



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO MONOGRAFICO DEL ANALISIS
ESPECTROFOTOMETRICO DE ALGUNOS
FUNGICIDAS**

T E S I S

Que para obtener el Título de

Q U I M I C O

Presentan:

Gabriel Ortiz Benítez

Miguel Angel Delgadillo González

México, D. F.

1978



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 1978

 ABO M. 1 200
 FECHA _____

12/1/78

FRANCISCO YUSTE LOPEZ
 VILLAMENA GONZALEZ
 VILLAMENA GONZALEZ
 VILLAMENA GONZALEZ
 VILLAMENA GONZALEZ

ACTIVIDAD DE QUIMICA



SECRETARIA

SECRETARIA DE EDUCACION PUBLICA

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Prof. CARLOS ROMO MEDRANO
VOCAL : Prof. JORGE A. CAMPOS ROBLES
SECRETARIO: Prof. BENJAMIN ORTIZ MENDOZA
1er. SUPLENTE: Prof. PEDRO VILLANUEVA GONZALEZ
2do. SUPLENTE: Prof. FRANCISCO YUSTE LOPEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA: FACULTAD DE QUIMICA

SUSTENTANTES: MIGUEL ANGEL DELGADILLO GONZALEZ

GABRIEL ORTIZ BENITEZ

ASESOR DEL TEMA: Prof. CARLOS ROMO MEDRANO

Al que hizo los cielos con entendimiento. Porque para siempre es su misericordia.

A MI MADRE:

Cuyos esfuerzos y sacrificios, me permitieron alcanzar ésta meta.

A la memoria de mi abuelita Edmunda Valle.

CON CARIÑO Y AFECTO:
A la Srta. Araceli Ventura M.

Al Rvdo. Armando Tochijara y Esposa.

A familiares y amigos.

RECONOCIMIENTOS

Al Profesor Carlos Romo Medrano:
Por su ayuda desinteresada para la realización
de la presente obra.

A los profesores Benjamín Ortíz Mendoza y
Jorge A. Campos Robles: Por las valiosas
sugerencias y observaciones hechas a este
trabajo.

Al profesorado en general de la Facultad de Química:
A quienes debemos nuestra formación profesional.

A nuestros compañeros y amigos de la generación 71-75

A nuestra querida Facultad de Química.

I N D I C E

- I) INTRODUCCION ✓
- II) GENERALIDADES
 - A
 - B ✓ (pag 10-30)
- III) INTRODUCCION A LAS TECNICAS
- IV) TECNICAS
 - a) Aparatos y Reactivos
 - b) Preparación de la Muestra
 - c) Método
- V) RESULTADOS Y COMENTARIOS
- VI) TABLAS Y GRAFICAS
- VII) CONCLUSIONES
- VIII) BIBLIOGRAFIA

FUNGICIDAS ESTUDIADOS EN EL PRESENTE TRABAJO

1.- FUNGICIDAS CLORADOS

- 1A.- 5,6 DICLORO-2-BENZOXAZOLINONA
- 1B.- 2,4 DICLORO -6- (o-CLOROANILINA)-s TRIAZINA:
DYRENO
- 1C.- PENTACLOROFENOL (P.C.P.)
- 1D.- 2,3,5,6 TETRACLORO-1,4 BENZOQUINONA:
CLORANILO, SPERGON
- 1E.- N- (TRICLOROMETILTIO)-FTALIMIDA (NPI)
- 1F.- N- (TRICLOROMETILTIO)-TETRAHIDRO FTALIMIDA:
CAPTAN

2.- FUNGICIDAS CLORADOS NITRADOS

- 2A.- PENTACLORONITROBENCENO (P.C.N.B.): TERRACLOR
- 2B.- TETRACLORONITROBENCENO (T.C.N.B.)

3.- FUNGICIDAS CUPROSOS

- 3A.- 8 - HIDROXIQUINOLINATO DE COBRE
- 3B.- NAFTENATO DE COBRE, Y 8 - QUINOLINATO DE COBRE

4.- FUNGICIDAS MERCURIALES

- 4A.- ETIL MERCURIO, FENIL MERCURIO

5.- FUNGICIDAS NITRADOS

- 5A.- 2 - (1 - METILHEPTIL) - 4,6 DINITROFENIL
CROTONATO: CARATENO

6.- FUNGICIDAS SULFURADOS

- 6A.- 2,3 DICIANO-1,4 DIHIDRO-1,4 DITIOANTRAQUINONA:
DITHIANON
- 6B.- p-DIMETILAMINOBENCENDIAZO SULFONATO DE SODIO:
DEXON
- 6C.- DITIOCARBAMATOS (MANEB, THIRAM, ZINEB, ZIRAM,
NABAM, FERBAM Y DISULFIRAM).

6D.- P-TOLUEN SULFONAMIDA (P.T.S.A.)

7.- FUNGICIDAS ORGANICOS

7A.- SALICILANILIDA (S.A.)

I INTRODUCCION

Este trabajo está basado en el estudio para la determinación analítica de algunos fungicidas por espectro fotometría, dada la importancia que en la actualidad tiene estas sustancias para el control de hongos en una amplia variedad de productos. Dado que desde tiempos remotos el hombre ha tenido que sufrir la consecuencia tanto de hongos, insectos y otras pestes parasitarias. Las molestias de éstas pestes fueron mínimas; sin embargo, probablemente no fueron consideradas seriamente por el ama de casa prehistórica.

El avance de los siglos trajo consigo avances graduales pero fundamentales en la manera de vivir del hombre; de un animal de rapiña, el hombre se convirtió en agricultor. Más tarde se unió con otros miembros para formar pequeñas comunidades y villas. Con éste cambio en la manera de vivir, los insectos y enfermedades tomaron un lugar importante en la vida del hombre. Sus primeras plantas cultivadas fueron especies nativas las cuales utilizaron para la alimentación, vestido y alguna otra necesidad cotidiana. El cultivo consistió primero en desmontar el terreno lejos de la vegetación competitiva y libres las plantas elegidas de la competición natural a las cuales ellas estaban sujetas previamente.

Cuando tales fomentos se dieron en la selección de las plantas, otras dificultades aparecieron. Las plantas crecieron, ahora más grandes y probablemente con más frutos que en su ambiente original y se convirtieron más atractivos para el hombre, para los insectos y enfermedades también. Esto ocurrió no sólo por el aumento de tamaño y vigor de las plantas, sino principalmente por la vegetación natural, la cual tuvo crecimiento normal en proximidades cerradas en el cultivo de plantas.

El hombre al crear nuevas formas de congregaciones, tales como villas, aldeas y ciudades se aumentaron --

las posibilidades de contacto social y físico aumentando también por este medio insectos, parásitos y enfermedades las cuales se extendieron rápidamente en comunidades urbanas. Tales condiciones favorecieron la transmisión de enfermedades epidérmicas, y ésto no suprimió que la historia antigua registrara en su estudio con referencias a pestes, plagas y pestilencias.

Gradualmente, el conocimiento y experiencia humanos se incrementaron, se acumuló información sobre métodos de control de plagas. Se avanzó rápidamente con pasos agigantados; en el presente, se tienen métodos generales de control y todos éstos son usados contra los enemigos siempre presentes de la humanidad. En nuestro caso se describen los métodos analíticos de 25 productos químicos de carácter orgánico comunmente empleados en formulaciones fungicidas.

II.- GENERALIDADES

A.- CLASIFICACION DE SUBSTANCIAS QUIMICAS PARA EL CONTROL DE PLAGAS.

Son numerosas las formas de clasificación de las amplias variedades de sustancias químicas empleadas para el control de plagas. Probablemente una clasificación más, está basada en el uso de la sustancia. En forma de bosquejo, tal clasificación puede establecerse como sigue:

A.- Sustancias químicas para el control de insectos.

1.- Insecticidas

- a.- Venenos internos
- b.- Venenos de contacto
- c.- Fumigantes

2.- Sustancias atractoras

3.- Sustancias repelentes

4.- Sustancias auxiliares

B.- Sustancias químicas para el control de hongos

1.- Fungicidas

- a.- Erradicadoras
- b.- Protectoras

2.- Fungistatos.

C.- Sustancias químicas para el control de hierbas indeseables; herbicidas.

Las sustancias químicas también pueden ser clasificadas en: Rociadores, polvo, aerosoles y gases de acuerdo al propósito específico para el cual es usado tal como larvicidas, ovicidas, etc. Desde el punto de vista puramente químico, las sustancias pueden clasificarse como orgánicas, inorgánicas, productos naturales, etc.

Ninguno de estos métodos de clasificación es enteramente satisfactorio. En este trabajo también se pueden clasificar en grandes clases de acuerdo al propósito específico, como insecticidas, fungicidas y herbicidas con subdivisiones cada uno.

FORMAS DE USAR SUBSTANCIAS QUIMICAS PARA EL CONTROL DE PLAGAS.

ROCIADORES.- La aplicación de pesticidas en forma de líquido es usualmente por rociadores. Este método es ampliamente usado para aplicar insecticidas, fungicidas y herbicidas.

El líquido puede ser rociado usando una suspensión o una solución; las suspensiones pueden ser sólidas o líquidas (emulsiones). La aplicación de fuerza mecánica a través de una boquilla apropiada en la máquina del rociador es necesaria para dispersar el líquido en gotas muy finas. Esto se puede llevar a cabo por numerosos métodos, el rociador tiene la ventaja de usar un diluyente barato; agua, la cual puede ser añadida, modificando así varios grados de humedad, extensión y cubierta.

POLVOS.- Muchos pesticidas son aplicados en estado seco, como polvos finamente divididos. Usualmente se usa un diluyente sólido inerte para mezclar uniformemente con la sustancia tóxica, antes de la aplicación de tales materiales como cal viva, bentonita, talco, pirofilita o yeso. La aplicación se hace por medio de un aparato mecánico el cual distribuye las partículas de polvo uniformemente sobre el área que va a ser tratada.

Los rociadores de polvo, pueden ser dispositivos muy simples como contenedores formados en los cuales se emplea una corriente de aire para llevar el polvo hasta su objetivo.

FUMIGANTES.- La aplicación de un pesticida en estado gaseoso recibe el término de fumigación. Esta operación esta limitada sólo para aquellas substancias que existen en estado gaseoso a temperatura y presión bajo condiciones prácticas. El proceso está limitado para espacios cerrados tales como molinos, almacenes, bodegas de barcos y objetivos parecidos. Para tales aspectos sin embargo, la fumigación es ampliamente -- satisfactoria para controlar plagas y pueden emplearse en forma de gases y líquidos como fumigantes.

AEROSOLES.- Es posible por medios apropiados producir suspensiones de sólidos o líquidos en aire y de los cuales las partículas individuales son de dimensiones coloidales, tales suspensiones coloidales tienen el término de aerosoles. Ellos toman parte en alguna medida, de las propiedades de un gas y las partículas permanecen en suspensión en el aire durante considerables períodos de tiempo. El método más común para -- producir aerosoles es por medio de la liberación del gas comprimido en el cual está mezclada la substancia tóxica; también pueden ser producidos por la aplicación directa de una corriente fina del líquido de una superficie o por combustión de un material con el --- cual es mezclada la substancia tóxica. Los aerosoles propulsores de gas son un método popular para dispersar insecticidas caseros.

APLICACIONES INTERNAS.- En algunos casos se tuvo que encontrar y hacer posible introducir tóxicos a organismos vivos a manera de hacerlos resistentes a los ataques de insectos y enfermedades. Por ejemplo, --- plantas alimentadas con selenio son resistentes a las plagas de invernadero. Como muchos tóxicos son dañinos tanto al huésped como a las plagas, estos métodos requieren cuidadosa regularización y su empleo no es muy amplio.

ELECCION DE PESTICIDA APROPIADO.- A pesar de que esta fuera del campo de acción de éste trabajo, hacer reco

recomendaciones de pesticidas para un insecto o microorganismo específico, se darán breves principios generales.

Para el control de insectos que provocan mordeduras o que tengan partes que provoquen mordeduras, generalmente es recomendable un veneno interno. Tales materiales deben ser distribuidos en las superficies en donde comen los insectos y en la operación de la comida el insecto ingerirá una dosis del veneno.

Tales materiales deben ser insolubles en agua y capaces de aguantar períodos de tiempo razonablemente largos sin descomponerse. Contra insectos que no se alimentan en la superficie tales como los pulgones, es necesario aplicar el insecticida directamente al insecto para que sea aniquilado o hacia las superficies en donde ellos se mueven. Estos materiales son insecticidas de contacto y generalmente, aunque no siempre son solubles en agua o en aceite.

En las infecciones por insectos, los productos se colocan en una situación similar en la cual la aplicación directa del tóxico es dificultosa, generalmente se aplica por fumigación.

Los tipos generales de fungicidas reconocidos son: Erradicadores y protectores. El propósito de un fungicida erradicador es destruir los hongos alrededor de una parte determinada. Los materiales para éste propósito se pueden caracterizar por su habilidad para destruir al hongo rápida y eficientemente. Estos productos por lo general son solubles en agua.

Los fungicidas protectores o fungistatos, por otro lado son aplicados para prevenir ataques de hongos y por esta razón deben ser más resistentes para ser eliminados por fuerzas naturales.

La distinción entre venenos internos o insecticidas - de contacto y de fungicidas erradicadores y protectores es difícil de hacer, muchos materiales funcionan de las dos formas y algunas substancias sirven como - fungicidas e insecticidas. Con tal amplitud de propiedades es imposible hacer una clasificación definitiva.

B.- FOTOMETRIA DE ABSORCION

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

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

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

Todos los compuestos cambian su color con el tiempo, unos en mayor grado que otros. Al principio, la intensidad del color aumenta con el tiempo hasta que llega el momento en que la intensidad permanece constante, este período se le conoce con el nombre de "Tiempo de maduración del color" y está relacionado con la reacción química de formación del compuesto colorido. Esta etapa es la indicada para hacer las determinaciones colorimétricas y entre mayor es la

etapa de maduración, más apropiada es la reacción. -- Después de la etapa de maduración del color, éste empieza a disminuir en intensidad, por lo que su absorción también disminuye. Esta etapa también toma un tiempo determinado y es debida a la descomposición -- del compuesto colorido por la acción de la luz, del origen atmosférico y de otros factores. Debido a que en algunas reacciones se necesita un tiempo determinado para que se produzca la máxima intensidad del color, es conveniente que en cualquier determinación colorimétrica se establezca el tiempo en que se alcanza la intensidad máxima y el tiempo en que dura el período de máxima intensidad.

La absorción y emisión de la energía ocurre en forma de paquetes discontinuos también llamados fotones:

$$E = h\nu \quad , \quad \nu = \frac{c}{\lambda}$$

donde E es igual a energía; h es igual a la constante de Planck; ν es igual a la frecuencia; λ es igual a la longitud de onda y "c" es igual a la velocidad de la luz. La intensidad de la luz es proporcional al número de fotones por segundo que son propagados por el haz.

Cuando un haz de energía radiante incide en una sustancia le pueden suceder varias cosas: a) puede pasar a través de la materia habiendo sólo una pequeña porción, por lo que habrá una pequeña pérdida en la intensidad; b) La dirección de propagación del haz se puede alterar por reflexión y difracción; c) La energía radiante puede ser total o parcialmente absorbida. La absorción involucra una transferencia de energía al medio. El proceso de absorción es un fenómeno específico relacionado con las características de las estructuras moleculares.

LEY DE BEER

En los estudios muy tempranos de la absorción de la -

radiación, Beer postuló que la disminución de la energía radiante de un haz de radiación monocromática era proporcional a la intensidad o potencia del haz y a la cantidad de substancia situada en sus trayectorias. Estas hipótesis condujeron a la formulación de la ley de Beer-Lambert, ley de Bouger-Beer, o simplemente, ley de Beer; expresada por la siguiente ecuación:

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A \quad (1)$$

La ecuación (1) es la expresión fundamental de la colorimetría, en donde P_0 es el poder de la radiación que incide sobre la muestra, P es el poder de radiación transmitido por la muestra, el término logarítmico situado al lado izquierdo de la ecuación se llama absorbancia, y se le asigna el símbolo A .

La constante ϵ se llama absortividad molar (comúnmente llamada coeficiente de extinción molar) cuando la concentración " c " se expresa en moles de absorbente por litro, y la longitud de la trayectoria " c " se da en centímetros; se llama simplemente absortividad, y se le da el símbolo " a " cuando se usan otras unidades para concentración o longitud de trayectoria. En la derivación de la ecuación (1) se supone que: la radiación incidente es monocromática, las especies absorbentes actúan independientemente unas de las otras en el proceso de absorción, y la absorción ocurre dentro de un volumen de sección transversal uniforme.

El término P/P_0 corresponde a la transmitancia (símbolo T), que es la fracción del poder radiante, incidente que transmite la muestra. $T \times 100$ es el porcentaje de transmitancia, por lo tanto, sustituyendo este término en la ecuación (1), tenemos:

$$-\log T = A = \epsilon bc \quad (2)$$

en donde el término de la absorbancia (A) se define como el logaritmo (de base 10) negativo de la transmitancia; T (transmitancia) se define como la relación entre el poder de radiación I transmitido por una so-

lución, y el poder de radiación lo que incide sobre la misma.

Las formas diferentes en que se pueden expresar la ley de Lambert y Beer son las siguientes:

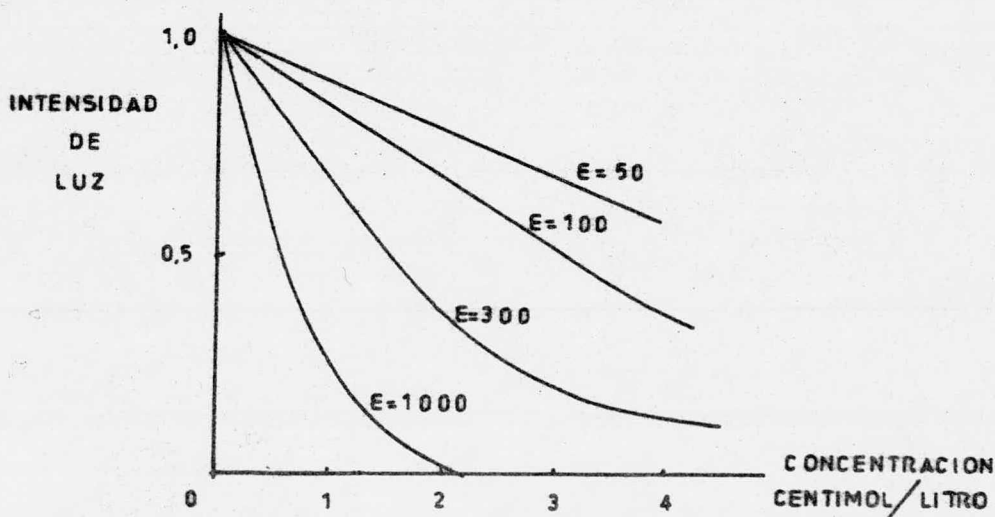
$$\log \frac{I}{I_0} = - abc \quad \log T = abc \quad A = abc$$

$$\log \frac{I}{I_0} = - \epsilon bc \quad \log T = - \epsilon bc \quad A = \epsilon bc$$

La forma en que se puede comprobar que una solución sigue la ley de Lambert y Beer es graficando la intensidad de luz transmitida contra la concentración, poniendo en el eje de las abscisas los valores de la concentración o los valores del espesor de la capa y en el eje de las ordenadas se colocan los valores de la intensidad transmitida. Esta gráfica debe ser una línea recta para que se siga la ley de Lambert y Beer (Figura 1).

FIGURA 1

Intensidad de la luz transmitida VS
concentración de la sustancia absorbentes



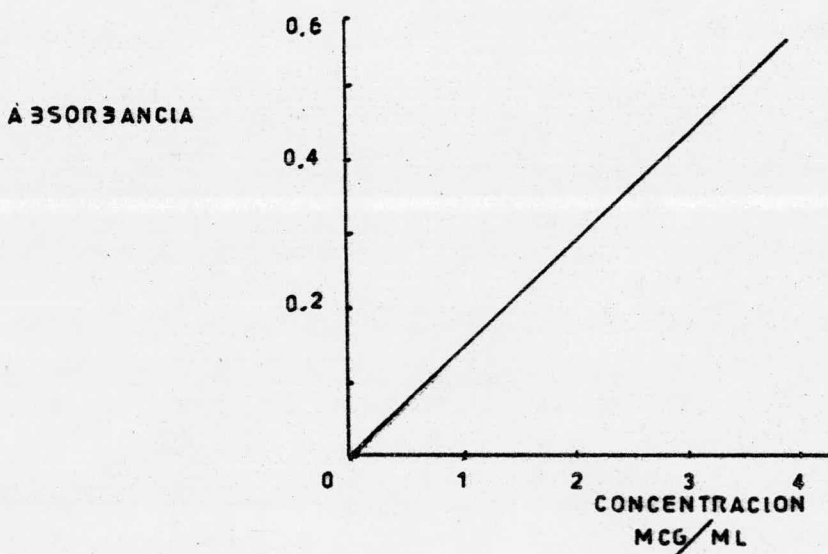
Entre mayor es el valor del coeficiente de absorptividad molar, mayor es la sensibilidad del método colorimétrico.

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = \epsilon cb$$

De esta ecuación se puede ver que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración, tal como se muestra en la figura No. 2.

FIGURA No. 2

Absorbancia contra concentración



La ley de Beer se obedece solamente a determinadas concentraciones la cual se nota por medio de la gráfica anterior.

Cuando se aumenta la concentración, la curva comienza a desviarse de la línea recta. La pendiente de cada recta depende del coeficiente de extinción molar y el espesor de la capa absorbente de luz.

INSTRUMENTACION

De acuerdo al equipo usado en la determinación colorimétrica, los métodos se dividen en visuales y fotoeléctricos.

En los primeros se usan tubos Nessler y colorímetros, y en los segundos se emplean instrumentos construïdos sobre el fundamento de una celda fotoelétrica. Últimamente los instrumentos construïdos fotoelétricos están desplazando a los colorimétricos, debido a lo absoluto que son éstos y a la baja precisión del ojo humano y su rápida fatiga.

Lo único que se necesita con los métodos fotoelétricos es que el analista use muestras de concentración conocida, les tome una lectura de absorbancia a cada una, construye una curva de calibración graficando -- absorbancia contra concentración en seguida debe leer las absorbancias de las muestras problemas y las lecturas obtenidas se comparan con la curva patrón y se determina la concentración del problema.

COMPONENTES DE LOS INSTRUMENTOS PARA LAS MEDICIONES

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

- a) Una fuente de energía radiante
- b) Un selector de longitud de onda
- c) Recipiente transparente para la muestra y
- d) Un detector de la radiación con un sistema de lectura acoplado.

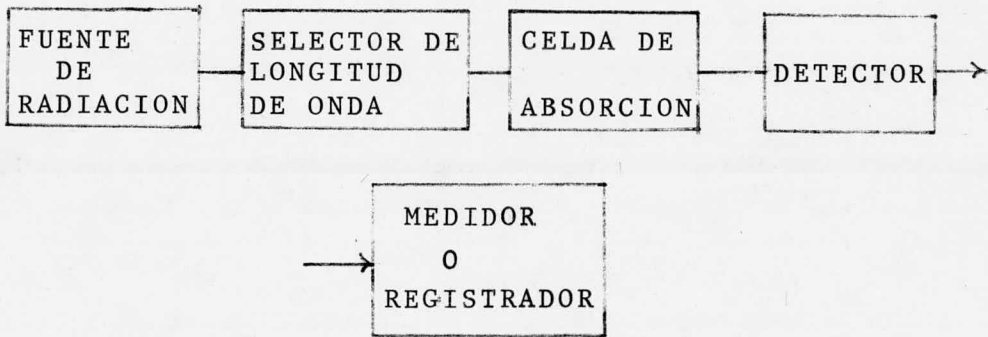


Figura 3.- Diagrama de bloques de un aparato de absorción.

FUENTE DE ENERGIA RADIANTE

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

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

Sólo en éstas condiciones son reproducibles las mediciones de absorbancia.

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

Por lo tanto, se requiere un estrecho control del voltaje para tener una fuente de radiación estable. Se -

usan con frecuencia transformadores de voltaje constante o reguladores de voltaje electrónicos para éste fin. Como alternativa, la lámpara puede ser operada de una batería de 6 V, la cual proporciona una fuente de voltaje grandemente estable si se mantiene en un buen estado.

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

SELECTOR DE LONGITUD DE ONDA

Como ya se indicó, las fuentes de radiación que comúnmente se emplean emiten radiación continua dentro de un amplio margen de longitudes de onda. Sin embargo, las bandas angostas presentan muchas ventajas; la radiación de la banda angosta permite la resolución de bandas de absorción muy próximas; con radiación de -- bandas angostas un pico se puede medir perfectamente en su máximo de absorción, aumentando así la sensibilidad y la absorción de radiación de banda angosta se apega más a la ley de Beer porque se mide exclusivamente la radiación que se absorbe. Se deben, por lo -- tanto, emplear selectores que reduzcan la radiación -- policromática de bandas anchas de la fuente a bandas angostas o, mejor aún, emplear radiación monocromática, actualmente se usan dos tipos de selectores, filtros y monocromadores.

a) Filtros. Los filtros, hechos con material sintético especial son los más sencillos y los menos costosos.

Pueden obtenerse dos tipos: filtros de absorción y -- filtros de interferencia.

Filtros de Absorción. -- Los filtros de absorción limitan la radiación absorbiendo ciertas porciones de los espectros.

El tipo más común consiste en vidrio coloreado o en un colorante suspendido en gelatina y colocado entre placas de vidrio, tiene la ventaja de mayor estabilidad térmica.

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

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

Filtros de Interferencia. -- Los filtros de interferencia se basan en la interferencia óptica para producir bandas relativamente estrechas de radiación.

Un filtro de interferencia consiste en un dieléctrico transparente (frecuentemente fluoruro cálcico o fluoruro magnésico) que ocupa el espacio comprendido entre dos películas metálicas semitransparentes revestidos en las superficies anteriores de dos placas de -- vidrio. El espesor de la capa dieléctrica se controla cuidadosamente y determina la longitud de onda de la radiación transmitida. Cuando un haz perpendicular de radiación colimada incide en ésta disposición, una fracción atraviesa la primera capa metálica y el resto es reflejado. La porción que pasa experimenta partición similar al incidir en la segunda película -- metálica. Si la porción reflejada de ésta segunda interacción es de longitud de onda apropiada, se refleja parcialmente del lado interior de la primera capa en fase con la luz incidente de la misma longitud de onda. El resultado es que ésta longitud de onda particular se refuerza, mientras que en la mayoría de -- las otras, estando desfasadas, sufren interferencias destructivas.

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

b) Monocromadores. Un monocromador es un aparato que desdobra la radiación policromática en las longitudes de onda que se forman y separan éstas longitudes de onda en bandas muy angostas. Un monocromador ésta -- constituido por: Una rendija de entrada por la que -- penetra la radiación policromática de la fuente; un -- colimador, bién sea lente o espejo; un dispersor ya -- sea prisma o rejilla, que desdobra las radiaciones en las longitudes de ondas componentes; una lente de enfoque o espejo; una rejilla de salida. Todas las partes del monocromador deben ser transparentes dentro -- del margen de longitudes de onda con las que se trabaja y están montadas dentro de una caja hermética a -- la luz. En la figura No. 4 se representa esquemática -- mente un monocromador con prisma para la dispersión. El ancho de la banda efectivo de la radiación que sale del monocromador depende de varios factores, incluyendo el elemento dispersor y la anchura de las rendijas, tanto de la entrada como de salida.

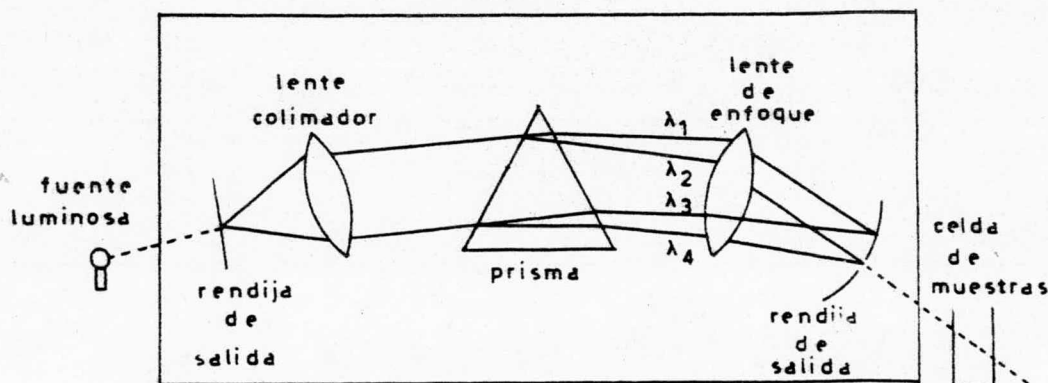


Figura No. 4 Monocromador de Prisma.

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

Dispersión con Prisma.- El prisma de la figura 4 desdobra la radiación policromática en pequeñas cantidades de bandas de longitudes de onda que emergen del prisma a ángulos ligeramente diferentes. Para lograr que una determinada longitud de onda de la radiación desdoblada que pase a través de la rendija de salida, se hace girar el prisma hasta que la longitud de onda deseada (o, más correctamente, una banda de longitudes de onda centradas o en esa longitud de onda) queda enfocada en la rendija de salida.

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

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

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

ra su empleo en la región visible tiene 15,000 líneas por pulgada.

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

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

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

RECIPIENTES PARA MUESTRAS

Las muestras que se estudian en la región del visible, son soluciones y se colocan en celdas o cubetas. En la región del visible se emplea vidrio común o cuarzo de mayor costo. La longitud de las celdas para las soluciones tienen longitudes que van de 1 a 10 cm. Las ventanas de las celdas de absorción deben mantenerse escrupulosamente limpias, pues tanto las huellas digitales como los rastros de las muestras anteriores pueden ser causa de error considerable en las determinaciones cuantitativas. Las celdas de cuarzo y de vidrio se pueden limpiar enjuagandolas con agua, o si se requiere mayor limpieza, con soluciones de detergente o ácido nítrico caliente.

Las celdas de absorción se colocan después de los monocromadores en los aparatos del visible, con objeto de reducir al mínimo la posible descomposición o fluorescencia que pudieron causar otras longitudes de onda de alta energía de la radiación sin desdoblar. La celda debe colocarse en una posición tal que el haz de la radiación incidente quede perfectamente nor

mal a la ventana o cara de la celda pues de otro modo hay pérdidas notables por reflexión y difracción. Además, el recipiente debe insertarse a modo que siempre quede la misma cara de la celda frente al haz de radiación, cuando se hacen mediciones consecutivas. Las celdas rectangulares se prefieren a las cilíndricas pero sí se usan éstas, que son más baratas, se deben marcar en alguna forma para tener la seguridad de que se han colocado en la misma posición en las diferentes medidas.

INSTRUMENTOS DE DETECCION Y DE LECTURA

Cualquier tipo de detector absorbe la energía de los fotones que chocan contra él y la convierte en una cantidad medible, como es la impresión de una placa fotográfica, una corriente eléctrica o cambios térmicos. La mayoría de los detectores modernos generan una señal eléctrica que puede accionar algún tipo de medidor o registrador.

Cualquier tipo de detector debe generar una señal que esté cuantitativamente relacionada con el poder radiante que recibe. El "ruido" de un detector es la señal de fondo que aparece, cuando no hay poder radiante de la muestra que llegue al detector.

Este ruido puede ser usado bien sea por cambios fortuitos dentro del detector mismo o por otras señales eléctricas que recoja de los alrededores de la unidad. Los requerimientos más importantes de un detector mismo o por otra sensibilidad a largo plazo con objeto de asegurar la exactitud de las respuestas cuantitativas y señal electrónica que sea fácilmente amplificable por cualquier instrumento de lectura.

Los fotones del visible tienen suficiente energía como para proyectar los electrones de la superficies que inciden cuando éstas se han tratado con determinado tipo de compuestos. Su absorción puede hacer también que los electrones enlazados, no conductores, se desplacen en bandas de conducción dentro de ciertos semiconductores.

Ambos procesos generan una corriente eléctrica que es directamente proporcional al poder radiante de los fotones absorbidos. Los instrumentos en los que se emplean estos procesos se llaman detectores fotoeléctricos y se subdividen en: celdas fotovoltaicas y fototubos.

a) Celdas Fotovoltaicas.- La celda fotovoltaica consiste de un electrodo plano de cobre o hierro sobre el cual se deposita una capa de material semiconductor, como selenio y óxido de cobre I. En la superficie del semiconductor hay una película transparente de oro, plata o plomo que actúa como segundo electrodo o colector; el conjunto se protege con una cubierta transparente. La superficie de separación entre el selenio y la película metálica sirve de barrera al paso de los electrones. Pero la irradiación con luz aporta algunos electrones a la capa de óxido con suficiente energía para vencer esta barrera y fluyen entonces electrones del semiconductor a la película metálica. Si ésta se conecta, mediante un circuito externo, a la placa del otro lado de la capa semiconductora, y si la resistencia no es muy grande, se produce una corriente de electrones. Generalmente, ésta corriente es bastante grande para poder medirse con un galvanómetro, un microamperímetro; si la resistencia del circuito externo es pequeña la magnitud de la corriente es directamente proporcional a la potencia de la radiación que incide en la celda.

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

iluminación, para eliminar estos inconvenientes se ha ce un diseño apropiado del circuito y se seleccionan condiciones experimentales adecuadas.

b) Fototubo.- Un fototubo está constituido por: una cubierta de vidrio evacuada; un cátodo semicilíndrico con una superficie interna recubierta por un compuesto que tenga electrones con una fuerza de unión relativamente pequeña, como son los óxidos de los metales alcalinos o alcalinotérreos; y un ánodo central de alambre. La diferencia de potencial que se aplica en los electrodos es aproximadamente de 90 voltios. En la figura No. 5 se encuentra el diagrama de un fototubo y su circuito correspondiente. La radiación choca contra la superficie fotoemisora del cátodo. Los fotones se absorben y transfieren su energía a los electrones de pequeña fuerza de unión de la superficie del material. Estos electrones se escapan de dicha superficie y se reúnen en el ánodo, haciendo que la corriente fluya en el circuito.

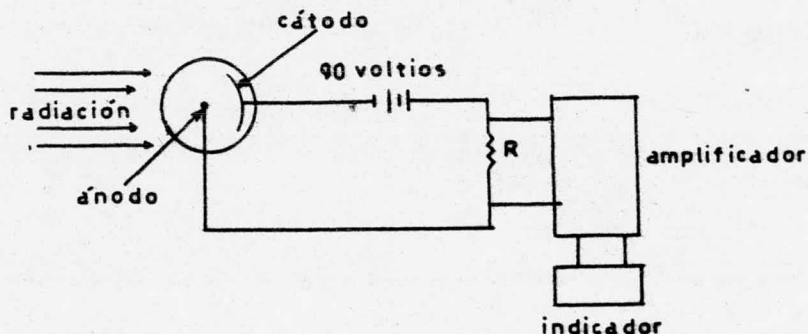


Figura No. 5 diagrama esquemático del circuito de un fototubo.

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

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

Estos electrones a su vez, pueden acelerarse, dirigirse hacia otra superficie y desplazar aún más electrones y así sucesivamente.

En la figura No. 6 se puede ver el esquema de un corte transversal del tubo fotomultiplicador.

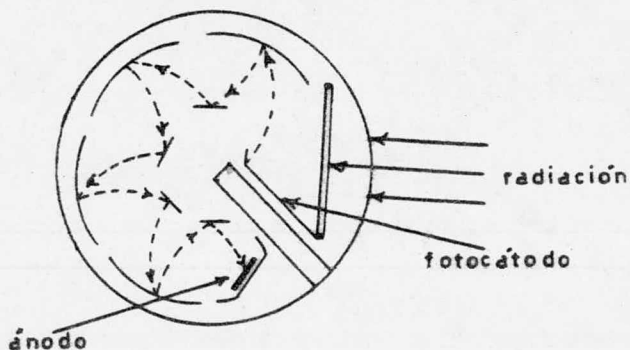


Figura No. 6 Diagrama de un corte transversal de un tubo fotomultiplicador.

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

c) Amplificación y lectura de las señales detectoras. La señal electrónica generada por cualquier detector de radiación se debe transformar para que el investigador pueda interpretarla.

La transformación se lleva a cabo, comunmente, con amplificadores, amperímetros, potenciómetro y registradores potenciométricos.

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

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

APARATOS

Los aparatos que se emplean en el estudio de la absorción de la luz en la región del visible son: los

colorímetros fotoeléctricos, los espectrofotómetros y los absorciómetros.

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

INSTRUMENTOS DE UN SOLO HAZ

La figura 7 es un diagrama esquemático de un espectro fotocolorímetro de un sólo haz. Un haz de radiación de la fuente entra al monocromador y un prisma o una rejilla lo dispersa. A medida que el elemento dispersado gira, las diversas bandas de radiación que se han desdoblado se enfocan hacia la rendija. La radiación pasa a través de la celda y llega al detector. El aparato se ajusta y se manipula.

