

QUIMICA ANALÍTICA CUANTITATIVA
SEMINARIO: "TOMA DE MUESTRA Y PRETRATAMIENTOS"

EL PROCESO ANALITICO

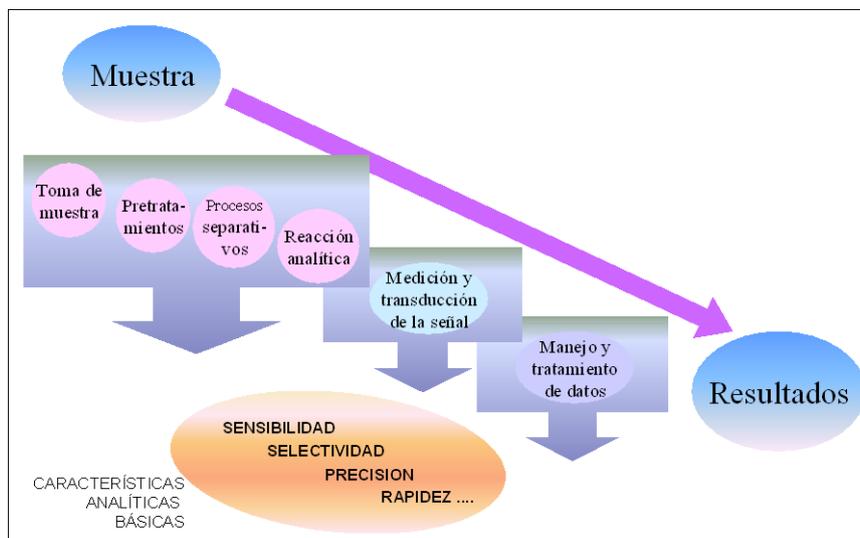
El proceso analítico puede definirse como una serie de operaciones que separan la **muestra** bruta de los **resultados**.

Las llamadas **operaciones preliminares** comprenden una serie de pasos tales como: toma de muestra, preservación, tratamientos (Ej. Disolución, disgregación), aplicación de técnicas separativas, desarrollo de reacciones analíticas, etc.

El segundo paso del proceso analítico requiere el uso de un método analítico de determinación que puede ser clásico o instrumental. Si se emplea un método instrumental, se genera una señal (por ejemplo, en el espectrofotómetro, se produce una señal lumínica) que se transduce en otra señal fácilmente medible (señal eléctrica). Después de la transducción, la señal analítica debe ser relacionada inequívocamente con la presencia, cantidad, o estructura de uno o varios analitos.

Finalmente un sistema de procesamiento de datos (una computadora) realiza los cálculos matemáticos y estadísticos que se requieren para obtener el mejor resultado analítico posible a partir de los datos obtenidos.

Las características básicas del proceso analítico, *sensibilidad*, *selectividad*, *precisión*, *rapidez*, están afectadas por los tres escalones del proceso.



La importancia de las **operaciones preliminares** es frecuentemente subestimada a pesar que es en ellas donde se cometen los más grandes errores. Además hacen posible la preconcentración del analito y eliminación de los efectos de matriz, pueden ser complicados, requerir tiempo y dedicación por parte del operador.

De este modo estas operaciones influyen decisivamente en la precisión, sensibilidad, selectividad, rapidez y costo del proceso analítico.

Las técnicas de *separación analítica* están entre los pasos más frecuentemente incluidos dentro de las operaciones preliminares.

TOMA DE MUESTRA

La obtención de una muestra adecuada para análisis es una fuente importante de dificultades, y con frecuencia limita la validez del resultado final. El químico analítico tiene que conocer el origen de su muestra, y en la medida de lo posible, ha de ejercer algún control sobre la manera en que se obtienen las muestras.

Si se desea efectuar el análisis de una gran cantidad de material, es esencial que la muestra tomada sea verdaderamente representativa del todo. El problema es relativamente pequeño cuando la masa de material es tan homogénea que cualquier porción de ella en suficiente cantidad para su análisis es de la misma composición que cualquier otra porción. Este es el caso de gases bien mezclados y de líquidos bien agitados y de verdaderas soluciones, pero si el material es menos homogéneo, frecuentemente se presentan bastantes problemas.

Los errores en el muestreo pueden ser sistemáticos o al azar. Los errores sistemáticos son los que resultan de la preferencia repetida de un componente del seno del material. Ej. : tomar cada muestra de la superficie de un líquido tranquilo, donde pueden haber gradientes de concentración a distintos niveles; o preferir los trozos grandes de una mezcla sólida, siendo que estos pueden diferir en composición de los trozos pequeños.

Los errores al azar son los que producen tanto resultados altos como bajos. Son menos peligrosos que los errores sistemáticos, ya que se pueden reducir al mínimo tomando más muestras o muestras mayores, lo cual no reduciría los errores sistemáticos.

- Para la exactitud absoluta del muestreo, la muestra debería consistir de toda la cantidad de material, sin embargo, rara vez se desea exactitud absoluta, y de todos modos ésta no podría alcanzarse en las otras etapas del análisis.
- El tamaño que ha de tomarse para la muestra está determinado por: el máximo error tolerable o incertidumbre, que se determina por la exactitud de cada una de las otras operaciones de que consta el análisis completo, por el uso a que están destinados los resultados, y por el grado de heterogeneidad del material.

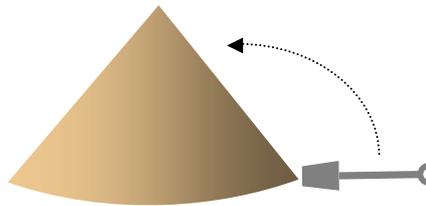
Gases y líquidos. Los gases son en general, homogéneos y pueden recogerse muestras de ellos en matraces evacuados o por desplazamiento del aire inicialmente presente. También pueden adsorberse sobre un adsorbente adecuado y luego desorberlos en el laboratorio. Se puede admitir que un líquido de una sola fase es homogéneo si se ha agitado moderadamente. El muestreo de un líquido tranquilo puede hacerse tomando porciones de líquido a distintas profundidades.

