

Fundamentos de

Química analítica

Octava edición

Douglas A. Skoog

Stanford University

Donald M. West

San Jose State University

F. James Holler

University of Kentucky

Stanley R. Crouch

Michigan State University

La muerte de ciervos: un estudio de un caso que ilustra el uso de la química analítica para resolver un problema toxicológico

Las herramientas de la química analítica moderna son de un amplio uso en las investigaciones ambientales. En este recuadro, se describe un estudio en el que se usó el análisis cuantitativo para determinar el agente causal de muertes en una población de ciervos de cola blanca que habitaban una reserva natural en un área recreativa nacional de Kentucky, EUA. Se parte de la descripción del problema y luego se muestra la forma de utilizar los pasos de la Figura 1.2 para resolver el problema analítico. Este estudio también ilustra la aplicación de los análisis químicos en un amplio contexto como parte integral de un sistema de control por retroalimentación, de conformidad con la Figura 1.3.

El problema

El problema se inició cuando un guardabosque encontró muerto a un ciervo de cola blanca cerca de un estanque en terrenos de la Lakes National Recreation Area, en el occidente de Kentucky, EUA. El guardabosque solicitó la ayuda del químico de un laboratorio de diagnóstico veterinario estatal para investigar la causa de muerte, para prevenir el fallecimiento de más ciervos.

El guardabosque y el químico investigaron el lugar donde se encontraron los restos descompuestos del ciervo. Dado el avanzado de estado de descomposición, fue imposible obtener muestras de tejido orgánico en buen estado. Unos cuantos días después de encontrar estos restos, el guardabosque localizó otros dos ciervos muertos, en un lugar cercano al del primer fallecimiento. El químico fue llamado a dicho lugar, donde conjuntamente con el guardabosque recogieron los restos y los transportaron en una camioneta al laboratorio de diagnóstico veterinario. Después, los investigadores realizaron un examen minu-

cioso del área circundante en busca de pistas sobre la causa de los fallecimientos.

La búsqueda abarcó casi 0.8 ha en torno al estanque. Los investigadores observaron que el pasto alrededor de los postes eléctricos cercanos estaba marchito y descolorido. Se plantearon la posibilidad de que se hubiera aplicado un herbicida al pasto. Un ingrediente habitual de los herbicidas es el arsénico en diversas formas, como el trióxido de arsénico, arsenito de sodio o los metanoarsenatos monosódico o disódico. El último de ellos es la sal disódica del ácido metanoarsénico, $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$, muy soluble en agua y utilizado como ingrediente activo de muchos herbicidas. La actividad herbicida del metanoarsenato disódico se debe a su reactividad con los grupos sulfhidrilo (S—H) del aminoácido cisteína. Cuando este aminoácido de las enzimas vegetales reacciona con los compuestos arsenicales, se inhiben las funciones enzimáticas y la planta muere tarde o temprano. Desafortunadamente, en animales suceden efectos químicos similares. Así pues, los investigadores recogieron muestras del pasto muerto y descolorido para someterlas a pruebas junto con las muestras de los órganos de los ciervos. Analizaron esas muestras para confirmar la presencia de arsénico y, en su caso, determinar la concentración

Elección de un método

Un procedimiento para la determinación cuantitativa del arsénico en muestras biológicas aparece en los métodos publicados de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) estadounidense³. Consiste en la destilación del arsénico como arsina, que luego se determina por medidas colorimétricas.

Tratamiento de la muestra: obtención de muestras representativas

En el laboratorio, se disecó a los ciervos y se extrajeron sus riñones para análisis. La elección de estos órganos se debió a que el supuesto agente patógeno (arsénico) se elimina rápidamente de los organismos animales por las vías urinarias.

Tratamiento de la muestra: preparación de una muestra de laboratorio

Cada riñón se cortó en trozos y se homogeneizó en una licuadora de alta velocidad. Este paso redujo el tamaño de los trozos de tejido y homogeneizó la muestra de laboratorio resultante.



© B. Robert Franco/Corbis

Los ciervos de cola blanca han proliferado en muchas partes de Estados Unidos.

³ *Official Methods of Analysis*, 15.^a ed., p. 626. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists, 1990.

Tratamiento de la muestra: definición de réplicas de muestras

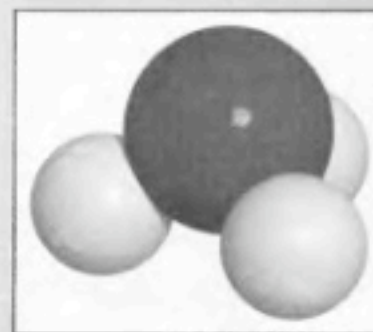
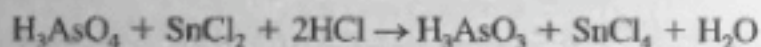
Se colocaron en crisoles de porcelana tres muestras de 10 g cada una de tejido homogeneizado de cada ciervo.

