

## Tesis de Posgrado

# Adaptación de la reacción de Feigl-Demant para selenio a determinaciones colorimétricas

Schicht, Carlos A.

1943

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Schicht, Carlos A. (1943). Adaptación de la reacción de Feigl-Demant para selenio a determinaciones colorimétricas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0330\\_Schicht.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0330_Schicht.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Schicht, Carlos A. "Adaptación de la reacción de Feigl-Demant para selenio a determinaciones colorimétricas". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1943. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0330\\_Schicht.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0330_Schicht.pdf)

Universidad de la Ciudad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales  
ESCUELA DEL DOCTORADO EN QUIMICA

+++  
FCEFN-BA

ADAPTACION DE LA REACCION  
DE FETOL-DEYANT PARA SELENIO A  
DETERMINACIONES COLORIMETRICAS

PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR EN QUIMICA

Presentada por

CARLOS A. SCHICHT

*Tesis:* 330

BUENOS AIRES

1943

A M I E S P O S A

---

Presento a la consideración de los Señores Profesores el presente Trabajo de Tesis, que ha sido realizado para optar al Título de Doctor en Química.

Debo expresar mi más profundo reconocimiento al Doctor Venancio Deulofeu por haberme cedido uno de los laboratorios destinados a la investigación química correspondiente a su cátedra, sin cuya cesión me hubiera sido imposible la consecución de este modesto trabajo y al Doctor Pedro Cattaneo por la dirección técnica del mismo y a sus muchas y muy importantes observaciones y sugerencias vertidas a lo largo de esta investigación.

También va mi agradecimiento a las autoridades de la Oficina Química Municipal, por haberme permitido usar el Fotómetro Pulfrich perteneciente a esa Repartición.

---

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Venancio Deulofeu". The signature is written in a cursive style with a large initial "V" and a long horizontal stroke extending to the right. A small dot is visible at the end of the signature.

## A N T E C E D E N T E S

Desde hacen casi cien años, un médico norteamericano, Madison, describió una misteriosa enfermedad que aquejaba a los equinos pertenecientes al ejército de su patria, cuando comían forraje crecido en las vastas planicies que se extienden a lo largo del río Missouri, cerca del límite entre los estados de South Dakota y Nebraska.

Además de esta observación los granjeros y agricultores de estas grandes llanuras tenían la misma experiencia acerca de la existencia de una enfermedad en el ganado ocasionada por la ingestión de granos y forrajes crecidos en las mismas áreas. Primeramente los datos fueron tomados poco en cuenta, pero al correr de los años tuvieron que ser oídas las numerosas quejas formuladas por los agricultores de esas regiones.

Las investigaciones que culminaron con el descubrimiento del Selenio como componente normal de los suelos de esas regiones fueron llevadas en su mayor parte por el Doctor Kurt W. Franke, quien comenzó sus estudios en la región de South Dakota, en la Estación de Agricultura Experimental, a fines de 1928.

Cuando el problema había ya llamado la atención del Departamento Nacional de Agricultura de los Estados Unidos, varias oficinas Químicas Estaduales habían tomado cartas en el asunto. Todos los síntomas de las intoxicaciones indicaban la presencia de un agente mineral, y por lo tanto a ese campo se orientaron las investigaciones en busca de trazas de venenos minerales, y especialmente en una muestra de trigo que Franke

(1) había encontrado tóxica por vía biológica.

Esto llevó al descubrimiento del Selenio como presente normalmente en estos forrajes tóxicos, por Robinson (2), en el año 1933.

Todas las muestras que Franke encontró tóxicas por vía biológica contenían altos tenores de Selenio. Las Proteínas del Cereal eran los depósitos más abundantes del elemento y en el trigo especialmente, el tóxico estaba principalmente en el Gluten. Dicho elemento fué a través de ulteriores investigaciones, hallado en todos los suelos y aguas de las regiones seleníferas, cuya flora es absolutamente anormal, notándose, en dichas regiones que aún no hayan sido entregadas a las labores de la agricultura, ciertos vegetales que sólo crecen en suelos de alto contenido en ese elemento y que sirven como vegetación testigo para tener la evidencia que en dicha área existe selenio.

Es verdaderamente curiosa la labor de concentración de ese elemento que ejecutan dichos vegetales, pues suelos con alrededor de 8 partes por millón de Selenio producen vegetales con tenores en dicho cuerpo de cinco mil y más partes por millón.

En estos vegetales, todos del género *Astragalus* y de las especies *Racemosis*, *Pectinatus* y *Bisulcatus*, el Selenio se encuentra en diferente forma que en los cereales, pues en estos se ciñe exclusivamente a la fracción de proteínas del gluten, en cambio en estos indicadores selenofílicos el elemento se halla esparcido por toda la planta bajo otras formas y aún como Selenio elemental de color Rojo, expandido en todos los tejidos vegetales.

La toxicidad del Selenio varía en forma considerable,

según la forma en que el elemento se encuentre, así por ejemplo, el Selenio elemento al estado coloidal rojo es tan tóxico como los Selenitos y Seleniats alcalinos, variando la dosis letal mínima entre 3.25 miligramos por kilo de animal para el Selenito Disodico a 6 miligramos para el Selenio Coloidal en la forma roja, pasando como toxicidad intermedia por la cantidad de 4.3 miligramos por kilo para el Seleniato disodico.

Dichos datos importan una confirmación muy importante de las sospechas acerca de la fuerte toxicidad del elemento en cuestión, y siendo nuestro país uno de los que marchan a la cabeza de las naciones productoras de trigo, creímos conveniente investigar en ese sentido.

Acerca de la manera como desarrollamos este trabajo, de los inconvenientes que encontramos a lo largo del mismo y que dieron por resultado la creación del método colorimétrico que proponemos para la determinación de pequeñas cantidades de dicho elemento en materias orgánicas.

La investigación sistemática de la cantidad de dicho elemento en los trigos argentinos será objeto de un segundo trabajo, tomando como base a este que presentamos como tesis doctoral.

## METODOS PARA LA DETERMINACION DE PEQUEÑAS CANTIDADES DE SELENIO

Los descriptos en la literatura pueden clasificarse en TRES tipos.

- a) Nefelométricos
- b) Colorimétricos
- c) Volumétricos.

Haremos una breve reseña acerca del fundamento de cada uno de ellos.

a) Nefelométricos: Basados en la reducción del anhídrido selenioso a Selenio metálico con anhídrido Sulfuroso e Hidroxilamina. Se obtiene una suspensión acuosa de Selenio que se estabiliza por la acción protectora de la Goma Arábiga. Una técnica basada en este principio fué desarrollada por Robinson & Dudley (3), aplicable a la determinación de Selenio en suelos, piritas y sulfuros, aguas, materias vegetales y tejidos animales. Las conclusiones acerca de este método las exponemos en la parte experimental.