Sólidos. Los materiales sólidos compuestos de gran número de trocitos separados, muestran a menudo mucha variación de un trozo a otro al igual que dentro del mismo trozo. De ordinario es necesario tomar una muestra bruta mayor a la que puede someterse a análisis en el laboratorio y reducirla luego de tamaño de partícula y de masa total para obtener la muestra analítica final. Se han ideado procedimientos para diversos tipos de materiales, todos ellos tendientes a reducir al mínimo el riesgo de un error sistemático.

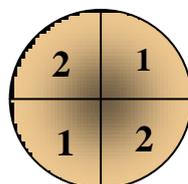
El muestreo es la operación de conseguir en una reducida cantidad de producto, algo que resulte ser representativo de un todo de mayor masa que constituye el material a analizar. Es operación de suma importancia, puesto que si la muestra no está bien tomada, el análisis no tendrá ningún valor.

Si el material es más o menos homogéneo, el muestreo es simple, pueden tomarse varias porciones de distintos lugares, pulverizar todo y mezclar muy bien, reservando una cierta cantidad para realizar el análisis. Esta parte es similar a la parte final del caso de material heterogéneo.

Si el material es voluminoso el muestreo debe ser muy cuidadoso para obtener una muestra representativa. Se tomará un gran número de porciones de diferentes partes, en forma sistemática, por ejemplo durante la descarga, y luego se mezclarán muy íntimamente. Cuanto más pequeños sean los trozos de material mejor podrá ser realizada la mezcla, es por ello que si vienen trozos demasiado grandes deberá procederse previamente a una trituración grosera hasta tamaños medios de 3 a 5 cm. La mezcla se realiza por **paleo** formando un gran cono. Con la pala se tomarán porciones de la periferia de la base y se volcarán en el ápice del cono.



Luego se procede a un **cuarteo** previo para reducir la cantidad de material. El cuarteo consiste en que una vez lograda la primera homogeneización por paleo, se divide el cono resultante en cuatro partes logradas por planos verticales perpendiculares (hipotéticos). De las cuatro partes se separan dos opuestas (Ej. 1-1) y se retiran reservando las otras dos. Con estas dos partes se procede a un nuevo paleo y formación de un cono nuevo mezclando perfectamente como se hizo la primera vez.



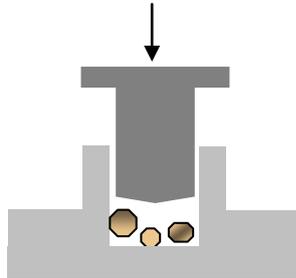
Se repite el cuarteo cuantas veces haga falta para formar un pequeño montón de 2 a 3 Kg y tal muestra se continúa cuarteando en el laboratorio, hasta que la muestra quede reducida a 200-300 g o menos, previa molienda a polvo fino. La porción final destinada al análisis, de ser posible se muele a polvo impalpable, preferiblemente se pulveriza en mortero de ágata.

Para metales y aleaciones se realizan perforaciones con taladros especiales en distintas partes del material, preferentemente en la parte central; debe tomarse todo el material extraído puesto que el polvo fino puede tener composición diferente de las virutas mayores.

Antes de realizar el análisis generalmente el producto se seca a 105-110°C, refiriendo luego el contenido a muestra seca. También puede referirse a muestra húmeda (sin secar) pero en este caso es conveniente determinar la humedad de la muestra por secado hasta peso constante; entonces podrá referirse el resultado ya sea a muestra seca o a muestra húmeda.

TRITURACIÓN Y MOLIENDA

Si se trata de muestra dura primero se reduce a trozos pequeños en planchas de acero duro usando un martillo como elemento percutor. Se evitan pérdidas de material rodeando la muestra con algún reborde. Los trozos pequeños se pueden romper en *mortero de percusión*. El mortero y la mano son de acero duro (al tungsteno).



Se reduce a tamaño de polvo grueso. El polvo grueso se pulveriza por pequeñas porciones luego, en mortero de ágata.

SECADO Y CALCINACIÓN

El papel del agua en el análisis cuantitativo tiene particular importancia, porque el posible intercambio de agua entre la muestra y la atmósfera podría afectar la composición de la muestra cualquiera fuere el método analítico usado subsiguientemente. En una determinación gravimétrica por ejemplo, puede ser causa de error el intercambio de agua entre el precipitado y la atmósfera.

El contenido de agua ha de ser un factor conocido para que los resultados analíticos tengan significado. Así, si se usa una muestra húmeda se pueden convertir los resultados a base seca y viceversa.

Sequedad absoluta y sequedad reproducible. Algunas muestras analíticas pueden llevarse al estado de sequedad absoluta por calentamiento prolongado. Sin embargo las condiciones extremas necesarias para la completa expulsión del agua enlazada fuertemente, pueden ocasionar efectos secundarios, como la pérdida de dióxido de carbono de carbonatos o la oxidación de sulfuros. Una muestra que ha experimentado estos cambios, ya no es representativa del material original. En estos casos hay que renunciar a la meta de sequedad absoluta a favor de una meta de sequedad reproducible. Es esencial llegar por lo menos a este estado, de lo contrario el contenido de agua variará con el tiempo, lugar y circunstancias, por ejemplo con la humedad atmosférica.

Secado por calentamiento: hornos, mecheros y estufas. El método más común para lograr sequedad reproducible es calentar la muestra por una o más horas a 105-110°C en una estufa o un horno bien ventilados. Este tratamiento es a menudo insuficiente para expulsar agua fuertemente enlazada, pero elimina de la muestra el agua débilmente enlazada. Esta es la fracción de agua que mostrará más variaciones con las condiciones atmosféricas y por ello su eliminación da, en general, muestras de un estado de sequedad suficientemente reproducible. Sin embargo esta temperatura es suficientemente alta para causar reacciones

secundarias indeseables en ciertas sustancias. La temperatura de secado escogida ha de ser siempre una fórmula de compromiso entre los requisitos de sequedad completa y la prevención de reacciones secundarias.

La muestra ha de colocarse en la estufa de desecación de manera tal que el aire tenga libre acceso a toda la muestra

Cuando se necesitan temperaturas más altas se usa estufa eléctrica o mechero.