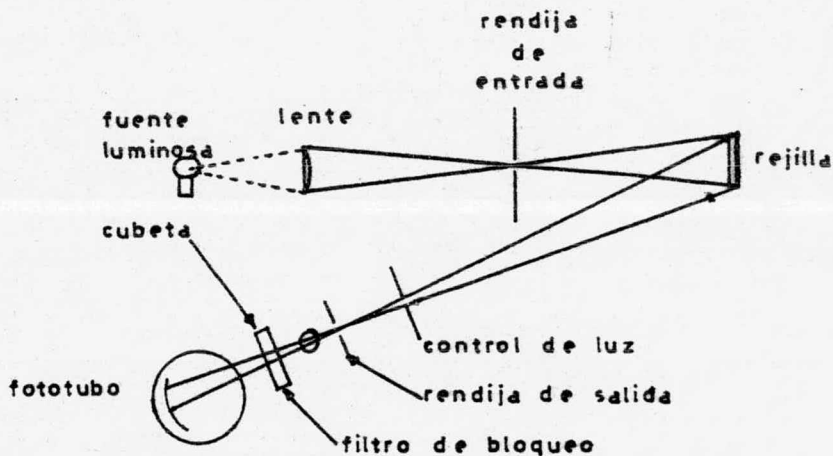


Figura No. 7 Diagrama esquemático de un espectro fotocolorímetro de un haz.

El método de determinación con haz sencillo requiere componentes estables, de alta calidad en la fuente, en el detector y en el medidor, para mediciones de una gran precisión.

Los parámetros del instrumento no deben variar en el lapso, que media entre el ajuste del 100% de T con la muestra en blanco, y la determinación de la trans

mitancia de la muestra. Los aparatos de lectura directa, que tienen medidores, dan una lectura inmediata de la transmitancia con exactitud de ± 0.2 a 3%. A menos que se requiera gran precisión, los aparatos de un solo haz son más sencillos y menos costosos que los de doble haz pero, se pueden adaptar para registro debido a que hay necesidad de calibrar para cada longitud de onda.

INSTRUMENTOS DE DOBLE HAZ

En la figura No. 8 se encuentra el esquema de un modelo de doble haz. Los aparatos de doble haz tienen un divisor del haz, de cualquier tipo, antes de las celdas de muestras, uno de los haces está dirigido hacia la celda "en blanco", o celda de referencia y el otro hacia la celda de la muestra. Estos dos haces se comparan constante o alternativamente varias veces por segundo. En esta forma, en modelos de doble haz las fluctuaciones de la intensidad de la fuente, la respuesta del detector y la ganancia del amplificador se compensa, puesto que la señal que se observa corresponde a la diferencia entre el "blanco" y la muestra. Los aparatos de doble haz son más complicados, desde el punto de vista electrónico y mecánico, que los de un solo haz, pero son más exactos ($\pm 0.2\%$ en la transmitancia) y costosos.

En los espectrofotómetros de doble haz, la adición del haz se efectúa después de pasar el monocromador; se emplean espejos de superficie frontal y, más comúnmente espejos de sector giratorios. El espejo de sector giratorio, deja pasar y reflejar alternativamente el haz varias veces por segundo; en esta forma los separa y, además lo hace intermitente

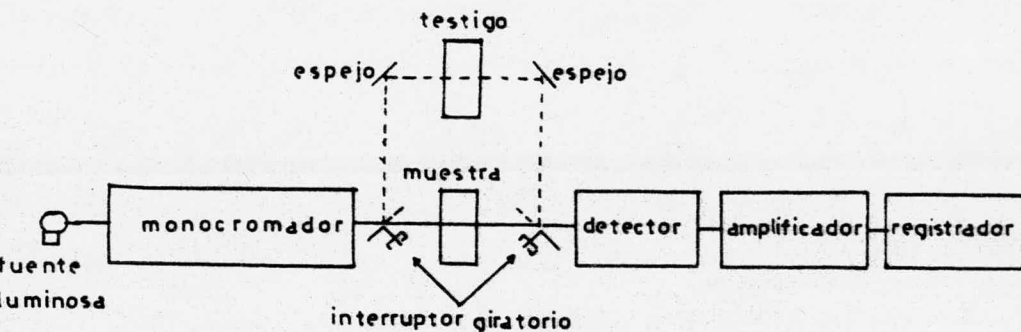


Figura No. 8 Espectrofotocolorímetro de doble haz

La radiación intermitente se emplea como fuente de entrada de un amplificador de c-a que da estabilidad a la amplificación. En éste tipo de aparatos se emplea un sistema electrónico de lectura de punto nulo. El haz de la referencia y el de la muestra llegan al detector alternativamente a intervalos que dependen de las frecuencias de rotación de los interruptores. El aparato registra la relación entre la señal de la referencia y la de la muestra. Si el poder radiante de ambos haces es igual, el amplificador de c-a no registra señal de salida, pero sí el poder de ambos haces es diferente, la señal no compensada acciona un servomotor que actúa sobre un registrador potenciométrico, se calibra en porcentajes de transmitancia de la muestra y así, la posición del punto de equilibrio se emplea para determinar el porcentaje de transmitancia.

III.- INTRODUCCION A LAS TECNICAS

III.1.- FUNGICIDAS CLORADOS

A) 5,6 DICLORO-2-BENZOXAZOLINONA.

En la determinación del 5,6 Dicloro-2-Benzoxazolinona se propone el siguiente método analítico; que consiste en:

- a) La conversión de 5,6 dicloro-2-Benzoxazolinona a 2-amino 4,5 Diclorofenol por reflujo en medio fuertemente alcalino, b) Diazotización del aminofenol formado, c) Copulación con resorcinol para dar un compuesto azo colorido con una absorción máxima a 500 nm, y d) Medición fotométrica del color.

El fungicida se extrae de las pieles usadas en la industria del calzado con una mezcla de cloroformo-agua. Los taninos vegetales, interfieren en las mediciones del color, por lo que es preciso precipitarlos con acetato de plomo y eliminarlos en la fase acuosa, la cual se desecha antes de efectuar la hidrólisis. La presencia del agua con el solvente extractor es necesaria para prevenir interferencia por cromo, el efecto del cromo es eliminado cuando se desecha la fase acuosa la que previene la formación de compuestos cromo-fungicida.

Debido a la facilidad con que se oxidan los o-aminofenoles en solución alcalina (137), el aire debe eliminarse de la mezcla de reflujo durante la hidrólisis. Los matraces de ebullición y el condensador de vidrio esmerilado que se describe en el procedimiento analítico, dan resultados satisfactorios. Aunque se usó un condensador abierto, la entrada de aire probablemente se impidió por los vapores de agua formados en el matraz y parte del condensador. Reflujando en un sistema cerrado o en una atmósfera de nitrógeno se puede eliminar completamente el aire.

Las soluciones coloridas que se desarrollan sufren cambios con el tiempo, resultando un aumento en la intensidad del color. Sin embargo, el blanco sufre el mismo cambio, lo que indica que se debe usar un blanco especial en la celda de referencia. Una vez que

el color se establezca, se obtienen lecturas constantes por un período de alrededor de 1 hora.

La curva de calibración, figura 1, indica que dentro de la concentración usada se sigue la ley de Lambert y Beer. Como el 2-amino-4,5-Diclorofenol se produce en el paso de la hidrólisis, en el transcurso de ésta es posible la elaboración de la curva standard de calibración. Este paso se puede omitir usando 2-amino-4,5-Diclorofenol como reactivo. La curva de calibración obtenida no difiere significativamente de la mostrada en la fig. 1, cuando se usaron concentraciones equimoleculares. Sin embargo, debido al carácter anfóterico y sensitivo al aire (y posiblemente a la luz) de los 2-aminofenoles, los problemas de purificación y almacenamiento son más difíciles que con 5,6-dicloro-2-benzoxazolinona.

Las aminas primarias aromáticas, presentes originalmente o producidas durante el paso de la hidrólisis, generalmente pueden dar origen a productos de color en este procedimiento y esto interfiere con la determinación del 5,6-dicloro-2-benzoxazolinona.

B) 2,4-DICLORO-6-(o-CLOROANILINA)-s-TRIAZINA: DYRENO

La importancia del dyreno como un fungicida requiere de la aplicación de un método adecuado para la determinación de sus residuos en cosechas de apio, cebollas, papas y tomates.

El método consiste en hacer reaccionar el dyreno con piridina y la medición del color que se desarrolla cuando la solución se hace alcalina con hidróxido de sodio acuoso. Se forma un compuesto intensamente colorido, del cual el color desaparece rápidamente y se obtienen resultados reproducibles si la absorbancia es leída dos minutos después de la adición del álcali y comparada con estándares corridos bajo las mismas condiciones. Un método alternativo consiste en la hidrólisis ácida del dyreno para formar o-cloroanilina, el cual es diazotizado y copulado con N-1 Naftilendia

mina para producir un compuesto azo intensamente colorido. El color formado es el mismo que el obtenido para el Parathion (6). Con soluciones puras de dyreno hidrolizado, el color alcanza un máximo en 10 minutos y es estable por lo menos 1 hora. Sin embargo el color desarrollado es muy leve en presencia de algunos extractos vegetales, tomando más de 30 minutos para alcanzar la máxima absorción. Las soluciones deben por lo tanto ser medidas 1 hora después de adicionar el agente copulante. El color producido tiene una absorción máxima a 540 nm figura 2. El espectro de absorción es idéntico al obtenido con o-Cloroanilina y sigue la ley de Lambert-Beer en un intervalo de 0 a 3.5 mcg⁺/ml de la solución final figura 3. Para determinar las condiciones óptimas de la hidrólisis del dyreno, se llevaron a cabo hidrólisis tanto alcalinas como ácidas y la eficiencia de la reacción de hidrólisis fué medida por el procedimiento colorimétrico. En estos estudios 215 mcg⁺ del dyreno en 10 ml de alcohol isopropílico fué refluado en un baño maría por períodos de 0.5 a 5 horas con 5 ml de ácido clorhídrico 5 N o 7 ml de ácido clorhídrico 10 N. Un experimento idéntico se llevó a cabo usando 5 ml de hidróxido de potasio 5 N o 10 ml de hidróxido de potasio 10 N. En cada caso se añadió una cantidad apropiada de ácido o base para dar un exceso de 25 meq de ácido clorhídrico para desarrollar el color.

La hidrólisis completa de 215 mcg de dyreno deben producir 100 mcg de o-cloroanilina. La tabla 1 indica que el desarrollo del color fué muy pequeño cuando se usó la hidrólisis alcalina. La cantidad teórica del color (basada en o-cloroanilina) es obtenida después de 4 o 5 horas de reflujo con 5 ml. de ácido clorhídrico 5 N. Con altas concentraciones de ácido, se destruye algo del producto colorido. Un período de hidrólisis de 5 horas fué adoptado para el trabajo de rutina.

+ Se usa la notación de mcg en lugar de μ g para denotar la unidad de masa microgramo.

C) PENTACLOROFENOL: P.C.P.

Para la determinación del pentaclorofenol (P.C.P.) y N-(tricloro metil tio) Ftalímida (N.P.I) se siguen los siguientes métodos.

a) Extracción con un solvente adecuado y determinación subsecuente del espectro de absorción en U.V. -- para ambos casos.

b) Por determinación del cloro total antes y después de la extracción del P.C.P. y N.P.I. Un análisis de nitrógeno o azufre puede ser llevado a cabo en lugar de cloro total en el N.P.I., pero el análisis de cloro es preferible por ser el más simple de los tres.

D) 2,3,5,6 TETRACLORO-1,4-BENZOQUINONA: CLORANILO; -- SPERGON.

Debido al amplio uso del 2,3,5,6 Tetracloro -1,4 Benzoquinona (Cloranilo, Spergon) como fungicidas, se tuvo la necesidad de buscar un método analítico apropiado para control en el laboratorio. Este método debería ser aplicado en presencia de otros materiales comúnmente usados con Cloranilo en varias formulaciones y debería ser también para uso de rutina. El método presente es propuesto como una solución factible para el problema de análisis de mezclas con el ingrediente activo en cloranilo. La naturaleza de esta reacción indica que el cloranilo es convertido a 2,5-dicloro -3,6 Dihidroxi-p-Benzoquinona (ácido cloranílico), el cual en pequeñas cantidades es fácilmente soluble en solución acuosa pero insoluble en benceno, la transmitancia de la muestra así tratada por 1 minuto, incrementa aproximadamente 0.5% por encima de la muestra de la misma concentración tratada solamente 30 seg. -- El tratamiento adicional de 30 seg. incrementa la -- transmitancia otros 0.5%; este incremento continua -- hasta el final de 10 minutos y la transmitancia de -- una muestra es de 10 a 12% más grande que la concen-- tración de la muestra tratada únicamente por 30 segun-- dos.

Otro método para la determinación de cloranilo en vegetales, consiste en hacer una extracción de una muestra de vegetal con benceno. El cloranilo recuperado en el solvente se oxida con difenil-p-fenilendiamina a una sal azul de Wurster. La extracción con el benceno de una solución acuosa ácido acético-ácido clorhídrico remueve la sal Wurster de la fase acuosa. La absorbancia se mide espectrofotométricamente a 700 nm. Este método puede ser aplicado a coliflores y lechugas. Los datos obtenidos están a un intervalo de concentración de 0.1 y 0.5 ppm.

Todas las soluciones usadas en el análisis deben de estar de 70 a 80°F, porque la oxidación del difenil-p-fenilendiamina por el cloranilo se retarda a bajas temperaturas.

E) N-(TRICLOROMETIL TIO) - FTALIMIDA: N.P.I.
Ver Pentaclorofenol.

F) N-(TRICLOROMETIL TIO)-TETRAHIDROFTALIMIDA: CAPTAN

El captan, N-(triclorometil tio)-tetrahidroftalimida tiene varias aplicaciones agrícolas e industriales, primero se usó tanto como un fungicida a un nivel de 100 a 1000 ppm y, en protección de granos a niveles superiores de 1000 ppm (87). La práctica de incluir insecticidas tales como Aldrin, Lindano, DDT o Dieldrin con Captan como tratadores de semillas para protección dual contra insectos rastreros y patógenos, fueron ampliamente aceptados.

Muchos métodos han sido sugeridos para la detección y determinación de Captan, Engst y Schansk (41) usaron un rociador de nitrato de plata seguido por irradiación ultravioleta en una cromatografía en placa fina. Irwin y colaboradores (60) estudiaron la reacción del Captan y su estructura relacionándolo con otros fungicidas (Folpet, Difolatan para varios reactivos tales como resorcinol, permanganato de potasio, dimetil-p-fenilendiamina y ácido crómico), también por cromatografía en placa fina. Una determinación colorimétrica del Captan está basada en su reacción con piridina e

hidróxido de tetraetilamonio. Los métodos de cromatografía en capa fina fueron usados a niveles de nanogramos y éstos, fueron usados semicuantitativamente (131). En un reporte previo, un método rápido semicuantitativo para Captan basado en su reacción con monoetanolamina fué aplicado en presencia de Aldrin, DDT BHC, Malathion, etc. Un método cuantitativo se describe en el presente trabajo.

Otro método analítico para el Captan, está basado en la reacción con resorcinol alcalino bajo condiciones reductoras. El método es usual en un intervalo de 3 a 30 mcg y una medida semicuantitativa a menos de 0.04 mcg es rápidamente obtenida. Se obtienen buenos resultados de varios productos naturales. Las reacciones de resorcinol con compuestos que contienen el grupo $-CCl_3$ fueron investigados durante trabajos de métodos analíticos para hidrocarburos clorados usados como pesticidas de éstos, se puede esperar que el derivado sea fluoriceina (63). Un ejemplo de tal reacción apareció en el método analítico desarrollado por Kittleson (67) para el fungicida Captan (5). Se encontró que algunos de estos fungicidas dan fluoriceina como derivado, y que la liberación de ácido clorhídrico contribuye a la formación del color.

En medio alcalino el Captan da un color característico con resorcinol. La adición de bisulfito de sodio al resorcinol alcalino disminuye la interferencia de la oxidación por medio del aire, haciendo de éste un reactivo analítico específico y de alta sensibilidad para la determinación de Captan. Esto parece tener ciertas ventajas sobre el método de Kittleson (30,67).

III-2 FUNGICIDAS CLORADOS NITRADOS

A) PENTACLORONITROBENCENO: PCNB; TERRACLOR

Este método presenta una técnica microanalítica para la determinación de la cantidad de residuos del Pentacloronitrobenceno (PCNB, Terraclor) en vegetales (66). Esta investigación se llevó a cabo debido a que en técnicas anteriores, se tuvieron durante la recuperación del PCNB valores bajos, los cuales fueron reportados algunas veces hasta en menos del 50% por departamentos químicos de la administración de alimentos y farmacias, durante la recuperación del PCNB adherida a la lechuga (66). En estos trabajos se usó isopropanol-benceno en el procedimiento de extracción de Klein (69), purificando el extracto como lo describe Mills (88) y medido el PCNB por el método colorimétrico de Ackermann (1), el cual más tarde fué usado para la obtención de los datos de recuperación.

El método colorimétrico de Ackermann es una modificación de un método descrito por Canback y Zajaczkowa (31) para la determinación del Tetracloronitrobenceno, que es un homólogo del PCNB.

B) TETRACLORONITROBENCENO: TCNB

Experimentos llevados a cabo en años recientes, indican que el 2,3,5,6 Tetracloronitrobenceno (TCNB) es un importante agente para el control de *Fusarium Coeruleum* en las papas (10), para evitar que las papas almacenadas produzcan retoños (23,79).

En pruebas de campo, el material fué aplicado en forma de polvo que contiene 3 % de las sustancias activas con un soporte inerte, tal como el caolín. Se tienen resultados apropiados, con lo cual el método puede ser adoptado para el ensayo de TCNB residual en papas dedicadas al consumo humano.

Una prueba colorimétrica cuantitativa se lleva a cabo en la técnica que se describe más adelante, la cual -

consiste en la determinación de TCNB estando como activo en un fungicida agrícola. El color formado depende probablemente de la interacción del TCNB con acetona en presencia de hidróxido de tetraetilamonio.

III-3.- FUNGICIDAS CUPROSOS

A) 8-HIDROXIQUINOLINATO DE COBRE

Se desarrolla un método simple para la determinación de cobre y 8-Hidroxiquinolina en películas de pintura. El cobre se separa del 8-Hidroxiquinolina por precipitación como sulfuro de cobre y se determina fotométricamente, ya sea con difenilcarbazona (0.1 - 1 mcg de Cu/ml) o con benzoína oxima (1.0 a 10 mcg de Cu/ml).

El 8-Hidroxiquinolina se determina por medio de una medición de la absorbancia en la región UV. El método está relacionado con la evaluación de fungicidas en pinturas, y es necesario para tener un método rápido en la determinación de compuestos fungicidas que están presentes en las películas de pintura, después de varias condiciones de exposición. Como la cantidad de película necesaria para el análisis es muy pequeña, y los fungicidas contenidos están en pequeños porcentajes, sólo procedimientos microquímicos se pueden usar.

El 8-Hidroxiquinolinato de cobre es analizado por extracción de la película de pintura con ácido sulfúrico diluido y se determina el cobre y el 8-Hidroxiquinolina fotométricamente. Para la determinación del cobre los siguientes dos métodos son rápidos y exactos;

1.- Determinación de pequeñas cantidades de cobre (de 0.1 a 1 mcg de Cu/ml).

Esto se hace con difenilcarbazona (DPC), el cual da con el cobre una coloración café-rojiza y hasta ahora

parece que esto sólo puede ser usado para análisis -- cualitativo (43).

La intensidad del color depende del pH y de la cantidad de DPC presente. Por lo tanto la determinación se lleva a cabo a un pH determinado y con la misma cantidad de DPC añadida en la solución (0.1 ml de solución de etanol al 0.25% es apropiado). La máxima absorción ocurre a 495 nm (la absorción a 495 nm es a $\text{pH}_3 = 0$, a $\text{pH}_4 = 0.06$, a $\text{pH}_5 = 0.12$ y $\text{pH}_6 = 0.16$). Una concentración de 4mcg de cobre/ml. a pH_3 no produce un complejo colorido con la solución de DPC. La tabla 2 muestra la absorción de soluciones que contienen varias cantidades de cobre a pH de 5.5.

2.- Determinación de grandes cantidades de cobre (de 1 a 10 mcg de cobre/ml.)

Esto se hace con benzoina óxima, éste reactivo da con el cobre un precipitado verdoso el cual puede ser separado y pesado. Sin embargo, se encuentra que si la reacción se lleva a cabo en una mezcla de alcohol-glicerol el precipitado no se forma. La solución adquiere un color verdoso apropiado para las mediciones espectrofotométricas. La absorción de luz es medida a 380 nm.

B) NAFTENATO DE COBRE Y 8-QUINOLINATO DE COBRE

El 8-quinolinato de cobre y el naftenato de cobre son ampliamente usados como ligeros inhibidores para textiles; de aquí que, el análisis químico cuantitativo de estos fungicidas requiera por tanto control de calidad y propósitos de investigación.

Como sólo de 3 a 5 mg de tejido textil se requiere para cada determinación, los métodos espectrofotométricos ofrecen un medio para determinar la uniformidad en la aplicación del fungicida en el tejido textil. Los análisis de tejidos textiles comerciales tratados con 8-quinolinato de cobre y naftenato de cobre, indi

can que la industria manufacturera textil es capaz de obtener una muy buena y uniforme distribución de éstas mezclas de fungicidas para todo el material.

Cuando el Naftenato de cobre es el fungicida estipulado como en el Federal Specification CCC-C-428 a (125) el análisis esta basado en el contenido de cobre total. Se desarrolló un método espectrofotométrico (98) para la determinación del 8 quinolinato de cobre, que no es apropiado para algunos materiales tales como tejidos textiles de vinil-lana. Por lo que se le hicieron algunas adaptaciones que permitieron hacer unas buenas evaluaciones. Esta adaptación del método espectrofotométrico para la determinación del 8 quinolinato de cobre, requiere sólo de 4 a 5 mg de tejido; pero desafortunadamente un tratamiento de 1% de 8-quinolinato de cobre sobre el tejido produce una absorbancia de sólo 0.040.

La federal Specification CCC-T- 191 (127) contiene -- tres métodos para la determinación de cobre: Un método colorimétrico, uno polarográfico y otro electrolítico. El método colorimétrico involucra dietilditio--carbamato de sodio que es medianamente sensible.

En años recientes, se han desarrollado muchos reactivos para la determinación espectrofotométrica de microcantidades de cobre. Estos reactivos pueden ser -- adaptados para una amplia variedad de usos analíticos, porque los métodos espectrofotométricos son generalmente más sensibles y exactos que los antiguos métodos volumétricos y gravimétricos. Además, el advenimiento de espectrofotómetros relativamente baratos hacen de estos métodos convenientes para practicarlos en todos los laboratorios.

Un número de fibras textiles producidas comercialmente fueron analizadas por dos de los métodos mejores -- en una tentativa para obtener una definición del fungicida "aplicado uniformemente" el cual estará al alcance de la capacidad del industrial textil para llevarlo a cabo.

La selección de un reactivo de cobre depende principalmente del grado de sensibilidad que se requiere para un propósito particular y la probabilidad para encontrar iones interferentes.

Simplicidad, estabilidad de reactivos y costos, son cuestiones de importancia secundaria, de los cuales frecuentemente son base para la selección final.

En el caso del análisis de tejidos textiles, la sensibilidad deseada debe abarcar un máximo de 15 mcg de cobre a un mínimo de 1 mcg. Este intervalo corresponde al análisis de aproximadamente 3 mg de tejido que contiene entre 0.050% y 0.500% de cobre.

Los tejidos que son tratados para resistir fuego, agua, intemperie y moho de acuerdo con la especificación CCC-C-4228 (125), como las especificaciones gubernamentales para éste tipo de tejidos, basados en los requerimientos de fabricación, la composición de los materiales antiinflamables y repelentes al agua varía mucho; un prototipo experimental de un acabado textil el cual cumple los requerimientos de especificación (126) contiene varias sales de cromo, fierro, calcio, antimonio, zinc, boro, plomo. Los siguientes reactivos son apropiados para satisfacer los requerimientos de sensibilidad y especificidad para la determinación de cobre.

- 1.- 2,9-Dimetil-4 -7- difenil-1,10 fenantrolina ---
(Batocuproina)
- 2.- 2,2, Biquinolína (Cuproína)
- 3.- Sal de Dietil amonio del ácido dietilditiocarbámico y la sal de sodio del ácido etilendiamintetraacético (EDTA).
- 4.- Dibencilditiocarbamato de zinc.
- 5.- Bis-ciclohexanona oxadihidrazona (Cuprizona)
- 6.- Oxaldihidrazida
- 7.- Ditiiooxamida (Acido Rubeánico).

III- 4 FUNGICIDAS MERCURIALES

A) FENIL Y ETIL MERCURIO

Los métodos generales de análisis de compuestos organo mercuriales consisten en la digestión de la muestra, conteniendo una cantidad de compuestos de mercurio, con ácido nítrico y ácido sulfúrico bajo reflujo en un aparato especial figura 22. El mercurio es investigado por extracción con ditizona, y medido fotométricamente como ditizonato de mercurio.

El paso crítico es la digestión de la muestra, debe de ser completa; de otra manera, la materia orgánica residual puede combinarse con el mercurio y la extracción con ditizona no es cuantitativa. La materia oxidante en el digestor debe ser destruida o el reactivo de ditizona es descompuesto y el mercurio no es extraído cuantitativamente.

Dada la volatilidad de los compuestos de mercurio el calentamiento debe ser cuidadoso durante la digestión. La acidez de la solución final en la digestión (después de una parcial neutralización con $\text{NH}_4 \text{OH}$) antes de la extracción deberá ser cerca de 1N y no más de 1.2 N. No se debe usar grasa en las uniones del aparato digestor.

Para el análisis de pequeñas cantidades de metales, la difeniltio carbazona (ditizona) es más usada (44,101), pero el uso de la ditizona para análisis de compuestos organometálicos no ha sido previamente reportado. Webb (135), preparó e hizo un análisis elemental de diferentes compuestos resultantes de la reacción de ditizona con compuestos organomercuriales.

Earlier y Steiger (114) reportaron que el difenil mercurio o acetiluro de cobre frotado con un cristal de ditizona da un color amarillo o rojo, sin embargo en este método de análisis con tetraetilo de plomo o carbonilo de níquel, el compuesto organometalico es primeramente descompuesto (115), similarmente los organo

mercuriales tienen que ser analizados en seguida de la descomposición (109, 117). El método aquí tratado es para determinar diferentes compuestos de etil o fenil mercurio, directamente en presencia de muchas iones metálicos, incluyendo iones mercúricos. La diferencia cualitativa entre compuesto de fenil y etil mercurio es posible.

III- 5 FUNGICIDAS NITRADOS

A) 2-(1-METILHEPTIL)-4,6 DINITROFENIL CROTONATO: CARATENO

El carateno, 2-(1-metilheptil)-4,6 dinitrofenil crotonato, también conocido como dinocap, es usado en una variedad de cosechas para el control del moho deshidratante y ciertas especies de hongos. El método comúnmente usado para la determinación de residuos de carateno (99) requiere evaporación cuidadosa del solvente extractor, destilación por arrastre de vapor, extracción del destilado, evaporación y finalmente desarrollo del color con piridina-agua.

El método puede ser aplicado directamente a extractores de fresas, ya que el valor del blanco es bajo (0.12 ppm), los valores encontrados después de rociar los recipientes de la fruta, con ocho onzas del polvo al 25% en 100 o 200 galones por acre fueron de 0.55, 0.58 y 0.60 ppm.

Cuando el método es aplicado a extractos de hojas de manzana con benceno, interfirieron los pigmentos vegetales. Esta interferencia fué eliminada por hidrólisis del dinocap a 2-(1-metilheptil) 4,6 Dinitrofenol, el cual se separó satisfactoriamente con benceno de los demás pigmentos que interfieren.

El carateno (dinocap) forma un intenso color amarillo cuando es disuelto en N-N-dimetilformamida sin la adición de álcali requerido para el desarrollo del color como en los demás compuestos mono y dinitrados (141).

Una observación similar se hizo con nitrosal (13) que es un medicamento para follaje. Como aparentemente pocos compuestos nitro forman colores bajo estas condiciones, esta formación de color combinada con un procedimiento de limpieza relativamente simple, sirve como base para desarrollar el método para determinar el carateno en frutas. En general, el residuo se extrae con una mezcla de hexanos y purificando en una columna cromatográfica (o lavado con ácido sulfúrico), el disolvente es eliminado a presión reducida y el carateno residual es disuelto en N,N dimetilformamida para el desarrollo del color el cual es medido a 444 nm.

III-6 FUNGICIDAS SULFURADOS

A) 2,3 DICIANO-1,4 DIHIDRO-1,4 DITIOANTRAQUINONA: DITHIANON.

Un método espectrofotométrico simple para la determinación del Dithianon en preparaciones fungicidas, está basado en la reacción entre grupos carbonilos del fungicida y la 2,4-Dinitrofenilhidrazina, consiste en extraer la muestra en una mezcla de acetona-clorofor~~mo~~, eliminar los solventes y refluja~~r~~ el residuo de 2,4 Dinitro fenilhidrazina en metanol, la solución se alcaliniza, con hidróxido de sodio en metanol dando un color ámbar; la absorbancia se mide a 550 nm. El error del método es de 2.1%. El Dithianon, 2,3 Diciano-1,4 Dihidro-1,4 Ditioantraquinona ha mostrado propiedades extensivas como fungicida.

Esto es particularmente efectivo en contra de la costaventur~~ía~~ especialmente en manzanas, peras y duraznos. Y tiene muy baja toxicidad en los mamíferos. El método de absorción (50) para la determinación de Dithianon, está basado en la disolución del fungicida en acetona y reducción con disulfuro de sodio en metanol, dando un color verde amarillento, el cual puede ser medido a 375 nm. Este método no es propio para formulaciones que contienen surfactantes los cuales absorben a 375 nm.

En 1951, Lappin y Clark (70) demostraron la aplicabilidad general de un proceso colorimétrico para la determinación de pequeñas cantidades de compuestos carbónicos. La muestra fué analizada calentándola en una solución metanólica ácida de 2,4-Dinitro fenilhidrazina que se alcaliniza con hidróxido de potasio. La absorbancia de la solución final se mide a 480 nm. El reactivo ha sido ampliamente usado (86,8,121,104,102,122,72).

En éstas determinaciones, fueron usadas soluciones ácidas de 2,4 Dinitro fenilhidrazina resultando una alta absorción. Para reducir éste efecto la 2,4 Dinitro fenilhidrazina formada; fué extraída con Isooctano (121), alcohol pentílico (102) o hexano (72), antes de la medición de la absorción.

Es evidente que el Dithianon no reacciona cuantitativamente con la 2,4 Dinitro fenilhidrazina en solución ácida. En experimentos preliminares soluciones neutras de metanol conteniendo Dithianon y 2,4 dinitrofenil hidrazina fueron calentadas a 50°C durante 30 min o a 100°C durante 5 minutos (70).

En ambos casos se tuvieron resultados inconsistentes. Subsecuentemente la solución de Dithianon fué evaporada a sequedad y el residuo es refluado en 2,4 Dinitro fenilhidrazina metanólica y después la solución se alcalinizó. Bajo condiciones apropiadas el blanco fué bajo y la densidad del color desarrollado fué proporcional a la cantidad de Dithianon presente. El producto colorido formado es probablemente un azofenol (21).

El color desarrollado por reflujo de Dithianon con 2,4 dinitro fenilhidrazina es de un color amarillo fuerte, pero al final la solución es ámbar. La temperatura y el período de reflujo no son críticos debido a que el Dithianon está en solución. Cuando la solución se alcaliniza, inmediatamente se oscurece pero se aclara entre 1 y 2 min para tomar las características del color ámbar atribuido al azofenol. Este color es

estable a la luz por cerca de 20 min con una decoloración posterior. Una reducción del 20% en intensidad es evidente cuando la solución final se guarda durante 12 horas. La pérdida del color ocurre cuando la solución es expuesta a la luz del sol.

Las curvas del espectro del dithianon de 0.1 a 2 mg preparada por medición de la absorbancia y la solución final es medida de 300 a 600 nm (ver figura 4). El dithianon presenta una absorción máxima a 360 nm; a esta longitud de onda el antecedente de absorción atribuido a la 2,4 dinitro fenilhidrazina es alto en la interferencia por surfactantes y la interferencia es más seria con una longitud de onda mayor.

La absorción del reactivo sólo es pérdida significativa a cerca de 450 nm; se seleccionó a 550 nm como la longitud de onda a la cual tiene una alta absorción razonable de la muestra y de un mínimo del reactivo usado como blanco. La gráfica de la absorbancia a 550 nm, contra un rango de 0 a 2.5 mg de Dithianon es lineal y es conveniente para análisis de éste. Una absorbancia de 0.75, medida contra el blanco es obtenida con 2,5 mg, de dithianon.

B) p-DIMETILAMINO BENCENDIAZO SULFONATO DE SODIO: DEXON

Se desarrolló un método colorimétrico para determinación de residuos de dexion en vegetales. Este método está basado en la copulación catalizada con luz del compuesto con resorcinol en solución alcalina. El producto formado es amarillo y se extrae con benceno y es medido en un espectrofotómetro a 450 nm. El dexion, es un fungicida usado para la protección de semillas en germinación y plantas de semillero. Es particularmente efectivo contra hongos del género Pythium, Aphanomyces y Phytophthora.

El dexion es un polvo café-amarillo que se disuelve en agua en un rango de 2 a 3% a 25°C para formar una solución de color anaranjado intenso. El compuesto es soluble en solventes altamente polares, tales como la

dimetilformamida pero, es insoluble en otros solventes orgánicos.

Como es el caso de muchos compuestos diazo (103), el dexion es extremadamente sensible a la luz, soluciones acuosas diluidas del compuesto son decoloradas completamente en 30 min. o menos cuando se exponen a las condiciones ordinarias de luz de un laboratorio. Sin embargo, las soluciones que incluyen extractos vegetales pueden ser estabilizadas por la adición de sulfito de sodio. De donde, se usa una solución de sulfito de sodio al 1% para la extracción inicial de la muestra.

El método analítico desarrollado depende de la copulación catalizada con luz del dexion con resorcinol en solución alcalina. La energía luminosa convierte el dexion estable a una forma lábil del compuesto, el cual es copulado con resorcinol dando un compuesto amarillo en solución ácida, que es extraída cuantitativamente con un solvente no polar tal como el benceno, este producto es estable por varios días.

El producto amarillo tiene un espectro de absorción - el cual se muestra en la Fig. 5. La máxima absorción ocurre a 450 nm. El coeficiente de absortividad molar para el compuesto azo es aproximadamente de 26,800 y el coeficiente de absortividad molar para el dexion es aproximadamente de 16,100 con un máximo de absorción a 420 nm. Como se indicó anteriormente, el dexion es soluble en agua y como tal puede ser dializable, para la separación y clarificación de residuos de dexion en extractos vegetales.

C) DITIOCARBAMATOS:

Etil bis (ditiocarbamato) de manganeso: Maneb
 Disulfuro de bis (dimetiltiocarbamil): Thiram
 Etilen bis ditiocarbamato disódico: Nabam
 Tris (dimetil ditiocarbamato) de fierro: Ferbam
 Etilen bis (Ditiocarbamato) de zinc: Zineb

Bis (dimetil ditiocarbamato) de zinc: Ziram
 Bis (Dietiltiocarbamil) disulfuro: Disulfiram

Un método analítico para residuos de fungicidas de -- ditiocarbamatos, está basado en la descomposición del ditiocarbamato en amina y disulfuro de carbono por -- calentamientos con ácidos minerales y medido colorimé -- tricamente. Generalmente, antes del tratamiento con - ácido se le agrega un agente reductor tal como el clo -- ruro estanoso y el acetato de plomo, para eliminar al -- gunas interferencias. Este método sufre algunas modi -- ficaciones, dependiendo del tipo de material de que - se trate. Si la cantidad de disulfuro de carbono a de -- terminar excede de 500 mg, la curva estandar no es -- lineal. Esta objeción por supuesto puede ser elimina -- da por análisis de pequeñas muestras. El método tiene varias ventajas:

a) Cualquiera de los ditiocarbamatos comunmente em --- pleados pueden ser determinados sin extracción preeli -- minar.

b) Una determinación puede llevarse a cabo en una ho -- ra o en menos una vez que los aparatos están prepara -- dos y la curva standar ha sido preparada.

Un método característico, rápido y relativamente sim -- ple para determinar residuos de thiram en granos es - por medio del cloruro cuproso, el cual es usado para - formar un complejo amarillo que es medido a 420 nm. - El método es satisfactorio para el análisis de 4 a -- 200 mcg. de thiram.

Lowen (78) usó un método electrométrico para la esti -- mación de thiram presente, como una impureza en Fer -- bam por reducción de thiram con sulfuro de sodio.