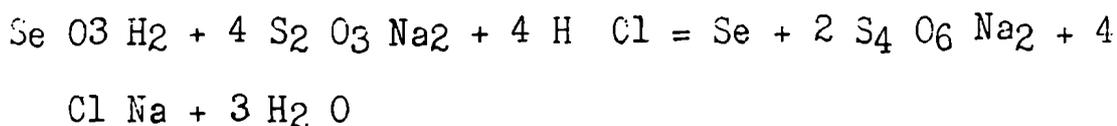
b) Colorimétricos:

- 1) El método de Denigés, basado en la formación de un complejo Se-Sulfato de Codeína, ha sido descripto para evaluaciones del orden de 0 a 50 microgramos, pero no sigue la Ley de Lambert-Beer, y según Klein (4), tiene el inconveniente de dar valores no reproducibles.
- 2) El método del pirrol, basado en la formación de un compuesto azul verdoso, producto de la oxidación del Pirrol por la acción de compuestos Seleniosos (Azul de Pirrol). Berg & Taitelbaum (5). Habiendo experimentado sobre este método, su crítica la hacemos en la parte experimental de

esta exposición.

3) Con carácter experimental fué estudiada por Klein la posibilidad de evaluar colorimétricamente Selenio por disolución de éste en Sulfuro de Carbono o Tetracloruro de Carbono, en cuyos líquidos se disuelve con coloración amarilla. La intensidad de la coloración varía en forma muy poco acentuada para valoraciones del orden de 0 a 20 microgramos y recomiendan aplicarlo tan sólo para cantidades mayores de 50 microgramos.

c) Métodos volumétricos: Se basan en el mismo principio que la macro-determinación. Los compuestos seleniosos son reducidos por el Tiosulfato de Sodio al estado de Selenio.



La titulación se efectúa por retorno, valorando el exceso de solución de Tiosulfato con solución valorada de Yodo, en presencia de almidón como indicador.

Klein (4), siguiendo la técnica primeramente descripta por Norris & Fay (6), la adaptó a la valoración de muy pequeñas cantidades, obteniendo resultados exactísimos en valoraciones del orden de 0 a 10 microgramos de Selenio.

Nuestro propósito no ha sido el de experimentar con este método ya consagrado, por cuyo motivo solamente lo citamos.

--oOoOo--

## DETERMINACION NEFELOMETRICA DEL SELENIO

Sabemos perfectamente que los compuestos seleniosos son reducidos en medio ácido fuerte por la acción del Anhídrido Sulfuroso, variando esta capacidad reductora del mismo en relación directa a la acidez del medio.

Cuando el medio es Acido Clorhídrico Concentrado, esta acción reductora se exalta de tal manera que no es necesario agregar ningún coadyuvante de dicha reducción como es el clorhidrato de Hidroxilamina.

Ello ocurre cuando dicha acidez desciende por dilución del ácido, cual es nuestra condición experimental, pues recibimos un líquido en el cual la acidez es aproximadamente 4 N, y en estas condiciones el Selenio no es sino parcialmente precipitado debiéndose recurrir al empleo de la Hidroxilamina para efectuar la reducción total.

Como luego de haberla efectuado, tenemos una suspensión bastante fina de Selenio que sin embargo no alcanza las dimensiones en sus partículas de las suspensiones coloidales pues es detenida en su totalidad por el filtro G 4 (Para Sulfato de Bario), necesitamos estabilizarla y para ello hacemos uso de una solución al 5% de Goma Arábica.

Pero a pesar de haber hecho las determinaciones siguiendo exactamente la técnica descrita por Robinson & Dudley(3) nos encontramos ante un hecho que sumado a los que luego discutiremos, introduce una condición de incertidumbre dentro del método y lo hace inaplicable para determinaciones cuantitativas rigurosas.

En efecto, siguiendo exactamente la técnica descrita por los autores citados, no hemos podido obtener datos reproducibles, posiblemente debido a que aún trabajando en condiciones rigurosas, el tamaño de la partícula de Selenio precipitada no es siempre el mismo.

Por otra parte, el método en si no es sensible, por que en las condiciones de medida, (Transparencias en espesor de 30 mms), éstas van de 100 a 42, para cantidades de Selenio de 0 a 100 microgramos en la reacción, como puede apreciarse en la siguiente tabla en donde se dan las transparencias (Fotómetro Pulfrich; cubeta de 30 mms), para reacciones conteniendo de 0 a 100 microgramos de Selenio en determinaciones por triplicado.

-----ooOoo-----

T A B L A

Microg Se	Promedios lecturas		
	Curva 1	Curva 2	Curva 3
0	100.0	100.0	100.0
5	91.8	91.8	95.0
10	88.0	78.3	90.0
15	88.0	78.3	84.7
20	78.5	69.5	73.9
25	83.0	67.0	72.5
30	63.0	65.8	72.8
35	58.0	65.7	70.0
40	49.8	62.7	66.8
45	48.0	60.0	59.7
50	44.5	57.8	55.8

T A B L A (continuación)

Microg Se

Promedios lecturas

	Curva 1	Curva 2	Curva 3
60	---	54.0	---
70	---	40.0	---
80	---	46.8	---
90	---	43.0	---
100	22.9	42.0	35.0

-----ooOoo-----

DETERMINACIONES COLORIMETRICASDETERMINACION DEL SELENIO CON PIRROL

A raíz de un trabajo de Berg y Teitelbaum (5) en el cual se cita una reacción del Selenio con pirrol, decidimos experimentar la técnica cuantitativa de esos autores.

En efecto, bajo determinadas condiciones, el pirrol es oxidado por el Acido Selenioso, dando un compuesto de color azul verdoso conocido comúnmente bajo el nombre de "Azul de Pirrol", de composición desconocida.

La presencia de sales de Hierro favorece la sensibilidad de la Reacción la cual es, según los autores de 1 en 500.000 y con el agregado de 5 a 10 miligramos de Cloruro Férrico sube a 1 en 12.000.000.

Este Azul de Pirrol, en solución ácida fuerte es coloidal y permite su evaluación colorimétrica.

Pero, desgraciadamente, los inconvenientes derivados de la necesidad de trabajar en ausencia absoluta de agua debiendo efectuar los lavados, llevados a volumen, etc., con acido fosfórico de 1.85 de densidad, el cual es mucho más incómodo de manejar que el acido Sulfurico debido a su gran viscosidad, unido ello a la gran labilidad del complejo pirrólico que deja un tiempo útil para efectuar las determinaciones de tan solo diez minutos, no permite que se aclare el líquido turbio por la presencia de numerosas burbujas de aire en el seno del ácido Fosfórico, haciendo que las condiciones de trabajo sean mucho más penosas que en el método de la Codeína.