Transformación química: disolución de las muestras

La obtención de una disolución acuosa del analito para su análisis requirió la incineración seca de la muestra a la atmósfera para convertir su matriz orgánica en dióxido de carbono y agua. Este proceso incluyó calentar con cuidado cada crisol y la muestra a llama abierta, hasta que la muestra dejó de humear. Luego, se colocó el crisol en un horno y se calentó a 555 °C durante 2 h. La incineración seca sirvió para liberar el analito del material orgánico y convertirlo en pentóxido de arsénico. El sólido desecado de cada crisol de muestra se diluyó en HCl diluido, con lo que el As_2O_5 se convirtió en H_3AsO_4 soluble.

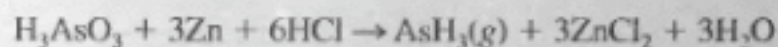
Eliminación de interferencias

El arsénico se puede separar de otras sustancias que pudieran interferir en su análisis al convertirlo en arsina, AsH_3 , gas tóxico e incoloro que se obtiene al tratar una solución de H_3AsO_3 con zinc. Las disoluciones resultantes de las muestras de ciervos y pasto se combinaron con Sn^{2+} y se agregó una pequeña cantidad de ion yoduro para catalizar la reducción del H_3AsO_4 en H_3AsO_3 , conforme a la siguiente reacción:



A lo largo del libro, se presentan modelos de moléculas importantes en química analítica. Aquí se ilustra la arsina, AsH_3 , gas tóxico e incoloro con desagradable olor a ajo. Los métodos analíticos que requieren la generación de arsina deben realizarse con cautela y ventilación apropiada.

el H_3AsO_3 se convirtió en AsH_3 mediante la adición de zinc, como sigue:



La reacción completa se llevó a cabo en matraces equipados con un tapón conectado a un tubo de salida, de modo que la arsina se pueda recoger en una disolución absorbente, como se ilustra en la Figura 1R.1. El sistema garantiza que las interferencias se queden en el matraz de reacción y que sólo la arsina se recoja en el absorbente contenido en recipientes transparentes especiales, llamados tubos de ensayo.

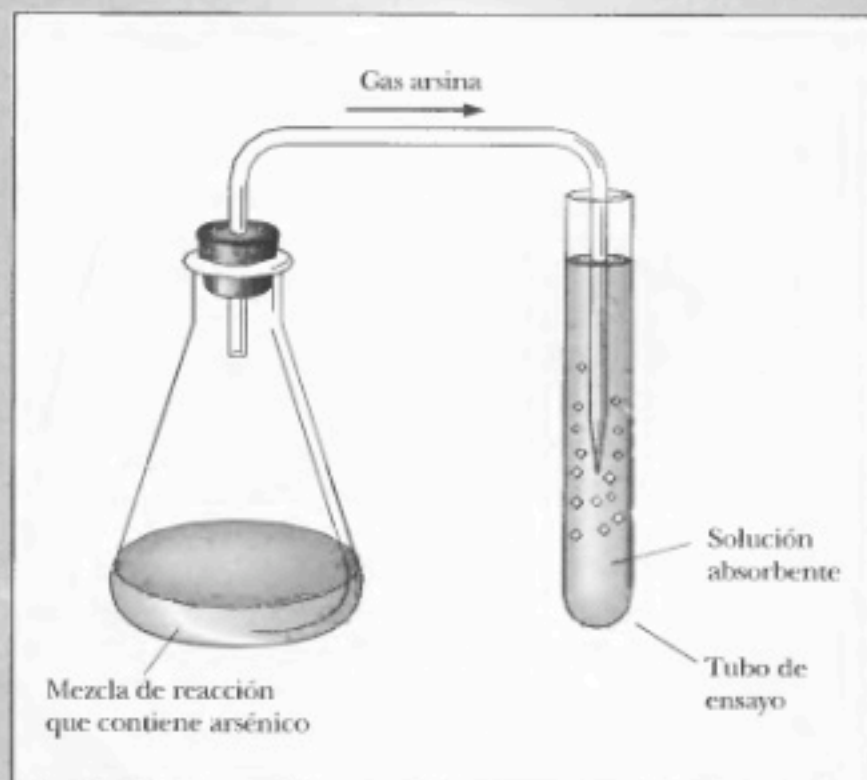
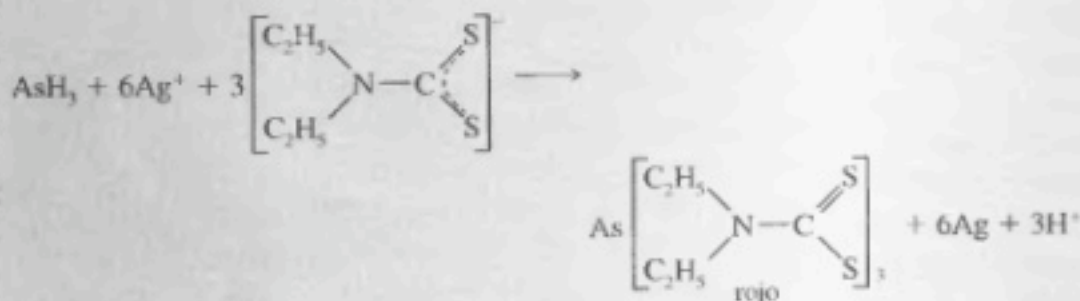