Un método comunmente empleado (94) consistente en la hidrólisis de thiram por ebullición con ácido sulfúri -- co diluido (1.1N) y absorción con disulfuro de carbo -- no, el producto de hidrólisis en el reactivo de Viles da un complejo amarillo que puede ser medido fotomé --

tricamente a 430 nm.

Heuermann (52) tiene reportado un método similar en el cual la dimetilamina es atrapada en una solución de sal de cobre conteniendo disulfuro de carbono, el color desarrollado es medido a 435 nm.

Esencialmente, el método colorimétrico descrito por Keppel (64) consiste en mezclar cloruro cuproso con una solución de thiram en cloroformo (4-42 mg de ---- thiram/ml), para formar un complejo amarillo cupro--so.

La absorbancia en el filtro (420 nm) debe ser leída 15 min. después de la filtración.

El método descrito puede ser usado para la determinación de pequeñas cantidades de thiram (4 mcg) y la relación entre la absorbancia y concentración es lineal hasta 200 mcg. La ~~reacción es~~ también cuantitativa --- por la alta solubilidad de thiram en cloroformo.

Otros ditiocarbamatos solubles en cloroformo (ferbam y ziram) forman complejos amarillos cuprosos con ese reactivo y también tienen una absorción máxima a 385 nm.

D) p-TOLUENSULFONAMIDA: P.T.S.A

En la evaluación de fungicidas en pinturas es necesario que los métodos sean rápidos, para determinar la cantidad del compuesto fungicida residual en la película de pintura después de varias condiciones de exposición, como una regla la cantidad de película de pintura apropiada es muy pequeña.

La p-Toluensulfonamida se determinó por tres métodos:

- a) Por extracción con un disolvente apropiado y una subsecuente determinación del espectro de absor---ción en U.V.
- b) Por determinación del contenido de nitrógeno y
- c) Por determinación del contenido de azufre.

El primer método no es muy sensible y consecuentemente no es muy exacto, pero vale la pena porque provee un chequeo de los valores analíticos para el nitrógeno y el azufre.

El nitrógeno se determina por el método de Kjeldhal y el azufre se determina quemando la muestra en un frasco de oxígeno, absorbiendo el dióxido de azufre formado, en solución caústica que contenga algo de peróxido de hidrógeno, y determinando el sulfato formado -- como sulfato de bario por titulación fotonefelométrica.

La determinación del azufre en substancias orgánicas por este método es conocida, pero el análisis de pequeñas cantidades de azufre en películas de pintura puede sufrir interferencias por la gran cantidad de pigmentos y extensores en la pintura. Tales interferencias son notorias.

III-7.- FUNGICIDAS ORGANICOS

A) SALICILANILIDA: S.A.

La salicilanilida en películas de pintura puede ser analizada por dos métodos:

- a) Por extracción con un disolvente adecuado y una de terminación subsecuente del espectro de absorción en U.V.
- b) Por determinación del contenido de nitrógeno.

Para la extracción de la S.A. se usa etanol. Un análisis de la cantidad de nitrógeno, indicó que toda la S.A. se extrae en una sola operación de extracción.

IV.- TECNICAS

IV.1.- FUNGICIDAS CLORADOS

A) 5,6 DICLORO-2-BENZOXAZOLINONA

Aparatos.- Se usa un espectrofotómetro para obtener el espectro de absorción mostrado en la figura 6. Todas las medidas fotométricas fueron hechas en un aparato electrofotométrico equipado con un filtro a 525 nm.

Reactivos:

- a) Cloroformo (A.C.S.)
- b) Hidróxido de sodio al 50% (en solución acuosa)
- c) Hidróxido de sodio 1N
- d) Nitrito de sodio 0.1N
- e) Resorcinol.- 2 g en 100 ml de agua destilada (esta solución debe prepararse el día que va a ser usada)
- f) Acetato de plomo trihidratado.- 100 g de acetato de plomo en un litro de agua destilada.
- g) Acido clorhídrico diluido.- Un volumen de ácido -- clorhídrico concentrado con 5 volúmenes de agua -- destilada.
- h) Papeles indicadores.- Papel pH y papel de almidón con yoduro de potasio.
- i) 5,6-dicloro-2-benzoxazolinona grado técnico.- Se purifica por reprecipitación dos veces en soluciones alcohol-agua y se seca a 100°C hasta peso constante. El producto purificado funde de 200 a 201°C.

Preparación de la muestra: Se colocan de 2.5 a 5.0 g de la piel para calzado en un aparato Soxhlet, con una mezcla de cloroformo-agua destilada (10:3 por volumen). Alrededor de dos horas son suficientes para la extracción. Al extracto obtenido se le añade 5 ml de solución de acetato de plomo (se puede omitir si se conoce que hay ausencia de taninos vegetales, los cuales se encuentran como tanatos de cromo).

Agitar el matraz y dejarlo en reposo por unos minutos, transferir su contenido a un embudo de separación usando pequeñas cantidades de cloroformo para --

enjuagar el matraz. Drenar del embudo la capa de cloroformo a un matraz de fondo plano de 250 a 300 ml de capacidad. Extraer la capa acuosa resultante en el embudo de separación dos veces con unos cuantos mililitros de cloroformo, y adicionar éstas porciones al matraz. Conectar al matraz un condensador en posición de reflujo y refluja. Enfriar y desconectar el condensador y añadir unas piedras de ebullición al matraz y colocar en baño maría el extracto hasta sequedad.

Técnica:

a) Hidrólisis.- Añadir 2.5 ml de hidróxido de sodio en solución al 50% y 30 ml de agua destilada al matraz que contiene el extracto, conectar a un condensador y poner a reflujo durante una hora a ebullición lenta. Engrasar las conexiones del condensador y la válvula de cierre antes de hacer la conexión. Desconectar el frasco tan luego como el período de reflujo haya concluido, esto será suficiente para prevenir el congelamiento debido al álcali.

Enfriar y añadir 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y transferir a un matraz volumétrico, lavando con pequeñas cantidades de agua destilada hasta lograr la transferencia cuantitativa. Enfriar la solución a temperatura ambiente, aforar el matraz con agua destilada. Mezclar por inversión de el matraz varias veces. Si es necesario, filtrar la solución a través de papel filtro grueso, a un vaso de precipitado. Descartar la primera porción que pase por el filtro.

b) Desarrollo del Color.- Pipetear una alícuota del filtrado que contenga menos de 0.5 mg del fungicida en un vaso de precipitado de 250 ml añadir 50 ml de agua destilada al vaso, probar con papel indicador el pH, en ésta etapa debe dar una reacción ácida. Añadir (1:6) para asegurar condiciones fuertemente ácidas (pH 1-2). Colocar el vaso en baño de hielo hasta 0 y 5°C. Añadir rápidamente un ml del reactivo de nitrito de sodio mezclar los contenidos y dejar reposar de 2 a 4 min. y probar con papel de KI-almidón, debe de dar un ligero color azul.

Verter la solución del vaso a un matraz volumétrico - de 100 ml. que contenga 20 ml de hidróxido de sodio - IN y 1 ml de reactivo de resorcinol al 2%. Enjuagar el vaso con agua destilada, añadirla al matraz, aforar a la marca, y agitar el contenido. Después de 5 - min leer el color de la solución, con un blanco en - la celda de referencia, usando un filtro de 500 nm. - El "blanco" debe ser preparado al mismo tiempo que la muestra y de la misma manera, excepto que no contiene fungicida.

Curva Estandar.- Preparar una solución del fungicida purificado con cloroformo que contenga 2.5 mg/ml. Pipetear 5 ml. de esta solución en un matraz, evaporar el cloroformo y proceder como en el paso de la hidrólisis ya descrito, con la excepción de que se usa un matraz volumétrico de 250 ml. La solución entonces - contendrá 0.05 mg/ml. Tomar 1,2,4,6,8 y 10 ml. de ésta solución y proceder con el desarrollo de color pa-
ra preparar unas series de colores estandares equiva-
lentes a 0.05,0.1,0.2,0.3, 0.4 y 0.5 mg de fungici-
da.

Con las lecturas fotométricas obtenidas en los colo-
res estandares construir una curva de calibración con
la cual, las lecturas de las soluciones desconocidas
pueden ser evaluadas.

B) 2,4 DICLORO 6-(0-CLOROANILINA)- S-TRIAZINA:DYRENO

Aparatos.

- a) Espectrofotómetro Beckman DU o equivalente.
- b) Baño maría.
- c) Mezclador.
- d) Máquina agitadora.
- e) Centrífuga capaz de sostener frascos de 250 ml.

Reactivos.- Todas las sustancias usadas son grado --
reactivo a menos que se especifique otra cosa. Todos
los solventes son destilados.

- a).- Alcohol isopropílico.
- b).- Benceno.

- c).- Alcohol etílico al 95%
- d).- Acetona
- e).- Acido clorhídrico 5 N.- Diluir 416 ml. de ácido clorhídrico concentrado a 1 litro con agua destilada.
- f).- Zinc metálico (en polvo)
- g).- Ayuda filtro
- h).- Nitrito de sodio grado reactivo 0.25% p/v en solución acuosa preparada recientemente.
- i).- Sulfamato de amonio al 2.5% p/v en solución acuosa, se prepara cada tres días.
- j).- Reactivo copulante.- Dicloruro, N-1, Naftiletilendiamina, al 1% p/v en solución acuosa, almacenar en refrigeración y preparar cada tres días.
- k).- Dyreno.- Material técnico de pureza conocida.
- l).- Solución Stock de Dyreno.- Disolver 0.1g de Dyreno en acetona Q.P., transferir a un matraz volumétrico de 500 ml. aforar con acetona y mezclar, 1 ml de esta solución contiene 200 mcg de Dyreno.
- m).- Solución estandar de Dyreno.- Diluir 5 ml. de la solución Stock en un matraz volumétrico de 100 ml, aforar con acetona, 1 ml de esta solución contiene 10 mcg de Dyreno.

Preparación de la muestra para vegetales.- Moler 100 g del material cortado en trozos con 100 ml de alcohol isopropílico en un mezclador durante 6 minutos. - En el caso de cebollas mezclar durante 15 min. Transferir el contenido a un matraz de tapón esmerilado y lavar con porciones sucesivas de agua destilada. Añadir un total de 400 ml. de agua destilada y 200 ml de benceno, agitar el matraz vigorosamente durante 30 min. Verter una porción del contenido del matraz en un frasco de centrífuga de 250 ml. de capacidad y centrifugar durante 15 minutos para separar las fases. - Pipetear una alícuota de 40 ml del benceno sobrenadante y filtrar a través de papel filtro Whatman No. 41 a un vaso de precipitados de 150 ml, lavar el papel con benceno. Evaporar en un baño maría con una corriente de aire hasta un volumen de aproximadamente 2 ml.

Preparación de la muestra para manzanas.- Cortar en cuadros 100 g. de tejido de manzana y colocar en un mezclador con dos porciones de 50 ml cada una de acetona y mezclar. Añadir otra porción de 100 ml de acetona y mezclar por 3 min más, transferir la mezcla a un matraz con tapón esmerilado. Enjuagar el matraz con dos porciones de 50 ml c/u de acetona y añadirlos al matraz. Colocar el tapón al matraz y mezclar durante 30 min. Filtrar la mezcla acetona-manzana a través de un embudo conteniendo fibra de vidrio y recoger el filtrado en un embudo de separación de un litro. Enjuagar el matraz con 100 ml de acetona y verter a través del embudo conteniendo la fibra de vidrio. Añadir 300 ml de agua al embudo de separación seguidos por 100 ml de cloroformo Q P. Agitar la mezcla suavemente durante 30 segundos y dejar separar las capas.

Drenar la capa inferior de cloroformo y recogerla en un vaso de precipitados. Agitar la solución de acetona seis veces más con porciones de cloroformo y combinar todos los extractos de cloroformo en el vaso. En éste paso se dificulta la operación porque se pueden formar emulsiones. Llevar a cabo dos o tres extracciones con cloroformo con agitaciones suaves. En caso que se formara una emulsión, se rompe ya sea por reposo o agitando con una varilla de vidrio. Las emulsiones persistentes se rompen por centrifugación. Se filtra la solución de cloroformo a través de un embudo conteniendo sulfato de sodio anhidro y se recoge el filtrado en una probeta graduada de 1 litro, enjuagar el embudo con tres porciones de 25 ml c/u de cloroformo y combinar los enjuagues con el cloroformo filtrado.

Mezclar la solución de cloroformo y anotar el volumen tomar una alícuota apropiada (alrededor de 200 ml) de la solución y transferir a un matraz erlenmeyer de 250 ml y evaporar a sequedad en un baño de agua usando una corriente de aire.

Técnica.- El extracto obtenido se coloca en un matraz de reflujo con ayuda de 10 ml de etanol al 95% (para extractos de cebolla, lavar con 5 ml adicionales de acetona para remover completamente el residuo ceroso) añadir 5 ml de ácido clorhídrico 5 N y reflujar en baño maría durante 5 horas. Añadir 0.2 g de zinc en polvo y reflujar otros 5 min hasta que la solución se de colore completamente, y transvasar a un matraz aforado de 100 ml con ayuda de agua y diluir con ésta hasta volúmen. Verter el contenido del matraz a un vaso de precipitados limpio y seco. Añadir una cucharadita de ayuda filtro, mezclar, dejar reposar durante 10 min y filtrar a través de un papel filtro Whatman número 12. Colocar alícuotas de 40 ml del filtrado claro en dos probetas con tapón esmerilado de 50 ml. Añadir 1 ml de solución de nitrito de sodio y mezclar. Después de 10 min añadir 1 ml de sulfamato de amonio grado reactivo, mezclar y dejar reposar durante 10 min.

Añadir 2 ml de reactivo copulante a cada una de las dos probetas. Diluir todas las soluciones al volúmen con agua destilada y mezclar fuertemente. Después de 60 min, determinar la absorbancia a 540 nm en celdas de 1.0 o 10.0 cm contra un blanco preparado de la misma forma que las muestras pero sin contener Dyreno.

Curva Estandar.- Pipetear cantidades apropiadas de una solución de etanol al 95% que contengan de 50 a 500 mcg de Dyreno en una serie de matraces volumétricos de 100 ml. Añadir etanol al 95% a cada matraz hasta el aforo. Añadir 5 ml de ácido clorhídrico 5 N a cada matraz y proceder con la hidrólisis y desarrollo de color como se describió anteriormente. La figura 3 muestra una curva de calibración típica.

Otra técnica para la determinación de dyreno en manzanas es aplicando la reacción de Zincke. El método es llevado a cabo de la siguiente forma:

a).- Preparación de la Alúmina.- Verter 250 ml de ácido clorhídrico 0.1 N en un vaso de precipitados de 600 ml. Añadir 250 g de alúmina agitar bien y llevar

a reposo por 30 min. Decantar el líquido sobrenadante y partículas finas. Transferir la alúmina a un recipiente de aluminio y calentar toda la noche en un horno a 100°C. Colocar la alúmina en un recipiente herméticamente cerrado.

b).- Preparación de la Columna.- La columna consiste de un tubo de vidrio (13 mm de diámetro interior) y 18 pulgadas de longitud y con uno de los extremos con un diámetro de alrededor de 5 mm. Sellar en esa parte con una pinza, insertar una conexión de fibra de vidrio en el tubo hasta que ajuste alrededor de la porción cerrada, llenar el tubo con benceno Q P y añadir alúmina hasta una altura de 6 pulgadas después dejar asentarse. Drenar el benceno hasta que su nivel sea justamente el tope de la alúmina. No se debe llevar hasta abajo porque le entra aire a la columna.

c).- Cromatografía y Desarrollo del Color.- Disolver el residuo después de evaporar el cloroformo, en 5 ml de benceno y verter la mezcla a la columna de alúmina. Enjuagar el frasco con 5 ml. de benceno y añadirlo a la columna. Forzar la muestra en la columna con 1 o 2 libras de presión de aire. Después que la mezcla paso la columna llenar el tubo con benceno, usando presión de aire. Recoger los primeros 40 ml en un tubo de ensaye de 25 por 200 mm, evaporar el benceno a sequedad en baño maría, usando una corriente de aire.

Curva Estandar.- (de 0 a 100 mcg. de dyreno). Pipetear alícuotas de la solución estándar de dyreno correspondientes de 0 a 100 mcg de dyreno en una serie de tubos de ensaye de 20 x 150 mm. Evaporar la solución a sequedad en un baño maría usando una corriente de aire, añadir 2 ml de piridina purificada y dejar reposar por 20 min para que se lleve a cabo la reacción, añadir 10 ml de éter de petróleo redestilado y verter la mezcla a un embudo de separación.

Enjuagar el tubo de ensaye con otra porción de 10 ml de éter de petróleo y agregarlo al embudo de separación.

Añadir exactamente 10 ml de agua destilada y agitar, dejar que se separen las capas y recoger la capa acuosa que es la inferior, si la capa acuosa esta turbia, filtrar a través de un papel filtro Whatman No. 40. - Tomar una alícuota de 5 ml de la capa de agua y ---- transferirlo en una cubeta de 0.5 pulgadas de diámetro. A partir de este punto cada muestra se trata por separado para desarrollar el color. Añadir 3 ml de hidróxido de sodio 3 N. Medir el % de transmitancia a 440 nm exactamente 2 min después de añadir el álcali y el agua en la celda de referencia.

C) PENTACLOROFENOL: PCP

Los aparatos y reactivos son descritos en la técnica

Técnica.- El pentaclorofenol y la N-(triclorometil--tio)-ftalimida en pinturas son determinados por 2 métodos:

a).- Por extracción con un solvente apropiado y determinación subsecuente de su espectro de absorción en el U.V.

b).- Por un análisis de cloro antes y después de la extracción. La tabla 3 nos muestra los resultados de un análisis inicial de PCP en varios tipos de pinturas y la tabla 4 nos muestra el contenido de PCP en un barniz de la tabla 3, y nos da los datos después de una exposición de 6 meses bajo una cierta variedad de condiciones.

Método (a).- En la tabla 3 el contenido de PCP proveniente derivado del total del contenido de cloro deberá ser igual a la suma PCP no extractable proveniente del derivado de cloro residual (columna 4) y el PCP extractable proveniente del derivado del análisis espectral (columna 3). La discrepancia mayor entre los valores, es de 5.3%, lo cual nos indica que cualquier pequeña diferencia en contenido de PCP deberá ser debido a error analítico. Puesto que la diferencia en el contenido de fungicidas deberá ser grande, el método

do propuestos aquí es adecuado.

Procedimiento.- Extraer de 100 a 200 mg de película de pintura que contiene PCP con 25 ml de ciclohexano por ebullición durante 30 min. Enfriar, filtrar el ci clohexano y llevar a 50 ml y medir la absorbancia a 302 nm.

Repetir la extracción una segunda vez. Usar como blanco el primero y segundo extracto con la misma cantidad de película de pintura que esté libre de PCP pero, que haya sido expuesta en la misma forma, esto es necesario porque la posibilidad de formación de productos de descomposición absorben en la misma región.

Método (b): Cloro total.- El cloro total es determinado por combustión de una película de pintura en un matraz de oxígeno y se determina el cloro formado por mercurimetría. Pequeñas cantidades en el orden de 5 a 10 mcg pueden ser analizados colorimétricamente con difenilcarbazona como indicador (56). Grandes cantidades pueden ser determinadas por titulación con nitrato mercúrico a un pH de 2 a 2.5 y usando difenil carbazona como indicador. El punto final es mucho más fácil de determinar si la titulación es llevada a cabo en una solución de etanol al 50% (71).

Procedimiento.- Pesar de 100 a 200 mg de una película de pintura en un papel filtro. Doblar el papel y pasarlo a un matraz de oxígeno, adicionar 2 ml de hidróxido de sodio 2 N, 8 ml de agua y 2 gotas de peróxido de hidrógeno de 100 volúmenes. Reemplazar el aire por oxígeno y llevar a ignición. Dejar reposar durante 30 min. Transferir el contenido del matraz a un vaso, evaporar a aproximadamente 10 ml, acidificar con ácido nítrico a un pH de 2 a 2.5 y adicionar etanol. Titular con solución de nitrato mercúrico equivalente a 0.3 mg de ión cloruro por mililitro. La solución de nitrato mercúrico es estandarizada con solución de cloruro de sodio.

D) TETRACLORO 1,4 BENZOQUINONA: CLORANILO, SPERGON

Aparatos

a).- Espectrofotómetro Beckman DU

Reactivos

a).- Hidróxido de sodio.- Disolver 20 g de hidróxido de sodio (en escamas) en agua y diluir a 1 litro.

b).- Acido acético.- Diluir 40 ml de ácido acético --glacial a 100 ml con agua.

c).- Cloranilo.- Grado técnico, purificado por recristalización 2 veces en ácido acético.

d).- Difenil -p-Fenilendiamina.- Se disuelve 0.5 g de difenil-p-fenilendiamina purificada en 50 ml de --benceno y se coloca en una botella ámbar. Esta solución debe ser preparada periódicamente.

e).- Solución extractora.- En una botella apropiada - para ácido colocar 850 ml de ácido acético glacial, - 100 ml de agua destilada y 50 ml de ácido clorhídrico. (Aerear periódicamente después de usarlo burbu--jeando a través de la solución gas nitrógeno seco durante 0.5 horas).

f).- Benceno grado reactivo

Técnica.- Para la determinación de cloranilo mezclado con insecticida proceder según lo descrito en - la curva estandar..Curva Estandar .- Pesar 0.3 g de cloranilo, ponerlo en un matraz volumétrico de 100 ml y diluir a - la marca con benceno; agitar hasta disolución. Usando una bureta o una pipeta, adicionar a una serie de 6 - matraces volumétricos de 50 ml exactamente 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 1.2 ml de la solución de cloranilo. Al primer matraz adicionar 10 ml de solución de hidróxi- do de sodio al 25% a una temperatura de 25°C e inme- diatamente agitar vigorosamente durante 15 seg, acidi- ficar lentamente con 1 ml de ácido acético al 40% y - diluir con agua hasta cerca de 45 ml, tratar los ----

otros matraces y también un blanco de 1 ml de benceno en la misma forma. Cuando el benceno está completamente separado de la fase acuosa, diluir lentamente cada matraz a la marca con agua, dejando el benceno subir por encima de la marca. Agitar bien y dejar reposar - por 10 min. Decantar el benceno del matraz y transferir una porción de la solución acuosa a un tubo de -- 19 x 150 mm. Medir la transmitancia en un espectrofotómetro adecuado a una longitud de onda de 545 nm. -- Graficar el por ciento de transmitancia contra concentración de cloranilo en papel semilogarítmico.

La figura (7) es una curva estandar típica de cloranilo y muestra que se sigue la ley de Lambert y Beer.

a).- Análisis de muestra no conocida.- Pesar una muestra conteniendo alrededor de 0.15 g de cloranilo; poner en un matraz volumétrico de 10 ml y diluir a la - marca con benceno. Agitar durante algunos minutos y - dejar reposar.

Pipetear exactamente 1 ml y transferir a un matraz volumétrico de 50 ml y proceder con el desarrollo de color en la misma forma que con el estandar. Preparar - un blanco de manera similar tratando 1 ml de benceno. Leer la transmitancia a 545 nm y determinar la cantidad de cloranilo en el matraz de 50 ml en la curva estandar.

b).- Extracción de cloranilo en verduras.- Se colocan 1000 g de la muestra triturada en 500 ml de benceno - en un recipiente apropiado de vidrio, protegiendo el contenido y tapándolo con un pliego de celofán o polietileno. Agitar por 15 min para disolver el cloranilo de la superficie de la muestra. Decantar el benceno y lavar dos veces con porciones de 100 ml de agua destilada para remover los agentes oxidantes solubles en agua, los cuales a veces están presentes e interfieren. Secar el benceno sobre sulfato de sodio anhídrido y filtrar a través de un papel filtro. Este filtrado es la muestra para el análisis.

c).- Técnica para la determinación de Cloranilo en --
Verduras. Transferir 400 ml del filtrado obtenido en
el paso anterior a un embudo de separación de 500 ml.
Añadir 5 ml del reactivo de difenil-p-fenilendiamina,
agitar vigorosamente durante 1 min y dejar reposar 4
min. Adicionar 50 ml de la solución extractora, agi-
tar vigorosamente por 1 min y dejar reposar de 1 a 2
min para separar las capas. Drenar la capa acuosa y -
medir la absorbancia a 700 nm, usando la solución ex-
tractora como referencia (fig. 8), 10 min después de
la adición del reactivo. Si la solución azul está tur-
bia, se filtra a través de papel filtro E-D-613 o ---
equivalente antes de medir la absorbancia. La intensi-
dad del color azul aumenta con el tiempo, de aquí, --
que el tiempo es un factor importante en el método.

El aumento de intensidad es equitativo con algunas se-
ries de análisis, con un promedio de 0.003 p.p.m. con
intervalos de 5 min. Para minimizar el error inheren-
te del incremento del color en las medidas espectrofo-
tométricas, se hacen 3 análisis simultáneamente (el -
límite de celdas que lleva el espectrofotómetro es de
4 celdas), pero el uso de la solución extractora como
referencia lleva a analizar en último término el blan-
co. De la curva estandar, determinar los microgramos
equivalentes a las absorbancias encontradas.

Curva Estandar..- Hacer una curva estandar de absor-
bancia contra concentración de cloranilo a 0.1, 0.2,
0.3, 0.4 p.p.m. (por ejemplo: 80, 160, 240 y 320 mcg
por 400 ml de benceno) cada vez que una nueva solu-
ción sea usada.

En análisis subsecuentes de esta muestra, diluir con
benceno lavando, con éste, hasta tener una alícuota -
de 400 ml que producirá una coloración dentro del in-
tervalo usual de la curva estandar.

Aunque individualmente las curvas estandar siguen la
ley de Lambert y Beer, las desviaciones de las cur-
vas obtenidas por el uso de diferentes lotes de solu-
ción extractora fueron muy pocas. Los límites de va-

riaciones de 12 curvas estandar típicas son mostradas en la figura 9, de la curva estandar promedio, los límites de variación son de + 7 %. La solución extractora (85 partes de ácido acético, 5 partes de ácido clorhídrico y 10 partes de agua) provee óptimas condiciones para eliminar la sal Wurster de la fase acuosa. Variando porciones de ácido acético, ácido clorhídrico o agua, se reduce considerablemente la cantidad de color azul extraíble en benceno.

E) N-(TRICLOROMETILTIO)-FTALIMIDA: (NPI)

Los aparatos y reactivos son descritos en la técnica.

Técnica.- Para la extracción de N.P.I., se extraen de 100 a 200 mg de película de pintura conteniendo N.P.I. con 25 ml de ciclohexano por ebullición durante 30 min. Enfriar, filtrar el ciclohexano y llevar a 50 ml y medir la absorbancia a 299 nm.

Repetir la extracción una segunda vez. Usar como blanco el primero y segundo extracto con la misma cantidad de película de pintura, la cual está ya libre de N.P.I., esto se hace porque la posibilidad de formación de productos de descomposición absorben en la misma región.

La curva de absorción de N.P.I. en ciclohexano a una concentración de 0.135 mg/ml es mostrada en la figura 10.

La tabla 5 da los resultados de un análisis inicial de N.P.I. Para la determinación de cloro total ver pentaclorofenol.

F) N-(TRICLOROMETILTIO)-TETRAHIDRO-FTALIMIDA: CAPTAN

Reactivos.- Todos los reactivos usados son de grado analítico.

- a) Acetona
- b) Bisulfito de sodio
- c) Hidróxido de sodio 2N.- Almacenado en una botella de polietileno.

d) Resorcinol metanólico.- Colocar 12.5 g de resorcinol en un matraz volumétrico de 100 ml y aforar a volumen con metanol, la solución se puede usar durante varias semanas cuando se almacena en un refrigerador.

Preparación de la muestra.- Para la preparación de la muestra en manzanas, peras, tomates y trigo entero, pequeños trozos de la superficie son agitados con benceno durante 5 minutos. Se filtra a través de papel filtro plegado y se toma una alícuota para el análisis.

Los métodos recomendados (30) para sangre, leche, carne y grasas son igualmente aplicables.

Otro procedimiento, basado en una extracción con hexano y acetona para una limpieza preliminar, es aplicable al trigo, arroz, etc. Las frutas y vegetales que tienen altos contenidos de pigmentos carotenoides, interfieren con la hidrólisis y la subsecuente formación del color y entonces en esos casos es necesaria una separación cromatográfica.

Técnica. Evaporar una porción de las extracciones con benceno de la muestra que contiene captan hasta sequedad y colocar el residuo en 1 ml de acetona. El cual contendrá de 3 a 30 mcg de captan. Colocar 1 ml de esta solución de acetona en un pequeño tubo de ensayo de 12 x 75 mm; y tapar el tubo herméticamente.

Disolver alrededor de 15 a 10 mg de bisulfito de sodio en 2 ml de hidróxido de sodio 2 N en un tubo de ensayo ordinario. Añadir 2 ml de resorcinol metanólico. Como el resorcinol metanólico tiende a colocarse en la parte superior de la capa del hidróxido de sodio, mezclar estos reactivos completamente. Verter los reactivos en el tubo que contiene Captan y transferir otras dos veces, tapar y colocar en la oscuridad. Leer la absorbancia en un espectrofotómetro a 447 y 500 nm por lo menos 12 min después de haber hecho la mezcla, pero no más de 1 hora después. Se puede usar como blanco, en algunos casos aire.

Una muestra de Captan libre del mismo material que el que se analizó al principio se puede llevar a través de todo el procedimiento. Esto también puede constituir un blanco.

Curva Estandar. La absorbancia debida al Captan se toma como la diferencia entre la lectura a 447 nm y la de 500 nm.

La última lectura sirve como un blanco interno. El procedimiento de arriba es seguido de una serie de soluciones estandar de Captan en acetona en el rango de 0.1 a 30 mcg/ml; y se prepara una curva estandar.

Es necesaria una curva estandar ocasionalmente a menos que se pida una alta precisión en las determinaciones.

Otro método para la determinación de Captan consiste en:

a.- Hidrólisis de Captan con monoetanolamina durante 1 min, en un baño de agua en ebullición; tornándose inmediatamente azul, el cual se hace amarillo con más calentamiento, concentraciones de Captan de 100 mcg bajo idénticas condiciones primero se torna amarilla pálido y anaranjado en calentamiento prolongado. Los insecticidas clorados como el BHC, DDT, Lindano, Aldrin, Dieldrin y Endrin se produce un color azul; de aquí que la reacción también puede ser usada para distinguir el Captan de otros insecticidas clorados.

El color amarillo formado por más calentamiento y dilución fué estable durante 30-40 min.

El espectro de la absorbancia mostró un máximo a 390 nm y obedece la ley de Beer en un intervalo de 15 a 100 mcg/ml de Captan.

Curva Estandar. Preparar una solución estandar de Captan (1 mg/ml) en acetona. A unas alícuotas conteniendo de 15 - 100 mcg de captan adicionar 1 ml de monoetanolamina y colocar la mezcla en un baño de agua en ebullición durante 1 min exactamente. Adicionar 1 ml de agua destilada y volver a colocar la muestra en el baño de agua durante 9 min, enfriar a temperatura ambiente diluir a 50 ml, con agua destilada y medir la absorbancia a 390 nm contra un blanco.

IV.2.- FUNGICIDAS CLORADOS-NITRADOS

A) TETRACLORONITROBENCENO: TCNB

Reactivos:

- a).- Hidróxido de tetraetilamonio al 10%
- b).- Hidróxido de tetraetilamonio al 2%. - Diluir 2 ml de solución al 10% con 8 ml de acetona grado reactivo. La dilución se debe hacer con 4 o 5 horas de anticipación a su uso.
- c).- Solución estandar de tetracloronitrobenceno. Disolver 100 mg de tetracloronitrobenceno en 100 ml de acetona de estas soluciones stock por diluciones apropiadas, preparar un standar de trabajo el cual contiene 10 mcg de tetracloronitrobenceno por 1 ml de acetona.

Preparación de la muestra.- Para la determinación de tetracloronitrobenceno en vegetales se usa una mezcla de 4 volúmenes de benceno grado reactivo y 6 volúmenes de acetona para su extracción en papas con esta mezcla el color se desarrolla más lentamente que con acetona sola. La mezcla es importante porque facilita el lavado de papas tratadas con un solvente inmiscible en agua (benceno) en el cual el tetracloronitrobenceno es extremadamente soluble. Después del filtrado el lavado del benceno puede ser diluido con 6 volúmenes de acetona. La acetona no es muy apropiada como solvente para el lavado de las papas, en vista de que se hidrata en el proceso y esto produce bajos resultados.

Técnica.- Proceder como se indica en la preparación de la curva estandar.

Curva Estandar.- En 6 tubos de ensaye graduados exactamente con una marca de 10 ml, transferir respectivamente, 0,1,2,3,4,5, ml de solución estandar de tetracloronitrobenceno (10 mcg por ml). Diluir el contenido de cada tubo a 10 ml con acetona grado reactivo y mezclar. Añadir 0.1 ml de hidróxido de tetraetilamonio al 2% a cada tubo y mezclar 10 min después, antes de 20 min leer las series estandar en un fotocolorí-

metro usando un filtro de vidrio cuyo color transmita una banda de luz en el rango de 540 a 560 nm. Cuando las lecturas colorimétricas son graficadas en un papel semilogarítmico, la gráfica resulta lineal. Las características del color rojo púrpura desarrollo en la prueba fueron determinados en un espectrofotómetro Beckman y son mostrados en la fig. 11. Una amplia banda de absorción ocurre en el rango de 536 a 556 nm, con el pico de máxima absorción alrededor de 548 nm.

B) PENTACLORONITROBENCENO: PCNB, TERRACLOR.

Aparatos:

- a.- Agitador mecánico
- b.- Baño de temperatura constante.- $80^{\circ} + 2^{\circ}\text{C}$
- c.- Espectrofotómetro.- Un Bausch and Lomb Spectronic 20, con celdas de 1" de diámetro; cualquier instrumento equivalente puede ser usado.

Reactivos:

- a.- Eter de petróleo.- grado reactivo lavado con ácido clorhídrico (1:1). Lavar con agua destilada hasta que los lavados sean neutros, secar con sulfato de sodio anhidro y guardar en botellas de vidrio.
- b.- Hidróxido de sodio etanólico 0.5 N.- Eliminar sulfatos por adición de 10 ml de una solución de hidróxido de bario saturada, dejar reposar toda la noche, filtrar y guardar en botellas de color ámbar.
- c.- Reactivo de color.- Disolver 0.350 g, de 1-naftilamina en 88 ml de ácido acético glacial y adicionar 200 ml de agua destilada, adicionar 7.5 g. de clorhidrato de procaína, diluir a 1 litro con agua destilada y guardar en una botella color ámbar en un lugar fresco.
- d.- Celita tratada.- Suspensión de celita 545 con ácido clorhídrico (1:1) y calentar a baño maría por 10 min, enfriar y lavar con agua destilada hasta que sea neutra el agua del lavado, secar a 100°C .

Preparación de la muestra.- Para la extracción de tetracloro en vegetales se tritura un peso representativo de muestra (de 0.5 a 3 kg) en un dispositivo apropiado.

Extracción.- Mezclar 100 g bien medidos de muestras trituradas con 100 ml de alcohol etílico por 2 min en un mezclador. Adicionar 200 ml. de éter de petróleo redestilado y mezclar por 2 min. Transferir la mezcla tan completamente como sea posible a botellas de centrífuga y centrifugar por 5 min a 1000 rpm. Transferir la capa del solvente superior a un separador de 1 litro, lavar la muestra con 100 ml de éter de petróleo y transferirlo a la botella de centrifugación. Agitar la botella de centrifugación por 2 min y centrifugar durante 5 min a 1000 rpm, transferir la capa del solvente superior, como anteriormente se hizo, repetir la operación lavando con 100 ml. de éter de petróleo, adicionar 300 ml de agua a los extractos combinados de éter en el separador y agitar vigorosamente por un minuto, drenar la capa acuosa en una botella de centrifugación dejando sólo la capa del disolvente clara en el embudo de separación. Adicionar 50 ml. de éter de petróleo a la botella de centrifugación, agitar por 1 min y centrifugar a 1000 rpm; transferir la capa de éter de petróleo a la porción principal en el separador. Drenar el extracto en un matraz de 500 ml, adicionar 10 g de sulfato de sodio anhidro y agitar vigorosamente por 1 min, filtrar a través de un papel filtro No 588 S and S o equivalente, conteniendo una capa de 10 g de sulfato de sodio anhidro; recolectar el filtrado en un segundo matraz de 500 ml, lavar el primer matraz con 2 porciones sucesivas de éter de petróleo y pasarlos a través del filtro. Cuidadosamente concentrar el extracto en un baño de vapor con una ligera corriente de aire a un volumen conveniente (de 10 a 50 ml). Este extracto es designado como la muestra impura en la tabla 6. Cuando son usados otros métodos la muestra debe ser purificada por métodos cromatográficos.

Técnica.- El método de Ackermann consiste en una hidrólisis alcalina y nitrito de potasio, el cual es usado para diazotizar el clorhidrato de procaina.

El producto diazotizado se une con 1-naftilamina, para dar una solución magenta, que tiene una absorción máxima a 525 nm.