Para efectuar la determinación se toman las cantidades

de Selenio disueltas previamente en ácido fosfórico siruposo, se le agrega 1 ml. de solución al 5% de Cloruro Férrico y se lleva casi a un volumen de 10 ml. con ácido Fosfórico, luego se añaden 5 gotas de solución alcohólica al 1 % de pirrol recientemente destilado (P.E. 130° C).

Las lecturas se deben efectuar dentro de los diez minutos de comenzada la reacción.

Ante semejantes condiciones de trabajo pensamos que la extracción del colorante formado con algún disolvente orgánico tuviera éxito, por lo cual hicimos extracciones con Benceno, Lignoína, Sulfuro de Carbono y Acetato de Amilo, sin ningún éxito pues el colorante formado se descomponía inmediatamente virando hacia el color pardo oscuro.

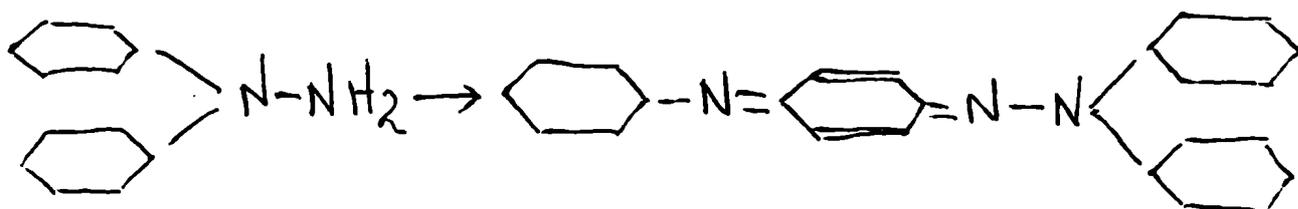
Por lo tanto, ante semejantes contingencias abandonamos dicho método.

-----ooOoo-----

ADAPTACION DE LA REACCION DE FEIGL-DEMANT AL CAMPO CUANTITATIVO

Visto que no existen métodos colorimétricos descriptos en la literatura, para la evaluación de pequeñas cantidades de Selenio, decidimos experimentar en el campo cuantitativo con la reacción de Feigl & Demant (7), mencionada en la obra del primero sobre reacciones a la gota, 2a. edición inglesa. Nuestras experimentaciones nos han llevado a establecer un método colorimétrico para dicho elemento que sigue la Ley de Lambert-Beer para concentraciones de 0 a 20 microgramos en volumen de 10 ml. Antes de entrar en su detalle, describimos la reacción mencionada, descrita por sus autores en campo cualitativo.

El Selenio, bajo la forma de Acido Selenioso, reacciona con la Difenilhidracina Asimétrica reduciéndose a Selenio elemental, y oxidando a la Difenilhidracina a ciertos compuestos no coloreados y además dando la Quinonanil-Difenilhidrazona, coloreada intensamente en color rojo vinoso.



La acción de otros cuerpos oxidantes debe ser prevenida con varias precauciones, los compuestos oxigenados del Teluro no tienen efecto, por lo tanto, siempre al decir de los autores puede ser aplicada esta reacción como un método sensible y específico de detección del Selenio, ya sea en la forma de elemento, o como seleniuro, selenito o seleniato, desde el momento en que todos estos compuestos pueden ser convertidos en Acido Selenioso.

M E T O D O - Cuatro gotas de solución de Difenilhidracina asimé-

trica en ácido acético glacial se mezclan con una gota de ácido Clorhídrico diluido y una gota de la solución a investigar. En presencia de ácido Selenioso pronto aparece una coloración roja que cambia a rojo-violeta brillante. Cuando existen muy pequeñas cantidades de Selenio el color aparece sólo al cabo de unos minutos, conviniendo entonces efectuar una prueba en blanco.

LIMITE DE IDENTIFICACION - 0.05 microgramos de Selenio.

CONCENTRACION LIMITE - 1 : 1.000.000.

REACTIVOS - Solución al 1 % de Difenilhidracina asimétrica en ácido Acético glacial. Probar la solución en blanco. Ácido Clorhídrico 2 N.

Según Feigl, el ácido Selenico da también la misma coloración pero el límite de identificación es de sólo 100 microgramos. Sin embargo, como los seleniatos son convertidos fácilmente en selenitos por calentamiento con ácido Clorhídrico, una gota de la solución pueden ser calentadas con ácido Clorhídrico en un microcrisol y ensayada entonces con el reactivo. Puede de esta manera detectarse 1 microgramo de ácido Selenico.

Las interferencias con materias oxidantes que pueden causar la formación de la coloración roja se previenen de la siguiente manera: La sustancia sólida se calienta con unas pocas gotas de ácido Clorhídrico concentrado en un microcrisol, para destruir los oxiácidos oxidantes (Yódico, Brómico, Clórico, Permangánico, etc.) y peróxidos.

Como los tungstatos, molibdatos, y sales ferricas y cúpricas no son afectados por este tratamiento, en presencia de cualquiera de estos compuestos, se deberá agregar ácido Oxálico al clorhídrico pues los oxalatos complejos que se forman no reaccio-

nan con la Difenilhidracina asimétrica.

Claro está que en el caso nuestro de la adaptación de dicha reacción al campo cuantitativo las condiciones de experimentación se simplifican considerablemente pues por medio de la destilación del halogenuro de Selenio y su subsiguiente reducción al estado de elemento, podemos obtener el Selenio al estado de absoluta pureza.

Sin embargo un problema serio fué la obtención de la forma oxidada del Selenio y su extracción del seno del líquido, pero los inconvenientes citados fueron orillados en la forma que veremos luego, al tratar de la preparación de la muestra en este caso especial.

Para ver las condiciones de adaptación de la reacción al campo cuantitativo, preparamos soluciones crecientes de Acido Selenioso (Schering-Kahlbaum), preparadas a partir de una solución que contenía 1000 microgramos por mililitro de Se.

Estas cantidades fueron agregadas evaporando el agua en medio alcalino a la Fenolftaleína para evitar pérdidas de Selenio y luego de llevar a sequedad en el Baño-María en crisolitos de porcelana que hacen más neta la reacción se diluyó el residuo con 0.2 ml. de agua.

Luego de llevar a neutralidad con Acido Clorhídrico 2N se acidificó, siempre a estar a las directivas de los autores de la reacción cualitativa, con 0.1 ml. de Acido Clorhídrico 2 N.

