nítrico-clorhídrico. Un tiempo de 15 minutos es suficiente para convertir el mercurio a una forma inorgánica siendo reducido al estado elemental y determinado por Espectroscopía de Absorción Atómica en Flama.

SECCION EXPERIMENTAL:

REACTIVOS USADOS.- a) ácido clorhídrico 6 N; b) ácido sulfúrico 6 N y 1 N; c) mezcla de ácidos diluídos nítrico-sulfúrico, una parte de ácido nítrico, 9 partes de ácido sulfúrico y 8 partes de agua; d) solución reducida (en un matraz volumétrico conteniendo 600 ml de ácido sulfúrico 6 N, 30 g de cloruro de sodio, 30 g de sulfato de hidroxilamina y 50 g de cloruro estanoso fueron disueltos; la solución fué diluída a la marca con agua destilada); e) solución estandar de mercurio: 1) 1000 mg/ml, 0.1354 g de cloruro mercúrico (HgCl_2) fueron disueltos en 100 ml de agua; 2) 1 mg/ml, 1 mg/ml de solución estandar en ácido sulfúrico 1 N.

DETERMINACION DE MERCURIO.- Cerca de 1 g de muestra de pescado húmedo (cerca de 400 mg de muestra de pescado fresco) fué introducido a un ma-

traz de digestión, a éste fué agregado una mezcla de ácido nítrico-ácido sulfúrico. El condensador fué conectado y se dejó circular el agua fría. Al matraz se le agrega 1 ml de ácido clorhídrico 6 N directamente por el condensador y se aplicó calor suave por 15 minutos (cerca de 10 minutos para la disolución de la muestra y 5 minutos de suave abullición) El calor fué removido y el contenido fué reposado por 15 minutos. Destilada el agua --- (90 ml) fué agregada directamente por el condensador mientras que el contenido del matraz fué removido. El matraz fué desconectado del condensador y enfriado en un cuarto de temperatura. Los vapores residuales del matraz son sopladados usando un ligero flujo de aire. La solución reducida (20 ml) fué agregada a la digestión e inmediatamente después el gas adaptador fué conectado y la solución fué ventilada por 15 minutos (tiempo de ventilación ajustado para obtener la máxima absorción).-

La absorción del mercurio metálico fué medida usando un espectrofotómetro de absorción atómica determinado a 253.7 nm. El adaptador de gas fué desconectado del matraz y este sistema se analizó antes de la siguiente muestra.

Un blanco y una curva estandar fueron preparados por la adición de 0, 0.1, 0.3, 0.5 y 1.0 mg. de mercurio a una serie de matraces de digestión conteniendo 10 ml de ácidos sulfúrico-nítrico, 1 ml de ácido clorhídrico 6 N y suficiente agua para tener un volúmen total de 101 ml. Los estandars fueron llevados a cabo por las mismas vías que las muestras. La lectura de absorbancia fué trazada contra microgramos de mercurio. Los microgramos de mercurio en la muestra fueron determinados por la curva: partes por millón de mercurio = microgramos de mercurio por peso de la muestra (gramos).

RESULTADOS Y DISCUSION:

El método de digestión fué evaluado en térmicos del siguiente criterio: exactitud de datos, reproducibilidad de día en día, seguridad, - velocidad y versatilidad. Para la evaluación fué usado Halibut y carne de pescado negro y concentrado de proteínas de pescado (FPC) previamente analizado para mercurio.

EFEECTO DEL TIEMPO DE DIGESTION.- El -- tiempo de digestión (después de la disolución de las muestras) estuvo variando entre 22 y 90 minutos. Los resultados (Tabla I) muestran los valores del mercurio que pueden ser practicados si es utilizado el mismo tiempo de digestión de 2-, 5-, 10-, 15-, 30- ó 90 minutos. Esto indica que el -- mercurio disponible fué convertido a una forma reducida después de 2 minutos de ligera ebullición. Un tiempo de digestión total de 15 minutos (cerca

TABLA I.

EFFECTO DEL TIEMPO DE DIGESTION EN RECUPERACION DE MERCURIO DE HALIBUT Y CARNE DE PESCADO NEGRO.

TIEMPO DE DIGESTION min.	MERCURIO ENCONTRADO, mg/ml	
	HALIBUT	PESCADO NEGRO
2	0.66, 0.65	0.51, 0.51
5	0.69, 0.67	0.51, 0.52
10	0.67, 0.68	0.51, 0.51
15	0.67, 0.67	0.53, 0.52
30	0.64, 0.63	0.51, 0.50
60	0.64, 0.66	0.52, 0.52

de 10 minutos para la disolución de la muestra y 5 minutos de ligera ebullición) fué escogido como el tiempo de digestión.

EFECTO DE LOS ACIDOS.- Las muestras de los ácidos fueron digeridas con una mezcla diluída de ácido nítrico-sulfúrico, con y sin ácido clorhídrico. Los resultados de la prueba (Tabla II) muestran que el ácido clorhídrico es -- esencial para recuperar cantidades fuertes de -- mercurio. En ausencia de ácido clorhídrico el - mercurio recuperado de la carne de Halibut y el FPC era irregular o significativamente bajo, comparado con el que era encontrado usando el método FDA.

La mezcla de dilución de ácidos nítrico-sulfúrico con agua previene carbonizaciones - durante la digestión y previene espumas durante la ventilación de las muestras digeridas. Buenos

TABLA II.

COMPARACION DE MERCURIO RECUPERADO DE
HALIBUT, PESCADO NEGRO Y FPC.^a

MUESTRA	PRESENCIA DE HCl	AUSENCIA DE HCl	METODO FDA, ppm
HALIBUT	0.67, 0.66	0.63, 0.50	0.65, 0.66
PESCADO NEGRO	0.53, 0.52	0.53, 0.53	0.48, 0.47
FPC No.1	0.44, 0.44	0.26, 0.29	0.42, 0.42
FPC No.2	0.63, 0.63	0.43, 0.34	0.64, 0.66

^a La digestion con la mezcla de ácidos -
diluídos nítrico-sulfúrico, con y sin ácido clorhí-
drico, es comparada con el mercurio recuperado de-
muestras similares usando el método de FDA.

resultados se obtuvieron cuando la razón de los ácidos es agua fué de 5:4.

10 ml de la mezcla de ácidos nítrico-sulfúrico en presencia de 1 ml de ácido clorhídrico 6-N fué efectuada para la digestión de 2 g de tejido de pescado y 500 mg de FPC, sin un cambio significativo en la recuperación de mercurio (Tabla III).

ESTUDIOS DE RECUPERACION.- El cloruro mercuríco fué agregado al Halibut y el pescado negro en niveles de 0.3, 0.6, 0.9 y 1.2 ppm y digerido, calculándose los valores de mercurio. Los resultados (Tabla IV) recopilados muestran del 96% al 101%.

TABLA III.

EFFECTO DEL PESO DE LA MUESTRA EN RECUPERACION DE MERCURIO DE HALIBUT, PESCADO-NEGRO Y CONCENTRADOS PROTEINICOS DE PESCADO (FPC).

MUESTRA	MERCURIO ENCONTRADO EN PPM			
	HALIBUT	PESCADO NEGRO	FPC DE ARENQUE	FPC DE MERLUZA
0.10			0.39, 0.39	0.58, 0.62
0.30			0.43, 0.43	0.60, 0.61
0.50	0.64, 0.66	0.50, 0.50	0.46, 0.42	0.63, 0.58
0.75				espuma
1.00	0.65, 0.64	0.49, 0.50	0.44, 0.41	espuma
1.50	0.64, 0.65	0.50, 0.51		
2.00	0.64, 0.63	0.51, 0.51		
3.00	0.61, 0.61	0.46, 0.44		

TABLA IV.

RECUPERACION DE MERCURIO AGREGADO A PES
CADO NEGRO Y HALIBUT USANDO EL METODO -
PROPUESTO.

MERCURIO AGREGADO	<u>MERCURIO ENCONTRADO, ppm</u>		<u>RECUPERACION %</u>	
	PESCADO NEGRO	HALIBUT	PESCADO NEGRO	HALIBUT
0.3	0.304	0.301	101	100
	0.301	0.299	100	100
0.6	0.589	0.579	98	97
	0.594	0.582	99	97
0.9	0.889	0.879	99	98
	0.872	0.864	97	96
1.2	1.178	1.162	98	97
	1.191	1.175	99	98

DETERMINACION DE MERCURIO EN PESCADO POR EXTRAC
CION CON SOLVENTES Y ESPECTROFOTOCOLORIMETRIA.