Secado por evaporación. Cuando las muestras analíticas experimentan cambios secundarios aún en condiciones suaves de desecación en estufa, ha de usarse el método de evaporación. La muestra finamente pulverizada se expone simplemente al aire a temperatura ambiente de modo que pueda evaporarse de ella todo el agua en exceso. El aire circundante puede secarse a su vez por un desecante o puede mantenerse a un nivel de humedad constante. En ocasiones se emplea el secado al vacío o a presión reducida, ya que al bajar la presión, baja el punto de ebullición del agua, lográndose su expulsión a temperaturas más bajas. Las muestras de metales pueden secarse rápidamente lavándolas con acetona pura u otro solvente volátil miscible con agua, y secándolas luego al aire por breve tiempo.

Secado y calcinación de precipitados. En una determinación cuantitativa por un método de determinación gravimétrico, el componente deseado se separa de otros componentes de la muestra por precipitación, lavado y filtración. Sin embargo la separación no es completa hasta que no se seca el precipitado para eliminar la humedad dejada por las últimas porciones del líquido de lavado. Muchos precipitados pueden secarse bien si se colocan en una estufa a 110°C por media hora a 2 horas. Sin embargo, a menudo se necesita una temperatura más alta por una o varias de las siguientes razones: a) algunas sustancias retienen agua hasta temperaturas mucho más altas que 110°C. b) Algunos precipitados han de transformarse en otras sustancias de composición química más definida para la pesada. c) el quemado y destrucción del papel de filtro requiere temperaturas más altas.

Las estufas de desecación, estufas eléctricas y varios tipos de mecheros son útiles en el secado y calcinación de precipitados.

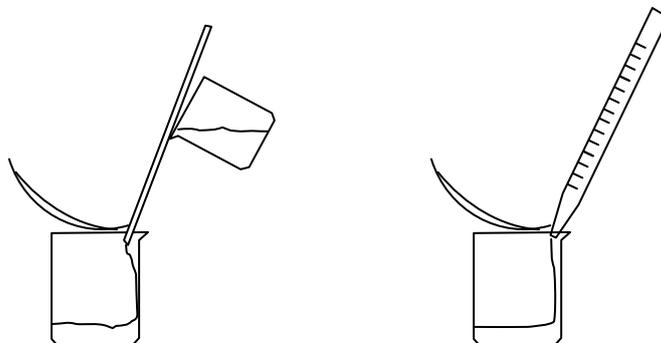
DISOLUCIÓN DE LA MUESTRA

Excepto en algunos casos, antes de la separación y medición del componente deseado, es necesario disolver la muestra pesada. Siempre que sea posible la muestra se disuelve en agua. Los disolventes orgánicos son adecuados para muchas sustancias orgánicas.

Existen algunos detalles experimentales que deben tenerse en cuenta a la hora de disolver una muestra en el laboratorio:

La muestra se pesa, se pone en un vaso de precipitados, se cubre con un vidrio de reloj. El vaso debe tener pico para permitir que por su abertura salgan los vapores o gases. Se vierte cuidadosamente el disolvente (agua, solución acuosa de ácido, etc.) escurriéndolo por varilla de vidrio, cuyo extremo inferior toque las paredes interiores del vaso. Durante esta parte de la operación se desplaza algo el vidrio de reloj. Si se produce desprendimiento de gases el vaso debe cubrirse tanto como sea posible. Para este caso, conviene usar pipeta para escurrir el solvente por la abertura del pico. Una vez que termina el desprendimiento de gas y toda la muestra se ha

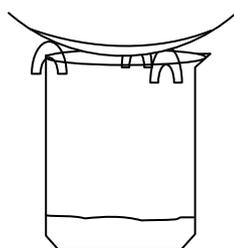
disuelto, lavar la cara inferior del vidrio de reloj con chorro de agua de piseta, cuidando que el agua de lavado escurra por las paredes y no caiga directamente sobre la solución para evitar salpicaduras al exterior. Si fuera necesario calentar, para evitar pérdidas por salpicaduras, es mejor trabajar con erlenmeyer en lugar de vaso de precipitados, colocando en la boca del erlenmeyer un pequeño embudo con su vástago hacia adentro.



Si la solución debe luego ser evaporada parcialmente o llegar a sequedad se usará recipientes anchos y chatos que presentan gran superficie de evaporación. Se pueden emplear vasos de precipitados anchos y bajos de vidrio resistente o cápsula de porcelana. Se elige el material en base a su resistencia al ataque por el líquido caliente y a las determinaciones a efectuar.

Las evaporaciones se realizan en baño maría o sobre plancha calefactora a baja temperatura. Se deben preferir evaporaciones lentas y no por ebullición violenta, para evitar pérdidas. Durante la evaporación cubrir el recipiente con vidrio de reloj colocando pequeños ganchos de vidrio invertidos entre el borde del vaso y el vidrio de reloj para proteger la solución de la entrada de partículas extrañas, sin impedir la salida de vapores.

Al final de la evaporación se debe lavar el vidrio de reloj con chorro de piseta recogiendo el agua en el vaso.



Los dos métodos más generales de disolución son el *tratamiento con ácido* y la *fusión con fundente*.

Tratamiento con ácidos. Los ácidos pueden ser clasificados como ácidos no oxidantes, como HCl, H₂SO₄, y HClO₄ diluido, y ácidos oxidantes como HNO₃ y perclórico concentrado caliente. En general, cualquier metal que se encuentre por encima del hidrógeno en la serie electromotriz se disolverá, aunque algunas reacciones son lentas. Los metales que se encuentran por debajo del hidrógeno, requieren por lo general para su disolución de un ácido oxidante.

Los ácidos fuertes como el clorhídrico, pueden disolver las sales de las que se forman moléculas de ácidos débiles. Ej. El carbonato de calcio se disuelve en HCl dando ácido carbónico y cloruro de calcio.

Una solución ácida puede servir no solo como ácido sino también como agente de precipitación o de formación de complejos. El ion cloruro, por ejemplo, puede formar complejos solubles con muchos iones metálicos, con lo cual aumenta la solubilidad de las sales de estos iones metálicos.