Luego de dicha acidificación, se llevó a cabo la reacción agregando 0.5 ml. de la solución acética de Difenilhidracina y esperando un tiempo de quince minutos para esperar la intensificación máxima de color.

Esta dilución del reactivo y reactante es la más apropiada para impedir la precipitación del clorhidrato de la base en exceso.

Luego del tiempo de intensificación y como la dilución con agua destruía la coloración, buscamos un disolvente apropiado para efectuar la dilución y llevar a volumen definitivo habiendo ensayado varios disolventes que permitieran la extracción de la colorante sin alterar la intensidad de la misma.

El primer disolvente que probamos fué el Acetato de Isoamilo; éste es muy rápido en su acción pero a los dos lavados sucesivos con TRES ml. de agua viraba hacia el anaranjado indicando que era sensible a un cambio en el pH del medio.

Ante semejantes condiciones pensamos que en vez de extraer, sería mejor diluir en condiciones standard de dilución y a tal efecto hicimos varias tentativas de dilución en disolventes orgánicos.

Luego de ensayar con Alcohol Etílico, Acetato de Isoamilo, Ligroína, Eter Etílico, Propanona y Sulfuro de Carbono, nos decidimos, para efectuar las comprobaciones acerca de la estabilidad de la coloración en el tiempo transcurrido entre la reacción y la medición de la intensidad al fotómetro, por la propanona y el Alcohol Etílico.

Los resultados, como se demuestran en el gráfico adjunto se inclinan decididamente hacia el empleo de la propanona, la cual emplearemos definitivamente en el curso de todas las experiencias posteriores.

#### TABLA DE VALORES CON ALCOHOL ETILICO Y PROPANONA

Las lecturas se han efectuado a la hora de hecha la di-

lución trabajando con el filtro espectral S-57 del fotómetro Pulfrich. Los números indican % de transparencia, siendo el del Agua=100. El uso del filtro espectral, S-57 E, fué elegido, como el más apropiado, por su sensibilidad.

mmgr. Se	Alcohol	Promedio	Acetona	Promedio
0	95 94 95	94.7	100 100 100	100
2	90 90 90	90.0	86 85 87	86
4	76 76 76	76.0	76 78 78	77.5
6	52 51 53 52	52.0	53.5 52 52	52.0
8	39.5 39.5 38.5	39.2	39 39 39	39.0
10	31 29 29	30.0	31 30 31	30.7
12	20.5 21 21.3 21.3	21.0	24 24 24	24.0
15	15 15.8 15.7	15.5	15 15 15	15.0

Con Acetato de isoamilo

0	95 95 95	95.0
2	87 85 85 86	85.7
4	66 65,5 66	65.8
6	34 35 35.5	35.0
8	20.4 20.4 21	20.7
10	12.7 13.2 13	13.0
12	8 7.9 8	8.0
15	4.2 4.0 4.3	4.2

Luego de esperar SEIS horas, los tubos que contienen acetato de amilio están completamente decolorados, no así los de alcohol y acetona que sometemos a una segunda lectura al fotómetro.

Transparencias luego de SEIS horas de efectuada la lectura primera. Los tubos con alcohol están decolorados hasta el de 4 Microgramos y por lo tanto sólo se leen los de a partir de SEIS microgramos en adelante.

mmgr. Se	Acetona	Promedios	Alcohol	Promedios
6	52 52 52	52.0	75 75 75	75.0
8	43 43 43	43.0	65 65 65	65.0
10	36 36 36	36.0	62 62 62	62.0
12	27 27 27	27.0	51 50 52	51.0
15	17.5 17.5	17.5	47 47 47	47.0

-----ooOoo-----

Vemos, de acuerdo a los datos adjuntos, que la estabilidad de la coloración es muchísimo mayor con la dilución en acetona que con la dilución en alcohol etílico y es por esta causa que nos decidimos a usar en lo sucesivo sólo la propanona como diluyente.

-----ooOoo-----

## PREPARACION DE LA CURVA MADRE

La ventaja que nos presenta el Fotómetro Pulfrich es la de poder, una vez establecidos los valores de los porcentos de transmisión luminosa, hacer las determinaciones colorimétricas sin necesidad de testigo como en la colorimetría general.

Esta ventaja se traduce en un ahorro muy grande de tiempo y de variables en juego, aunque es necesario extremar las precauciones al confeccionar esta curva pues es la que nos permitirá en lo sucesivo prescindir del testigo.

Una vez elegido el filtro espectral S-57 y la acetona como disolvente pasamos a la preparación de dicha curva en forma definitiva.

Con ese objeto, preparamos una solución de Acido Selenioso, que contenía 10 microgramos de Selenio por mililitro. de ella medimos 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.5 y 2.0 ml. correspondientes a concentraciones de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 15 y 20 microgramos. de Selenio, en crisolitos de porcelana. Alcalinizamos a la Fenolftaleína con solución 2 Normal de Hidróxido de Sodio, y evaporamos a seco en el Baño-María. Seguidamente añadimos 0.2 ml. de agua, seguidos de 0.2 ml. de Acido Clorhídrico 2 Normal, con lo cual el medio queda ácido. Se añade entonces 0.5 ml. de solución de Difenilhidracina asimétrica, preparada en el momento por dilución de 0.1 ml. de la la. en 10 ml. de Acido Acético Glacial. Se dejan transcurrir 15 minutos, con rotaciones espaciadas de los crisoles con el objeto de alcanzar la máxima producción de color, después de lo cual se diluye con 8.1 ml. de acetona y 1.0 ml. de agua destilada (Total 10 ml). Se filtra rápidamente por un peque-

ño filtro de papel recogiendo en un tubo de ensayo y tapando el embudo con un vidrio de reloj para evitar la evaporación del disolvente, y leyendo las transparencias en fotómetro Pulfrich, empleando cubetas de 30 mms. de espesor y filtro espectral S-57.