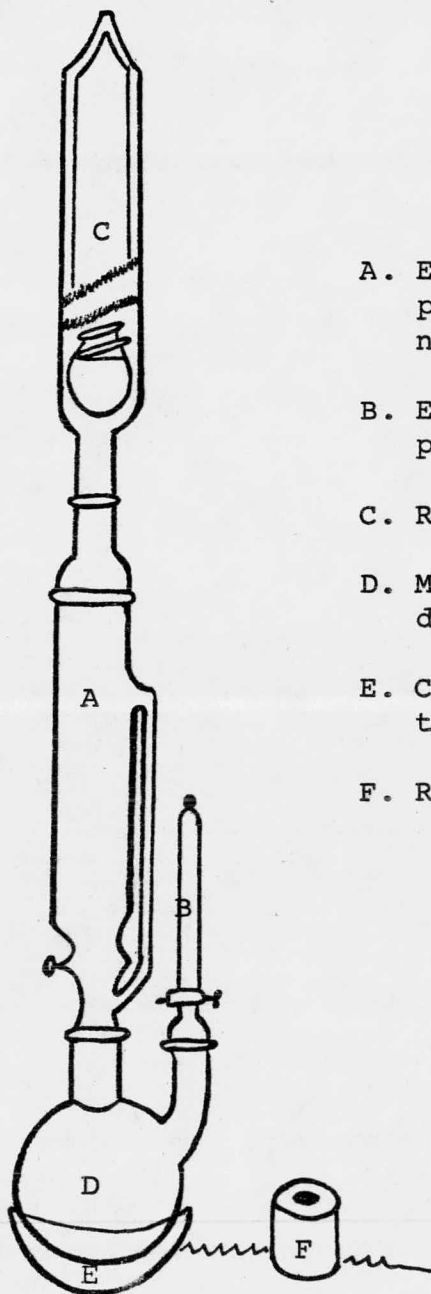
El análisis cuantitativo de residuos de mercurio en materia alimenticia consta en general de los siguientes pasos:

- I. Digestión húmeda de la muestra.
- II. Neutralización de la muestra.
- III. Extracción de mercurio con ditizona.
- IV. Determinación cuantitativa.

DIGESTION HUMEDA CON MEZCLA SULFONITRI-
CA Y ACIDO PERCLORICO.

Para efectuar la digestión de la muestra debe tenerse el aparato adecuado como que se muestra en la Figura I, el cual consta esencialmente de un matraz redondo de dos bocas, dos embudos de adición (para los ácidos), refrigerante con recirculación de agua, canasta de calentamiento y reóstato para regular la temperatura.

FIGURA I



- A. Embudo de adición para mezcla sulfonítrica.
- B. Embudo de adición para ácido nítrico
- C. Refrigerante.
- D. Matraz de bola de dos bocas.
- E. Canasta de calentamiento.
- F. Reóstato.

APARATO ESPECIAL DE DIGESTION

Es muy importante en la digestión de la muestra, el aparato utilizado y la regulación de la temperatura de reacción, debido a que los compuestos de mercurio que se encuentran presentes en el matraz de reacción son muy volátiles, por eso debe controlarse la temperatura de ebullición y ver que el refrigerante resulte eficiente en cuanto a enfriar y condensar, evitando así que escapen vapores.

TECNICA DE DIGESTION:

Reactivos.- Todos los reactivos utilizados deben ser de grado reactivo analítico, libres de metales pesados.

- 1.- Acido Nítrico Concentrado R.A.
- 2.- Acido Perclorico al 72% R.A.
- 3.- Acido Sulfúrico Concentrado R.A.
- 4.- Oxido de Selenio.
- 5.- Piedras de ebullición de Porcelana.

Se pesaron 50 gramos de muestra base húmeda y se pusieron en el matraz de reacción, adicionando 0.1 g de óxido de selenio, piedras de ebullición y se agregaron en frío 25 ml de mezcla sulfonítrica (1:1) lentamente por espacio de 10 minutos: debe tenerse cuidado de controlar la espuma que se forma al producirse la oxidación de la materia orgánica, agitando de vez en cuando. Una vez que ha terminado de reaccionar, se agrega en frío, un volúmen adicional de 30 ml de ácido nítrico concentrado para completar la oxidación. Cuando ha terminado de reaccionar en frío, se calienta durante 30 minutos la mezcla de reacción aproximadamente a 70°C hasta eliminar vapores nitrosos; teniendo en cuenta el control de la temperatura.

Cuando los sólidos del matraz de reacción han desaparecido totalmente, se agregan en

frío 15 ml de ácido perclórico al 72% (para poder-
agregar el ácido perclórico no debe haber residuos
de materia orgánica, ya que éste es explosivo al --
contacto con ella) y se calienta por espacio de --
una hora a una temperatura aproximada de 70°C. Una
vez que terminó este tiempo el matraz de reacción-
se dejó enfriar y la solución digerida quedó de un
color amarillo claro. Después se procedió a desmon-
tar el aparato, lavando con varias porciones de 50
ml de agua tridestilada el refrigerante y cada uno
de los embudos de adición, quitando por último la-
grasa que queda como sobrenadante en la solución -
digerida, desechando la grasa y neutralizando la -
solución digerida con 10 ml de solución de cloruro
de hidroxilamonio al 20% y aforando a 500 ml con -
agua tridestilada en matraz aforado.

Estando aforada esta solución, estuvo -
lista para determinarsele cuantitativamente la can-
tidad de mercurio.

DETERMINACION ESPECTROFOTOMETRICA Y EXTRACCION CON DITIZONA.

Este método para determinar residuos de mercurio en materia orgánica envuelve oxidación húmeda con mezcla sulfonítrica y ácido perclórico y determinación espectrofotométrica de mercurio con ditizona, este método ha sido recomendado como método oficial o estandar por la Joint Mercury Panel.

El uso del ácido perclórico permite una completa oxidación que no sucede solamente usando mezcla sulfonítrica. Aunque el ácido perclórico hace más volátiles los compuestos de mercurio usando condensadores eficientes se logra evitar la pérdida de mercurio.

REACTIVO.- Todos los reactivos utilizados fueron de grado reactivo analítico, libres de metales pesados y de otras impurezas que reaccionan con la ditizona. El agua utilizada fué tridestilada.

1.- Acido Clorhídrico 0:1 N.

Se utilizaron 10.5 ml de ácido clorhídrico grado suprapuro y se aforaron a 1000 ml con agua tridestilada.

2.- Solución acuosa de Cloruro de Hidroxilamonio al 20%.

Se pesaron 20 g de cloruro de hidroxilamonio y se diluyeron a 100 ml con agua tridestilada. Esta solución fué purificada de la siguiente manera: Se transfirió la solución a un embudo de separación; se le adicionó unos cuantos mililitros de solución tipo de ditizona, se agitó por dos minutos y se dejó que se separaran las capas. Se quitó la capa orgánica, se repitió la extracción con ditizona hasta que la capa orgánica tuvo el color de la solución de la ditizona pura. Finalmente se extrajo la solución con pequeñas porciones de tetracloruro de carbono hasta que el extracto fuera incoloro.

3.- Solución acuosa de Nitrito de Sodio al 5%. -

Se pesaron 5 g de nitrito de sodio y se disolvieron en 100 ml de agua tridestilada.

4.- Solución acuosa de Urea al 10%.

Se disolvieron 10 g de urea en 100 ml de agua tridestilada.

5.- Solución acuosa de EDTA (sal disódica del etilén diamino tetracético dihidratado) al 25%.

Se pesaron 25 g de la sal disodica de EDTA dihidratada y se disolvieron en 100 ml de agua tridestilada.

6.- Solución de Acido Acético 4 N.

Se tomaron 22.9 ml de ácido acético concentrado y se diluyeron a 100 ml con agua tridestilada.

7.- Solución de Ditizona al 0.05%.

Se preparó la solución pesando 0.05 g de ditizona disolviéndola en 100 ml de cloroformo. Esta solución fué almacenada en botella oscura y-

en el refrigerador.

8.- Solución diluída de Ditizona en Tetracloruro de Carbono.

Se tomaron 2 ml de la solución de ditizona al 0.05% y se aforaron a 100 ml con tetracloruro de carbono.

9.- Solución diluída de Ditizona en Cloroformo.

Se tomaron 2 ml de la solución de ditizona al 0.05% y se aforaron a 100 ml con cloroformo. En cada determinación estas dos soluciones deben estar recién preparadas.

10.- Cloroformo.

Este disolvente fué grado suprapuro o grado espectro.

11.- Tetracloruro de Carbono.

Este disolvente también fué grado suprapuro o grado espectro.

12.- Solución Estandar de Mercurio.

Se preparó disolviendo 0.1354 g de cloruro mercúrico en un litro de ácido clorhídrico - 0.1 N.

13.- Solución diluída de Mercurio.

Se tomaron 10 ml de la solución estándar de mercurio y se diluyó a un litro con ácido clorhídrico 0.1 N.

1 ml de solución - 1 microgramo de mercurio.

14.- Sulfato de Sodio R.A.

15.- Algodón.

Una vez que se tuvieron todos los reactivos preparados y purificados se procedió a hacer diferentes pruebas de extracción de mercurio - produciendo el complejo ditizonato de mercurio de color naranja y probando el tiempo de duración -- del complejo, o sea, la estabilidad del complejo, tanto en tetracloruro de carbono, como en cloroformo y se dedujo que el tiempo de mayor estabili

dad del complejo era a los 15 minutos de haberse producido la coloración, tanto en cloroformo como en tetracloruro de carbono, pero pasando una hora de haberlo formado empezaba a desaparecer la coloración gradualmente, siendo el complejo en cloroformo el que pierde más rápido la coloración, y después el de tetracloruro de carbono. Aproximadamente en 12 horas desaparece totalmente la coloración de la solución.