Figura 1R.1. Aparato de fácil construcción para generar arsina, AsH_3 .



Modelo molecular del dietilditiocarbamato. Este compuesto es un reactivo analítico usado en la determinación de arsénico, como se detalla en este recuadro.

La arsina burbujea al entrar en la disolución en el tubo de ensayo, y reacciona con el dietilditiocarbamato de plata para formar un compuesto complejo de color, según la ecuación siguiente:



Medida de la cantidad del analito

La cantidad de arsénico en cada muestra se determinó mediante el instrumento llamado espectrofotómetro, con la cual se midió la intensidad del color rojo formado en los tubos. Como se detalla en el Capítulo 26, el espectrofotómetro permite obtener un número, llamado **absorbancia**, que es directamente proporcional a la intensidad del color, el cual a su vez lo es respecto de la concentración de la especie que genera el color en cuestión. El uso de la absorbancia para fines analíticos requiere obtener una curva de calibración midiendo la absorbancia de varias soluciones de concentraciones conocidas del analito. La parte superior de la Figura 1R.2 muestra que el color se vuelve más intenso a medida que aumenta el contenido de arsénico de los estándares de 0 a 25 partes por millón (ppm).

Cálculo de la concentración

La absorbancia de las disoluciones patrón con concentraciones conocidas de arsénico se representan en una gráfica para producir una curva de calibración, que aparece en la parte inferior de la Figura 1.2. Cada línea vertical entre las partes superior e inferior de dicha figura relaciona a una solución con su punto correspondien-

te en la gráfica. La intensidad del color de cada solución se representa mediante su absorbancia, que aparece en la gráfica en el eje vertical de la curva de calibración. La absorbancia aumenta de 0 a casi 0.72 conforme la concentración de arsénico lo hace de 0 a 25 ppm. La concentración del arsénico en cada disolución patrón corresponde a las líneas verticales en la cuadrícula de la curva de calibración. Posteriormente, esta curva se usa para determinar las concentraciones de las dos soluciones desconocidas mostradas a la derecha de la figura. Primero, se busca la absorbancia de las disoluciones desconocidas en el eje de absorbancia de la gráfica, para después leer las concentraciones respectivas en el eje de concentraciones. Las líneas que van desde los tubos de ensayo a la curva de calibración muestran que las concentraciones de arsénico en los dos ciervos fueron de 16 y 22 ppm, respectivamente.

El arsénico en el tejido renal de animales es tóxico cuando excede valores de unos 10 ppm, de modo que es probable que los ciervos estuvieran muertos por la ingestión de un compuesto de arsénico. Las pruebas también demostraron que las muestras de pasto contenían unos 600 ppm de arsénico. Se trata de valores muy altos e indicativos de que el pasto había sido rociado con un herbicida arsenical. Los investigadores llegaron a la conclusión de que los ciervos probablemente fallecieron a consecuencia de la ingestión del pasto envenenado.

Estimación de la fiabilidad de los datos

Los datos de estos experimentos se analizaron con métodos estadísticos que se describen en los Capítulos 5-7. Se calculó el promedio de las tres mediciones de absorbancia para cada una de las disoluciones estándar de arsénico y las muestras de los ciervos. La absorbancia promedio de las réplicas es una medida de la concentración de arsénico más fiable que una sola medida. El análisis de mínimos cuadrados de los datos de patrones (Sección 8C) se usó para encontrar la recta óptima entre los puntos y para calcular la concentración de las muestras desconocidas, así como sus incertidumbres y límites de confianza estadísticos.