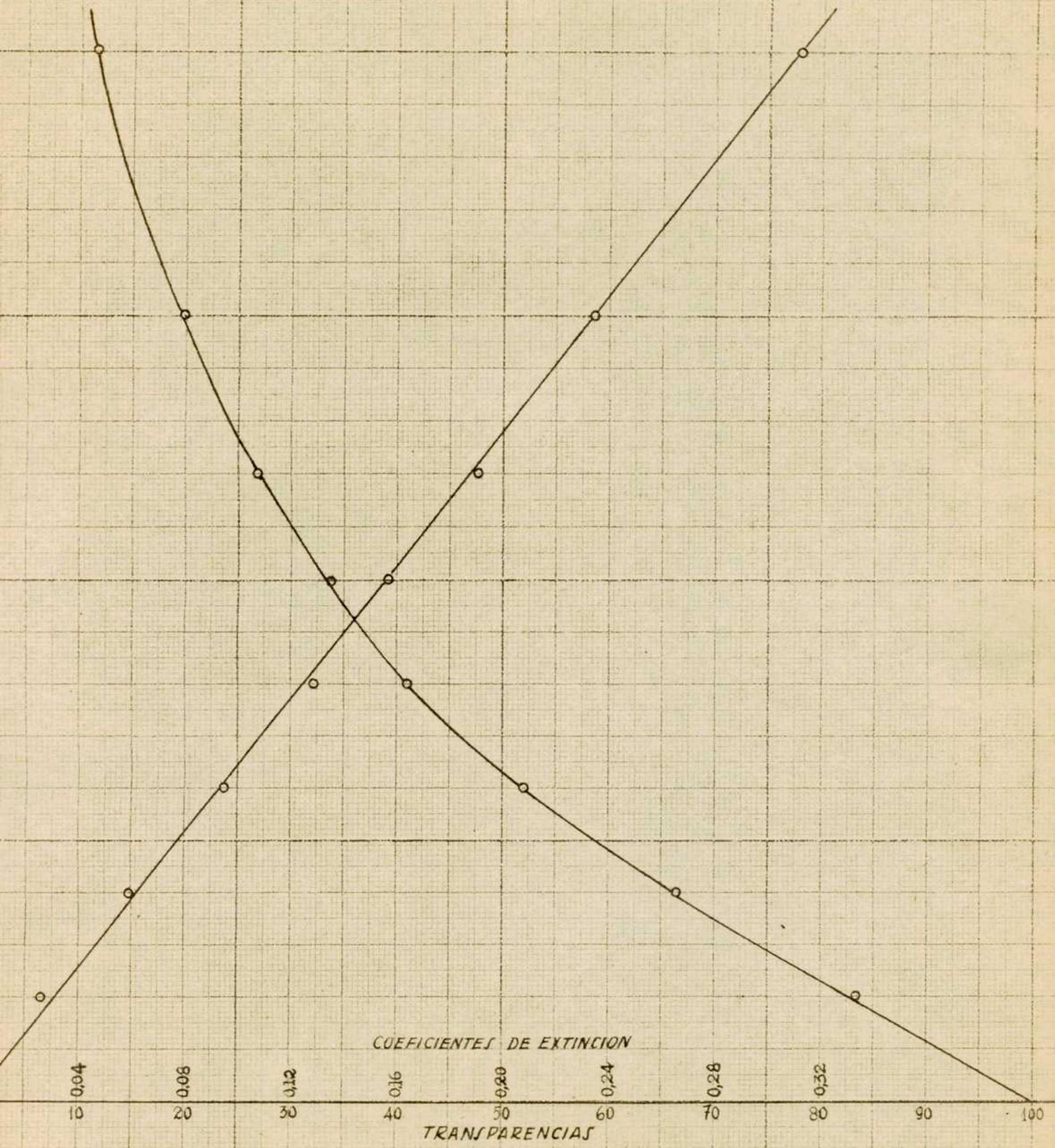
Los valores, promedios de TRES lecturas, para cada determinación, figuran en la siguiente tabla, como así también los respectivos coeficientes de extinción.

- T A B L A -

TABLA DE VALORES DE TRANSMISIONES PARA LA CURVA MADRE

mmgo. Se	Transparencias (Promedios)	Coef. de extinción
0	100.0	0.000
2	83.5	0.026
4	66.5	0.059
6	52.0	0.095
8	41.0	0.129
10	33.8	0.157
12	26.8	0.191
15	19.8	0.234
20	11.6	0.312

-----0000000-----



La representación gráfica de estos valores es la siguiente. Se puede comprobar que la reacción en las condiciones de experimentación adoptadas, sigue la Ley de Lambert-Beer. Los datos son perfectamente reproducibles.

-----ooo0ooo-----

## ADAPTACION A DETERMINACIONES CUANTITATIVAS - RECUPERACIONES

Habiendo comprobado que la reacción de Feigl-Demant, sigue en las condiciones descripta la ley de Lambert-Beer, nos propusimos adaptarla a determinaciones cuantitativas, con vistas a su posible aplicación a evaluaciones en alimentos, donde es precisamente importante el conocimiento de su contenido en Selenio.

A tal efecto, hemos considerado los siguientes puntos ya aclarados en la literatura química:

1º - El Selenio puede ser aislado de los demás elementos destilándolo por medio de su bromuro volátil. Bajo esas condiciones, sólo el Arsenico, Antimonio, Estaño, Germanio y Selenio destilan, y de todos ellos, tan sólo el Selenio puede ser reducido a la forma de elemento por medio de el Anhídrido Sulfuroso y la Hidroxilamina.

2º - El precipitado de Selenio obtenido puede ser comodamente filtrado por un filtro de Vidrio Filtrante en lugar de un Crisol de Gooch, y siempre que el poro del filtro corresponda al G-4 (Schott-Jena).

3º - Dicho precipitado, como Klein (4) lo ha puesto de manifiesto en su trabajo, es fácilmente disuelto por la acción del Bromo y del Acido Bromhídrico pasando a la forma de Bióxido de Selenio, cuantitativamente, forma bajo la cual puede ser valorado por la Difenilhidracina asimétrica.

Por lo tanto:

- 1) Recuperaciones de Selenio a través de Reducción con  $\text{SO}_2$  e Hidroxilamina, filtración y oxidación con Bromo - Clor-

hídrico.

- 2) Recuperaciones de Selenio por Destilación, reducción, filtración, y oxidación.
- 3) Recuperaciones de Selenio a través de la destrucción de materias orgánicas.

(1) RECUPERACIONES A TRAVES DE REDUCCION  
CON SULFUROSO E HIDROXILAMINA

Con ese objeto y partiendo de la base que los compuestos Seleniosos son totalmente reducidos en soluciones ácidas - (Cl H -) por el Anhídrido Sulfuroso e Hidroxilamina, hicimos una serie de ensayos con cantidades crecientes de Selenio. Teniendo en cuenta que en determinaciones en materias orgánicas será necesario una destilación para separar el Selenio como tetrabromuro y que nosotros pensamos adaptar esta destilación sustituyendo el Acido Bromhídrico corrientemente empleado por Acido Clorhídrico, tendremos que efectuar la reducción sobre un líquido que, además de contener Acido Clorhídrico, contendrá también Bromo.

Por ese motivo los ENSAYOS DE RECUPERACIONES A TRAVES DE REDUCCION CON SULFUROSO E HIDROXILAMINA, son hechos sobre soluciones clorhídricas de Anhídrido Selenioso, conteniendo Bromo.