Corrimiento de las muestras.- Transferir una alícuota de la muestra extraída y purificada a un matraz acetilador de 150 ml, y ajustar a 5 ml por concentración o por dilución con éter, proceder como se indica en la preparación de la curva standar. Son obtenidos mejores resultados cuando las alícuotas usadas contienen 25 mcg de terraclor.

Curva estandar.- Preparar una solución estandar conteniendo 2 mcg/ml de PCNB grado reactivo en éter de petróleo destilado, guardar a una temperatura menor de 20°C. Colocar 0,1,2,3,4 y 5ml de solución de prueba en matraces acetiladores de 150 ml con marca en 5 ml. Ajustar el volúmen de cada uno con éter de petróleo. Adicionar 2.0 ml de hidróxido de sodio etanólico y 1.0 ml de acetona grado reactivo a cada matraz. Calentar exactamente 7 min a 80°C en un baño de temperatura constante; ajustar la altura de los matraces de los cuales el fondo deberá estar sumergido solamente de 1/4 a media pulgada en el agua. Enfriar en baño de agua fría, adicionar 20 ml de reactivo de color. Ajustar el pH a 2.0-2.5 con ácido clorhídrico concentrado (5 gotas de ácido de una pipeta de 1 ml produce este pH con suficiente exactitud), adicionar 25 ml de éter de petróleo, tapar y agitar con un agitador mecánico durante 15 min transferir a un embudo de separación de 60 ml y dejar reposar durante 2 min sin agitación. Drenar la capa acuosa a un matraz de 125 ml con tapón adicionar 5.0 g de celita 545 tratada y agitar vigorosamente por 2 min. Vaciar el líquido en un embudo de centrifugación y centrifugar 2 min a 500 rpm. Decantar el líquido a través de un papel filtro de 7 cm de diámetro.

Medir la absorbancia a 525 nm y graficar la curva estandar, el complejo colorido no absorbe fuertemente, para permitir una evaluación de pequeñas cantidades de PCNB en celdas de 1 cm por lo cual se recomienda el uso de celdas de 5 cm (1).

IV.3.- FUNGICIDAS CUPROSOS

A).- 8-HIDROXIQUINOLINATO DE COBRE.

Reactivos.-

- a.- Solución de Benzoína-óxima al 2 % en etanol
b.- Mezcla de alcohol etílico-glicerol 2:1 en volúmen

Técnica:

a.- Determinación de 8-Hidroxiquinolína: Poner a reflujo de 100 a 200 mg de película de pintura con 25 ml de ácido sulfúrico 5 N durante aproximadamente 30 min. Verter y diluir a 50 ml con agua destilada y determinar la absorbancia, usando como blanco un extracto que contenga la misma cantidad de película de pintura pero, libre de 8-hidroxiquinolínato de cobre. La concentración del ácido con el cual se lleva a cabo la extracción no es importante, se obtuvo el mismo resultado cuando se usó ácido sulfúrico 0.2 N o 1 N.

b.- Determinación de cobre.- Llevar la muestra a pH de 8 y añadir un volúmen igual de solución de alcohol etílico-glicerol y 0.1 ml de la solución de benzoína-óxima al 2%. Medir la absorción a 380 nm. La solución es estable durante varias horas, la precipitación generalmente ocurre después de mucho tiempo. La tabla 7 da algunas mediciones.

c.- Determinación de cobre en presencia de 8-Hidroxiquinolína.- Tomar una muestra que contenga de 20 a 200 mg de cobre añadir 1 ml de solución de sulfuro de sodio y añadir un exceso de ácido sulfúrico 0.1N, llevar a la marca la solución final (10 ml.) con ácido sulfúrico 0.1N. Añadir sulfato de bario para recoger el sulfuro de cobre, centrifugar y verter el líquido sobrenadante. Lavar con unos cuantos ml de ácido sulfúrico 0.1 N y centrifugar. Remover el líquido del lavado completamente hasta donde sea posible y disolver

el sulfuro de cobre en 0.5 ml de ácido nítrico concentrado (Esta operación se lleva a cabo de 10 a 20 min con ligero calentamiento), separar por centrifugación el cobre de el sulfato de bario y determinarlo por el método que se considere apropiado, la tabla 8 da los resultados de los análisis de algunas muestras.

B) NAFTENATO DE COBRE Y 8-QUINOLINATO DE COBRE.

Aparatos:

- a.- espectrofotómetro.- Todas las medidas de absorbancia se obtienen con un espectrofotómetro Beckmann modelo DU equipado con celdas de 1 y 5 cm. Las muestras fueron pesadas de tal forma que se ajustaran los valores de las absorbancias entre 0.1 y 0.7 (80% a 20 % de transmitancia).
Valores menores que 0.015 se considera 0.

Reactivos:

- a.- Agua tridestilada.- El agua para la preparación de reactivos y lavado de recipientes de vidrio es tridestilada.
- b.- Soluciones estandar de cobre.- Una solución stock que contiene 500 mg de cobre/ml es preparada por dilución de 1.9640 g de sulfato de cobre pentahidratado en 1000 ml de agua tridestilada. Los estándares que contienen de 1 a 14 mcg de cobre/ml son preparados a partir de la solución stock.

Reactivos para el método del ácido rubeánico.- Todos los reactivos son grado reactivo.

c.- Solución Buffer:

- 1.- Disolver 300 g de acetato de sodio trihidratado en 500 ml de agua; filtrar, agregar 200 ml de ácido acético glacial.
- 2.- Disolver 200 mg de goma arábica en 20 ml de agua.

- 3.- Disolver 100 mg de ácido rubeánico en 20 ml de -- etanol, calentando si es necesario.
- 4.- Mezclar 2 y 3 con 1 y diluir a 1000 ml. Si se re- frigera esta solución es estable alrededor de 3 - meses.
- d.- Acido malónico.- Disolver 10 g de ácido malónico en 100 ml de agua, neutralizar con hidróxido de - amonio concentrado y diluir a 500 ml con agua.

Reactivos para el método del dibencilditiocarbamato - de zinc.

Todos los reactivos son grado reactivo.

- e.- Sulfito de sodio al 5% en agua.
- f.- Dibencilditiocarbamato de zinc al 0.05% en tetra- cloruro de carbono.
- g.- Sulfato de sodio anhidro.

Preparación de la muestra.- Para la determinación del naftenato de cobre y 8-quinolinato de cobre en teji- dos textiles, una muestra de fibra de 3 a 5 mg es to- mada al azar, localizada en todas las fibras de una - porción grande. Aproximadamente 10 g. de tejido tex- til son necesarios para la muestra. Muestras al azar fueron usadas para obtener una indicación de la dis- tribución uniforme del fungicida en el tejido textil.

Rees (97) **encontró** que tejidos de cloruro de polivini- llo pueden digerirse con una mezcla de ácido sulfúri- co/ácido nítrico 1:1 (V/V) concentrados. Como los te- jidos cubiertos de vinilo es uno de los tejidos más - difíciles de digerir, éste método de digestión es --- aceptado tentativamente.

Un trabajo preliminar indicó que muestras aproxima- damente de 5 mg de una variedad de tejidos fueron dige- ridos con una pequeña porción de 0.1 ml de esta mez- cla en menos de 5 min. En este método las muestras - son digeridas con 0.2 ml de la mezcla ácida en un ma- traz Kjeldahl hasta que se envuelva en humos cafés.

Técnica:

a.- Determinación de cobre en naftenato y 8 quinolina to de cobre.

1.- Por el método del ácido rubeánico.- Digerir de 3 a 5 mg de tejido textil en 0.2 ml de mezcla de -- 1:1 de ácido sulfúrico y ácido nítrico hasta que todos los humos del ácido nítrico se desvanezcan (el volúmen final del digerido debe ser esencialmente de 0.1 ml), añadir 0.1 ml de hidróxido de amonio concentrado al digerido enfriado, lavar -- las paredes del matraz con 1.0 ml de ácido malóni co en solución, añadir 3.0 ml, de solución Buffer rubeánico (pH finales de 4.2 4.3), después de 30 min transferir a una celda espectrofotométrica de 1 cm y leer la absorbancia a 385 nm contra un --- blanco.

Determinar el contenido de cobre por referencia a una curva estandar que cubra un intervalo de 1-14 mcg de cobre.

2.- Determinación del contenido de cobre por el método del dibencilditiocarbamato.- Digerir una muestra del tejido textil como se indicó en el punto 1 de esta sección. Añadir de 5 a 10 ml de agua -- tridestilada al digerido enfriado y transferir el contenido a un embudo de separación de 60 ml, enjuagar el matraz digestor por lo menos 2 veces y recoger los enjuages. Añadir 5 ml de sulfito de sodio en solución y 5 ml de reactivo de dibencilditiocarbamato y agitar vigorosamente, por lo menos 1 min. Drenar la capa de tetracloruro de carbono en un vaso de precipitado de 20 ml, que contenga de 1-2 g de sulfato de sodio anhidro, agitar el contenido del vaso y dejar reposar.

Decantar la solución cristalina en una celda es-- pectrofotométrica de 1 cm y determinar la absor-- bancia a 440 nm contra un blanco, (un método al-- ternativo para clarificar las solución involucra

el paso de la solución colorida a través de una pequeña columna de sulfato de sodio soportado en un pequeño embudo con un tapón de fibra de vidrio). En este paso, la solución clarificada puede ser colocada directamente en la celda espectrofotométrica. Se determina la cantidad de cobre tomando como referencia una curva estandar que cubra un intervalo de 1-14 mcg de cobre.

Curva Estandar. De acuerdo a lo especificado en aparatos y reactivos, utilizar la solución estandar de cobre para la determinación de dicha curva de acuerdo al intervalo determinado en la técnica.

IV.4.-FUNGICIDAS MERCURIALES

A) ETIL Y FENIL MERCURIO

Reactivos:

- a.- Agua y cloroformo.- deben ser redestilados
- b.- Solución de ácido clorhídrico 3.5 N-solución de ditizona con clorhidrato de hidroxilamina al 20%: a 17 ml, de ácido clorhídrico 3.5 N adicionar 1 ml de solución de ditizona conteniendo clorhidrato de hidroxilamina al 20%
- c.- Acido clorhídrico 3N.
- d.- Solución de acetato de sodio.- Una solución de acetato de sodio se ajusta a un pH de 4.5 con ácido acético glacial, diluido a concentración normal con respecto al acetato de sodio y rigurosamente purificado con extracción de ditizona.
- e.- Solución de ditizona en cloroformo.- Disolver 1 mg de ditizona en un ml de cloroformo. Esta solución deberá refrigerarse y diluirse cuando se necesite.
- f.- Solución estandar de fenil mercurio.- Disolver 100 y 50 mg de acetato de fenil mercurio químicamente puro en 3 o 5 ml de ácido acético glacial y diluir a 250 ml. La concentración deberá ser chequeada por titulación con tiocianato de amonio 0.005N por el método de Volhard.

g.- Solución estandar de etil mercurio.- Disolver 50 mg. de fosfato de etil mercurio con agitación prolongada, en cerca de 300 ml de agua y se diluye a 500 ml, esta solución se descarta cuando se le forma precipitado.

En caso de usar compuestos de fenil mercurio como en el caso del ftalato y el salicilato, se disuelven en hidróxido de sodio 0.02N. El borato de fenil mercurio se disuelve en agua.

Preparación de la muestra.- Para la extracción del etil y fenil mercurio, el número de extracciones es variada. Los resultados de las pruebas reportados en que el mercurio inorgánico es parcialmente extraído con soluciones de ácido clorhídrico 2N, dos extracciones cuando el ácido clorhídrico es 3N fueron seleccionados. Se obtuvieron mejores datos con 3 extracciones.

Aproximadamente 1000 mcg de mercurio en 20 ml de agua decolora a la ditizona en un embudo de separación conteniendo reactivo b sin embargo el ácido 3 N en un embudo de separación extrae el mercurio inorgánico de la solución de ditizona en cloroformo.

Técnica.- El cloruro de etil y fenil mercurio son disueltos en una concentración de 50 mg por 50 ml de hidróxido de sodio 0.02N, por agitación prolongada.

Entre 50 y 100 mcg de uno de los compuestos de etil o fenil mercurio mencionados arriba, en 0.5 a 20 ml. de agua, ácido o álcali muy diluido son cuidadosamente medidos dentro del primer embudo de separación, el embudo es agitado vigorosamente 1 min. Cuando las capas se separan el cloroformo es drenado dentro del embudo que contiene el reactivo c. La agitación es repetida y después que se separa la capa de cloroformo, se transfiere al embudo de separación que contiene el reactivo d.

Siguiendo agitando y separando, el porcentaje de --- transmitancia es determinado en un fotocolorímetro --

usando el filtro 620 con 6 ml de cloroformo, usado como blanco para dar 100% de transmitancia. El color -- verde de la ditizona que no reaccionó es determinado más bien que el amarillo del compuesto orgánico de -- ditizonato de mercurio. Los valores para muestras no comerciales son determinados, por comparación con la curva estandar.

No obstante que el método es designado para ser usado en el intervalo de 50 a 150 mcg de diferentes compuestos de etil o fenil mercurio por uso de 8 ml de solución de ditizona, conteniendo 3 mcg por ml. Un mcg -- puede ser determinado con el procedimiento antes mencionado.

El porcentaje de transmitancia es determinado inmediatamente. No obstante estos ditizonatos son igualmente estables a la luz ordinaria por 3 horas.

La estabilidad del color puede ser mejorada por la -- presencia de ácido acético glacial en el buffer (68).

Curva Estandar. Cantidades conocidas del compuesto -- que se está examinando, son tratadas a través del procedimiento descrito y gráficas en papel semilogartimico. La curva sigue la ley de Beer. Los compuestos -- de etil mercurio generalmente no se obtienen en forma pura, sin embargo la cantidad de fosfatos de etil mercurio puede ser determinada de la curva de acetato de fenil mercurio con menos de 2% de error con la formula: $L_1 - \frac{X}{500} = L_2$

En la cual L_1 es la densidad fotométrica de X mcg de acetato de fenil mercurio y L_2 es la densidad fotométrica de X mcg de fosfato de etil mercurio, otros diferentes compuestos de etil mercurio pueden ser calculados del % de etil mercurio. El mismo principio se -- aplica a compuestos de fenil mercurio.

IV.5.- FUNGICIDAS NITRADOS

A) 2-(1-METILHEPTIL)-4,6 DINITROFENIL CROTONATO:
CARATENOReactivos:-

- a.- N,N Dimetilformamida grado espectro
- b.- Florisil.- de 60 a 100 mallas, temperatura de activación de 726.6 grados centrigrados (1 200°F).
- c.- Mezcla de hexanos con un punto de ebullición de - 60° a 80°C
- d.- Carateno grado reactivo
- e.- Benceno grado reactivo analítico
- f.- Etanol grado reactivo analítico
- g.- Solución de hidróxido de tetraetilamonio.- A un - volúmen de solución acuosa de hidróxido de tetraetilamonio al 25% p/v añadir 9 volúmenes de etanol.

Preparación de la muestra.- Para la extracción del carateno en fresas se agitan de 6 a 8 fresas en un vaso de precipitados conteniendo 10 ml de benceno; colocar un poco de sulfato de sodio anhidro en el vaso si las fresas estan húmedas. filtrar el benceno a través de una capa de 10 mm de sulfato de sodio anhidro contenido en un embudo de filtración con un papel Wathman No. 54. Lavar la capa de sulfato de sodio y el papel filtro con 5 ml de benceno y adicionar los lavados al filtrado, evaporar a sequedad.

Para la solución estandar de carateno, se agitan 50 g de carateno polvo dispersable (25%) con 200 ml. de benceno, filtrar y concentrar el benceno a aproximadamente 50 ml. Pasar la solución a través de una columna cromatográfica (20 mm de diámetro interno) empacada en seco con alúmina activada (22) con un espesor de 50 cm. Lavar la columna con benceno, recoger los primeros 200 ml de eluido y evaporar a 50 ml, repetir el tratamiento con alúmina 2 veces. Evaporar el eluido final a sequedad bajo presión reducida a 60°C y calentar el residuo espeso a 60°C y 0.1 mm de presión hasta peso constante (aproximadamente 24 horas), pre-



parar la solución estandar (100 mcg/ml) de éste residuo en benceno y colocarlo en una botella ámbar.

Este tratamiento logra la separación de algunos nitrofenoles libres presentes y de esteres mononitrofenilos y dinitroaquilbencenos, la presencia de los cuales puede ser esperado del método de manufacturización del fungicida.

Para hojas de manzanas, se lavan 3 hojas con tres porciones sucesivas de 10 ml de benceno, se filtran y se lava el papel filtro con 5 ml de benceno. Se evapora el filtrado (o una porción de esto que no contenga más de 200 mcg de carateno) a 60°C bajo presión reducida. Adicionar 1.5 ml de benceno y agitar vigorosamente para disolver el residuo, añadir 1.5 ml de solución de hidróxido de tetraetilamonio y calentar a 60°C 30 min, enfriar y transferir a un embudo de separación con ayuda de 5 ml de benceno y 5 ml de hidróxido de sodio 0.1N. Agitar el embudo vigorosamente, dejar separar las capas y recoger la porción acuosa. Lavar la capa de benceno con dos porciones de 5 ml cada una de hidróxido de sodio 0.1 N y añadir los lavados a la primera solución acuosa.

Acidificar la combinación de soluciones acuosas con 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado, extraer con 5 ml de benceno y descartar la capa acuosa, filtrar el benceno a través de una capa de 10 ml de sulfato de sodio anhidro; recolectar el filtrado en una probeta graduada. Lavar el sulfato de sodio con más benceno hasta que de un volúmen total de 8,5 ml.

a.- Extracción de carateno en frutas en general.- Se machacan hasta partículas finas una muestra representativa de éstas en un triturador de alimentos apropiado, se pesan 500 g de este material en un recipiente de 1 galón equipado con un sistema de mezclado. Adicionar un litro de mezcla de haxanos (punto de ebullición de 60 a 80°C) y mezclar durante 30 min a 35 rpm. En el caso de uvas el paso del picado se omite. El agitador mecánico no se puede abrir durante por lo

menos 10 min después del procedimiento de mezclado - para permitir la dispersión de la emulsión formada.

Decantar la mezcla en un vaso de precipitados que con tenga 200 g de sulfato de sodio anhidro y mezclar uni formemente. Filtrar a través de un papel filtro es triado a un frasco herméticamente cerrado hasta que - sea analizado.

Técnica.- Evaporar el solvente bajo presión reducida con un matraz evaporador rotativo. El frasco evapora dor primero esta parcialmente sumergido en un baño de agua de 40 - 50°C. Quitar el matraz del evaporador -- hasta que las trazas más pequeñas del solvente hayan desaparecido y enjuagar las paredes con 4 ml, de N-N, dimetilformamida. Tapar y agitar los contenidos oca sionalmente para asegurar la completa disolución de todo el carateno presente. Después de 20 min, filtrar a través de fibra de vidrio. Esto puede ser complemen tado pasando la solución a través de un pequeño embu do empacado con fibra de vidrio en el extremo. Trans ferir la solución a una celda de 1 cm y directamente filtrar a la celda y determinar la absorbancia del co lor amarillo resultante contra N,N-dimetilformamida - en un espectrofotómetro a 444 nm. Para el caso de fre sas se disuelve el residuo obtenido en 8.5 ml de ben ceno, adicionar 5 ml de etanol y 1.5 ml de hidróxido de tetraetilamonio, calentar durante 30 min a 60°C. --- Enfriar y medir la absorbancia a 425 nm para el caso de hojas de manzana al filtrado obtenido de 85 ml en benceno, añadir 5 ml de etanol y 1.5 ml de solución - de hidróxido de tetraetilamonio, mezclar vigorosamen te y medir la absorbancia a 428 nm.

Eliminación de interferencias.- Uno de estos dos pro cesos se pueden usar para eliminar interferencia de los extractos.

a.- Columna cromatográfica de florisil.- Transferir - una alícuota de 100 ml de la muestra, (Extraídos de - 50 g de frutas) a través de una columna de 2.5 por 25 cm que contiene 20 g de florisil (de 60 a 100 mallas) previamente enjuagado con 50 ml de éter etílico al --

60% en mezcla de hexanos, lavar la columna sucesivamente con porciones de 50, 100 y 150 ml. de éter etílico al 60% en una mezcla de hexanos. Desechar los primeros 50 ml del lavado, recolectar los dos lavados --subsecuentes en un matraz de evaporación de 500 ml. -- Si se usa una muestra de 200 ml (extraída de 100 g de fruta) descartar los primeros 150 ml del eluyente de la columna, recolectar los 50 ml restantes y todos -- los lavados subsecuentes en un matraz de evaporación de 500 ml.

b.- Tratamiento con ácido sulfúrico.- Transferir unos 100 o 200 ml de alícuota de la muestra (extraídos de 50 a 100 g de fruta) a un embudo de separación de 500 ml y adicionar 20 ml de ácido sulfúrico concentrado -- tapar y agitar lentamente durante 3 min, llevar a reposo durante 5 min para separar las fases y entonces, remover y desechar la capa inferior ácida. La capa -- superior emulsificada se retiene en el embudo. Lavar esta fase superior con 4 porciones de 50 ml con agua destilada. Agitar el embudo vigorosamente y entonces descartar la capa acuosa. Transferir la mezcla resi-- dual a través de una columna de 2.5 por 25 cm. que -- contenga aproximadamente 100 g de sulfato de sodio -- anhidro. Recolectar el eluido en un matraz de evapora-- ción de 500 ml, enjuagar el embudo de separación 2 ve-- ces con porciones de 50 ml cada una de la mezcla de -- hexanos y añadir estos lavados a la columna cuando el nivel del fluido es aproximadamente 1 pulgada arriba del sulfato de sodio. Lavar la columna con una alícuo-- ta adicional de 50 ml de mezcla de hexanos y verter -- el eluido y lavados en el matraz de evaporación.

Curva Estandar..- Preparar una curva de calibración -- por dilución de alícuotas de una solución stock (100 mcg/ml de carateno en mezcla de hexanos), con mezcla de hexanos que contengan de 5 a 50 mcg de carateno -- por ml. Transferir muestras de 1 ml de las diluciones a cada uno de los diferentes matraces de evaporación y evaporar el solvente a presión reducida con un eva-- porador rotativo. Una vez que el solvente es removi--

do, adicionar 4 ml de N.N-dimetilformamida.

IV.6.- FUNGICIDAS SULFURADOS

A) 2,3 DICIANO-1,4 DIHIDRO-1,4 DATIOANTRAQUINONA:
DITHIANON.

Aparatos:

a.- Espectrofotómetro

Reactivos.

- a.- Trozo de alambre número 12 de Fe.
- b.- Solución de 2,4 dinitrofenilhidrazina.- Agitar mecánicamente un exceso de 2,4 dinitro fenilhidrazina en metanol durante 15 min y filtrar la solución en papel filtro No. 40. Diluir 20 ml del filtrado a 100 ml con metanol, esta solución es estable en un mínimo de tres semanas en condiciones normales de laboratorio.
- c.- Solución de hidróxido de sodio 1N en metanol al 80%.- Disolver 20 g de hidróxido de sodio en 100 ml, de agua, enfriar y diluir a 500 ml con metanol.
- d.- Solución estandar de dithianon.- Disolver 0.10 g de dithianon en 200 ml de cloroformo. Esta solución debe ser guardada a 5°C. Un mililitro de esta solución contiene 0.5 mg de Dithianon.

Técnica: La técnica es dada como se indica en la curva estandar.

Curva Estandar. Pesar una porción de muestra bien mezclada, conteniendo cerca de 0.1 g de Dithianon dentro de un vaso de 50 ml. Adicionar 15 ml de acetona y triturar con una varilla de vidrio hasta que se obtenga una suspensión homogénea. Transferir a un matraz aforado de 250 ml con ayuda de 150 ml de cloroformo, en pequeñas porciones y coleccionar los lavados en el mismo matraz. Agitar el matraz vigorosamente por 1 min, diluir a la marca con cloroformo y mezclar; esta es la

solución A. transferir 5.0 ml de solución A y 0,1.0, 2.0,3.0,4.0,5.0, de solución estandar equivalente a 0,0.5,1.0,1.5,2.0 y 2.5 mg de Dithianon respectivamente a 7 tubos de prueba secos, ajustar el volúmen de cada estandar a 5 ml con cloroformo, añadir un pedazo de alambre a cada tubo y evaporar el solvente pasando una corriente de aire dentro de cada tubo los cuales están sumergidos a la mitad en un baño maría. Adicionar 5.0 ml de reactivo de 2,4 dinitrofenilhidrazina y reflujar a ebullición con la mitad del tubo de prueba sumergido en un baño de agua a ebullición durante 5 min.

Tapar el tubo de prueba, girar el contenido para disolver algún residuo que quedara en las paredes del tubo, después enfriar en agua, adicionar 10.0 ml de solución de hidróxido de sodio en metanol y mezclar. Dentro de 5 a 20 min medir las absorbancias de las soluciones a 550 nm en una celda de 1 cm contra un blanco de referencia conteniendo únicamente reactivo.

Trazar la gráfica de calibración relacionando las absorbancias de los estándares de las concentraciones de Dithianon en mg y leer el contenido de la muestra de la solución de Dithianon, alternativamente, calcular el contenido de dithianon por interpolación. Esta cantidad puede ser "Y" mg.

$$\text{contenido de muestra de dithianon \%} = \frac{5 Y}{W}$$

Donde W es igual al peso de la muestra tomada en gramos.

B) p-DIMETILAMINOBENCENDIAZO SULFONATO DE SODIO:DEXON

Aparatos:

a.- Espectrofotómetro.- Un espectrofotómetro equipado con celdas de 6 ml de volúmen.

- b.- Bandeja refrigerante con vidrio de borocilicato, con dimensiones de 6 x 10 x 2 pulgadas.
- c.- Tubo de diálisis de celulosa sin costura.

Reactivos:

- a.- Dexon recristalizado.

Preparación de la muestra.- Para la extracción del dextran en semillas de algodón se tiene que, debido a las amplias variedades de ésta y al contenido de humedad en las cosechas, es necesario usar diferentes procedimientos de mezclado para la preparación de la muestra. Para las semillas de maíz y jugo de caña de azúcar, se mezclan con 150 ml de solución de sulfito de sodio al 1%. La piña es triturada y mezclada con una cantidad igual de solución de sulfito de sodio al 1%. La semilla de sorgo es triturada en seco en un mezclador a velocidad elevada por un minuto y después de mezcla con 250 ml de sulfito de sodio. Las semillas secas de maíz son mezcladas directamente con 250 ml de solución de sulfito de sodio. La caña de azúcar es cortada en pequeñas piezas y triturada en seco en un mezclador a velocidad elevada durante 1 min y se mezcla con 300 ml de sulfito de sodio.

Dado que en las semillas de algodón el alto contenido de aceites de las semillas, indica que un sistema totalmente acuoso no puede ser práctico para posteriormente poder realizar una diálisis de los residuos de dextran, los cuales pueden estar presentes en o sobre las semillas de algodón. Sin embargo se ha encontrado que una mezcla de sulfito de sodio acuoso y benceno dan una extracción satisfactoria del dextran en las semillas de algodón. En el procedimiento adoptado finalmente, una porción de 25 g de semillas de algodón son mezclados durante 2 min a alta velocidad con una mezcla de 100 ml de benceno y 200 ml de solución de sulfito de sodio; y el Dexon es removido de la mezcla por diálisis.

Para la diálisis, la suspensión obtenida es transferida cuantitativamente del mezclador a un tubo de diálisis de celulosa sin costura previamente anudado 2 veces en uno de los extremos (todos los tubos de diálisis deben ser remojados por lo menos 5 min, en la solución de sulfito de sodio antes de ser usados, el tubo debe tener dos veces la longitud requerida para --contener la muestra).

Eliminar el aire del tubo y anudar dos veces el extremo abierto del tubo. Colocar el tubo en un recipiente de vidrio que contenga 600 ml de sulfito de sodio al 1%, añadir 5 gotas de tolueno como preservativo. Dializar la muestra por 20 horas a temperatura ambiente, verter el difundido en una probeta graduada de 1000 ml y medir el volúmen.

Técnica:

a).- Reacción de copulación.- Para la reacción de copulación el difundido es transferido a una bandeja refrigerante poco profunda de vidrio de borosilicato -- (en el caso de semilla de algodón, el difundido es -- transferido a un embudo de separación de 1000 ml) y -- añadir 100 ml de benceno, agitar la mezcla vigorosamente durante 30 seg, dejar separar las fases y drenar la capa inferior acuosa a un vaso de precipitados de 1 litro, descartar la fase superior (benceno) ---- transferir la capa acuosa a una bandeja refrigerante poco profunda de vidrio de borosilicato. Colocar la -- bandeja en otra más grande que contenga hielo picado, añadir con agitación 15 ml de resorcinol 4.0 M a la -- muestra seguida por 25 ml de hidróxido de potasio 4.0 N. Irradiar la muestra durante 30 min con dos fuentes de luz (150 watts), manteniendo las lámparas de 7 a 8 pulgadas arriba de la superficie del líquido. Terminar las irradiaciones antes indicadas y verter la --- muestra a un vaso de precipitado de 2000 ml. Añadir -- 60 ml de fosfato de potasio monobásico 0.6 M, solu--- ción buffer y también 30 ml, de ácido clorhídrico a -- la muestra en el vaso de precipitado, transferir inme

diatamente la muestra a un embudo de separación y añadir 100 ml de benceno. Agitar la mezcla vigorosamente durante 60 seg. Dejar separar las fases y drenar lentamente descartando la fase inferior (acuosa). Drenar la capa de benceno a una probeta graduada de 100 ml - y medir el volúmen.

El análisis puede ser interrumpido sólo cuando el producto copulado esta en el benceno.

b).- Medición Espectrofotométrica.- Transferir 90 ml de la fracción del benceno a un embudo de separación de 250 ml. Si la fracción obtenida del benceno es menor de 90 ml anotar el volúmen y aplicar la corrección apropiada a los cálculos. Añadir 25 ml de hidróxido de potasio 1.0 N a un embudo de separación y agitar la mezcla vigorosamente durante 30 seg. Dejar separar las fases y entonces drenar lentamente la capa inferior (acuosa) a un embudo de separación de 250 ml con una segunda porción de 25 ml de solución alcalina. Añadir 25 ml de una solución buffer de fosfato de potasio monobásico 0.6 M, a un embudo de separación que contiene los extractos alcalinos combinados, añadir 25 ml de ácido clorhídrico 2N y 10 ml de benceno y agitar la mezcla vigorosamente. Dejar separar las fases y drenar lentamente descartando la fase inferior (acuosa). Secar el extracto de benceno en una probeta graduada que contenga dos o tres g de sulfato de sodio anhidro.

Transferir el extracto de benceno seco a una celda (6 ml de volúmen) y leer la absorbancia en el espectrofotómetro a 450 nm, contra un blanco preparado en condiciones similares a la muestra pero, sin activo.

Curva Estandar.- Se obtuvo una curva estandar por adición de cantidades conocidas de dextran a una solución de sulfato de sodio al 1%, tratando la muestra como en la reacción de copulación y graficando absorbancia contra microgramos de dextran presentes sobre ml. La curva obedece la ley de Beer a una concentración de 1 mg/ml, en la solución final tiene una absorbancia de 1.09.

C) DITIOCARBAMATOS: MANEB, THIRAM, ZINEB, ZIRAM, NABAM, FERBAM y DISULFIRAM.

Reactivos:

- a.- Soluciones de thiram. Preparar soluciones de thiram que contengan de 4- 100 mcg/ml en cloroformo.
- b.- Solución de cloruro cuproso al 0.1%.-- Disolver -- 100 mg de cloruro cuproso químicamente puro en -- 20 ml de ácido clorhídrico 0.1N. Diluir a 100 ml con etanol al 95%. Se prepara en el momento de -- ser usada.
- c.- Reactivo de color.-- A 0.012 g de acetato cúprico monohidratado en un matraz volumétrico de 250 ml se adicionan 25 g de dietanolamina y se diluye a la marca con etanol y se mezcla (34).
- d.- Solución estandar de disulfuro de carbono.-- Con una bureta añadir exactamente 0.5 g de disulfuro de carbono, a un matraz volumétrico de 100 ml que contiene 50 ml de etanol. Diluir a la marca con etanol y mezclar. Diluir 2 ml de esta solución a 100 ml con etanol para la solución estandar.
- e.- Solución de hidróxido de sodio al 6.5% p/v.

Preparación de la Muestra.-- Para la extracción de ditiocarbamatos en granos, se toman de 1-5 g de granos y se extraen de 5 a 6 veces con 1-2 ml de cloroformo en un frasco cónico de 100 ml por agitación durante -- 1 a 2 min, combinar los extractos y diluir a 25 ml -- con cloroformo y filtrar la solución si está turbia, usar una cantidad conocida de extracto. (2 ml o menos para desarrollar el color).

Para la extracción de Ditiocarbamatos en vegetales y frutas, se dividen las muestras por cuarteo para obtener una muestra representativa. Para vegetales y frutas grandes se cortan en porciones de forma triangu--

lar que incluya la superficie externa de cada unidad. Mezclar y pesar la muestra (100 g o menos)

Técnica para frutas y Vegetales:

a.- Aparato.- Poner un matraz de 500 ml de 3 bocas en un recipiente de ebullición controlada por medio de un reostato. Pasar aire a través de una de las bocas de el matraz por medio de un tubo que llegue al fondo del matraz. Colocar un embudo de adición a la tercera boca a través de la cual se introduce un ácido. Conectar en la boca de enmedio un condensador y conectar en la parte alta del condensador 2 trampas en serie - una para remover el ácido sulfhídrico y otro para la reacción del disulfuro de carbono y el reactivo del color. Adicionar unas perlas de vidrio en las trampas para asegurar un buen contacto con los reactivos. La trampa de disulfuro de carbono deberá tener una llave de paso para facilitar el drenado del reactivo del color. Conectar a esta segunda trampa una línea de vacío a través del sistema (34,94).

b.- Procedimiento: Transferir la muestra al matraz de tres bocas, cortando en pequeñas piezas si es necesario, adicionar 2 g de cloruro estanoso. Adicionar 10 ml de hidróxido de sodio al 6.5% a la trampa de ácido sulfhídrico y 15 ml de reactivo de color a la trampa de disulfuro de carbono. Conectar todo el equipo a través de un condensador de reflujo y aplicar el vacío lentamente a través de la trampa de disulfuro de carbono. Calentar el ácido diluido (25 ml. de ácido clorhídrico concentrado más 200 ml de agua) a ebullición en un vaso. Adicionar el ácido diluido puesto a ebullición al matraz de 3 bocas a través del embudo de adición. Cuando todo el ácido esté en el matraz cerrar la llave del embudo, calentar el contenido a ebullición. Continuar calentando por 30 o 45 min, suspender el calentamiento, quitar el calentador, abrir la llave del embudo de adición y desconectar el vacío, drenar el contenido de la trampa de disulfuro de carbono en un matraz volumétrico y enjuagar las trampas

con pequeña porciones de etanol, diluir a la marca con etanol y mezclar.

Determinar la absorbancia a 435 nm contra un blanco de referencia como el estandar. Obtener el peso del disulfuro de carbono de la curva estandar y calcular el ditiocarbamato, equivalente al disulfuro de carbono encontrado.

c.- Curva Estandar.- A una serie de matraces volumétrico de 25 ml, adicionar una cantidad de solución estandar de disulfuro de carbono variando de 0 a 10 ml a cada matraz adicionar 15 ml de reactivo de color. Diluir a la marca con etanol y mezclar. Dejar reposar 15 min y leer la absorbancia a 435 nm juntamente con una mezcla de 15 ml de reactivo de color y 10 ml de etanol como referencia.

Graficar la absorbancia contra concentración de disulfuro de carbono en microgramos.

Técnica para granos:

a.- Procedimiento y curva estandar.- Pipetear una alícuota de 0.1-2.0 ml de solución de thiram en cloroformo dentro de un tubo de ensaye limpio y seco. Pipetear 2 ml de reactivo de cloruro cuproso recientemente preparado, dentro de cada tubo de ensaye (la solución deberá de ponerse amarilla inmediatamente). Usando alcohol al 95%, diluir el contenido de cada tubo de ensaye a 5 ml y leer inmediatamente la absorbancia a 385 nm en un espectrofotómetro, usando el reactivo de cloruro cuproso como blanco (la cantidad de alícuota de cloroformo no deberá ser mayor de 2 ml de el total de 5 ml), no deberá emulsionarse. Hacer una gráfica de las absorbancias a 385 nm contra la concentración de thiram (4-200 mcg). La figura 12 muestra las relaciones lineales obtenidas bajo diferentes condiciones.