- El HCl disuelve todos los metales comunes con excepción de antimonio, bismuto, arsénico, cobre, mercurio y plata. La reacción de disolución es muy lenta con plomo, cobalto, níquel, cadmio, y unos cuantos metales más que se encuentran por encima del H en la serie electromotriz. Las sales de los ácidos débiles y la mayor parte de los óxidos son solubles.
- El H₂SO₄ diluido disuelve todos los metales comunes, excepto plomo, antimonio, bismuto, arsénico, cobre, mercurio y plata. El H₂SO₄ concentrado y caliente disuelve todos los metales comunes.
- El HNO₃ ataca a la mayor parte de los metales. Ataca también sales insolubles de aniones oxidables como los sulfuros metálicos.
- El HClO₄ concentrado y caliente disuelve todos los metales comunes, pero debe usarse con mucho cuidado, pues las sustancias fácilmente oxidables, incluso algunas sustancias orgánicas, reaccionan con violencia explosiva.
- El agua regia, compuesta de tres partes de ácido clorhídrico y una de ácido nítrico, ataca todos los metales

Algunas otras combinaciones de dos ácidos o de un ácido más un agente oxidante, reductor o formador de complejos, son útiles como disolventes en casos específicos.

Fusión. Cuando no es posible disolver una muestra por un ácido, la fusión de la muestra con fundente puede solubilizar la muestra en agua. Las fusiones son especialmente útiles con minerales, rocas de silicatos y carbonatos que no son atacables por ácido clorhídrico, pero también son útiles con muchas otras muestras. En general el fundente es alcalino a fin de reducir al mínimo la pérdida por volatilización de gases ácidos, como H₂S y SO₂.

Uno de los fundentes más comúnmente usados es el carbonato de sodio que convierte los óxidos en sales de sodio solubles. Ej.



Una mezcla de sodio y potasio se funde a temperatura inferior que el carbonato de sodio solo, resultando conveniente con algunas muestras pero no con otras.

En la práctica se usan unos 5 g de carbonato de sodio por cada gramo de muestra. El fundente se introduce en un crisol de platino suficientemente grande con el fin de que solo quede medio lleno. La muestra pesada se introduce y agita con el fundente. La mezcla se calienta gradualmente hasta que la muestra original parece estar totalmente destruida. Basta con media hora. Luego se deja enfriar la muestra y la masa sólida que se forma se trata con agua caliente. La solución resultante es fuertemente alcalina, pero está a punto para las operaciones de separación y medición subsiguientes.

Para óxidos que son difíciles de disolver se usa comúnmente piro sulfato de potasio como fundente ácido. Al ser calentado el piro sulfato libera SO₃ que a su vez reacciona con el óxido para formar un sulfato soluble. Normalmente se usan 20 g ó más de piro sulfato de potasio por cada gramo de muestra y la temperatura se mantiene ligeramente por encima del punto de fusión, alrededor de 300°C. Se utilizan crisoles de platino o sílice.

Se cuentan entre los fundentes útiles el peróxido de sodio y las mezclas de clorato de potasio o de nitrato de potasio con carbonato de sodio.

SEPARACIONES

Fundamentos. Una separación analítica puede definirse como una operación que implica dividir una mezcla (muestra) en por lo menos dos partes de distinta composición, de manera de enriquecer una de las fracciones en un componente con relación al resto.

El proceso de separación requiere que los distintos componentes sean finalmente apartados, por lo tanto deberá haber siempre un desplazamiento físico a través del espacio.

De este modo, los fenómenos de transporte, son esenciales en las separaciones.

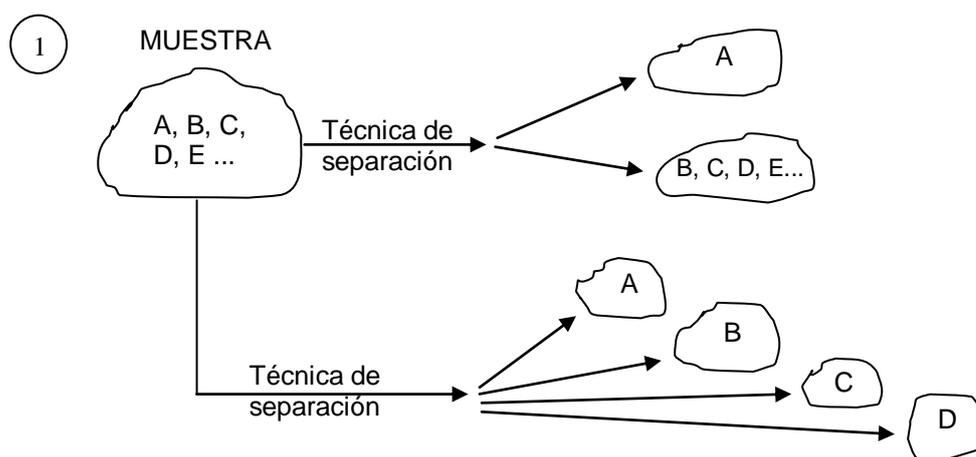
Simplificando, los desplazamientos pueden clasificarse en: a) Movimiento de flujo en el cual los componentes se desplazan en su medio, no es indispensable para la separación. b) Desplazamientos relativos, en que los componentes se desplazan a través del medio circundante, son esenciales para llevar a cabo la separación.

Existen dos grandes tipos de sistemas de separación: estáticos y dinámicos. Los sistemas dinámicos se pueden disponer físicamente de modo que el desplazamiento de flujo sea perpendicular o paralelo al desplazamiento relativo.

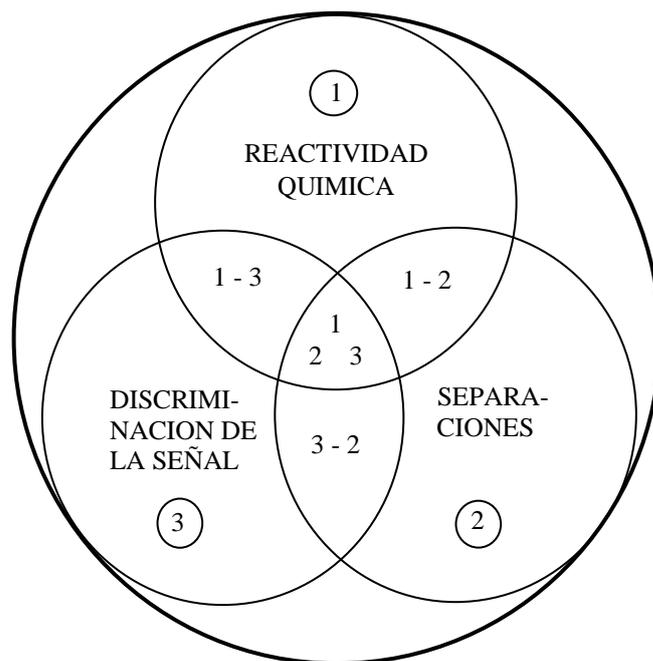
Estos conceptos se comprenderán mejor cuando se trate las *separaciones por extracción y por métodos cromatográficos*.