E N S A Y O S .

a) REACTIVOS.

- 1) SOLUCION BROMO-CLORHIDRICA. Se prepara añadiendo 20 ml. de Bromo a 980 ml. de Acido Clorhídrico (D = 1.19).
- 2) SOLUCION ACUOSA DE HIDROXILAMINA AL 10 %.

b) REDUCCION

Por duplicado fueron hechos ensayos de recuperación de

4, 7, 10, y 15 microgramos de Selenio. Con ese fin y partiendo de la solución de Acido Selenioso que contiene 10 microgramos por Mililitro, medimos 0.4, 0.7, 1.0, y 1.5 ml. de esa solución en tubos de ensayo, añadiendo agua hasta completar 5 ml. y luego 10 ml. de solución bromo-clorhídrica.

Luego de saturar con anhídrido Sulfuroso (Común de cilindro), se añaden 5 ml. de la solución de Hidroxilamina, calentando en Baño-María por Media Hora. Luego de enfriar a temperatura ambiente, se satura nuevamente con Sulfuroso, y se abandonan los tubos por doce horas. Al cabo de ese tiempo, puede apreciarse fácilmente en todos los tubos la presencia de partículas de Selenio rojo.

c) FILTRACION.

Para aislar el Selenio precipitado en la reducción mencionada, filtramos a través de un embudo de Vidrio Filtrante G-4 (Schott-Jena). Los buenos datos de recuperación a que hemos llegado, prueban que este filtro retiene en su totalidad las partículas de Selenio precipitadas.

Luego de total filtración, se lava por filtrado con sucesivas porciones de agua destilada.

d) REDISOLUCION DEL PRECIPITADO.

Este es sin duda un punto importante por cuanto debe transformarnos el Selenio en Anhídrido Selenioso, de tal modo que permita efectuar la reacción colorimétrica final con Diénilhidracina asimétrica. Afortunadamente al procedimiento de redisolución descrito por Klein, (4), nos permite este propósito. Nosotros siempre sustituimos el Bromhídrico por el Clorhídrico. El reactivo de Redisolución se prepara añadiendo 20 ml. de agua

saturada de Bromo a una solución de 5 ml. de Acido Clorhídrico, (D = 1.19), en 75 ml. de agua.

La redisolución se efectúa añadiendo al filtro que contiene el Selenio, 2 ml. de este reactivo, dejando estacionar diez minutos y luego succionando suavemente a la trompa y recogiendo el filtrado en un tubo de filtración al vacío. (De acuerdo a Klein (4), la cantidad de Bromo presente en 1 ml. de reactivo es suficiente para oxidar y por lo tanto redissolver hasta 500 microgramos de Selenio). Finalmente, lavamos por filtración con tres porciones sucesivas de 1 ml. cada una de agua destilada, recogiendo los filtrados en el mismo tubo de filtración al vacío.

e) ELIMINACION DEL EXCESO DE BRCMO

La hemos hecho, siguiendo el mismo método dado por Klein, por transformación en tribromofenol. Con ese objeto, el filtrado anterior se pasa cuantitativamente a un crisolito de porcelana mediante Tres lavados sucesivos con 1 ml. de agua cada vez. Se añaden entonces tres gotas de solución acuosa al 5 % de fenol y se agita suavemente. Luego agregamos 1 gota de solución alcohólica de Fenolftaleína al 1 % y solución 2 N de Hidroxido de Sodio hasta reacción alcalina, evaporando entonces a seco en el Baño-María después de lo cual se efectúa la reacción colorimétrica del mismo modo descrito en la construcción de la curva.

La tabla de la página siguiente resume las recuperaciones obtenidas.

Puede observarse que ellas son satisfactorias demostrándose así la bondad del filtro G-4, y del procedimiento de adaptación del líquido de redisolución del Selenio precipitado, para

efectuar la reacción.

Este paso de nuestro trabajo nos soluciona la evaluación sobre el líquido de destilación que tendremos cuando ensayemos sobre ella.

-----ooo0ooo-----

T A B L A

Microg. de Se.	Transparencias	Promedio	Se. Recup.	Error
4	65 66 66	65.7	3.9	-2.5
4	65 65 64	64.7	4.0	0.0
7	47 47 47.5	47.1	7.0	0.0
7	49 47 46.5	47.5	6.9	-1.7
10	33 33.5 34.3	33.6	10.1	+1.0
10	35 35 35	35.0	9.7	-3.0
15	21 21 21	21.0	14.4	-4.0
15	20 20 21.5	20.5	14.7	-2.0

-----ooo0ooo-----

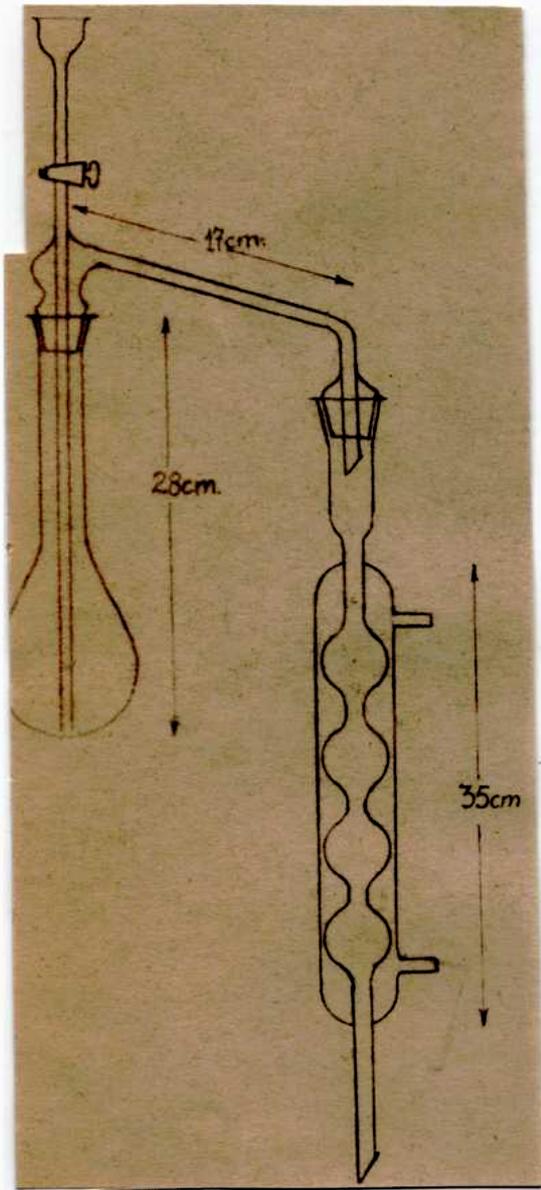
## RECUPERACIONES DE SELENIO A TRAVES DE DESTILACION

Habiendo demostrado que las reducciones y subsiguientes operaciones eran cuantitativas, nos hemos dedicado en esta parte del trabajo a poner de manifiesto las condiciones bajo las cuales el Selenio puede ser destilado bajo la forma de Halogenuro.