D) p-TOLUENSULFONAMIDA: PTSA

Técnica:

a.- Extracción y determinación en U.V.- Se toma una muestra de 200 mg de película de pintura que contenga PTSA y se pone a ebullición con 35 ml de ciclohexano durante 30 min. Transferir el extracto a un matraz de 50 ml que contenga 2 ml de etanol, lavar el embudo -- con 1 ml de etanol y añadir ciclohexano hasta que el volumen sea de 50 ml. Repetir la extracción y tratar el segundo extracto similarmente. Medir la absorban-- cia a 262.5 nm usando como blanco un extracto de cantidad similar de película de pintura el cual haya estado bajo las mismas condiciones de exposición.

b.- Contenido de nitrógeno.- Este se determina por el método de Kjeldhal.

c.- Contenido de azufre.- 200 mg de película de pintura son quemados en atmósfera de oxígeno en un frasco de combustión de 1 litro conteniendo 10 ml de agua, 4 ml de hidróxido de sodio 2 N y 0.2 ml de peróxido de hidrógeno de 130 volúmenes. Dejar reposar durante 30 min, transferir a un crisol de platino y hervir durante 1 hora para destruir el peróxido de azufre, llevar hasta volumen constante, acidificar la solución con ácido clorhídrico 2 N hasta pH de 2.5 y hervir para -- remover todo el dióxido de carbono. Llevar a pH de -- aproximadamente 4.5 y diluir a 25 ml en un matraz volumétrico. Tomar una alícuota, añadir la misma cantidad de una mezcla de glicerol y alcohol 1:2 por volumen (120) y titular con una solución de nitrato de -- bario 0.2 N usando una jeringa micrométrica. La tabla 9 da los resultados de la determinación de PTSA en -- algunas pinturas. Pequeñas cantidades como de 0.06 mg de azufre pueden ser determinados por este método y -- es necesario una muestra de aproximadamente 350 mg pa -- ra determinar 0.1% de PTSA en la película de pintura.

Para el análisis de nitrógeno es necesario tener apro -- ximadamente 1 g de muestra apropiada.

IV.7.- FUNGICIDAS ORGANICOS

A) SALICILANILIDA: SA

Técnica:

a.- Extracción de SA y determinación en UV.- Extraer de 100 a 200 mg de película de pintura conteniendo -- SA con 25 ml de etanol por ebullición bajo reflujo durante 30 min. Enfriar, separar el etanol del residuo y llevar a 50 ml con etanol diluir 10 ml a 50 ml con etanol y medir la absorbancia a 269 nm, usar como --- blanco el extracto de una cantidad de película de pintura, la cual ha sido expuesta de una manera similar pero, libre de SA. Esto es necesario porque hay la posibilidad de formación de productos de descomposición que absorben en la misma región espectral.

b.- Contenido de nitrógeno.- El contenido de nitróge-
no es determinado por el método de Kjeldhal. El amo-
niaco formado es analizado por el método de Skrabal -
con hipobromito de sodio.

V.- RESULTADOS Y COMENTARIOS

V.-1.- FUNGICIDAS CLORADOS

A) 5,6 DICLORO-2-BENZOXAZOLINONA

Las investigaciones llevadas a cabo mostraron que el 5,6 dicloro -2- Benzoxazolinona es un fungicida apropiado para pieles (38). Se ha presentado un método para la determinación de pequeñas cantidades de fungicidas en piel, generalmente no mayor de 1%; con una modificación apropiada éste método puede ser aplicable para la determinación en otros materiales y mezclas. Algunas actividades biológicas interesantes fueron reportadas para la estructura de la benzoxazolinona --- (12,73,130), procedimientos analíticos basados en separación cromatográfica y mediciones de absorción ultravioleta fueron descritas para la 2-benzoxazolinona 6-metoxi-2- Benzoxazolinona en materiales vegetales - (11,54) no se encontraron referencias para el 5,6 dicloro-2- benzoxazolinona en la literatura a excepción de una patente (128).

La hidrólisis alcalina y la subsecuente diazotización del aminofenol y la copulación con resorcinol para -- dar un compuesto azo fuertemente colorido, son las -- reacciones en las cuales está basado el método analítico.

El fungicida se extrae de la piel con una mezcla de - cloroformo - agua.

El espectro de absorción del producto de la reacción obtenida con el 5,6 dicloro -2-benzoxazolinona des--- pués de hidrolizar, diazotizar y copular con resorcinol se muestra en la fig. 6 curva 1. Además de la amplitud de la banda de absorción, mediciones de color correctas se hicieron con aproximación de más menos 50 nm de la máxima absorbancia. Las curvas de los -- "blancos" (curvas 2 y 3 de la fig. 6) mostraron que componentes de la piel extractables en cloroformo-agua, no interfieren apreciablemente con las mediciones de color.

Factores que afectan la recuperación del fungicida.- Diferentes tipos de pieles que contienen cantidades conocidas de fungicidas fueron preparadas por la adición de cantidades medidas de una solución estandar de 5,6 dicloro-2-benzoxazolinona purificado en cloroformo, a porciones de 2.5 g de pedazos de pieles hasta que la piel haya absorbido toda la solución.

El disolvente es entonces evaporado colocando los pedazos de pieles en una estufa secadora a 50°C, durante por lo menos 6 horas. Para la extracción del fungicida, el equipo generalmente usado son los aparatos ASTM (3) modificados para la extracción de grasas de pieles (139). En algunos experimentos un extractor regular Soxhlet fué usado con resultados equivalentes.

1.- Efecto de la extracción del solvente.- El solvente de extracción no juega ningún papel en el método analítico, porque es eliminado por evaporación. La acetona, que es el mejor solvente para el fungicida que el cloroformo, es preferible para otros materiales que las pieles. Con la piel sin embargo, la acetona tiene algunas desventajas importantes, asociando algunas de ellas en su miscibilidad con el agua y su acción deshidratadora. En una extracción del tipo Soxhlet la acetona remueve aparentemente agua, más rápido que el fungicida. Se puede observar que las pieles se deshidratan, como se comparó en pieles que contenían humedad, las cuales retenían al fungicida muy tenazmente (37, 76). De acuerdo con esto se encontró que la recuperación de fungicidas de pieles secas extraídas con cloroformo seco o acetona son incompletas. Humedeciendo las pieles con agua antes de la extracción resultó una extracción cuantitativa del fungicida con cloroformo pero, no dió resultado con acetona, aparentemente por su acción deshidratadora.

La adición del agua al cloroformo en el frasco de extracción se encontró que es mejor. Este método de extracción del fungicida es bueno para prevenir interferencias por cromo, la presencia del agua sin embargo,

también facilita la extracción de taninos de la piel. Sino se remueven del extracto los taninos coloridos - causarán altas lecturas fotométricas. Los taninos se precipitan rápidamente con acetato de plomo. Dada la inmiscibilidad del cloroformo, el cual contiene el -- fungicida y que el agua contiene el precipitado acetato de plomo-tanino, la separación de este último del extracto es fácilmente llevado a cabo. Con acetona es más difícil el proceso de extracción.

2.- Efecto del cromo en la hidrólisis de la mezcla. - En el desarrollo preeliminar de este método no fué -- añadido cromo al cloroformo usado para la extracción. La recuperación completa del fungicida se obtuvo con una piel que contenía taninos vegetales que no estaba muy seca. Pero se obtienen resultados bajos con -- una piel tanino-cromo. Se analizó el cromo del extracto por el método de difenil carbazida. Siguiendo el -- procedimiento sugerido para análisis de pieles por -- Lollar (75), y se vió que 0.05-0.1% de trióxido de -- cromo en base al peso de la piel se extraía. La adición de pequeñas cantidades de sulfato monobásico de cromo (un agente tanínico común) a la hidrólisis de -- la mezcla conteniendo el fungicida, pero no el extracto de la piel, verificó el efecto de interferencia -- del cromo.

La tabla 10. indica que la formación del complejo cromo fungicida, o más probablemente el producto de la -- hidrólisis del 2-amino-4,5-diclorofenol, fué responsable de los resultados bajos.

Se hicieron otros experimentos en los cuales se añadió agua al cloroformo para la extracción, siendo esta completa y la capa acuosa fué separada y descartada. Estas pruebas demostraron que se extrajo cromo en la capa acuosa y la recuperación del fungicida es --- cuantitativa. Tabla 11. Con la presencia del agua, el compuesto de cromo extraído de la piel es eliminado -- en la fase acuosa, o, es inactivado con respecto a la interferencia en la determinación del fungicida.

La cantidad de agua no es crítica; 20 ml con los 60-70 ml de cloroformo usado en la extracción con el -- aparato ASTM es una cantidad apropiada. También, esta cantidad de agua, como se mencionó provee una adecuada hidratación de la piel permitiendo una extracción rápida del fungicida.

3.- Otras interferencias como el p-nitrofenol, el -- cual es comunmente usado como fungicida de piel, cuando esta presente da un color amarillo en el medio al calino usado para la copulación, en pequeñas cantidades no afecta seriamente la medición fotométrica a 500 nm pero, interfiere si esta presente en cantidades adecuadas (a menos de 0.30% basado en el peso de la piel). El contenido alto de grasa que está en la piel puede interferir en las recuperaciones completa de pequeñas cantidades de fungicidas.

Resultados. - La tabla 12 muestra las cantidades conocidas de 5,6 dicloro -2-benzoxazolinona recuperadas de diferentes pieles. El método es adecuadamente preciso y correcto para el propósito de análisis de pieles. En dos casos se recupera el 92%, mucho menor -- que el resto de los valores mostrados en la tabla -- 12. Ambos valores ocurrieron con pequeñas cantidades de gungicidas en pieles con altos contenidos de grasa (20-30%). Después de la acidificación del hidrolizado de estos extractos de piel, una gran cantidad de material precipitado fue filtrado.

Posiblemente pequeñas cantidades del fungicida se -- perdieron por absorción del material precipitado. Si se encuentran presentes colorantes y otros componentes en la piel, se encontró que no interfieren.

B) 2,4 DICLORO-6- (0-CLOROANILINA)-s-TRIAZINA: DYRENO

El peso de la reducción con zinc después de la hidrólisis reduce mucho la cantidad de color extraño presente en algunos extractos. Unos 5 min de reflujo es suficiente para muchas muestras, pero las cebollas -- requieren un período de reflujo de 15 min.

El filtrado obtenido después de la reducción con zinc es diluido con agua destilada, desarrollando una turbidez debida a la precipitación de materiales lípidos. La adición de celita remueve y completa la filtración.

La reproducibilidad del método fué probada por maceración de un gran número de tomates en alcohol isopropílico tabla 13 el puré fué completamente mezclado y dividido en 12 porciones iguales en peso. Cada porción contenía el equivalente a 100 g de tomates y 100 ml de alcohol isopropílico. Tres muestras fueron analizadas sin la adición de dyreno y otras 9 fueron divididas en grupo de 3, cada grupo fue tratado con varias cantidades de dyreno.

A pesar de los bajos valores de absorbancia leídos, - la desviación promedio en el rango de concentración - de 0.5 a 2.5 ppm en alrededor de 5%, para probar la - eficiencia del método, se añadió dyreno en el alcohol isopropílico al tejido vegetal en el mezclador y se - siguió el procedimiento indicado. El control de valores para materiales no tratados mostró una variación considerable. En las muestras analizadas, el control de muestras no tratadas dieron valores que son equivalentes a 1.0 ppm o menos. Una concentración inicial de 1 ppm da una absorbancia en la solución final de - 0.02 usando las diluciones y alícuotas descritas en - el método. El control de las lecturas de las muestras no tratadas tienen un intervalo arriba de los valores equivalentes a 1 ppm de dyreno. Los datos obtenidos en las tablas 13 y 14 justifican el uso de 1.0 ppm -- como el límite de sensibilidad del método. En vista - de la baja toxicidad del dyreno, esta sensibilidad se consideró satisfactoria.

En el estudio llevado a cabo para el análisis de dyreno en manzanas, se usaron cloroformo, benceno y acetona (grados químicamente puros), los solventes grado - técnico redestilados apropiadamente no fueron investi - gados.

La temperatura del baño maría usado para la evaporación del solvente fue de 80°C, el espesor de la capa de alúmina tiene alrededor de 0.5 pulgadas (es necesario usar alúmina limpia). Se eliminó sustancias de interferencia, las cuales conducen a registrar altos valores, cuando la piridina y el álcali fueron añadidos directamente al extracto del cual se evaporó el cloroformo.

La curva estandar sigue la ley de Beer en un intervalo de concentración de 0 a 100 mcg de dyreno, el índice de absorbancias de dyreno es de 2.22 unidades de absorbancia por mmol-mm con un coeficiente de variación de 7.3%. El índice de absorbancia fue calculado con el peso molecular del dyreno. Porque la composición exacta del producto de la reacción es desconocida.

La recuperación de dyreno añadido a las manzanas se muestra en la tabla 15. El dyreno fué añadido a la mezcla manzana acetona antes de mezclar. El promedio de dyreno recuperado fué de 97-100% y la recuperación sucesiva de 0.5 ppm de dyreno en manzanas marca el método adecuado para propósitos regulares.

C) PENTACLOROFENOL: PCP

Los resultados pueden ser interpretados de la siguiente manera: De el análisis inicial se puede observar que la gran discrepancia entre las cantidades de PCP presentes en la extracción y la determinación del cloro residual por una parte, y el cloro total por otra, es de 5.3%. Esta discrepancia surge del tipo de exposición de la pintura en exteriores, interiores y lugares oscuros a 35°C dando valores altos, de lo cual se puede concluir que las formulaciones que contienen PCP y NPI tienen compuestos extractables, los cuales contienen cloro pero que son diferentes del PCP y NPI, estos compuestos pueden o no tener propiedades fungicidas y esto deberá ser determinado únicamente por experimentos separados en los cuales estos métodos analíticos deberían ser usados como guía general.

En películas de pinturas para interiores a 18°C la -- discrepancia es de 6.8%, lo cual además indica pequeña descomposición de PCP. La única reacción que puede ser tomada en cuenta es cambiando el PCP libre a un derivado con una pequeña parte de pérdida por volatilización. Pero, los resultados más interesantes son -- después de la exposición en los exteriores.

Para la extracción del PCP y NPI en pinturas el metanol, el tetracloruro de carbono y el ciclohexano se -- han probado como solventes.

Para el análisis de cloro no es posible extraer todo el PCP la cantidad de PCP que no puede ser extraída -- depende de la composición de la pintura y puede ser -- hasta de un 38% de la cantidad total de PCP.

El ciclohexano es un extractante apropiado para la ex -- tracción de cloro en las películas de pintura. Es in -- conveniente el uso de tetracloruro de carbono para la extracción, por otra parte el metanol parece ser que forma un complejo con el PCP.

La curva de absorbancia para PCP en ciclohexano a una concentración de 0.067 mg/ml es mostrado en la fig. -- 7A.

La determinación de pentaclorofenol y N-(Triclorome-- tilitio) ftalimida (NPI) se lleva a cabo por análisis de cloro y por extracción. Procedimientos microanalí -- ticos son especialmente apropiados dadas las pequeñas cantidades de muestras que se requieren para el análi -- sis. En muchos casos no es posible extraer todo el -- NPI y el método empleado da sólo una indicación de la distribución del NPI en la película de pintura.

D) TETRACLORO-1,4-BENZOQUINONA: CLORANILO, SPERGON

Para formulaciones que contienen cloranilo con otros fungicidas, pruebas cuidadosas mostraron que durante los primeros 30 segundos la absorbancia no varía significativamente, con lo cual se concluye que la intensidad del color tuvo un máximo a través de los primeros 30 segundos del tratamiento y por consecuencia, - un tratamiento de 15 segundos fué seleccionado. Este período asegura suficiente agitación para completar - la extracción del cloranilo en benceno y permite sin embargo tiempo para acidificar la solución entre un - determinado límite.

Después de acidificar, el color es bastante estable indefinidamente, pruebas cuidadosas no mostraron diferencias significativas de la luz transmitida de una - muestra colocada y checada en intervalos de un período de 24 horas.

La temperatura a la cual se hace el análisis es siempre un factor importante en la aplicación del método. Las pruebas mostraron que el incremento de temperatura por encima de 30°C, decrece la intensidad del color en algunos casos, con álcalis a temperaturas por abajo de 30°C, los resultados no difieren significativamente. Por lo que se recomienda que la solución de hidróxido de sodio el 2% debe de estar a 25°C, antes de ser usada. En general, la presencia de otros materiales no es problema. La tabla 16 muestra resultados de diferentes análisis en mezclas de cloranilo -- con algunos insecticidas comunmente usados. La muestra número 2 contiene 5% de DDT; la muestra número 3 contiene 5% de BHC técnico; la muestra 4, contiene -- 10% de toxafeno; la muestra 5 contiene 5% de clordano; la muestra 6 contiene 20% de azufre. Cuando los - resultados son comparados con aquellos de la muestra 1, la cual contiene únicamente mezcla de cloranilo -- con pirofilita; se puede concluir que con estos materiales no hay interferencia. En cada caso el material extraño es retenido en solución por el benceno y es - decantado del matraz.

El cloranilo es usado principalmente para proteger -- semillas y tubérculos (2,35,105,108) y también para -- controlar el moho de la coliflor y la lechuga (2,40, 105), el último uso involucra su aplicación con rocía dor ò en polvo a cosechas alimenticias, las cuales ne cesitan análisis de residuos para determinar un nivel seguro de uso con una aproximación de 0.1 ppm. Algu-- nas pruebas de color para la microdeterminación de -- cloranilo son conocidas. Por ejemplo, el cloranilo -- forma un fuerte color amarillo con dietil-amina anhídra, la cual es la base para la determinación del clo ranilo en semilla tratada (26). En hidróxido de sodio acuoso, el cloranilo rápidamente se convierte a la -- sal de sodio del ácido cloranílico. Bajo la acidifica ción, el ácido cloranílico libre produce un intenso -- color púrpura.

Estas pruebas de colores son suficientemente sensi--- bles para análisis de residuos; sin embargo pruebas -- para recuperar dosis de cloranilo de una parte por m \bar{u} llón en coliflor; estas pruebas fallaron.

Compuestos del mismo tipo general de cloranilo se com binan irreversiblemente con constituyentes de las --- plantas. El fracaso de las pruebas de color, las cua les utilizan los átomos activos de cloro del clorani lo para producir el color indicado, es debido a que -- los átomos de cloro del cloranilo puede hacerse inac tivos por la combinación con constituyentes de las -- plantas. Se hicieron pruebas utilizando las propieda des oxidativas de los grupos quinona del cloranilo pa ra producir un color sensible. Estas fueron exitosas para la difenil-p-fenilendiamina que esta sujeta a la oxidación por agentes oxidantes tales como el clorani lo (benzoquinona) para producir un intenso color azul debido a la formación de la sal de Wurster (134), la sal de Wurster es un radical con algunas posibles for mas resonantes. Cuando la coliflor fué tratado con -- fracciones de 1 ppm de cloranilo, se obtuvieron bue-- nos recuperados por el uso de la difenil-p-fenilendia mina en la prueba de color (tabla 17).

La propiedad oxidativa de los grupos quinona no es -- obstruida por la reacción de otras partes de la molécula con otros constituyentes de las plantas.

Interferencias. - Se produce un color de interferencia por muestra de lechuga no tratada en un rango de 0 a 0.1 ppm y para coliflor entre 0.2 a 0.4 ppm. Los valores altos debidos a las interferencias se obtuvieron en la coliflor, donde las muestras fueron tomadas maduras, en flor y en algunos casos se deshidrataron, - las muestras en estas condiciones dan valores bajos - de absorbancia.

Se ha mostrado (24) que los materiales que interfie-- ren en las soluciones de coliflor y col en benceno -- con la adición de 10 g de sulfato de sodio anhidro -- por cada 100 ml de solución extractora y filtrando, pueden ser eliminados.

E) N-(TRICLOROMETILTIO)-FTALIMIDA; NPI.

Ver pentaclorofenol

F) N- (TRICLOROMETILTIO)-TETRAHIDRO FTALIMIDA; CAPTAN

Para prevenir la oxidación del Captan se añade bisulfito de sodio, el cual produce un color verde obscuro, que se forma en la superficie de la mezcla en la reacción final. La cantidad de bisulfito no es crítica, porque se obtienen lecturas netas cuando las cantidades fueron variadas entre 10 y 40 mg. Sin embargo, cuando 40 mg o más fueron usados, apareció un precipitado en la mezcla de la reacción final. Probablemente porque se rebasó el límite de la solubilidad -- del bisulfito. Una decoloración verdosa apareció más aprisa como resultado de la agitación de la solución después de mezclar completamente, cuando la superfi-- cie se expuso al aire se incrementó o cuando la cantidad de bisulfito disminuyó.

En medio alcalino, las lecturas no varían, como se -- puede observar en la fig. 13, donde las lecturas ne--

tas para 10 mcg de Captan, son graficadas para varias concentraciones de álcali. El uso de soluciones de hidróxido de sodio que fueron colocadas en recipientes de vidrio, como éstos contienen excesivas cantidades de silicato de sodio, dió como resultado la aparición de un precipitado en la mezcla de reacción final. La concentración de resorcinol no es crítica. La cantidad de color no cambió significativamente cuando la concentración de resorcinol en solución metanólica es variada en un rango de 20 a 10% en volúmen, pero a menor concentración de ésta disminuye el color. La absorbancia fué mayor cuando el disolvente del resorcinol es una mezcla de metanol-etanol y en la cual se tiene una mayor cantidad de etanol. El orden de mezclado tiene algo de importancia, el color disminuye algo cuando la solución de acetona se añadió primero a la mezcla de reactivos.

El color amarillo del producto de la reacción se decolora rápidamente si se deja en la luz, por lo cual es necesario protegerlo inmediatamente después de completar el mezclado excepto para las operaciones necesarias tales como: Transferencia de las muestras a las celdas, la exposición del rayo de luz del espectrofotómetro, en las lecturas aparentemente no tienen efecto, sin embargo, el color apareció inmediatamente en la mezcla, pero la absorbancia neta aumentó a la misma intensidad durante los primeros 9 a 12 min y entonces quedó constante por lo menos durante 1 hora. Eventualmente la absorbancia neta aumentó otra vez debido a la aparición del producto de oxidación verde. El aumento comienza en breve, y la decoloración es evidente al ojo. En algunos casos la decoloración no se desarrolla hasta después de algunas horas, pero el tiempo de cambio es variable y no depende de ello.

Las formas de las curvas de absorción de varias concentraciones de Captan figura 14 muestra que los puntos de máxima y mínima absorbancia son de longitud de onda mayor que los correspondientes puntos dados en -

la curva de Kittleson (67) la máxima absorción bajo estas condiciones es de 447 nm y la absorbancia a 500 nm es inafectable para la cantidad de Captan. Una curva estandar típica esta dada en la fig. 15.

Sensibilidad y Precisión.- Se llevaron a cabo experimentos para determinar el límite de sensibilidad del método con celdas de vidrio de 1 cm. Los resultados se dan en la tabla 18 indicando que el método puede dar una medida semicuantitativa de 0.4 mcg de Captan bajo estas condiciones. Con más cuidado en la técnica o con una celda mayor puede ser posible una mayor sensibilidad. La reproducibilidad del método se indica por los puntos cercanos obtenidos convenientemente en la fig. 15 además la evidencia de este punto es apoyada por los datos de la tabla 19, es evidente que la variación del procedimiento analítico es menor comparada con la variación del muestreo.

Experimentos de recuperación.- Estos experimentos -- fueron llevados en diferentes formas, estan enlistados entre el tipo "A" en la tabla 20, donde se llevaron a cabo por extracción del producto no tratado con benceno de acuerdo con el procedimiento descrito bajo preparación de la muestra y evaporando una alícuota a sequedad.

El residuo fué tomado en una solución de Captan en -- acetona de concentración conocida tal que, la cantidad de Captan representó un residuo razonable igual -- al del producto alimenticio.

En el experimento enumerado como tipo "B": En una suspensión uniforme de 40% de Captan-40% de hexaclorobenceno suspendidas en agua, se sumergieron 18 tomates -- en ésta, escurridos durante un corto tiempo y llevados a sequedad. Una alícuota de la suspensión fué tomada y analizada, de los pesos inicial y final, se -- en -- contró que la cantidad inicial de Captan fué de 45 -- mg y la cantidad final fué de 41.61 mg.

Los tomates fueron extraídos con benceno y en la extracción se encontró 1.95 mg de captan. Se comparó con la cantidad calculada de 1.84 mg. Para el experimento "C" el contenido de Captan en polvo húmedo neutro fué determinado por el análisis de la solución de acetona filtrada.

El uso de un "blanco" interno tiene algunas ventajas sobre el uso de una solución preparada separadamente, todas las celdas deben contener muestras recientes. Aquí la compensación es automática para el color de resorcinol y para la absorción debido a la turbidez ocasional variable o de precipitación, el reactivo de resorcinol alcalino parece ser el menos sujeto a la interferencia de otros pesticidas, aunque tales interferencias con el último método son menos frecuentes para ser despreciables ordinariamente. Las comparaciones de sensibilidad son poco inciertas. La curva estándar mostró en el procedimiento original (67) 50% de transmitancia alrededor de 240 mcg de Captan, en el método modificado (30) 57% de transmitancia corresponden a 50 mcg, con el presente procedimiento 11 mcg dan una absorbancia neta de alrededor de 0.3 equivalente a 50% de transmitancia.

El Captan fué determinado en diferentes formulaciones consistentes de almidón y Captan por medio de una curva de calibración y se estableció que la precisión del método es del 2.5%. Para formulaciones que contienen Captan junto con caliza, una extracción con acetona antes de la aplicación del procedimiento mencionado es suficiente.

V.2.- FUNGICIDAS CLORADOS NITRADOS

A) TETRACLORONITROBENCENO: TCNB

Como se indica en la técnica, el color desarrollado gradualmente alcanza la máxima intensidad después de

7 u 8 min y principia a disminuir después de 20 min, un exceso de base cuaternaria hace decrecer la sensibilidad de la prueba y la pureza de color.

Se deben tomar algunas precauciones que pueden afectar a las lecturas. El efecto del agua en el solvente acetona se muestra en la tabla 21.

B) PENTACLORONITROBENCENO: PCNB, TERRACLOR.

En el intervalo de concentración estudiada de 0-5.0 ppm el método colorimétrico es el más adecuado. La recuperación promedio fué de 94% y la desviación promedio de 8.6%.

Cualquier compuesto liberado como nitrito durante la hidrólisis alcalina da una respuesta positiva. El método de Ackerman esta basado en el método de PCNB en relación al método de Canback para medir el TCNB.

V.3.- FUNGICIDAS CUPROSOS

A) 8-HIDROXIQUINOLINATO DE COBRE

El 8-hidroxiquinolinato de cobre puede ser extraído de una película de pintura por ebullición con ácido sulfúrico diluido y puede ser determinado por medición de la absorbancia en la región UV. Los máximos de absorción son medidos convenientemente a 307,317 y 355 nm.

La absorción de luz depende de la cantidad de 8-hidroxiquinolinato y no del contenido de cobre. La fig. 16 muestra la curva de absorción para la 8-hidroxiquinolina a una concentración de 0.07 mg/ml.

Los métodos colorimétricos para la determinación de cobre son interferidos por la presencia de 8-hidroxiquinolina y se tiene que llevar a cabo una separación antes de realizarse el análisis.

Esto se hace por precipitación del cobre como sulfuro de cobre, separando éste de la 8-hidroxiquinolina, di

solviendolo con ácido nítrico concentrado y determinando el cobre por los métodos colorimétricos.

B) NAFTENATO Y 8-QUINOLINATO DE COBRE.

Los reactivos estan enlistados en la tabla 22 en orden de sensibilidad. Los reactivos fueron preparados y los procedimientos se llevaron a cabo esencialmente de acuerdo con las referencias dadas en dicha tabla. Cuando el volúmen de solución colorida fué de aproximadamente 4-6 ml, la absorbancia máxima puede ser obtenida con una celda de 1 cm, cuando el volúmen final se excedió de 6 ml la absorbancia se incrementó por el uso de una celda de 5 cm, la capa de tetracloruro de carbono que contiene el producto de reacción del cobre y del dibenciltiocarbamato de zinc, no pueden ser drenados directamente del embudo de separación a la celda espectrofotométrica como Borchard y Butler (20) sugirieron. Se encontró que esta solución requiere ser secada con sulfato de sodio antes, de donde, los resultados obtenidos pueden ser reproducibles.

La cantidad de cobre en textiles puede ser determinada rápida y fácilmente por el método espectrofotométrico que involucra el ácido rubeánico. Este método no está sujeto a interferencia de la mezcla de óxidos metálicos comunmente usados para hacer tejidos resistentes al fuego, a la penetración de agua y la degradación de luz ultravioleta, se encontró que el método del ácido rubeánico es más sensible que un número de los otros procedimientos espectrofotométricos. El método basado en dibencilditioicarbamato de zinc ofreció la segunda combinación de características deseables.

Los resultados obtenidos con estos métodos espectrofotométricos, corresponden a aproximadamente a los resultados obtenidos electrolíticamente por laboratorios independientes. Sin embargo, los métodos espec-

trofotométricos son fáciles y pueden ser usados para obtener una estimación de la uniformidad de distribución del contenido de fungicida que tiene cobre en la fibra. Las fibras comerciales tratadas probaron en este estudio contener tanto 8-quinolinato de cobre y --naftenato de cobre y en el tratamiento del fungicida se encontró que se aplicó uniformemente como eviden--cia para una desviación estandar de menos de 10% de --la media de 5 réplicas de muestras de 3 mg.

1.- Comparación de los métodos de ácido rubeánico y --del dibencilditiocarbamato de zinc con otros reacti--vos en base a la especificidad y precisión.

Los resultados de la tabla 23, ilustran la especifici--dad de varios métodos en presencia de antiinflamab--bles, absorbentes de radiaciones ultravioletas y repe--lentes al agua. Se ve que, todos los métodos a excep--ción de la oxalhidracida producen esencialmente absor--bancia de 0 con tejidos que contienen antiinflamables absorbentes de luz ultravioleta y repelentes de agua, pero no de fungicidas. Los valores reportados por es--tos tejidos como cobre por la oxalhidracida son proba--blemente debido a la variación en el color del indica--dor de pH usado, debido a la formación de complejos --coloridos con otros metales.

Las determinaciones electrolíticas representan los me--jores resultados obtenidos por otros investigadores --con las mismas muestras de tejido. Se observa, que to--dos los métodos espectrofotométricos son igualmente --precisos con excepción de la oxalhidracida. Más los --resultados espectrofotométricos son un poco más altos que los resultados electrolíticos. Métodos más sensi--bles se espera que puedan generalizarse, para produ--cir resultados más altos pero, como el contenido ac--tual de cobre de estas fibras es desconocida, la exac--titud de estos métodos no puede determinarse.

2.- Análisis de tejidos comerciales tratados.- La ta--bla 24 contiene los resultados de los análisis de te--

tejidos que fueron comercialmente tratados con 8-quinolinato de cobre, naftenato de cobre, repelente al agua, absorbentes de ultravioleta y antiinflamables. Los métodos empleados del dibencilditiocarbamato de zinc y ácido rubeánico son comparados con el método electrolítico como el elaborado por el Military Clothing Textile and Supply Agency.

Como el método electrolítico (CCC-T 191 b), requiere sólo determinaciones por duplicado, la precisión de los métodos fue comparada en base del intervalo proporcional de la desviación estandar y se observó que el intervalo obtenido en 5 pruebas, los métodos colorimétricos fueron generalmente más altas que el intervalo entre las determinaciones electrolíticas. Esto fue anticipado debido al tamaño de la muestra.

Los valores obtenidos con el ácido rubeánico son esencialmente los mismos que los obtenidos con el ácido rubeánico en el método electrolítico en tres de los 5 tejidos. Los resultados obtenidos de la muestra 5 por el método electrolítico fueron interferidos por un valor muy bajo, de aquí que el valor medio más alto obtenido por el método del ácido rubeánico no es inesperado. El método del ácido rubeánico también produce valores altos para la muestra 3.

El dibencilditiocarbamato consistentemente produce resultados más altos que los métodos del ácido rubeánico y electrolítico.

3.- Discusión.- 7 de los reactivos más prominentes para los análisis espectrofotométricos de fungicidas que contienen cobre fueron comparados en base a su sensibilidad y especificidad. Se encontró que todos son específicos para el cobre en presencia de otros metales que son comunmente usados en repelentes de agua, absorbentes ultravioleta y antiinflamables. La oxaldihidrácida fué el reactivo más sensible pero, desafortunadamente es el menos preciso. La oxaldihidri-

dracida y la cuprisona deben su alta sensibilidad al hecho de que se usa una celda de 5 cm.

La batocuproína y la cuproína proveen completa especificidad del cobre (39) pero, ambos métodos requieren clarificación de la solución final por centrifugación. Como los métodos del ácido rubeánico y el dibencilditiocarbamato son bastante específicos para análisis de tejidos y son más sensibles y fáciles de elaborar que el método de batocuproína, los métodos de batocuproína y cuproína fueron eliminados de los demás consideraciones.

Como el método de carbamato con E.D.TA. no ofrece -- una ventaja particular sobre los métodos del dibencilditiocarbamato de zinc y del ácido rubeánico y como -- es falta de sensibilidad, también se omitió de las de -- más pruebas.

Se encontró que los métodos espectrofotométricos son tan precisos y específicos como el método electrolítico. Afortunadamente, es posible hacer la comparación de los métodos directamente con muestras de los mismos tejidos. Para establecer el procedimiento estándar de la determinación electrolítica de cobre en textiles.

Los métodos empleados de dibencilditiocarbamato de -- zinc y del ácido rubeánico fueron probados además, en contraste con determinaciones de control de calidad -- actualizadas, llevadas a cabo por el Military Clothing and textile Supply Agency.

Los resultados espectrofotométricos fueron los mismos o más altos que las determinaciones electrolíticas. -- El ácido rubeánico provee resultados, los cuales son consistentemente comparables a los obtenidos por el -- laboratorio de control de calidad militar. El método del ácido rubeánico es extremadamente fácil de llevar a cabo y requiere un mínimo de agua tridestilada y material de vidrio, de aquí que, puede ser determinado

como el método de elección. Muestras cuadruplicadas de tejido pueden ser analizadas por el método del ácido rubeánico en un tercio del tiempo requerido para realizar determinaciones electrolíticas por duplicado.

Muestras de 3 a 5 mg de tejido usadas en este estudio se digirieron adecuadamente con 0.2 ml de una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico 1:1 sin embargo, muestras grandes que contienen antiinflamables y repelentes al agua dejan una pequeña cantidad de residuo blanco-grisáceo después de la digestión. El método del ácido rubeánico es apropiado para analizar cobre a concentraciones estipuladas en la especificación CCC-C-428 a porcentajes pequeños de cobre requieren tamaños de muestra grandes, se puede eliminar teóricamente este método si se obtiene un residuo insoluble. En consecuencia el método del dibencilditiocarbamato de zinc se puede tener como un procedimiento, porque el paso de la extracción elimina esta interferencia.

El análisis de tejido comercial tratado reveló que no se aumentó la precisión del método usando tejido molido para muestrear. Es evidente que los fungicidas que contienen cobre se encuentran distribuidos por toda la muestra.

V.4.- FUNGICIDAS MERCURIALES

A) ETIL Y FENIL MERCURIO

Los iones de cobre interfieren en el análisis de compuestos de fenil o etil mercurio, ver tabla No. 25. Para determinar la concentración de ácido a usar previniendo la interferencia de iones de cobre, se llevaron a cabo series de experimentos con varias concentraciones de ácido (ver tabla No. 26).

El error causado por el reactivo 1 y el mercurio contaminante causa un error de no más de 2% en el resultado final, el método se desarrolla para determinar la estabilidad de soluciones fungicidas mercuriales presentes en suelos. Hay interferencias con trazas de algunos iones metálicos. Los productos de descomposición del fungicida deben ser eliminados. Varios iones son adicionados separadamente al primer embudo en el procedimiento y llevados al procedimiento de extracción en presencia de 50 a 80 mcg de fenil mercurio, 1000 mcg de manganeso, hierro, cobalto, níquel zinc, plata, cadmio, estaño (oso), mercurio (ico) plomo o bismuto no interfieren. Los metales nobles y el tallio no fueron probados pero no se encuentran contaminados el trabajo ordinario. Si cantidades grandes de cobre están presentes, dan un color a la solución de ditizona. El cobre interfiere juntamente con los iones mercuriosos en menor proporción que el cobre. Sin embargo los iones mercuriosos son reportados como un producto de descomposición del producto de los organomercuriales (4). La baja solubilidad de la mayoría de los compuestos previene la interferencia excepto en casos raros cuando fué adicionado nitrato mercurioso al primer embudo de separación y dejando reposar, la interferencia de mercurio debe disminuir con compuestos de etil mercurio (Tabla No. 27). Esto debe ser debido a la formación de un complejo (93).

El tetracloruro de carbono es usado en muchos procedimientos, tal como en la determinación de compuestos de etil o fenil mercurio la sensibilidad es menor y la interferencia de cobre es mayor cuando el tetracloruro de carbono contenía a la ditizona en solución y fué usada en el procedimiento descrito, (ver tabla No. 28).