Objetivos. Las técnicas de separación analítica mejoran: 1) la selectividad y 2) la sensibilidad.

La aplicación directa de una técnica analítica determinativa a la muestra puede fracasar debido a la interferencia de otras especies con propiedades físico-químicas similares a la del analito, o que producen disturbios en la señal de medida. Si se aísla el analito de interés del resto, lógicamente se evitan estos problemas (Fig.1)



Las técnicas de separación son una de las tres vías primarias para aumentar la **selectividad** (las otras vías son la reactividad química del analito y la discriminación de la señal por parte del instrumento de medida).

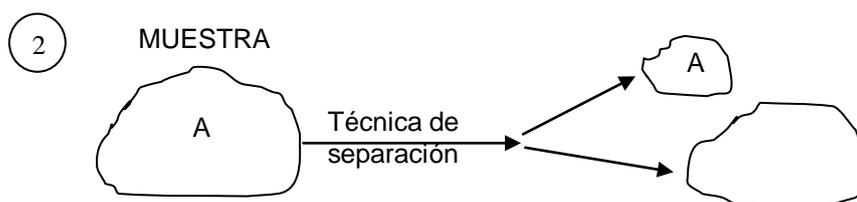


Obviamente una combinación binaria o ternaria de estas vías resultará en un mayor nivel de selectividad.

Otro objetivo básico de las separaciones analíticas es el indirecto incremento de **sensibilidad**.

Con muy bajas concentraciones de analito (análisis de trazas), la aplicación directa de un método analítico generalmente conduce a la obtención de ninguna señal, o de una señal muy baja que no puede ser distinguida del ruido de fondo.

El uso de una técnica de separación, al transferir el analito de interés a una nueva fase de un volumen mucho más bajo (hasta 10^5 veces más bajo) posibilita la aplicación satisfactoria de una técnica analítica gracias a la preconcentración lograda. (Fig.2).



Además de estos dos objetivos, las técnicas separativas ofrecen otras ventajas adicionales que facilitan los pasos posteriores del proceso analítico.

SEPARACIÓN POR PRECIPITACIÓN

Formación del precipitado

Por lo general las precipitaciones se efectúan en vasos de precipitados. Se emplea un agitador de vidrio (varilla) o un agitador mecánico (magnético). En cualquier caso solo deben entrar en contacto con la solución materiales de vidrio o plástico.

La solución del agente precipitante ha de ser bastante diluida, y añadirse lentamente, con bureta, pipeta o gotero. La cantidad de solución de reactivo precipitante se debe calcular de antemano.

Por lo general, el manejo subsiguiente se facilita con la precipitación por solución caliente. Conforme a ello, si la solubilidad y otros factores lo permiten, la solución de la muestra y la del agente precipitante deben estar calientes en el momento de mezclarse.

Digestión

La separación por precipitación no queda físicamente completa hasta que no se separa el precipitado de sus aguas madres; además, el precipitado rara vez está listo para filtración inmediatamente después de haberse formado. En algunos casos las partículas son tan pequeñas que el filtro no puede retenerlas y, en otras, se retiene una cantidad de impurezas innecesariamente grande si la filtración se efectúa de inmediato. Para disminuir estas posibles fuentes de error, se debe dejar que el precipitado repose algún tiempo en contacto con el líquido del que se ha formado. A este proceso se llama *digestión*. A menudo el proceso se efectúa a temperatura elevada, aunque también es útil la digestión a temperatura ambiente, en particular cuando se requiere tiempo prolongado.

Es posible aumentar el tamaño de las partículas de un precipitado durante la digestión: las partículas pequeñas se coagulan para formar agregados; los cristales pequeños se vuelven a precipitar haciéndose más grandes. Cuanto más grandes, más fácilmente se filtran las partículas que quedan al final del proceso de digestión.

Un mecanismo notable por el cual las impurezas son retenidas en el precipitado es la adsorción de las impurezas sobre las superficies de los cristales del precipitado. Una masa dada de precipitado tiene menos superficie si las partículas individuales son grandes que si son pequeñas. El incremento del tamaño de las partículas durante la digestión no solo ayuda a la filtrabilidad del precipitado sino que también puede mejorar su pureza.

La duración del período de digestión varía ampliamente según la situación.

Filtración

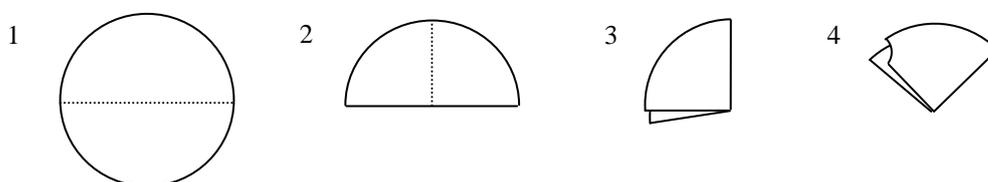
Al final del período de digestión, el precipitado debe contener esencialmente todo el componente desconocido o algún componente relacionado cuantitativamente con él. Debe ser lo bastante puro y estar en la forma física adecuada para la filtración. Hay diversos tipos de medios filtrantes. La naturaleza del precipitado y la temperatura a

la que ha de secarse subsiguientemente o calcinarse son los factores que dictan el filtro que se debe usar.

Papel de filtro. Si el precipitado ha de ser pesado seguidamente, es necesario incinerar el papel para eliminarlo antes de pesar el precipitado; por lo tanto el papel empleado debe ser del tipo que no deja cenizas. Durante la ignición, el carbón del papel produce una atmósfera fuertemente reductora; por consiguiente el papel de filtro es útil como medio de filtración solamente con precipitados que no se reducen fácilmente.

El papel de filtro se suministra con diversos grados de porosidad.