Además se trató de buscar un disolvente más apropiado para poder desarrollar el complejo y se encontró que con tetracloruro de carbono se tuvieron menos problemas en cuanto a emulsificación y fué mayor la cantidad de mercurio extraído. También se comprobó la longitud de onda adecuada para que cada uno de los disolventes, la cual fué de 485 mm para tetracloruro de carbono y 492 mm para cloroformo.

Una vez que se tuvieron todos estos pa
rámetros bien definidos se procedió a elaborar la
curva estandar dentro de un rango de concentra -
ción de 0.5 ppm a 3 ppm de mercurio. Se tuvo que
hacer varias veces esta curva para saber la cantid
dad de ditizona utilizada para extraer cierta concn
centración de mercurio; tanto de ditizona en clo-
roformo como para ditizona en tetracloruro de carcar
bono.

Se vió que la diferencia que existe en
tre los dos disolventes para extraer el mercurio-
es muy poca a excepción del problema que presenta
la ditizona en cloroformo y que tarde tiempo para
la separación de las capas.

CURVA ESTANDAR.

Para la elaboración de la curva estandar se utilizó el siguiente material:

- 1.- Embudos de separación.
- 2.- Porta embudos.
- 3.- Pipetas de 10 ml.
- 4.- Pipetas de 1.2 y 3 ml.
- 5.- Embudos de filtración chicos.
- 6.- Matraz aforado de 10 ml.

TECNICAS DE LA ELABORACION DE LA CURVA ESTANDAR.

Una vez que se preparó la solución tipo de cloruro mercúrico de concentración de 100 - ppm (partes por millón); de esa solución se hicieron diluciones cubriendo un rango de 0.5 a 3 ppm de mercurio.

Se transfirieron alícuotas de solución tipo de cloruro mercúrico a una serie de embudos de separación cubriéndose un rango de 0.5 a 3 ppm de mercurio y diluyendo cada embudo con 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N y adicionando además a ca

da embudo las soluciones siguientes:

1 ml de solución de nitrito de sodio al 5%, agitando, 1 ml de solución de cloruro de hidroxilamonio al 20% agitando y dejandolo reposar 15 minutos. -- Después de este lapso, se adicionó 1 ml de solución de EDTA al 2.5%, se agitó y se adicionaron 3-ml de solución de ácido acético 4 N para regular el PH al cual actúa la ditizona con mercurio.

Una vez que se le agregaron todos estos reactivos, se fué adicionando a cada embudo la ditizona de mililitro en mililitro. En cada adición se agitó y se dejó reposar hasta que las capas estuvieron completamente separadas, una vez que estuvo bien definida la separación de las dos capas, se descargó el complejo formado de color naranja sobre un matraz aforado de 10 ml con un embudo que contenía algodón y sulfato de sodio; se hizo pasar el complejo a través de éste y una vez descargada-

esta primera capa, se vuelve a repetir la operación de adición de ditizona hasta agorar el mercurio que se encuentra presente en la solución. Cuando la ditizona ya no reaccionó con la solución y quedó ésta de color verde, ese exceso ya no fué adicionado al complejo formado (ditizonato de mercurio).

El complejo una vez que estuvo filtrado en el matraz aforado de 10 ml, se aforó a la marca con el disolvente en el cual estuvo disuelta la ditizona.

Cuando se obtuvo cada una de las concentraciones aforadas a 10 ml, se procedió a leer la absorbancia en un espectrofotómetro Beckman DK-2 -- con graficador, a continuación se pueden apreciar las gráficas obtenidas al leer en espectrofotómetro y la curva de calibración ya graficada en papel métrico; como el papel en el cual grafica el aparato dá la lectura en transmitancia hubo que conver -

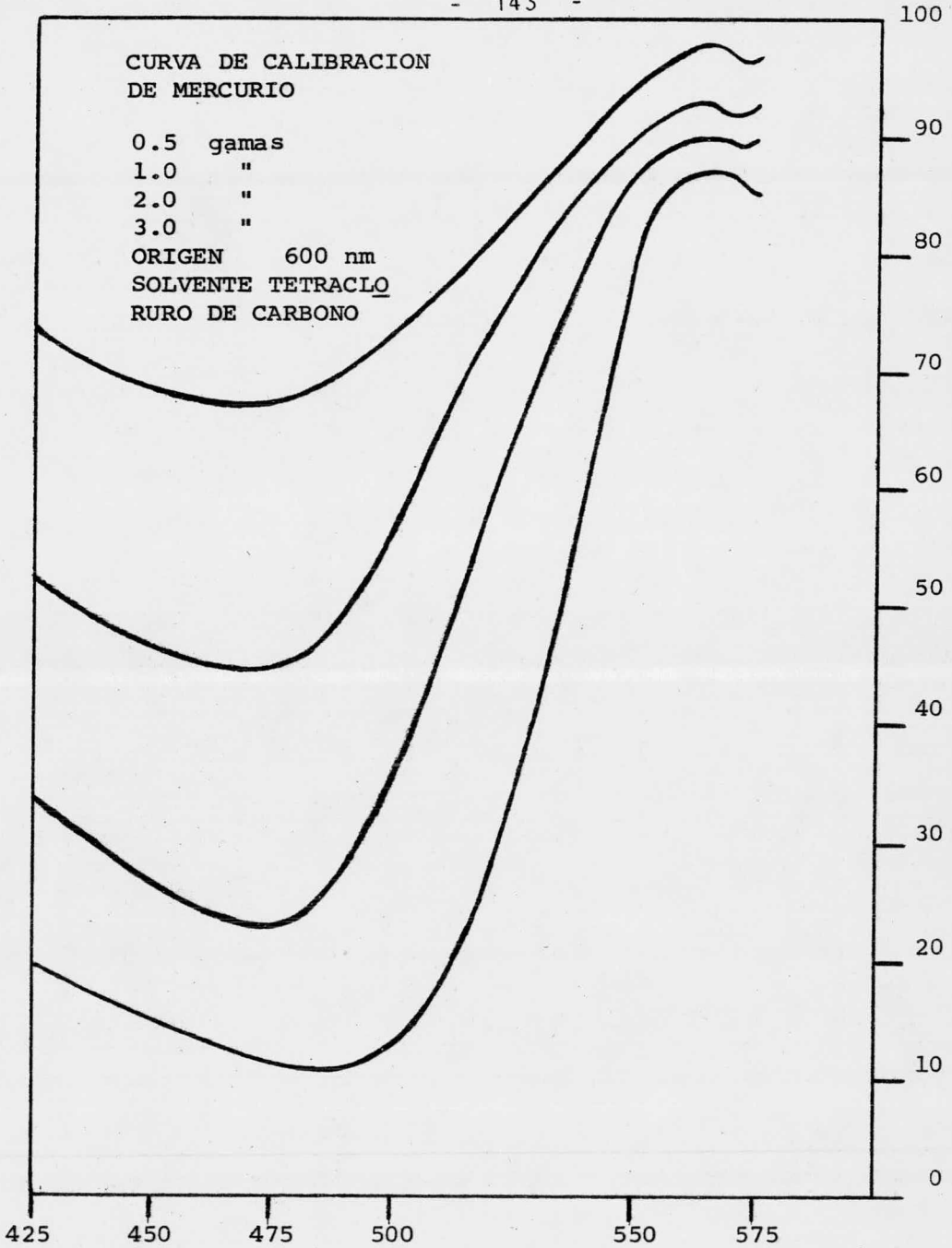
tir cada una de las lecturas a absorbancia y en estas unidades está expresada la curva de calibración, o sea, absorbancia contra concentración en partes - por millón.

En las siguientes tablas I y II se dan los valores obtenidos (T y A) para la curva de calibración y los mililitros de ditizona utilizados para extraer cada una de las concentraciones de mercurio, la tabla I para tetracloruro de carbono y la tabla II para cloroformo.

TABLA I

ppm de mercurio	% T	A	ml de ditizona para extraer
0.5	67.5	0.1739	2 ml
1.0	45.0	0.3487	4 ml
2.0	22.2	0.6421	6 ml
3.0	12.0	0.9666	9 ml

Curva de calibración de mercurio en tetracloruro de Carbono.