Como no había antecedentes en el método de ditizona para compuestos órgano mercuriales, se tuvo que desarrollar con algunos otros compuestos órgano mercuriales y fueron probados, usando el procedimiento antes descrito. Sin embargo el acetato de piridil mercurio, producto comercial obtenible en forma fácil, acetato

de p-amino fenil mercurio y o-cloromercurifenol, dan un color amarillo similar a la reacción con ditizona neutra en solución con cloroformo y son detenidos en la capa acídica en ésta determinación. El procedimiento de análisis de éstos compuestos no fué perfeccionado. La reacción tiene lugar a valores de pH por encima de 2.5 y debajo de 8.7 en valores bajos de pH menores de 2.0 la formación de color fué inhibida. El pH de 4.5 es seleccionado porque el Buffer de acetato es relativamente resistente a pequeñas cantidades de ácido y hay menos tendencia para la solución ácida de -- extraer pequeñas cantidades de metal del recipiente - de vidrio. El intervalo de pH alcalino no es recomendable porque se obtienen datos falsos algunas veces.

Numerosos compuestos pueden ser usados por el procedimiento con ditizona para eliminar agentes de interferencia. Los materiales probados en ésta investigación para el efecto en interferencia de cobre incluyen tiocianato de potasio, bromuro de sodio, tiosulfato de sodio, y cianuro de sodio, a valores aproximados de pH de 4.5, 6.5 y 8.5. No fué efectivo eliminar la interferencia de cobre por acomplejamiento. El cianuro de sodio a cualquier pH decrece la formación de color. Los otros reactivos no tienen efecto esencial en el color formado, excepto el bromuro de sodio y el tiosulfato de sodio a pH de 4.5, y 2 g de bromuro de sodio a pH a 4.5 en el tercer embudo de separación hace pequeñas diferencias con acetato de fenil mercurio. Tal como con fosfato de etilmercurio, el color de formación desarrollado decreció aproximadamente

$$\frac{1}{4} .$$

El color decreció aproximadamente una tercera parte - en el caso de acetato de fenil mercurio por un gramo de tiosulfato de sodio a pH de 4.5, mientras que el color formado no se desarrolló con fosfato de etil -- mercurio bajo esas condiciones. En un intervalo alcalino inexplicablemente el color aparece ocasionalmente.

La tabla No. 29 de la recuperación de cantidades conocidas de compuestos de fenil mercurio en soluciones fungicidas, el cual está en contacto con suelos o plantas. Compuestos de etil y fenil, mercurio, pueden ser identificados cualitativamente por su relativa estabilidad en el reactivo A.

La solución del compuesto de etil o fenil mercurio es mezclada con el reactivo A, sin la adición de ditizona, la descomposición de compuesto de fenil mercurio es apreciable en una hora, mientras que los compuestos de etil mercurio parecen ser estables por algunas horas, (tabla No. 30).

V.5.- FUNGICIDAS NITRADOS

A) 2-(DIMETILHEPTIL)- 4,6 DINITRO FENIL CROTONATO; CARATENO

El carateno es soluble en una variedad de solventes orgánicos pero una mezcla de hexanos fué elegida para el proceso de extracción porque ésta mezcla extrae pocas substancias vegetales que interfieren en los demás solventes empleados también en el proceso de limpieza con ácido sulfúrico, la emulsión que se forma se rompe más rápidamente, con la mezcla de hexanos que con otros disolventes, la extracción de las frutas por el procedimiento de mezclado durante 30 min, es un período suficiente para asegurar una completa eliminación del residuo; períodos grandes de mezclado sólo incrementan los valores del blanco.

Excelentes recuperaciones de carateno se obtuvieron cuando el disolvente fué eliminado bajo presión reducida y con temperatura de 50 a 60°C en rotavapor (Tabla No. 31). El aumento de la temperatura en los baños de agua afecta muy poco en los recuperados Tabla No. 32.

Después de la adición de N,N - dimetilformamida a los residuos de carateno, se desarrolló un color amarillo el cual tiene un máximo de absorción a 444 nm. La máxima intensidad de color desarrollado se obtuvo en 20 minutos y es estable por lo menos 1 hora (Tabla No.17) las curvas estandar por éste procedimiento siguen la ley de Lambert-Beer en menos de 50 mcg de carateno en 4 ml de N,N-dimetil formamida. Bajo estas condiciones soluciones estandar que contienen 5, 10, 20 y 50 mcg de Carateno tienen absorbancias de 0.045 0.090, 0.080 y 0.440 respectivamente cuando son medidas en celdas de 1 cm de diámetro con un espectrofotómetro.

Compuestos tales como el parathion 2,6 dicloro, 4- nitroanilina; 1,3,5- tricloro-2,4 dinitrobenceno y 1,3 difluor -4,6 dinitrobenceno no forman colores medibles bajo condiciones de máximo color desarrollado por el carateno. Los blancos preparados de 100 g de frutas tienen muy bajas absorbancias, en un intervalo de 0.035 a 0.050.

Con la columna de fluorisil, el promedio de carateno de la fruta tratada se recupera el 88.6%, y el 90% es recuperado cuando se usa el procedimiento del ácido sulfúrico (tabla No. 33). Además un mínimo de 0.05 ppm de carateno se pudo detectar con un promedio de recuperación del 86% (desviación estandar de + 0.4). Esto quiere decir que se puede usar otro procedimiento de limpieza con mejores resultados. Para probar la efectividad del procedimiento se llevaron a cabo experimentos en el campo. Una parcela de fresas fué rociada 21 días antes de la cosecha. (el tiempo recomendado de aplicación). Con una preparación comercial de carateno (6 onzas de carateno por acre), muestras representativas de la fruta tratada fueron analizadas para residuos, la figura 18 muestra una curva de declinación logarítmica y sólo 0.05 ppm de residuo de carateno fué encontrado después de 16 días de aplicación.

Para el caso de fresas por el método del uso de la piridina es necesario controlar cuidadosamente el paso

de la destilación por vapor y el uso de la piridina, la acción del hidróxido de tetraetilamonio etanólico en soluciones de carateno fueron examinados. El espectro de absorción del color amarillo resultante tuvo un máximo a 425 nm pero la absorbancia aumentó con el tiempo, debido a la hidrólisis del carateno al correspondiente fenol. Cuando la solución fué calentada a 60°C durante 30 min. el cual fué suficiente para llevar a cabo la hidrólisis completa, el color final fué estable durante por lo menos dos horas; los resultados fueron:

Tiempo, Hrs.	0.5	1	2	3	4	24
Absorbancia	0.718	0.718	0.718	0.714	0.712	0.710

La intensidad del color, sin embargo fué influenciado por la proporción de etanol en la mezcla final; los resultados de abajo muestran el efecto de diferentes cantidades de etanol en un volúmen final de 15 ml.

ETOH presente(ml)	1.75	2.0	2.5	3.5	4.0	4.5
Absorbancia	0.690	0.725	0.745	0.760	0.780	0.780

Los colores producidos por las soluciones estandar del carateno aislado de formulaciones en polvo dispersable mostró una relación lineal de la forma $A=2.0 \times 10^{-3} B$, donde B es número de microgramos de carateno presentes y A es la absorbancia en una celda de 1 cm. Esto no se desvía de la relación en un rango de 0. a 200 mcg de carateno.

Los resultados después de restar los valores del blanco correspondientes a 1.5 mcg fueron:

carateno añadido, en mcg	25	50	75	100
carateno encontrado, en mcg	23.8	49.5	73.3	98.3
% de recuperado	95.2	99.0	97.7	98.3

V.6.- FUNGICIDAS SULFURADOS

A) 2,3 DICIANO-1,4 DIHIDRO-1,4 DITIO ANTRAQUINONA:
DITHIANON

Trazas de agua presentes en la solución estandar de Dithianon en el extracto clorofórmico ó en la solución de 2,4-Dinitrofenil Hidrazina no afecta el método, pero el reactivo deberá estar neutro ya que si se tiene un reactivo ácido, se obtiene un aumento en el valor del blanco y con un alcalino se obtiene un color verde. Los solventes orgánicos comunes tales como, el alcohol, hidrocarburos, éteres, cloroformo, cloruro de metileno de petrolato líquido, no interfieren, pero el 1,4-Dioxano y la ciclohexanona dan un color café.

Para establecer la precisión del método propuesto, el dithianon puro equivalente a 50%, fué adicionado a 6 formulaciones de Delancol. Los resultados para el porcentaje de Dithianon encontrados son dados en la tabla 34.

El contenido promedio de Dithianon encontrado fué de 50.7% con una desviación estandar de + 1.1%, equivalente a 101.3% de recuperación. El error del método fué considerado de 2.1%.

En determinaciones de rutina el método propuesto es capaz de dar una pérdida del 2%, de error entre más réplicas. Los compuestos que contienen grupos carbonilos tales como grupos aldehídicos y cetónicos, deben estar ausentes en la prueba. El metanol contaminado con acetona u otros compuestos carbonilos, requieren redestilación antes de ser usados para la preparación del reactivo de 2,4 dinitrofenil Hidrazina y el Hidróxido de sodio.

B).- P-DIMETIL AMINO BENCENDIAZO SULFONATO DE SODIO:
DEXON.

Se hizo un estudio para determinar el efecto del tiem

po, temperatura, y agitación en la velocidad de la diálisis. El dextran ciclizado con C^{14} se usó para este propósito. Unos 150 ml de sulfato de sodio (1%) que contiene de 200 a 300 mcg de Dextran radiactivo fueron añadidos a 100 g de material vegetal (semillas frescas de cereales) ó 100 ml de agua destilada y mezclada durante 2 minutos. La mezcla fué introducida en un tubo de diálisis y dializado contra 600 ml de sulfato de sodio al 1%, el sistema de diálisis estaba contenido en un frasco cubierto con una lámina de aluminio, la diálisis se llevó a cabo en frío ($5^{\circ}C$) ó a temperatura ambiente ($25^{\circ}C$). La mitad de las muestras para cada temperatura fueron colocados en agitadores recíprocos y agitados lentamente durante el período de diálisis (120 a 140 ciclos/minutos).

La otra mitad de las muestras no fueron agitadas. Aliquotas (2 a 3 ml) del difundido fueron removidos en varios tiempos y la radioactividad presente fué medida con un espectrofotómetro de centelleo. El procedimiento de radioensaye fué similar al propuesto por Stemberg (116). Los datos obtenidos están presentados en la tabla 35.

El dato indica que el efecto de la temperatura en la diálisis en el Dextran recuperado es despreciable entre 5° y $25^{\circ}C$. El sistema de diálisis usado es un buen medio para el crecimiento de microorganismos y es lo mismo aunque se le añaden 4 o 5 gotas de Tolueno. El crecimiento microbiano pudo ser observado en algunas muestras. El hecho de que la recuperación del Dextran a $25^{\circ}C$ fue bueno como a $5^{\circ}C$, dado el mayor crecimiento microbiano a altas temperaturas indica que el Dextran es estable para ataques bioquímicos, sin embargo la presencia de éste crecimiento microbiano debe aparecer para incrementar la cantidad de emulsión formada durante la extracción inicial con benceno y de donde la adición de unas cuantas gotas de tolueno es recomendado.

Los datos de la tabla 35 indican que la agitación incrementó la velocidad de la diálisis significativamente. El sistema alcanza el equilibrio en 6 horas, con

agitación a comparación de las 16 a 20 horas, que se requieren para la diálisis estática.

De aquí aunque es igual el incremento de la velocidad de la diálisis, es significativamente mayor con la --agitación. Otras condiciones propusieron la selección de diálisis estática, como el procedimiento elegido -- para el análisis rutinario.

Para propósitos de cálculos, se supuso arbitrariamente que las muestras están secas, tales como cereales, semillas de sorgo, y semilla de algodón, son absolutamente secas, aunque tengan un contenido de humedad -- tan alto como 20% y otros materiales vegetales (por -- ejemplo: maíz fresco, piña, caña de azúcar y jugo de caña de azúcar), pueden tener menos de 80% de hume---dad. A pesar de que éstas suposiciones pueden introducir un error de 20 ml o también en la medida del volúmen total, esto puede representar un error global de sólo 2 - 3 % en el resultado final. Esto se consideró que puede ser el error normal experimental y de aquí que puede ser descartado.

Sea:

A = Volúmen difundido

W= Peso de la muestra en gramos

T= Volúmen total del líquido en el sistema de diálisis.

Suponiendo que sean 1000 ml para caña de azúcar, 800 ml para caña de azúcar, 800 ml para semilla de algodón y 850 ml para otros vegetales.

C= Concentración de dexon en mcg/ml, esto es leído de la curva estandar.

$$\text{ppm de Dexon en la muestra} = \frac{(10) (C) (100) (T)}{(W) (90) (A)}$$

Esta determinación se puede llevar a cabo en control de muestras no tratadas.

Se llevaron a cabo experimentos de recuperación en cada vegetal enlistado en la tabla 36, en la cual cantidades conocidas de dexon fueron añadidas, primero para la diálisis. Estos experimentos no indican la eficiencia del sistema de extracción inicial.

Los datos presentados en la tabla 36 indican que la recuperación satisfactoria del dexon se puede tener por el procedimiento descrito. Donde apropiadamente, los valores reportados fueron seguidos por la desviación promedio de la media y por el número de determinaciones llevadas a cabo.

Los datos de la tabla 36 muestran también la precisión de los datos obtenidos por éste método. En el intervalo de 0.2 ppm la desviación promedio de la media es aproximadamente el 10% del valor medido. La precisión se consideró satisfactoria por las bajas concentraciones medidas primero. El límite de la sensibilidad instrumental es aproximadamente de 0.06 ppm para la semilla de algodón, 0.02 ppm para caña de azúcar y 0.015 ppm para otras cosechas, como estos niveles residuales son necesarios para una absorbancia de 0.1.

Los valores de control en la semilla de algodón tienen un intervalo de 0.060 ppm a 0.108 ppm, de aquí que la sensibilidad para esta cosecha es aproximadamente 0.10 ppm. En el desarrollo del método, se hizo un estudio de las condiciones óptimas para la reacción de la copulación.

Para determinar el efecto de la concentración de la base a el tiempo de irradiación, alícuotas de una solución 4N de hidróxido de potasio, fueron mezcladas con 10 ml de sulfato de sodio 0.5 M, 1 ml de una solución acuosa de dexon (50 mcg/ml) y 5 ml de resorcino 4 M, diluído a 220 ml. La concentración de la base va

rió entre 0.05 N y 0.25 N.

Después de un período de irradiación de 10 minutos, - una cantidad de ácido suficiente para neutralizar la base y dar un exceso de 10 meq fué añadido a cada --- muestra. Todas las muestras fueron extraídas con 50 - ml. de Benceno, y la cantidad de color presente de ca da uno fué determinado. No se observaron diferencias en algunas de las muestras. Todas las irradiaciones - subsecuentes se llevaron a cabo en una solución de hi dróxido de potasio 0.15 N.

El efecto de variación de la concentración del resorcinol fué igualmente investigado. Varias cantidades - de resorcinol fueron añadidas a porciones de 200 ml. de hidróxido de potasio 0.15 N que contienen 10 ml. - de sulfito de sodio 0.5 N. Las concentraciones de resorcinol fueron en un intervalo de 0.0005 M a 0.1 M. Un mililitro de una solución acuosa de dexton (50 --- mcg/ml), fue añadida a cada muestra. Las muestras fue ron irradiadas por 10 min. y luego acidificadas y extraídos con benceno. Los resultados fueron los mis-- mos en todas las concentraciones de resorcinol. Todas las irradiaciones subsecuentes fueron llevadas a cabo en soluciones que tienen una concentración de 0.1 M de resorcinol. La velocidad de la copulación fué de-- terminada por irradiación de una serie de muestras pa ra períodos en un intervalo arriba de 60 minutos. Se encontró que la copulación puede ser completada en 2 o 3 minutos en ausencia de material vegetal; pero toma de 15 a 20 minutos en la presencia del tejido del extracto. Un período de irradiación de 30 minutos fué seleccionado para la rutina y da buenos resultados re producibles igualmente en la presencia de extractos - de plantas.

La variación de la concentración de sulfito de sodio entre 0.01 M y 0.5 M durante la irradiación no causa efecto en la cantidad de color obtenido. Una concen-- tración de 1% (aproximadamente 0.1 M) fué seleccionada para uso de rutina.

A el nivel de concentración de sulfito de sodio adoptado para el uso de rutina, se observó que el pH seguido de la acidificación de las muestras irradiadas fué de 1.5 o menos. Bajo éstas condiciones, una sola extracción con benceno no extrae el complejo colorido completamente. De aquí que se decidió que para neutralizar y amortiguar el sistema se adicionó fosfato monobásico de potasio hasta un pH de 5.5. A éste pH se encontró que la extracción es completa. Esto fué complementado por la adición de 20 meq de exceso de ácido y una cantidad de buffer suficiente para dar una concentración final de buffer 0.05 M.

C) DITIOCARBAMATOS (MANEB, THIRAM, ZINEB, ZIRAM, NABAM, FERBAM Y DISULFIRAM.

Mientras varios procedimientos son obtenidos, el método comúnmente empleado para la estimación de residuos de thiram es el método de hidrólisis ácida, Pease (95), aunque la recuperación en éste método es buena (93-96%) el tiempo consumado, es cerca de hora y media por cada análisis y requiere ebullición con ácido sulfúrico. En conclusión la hidrólisis de thiram no es cuantitativa bajo las condiciones experimentales descritas, debido a la dificultad de dispersión del agua insoluble en el medio ácido de thiram, por consiguiente el análisis deberá ser repetido varias veces para obtener resultados consistentes.

La máxima absorción del complejo amarillo cuproso en el alcohol acidificado y cloroformo es a 385 nm, mostrado en la figura 19. Sin embargo Keppel (64) usó cloruro cuproso para desarrollar el color con thiram, él midió la absorbancia a 420 nm, probablemente, porque el color amarillo se encuentra en la región visible. Las diferencias en absorbancias a 385 y 420 nm para una concentración dada de thiram, son bastante considerables; las pérdidas en recuperaciones a 420 nm tienen un intervalo de 25 a 71% y son máximas a altas concentraciones fig. 12.

Esto es una desventaja para leer la absorbancia a 385 nm, en lugar de depender del color amarillo en la región visible.

Sin embargo Janssen reportó que el complejo cuproso - dialquilditiocarbamatos son estables en alcohol al -- 75% (51) basado en la estabilidad constante, se encontró que la solución se decolora rápidamente después -- de 15 min. (tabla No. 27). Independientemente de la -- concentración de thiram hay cerca de 11% de pérdidas en la recuperación, después de 30 min; la pérdida es mayor a concentración menor cuanto más tiempo haya -- transcurrido antes de medir la absorbancia. El método especifica un desarrollo de color para un tiempo de -- 15 min.

Se encontraron diferencias significantes en los recuperados (25 - 38%) de pérdidas, cuando el reactivo -- de cloruro cuproso fué almacenado por dos o tres días y después usado, por lo tanto el reactivo de cloruro cuproso debe ser recientemente preparado antes de --- usarlo.

Sin embargo tanto 0.01 y 0.1% de reactivo de cloruro cuproso dan 94.4% de recuperación, una solución de -- 0.1% fué usada, ya que la velocidad de reacción es aumentada por un exceso de iones cuprosos en la mezcla de reacción.

Las recuperaciones de thiram fueron de 74 y 79.5% respectivamente, cuando 0.5 y 1.0 ml. de cloruro cupro-- so fué usado para la reacción.

Las recuperaciones de thiram fueron incrementadas a -- 94.9% cuando se usaron 2 ml. de reactivo.

Como la recuperación del remanente es constante para 2 a 3 ml de reactivo, fué seleccionado 2 ml. de reactivo como la cantidad mínima para la máxima recuperación.

Las cantidades conocidas en una formulación de thiram, al 75% fueron usadas para los experimentos de recuperación por ambos métodos.

El método de la hidrólisis ácida (95), los resultados están dados en la tabla No. 38.

Los granos sorgo, trigo, y arroz; rociados con thiram fueron usados para analizar los residuos de thiram, tanto por los métodos de la hidrólisis ácida y el de cloruro cuproso; (ver tabla 39). La estabilidad del color amarillo fue evaluada por medida de las absorbancias en intervalos de 30 min. Los porcentajes de pérdidas en la recuperación son dados en la tabla 37. La cantidad de reactivo de cloruro cuproso necesario para complemento de color fué decidido por la adición de 0.5 a 3.0 ml de reactivo a un ml de solución de cloroformo, conteniendo 200 mcg de thiram y calculando la recuperación. La estabilidad del reactivo de cloruro cuproso fué evaluada por el uso tanto de reactivo recientemente preparado y reactivo teniendo 2 días de preparado, para el desarrollo del color con 1 ml de solución de cloroformo conteniendo 200 mcg de thiram, (ver figura No. 12).

En la determinación de ditiocarbamatos en frutas y vegetales, el tamaño de muestra ha sido estandarizada a 100 g. para obtener una muestra representativa. Para cosechas voluminosas como el heno, se usa una pequeña muestra.

Cullen y otros han reportado que los ditiocarbamatos son muy susceptibles a la descomposición. Cuando están en contacto con humedad, azúcares, etc. es recomendable que las muestras estén guardadas hasta que se examinen y que el método usual de mezclado se omita.

Tipo de Gas usado en el sistema.- Cullen usa nitrógeno para remover el disulfuro de carbono dentro del matraz; otros usan una corriente de aire. Un vacío se aplica para eliminar el aire contenido en el matraz -

digestor. Ambos métodos fueron aprobados y los resultados fueron aproximadamente los mismos como se muestra en la tabla 40, éstos concuerdan por los encontrados por Smink y Weingarten (53). El método de Cullen carece de grado de precisión y reproducibilidad. Esto es particularmente para Maneb y Nabam los cuales son etilen y ditiocarbamatos.

Los compuestos que son solubles en compuestos orgánicos (thiram, ferbam, y ziram), deben ser rápidamente purificados por cristalización. El único camino conocido para checar la purificación de los etilen bisditiocarbamatos es por medida de disulfuro de carbono. X

D) P-TOLUEN SULFONAMIDA (P.T.S.A.)

Un procedimiento simple para la determinación de salicilanilida y P-Toluen Sulfonamida se llevó a cabo. La Salicilanilida se determinó por extracción con etanol y una subsecuente medición de espectro de absorción en UV y también por determinación del contenido de nitrógeno de acuerdo con el método de Kjeldahl. Para la determinación del P-Toluen Sulfonamida se emplearon tres métodos diferentes que son: la determinación de Kjeldahl para el contenido de nitrógeno, la determinación del contenido de azufre por combustión de la muestra en un matraz de oxígeno y una subsecuente determinación del sulfato y también por medición del espectro de absorción en UV, éste último método sólo es apropiado para un registro semicuantitativo.

La figura 20 da la curva de absorbancias para una concentración de P.T.S.A. a 0.21 mg/ml. Para la extracción de P.T.S.A. en películas de pintura, se tiene que es muy soluble en etanol para ser extraída. Sin embargo, el análisis tiende a ser muy inexacto porque el coeficiente de absorción es muy pequeño y la presencia de otros ingredientes extraídos por el etanol, absorben en la misma región. De aquí que es preferible proveer la exactitud del método extrayendo con ciclohexano, el cual disuelve muy poco éstas sustan-

cias de interferencia. La solubilidad del P.T.S.A. en ciclo hexano frío es menor y después de extraer con ciclohexano se le añade algo de etanol para incrementar la solubilidad del PTSA.

Los resultados de las determinaciones de S.A. en algunas pinturas están dados en la tabla 41.

Es sencilla la determinación espectrofotométrica de 0.1 g de S.A. en 100 mg de pintura.

Si la extracción se hace con 25 ml. de etanol la concentración de S.A. será de 0.004 mg/ml el cual da una absorbancia de aproximadamente 23 unidades. La fig. - 21 da la curva de absorbancia de S.A. a una concentración de 0.0124 mg/ml.

FUNGICIDAS ORGANICOS

A) SALICILANILIDA (S.A.)

ver P - Toluen Sulfonamida.

VI.- TABLAS Y GRAFICAS

Tabla 1.-Hidrolisis de dyreno^a

Tiempo de reflujo horas	Hidrolisis acida		Hidrolisis alcalina	
	HCL, 5N ^b	HCL, 10N ^c	KOH, 5N ^b	KOH, 10N ^b
0.0	0	0	0	0
0.5	15	16	2	2
1.0		26	3	2
2.0	76	75	3	3
3.0	89	62	6	3
4.0	100	62	6	4
5.0	100	89	5	4

a) Todos los resultados son reportados como mcg de o-cloroanilina.

b) 5 ml.

c) 7 ml.

Tabla 2. Absorción a 495 nm de soluciones que contienen varias cantidades de cobre (complejo D.P.C.)

mcg de cobre por ml	Absorbancia
0.2	0.08
0.4	0.15
0.6	0.22
0.8	0.30
1	0.39

Tabla 3. Analisis de P.C.P en pintura

Tipo de pintura	Cloro Total	P.C.P. por	Cloro Residual	Total de las	Diferencia en el
	como P.C.P. %	extracción %	como P.C.P. %	columnas 3 y4 %	contenido de Cl. total %
Esmalte Alquil mate No. 1 con pigmento de <u>di</u> xido de <u>Botilo</u> titanio	3.98	3.30	0.72	4.02	1.0
Esmalte Alquil' mate No.2 con pigmento de <u>di</u> xido de rutilo titanio	3.24	2.47	0.63	3.10	4.3
Esmalte Alquil mate No.3 con pigmento de <u>di</u> xido de rutilo titanio	3.85	2.73	1.32	4.05	5.2
Esmalte Alquil mate No.4 con pigmento de <u>di</u> xido de Anatase titanio	3.48	2.34	1.02	3.36	-3.4
Pintura alquilica semi brillante con pigmento de oxido rojo	3.47	2.78	0.63	3.41	-1.7
Pintura alquilica con pigmento de - oxido de zinc	3.18	2.32	0.69	3.01	-5.3
Barniz de aceite de soya	3.97	2.36	1.41	3.77	-5.0

Tabla 4. Analisis de P.C.P. en barniz después de estar expuesto durante 6 meses

Condiciones	Cloro total como P.C.P %	P.C.P. por extracción %	Cloro residual como P.C.P %	Total de las columnas 3 y 4, %	Diferencia en el contenido de cloro t. %
Antes de la exposición	3.97	2.36	1.41	3.77	- 5.0
Puertas Ext.	3.40	0.00	3.00	3.00	-11.8
Cuarto obscuro	2.10	0.00	1.70	1.70	-19.00
Puertas Int. a 18°C	3.70	1.80	1.65	3.45	- 6. 8
Puertas Int. a 35°C	2.75	0.80	1.50	2.30	-16.4

Tabla 5 Analisis de N.P.I en pintura

Tipo de pintura	Cloro Total como N.P.I %	N.P.I por extracción %	Cloro Residual como N.F.I %	Total de las columnas 3y4 %	Diferencia en el contenido de Cl. total %
Esmalte alquilate con pigmento de dióxido de rutilo titanio	4.58	4.80	0	4.80	4.8
Esmalte alquilate brillante con pigmento de dióxido de rutilo titanio	4.13	3.32	0.97	4.29	3.9
Esmalte alquilate con pigmento de dióxido de anatasa titanio	5.25	4.65	0.70	5.35	1.9
Barniz de aceite de soya	4.06	3.38	0.99	4.37	7.6

TABLA 6.- COMPARACION DE RECUPERADOS DE PCNB

ANALISTA	PCNB ADICIONADO (ppm)	PCNB ENCONTRADO (ppm)	RECUPERADO %
LECHUGA			
1	0.00	0.00	
2	0.10	0.10	100
3	0.20	0.17	85
4	0.50	0.55	110
5	0.50	-	-
6	1.00	0.84	84
7	3.00	3.00	100
8	5.00	4.00	80
		4.50	90
PROMEDIO DE RECUPERADO			92.7 80.110 9.6
COL			
9	0.00	0.00	90
10	0.10	0.20	100
11	0.20	-	-
12	0.20	-	-
13	0.50	0.48	96
14	0.50	-	-
15	0.50	-	-
16	1.00	0.90	90
17	1.00	-	-
18	3.00	2.90	96.7
19	5.00	4.80	96.0
20	5.00	-	-
PROMEDIO DE RECUPERADO			94.8 90.100 5.2
EJOTES			
21	0.00	0.00	
22	0.10	0.10	100
23	0.20	0.17	85
24	0.50	0.45	90
25	1.00	1.17	117
PROMEDIO DE RECUPERADO			98 85 117 10.5

Tabla 7 Absorción a 380 nm de soluciones que contienen varias cantidades de cobre (complejo de Benzoina Oxima)

mcg de cobre por ml.	Absorbancia después de 5 min	Después de 2 Hrs.
2.3	0.09	0.08
4.6	0.17	0.17
6.9	0.26	0.26
9.2	0.33	0.33
11.5	0.42	0.41

Tabla 8 Analisis de 8-Hidroxiquinolato de cobre* en pinturas

Pintura	8-Hidroxiquinolato en %	Cobre en %	Proporcion teorica cobre/Hidroxiquinolina	Proporción encontrada Cu/hidroxiquinolato
Esmalte alqu lico brillan te pigmentado con dióxido - r titando	3.07	0.70	0.217	0.227
Esmalte alqu lico brillante pigmentado con dióxido de a. titanio	3.03	0.69		0.225
Esmalte alqu lico mate	3.50	0.804		0.229

* Se uso una pintura de grado comercial

Tabla 9 Analisis de P.T.S.A en películas de pinturas

Tipo de pintura	P.T.S.A a partir del contenido de Nitrogeno	P.T.S.A a partir del contenido de Azufre	P.T.S.A por extracción	P.T.S.A en residuos de extracción por determinación de N.
	%	%	%	%
Esmalte alquílico brillante pigmentado con dióxido de rutilo titanio	5.5	5.2	3.9	1.1
Esmalte alquílico brillante pigmentado con dióxido de anatasa titanio	4.9	4.7	5.5	1.6
Esmalte alquílico mate pigmentado con Óxido de Zinc	4.3	4.1	5.1	0.6
Barriz Claro	5.	5.05	3.4	1.4

Tabla 10. Efecto del $\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$ en las mezclas de hidrolisis an analisis de 5,6-Dicloro-2 Benzoxazolinone

$\text{Cr}(\text{OH})\text{SO}_4$ añadido mg†	5,6-Dicloro-2-Benzoxazolinone	
	mg. encontrados	% de recuperado
0	12.48	99.8
1	10.71	85.7
2	8.50	68.0
3	8.92	71.4
4	7.31	58.5
5	7.99	63.9

* La mezcla 12.5 mg de 5,6 dicloro-2-benzoxazolinone (5 ml. de una solución standard contienen 2.5 mg por ml. fué usada)

† Aliquotas de una solución acuosa que contiene 1 mg. de sal por ml. fué usada.

Tabla 11 Efecto del agua añadida al cloroformo usado, para la extracción de la piel.

Agua Añadida ml	% de fungicide recuperado	
	Cromato de piel	Vegetal-tanato de piel
0	30.4, 39.2, 84.8	62.0, 72.8, 78.0
10	100.0	-
15	96.8	102.4
20	96.8, 101.6	102.4
25	98.4	98.8

* 70 ml.

† 2.5g especímenes de piel seca que contienen 12.5 mg. de 5,6-dicloro-2-benzoxazolinona.

Tabla 12 Analisis de pieles que contienen el fungicide 5,6-Dicloro-2-Benzoxazolinona

		5,6-Dicloro-2-Benzoxazolinona		
Tipo de piel	Curtido	Añadido a la muestra mg	Encontrado en el extracto mg	% Error
Suela de calzado	vegetal	12.50	12.55	+ 0.4
		5.00	4.96	- 0.8
		2.50	2.45	- 2.0
para calzado	solo cromo	25.00	25.25	+ 1.0
		12.50	12.50	0.0
		5.00	5.12	+ 2.4
para calzado	cromo, vegetal	2.50	2.50	0.0
		12.50	12.33	- 1.4
		5.00	5.04	+ 0.8
para calzado	cromo, vegetal	2.50	2.61	+ 4.4
		12.50	12.69	+ 1.5
		5.00	5.14	+ 2.8
para calzado	cromo, vegetal	2.50	2.30	- 8.0
		12.50	12.69	+ 1.5
		5.00	5.12	+ 2.4
		2.50	2.30	- 8.0

* Muestra de 2.5 g

Conteniendo grandes cantidades de grasa, de 20-30 %

Tabla 13 Precisión del método de dyreno para tomates

Dyreno añadido p.p.m	Dyreno encontrado ^a p.p.m	Dyreno recuperado p.p.m.	Recobrado %
0.00	0.25 ± 0.00(2)	0.50	
0.50	0.75 ± 0.07(3)	0.50	100
1.00	1.30 ± 0.03(3)	1.05	105
2.50	2.88 ± 0.16(3)	2.63	105

a) Los valores son seguidos por la desviación promedio de la media y, en paréntesis, por el número de determinaciones.

Tabla 14 Recuperados de dyreno añadido a Cosechas

Cosecha	Dyreno añadido	Dyreno encontrado ^a	Promedio de recupe- rado.
	mcg	mcg	%
apio	100	86.4 ± 2.0(2)	86.4
	150	146.1 ± 18.0(2)	97.4
	250	212.0 ± 5.0(2)	84.2
Cebollas	50	41.7 ± (1)	83.3
	100	88.9 ± 2.1 (4)	88.9
	250	229.2 ± 8.9 (6)	91.6
Papas	50	41.7 (1)	83.3
	100	89.5 ± 2.1 (4)	89.5
	150	155.0 (1)	103.0
Tomates	250	236.5 (1)	94.7
	100	99.0 (1)	99.0
	150	147.0 (1)	98.0
	250	242.5 (1)	97.0

a) Los valores son seguidos por desviaciones promedio y número de deter-
minaciones.

Tabla 15 Recuperado de dyreno en manzanas

Dyreno Añadido, mcg.	
50	100
% De Recuperado	
90	109
96	102
104	113
80	87
88	99
124	90
	85

Tabla 16 Determinación de % de Spergon en muestras desconocidas

Muestra	Spergon presente	Analista A	Analista B	Analista C
	%	%	%	%
1	6.50	6.52	6.52	6.54
2	5.50	5.56	5.59	5.55
3	5.00	5.03	5.00	5.00
4	6.00	6.04	5.96	6.04
5	10.00	10.00	9.93	10.06
6	5.0	5.13	5.03	5.00

TABLA 17 DATOS DE RECUPERACION

	P.P.M ADICIONADOS	P.P.M. RECUPERADOS	RECUPERACION %
BROCCOLI	0.52	0.45	87
	0.50	0.41	82
	0.50	0.49	96
	0.50	0.47	94
	0.50	0.37	74
	0.50	0.40	85
	0.10	0.11	115
COLIFLOR	0.50	0.37	74
	0.50	0.36	72
	0.55	0.41	74
	0.51	0.44	86
	0.55	0.41	75
LECHUGA	0.10	0.09	90
	0.96	1.10	115
			86

Todos los valores dados han sido corregidos para granos en -
muestras tratadas.

Tabla 18 Absorbancia de pequeñas cantidades de Captan

Cantidad de Captan,mcg	0	0.1	0.4	1.0
Absorbancia Neta	0.028	0.032	0.036	0.052

Tabla 19. Reproducibilidad de las lecturas de las absorbancias netas.

Tomates picados+15 mcg de Captan 10 mcg de Captan(en diferentes días)	Replica de las lecturas de la absorbancia neta					
		0.379	0.378	0.376		
	0.261	0.261	0.273	0.265	0.253	0.262
	0.252	0.257	0.267	0.269	(=	0.007)

Tabla 20. Recuperados de Captan en productos alimenticios

Tipo de experimento ^a	producto	Añadido equivalente en p.p.m.	% de recuperado
A	Manzanas	10	98
		8	105.97
		6	100
	Tomates	6	98
		4.5	185
		10	99
Peras	6.7	106,97.5	
	5	97	
B	Tomates	1.15	105
C	Trigo	8.3	102

a) Ver Sección

Tabla 21 Efecto del agua añadida en el desarrollo de color a porciones de acetona de 10 ml. que contienen 20 mcg. de tetracloronitrobenzeno

% de agua en volúmen	% T
0 (despreciable)	71.7
0.55	78.7
1.10	90.2
1.65	95.9

Tabla 22. Comparación de la sensibilidad de varios métodos espectrofotométricos de análisis de cobre de tejidos.

