

ANEXO

DETERMINACIÓN DE TIMEROSAL EN VACUNAS

A. *Por Espectrofotometría de absorción visible (xxx).*

Ditizona, solución concentrada

Disolver 35 mg de ditizona em 80 mL de cloroformo (para analisis com ditizona). Transferir para balon volumétrico de 500 mL y completar el volumen com cloroformo.

Ditizona, solución diluída

Diluir la solución concentrada en cloroformo 1 en 7.

Homogenizar la muestra y transferir por duplicado 1mL a vasos de Bohemia. Agregar 3 mL de agua purificada (dilución final 1:4), tomar 1 mL de esta solución y transferirlo a tubo de digestión. Agregar 1mL de agua purificada y 2 mL de una mezcla 50:50 v/v de ácido sulfúrico PA y ácido nítrico PA. Llevar la mezcla a ebullición y mantener por 10 minutos. Enfriar. Agregar 10 mL de agua purificada y 2 mL de clorhidrato de hidroxilamina a 50% (p/V). Llevar nuevamente a ebullición y mantener durante 1 minuto, enfriar y transferir el líquido a embudo de decantación filtrando a través de algodón. Lavar el tubo con 70 mL de agua purificada y transferir de la misma manera al embudo de decantación.

Agregar 10 mL de la solución de ditizona 1:7, agitar vigorosamente por 1 minuto. Dejar reposar 1 minuto, filtrar por algodón y recoger la fase orgánica (clorofórmica) en un Erlenmeyer. Proceder inmediatamente a la medida de la absorbancia del filtrado en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 490 nm.

Preparación de los patrones y curva de calibración:

Preparar una solución madre de timerosal (1200µg/ml en timerosal o 600 µg/ml en Mercurio).

A partir de esta solución, preparar en matraces aforados de 100 mL, las soluciones patrón para la curva de calibración, con concentraciones de 6 µg Hg/mL a 24 µg Hg/mL. Después de la preparación de las soluciones patrón, proceder como se describió para la muestra. El blanco se prepara reemplazando la muestra por 2 mL de agua destilada. Con la lectura de los patrones, se construye una curva de calibración y se determina la concentración de timerosal en la muestra por regresión lineal o interpolación gráfica.

B. Por Espectrofotometría de absorción atómica (xxx).

Permanganato de potasio SR (aproximadamente 0,2 M)

Especificación: Contiene 3% p/v en agua

Estabilidad: preparar para usar inmediatamente

Conservación: en recipientes bien cerrados

Almacenamiento: Proteger de la luz

Seguridad: Irritante, caústico.

Transferir, cuantitativamente, 1 mL de la muestra a matraz aforado de 50 mL, agregar 0,5 mL de ácido nítrico y completar el volumen con agua bidestilada. Preparar blanco con agua bidestilada. A partir de una solución madre de 1000 ppm de Hg, preparar un patrón intermedio de 1 ppm de Hg. De éste retirar alícuotas diferentes, de acuerdo con el intervalo de trabajo, transfiriéndolas a celdas de reacción conteniendo solución de permanganato de potasio SR. Determinar la absorbancia a 253,6 nm en equipo de absorción atómica con lámpara (6 mA) de cátodo hueco de mercurio como fuente de energía, rendija H07 y nitrógeno como gas de arrastre.

C. Por Polarografía diferencial de pulsos

-Solución de nitrato de potasio 1000 mg/L: en matraz volumétrico de 1 L, disolver 1 g de nitrato de potasio y completar el volumen con agua desionizada.

-Solución de gelatina 1000 mg/L: en matraz volumétrico de 200 mL, disolver con agua desionizada caliente 200 mg de gelatina, llevando a volumen con agua desionizada.

- Electrolito soporte: en un matraz volumétrico de 1 L, pipetear 60 mL de solución de gelatina 1000 mg/L y completar el volumen con solución de nitrato de potasio 1000 mg/L.

-Solución stock de timerosal 200 ppm: En un matraz volumétrico de 100 mL, disolver 20 mg de timerosal con agua desionizada y completar el volumen.

Ajustar el aparato en las condiciones de operación, de acuerdo con el sistema voltamétrico utilizado. Transferir para la celda polarográfica 10 mL del electrolito soporte y 0,1 mL de la solución patrón de timerosal de 200 ppm. Hacer la lectura. Agregar 0,1 mL más del patrón de timerosal de 200 ppm en esta misma celda y hacer nueva lectura. Repetir el procedimiento, consecutivamente, hasta obtener los 5 puntos de la curva analítica. Proceder entonces al análisis de la muestra, agregando a una nueva celda polarográfica 10 mL del electrolito soporte y 0,5 mL de la muestra y hacer la lectura. Los puntos de la curva analítica y los análisis de las muestras deben ser realizadas por triplicado. Trazar la curva analítica y calcular la concentración de timerosal en la muestra por interpolación gráfica, considerando el factor de dilución utilizado.