CURVA ESTANDAR DE MERCURIO
EN CLOROFORMO

- 0.5 ppm
- 1.0 "
- 2.0 "
- 3.0 "

ORIGEN 600 nm

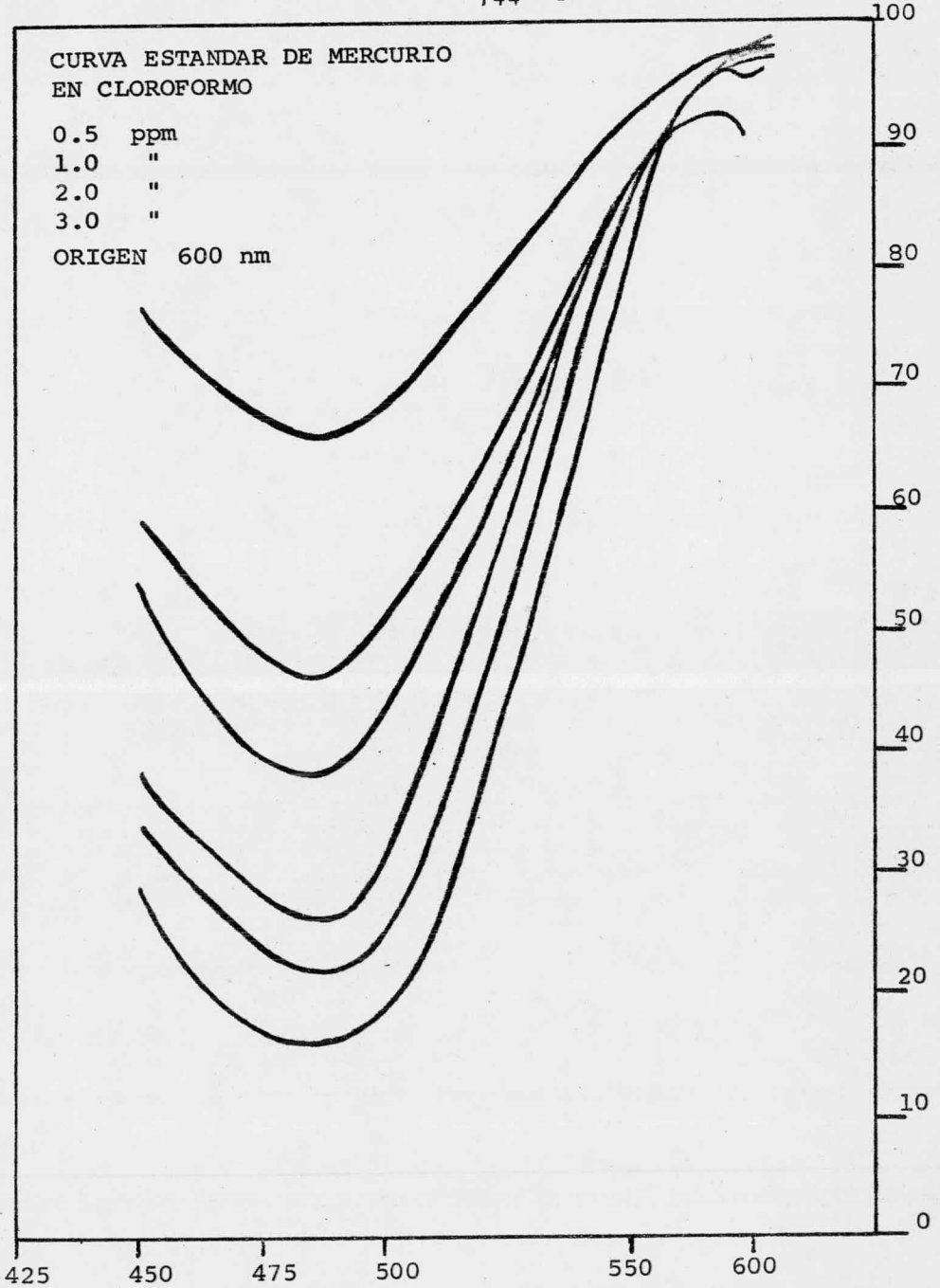


TABLA II

mcg/ml de mercurio	% T	A	ml de ditizona para extraer
0.5	66.2	0.1791	2 ml
1.0	45.5	0.3420	3 ml
2.0	24.0	0.6198	5 ml
3.0	15.6	0.8059	7 ml

Curva de calibración de mercurio en cloroformo.

La longitud de onda para tetracloruro de carbono fué de 485 mm y para cloroformo de 492 mm; - como blanco de calibración se usó cada uno de los di solventes puros.

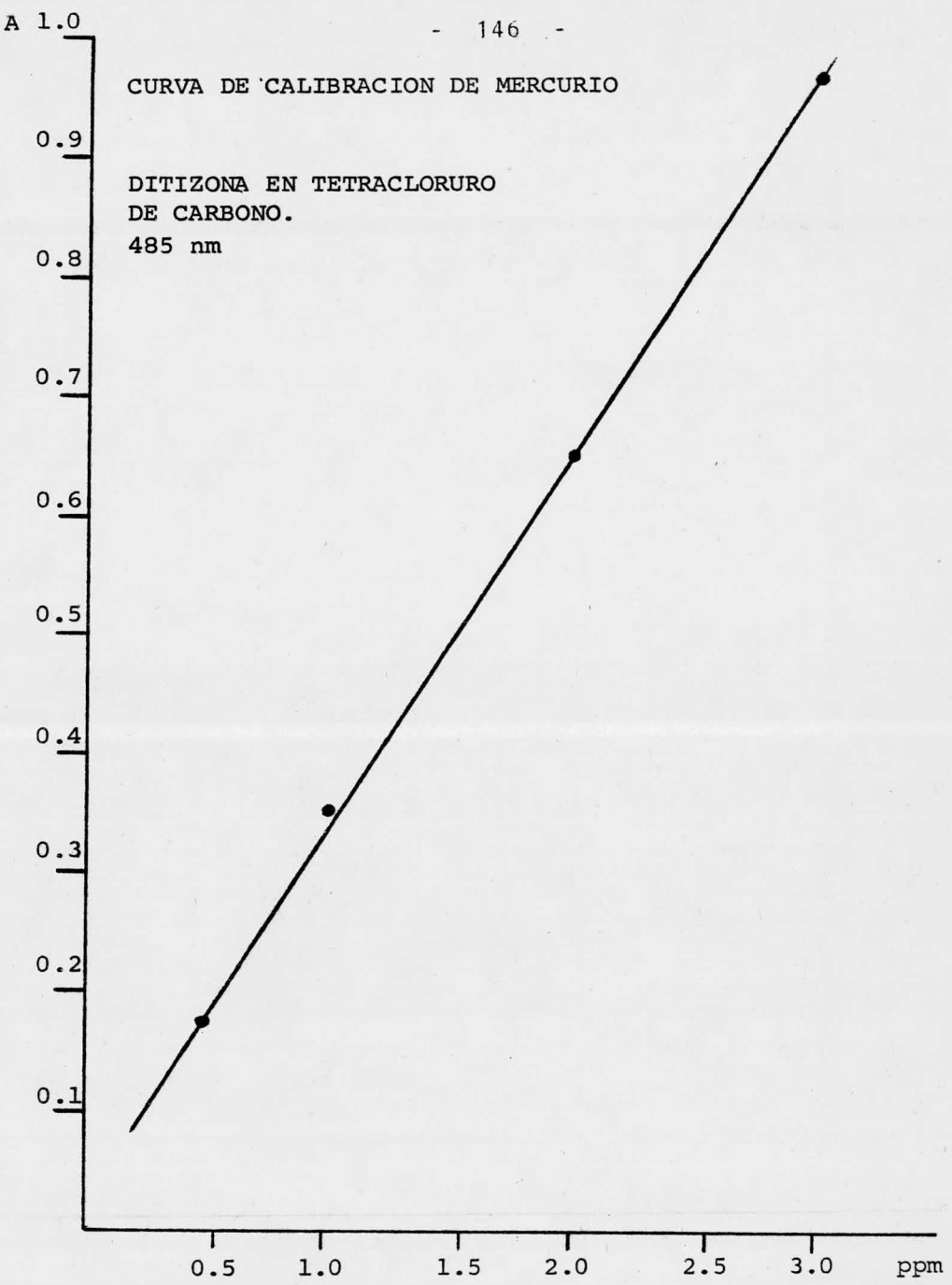
En ambas curvas de calibración puede ob - servarse cómo para la concentración arriba de tres - partes por millón, el aparato no alcanza a leer la - concentración pues resulta elevada.

EXTRACCION DE MERCURIO EN MUESTRAS DIGERI
DAS.