138

Reactivo	Primera Referencia del método	Volúmen final ml.	Longitud de la célula. cm	Densidad Óptica del peso prom. de Cu.		Longit. de onda óptimas nm
				14 mcg	1 mcg	
Oxaldihidracida	123	25	5	0.055	0.887	530
Acido Rubeánico	82	4.20	1	0.037	0.713	385
Cuprizona	123	25	5	0.045	0.682	605
Dibencilditiocarbamato de zinc	20	5.00	1	0.011	0.648	440
Carbamato de E.D.T.A	20	5.00	1	0.021	0.528	435
Batocuproina	20	6.00	1	0.027	0.443	479
Cuproina	39	5.00	1	0.019	0.279	546

Tabla 23. Determinación de cobre en 12.29 oz de Drill de Algodón tratado en el laboratorio con Naftenato de cobre y/o 8 Quinolinato de cobre, en combinación con repelentes de agua, absorbentes de luz U.V, y retardadores de fuego

% De Cobre Encontrado

Replacas	Cobre Aplica do al tejido Como:	Electro litico *	Dibencil Ditiocar bamato de Zinc.	Acido Rubeá nico	Batocu proina	Cuproi na	Cupri zona	Oxaldi hidra- cide	E.D.TA Carbamato.
2	cobre	.001	.000	.000	.000	.000	.000	.033	.000
3			.000	.000	.000	.000	.000	.046	.000
4			.000	.000	.000	.000	.000	.033	.000
5			.000	.000	.000	.000	.014	.000	.000
Media		.004	.000	.000	.000	.000	.003	.028	.000
Dev. Standard		-	-	-	-	-	-	.017	-
1	Nafteno	.346	.390	.386	.362	.354	.341	.452	.407
2	nato	.335	.374	.384	.381	.340	.326	.399	.411
3		.354	.380	.393	.366	.345	.45	.401	.444
4		.352	.389	.385	.368	.360	.321	.464	.399
5		.347	.382	.383	.364	.352	.355	.431	.399
Media		.347	.383	.386	.368	.350	.338	.429	.412
Dev. Standard		.007	.007	.007	.007	.007	.013	.029	.019
1	8-Quino	.059	.092	.082	.081	.055	.075	.125	.089
2	linolato	.060	.081	.084	.135	.053	.083	.086	.088
3		.080	.082	.084	.054	.054	.073	.118	.084
4		.065	.077	.076	.071	.057	.059	.064	.089
5			.076	.072	.054	.053	.064	.135	.109
Media		.066	.082	.080	.064	.054	.071	.108	.092
Dev. Standard		.010	.006	.004	.013	.002	.009	.026	.010
1	Naftenato	.373	.402	.406	.373	.370	.378	.365	.420
2	y 8-Quino	.388	.405	.404	.383	.360	.376	.430	.371
3	linolato	.374	.429	.394	.380	.356	.384	.397	.398
4		.376	.424	.394	.364	.356	.381	.357	.378
5			.428	.382	.383	.357	.377	.376	.390
Media		.376	.418	.396	.377	.360	.379	.385	.391
Dev. Standard		.007	.013	.010	.008	.006	.003	.029	.019

* Datos registrados por Bubernak y Baskin () en base a muestras de 5g.

Tabla 27. Analisis de tejidos tratados comercialmente
hecho por el departamento de la Armada de -
los Estados Unidos Americanos bajo la espe-
cificación CCC-C-428a "Tela, Dril de algodón
con retardadores de fuego, repelentes al agua
y resistentes al moho y al tiempo.

% De Cobre Encontrado

Muestra	Electro litico	Media	Rango	Dibencil Zinc	ditiocar bamato de	Media	Rango	Acido Rubeanico	Media	Rango
1	.46 .46	.46	.01	.467 .504 .459 .471 .483	.48	.045	.431.521.458.449.459	.46	.090	
2	.47 .475	.47	.01	.506 .521 .514 .559 .524	.53	.053	.463.496.482.467.433	.47	.063	
3	.375.38	.38	.01	.470 .481 .458 .537 .475	.48	.079	.450.422.416.459.464	.44	.048	
4	.475.51	.49	.035	.538 .508 .493 .478 .478	.50	.060	.477.449.463.535.489	.48	.086	
5	.43 .34	.38	.09	.414 .412 .436 .403 .421	.42	.033	.419.399.447.398.405	.41	.048	

Tabla 25. Efecto del Ión Cobre en la exactitud del procedimiento analítico

$C_{60}H_{12}Hg, mcg$		Cu ⁺⁺ Añadido, mcg.
Original	recuperado	
65	65	50
65	68	100
65	69	200

$C_{60}H_{12}Hg, mcg$		Cu ⁺⁺ Añadido, mcg.
Original	Recuperado	
74	75	50
74	79	100
74	83	200.

Tabla 26 Efecto de la concentración del ácido y del número de extracciones en la interferencia de Cobre

Normalidad del ácido	Número de extracciones	$(C_{60}H_{12}Hg)_3PO_4$ Añadido mcg	Cu ⁺⁺	
			Añadido, mcg	Error debido al Cu ⁺⁺ %
3.0	3	87.5	100	+ 2
3.0	2	87.5	100	+ 5
3.0	1	75.0	100	+ 11
2.5	2	87.5	100	+ 8
2.5	1	87,5	100	+ 8
2.0	3	75.0	70	+ 5
2.0	2	75.0	70	+ 7

Tabla 27. Efecto del tiempo de reposo en la
la interferencia de Mercurio (oso)
en la determinación de Etil mercurio

C_2H_5Hg , mcg		Mercurio Hg^{+}	Tiempo transcurrido
Original	Encontrado	añadido, mcg	minutos
68	68	100	0
74	86	200	0
74	76	200	20
84	86	200	20
84	86	300	40
84	87	500	85

Tabla 28 Comparación de la sensibilidad del
metodo y la interferencia del Cu^{++}

(Usando tetracloruro de carbono y cloroformo
como solvente de dithizona)

Cloruro Etil Mercurico, mcg	% de transmitancia		% de error	
	En $CHCl_3$	En CCl_4	100 mcg Cu^{++} $CHCl_3$	50 mcg Cu^{++} CCl_4
75	23	48
105	73	62	+5	+28
Acetato de fenil mercurio mcg				
60	25	29	+7	+30
90	68	54

Tabla 29 Recuperado de acetato de fenil mercurio
Añadido

Original, mcg	Añadido, mcg	Encontrado, mcg	Error, mcg
64	60	124	0
79	30	110	+1
58	45	104	+1
27	30	58	+1
6	30	36	0

Tabla 27. Efecto del tiempo de reposo en la
la interferencia de Mercurio (oso)
en la determinación de Etil mercurio

C_2H_5Hg , mcg		Mercurio Hg^{+}	Tiempo transcurrido
Original	Encontrado	añadido, mcg	minutos
68	68	100	0
74	86	200	0
74	76	200	20
84	86	200	20
84	86	300	40
84	87	500	85

Tabla 28 Comparación de la sensibilidad del
metodo y la interferencia del Cu^{++}

(Usando tetracloruro de carbono y cloroformo
como solvente de dithizona)

Cloruro Etil Mercurico, mcg	% de transmitancia		% de error	
	$CHCl_3$	CCl_4	100 mcg Cu^{++}	50 mcg Cu^{++}
75	23	48
105	73	62	+5	+28
Acetato de fenil mercurio mcg				
60	25	29	+7	+30
90	68	54

Tabla 29 Recuperado de acetato de fenil mercurio
Añadido

Original, mcg	Añadido, mcg	Encontrado, mcg	Error, mcg
64	60	124	0
79	30	110	+1
58	45	104	+1
27	30	58	+1
6	30	36	0

Tabla 30. Descomposición de compuestos de etil y fenil mercurio en ácido clorhídrico 3N

Compuesto original de mercurio, mcg	Tiempo transcurrido min	Encontrado, mcg	Pérdida %
Fenil			
90	20	81	10
90	40	77	14
90	80	76	16
90	140	64	29
90	255	47	48
Etil			
90	40	88	2
88	80	88	0
88	155	88	0
75	255	76	+1
75	toda una noche	76	0

Tabla 31. Valores de recuperados a diferentes intervalos de tiempo después de remover el solvente de 50 a 60°C.

Karateno añadido mcg	Absorbancia, 444 nm ^a	
	En el momento de sequedad	10 min. después de la sequedad
10	0.088	0.086
20	0.173	0.174
30	0.268	0.265
40	0.360	0.362

a) Se usó como referencia un blanco.

Tabla 32. Recuperado de karateno después de evaporar el solvente a varias temperaturas

Temperatura C.	Absorbancia 444 mcg
40	0.440 ^a
57	0.458
77	0.449

a) 50 mcg. de karateno usado.

Tabla 36 Dexon recuperado de material vegetal

material vegetal	valores controlados		Dexon añadido	Dexon encontrado	promedio recuperado
	p.p.m.	p.p.m.	p.p.m.	p.p.m.	%
MAIZ	0.015	<0.015	0.050	0.039	78
	<0.015	<0.015	0.100	0.078 ± 0.004(3)	78
PIÑA	<0.015	<0.015	0.250	0.220	88
	<0.015	<0.015	0.050	0.051 ± 0.003(2)	102
	0.016	<0.015	0.100	0.087 ± 0.019(4)	87
		<0.015	0.200	0.226 ± 0.012(2)	113
SEMILLA DE SORGO	<0.015	<0.015	0.050	0.041 ± 0.005(4)	82
	<0.015	<0.015	0.100	0.077 ± 0.001(4)	77
	0.023	<0.015	0.200	0.13 ± 0.018(2)	65
CAÑA DE AZUCAR	<0.020	<0.020	0.050	0.068 ± 0.001(2)	136
	<0.020	0.037	0.100	0.105 ± 0.019(4)	105
			0.200	0.172	86
JUSO DE CAÑA DE AZUCAR	<0.015	<0.015	0.100	0.083 ± 0.002(3)	83
	<0.015		0.200	0.168	84
SEMILLA DE ALGODON	<0.060	<0.060	0.100	0.100 ± 0.015(2)	100
	0.108	0.084	0.200	0.190	95
			0.400	0.352	88

a) Los números en paréntesis se refieren al número de determinaciones involucradas.

Tabla 37. Pérdidas en recuperados de thiram (%) con el tiempo

Thiram mcg	Lectura de la absorbancia después (min)				
	0	15	30	60	120
5.25	0.0	0.0	11.6	21.06	34.6
42.0	0.0	0.0	11.0	21.08	28.05
200.0	0.0	0.0	11.47	14.75	24.60

Tabla 38. Comparación de recuperados (mcg) de thiram de muestras de granos fortalecidos

Thiram añadido, mcg	Metodo Actual, mcg	Hidrolisis Acida (3), mcg
10	9.67 0.47	9.57
20	18.66 0.48	19.14
40	37.66 0.72	38.28
70	65.33 0.41	64.15
100	91.67 0.71	93.07

Tabla 39. Comparación de recuperados de residuos de thiram

Concentración del Spray usado g/l	Metodo Actual (p.p.m.)	Hidrolisis Acida (3) p.p.m.
T R I G O		
4.0	192.7	193.22
2.0	106.1	96.61
0.5	30.05	31.81
0.25	8.67	9.66
S O R G O		
10	300.64	315.20
8.0	294.89	292.70
6.0	290.89	292.20
4.0	158.52	157.55
2.0	93.89	94.76
0.5	28.92	29.24
0.25	6.10	6.34
A R R O Z		
8.0	186.9	184.7
4.0	96.74	94.5
2.0	48.07	50.01
1.0	18.49	18.50

Tabla 40 .- DETERMINACION DE DITIOCARBAMATOS USANDO NITROGENO O AIRE -
PARA NIVELAR EL CS₂ DEL MATRAZ DE DIGESTION.

DITIOCARBAMATO	NITROGENO	RECUPERADO %
		AIRE
FERBAM	99.4	100.5
ZINEB	100.0	98.6
THIRAM	98.8	95.4
REACTIVO BLANCO	0	0

Tabla 41 Analisis de S.A.² en pintura

Tipo de pintura	S.A. a partir del contenido de nitrogeno %	S.A. por extracción %
Esmalte alquílico brillante pigmentado con dióxido de rutilo titánico	2.7	2.8
Esmalte alquílico brillante pigmentado con dióxido de anatasa	3.1	3.3
Esmalte alquílico mate pigmentado con dióxido de rutilo titánico	4.1	4.1
Esmalte alquílico mate pigmentado con óxido de zinc	2.7	2.7

FIG. 1.- CURVA DE CALIBRACION DE LA 5,6-DICLORO-2-BENZOXAZOLINA.

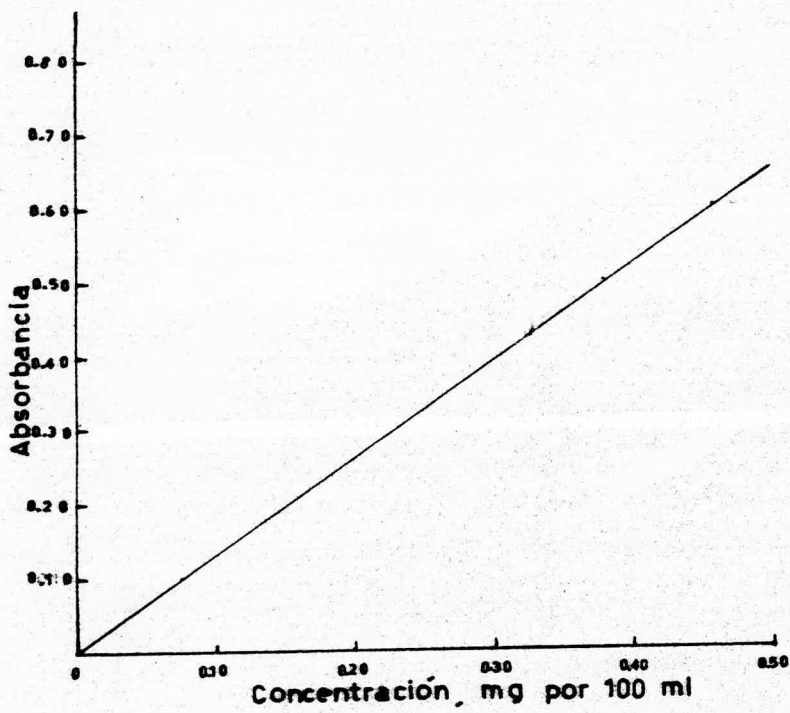


FIG. 2.- ESPECTRO DE ABSORCION DESARROLLADO EN LA DETERMINACION DE
DYRENO.

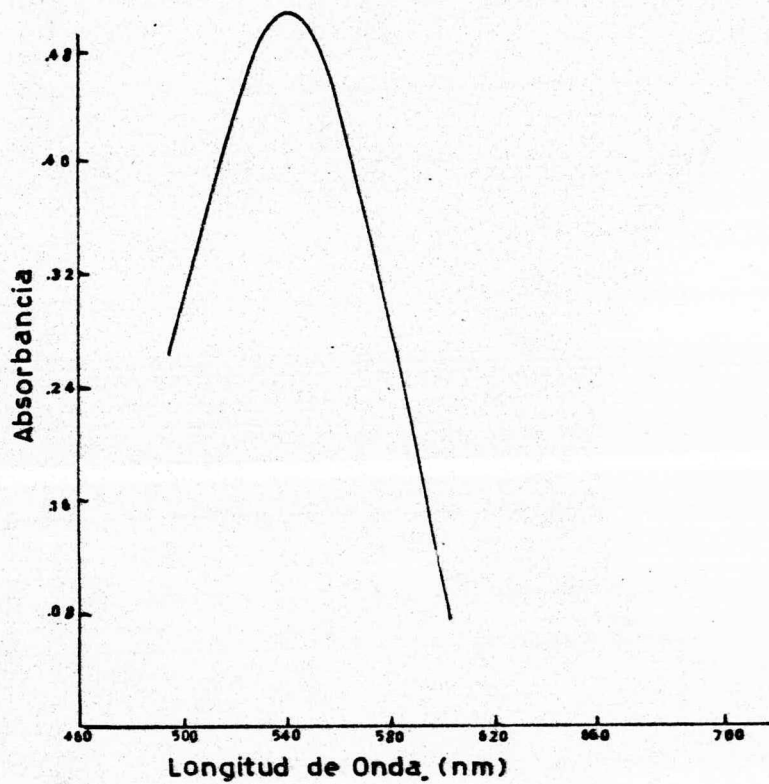


FIG. 3.- CURVA ESTANDAR DE DYRENO.

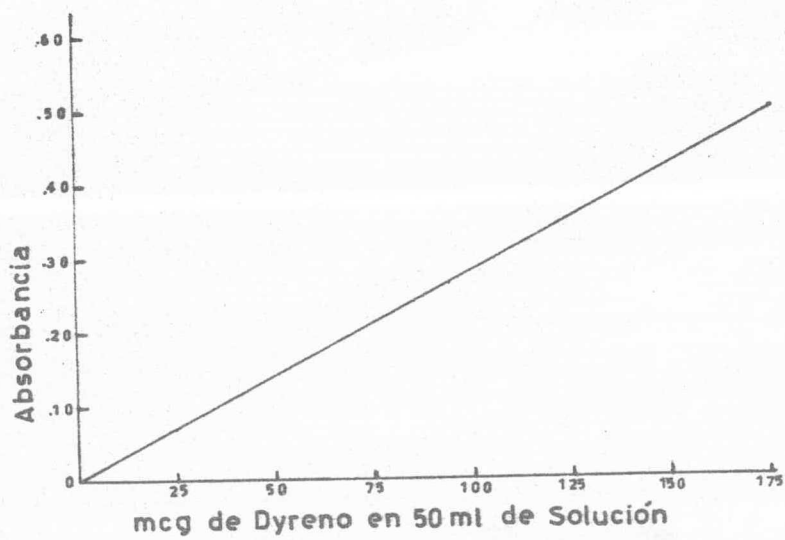
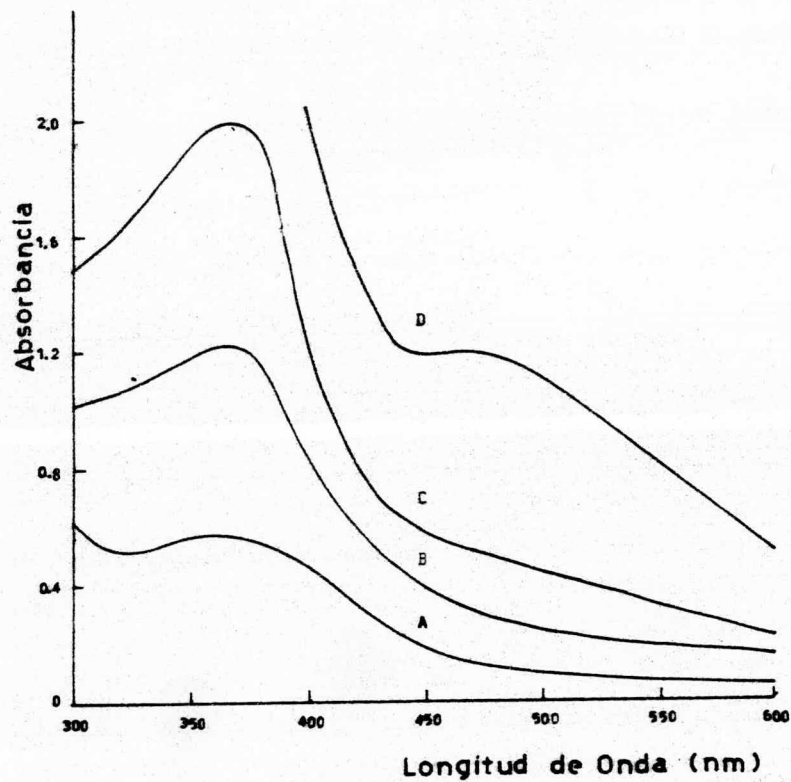


FIG. 4.- ESPECTRO DE ABSORCION DEL DITHIANON.



- A) REACTIVO BLANCO
B) 0.5 mg DE DITHIANON
C) 1 mg DE DITHIANON
D) 2 mg DE DITHIANON

FIG. 5.- ESPECTRO DE ABSORCION DEL PRODUCTO DE REACCION
DEXON - RESORCINOL.

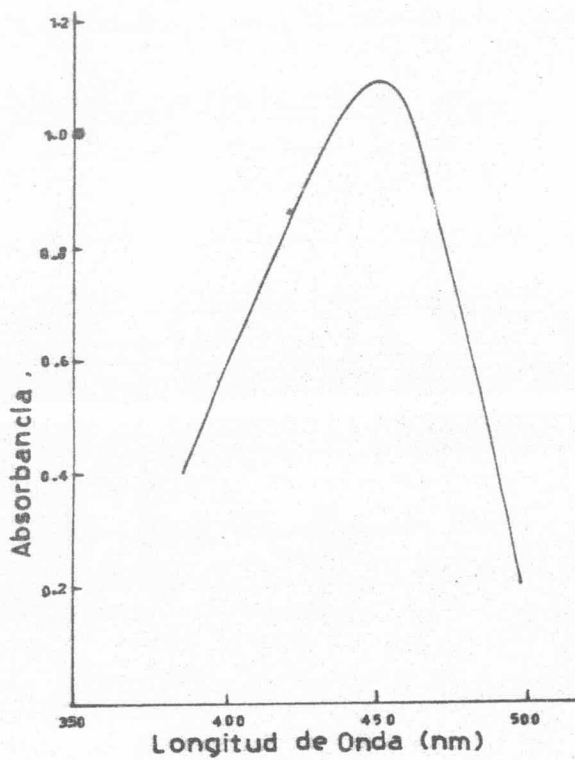
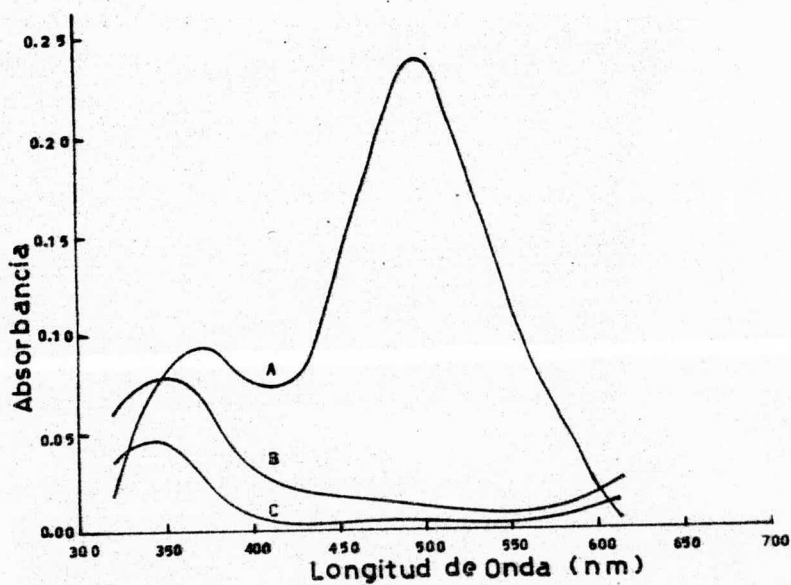


FIG. 6.- ESPECTRO DE ABSORCION DE LA 5,6-DICLORO-2-BENZOXAZOLINONA.



- A) PRODUCTO DE REACCION DE LA 5,6-DICLORO-2-BENZOXAZOLINONA DESPUES DE LA HIDROLISIS, DIAZOTIZACION Y COFULACION CON RESORCINOL, CONTENIENDO TANINOS VEGETALES.
- B) BLANCO NO CONTENIENDO EL PRODUCTO DE LA REACCION DE LA 5,6-DICLORO-2-BENZOXAZOLINONA, PERO CON EL EXTRACTO CONTENIENDO TANINOS VEGETALES.
- C) BLANCO IGUAL QUE (B), PERO CONTENIENDO EL EXTRACTO CROMO-TANATOS.

FIG. 7.- CURVA ESTANDAR DE CLORANIL.

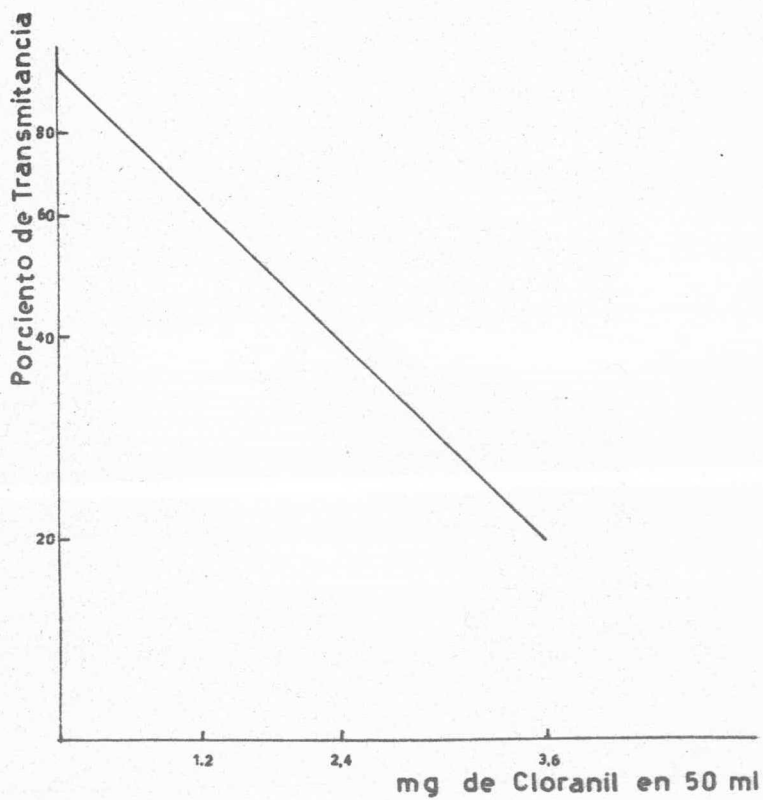


FIG. 7A.- CURVA DE ABSORBANCIA DEL PENTAFLUOROFENOL EN CICLOHEXANO A UNA CONCENTRACION DE 0.067 mg/ml.

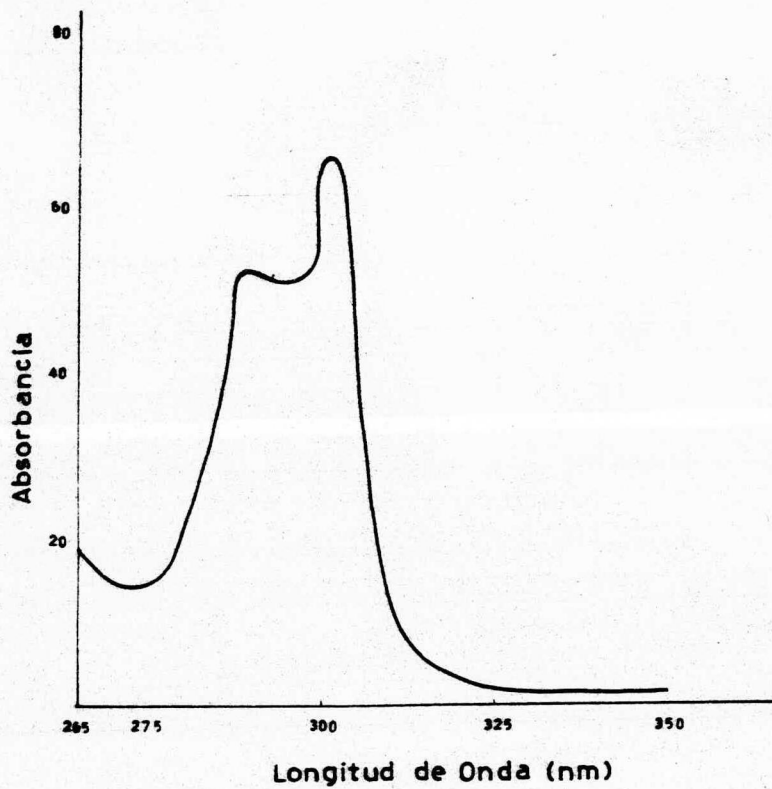


FIG. 8.- ESPECTRO DE ABSORCION DE EL COLOR AZUL PRODUCIDO POR LA OXIDACION DE LA DIFENIL - p - FENILENDIAMINA POR EL CLORANIL.

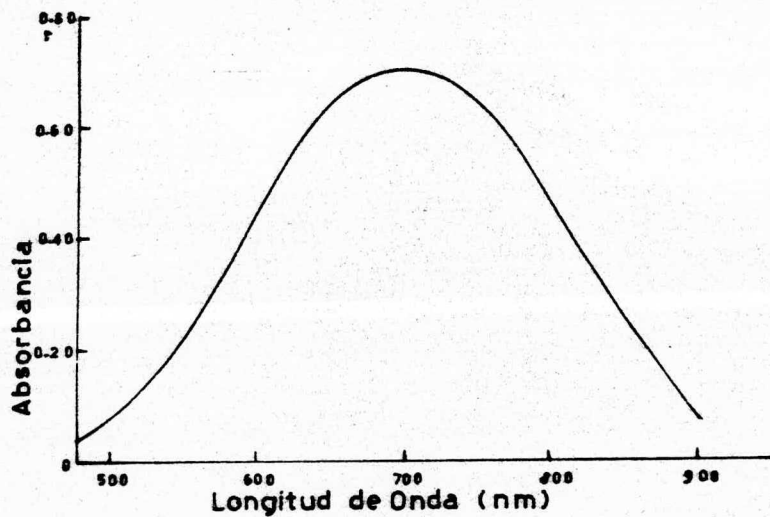


FIG. 9.- EFECTO DE VARIAS SOLUCIONES EXTRACTORAS EN LAS CURVAS DE INTENSIDAD DEL COLOR EN EL ANALISIS DE SPERGON.

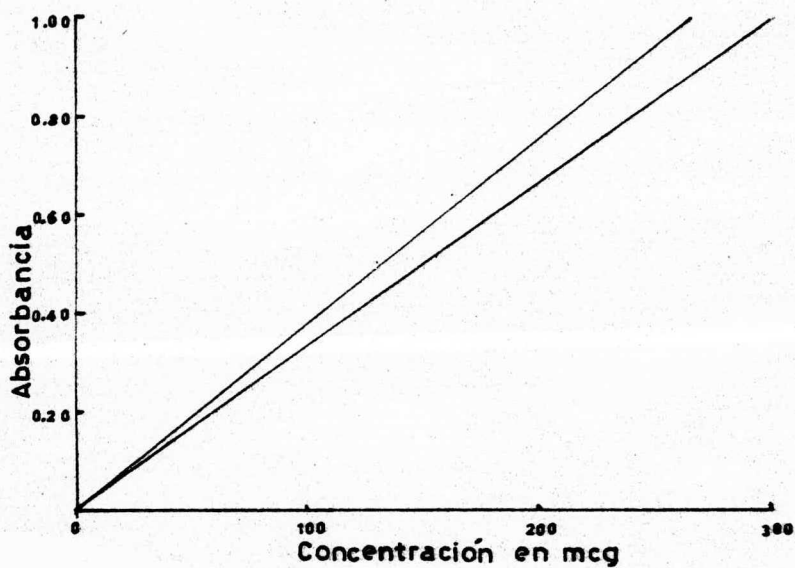


FIG. 10.- CURVA DE ABSORBANCIA PARA N.P.I. EN CICLOHEXANO (0.135 mg/ml).

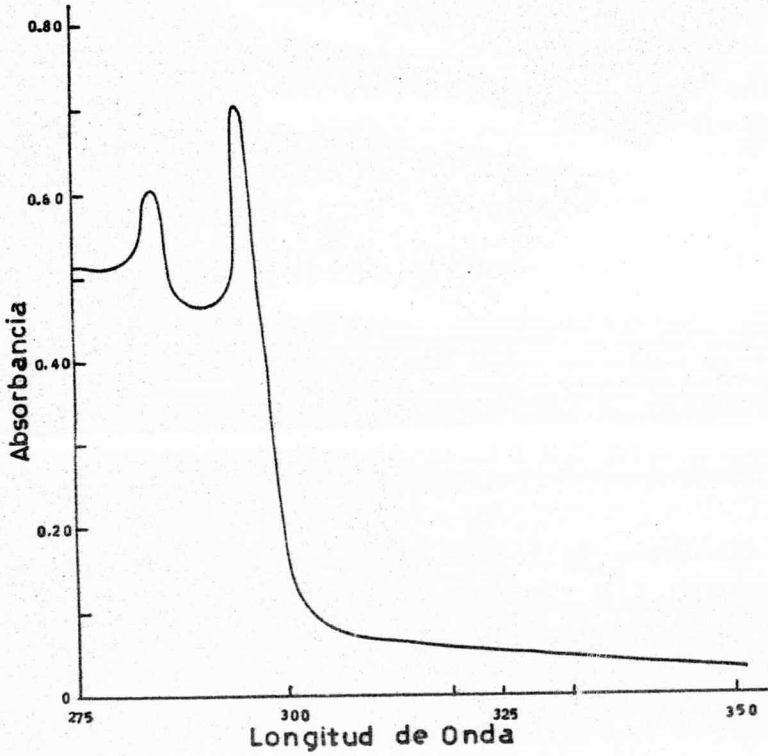


FIG. 11.- ESPECTRO DE ABSORCION DEL DERIVADO COLORIDO DEL TETRACLORONITROBENCENO.

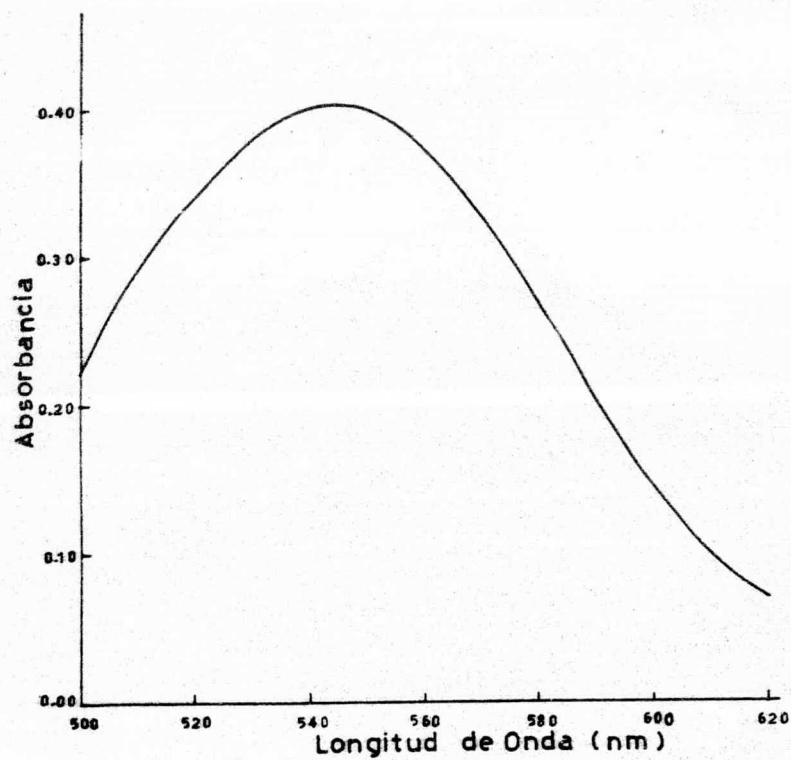


FIG. 12.- CURVAS DE CALIBRACION DEL COMPLEJO THIRAM-CLORURO CUPROSO, USANDO REACTIVO RECIENTEMENTE PREPARADO, A 385 m μ (A) Y 420 m μ (B) ; (C) ES LA CURVA OBTENIDA A 385 m μ CON REACTIVO TENIENDO DOS DIAS DE PREPARADO.

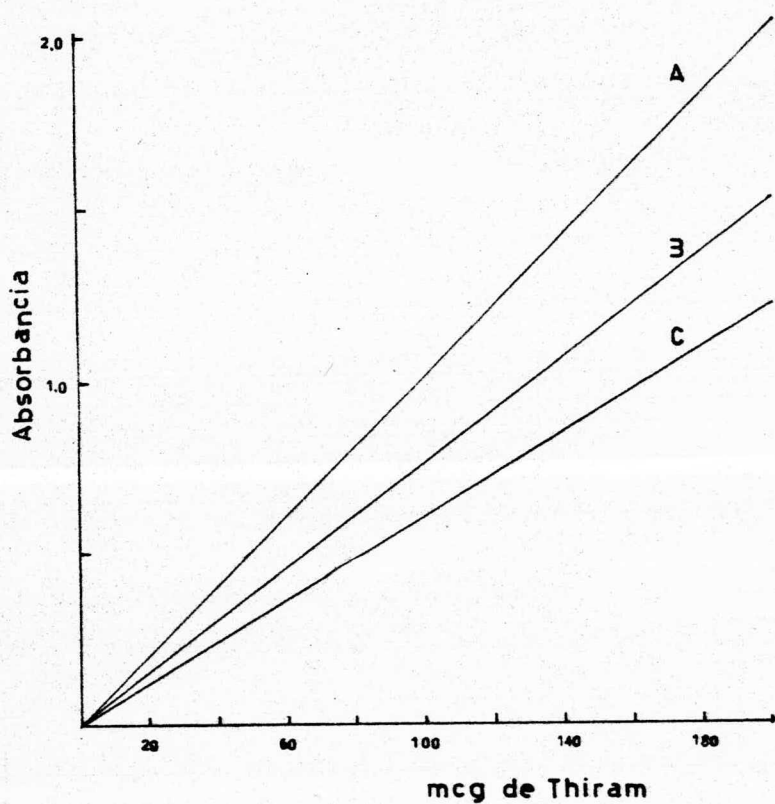


FIG. 13.- EFECTO DE LA CONCENTRACION DEL HIDROXIDO DE SODIO EN EL DESARROLLO DEL COLOR.