Con ese objeto hemos seguido el siguiente procedimiento.

- a) APARATO - Hemos empleado en el curso de este trabajo un aparato cuyas dimensiones pueden apreciarse en el esquema adjunto. Totalmente construido en vidrio Pyrex, de juntas esmeriladas y provisto de dos balones, lo que nos permite destilar mientras se efectúa destrucción de materia orgánica en uno de ellos.

b) SELENIO EN ACIDO SULFURICO - Toda destilación de Selenio va precedida de una digestión sulfonítrica, en presencia de Oxido Mercúrico, como fijador del Selenio y catalizador en la destrucción de materia orgánica. Por consiguiente, fué de interés, antes de realizar las pruebas de recuperación por destilación, conocer el contenido en Selenio del Acido Sulfúrico a emplear. Hemos tomado para ello, Sulfúrico pro-análisis ( $d = 1.84$ ) de la



Cía. Química.

Adoptando las condiciones de destilación descritas por Klein (4), empleamos 50 ml. de Acido Sulfúrico, 50 ml. de agua destilada y 25 ml. de solución clorhídrica de Bromo (280 ml. de H Cl y 20 ml de Bromo)

Al balón de destilación añadimos primero el Sulfúrico y cuidadosamente el agua, una vez armado el aparato y habiendo hecho pescar el extremo libre del refrigerante en un tubo conteniendo 10 ml. de agua, rodeado exteriormente de agua con hielo, añadimos por el tubo de seguridad los 25 ml. de mezcla bromo-clorhídrica, cerrando inmediatamente la llave del mismo.

La destilación se desarrolla, calentando el balón sobre tela metálica, con poca llama, de modo tal que en el término de aproximadamente dos horas tuviésemos en el tubo colector alrededor de 75 ml. de líquido. La ebullición en el balón se regulariza por la adición de seis perlas de vidrio. El refrigerante de bolas resulta útil, toda vez que impide el retroceso del destilado, por enfriamiento debido a corrientes de aire. La llave del tubo de seguridad impide el escape de vapores por el mismo, como fué comprobado antes de decidirnos a su empleo.

Mediante dos determinaciones de Selenio consecutiva en el Sulfúrico citado, pudimos establecer que contenía 4.5 microgramos por cada 50 ml. o sea 49 microgramos por Kilógramo del mismo, lo que equivalen a 0.049 partes por millón. Este valor fué el mismo para ambas determinaciones.

e) RECUPERACIONES POR DESTILACION - Los 50 ml. de Sulfúrico, empleados en la segunda determinación anterior quedaron libres de Selenio, como pudo ser comprobado sometiéndolo a una nueva desti-

lación con nuevo agregado de agua y reactivo Bromo-Clorhídrico. En consecuencia, sobre el mismo se hicieron ensayos de recuperación de distintas cantidades de Selenio, añadidas exprofeso. Hemos ensayado, por duplicado, sobre 5, 10 y 15 microgramos, medidos de la solución que contenía 10 microgramos por mililitro de Selenio. Estas cantidades fueron agregadas al Sulfúrico así preparado, dentro del balón, añadiendo los reactivos citados y efectuando la destilación del modo ya descripto. Para aclarar el proceso subsiguiente diremos que consiste exactamente en la reducción con Sulfuroso e Hidroxilamina, filtración, redisolución y reacción con la Difenilhidracina asimétrica, como fué descripto al explicar los ensayos de recuperación por reducción. Los resultados obtenidos son los consignados en la siguiente tabla:

RECUPERACIONES DE SELENIO A TRAVES DE LAS DESTILACIONES

Microg.de Se. añadidos	Transparencias	Promedio	Se. Recup.	Error %
5	56 56 56	56.0	5.3	6.0
5	60 60 60	60.0	4.7	-6.0
10	31 31 31	31.0	10.7	7.0
10	31 32 31 31	31.2	10.7	7.0
15	19 18.5 20 20	19.4	15.1	0.6
15	18.7 17.5 18.5 19	18.2	15.6	4.0

-----0000000-----

RECUPERACIONES DE SELENIO CON DESTRUCCION DE MATERIA ORGANICA

Aunque ha sido demostrado por Klein (4), que el método de destrucción de materia orgánica previo a la destilación del Selenio, que luego describiremos, no produce pérdidas de este elemento, hemos juzgado necesario completar este trabajo determinando cantidades conocidas de Selenio, añadidas a un soporte orgánico, que en nuestro caso fué una harina de trigo. Por otra parte, las buenas recuperaciones nos ponen en condición de emplear la técnica usada posteriormente para determinar con carácter estadístico el contenido normal de Selenio en los trigos argentinos.

a) R E A C T I V O S .

- 1) Mezcla nitrosulfúrica: 50 ml. de Acido sulfúrico concentrado (4,5 microgramos de Se/50 ml) y 100 ml. de Acido nítrico fumante de 1.50 de densidad.
- 2) Oxido de Mercurio fijador: Disolver el óxido de Mercurio en Acido Nitrico de 1.50 de densidad en la proporción de 5 gramos de O Hg por cada 100 ml. de Acido nítrico.
- 3) Solución Bromo-Clorhídrica: Mezclar 20 ml. de Bromo con 980 ml. de Acido clorhídrico de 1.19 de densidad.
- 4) Anhídrido sulfuroso: Común del comercio, en cilindros.
- 5) Clorhidrato de Hidroxilamina: Solución al 10 % en agua.
- 6) Solución clorhídrica de Bromo, diluída: A 5 ml. de Acido Clorhídrico concentrado, se agregan 20 ml. de agua de Bromo saturada, y diluye a 100 ml. con agua destilada.
- 7) Fenol: Solución acuosa al 5 %.
- 8) Hidróxido de Sodio: Solución al 10 % en agua destilada.

- 9) Fenolftaleína: Solución alcohólica al 1 %.
- 10) Acido Clorhídrico diluído: " 2 Normal.

-----oooOooo-----

b) DETERMINACIONES CON DESTRUCCION DE MATERIA ORGANICA.