Una vez que se tuvo la digestión de las - muestras y la curva estandar ya elaboradas se proce-

CURVA DE CALIBRACION DE MERCURIO

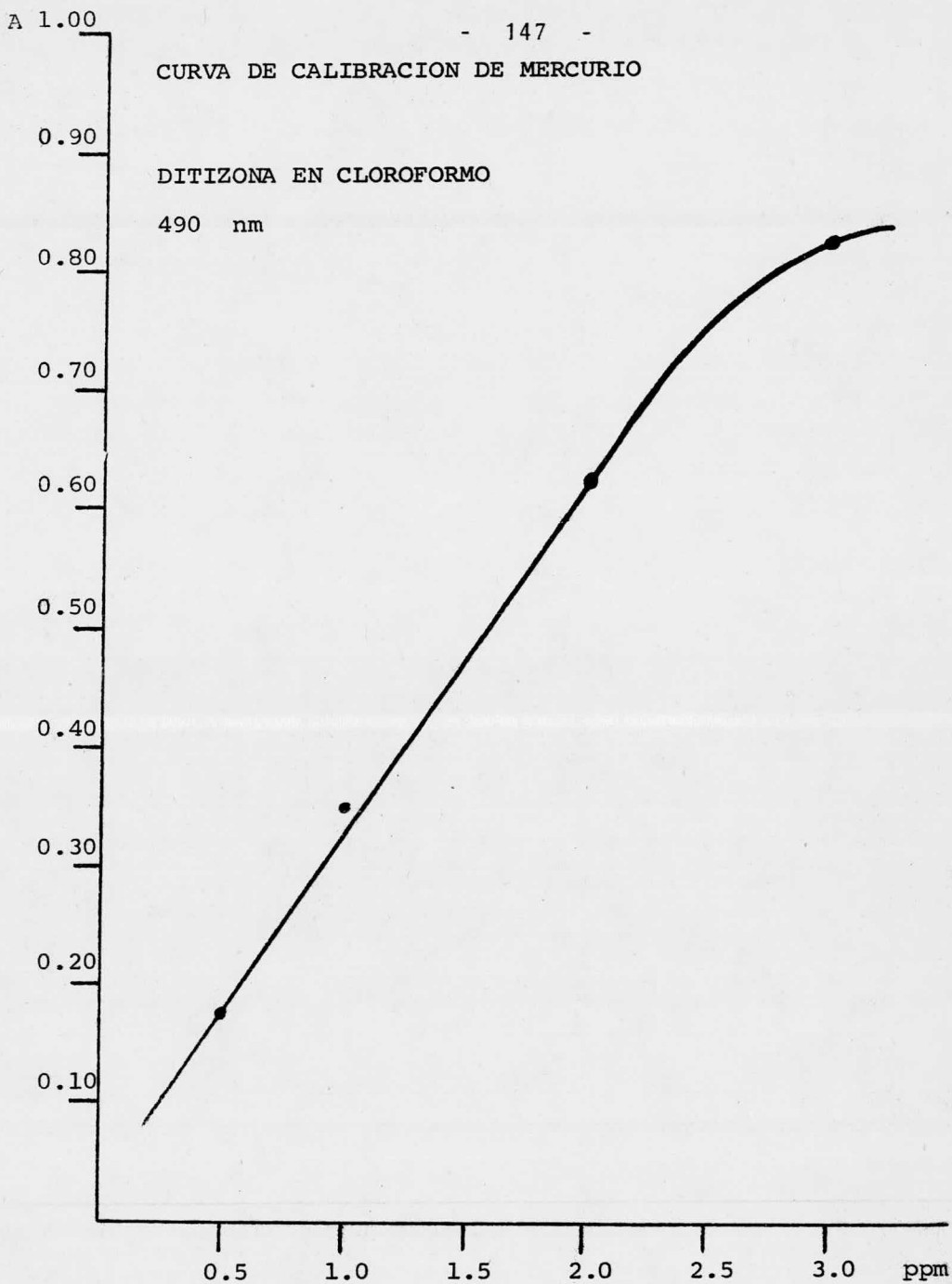
DITIZONA EN TETRACLORURO
DE CARBONO.
485 nm



CURVA DE CALIBRACION DE MERCURIO

DITIZONA EN CLOROFORMO

490 nm



dió a hacer la extracción de mercurio de cada problema en igual forma que en la curva estandar.

Se hicieron varios ensayos en los problemas extrayendo mercurio y se vió que se tenían que tomar alícuotas de 50 ml para cada muestra, -- además, si se afora a 10 ml como en la curva estandar la coloración no se podía apreciar lo suficiente como para leerse en el espectrofotómetro, por lo que se decidió aforar a un volúmen más pequeño de 5 ml para poder obtener una lectura correcta.

Se procedió a extraer a cada muestra el mercurio de la siguiente manera:

Se tomó una alícuota de 50 ml con pipeta volumétrica de la solución digerida y se pusieron en un matraz de separación de 250 ml y se agregaron 10 ml de ácido clorhídrico 0.1 N, 1 ml de nitrito de sodio al 5%, agitar, 1 ml de cloruro de hidroxilamonio, agitar y se dejó reposar 15 minutos y pasado este tiempo, se adicionó 1 ml de urea,

1 ml de la sal disódica del ácido etilendiamino tetracético 4 N, agitar y entonces empezar a agregarla ditizona, ya sea disuelta en cloroformo o en tetracloruro de carbono según con el disolvente con el que se estuviera trabajando.

Una vez que se extrajo el mercurio formando el complejo se llevó a un volúmen estandar, se procedió a leer en un espectrofotómetro Beckman-DK-2 con graficador. En la gráfica adjunta se pueden apreciar las lecturas obtenidas para cada muestra. En todas ellas se encontró mercurio en mayor o menor proporción pero lo hubo.

En la tabla III se dá la secuencia de reactivos adicionados a cada muestra.

TABLA III

Muestra	Alicuota.	Sol de HCl 0.1N	Sol de NaNO ₂	Sol de H ₄ CINO
I	10 ml	10 ml	1 ml	1 ml
II	10 ml	10 ml	1 ml	1 ml
III	10 ml	10 ml	1 ml	1 ml
IV	25 ml	10 ml	1 ml	1 ml
V	20 ml	10 ml	1 ml	1 ml
VI	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
VII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
VIII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
IX	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
X	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XI	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XIII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XIV	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XV	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XVI	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml

Muestra	Sol de NH_2NH_2	Sol de EDTA	Sol de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	Sol de di tizona.
I	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
II	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
III	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
IV	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
V	1 ml	1 ml	3 ml	3 ml
VI	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
VII	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
VIII	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
IX	1 ml	1 ml	3 ml	3 ml
X	1 ml	1 ml	3 ml	3 ml
XI	1 ml	1 ml	3 ml	3 ml
XII	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
XIII	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
XIV	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
XV	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
XVI	1 ml	1 ml	3 ml	3 ml

La solución de ditizona utilizada fué disuelta en tetracloruro de carbono y se leyó a la longitud de onda de 485 nm.

La extracción de mercurio con ditizona en cloroformo se hizo varias veces y sí hubo formación del complejo, pero al hacer las lecturas en el espectrofotómetro Beckman DK-2 a la longitud de onda adecuada, no dió la misma curva ni parecida a la que presentó la curva estandar; por lo que en cloroformo no se puede dar un resultado de las muestras en este aparato. Problemente ésto se debió a que hubo alguna contaminación por lo que se desistió a hacer más extracciones con ditizona en cloroformo. Los datos y resultados que se dan más adelante, se obtuvieron en un espectrofotómetro Perkin Elmer 139.

El cálculo para cada muestra de atún se hizo de la manera siguiente:

Como la lectura dada por el aparato en la gráfica fué transmitancia se hizo la conversión a absorbancia por medio de las tablas correspondientes.

La ecuación utilizada para obtener la concentración correcta fué:

TABLA IV

Muestra	Alicuota.	Sol de HCl 0.1N	Sol de NaNO ₂	Sol de H ₄ CINO
I	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
II	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
III	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
IV	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
V	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
VI	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
VII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
VIII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
IX	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
X	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XI	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XIII	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XIV	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XV	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml
XVI	50 ml	10 ml	1 ml	1 ml

Muestra	Sol de NH_2NH_2	Sol de EDTA	Sol de $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	Sol de di tizona.
I	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
II	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
III	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
IV	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
V	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
VI	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
VII	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
VIII	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
IX	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
X	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
XI	1 ml	1 ml	3 ml	3 ml
XII	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
XIII	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
XIV	1 ml	1 ml	3 ml	1 ml
XV	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml
XVI	1 ml	1 ml	3 ml	2 ml

1) Como la curva estandar se aforó a un volúmen final de 10 ml y los problemas estuvieron aforados a 5 ml, o sea, la mitad de la curva es estandar; este volúmen tuvo que tomarse en cuenta para la concentración leída para cada problema por lo que tuvo que dividirse entre dos la concentración leída para cada problema y tendremos en general:

$$\frac{C_1}{V_1} = \frac{C_2}{V_2} \quad \begin{array}{l} \text{despejando } C_2 \\ \text{tendremos:} \end{array} \quad C_2 = \frac{C_1 V_2}{V_1}$$

donde:

C_1 = Concentración del estandar

C_2 = Concentración del problema

V_1 = Volúmen del estandar

V_2 = Volúmen del problema

Ahora teniendo la concentración del mercurio corregida; esa cantidad de mercurio la habrá en la alí-

cuota tomada para la extracción

$$C_2 \times \text{alícuota del problema} = A$$

donde

A será la cantidad de microgramos de mercurio por alícuota, pero la muestra original fué - aforada a 500 ml cuando se terminó la digestión, - por lo tanto tendremos:

$$A \text{ _____ Alícuota del problema}$$

$$X \text{ _____ 500 ml}$$

queda:

$$X = \frac{A \times 500 \text{ ml}}{\text{Alícuota de muestra}}$$

y X serán los microgramos de mercurio en 500 ml.

El cálculo con respecto al peso de la - muestra original que se puso al hacer la digestión; como en todas las muestras se pusieron 50 g de atún tendrá:

$$\begin{array}{rcl} 50\ 000\ 000\ \mu\text{g} & \underline{\hspace{10em}} & 100\ \% \\ X & \underline{\hspace{10em}} & Y\ \% \end{array}$$

donde:

X = microgramos de mercurio en 50 g de muestra.