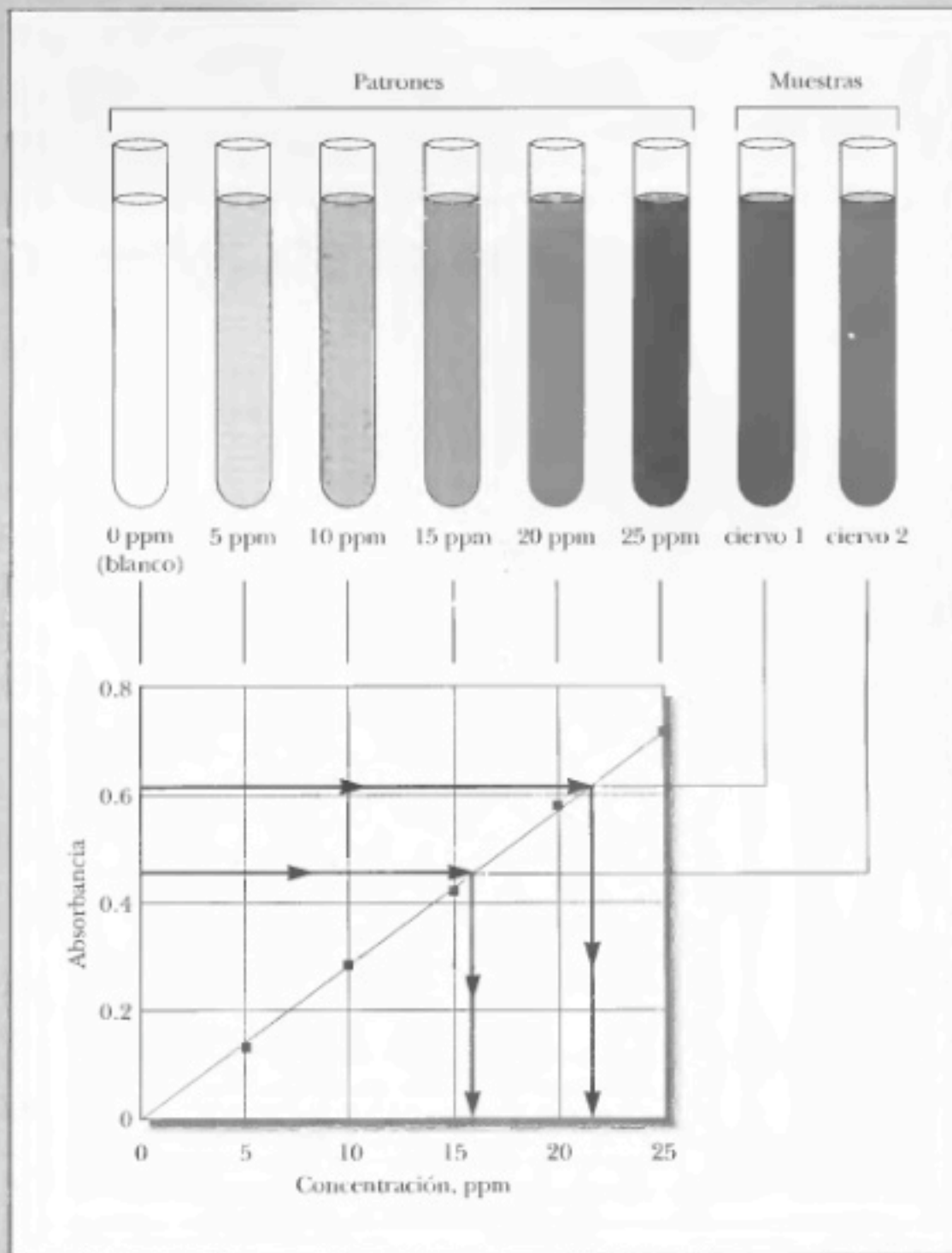


Figura 1R.2. Construcción y uso de una curva de calibración para determinar la concentración del arsénico. La absorbancia de las disoluciones en los tubos de ensayo se mide con un espectrofotómetro. Los valores de absorbancia se representan gráficamente frente a la concentración de las disoluciones en los tubos, como se ilustra en la gráfica. Por último, se lee la concentración de las disoluciones desconocidas en la gráfica, según lo indican las flechas oscuras.

En este análisis, la formación del producto con color intenso sirvió para confirmar la presencia probable del arsénico y obtener una estimación fiable de su concentración en los ciervos y el pasto. Basándose en los resultados, los investigadores recomendaron suspender el uso de herbicidas arsenicales en el área de vida silvestre para proteger a los ciervos y otros animales herbívoros de dicha área.

Este estudio ilustra la forma de aplicar el análisis químico en la identificación y determinación de cantidades de sustancias químicas peligrosas en el ambiente. Muchos métodos e instrumentos de química analítica se usan sistemáticamente para la obtención de información vital en estudios ambientales y toxicológicos de este tipo. El diagrama de sistema de la Figura 1.3 sería aplicable en este estudio. El estado deseado está en una concentración de arsénico

menor que el valor tóxico. El análisis químico se aplica para determinar el estado real, o la concentración de arsénico en el ambiente, y este valor se compara con la concentración deseada. Así se usa la diferencia para determinar las ac-

ciones apropiadas (como disminuir el uso de herbicidas arsenicales) a fin de garantizar que los ciervos no sufran envenenamiento por cantidades excesivas de arsénico en el ambiente, que en este ejemplo es el sistema de control.