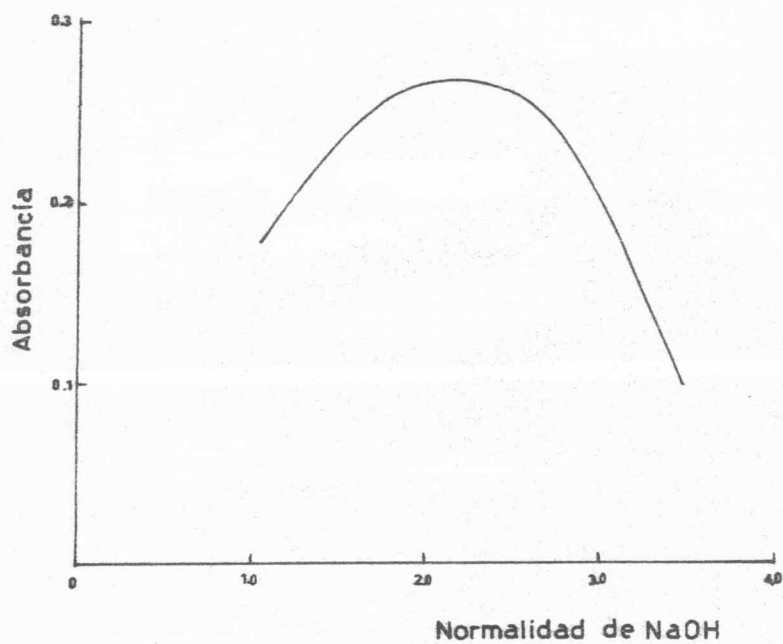
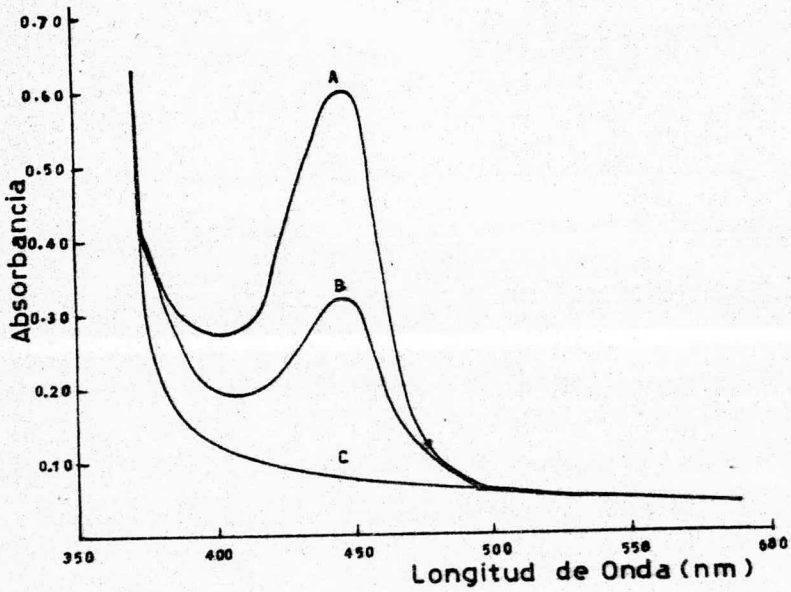


FIG. 14.- ESPECTRO DE ABSORCION DEL PRODUCTO DE REACCION EN EL PROCEDIMIENTO ANALITICO DEL CAPTAN.



- A) 20 mcg DE CAPTAN.
- B) 10 mcg DE CAPTAN.
- C) SIN CAPTAN.

FIG. 15.- CURVA ESTANDAR PARA LA DETERMINACION DE CAPTAN.

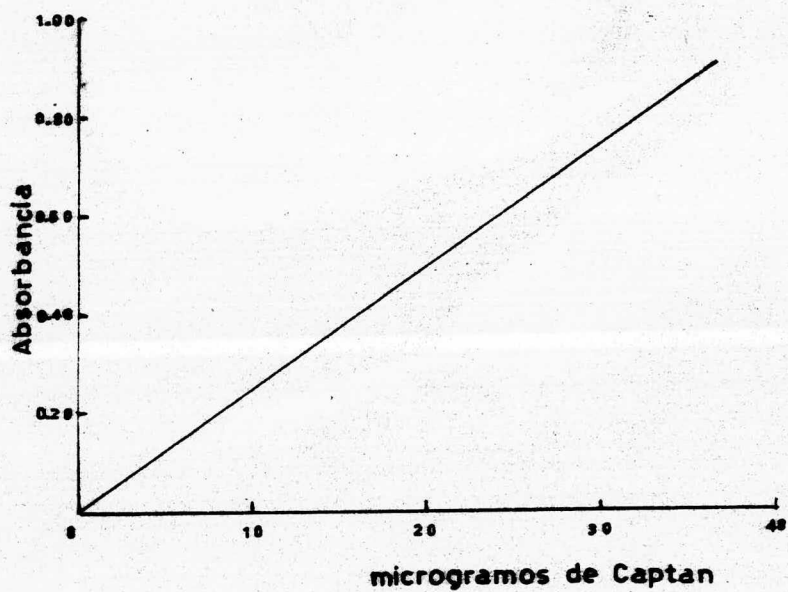


FIG. 16.- CURVA DE ABSORBANCIA DE LA 8 - HIDROXIQUINOLINA A UNA
CONCENTRACION DE 0.07 mg/ml.

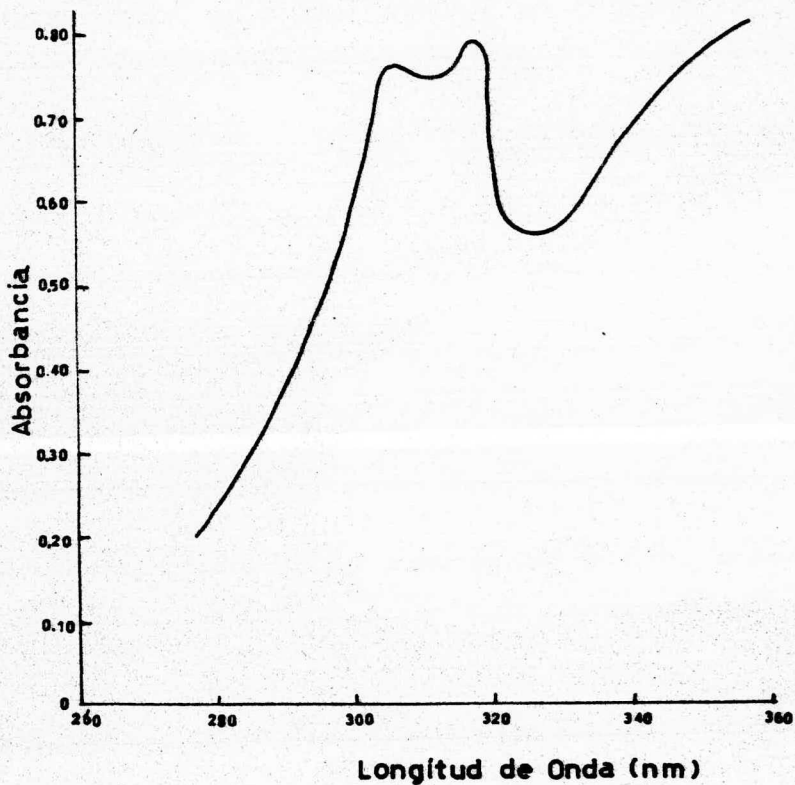
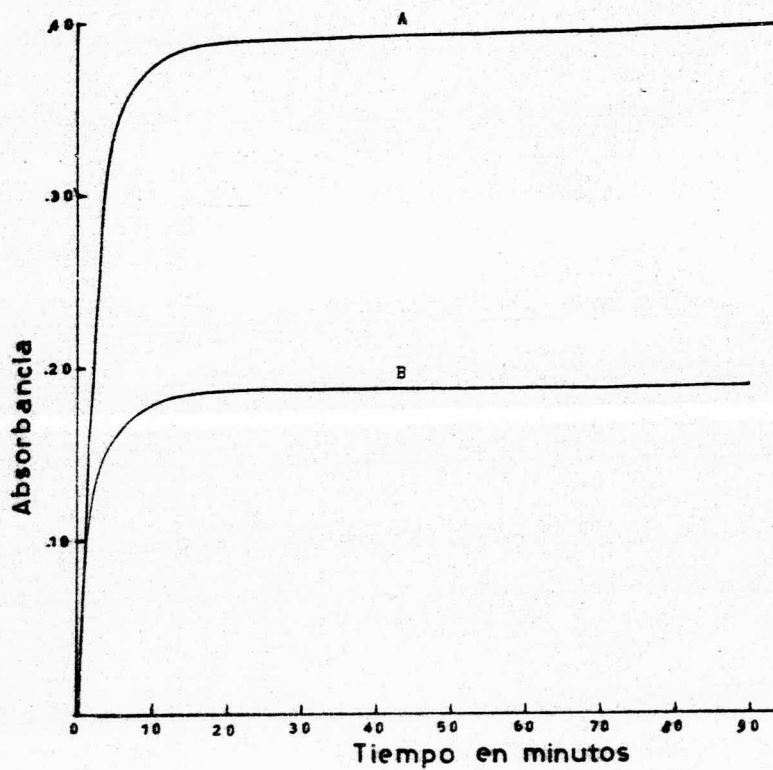


FIG. 17.- COLOR DESARROLLADO DEL CARATENO EN N,N-DIMETILFORMAMIDA.



A) 43 mcg DE CARATENO.

B) 21 mcg DE CARATENO.

FIG. 18.- DECLINACION DE RESIDUOS DE CARATENO EN FRESAS.

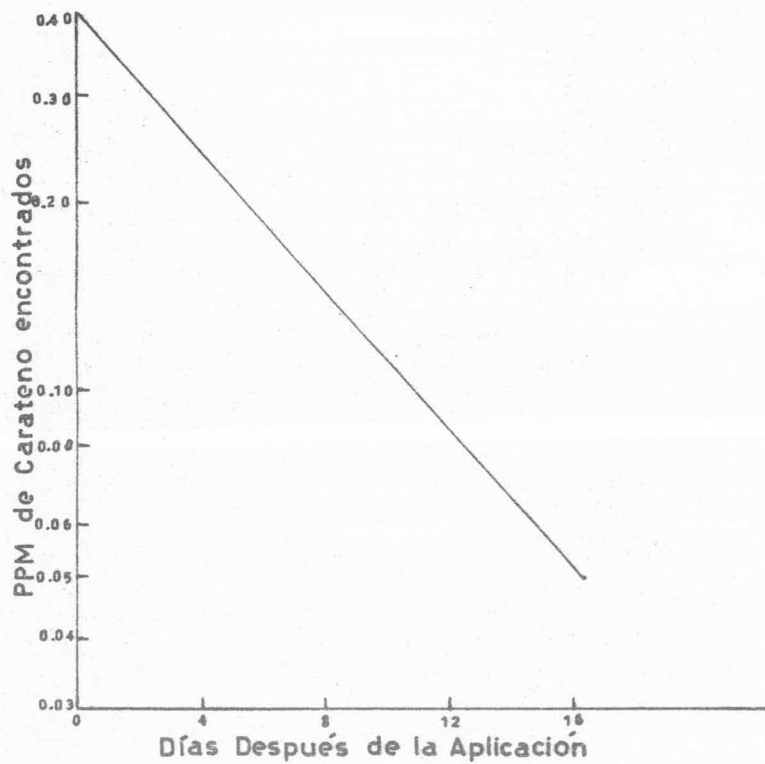


FIG. 19.- ESPECTRO DE ABSORCION DE THIRAM - CLORURO CUPROSO EN SOLUCION DE CLOROFORMO - ALCOHOL (2 : 3 V/V).

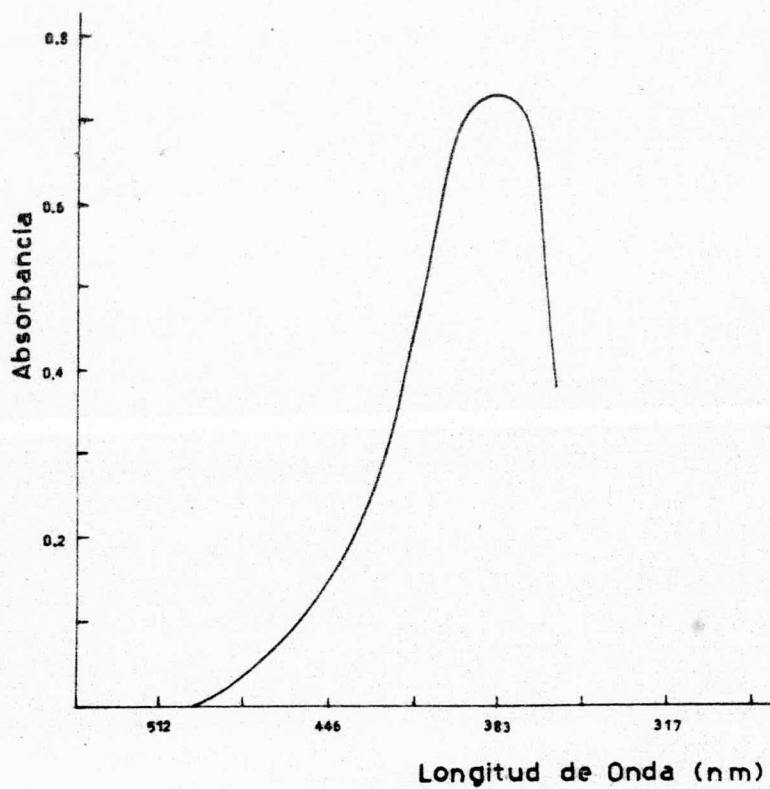


FIG. 20.- CURVA DE ABSORBANCIA PARA EL p-TOLUEN SULFONAMIDA A UNA CONCENTRACION DE 0.21 mg/ml.

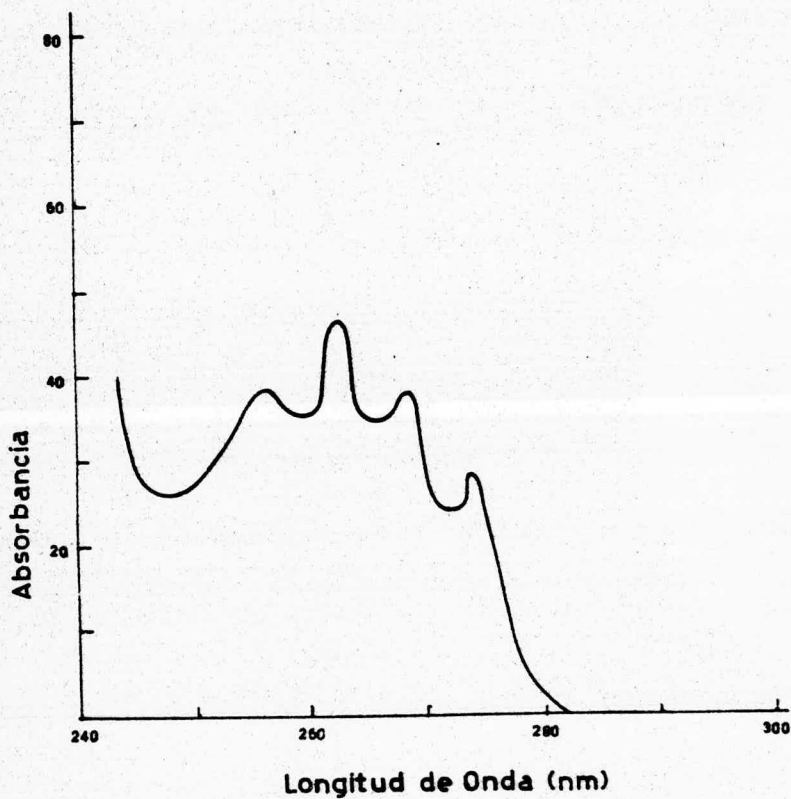


FIG. 21.- CURVA DE ABSORBANCIA DE LA SALICILANILIDA A UNA CONCENTRACION DE 0.0124 mg/ml.

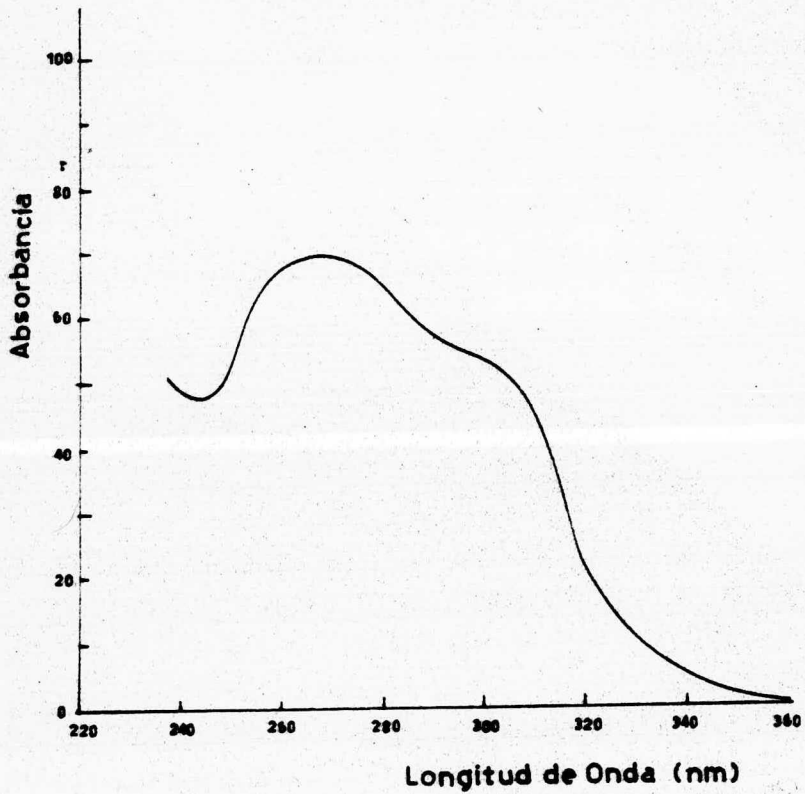
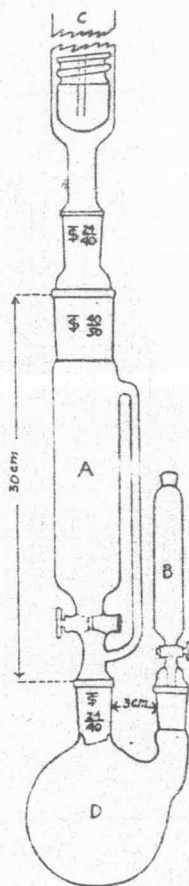


FIG. 22.- APARATO DIGESTOR PARA MERCURIO.



VII.- CONCLUSIONES

El trabajo presentado como se ha podido observar, solo cubre aspectos meramente analíticos, no pretende - en ningún momento dar instrucciones acerca del uso y manejo de los fungicidas, salvo que en el capítulo correspondiente a generalidades se mencionan las bases de usos y formas de aplicación pero, solo en aspectos generales.

Tampoco trata de detectar los efectos que estos productos fungicidas tienen sobre los organismos a los que son aplicados, ya que esto pertenece al área de la bioquímica. Luego entonces cabe hacernos una pregunta. ¿En donde esta pues la importancia del presente trabajo?, responderemos a esto de la siguiente forma:

A) Debido al amplio uso de los fungicidas en las diferentes actividades que el hombre moderno le ha dado (en la industria textil, productos agrícolas, pinturas, etc.), esto trae como consecuencia la necesidad de poder contar con métodos adecuados para poder cuantificar estos productos.

B) Dada la importancia dentro de los límites de concentración, permitidos por ciertas oficinas de sanidad sobre el contenido de estos productos fungicidas en la gran variedad de materiales donde se aplican, ya que se tiene que ciertos productos de este tipo, en intervalos de concentraciones elevadas pueden acarrear problemas serios de contaminación, tanto en el medio ambiente como en productos comestibles que son ingeridos por animales o por el hombre.

Se estudiaron los métodos espectrofotométricos, dada su sencillez en la mayoría de los casos, reproducibilidad, exactitud y bajos costos de operación con respecto a otros métodos analíticos (electrométricos, gravimétricos, cromatográficos, etc.) Por estas razones, los métodos espectrofotométricos tienen una gran aceptación, debido a la practicabilidad de estos en -

cualquier laboratorio de análisis y control, al poder contar con instrumental y reactivos de fácil adquisición.

Se tiene que los métodos espectrofotométricos son totalmente adecuados para el análisis y control de los fungicidas, estando estos presentes en una gran variedad de productos, dando por consecuencia el tener una técnica adecuada.

Se concluye que la importancia que tiene el presente trabajo radica pues en el estudio de técnicas específicas como lo son, las espectrofotométricas para que sirva de guía y ayuda a gentes relacionadas en este campo, en el análisis y control de los fungicidas tan ampliamente usados. Ya que en la actualidad no se cuenta con trabajos de técnicas específicas sobre este tema.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

- 1.- Ackermann, H.J., Baltrush, Helen A., Berges, ---
H.A., Brookover D.O., and Brown, B.B., J. Agr.
Food Chem, 6747 (1958).
- 2.- Agricultural Chemicals Research Laboratory,
Naugatuch Chemical, Division United States Rubber
Co., Bethang Conn., Bethang Information Sheet
No. 42, pp 2-4 December 1952.
- 3.- Am, Soc. Testing Materials, Commitee D-11,
Designation D 297 50 T.
- 4.- Anon, "Phenyl Mercuries", Chicago Ills, Metalor-
ganics, Inc.
- 5.- Association of American pesticide Control
Officials, College Parck, Md. "Pestidice
Officials Publication and condensed Data on
pesticide Chemicals", 1955.
- 6.- Averell, P.R., Norris, M.V., Anal Chem. 20,753-6
(1948).
- 7.- Bache, C.A., and Liske, D.J., J. Agr. Food Chem.,
8,459 (1960).
- 8.- Banks T., Vaughn, C., and Marshall, L.M.,
Analyt Chem 1955, 27,1348.
- 9.- Baskin, A.D., Bubernaj, J., Renolds, S.P., Oakes,
J.B. and Lyster H.D., Am. Dyestuff Reprtr. 47,603
(1958).
- 10.- Bayer Products, L.T.D., London, Fusarex
Technical Memorandum 3.
- 11.- Beck, S.D., Kaske, E.T., and Smissman, E.E., J.
Agr. Food Chem., 5, 933 (1957).

- 12.- Beck, S.D. and Smissman, E.E., Ann, Entomol. -- Soc. América, 54,53 (1961).
- 13.- Beckman, H.F., J. Agr. Food Chem. 6,130 (1958).
- 14.- Benson, W.R., Food and Drug Administration, private communication, 1968.
- 15.- Benson, W.R., "Report on Carbamate Pesticides", this Journal 52, march 1969.
- 16.- Berker, J., Hierholzer, O., and Mohr, G. in "Proceedings of the second British Insecticide and Fungicides Conference". 1963, P. 351.
- 17.- Bigli, C.J., Chromatog. 14,348-354 (1964).
- 18.- Bigli, C., and Saglietto, C., Ibid. 23,302-304 (1966)
- 19.- Bong, R.L., Food and Drug Administration, private Communication 1966.
- 20.- Borchardt. L.G. and Butler, J.P., Anal. Chem, 29414 (1957).
- 21.- Borsche, W., Justus Liebigs Annal Chem. 1907, 357,180.
- 22.- Brockmann, h., and Schodder, H., Ber., 1941, 74, 73.
- 23.- Brown, W., Ann Applied Biol., 34,422 (1947).
- 24.- Bruce, R.B., "Determination of Spergon Residues on Cautiflower, Cabbage, and Broccoli", Western Division, Hazelton Laboratories, Palox Alto, Calif., March 1958 Unipublished report.
- 25.- Bubernack, J. and Baskin, J.D., Textile Research J. 27,878 (1957).

- 26.- Burchfield, H.P., Mcnew, G.L., *Phytopatology* 38,4,299-306 (1948).
- 27.- Burchfield, H.P., and Schnechtman, *Contrib. Boyce Thompson Inst.* Sept. 1958, P.411-416.
- 28.- Burchfield H.P., Schuldt, P.H., *J. Agr. Food Chem.* 6, 106-11 (1958).
- 29.- Burchfield, H.P., Storrs, E.E., *Contribs Boyce Thomson Inst.* 18, 219-30 (1956).
- 30.- California Spray-Chemical Corp, *Newsletter* No.2-55, June 6, 1955.
- 31.- Canback, J., and Zajaczkowsa, H., *J. Pharm and Pharmacol*, 2545 (1950).
- 32.- Clarke, D.G., Baum, C.H., Stanley, E.L., and Hester W.G., *Anal. Chem.* 23,1842-1846 (1951).
- 33.- Coulson, D.M. Cavanag, L.A., de Uriés, J.E., - and Walther, Barbara, *J. Agr. Food Chem.*, 8, 399 (1960).
- 34.- Cullen, T.E., *Anal. Chem.* 36, 211-244 (1964).
- 35.- Cunningham, H.S. Sharvelle, E.G. *Phytopatology* 30,4 (1940).
- 36.- Czegledi-Janko G., *Ibid* 31, 89-95 (1967).
- 37.- Dahl, S., and Kaplan, A.M. *Jalca*, 55,480 (1960).
- 38.- Dahls, and Kaplan, A.M. *Jalca*, 56, 686 (1961).
- 39.- Diel H. And Smith, G.F. "The Cooper Reagents: Cuproine, Neocuproine, Thocuproine" Columbus, Ohio, G.Z., Smith Chemical Co., 1958.
- 40.- Eddins, A.H., Florida, Univer. Agr. Expt. Sta. (Gainesville) *Bull*, 492, March 1952.

- 41.- Engst, R., and Schansk, W., *Nahrung*, 11(1967) 95
(as cited in reference No. 10, *J. Ass. Offic. Anal Chem*, 51 (5) 1058 (1968).
- 42.- Fabenfabriken Bayer, Leverkusen, Germany, private communication, 1959.
- 43.- Feigl, E. *Spot test in Inorganic Analysis*, P. 93
London Elsevier Publ. Co.
- 44.- Fischer, H., Passer, M., and Leopoldi, G.,
Mikrochemic see Mikrochim, Acta. 30,307 (1943).
- 45.- Fishbein, L., And Fawkes J., *J. Chromatog.* 19,
364-369 (1965).
- 46.- Fishbein, L., and Zielinski, W.l., *Ibid.* 23,302-
304 (1966).
- 47.- Food Machinery and Chemical Co., private
communication January 26, 1956.
- 48.- Getz, M.E., *Food and Drug Administration*
Washington 25, D.C. (Private Communication).
- 49.- Gordon, C.F., Schukert, R.J., and Bornak W.E.
this Jorunal 50, 1102-1108 (1967).
- 50.- Goto, S., and Ito., F., *Japan Analyst*, 1967, 16,
31.
- 51.- Gunther, F.A., and Blinn, R.C., *Interscience*,
New York, 1955.
- 52.- Heuermann, R.F., *JAOCAC* 40,264-270 (1957).
- 53.- Hine, C.H., and Divatia., K.L., *Fed. Proc.* 9,
286-289 (1950).
- 54.- Hietala P.K., and Viertanen, A.I., *Acta Chem.*
Scand. 12,119 (1958).

- 55.- Hoffmann, E. Australian Paint J. 9,11 (1963).
- 56.- Hoffmann, E., Z. Anal. Chem. 195,89 (1963).
- 57.- Hoffmann, E. and D, Zaracz, Z. Anal. Chem. 199, 6 (1964).
- 58.- Hoffmann, E., and B. Bursztin., J. Oil Colour Chemist's Assoc. 46,460 (1963).
- 59.- Hylin, J.W., Bull Environ, Contam. Toxicol. 1,76- 77 (1966).
- 60.- Irwin, H., Pomerantz, H., and Boss, R, J. Ass. Offic. Anal. Chem. 51 (5) 1058 (1968).
- 61.- Janssen, M.J., Rec. Trav. Chim. 75, 1411-1422 (1956) Thru Chem. Abstr. 51,5514b (1957).
- 62.- Janssen, H.B., Chamblin, V.C., Wagner, V.L., Jr., and Henry, R.A., Anal, Chem.,30,160 (1958).
- 63.- Kehrmann, F., Dengler, O., Ber 41,3440-7 (1908).
- 64.- Keppel, G.E., JAOAC 38,709-712 (1956).
- 65.- Keppel G.E., Unpublished results. 1968.
- 66.- Keppel, G.E., and Ball, C.R., Food and Drug Administration, Cincinnati, Ohio (private communication).
- 67.- Kittleson. A.E., Anal. Chem. 24,1173-5 (1952).
- 68.- Klein, A.K.J., Assoc. Offic. Agr. Chemists. 33,594 (1950).
- 69.- Klein, A.K., Laug., E.p., and Sheeban, J.D., Jr., Journal of the AOAC 42,539 (1959).
- 70.- Lappin, G.R., and Clark, L.CL. Analyt Chem. 1951,23,541.

- 71.- Lapin, L.N., and R. CH. Zamanov. Z. Anal. Chim. 10, 364 (1955), cf. Z. Analyt Chem. 153,42 (1956)
- 72.- Lawrence R.C. Nature, 1965. 205, 1313.
- 73.- Lespagnol, C. Cp. Rend., 237, 1164 (1953).
- 74.- Linsley, D.K., and Martin, E.C., Food and Drug Administration, Private communication, 1966.
- 75.- Lollar, B.M. Jalca. 42,180 (1947).
- 76.- Lollar, R.M. Jalca, 49,605 (1954).
- 77.- Lowen, W.K., Jadac. 44,584-585 (1961).
- 78.- Lowen, W.K., Anal, Chem. 23, 1846-1850 (1951).
- 79.- Luckwill, L.C., "Suppression of Sprouting in Ware Potatoes", Annual Report, Agricultural and Horticultural Reserarch Station Long Ashton, -- Bristol, England, 1948.
- 80.- Meagher, S.K., Viscoeswariah, K., and Jayarn, M. J. Chromatog. under publication.
- 81.- Mc Call, J.T., Davis, G.K., and Tears, T.W., Anal. Chem. 30, 1345 (1958).
- 82.- Mc Cann, D.S., Burcar, P., and Boyle, A.J., -- Anal. Chem. 32,547 (1960).
- 83.- Mc Kinley, W.P. and Margavery, S.A., this -- Journal 43, 717-720 (1960).
- 84.- Meagher, W.R., Anderson, C.A., Conter, C.E., Smith, s.b. Mc. Dougall, D., J. Agr. Food. Chem. 7,558 (1959).
- 85.- Meagher, W.R., MAC. Dougall, D., Chemagro, Corp., Research Dept. Rept. 1502 (Feb. 27, 1957).

- 86.- Mendelowitz, A., and Biley. J.P., *Analyst*. 1953, 78,707.
- 87.- Metcalf, R.L., (Editor). *Advances in pest central Research*, Vol. 1, Interscience, New York. 1957, p.238.
- 88.- Mills, P.A., *Journal of the A.O.A.C.* 42,734 (1959).
- 89.- Mitchell, L.C. *this Journal* 41,781 (1958).
- 90.- Moddes R. *This Journal*, 44,169 (1961).
- 91.- Nance K.W., *Anal. Chem.* 23,1034 (1951).
- 92.- *Official Methods of Analysis*, 10 th ed. Association of official Agricultural Chemists Washington, D.C. Sec. 24-200.
- 93.- Partington, J.R. "Textbook of Inorganic Chemistry", 3 rd. Ed. London, Macmillan Co., 1930.
- 94.- Pease, H.L., *Anal. Chem.* 40, 1113-1118 (1957).
- 95.- Pease, H.L., *JAOAC*. 40,1113-1118 (1957).
- 96.- "Recomended Common Names for Pesticides": *British Standard* 1831 - 1957.
- 97.- Rees, W.T., *Analyst*. 75, 160 (1950).
- 98.- Rose, A., Huchinson, A.W., Hayes, J.H. and Sharkey, I.R., *Am. Dyestuff Resptr.* 45, 362 (1956).
- 99.- Rosenthal, I., Gordon, C.F., Stanley, E.L., Perlman M.H., *J. Agr. Food. Chem.* 5,914 (1957).

- 100.- Russell, G. and Hart, P.J., *Analyst*. 83,202 (1958).
- 101.- Sandell, E.E., "Colorimetric Determination of Trace Metals", New York, Interscience Publishers, 1944.
- 102.- Sathe, V., Dave, J.B., and Ramakrishnan, C.V., *Nature* 1956, 177,276.
- 103.- Saunders, K.H., "The Aromatic Diazo Compounds and Their Technicals Applications" 2 nd ed., pp. 357-77, Edward Arnold, London, 19 49.
- 104.- Schaffert, R.R., and Kingaley G.R., *J. Biol. Chem.* 1955, 212, 59.
- 105.- Schoene, D.L., Tate, H.D., Brasfield, T.W., *Agricultural Chemicals*, IV No. 11,24 (1949).
- 106.- Scott, P.D., in op. Cit; 1963, p. 367.
- 107.- Sendi, J.N., and Bush, R.P., *J. Am. Chem. Soc.* 63, 879 (1941).
- 108.- Sharvelle, E.G., Young, H.C., Jr. Sheme, B.F., *phytopatology* 32,944-52 (1942).
- 109.- Shiraeff, D.A., *Am. Dyestuff Reprtr.* 33,310 (1944).
- 110.- Skerrett, E.J., Baker, E.D. *Analyst* 87, 228 (1962).
- 111.- Smink, J., and Wingarten, D., presented at the international Congress of Plant Protection, - Viena, Austria, June 9, 1967.
- 112.- Snell, F.D., and Snell, C.T., *Colorimetric Methods of Analysis*, 3rd. D. van Nostrand Co., Princeton N.J., 1936.

- 113.- Stearns, E.I., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 14, 568 (1942).
- 114.- Steiger, B., Microchemic, 22,216 (1937).
- 115.- Steiger, B., Petroleum Z., 33, No. 27 (1937), Chem Zentr. 108, 3114 (1937).
- 116.- Steinberg, D., Anal. Biochem 1, 23 (1960).
- 117.- Stonestreet, G.O., and Wriht, G.P., Can. J. Research 18 B, 246 (1940).
- 118.- Taylor, J.R., Anal. Chem. 19,368 (1947).
- 119.- Ter Horst, W.P., (To United States Rubber Co.) U.S. Patent 2,349,771 (may 23,1944).
- 120.- Toennis, G., and B.Ba Kay, Analyt, Chemistry 25, 160 (1953).
- 121.- Toren, P.E. and Heinrich, B.J., Analyt Chem, 1955, 27,1986.
- 122.- Tsao, M.U., Lowry, G.H., and Graham. E.J. Analyt Chem. 1959, 31, 311.
- 123.- Tuck, B. And Osborn. EM. Analyst. 85,105 (1960)
- 124.- Turkington, R.W., and Tracy, F.M., Anal Chem. 30,1699.
- 125.- U.S. Federal Supply Service, Cloth, Cotton Duck: Fire, Water, Weather, and Mildew Resistant Federal Spedification CCC-C-428 a. Washington, D.C., U.S. Govt. Pint. OFF. 1959.
- 126.- US. Federal Supply Service "Compound Textile Preservation for field Treatment" Military -- specification MIL-C 13295 (QMC), Washington, - D.C., U.S. Gout Print off. 1954.

- 127.- U.S. Federal Supply Service "Textile Test Methods" Federal Specification CCC-T-191 b. Washington, D.C. U.S. Gout Pint, Off. 1951.
- 128.- U.S. Pat. 2922793, Jan 26, 1960, Ernst Model and Jacob Bindler, Assignors to J.R. Geigy A/g Base, Switzerland.
- 129.- Venkataram. K. the Chemistry of Syntetic Dyes, Vol 1 (New York Academic Piess, (1952). 177.
- 130.- Virtanen, A.I., and Hietala, P.K., acta chem Scand, 9, 1543 (1955).
- 131.- Visweswariah, K., M., and Mejunder, S.K. J. Chromatog. under publication.
- 132.- Visweswariah, K. and Majunder, S.K., Chem. and Ind. (london) 379 (1969).
- 133.- Vogel, A.I., "A Text-book of practical Organic Chemistry Longams, Green, and co., London, -- 1948, p.919.
- 134.- Waters, W.A. Chemistry or Free Radicals, P. 75, Clarendon Press, Oxford, Eng., 1946.
- 135.- Webb, J.L.A., Bhatia, L.S., Corwin, A.H., and Sharp A.G.J. and Chem. Soc. 7291 (1950).
- 136.- Webster, J. and Dawson, J.A. Analyst. 203 -- (1957).
- 137.- Welcher, F.J. Organic Analytical Reagents, Vol 1 (New York: Van Nostrand (1947), 234.
- 138.- Willard, H.H. Mosher, R.E., and Boyle A.J., anal. Chem 2 21,598 (1949).
- 139.- Zimmerman E.W. and Pangborn, E.F. Jalca, 46, 342 (1951).

140.- Zimmermann, W. Z Physiol. Chem. 245, 47 (1936).

141.- Porter, C.C., Anal. Chem. 27,805 (1955).