Y = Porcentaje de mercurio en 50 g de muestra.

Los resultados obtenidos para cada una de las muestras se dan en las tablas V, VI, VII y VIII.

En las tablas III y IV se dan los mililitros de ditizona utilizados para la extracción de mercurio en cada muestra y los valores de absorban - cia y transmitancia obtenidas al hacer las lecturas en el aparato respectivo.

TABLA V

Muestra	ml de ditizona	Transmitancia (T)	Absorbancia (A)
I	1 ml	68.0	0.1675
II	1 ml	78.0	0.1079
III	1 ml	67.5	0.1707
IV	2 ml	47.0	0.3279
V	3 ml	72.5	0.1397
VI	1 ml	73.8	0.1319
VII	1 ml	76.0	0.1192
VIII	2 ml	54.0	0.2676
IX	3 ml	57.0	0.2441
X	3 ml	65.6	0.1831
XI	3 ml	44.5	0.3516
XII	2 ml	68.5	0.1643
XIII	2 ml	63.0	0.2007
XIV	2 ml	77.5	0.1107
XV	2 ml	57.0	0.2441
XVI	3 ml	63.0	0.2007

TABLA VI

Muestra	ml de ditizona en CHCl ₃	Trnsmitancia (T)	Absorbancia (A)
I	1 ml	58.8	0.2300
II	1 ml	69.1	0.1600
III	1 ml	69.0	0.1600
IV	2 ml	45.7	0.3400
V	1 ml	70.8	0.1500
VI	1 ml	67.6	0.1700
VII	1 ml	66.0	0.1800
VIII	1 ml	64.5	0.1900
IX	1 ml	67.6	0.1700
X	2 ml	45.7	0.3400
XI	3 ml	35.4	0.4500
XII	1 ml	69.1	0.1600
XIII	2 ml	53.7	0.2700
XIV	1 ml	74.9	0.1250
XV	2 ml	67.6	0.1700
XVI	2 ml	91.2	0.0400

Datos obtenidos para Ditizona en cloro -
formo (Ditizonato de mercurio).

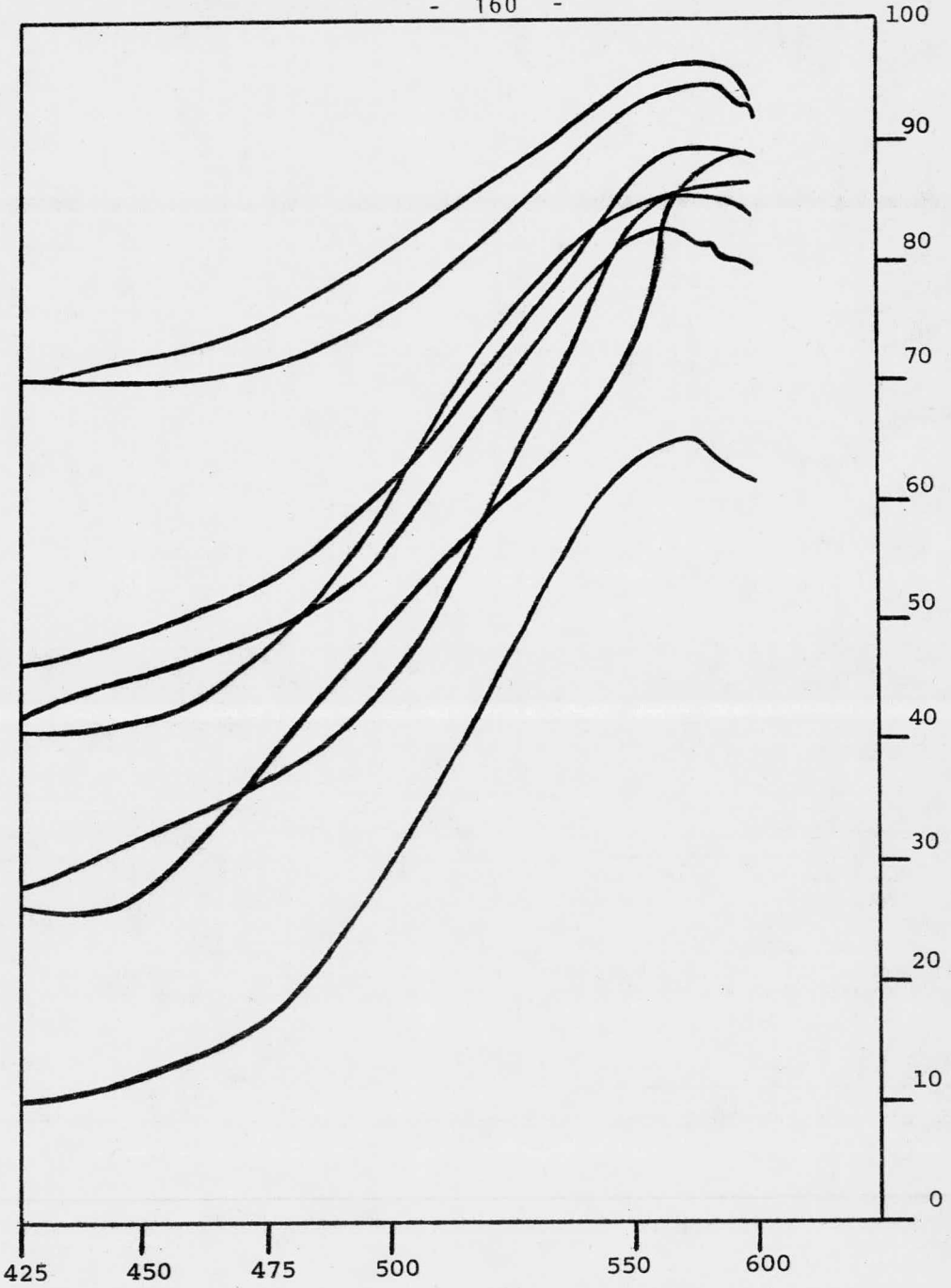


TABLA VII.

MUESTRA	mcg POR ml de Hg	mcg POR ALICUOTA	mcg POR 500 ml	%Hg/50g
I	0.250	2.50	125	1.5×10^{-4}
II	0.160	1.60	80	1.6×10^{-4}
III	0.255	2.55	125	2.5×10^{-4}
IV	0.500	12.50	250	5.0×10^{-4}
V	0.200	4.00	100	2.0×10^{-4}
VI	0.195	9.75	97.5	1.9×10^{-4}
VII	0.170	8.50	85	1.7×10^{-4}
VIII	0.280	14.00	140	2.8×10^{-4}
IX	0.275	13.70	137	2.7×10^{-4}
X	0.255	12.70	127	2.5×10^{-4}
XI	0.550	27.50	275	5.5×10^{-4}
XII	0.475	13.05	130	2.6×10^{-4}
XIII	0.160	8.00	80	1.6×10^{-4}
XIV	0.275	13.75	137	2.7×10^{-4}
XV	0.261	13.05	130	2.6×10^{-4}

Concentraciones de mercurio obtenidas -
en tetracloruro de carbono.

TABLA VIII.

MUESTRA	mcg POR ml de Hg	mcg POR ALICUOTA	mcg POR 500 ml	%Hg/50g
I	0.325	16.25	162.5	3.5×10^{-4}
II	0.225	11.25	112.5	2.2×10^{-4}
III	0.225	11.25	112.5	2.2×10^{-4}
IV	0.550	27.50	275.0	5.5×10^{-4}
V	0.200	10.00	100.0	2.0×10^{-4}
VI	0.245	12.25	122.5	2.4×10^{-4}
VII	0.250	12.50	125.0	2.5×10^{-4}
VIII	0.280	14.00	140.0	2.8×10^{-4}
IX	0.245	12.25	122.5	2.4×10^{-4}
X	0.550	27.50	275.0	5.5×10^{-4}
XI	0.745	37.25	372.5	7.4×10^{-4}
XII	0.225	11.25	112.5	2.2×10^{-4}
XIII	0.405	20.25	202.5	4.0×10^{-4}
XIV	0.150	7.50	75.0	1.5×10^{-4}
XV	0.245	12.25	122.5	2.4×10^{-4}

Concentraciones de mercurio obtenidas-

Como puede observarse en la tabla VII no todas las muestras sobrepasan el límite de seguridad permitido por la Organización Mundial de la Salud (OMS) que es de 0.5 ppm o sea 5×10^{-4} %. Sólo la muestra once sobrepasa este nivel y la cuatro se encuentra en el límite.

Para las muestras de Ditizonato de mercurio en cloroformo se dan los datos en la tabla VIII, estos datos fueron obtenidos en un espectrofotómetro Perkin Elmer UV-VIS-139 y no en el mismo espectrofotómetro Beckman DK-2 debido a que este último no dieron lectura ninguna de las muestras en cloroformo; tal vez se debió a que hubo alguna contaminación al hacer las extracciones. La longitud de onda utilizada aquí fue de 500 nm y como puede observarse en los resultados si hubo una ligera desviación; se utilizó esa longitud de onda debido a que el aparato no era lo suficientemente

sensible a la correcta de 492. Aquí sobrepasan el límite de seguridad tres muestras: la cuatro, la diez y la once y las demás están dentro del límite a excepción de la muestra 16 que dió una absorbancia muy baja, a la cual no se le pudo calcular la concentración de mercurio que contenía.