1) - Con carácter previo hicimos un ensayo tendiente a demostrar la ausencia de Selenio en el Acido Nítrico empleado. Con tal fin, digerimos 150 ml. de la mezcla sulfonítrica, en presencia de 10 ml. de solución nítrica de Oxido Mercúrico. La digestión se prolongó durante dos horas, sobre tela metálica, (Tiempo de duración necesario en la destrucción de Cinco gramos de harina), después de lo cual se adaptó al refrigerante de destilación y se destiló con mezcla Bromo-Clorhídrica previo añadido de agua, etc., en las condiciones ya expuestas. El contenido en Selenio fué también de 4.5 microgramos, el cual coincide con el encontrado para el Acido Sulfúrico.

2) CONTENIDO EN SELENIO DE LA HARINA SOPORTE - Esta operación efectuada por duplicado, fué hecha para establecer no sólo el contenido de la harina si no también para saber qué cantidad debía ser descontada a las recuperaciones totales en los casos de Selenio añadido.

Cinco gramos de harina de trigo, colocados en el balón Kjeldahl, se añadieron de 150 ml. de mezcla sulfonítrica y 10 ml. de solución nítrica de Oxido Mercúrico. El conjunto se calentó a Baño-María por media hora, desde el comienzo del desprendimiento gaseoso. Como hay gran producción de vapores nitrosos, se adapta el refrigerante, recogiendo sobre agua, lo cual evita las molestias derivadas de los mismos. Luego se calienta sobre tela metálica hasta que se observe que el líquido se aclara, vi-

rando su color al pardo y cesando el desprendimiento de vapores nitrosos. Se deja enfriar un tanto y luego se enfría totalmente bajo chorro de agua; añade 10 ml. de Acido Nítrico y calienta sobre tela hasta desprendimiento incipiente de vapores sulfúricos. Si fuere necesario, esta última etapa puede ser repetida, lo cual se hará si el contenido del balón no fuese incoloro. Hemos notado que trabajando con cinco gramos de harina, ello no es necesario. Luego de enfriamiento se añaden 50 ml. de agua destilada, 25 ml. de reactivo Bromo-Clorhídrico y conduce la destilación del modo ya conocido.

La determinación cuantitativa, acusó el valor de 5.5 microgramos de Selenio, o sea 1.0 microgramos para 5 gramos de harina (Descontando 4.5 microgramos contenidos en los 50 ml. de Sulfúrico empleados).

3) RECUPERACIONES DE SELENIO CON DESTRUCCION DE MATERIA ORGANICA. Conociendo el contenido en Selenio de 50 ml. de Acido Sulfúrico, y el de 5 gramos de harina soporte (Total 5.5 microgramos) efectuamos las determinaciones de 2, 5, 8, 12 y 15 microgramos de Selenio, añadidos a la harina soporte. Las operaciones de destrucción, destilación, reducción, redisolución y determinación colorimétrica fueron exactamente las ya descritas.

Los valores obtenidos son los siguientes:

RECUPERACIONES DE SELENIO CON DESTRUCCION DE MATERIA ORGANICA

Se agreg. micrg.	Transparencias	Promedio	Se.Tot.	Se.agreg. Rec.micr.	Error
2	43 43 44.5 44	43.6	7.6	2.1	5.0
5	33 32 32 33	32.5	10.4	4.9	-2.0
8	22 22 21 22	21.7	14.1	8.5	7.5
8	23.5 22.5 22.5 23	22.9	13.6	8.1	1.3
12	14 15 14 14	14.2	17.9	12.4	5.5
15	11 11 11 12	11.2	20.3	14.8	-1.3
15	12 12 12 12	12.0	19.6	14.1	-6.0

4) - SELENIO EN ALGUNOS TRIGOS ARGENTINOS- Como primera aplicación de este método, hemos determinado el contenido normal de Selenio en seis muestras de trigos argentinos, provenientes de las principales zonas trigueras del país. Damos a continuación los valores hallados, como así también la procedencia de los trigos.

PROCEDENCIA	SELENIO P.P.M.
La Pampa	0.08
La Pampa	0.14
Córdoba	0.08
Santa Fé	0.08
Buenos Aires	0.30
Buenos Aires	0.20

Las cantidades encontradas, son extremadamente pequeñas, sobre todo si se las compara con los valores hallados para trigos norteamericanos, procedentes de zonas consideradas como seleníferas, que en estos casos van desde 5 a 30 p p m.

Un estudio mucho más completo en este sentido permitirá dar idea del contenido normal en Selenio de nuestros trigos y también de los suelos de cultivo.

----oooOooo----

FEFNA  
CONCLUSIONES

- 1) -- En una revisión de la bibliografía sobre determinación de pequeñas cantidades de Selenio, hemos podido comprobar que no existen métodos colorimétricos cuantitativos adecuados para la valoración de pequeñas cantidades de ese elemento.
- 2) - Los métodos nefelométricos, basados en la producción de una fina suspensión de Selenio, estabilizada por el agregado de goma arábica, como coloide protector, son poco sensibles e inapropiados para la determinación de muy pequeñas cantidades. Por otra parte, como hemos podido comprobarlo, no son seguros, ya que aún trabajando en condiciones rigurosamente standardizadas se obtienen valores no reproducibles.
- 3) - La reacción de Feigl-Demant con Difenilhidracina asimétrica para compuestos seleniosos, ha sido adaptada para la evaluación colorimétrica de muy pequeñas cantidades. Esta reacción, en las condiciones descritas, permite evaluar colorimétricamente de 0 a 20 microgramos de Selenio en un volumen de 10 ml. y sigue la Ley de Lambert-Beer, dando valores reproducibles.
- 4) - Estudiando los métodos de separación de Selenio por destilación como tetrabromuro, hemos encontrado factible la sustitución del Acido Bromhídrico hasta ahora empleado, por Acido Clorhídrico y las destilaciones así efectuadas son correctas para determinación de muy pequeñas cantidades.
- 5) - El método descrito ha sido comprobado a través de ensayos de recuperación bajo distintos aspectos.

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

- (1) Franke, K.W. J.Nutrition 8-597/608 (1934)
- (2) Robinson: Ind. & Eng. Chem. 28-736/38 (1936)
- (3) Robinson, Dudley & Byers: Ind. & eng. Chem. An. Ed.  
6-274 (1934)
- (4) Klein: R.A.O.A.C. 24-263/80 (1941)
- (5) Berg & Taitelbaum: Emich Festschrift 23 (1930)
- (6) Norris-Fay: J.Am.Chem. Soc. 18-705 (1896)
- (7) Feigl & Demant: Mikrochimica Acta 1-322 (1937). "Spot  
Tests" F.Feigl, 1939, pag.229.

Una más completa compilación acerca del problema del Selenio existe en el trabajo de:

Page Painter: Chem. Reviews 28-179 (1941)

-----oooOooo-----