Al plegar y colocar el papel en un embudo de 60 grados, son puntos importantes: el papel debe doblarse dos veces. El primer doblez debe ser a lo largo del diámetro del papel; el segundo doblez debe ser de modo que los bordes queden algo desparejos. Luego debe arrancarse una esquina de la sección ligeramente más pequeña, y abrir el papel en la sección ligeramente más grande.



Entonces el papel puede ser insertado en un embudo de 60 grados humedecido con suave chorrito de agua y presionando firmemente hacia abajo. Ante todo, el papel de filtro debe ajustarse fuertemente a toda la circunferencia superior. La esquina rota impide que se forme una columna de aire entre el embudo de vidrio y el papel.

Crisol de Gooch. El crisol de Gooch es de porcelana y tiene fondo perforado que se cubre con una esterilla filtrante de fibras de asbesto. Es útil para filtrar precipitados que deben calcinarse, en particular los que se reducirán durante la calcinación en presencia de papel de filtro. Además es útil para filtrar soluciones como la de permanganato, que atacan el papel. La esterilla de asbesto debe prepararse cada vez que se haga una filtración. Una vez usada, se quita fácilmente y se desecha.

Crisoles de filtración con base porosa. El crisol de vidrio poroso tiene paredes de vidrio y un disco de vidrio poroso soldado en el fondo. Existe en el comercio con varios grados de porosidad. Es muy cómodo de usar porque no necesita preparación. Sin embargo sí debe limpiarse después de usarlo, lavando con disolvente apropiado. No resiste altas temperaturas, por lo tanto se emplea para precipitados que puedan secarse a temperaturas no muy superiores a los 100°C.

El crisol de porcelana porosa es similar al anterior con la ventaja de poder soportar elevadas temperaturas de calcinación.

El crisol tipo Munroe es de platino. Su base es una capa permanente de platino esponjoso. Puede tolerar temperaturas muy elevadas. Sin embargo, es muy caro por lo que se emplea raras veces.

El inconveniente general de los crisoles de base porosa, es que a veces es difícil limpiarlos.

Filtros de membrana. Son de ésteres de celulosa, principalmente de nitratos de celulosa. El tamaño de los poros varía de 0.010 micra a varias micras. Es un medio

rápido y cómodo para separar las partículas mayores al tamaño del poro, de líquidos y gases.

Transferencia del precipitado al equipo de filtración. Para transferir un precipitado al equipo de filtración es preciso observar precauciones especiales. Este proceso está ligado a la operación de lavado, ya que la mayor parte del lavado se debe hacer en el vaso en el que se formó el precipitado. Por supuesto todas las aguas de lavado deben pasar por el filtro. El líquido de lavado ha de verterse de modo que resbale por una varilla de vidrio, evitando salpicaduras.

Todo el precipitado se transfiere al filtro junto con una porción de líquido de lavado. Los restos de precipitado se transfieren con ayuda de un fino chorro de agua de piseta.



Filtración por aspiración. El paso de un líquido por el filtro es a menudo muy lento a no ser que se aplique aspiración. Es casi imprescindible con crisoles de Gooch o con los de base de vidrio poroso, así como con filtros de membrana de poros muy finos.

Lavado

Se debe lavar el precipitado filtrado, para completar la separación de las aguas madres, antes de su desecación o calcinación. En algunos casos se emplea agua destilada. Pero es más frecuente que el líquido de lavado tenga que contener un ion en común con el precipitado, para reducir al mínimo las pérdidas por solubilidad, o un electrolito para evitar que los agregados de partículas más diminutas se separen y pasen por el filtro. Por supuesto, el electrolito ha de ser alguno que no deje residuo apreciable. Es más eficiente emplear varias porciones pequeñas de líquido de lavado que usar una porción grande. Por lo general los líquidos calientes tienen menor viscosidad que los fríos y pasan por el filtro más rápidamente. Sin embargo, las pérdidas por solubilidad pueden ser mayores con líquidos calientes.

Calcinación del precipitado

Cuando se emplea papel de filtro, se pliega éste alrededor del precipitado y se introduce en un crisol de porcelana, cuarzo o platino. La calcinación debe efectuarse en dos etapas: 1) carbonización del papel a temperatura relativamente baja y 2) calcinación del precipitado a la temperatura final deseada. Si no se completa el primer paso antes de iniciar el segundo, el precipitado pudiera reducirse excesivamente y la llama podría arrojar parte de él fuera del crisol. El primer paso se efectúa generalmente en mechero, aunque para el resto de la calcinación puede usarse alguna otra fuente de calor. El crisol se monta en un triángulo de pipa, que se

coloca sobre el trípode. Una vez eliminado el papel por completo, se puede elevar la temperatura de la llama hasta alcanzar la temperatura de calcinación deseada, se pueden introducir el crisol y su contenido en una mufla a temperatura apropiada. Al término del período de calcinación se deja enfriar el crisol al aire durante unos minutos y luego se introduce en un desecador por lo menos durante media hora antes de pesarlo. Las fases de calcinación, enfriamiento y pesada, deben repetirse hasta que coincidan pesadas sucesivas.

SEPARACIONES POR EXTRACCIÓN Y POR MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

La virtud de muchos métodos instrumentales está en el hecho de que mejoran grandemente la exactitud y la sensibilidad del paso de medición en el análisis y, en ciertos casos, se puede aplicar un método experimental al material de la muestra original sin tener que separar antes unos de otros los componentes que han de determinarse. Pero, al mismo tiempo, el advenimiento de la moderna instrumentación química necesitó el desarrollo de técnicas de separación nuevas y, en ocasiones muy específicas, a fin de explotar plenamente estas técnicas experimentales.

Una separación por cualquiera de estos métodos puede ir seguida de muy variadas técnicas de medición para la determinación de sustancias orgánicas e inorgánicas.

Los métodos de extracción y cromatográficos para separar sustancias, tienen mucho en común. La extracción de un soluto de una fase líquida por otra suele ser selectiva, al menos hasta cierto grado. Incluso cuando una sola extracción sea insuficiente para lograr una separación cuantitativa, a menudo es posible separar especies químicas cuantitativamente por métodos de extracción en multietapas. Asimismo veremos que los métodos cromatográficos pueden considerarse como métodos de extracción en multietapas.

Extracción

La extracción de un soluto de una fase líquida por otra fase líquida es una de las técnicas de separación más rápida y simple en química analítica. En contraste con la separación por precipitación, la extracción tiene la ventaja de procurar separaciones más netas y más limpias.