Los datos de las tablas V, VI, VII y VIII son los resultados promedio de por lo menos cinco -- muestras para cada determinación.

El método Espectrofotométrico puede decirse que es un método aceptable si se vé desde el punto de vista económico, si no se tiene para hacer la determinación otro aparato más moderno y costoso; aunque el método en sí es un poco largo, debido a las extracciones que se tienen que realizar y ésto puede dar un ligero error en cuanto a exactitud es bastante accesible, para dar resultados satisfactorios.

DETRMINACION DE MERCURIO EN PESCADO POR
ABSORCION ATOMICA DE VAPOR DE MERCURIO.

PARTE EXPERIMENTAL:

Excelentes resultados han sido obtenidos en la determinación de mercurio por el procedimiento de Kimura y Miller, el cual emplea un paso de ventilación de mercurio, anterior a la determinación.

Se hicieron pruebas a procedimientos de ventilación de mercurio con varias soluciones por medio del paso de vapor a través de una celda de cuarzo. En presencia de ácido clorhídrico se obtuvieron altos valores de absorbancia debido a el alto contenido de mercurio. La ventilación fué satisfactoria para la dilución de ácido clorhídrico, así como para las soluciones de ácido nítrico y de ácido sulfúrico. El ácido hipofosforoso es adecuado para la reducción de mercurio pero contribuye a un pequeño valor blanco. La reducción fué llevada-

a cabo en un medio de sulfato de sodio/clorohidroxilamina.

APARATOS:

Espectrofotómetro de Absorción Atómica-Perkin Elmer modelo 303 equipado con registro automático sin lectura.

Lámpara de mercurio con cátodo hueco, - Westinghouse WL 22847, llenada con argón.

Registrador Sargent modelo SRL usado en modo logarítmico para la medida directa de absorbancia.

Celda de absorción constituida por un tubo de vidrio de borosilicato, 25 mm o.d. X 15 cm El gas entra y sale por la portilla y es detenido aproximadamente a 2 cm del final.

Variación de 0 a 130 volts para controlar la velocidad por medio de una bomba.

Bomba Neptuno Dyna, modelo 3. La bomba-

fué montada, las válvulas y el diafragma fueron re-
movidos y todas las superficies metálicas fueron -
rociadas con un plastico claro resistente a la ---
corrosión.

Tubo de ventilación. Vaso de borosilica
to de 5 mm i.d.

Matraz de filtración con succión conte-
niendo 10g de perclorato de mercurio.

Tubo Tygon. El tubo tygon es usado para
pasar el vapor de mercurio, tiene una separación -
en la línea para fluír mercurio del sistema cerra-
do.

La celda es alineada en el rayo de luz-
por el uso de dos pulgadas por carta, dos pulgadas
de 25 ml son reducidas a la mitad de cada carta y-
puestas al final de la celda. La celda es entonces
puesta y ajustada vertical y horizontalmente de --
tal manera de obtener la máxima transmitancia.

Lámpara de corriente	10 mA
Onda larga	2537 A (UV)
Hendidura ambiente	3
Escala	XI
Velocidad de supresión	
Registro ambiente	
Modo logarítmico	
Selector de escala	mV
Rango	10 mV
Diagrama de velocidad	0.5 pulg/min

REACTIVOS:

Sulfato estanoso, 10% de peso/volumen -
de solución en 0.5N de ácido sulfúrico.

Sulfato de hidroxilamina, 25% de peso -
por volumen de solución.

Cloruro de sodio, 30% de peso/volumen -
de solución.

Solución de sulfato de sodio clorohidro
xilamina.

Preparación de la solución doble:

Transferir 60 ml de sulfato de hidroxil amina 25% y 50 ml de soluciones de cloruro de sodio 30% a un matraz volumétrico de 500 ml y diluir a la marca con agua.

Permanganato de potasio, 5% de peso/volumen de solución.

Solución estandar de mercurio, 0.100%.
Disolver 0.1354 g de cloruro mercuríco en 100 ml de ácido sulfúrico 1N. De esta solución preparar por dilución a 0.001% solución de ácido sulfúrico 1N.

CALIBRACION:

Transferir alícuotas de la solución estandar de mercurio conteniendo de 0.2 a 2.0 mg de mercurio a un matraz de fondo redondo. Agregar 25-ml de ácido sulfúrico 18N y 10 ml de ácido nítrico 7N y diluir a 100 ml.

Tratar cada muestra individualmente, --
agregar 20 ml de solución de sulfato de sodio clo-
rohidroxilamina seguida por 10 ml de solución de -
sulfato estanoso. Inmediatamente conectar el ma---
traz al aparato de ventilación formando un sistema
cerrado. Cerrar la bomba de circulación y ajustar-
la velocidad de ventilación usando la variación.

El valor de la absorbancia podrá incre-
mentarse y alcanzar un valor constante en un pe---
ríodo de 3 minutos. Abrir el sistema en la separa-
ción y continuar la ventilación hasta que la absor-
bancia regrese a su mínimo valor. Las lecturas de-
absorbancia obtenidas son trazadas de nuevo en mi-
crogramos de mercurio a establecer la curva de ca-
libración.

Los valores de absorbancia obtenidos en
la ventilación de 1.1 mg de solución de mercurio -
están dados en la tabla I. Un valor máximo es al--

TABLA I.

VARIACION DE LA ABSORBANCIA DE VAPOR DE
MERCURIO EN SEGUNDOS.

TIEMPO EN SEGUNDOS	ABSORBANCIA
0	0.000
24	0.108
48	0.198
72	0.245
96	0.268
120	0.282
144	0.290
168	0.292
192	0.292
216	0.292
240	0.292

canzado después de 3 minutos de una velocidad de -
circulación de aproximadamente 2 litros por minuto

PROCEDIMIENTO:

Transferir 1.0 g de níquel o cobalto me
tal a un matraz de fondo redondo de 250 ml. Agre--
gar 10 ml de ácido nítrico 7N y disolver sin apli-
car calor. Agregar 25 ml de ácido sulfúrico 18N y-
diluír a 100 ml. Enfriar a 20 °C y agregar 20 ml -
de la solución mezcla sulfato de sodio/clorohidro-
xilamina. Agregar 10 ml de sulfato estanoso e inme
diatamente conectar el aparato de ventilación. Venu
tilar la solución de acuerdo a las indicaciones --
dadas bajo "la calibración de la curva" obteniendo
la absorbancia del vapor de mercurio.

Tratar de 1 a 4 g de material finamente
molido con 25 ml de ácido sulfúrico concentrado en
un matraz de fondo redondo de 250 ml. Cuidadosamenu
te hacer tres adiciones de 1 ml de solución de ---

peróxido de hidrógeno al 50% en el matraz, dejar suficiente tiempo para la descomposición del peróxido entre las adiciones. Calentar el matraz suavemente a descomponer el peróxido que queda. Enfriar a 20 °C. Cuidadosamente agregar 100 ml de agua y solución de permanganato de potasio al 5% hasta obtener un color rosa permanente. Enfriar la solución a 20 °C y continuar agregando solución mezcla de sulfato de sodio/clorohidroxilamina.

RESULTADOS Y DISCUSION:

Hay pocas interferencias bajo las condi ciones citadas. El procedimiento no puede ser apli cado a muestras de metales como el cobre, el cual es fácilmente reducido, entonces se previene la completa ventilación del mercurio. Grandes cantida des de elementos como el telurio, el cual es facil mente reducido a su estado elemental causa bajos resultados por coprecipitación con algo de mercurio.

rio. Usualmente estas interferencias pueden ser -
detectadas por inspección visual de la solución --
después de la adición del sulfato estano.

C O N C L U S I O N E S

En el estudio que se ha llevado a cabo - acerca de la contaminación en alimentos por metales, se ha visto que la mayoría de ellos están contaminados desde su cultivo, ya que durante este proceso - son empleados fungicidas o insecticidas que contienen elementos metálicos en su composición.

El mercurio por lo general viene en contacto con los productos alimenticios porque es un -- componente de algunos insecticidas y fungicidas. Estambién el constituyente metálico de muchos antisépticos orgánicos y de materiales coloridos tales como el merthiolate y el mercurocromo.

En el caso del mercurio se observó que -- los cereales, los frutos, el pescado, los vegetales y el vino contenían este elemento, encontrándose que más de la mitad de las muestras analizadas excedían-

de los límites de seguridad de 0.05 ppm. El mercurio se encuentra en excesivas cantidades en las manzanas, nueces, habas, tomates, zanahorias, perejil y espina-cas, siendo actualmente un riesgo su ingestión por -- los daños que pueden causar en el organismo ya que és tos exceden el límite de seguridad.

En el caso del cobre aunque tiene efecto - vomitivo en grandes dosis, es un elemento que es esen cial para el crecimiento. En plantas es necesario pa- ra la respiración y en animales vertebrados trazas de cobre son esenciales para la formación de hemoglobina en la sangre. Cuando está presente en ciertos alimen- tos, tiende a actuar como un catalizador de oxidación y tampoco como 2 ppm causa un cebo que se desarrolla en la leche y en la mantequilla deteriorando la cali- dad del producto. Además la presencia de cobre fomen- ta la destrucción de vitamina C en los frutos y vege- tales que la contienen. Una posible fuente de contami

nación en alimentos vegetales es el uso de fungicidas durante su cultivo.

Las trazas de elementos de acuerdo con su efecto en la vida, son dispuestas en tres clases:

1) Elementos nutritivos esenciales:

Cobre, cobalto, hierro, yodo, manganeso y zinc.

2) Elementos no nutritivos, no tóxicos:

Aluminio, boro, cromo, níquel y estaño. De los cuáles no se han conocido efectos perjudiciales producidos cuando están presentes en cantidades no excesivas a 100 ppm.

3) Elementos no nutritivos, tóxicos:

Arsénico, antimonio, cadmio, flúor, plomo, mercurio y selenio, los cuáles tienen efectos supresivos cuando la dieta contiene menos de 100 ppm.

Fuentes de trazas de elementos:

La presencia de las más indeseables trazas de elementos en alimentos pueden ser atribuídos a una de las siguientes causas:

- a) Ocurrencia natural en alimentos marinos debido a la ingestión en el agua contaminada del estuario por los afluentes industriales.
- b) Sprays y polvos usados como insecticidas durante el cultivo.
- c) Uso de impurezas químicas para la manufactura de "materiales químicos crudos".
- d) Contaminación accidental debido a confusión en los materiales de aspecto semejante.
- e) Alimentos especialmente ácidos y aquellos conteniendo sales o alcoholes que pueden disolver metales del equipo: de hojalata, soldadura, recipientes galvanizados, esmaltes baratos y vidriados.

En el presente trabajo se determinó el nivel de contaminación en alimentos por metales por medio de técnicas analíticas que son fáciles de seguir y que se caracterizan por su poco tiempo de aplicación, tales como la espectrofotocolorimetría y la absorción atómica. En ellas se utilizan aparatos sencillos y de precisión que permiten su fácil manejo.

Se observó que la contaminación en alimentos por metales es fácilmente detectable. Cuando la materia para analizar es sólida se lleva a cabo un procedimiento que consta de un paso de digestión de la muestra, en donde el objetivo principal es destruir la materia orgánica quedando así el o los elementos libres.

En los resultados obtenidos se observó que hubo una ínfima variación en los valores encontrados en las diferentes muestras, lo cual probablemente se debe a que el análisis no se efectuó con la misma precisión, pero en todos los casos son aceptables.

B I B L I O G R A F I A

- 1) Memorias I Reunión Nacional sobre Problemas de Contaminación Ambiental, Tomo y II. México, Enero 1973, S. S. A.
- 2) Willard, H. H., Merritt, L. L. Jr. and Dean, J. A. Métodos Instrumentales de Análisis. 1a. Ed. Compañía Editorial Continental. México (1974).
- 3) Ayres, G. H. Análisis Químico Cuantitativo. 2a. Ed. Harper and Row Publishers, Inc. New York (1968).
- 4) Skoog, D. A. and West, D. N. Fundamentos de Química Analítica. Vol. II. Ed. Reverte, S. A. Barcelona (1970).
- 5) Hamilton, L. F. and Simpson, S. G. Calculations of Analytical Chemistry. Six Edition-McGraw - Hill Book Co., Inc. New York.
- 6) Vogel, J. A. Química Analítica Cualitativa. 5a. Ed. Ed. Kapelurz. Argentina (1974).
- 7) Cox, H. E. and Pearson, D. The Chemical Analysis of Foods. Chemical Publishing Co. Inc. New York (1962).

- 8) Abbott and Polhill. *Analyst*. 79, 547 (1954).
- 9) Wyatt. *Analyst*. 78, 656 (1953).
- 10) Jacobs, M. B. *Chemicals Analysis of Food and Food Products*. 3a. Ed. D. Van Nostrand Co., - Inc. New Jersey (1958).
- 11) Pyke, M. *Food Science Technol.* 2a. Ed. William Clowes and Sons, Ltd. London (1968).
- 12) Joslyn, M. S. *Food Processing Operations*. -- Vol. II. The Avi Publishing Co., Inc. London (1963).
- 13) Borkstrom, G. *Principes of Food Science*. Vol II. Colliere-MacMillan. Canada (1969).
- 14) Jacobs, M. B. *Chemicals Analysis of Foods -- and Foods Products*. 2a. Ed. D. Van Nostrand-Co. Inc. New York (1951).
- 15) Jacobs, M. B. *The Chemistry and Technology - of Food and Food Products*. Vol II. Inter -- science Publishers. Inc. New York (1951).
- 16) Fisher H. Z. *Ange W. Chem.* 42, 1025 (1929).
- 17) Wincler, W. D. J. *Assoc. Official Agr. Chem.* 18, 638 (1935).
- 18) Callan and Henderson. *Analyst*. 54, 650 (1929)
- 19) Haddock and Evers. *Analyst*. 57, 495 (1932).

- 20) Sandell, E. B. Colorimetric Determination - of Traces of Metals. Interscience. New York (1959).
- 21) Snell. Colorimetric Methods of Analysis. - Vol II A. Van Nostrand Co., Inc. New York.
- 22) The B. D. H. Book of Organic Reagents (B.D. H. Ltd. Poole).
- 23) Organic Reagents of Metals. (Hopkin and Williams, Ltd., Chandwell Heat).
- 24) Monier-Williams. Trace Elements in Food. -- Chapman and Hall. London.
- 25) Chemical and Engineering. Oct 5, (1970).
- 26) Methods of Analysis, A. O. A. C. Washington (1945).
- 27) Kimura, Y. and Miller, Vol. Analytica Chimica Acta. 27, 325-331 (1962).
- 28) Assoc. Offic. Agr. Chemists, Washington, D. C., Official Methods of Analysis, 8 th Ed.- (1955).
- 29) Sandell, E. B. Colorimetric Determination - of Traces of Metals, 3rd. Ed. Interscience. New York.
- 30) Polley, D. and Miller, Vol. Anal. Chem. 27, 1162 (1955).

- 31) Bartlett, J. N. and MacNabb, W. M. *Ind. Chem, Anal. Ed.* 19, 484 (1947).
- 32) Miller, W. L. and Wachter, L. E. *Anal. Chem.*-22, 1312 (1950).
- 33) Fabre, R., Truhant, R. and Boudene, C. *Compt. rend.*, 246, 2086 (1958).
- 34) Kimura, Y. and Miller, Vol. *Anal. Chem.* 32, - 420 (1960).
- 35) Dassani, S. D., McClellan, B. E. and Gordon,- M. J. *Agric. Food. Chem. Vol. 23, No. 4*, 671-674 (1975).
- 36) Bache, C. A., Lisk, D. J. *Anal. Chem.* 43, 950 (1971).
- 37) Basely, T. M. *Environ. Sci. Technol.* 5, 634 - (1971).
- 38) Bucknell, M., *Br. J. Ind. Med.* 8, 181 (1951).
- 39) Cranston, R. E., Buckley, D. E. *Environ. Sci. Technol.* 6, 274 (1972).
- 40) Fishman, M. J. *Anal. Chem.* 42, 1462 (1970).
- 41) Hatch, W. R., Ott. W. L. *Anal. Chem.* 40, 2085 (1968).
- 42) Kimura, Y. and Miller, V. L. *Anal. Chim. Acta.* 27, 325 (1962).

- 43) Lindstedt, G. *Analyst.* 95, 264 (1970).
- 44) Lindstedt, G. and Skare, I. *Analyst.* 96, - 223 (1971).
- 45) Newsome, W. H. J. *Agric. Food Chem.* 19, - 567 (1971).
- 46) Pillay, K. K. S., Thomas, C. C., Jr., Sondenel, J. A. and Hyche, C. M. *Anal. Chem.* -- 43, 1419 (1971).
- 47) Rottschaffer, J. M., Jones, J. D. and Mark, H. B., Jr., *Environ. Sci. Technol.* 5, 336- (1971).
- 48) Sandell, E. B. *Colorimetric Determination of Traces of Metals. Vol III.* Interscience. New York (1959).
- 49) Sjostrand, B. *Anal. Chem.* 36, 814 (1964).
- 50) Amerine, M. A. and Cruess, W. V. *The Technology of Wine Markin.* The Avi Publishing-Co., Inc. London (1960).
- 51) Amerine, M. A. *Advan Food Res.* 8, 95-99 - (1958).
- 52) Amerine, M. A. and Ough, C. S. *Wine and -- Must Analysis.* John Wile y and Sons, Inc.- New York (1974).
- 53) Hatch, W. R. and Ott, W. L. *Anal. Chem.* - 40, No. 14 2085-2087 (1968).

- 54) 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).
- 55) Analytical Methods Committee, the Determination of Small Amounts of Mercury in Organic Matter. Analyst. 90, Sept. 1074 (1965).