Coefficiente de distribución o reparto. Cuando se ponen en contacto dos disolventes inmiscibles entre sí, una sustancia soluble en ambos se distribuye o reparte entre las dos fases. Finalmente se establece un estado de equilibrio dinámico.



En donde A_1 y A_2 representan el soluto A en los disolventes 1 y 2, respectivamente. La constante de equilibrio para el reparto de soluto puede expresarse en términos de actividades de la especie correspondiente.

$$K_d = \frac{A_2}{A_1}$$

Donde K_d es el **coeficiente de distribución o reparto** y $[A]_1$ y $[A]_2$ son las concentraciones totales del soluto A en dos fases cualquiera. El coeficiente de distribución se mantiene razonablemente constante por intervalos importantes de concentración y de otras condiciones.

Los requisitos generales que han de satisfacerse por un proceso de extracción para que este sea adecuado como método de separación cuantitativa de especies químicas son en esencia los mismos que han de cumplir otros métodos de separación. El componente deseado ha de separarse completa y selectivamente, y la sustancia separada ha de estar en forma física y química apropiada para cualquier operación o medición consecutiva que haya de efectuarse con ella.

Complejidad de la extracción. Algunos coeficientes de distribución son lo suficientemente altos para que sea posible la extracción cuantitativa de una especie en una sola operación. Otros coeficientes de distribución son excesivamente bajos para permitir transferencia cuantitativa en una sola extracción. En estos casos para lograr una separación cuantitativa es necesario efectuar la extracción dos o tres veces con porciones distintas del segundo disolvente. Esta es la técnica de extracción múltiple.

Selectividad de la extracción. Cuando se ponen en contacto dos disolventes mutuamente inmiscibles, uno de los cuales contiene inicialmente dos solutos, ambos solutos se distribuyen entre las dos fases. La distribución de equilibrio de cada soluto, A y B, es totalmente independiente de la presencia del otro. Por consiguiente los dos coeficientes de distribución K_{dA} y K_{dB} indican el grado de complejidad con la cual cada soluto será extraído del disolvente 1 por el disolvente 2.

En el proceso de extracción ocurre alguna separación entre A y B siempre y cuando los dos coeficientes de distribución difieran entre sí. Es evidente que, para lograr la separación cuantitativa de A y B por extracción de A de una fase líquida a otra, el coeficiente de distribución de A, ha de ser lo suficientemente alto para que sea despreciable la cantidad de A que queda en la solución inicial, y que el coeficiente de distribución de B ha de ser lo bastante pequeño para que la cantidad de B que es extraída en la segunda fase sea despreciable. A menudo es posible lograr las condiciones deseadas.

Principios generales de la cromatografía

El término cromatografía se refiere a toda técnica de separación en la cual se hacen pasar los componentes de una muestra a analizar a través de una columna a diferentes ritmos de velocidad. En toda separación cromatográfica hay una fase estacionaria, que consiste en la sustancia con la que se empaqueta la columna y una fase móvil que recorre la columna. La muestra que va a analizarse se introduce por la parte superior de la columna. A medida que la fase móvil recorre la columna, cada componente de la muestra se distribuye continuamente entre las dos fases. El proceso es similar en principio a un proceso de extracción en multietapas, con gran número de etapas.

Los procesos cromatográficos pueden clasificarse por estados físicos de las dos fases. La fase estacionaria puede ser líquida o sólida y la fase móvil gas o líquido. Así el proceso puede clasificarse como: cromatografía líquido-líquido, cromatografía sólido-líquido, cromatografía líquido-gas, y cromatografía sólido-gas, en que el segundo nombre se refiere al estado de la fase móvil. También es común llamar a los dos primeros cromatografía líquida y a los dos últimos cromatografía de gases.

Basándose en el mecanismo por el cual se distribuyen los componentes, se distinguen tres clases mayores de separaciones cromatográficas: cromatografía de adsorción, en la cual la fase estacionaria adsorbe reversiblemente solutos de la fase

móvil; cromatografía de reparto en la cual se reparte el soluto entre las dos fases de manera muy semejante a un proceso de extracción líquido-líquido, y cromatografía de intercambio iónico, en la cual iones cargados cambian de mano literalmente una y otra vez entre las dos fases.

Debe insistirse en que la cromatografía es un método de separación y como tal ha de ir seguida de la medición correspondiente si ha de hacerse la identificación cualitativa o la determinación cuantitativa.

ANÁLISIS DE TRAZAS

ANÁLISIS DE TRAZAS DE ELEMENTOS METÁLICOS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

Cuando se emplea el término “traza” no existe un acuerdo general en cuanto a límites de concentración. Para los autores consultados, “traza” significa una concentración inferior a 0.01% (Ej. 100 µg/ml o µg/g). A veces se emplea la expresión “ultratraza” para concentraciones inferiores a ng/ml ó ng/g.

Hay muy pocos métodos estandarizados para el análisis de trazas de elementos en el campo ambiental. Cuando se hace necesaria una determinación para resolver un problema crítico, hay que desarrollar el método apropiado. Debido a que este proceso demanda tiempo, muchas situaciones críticas pasan sin contar con los datos analíticos adecuados.

Un procedimiento para análisis de trazas debería, idealmente, tener las siguientes cualidades:

- Límite de detección adecuado
- Ser relativamente rápido
- Ser relativamente de bajo costo
- Ser aplicable a amplio rango de muestras
- Ser relativamente específico
- Ser aplicable en la mayoría de los laboratorios analíticos (sin necesidad de equipamiento especial)
- Ser preciso

Las técnicas. Históricamente los métodos gravimétricos y titulométricos fueron empleados para el análisis de trazas de elementos. De este modo era necesario emplear un gran número de laboriosos pasos de separación y preconcentración para aislar el constituyente y llevarlo a un nivel detectable antes de la determinación. La aplicación práctica y precisión en el análisis de trazas recién pudo lograrse con el advenimiento de la instrumentación.

Separación y preconcentración. A pesar de los recientes avances en la instrumentación analítica, es aún necesario emplear métodos de separación y preconcentración previo al paso determinativo. Estos métodos consumen tiempo y constituyen fuentes de errores (por pérdida o contaminación) y deben ser usado solo cuando sean necesarios. El motivo de emplear estos métodos es llevar la concentración de un elemento en el estado de traza a un nivel detectable y/o separarlo de sustancias interferentes.

La extracción con solvente y la cromatografía de intercambio iónico son los métodos más comúnmente usados.

Blanco. En el análisis de trazas de elementos, es sumamente importante correr un blanco en cada serie de determinaciones. La cantidad detectable es muchas veces alcanzada por la concentración de estos elementos en los reactivos, y por los niveles de contaminación en el ambiente del laboratorio. Para mantener los blancos bajos podría ser necesario el uso de ácidos especialmente purificados y agua bidestilada o desionizada.

El laboratorio. Idealmente se debería trabajar en un laboratorio “limpio” aislado de toda fuente de contaminación externa, para el análisis de trazas. Lamentablemente esto es extremadamente costoso y no está al alcance.

Un problema frecuente es la contaminación con metales provenientes del polvo. El polvo se origina afuera, en los alrededores y también dentro del laboratorio, siendo muy difícil y costoso eliminarlo. Sin embargo debe procurarse un método para restringir la exposición de las muestras al polvo.

Se debe evitar el uso de elementos metálicos en el laboratorio, incluyendo las instalaciones. El laboratorio de análisis de trazas debe ser fácil de limpiar, evitando el uso de materiales en pisos, paredes y techos que tiendan a acumular polvo. Es esencial disponer de una aspiradora.

Las muestras. La recolección, preservación y preparación física de la muestra son aspectos muy importantes del proceso analítico. La metodología dependerá del tipo de muestra y motivo del análisis. Las muestras de suelo y sedimento deben ser trituradas hasta obtener un tamaño de partícula adecuado para el análisis. Las muestras de agua generalmente se filtran y se acidifican. Las muestras de aire para determinación de metales se toman haciendo pasar el aire a través de un filtro o un adsorbente. La muestra así preparada está lista para el tratamiento químico. Las muestras biológicas son difíciles de preservar y preparar físicamente para el análisis, y la metodología depende del tipo de muestra.

Preparación química de la muestra. La preparación química de la muestra es un aspecto muy importante en el análisis de trazas en muestras biológicas y ambientales. La elección del método depende del tipo de muestra y el fin del análisis.

Básicamente los dos métodos de descomposición de la muestra que se emplean son el *ataque con ácidos* y la *fusión*. En el caso de tratamiento ácido, se usan ácidos minerales o mezclas de ellos. Las fusiones emplean grandes cantidades de fundente en exceso sobre la muestra.

Si la cantidad de materia orgánica es abundante, es necesario incluir un agente oxidante para liberar los metales. Generalmente se usa en estos casos mezcla nítrico-perclórica. El ácido nítrico por sí solo o ácidos nítrico y clorhídrico juntos, generalmente no extraen totalmente los metales de la muestra. El ácido sulfúrico es un agente deshidratante y puede producir condiciones fuertemente reductoras. Para mantener las condiciones oxidantes puede añadirse periódicamente peróxido de hidrógeno a la solución sulfúrica.

Cuando hay presente abundante materia orgánica, es a menudo necesaria una fusión oxidante. Para este fin puede agregarse peróxido de sodio a la mezcla de fusión. Los hidróxidos de sodio y potasio son comúnmente usados como fundentes.

Errores. Los errores referidos al análisis de trazas pueden ocurrir en cualquiera de los pasos, desde la toma de muestra hasta la determinación.

Algunos autores sostienen de acuerdo a su experiencia que la magnitud de los errores es:

Toma de muestra > preparación de la muestra > determinación

Es importante que el analista esté convencido de que la muestra, como se presenta, es representativa y vale la pena ser analizada.

La preparación de la muestra comprende ambos tratamientos: físico y químico. La preparación física incluye pulverización y tamización si fuera necesario, que puede

resultar en seria contaminación si se usan implementos metálicos. Pueden ocurrir pérdidas si alguna fracción es eyectada. La preparación química de la muestra es crucial, y no existe unanimidad en el tratamiento apropiado para cada tipo de muestra. El paso determinativo, durante el cual la muestra es introducida en el instrumento de medición, está relativamente libre de errores. Debe ponerse gran cuidado en la calibración del instrumento y la eliminación de interferencias.

DESCOMPOSICIÓN DE LA MUESTRA

La mayoría de los métodos determinativos usados en el análisis de trazas de metales requieren que la muestra se presente en forma líquida. Por eso es importante contar con métodos que sean apropiados para convertir una matriz orgánica en una solución adecuada para el análisis.

Las muestras biológicas están constituidas por distintos componentes orgánicos e inorgánicos que tienen distintos comportamientos frente a los reactivos usados en la descomposición. Por ejemplo, las grasas son mucho más difíciles de descomponer que los hidratos de carbono. También las trazas de elementos están presentes de diferente forma en las muestras, tal como sales inorgánicas (aditivos alimentarios) o como parte de una molécula orgánica (como el hierro de la hemoglobina). Debido a estas variaciones no existe un único método adecuado para todas las muestras biológicas.

Básicamente existen tres procedimientos para la descomposición de muestras orgánicas:

- 1) Mineralización por vía húmeda
- 2) Mineralización seca
- 3) Fusión.

La mineralización por vía húmeda consiste en tratar la muestra orgánica con una mezcla de ácidos incluyendo un agente oxidante, que puede ser un ácido o una sal. La mineralización seca es el tratamiento de la muestra a elevada temperatura (generalmente superior a 450°C) en aire para eliminar la materia orgánica como óxidos de carbono, o a 50-100°C a presión reducida. En la fusión la muestra se mezcla con un reactivo capaz de fundir la muestra, y este procedimiento se reserva para muestras que tienen alto contenido de constituyentes inorgánicos.

Las ventajas y desventajas de estos procedimientos pueden resumirse:

La mineralización húmeda requiere mayor tiempo por parte del operador, pero generalmente el tiempo total es menor. Como se usa un gran volumen de reactivos, pueden surgir problemas de contaminación a causa de las impurezas de los mismos. La mineralización por vía seca requiere un tiempo total más largo, pero la participación del operador es mínima. Se pueden tratar muestras relativamente grandes si se emplean altas temperaturas. En este procedimiento, como el recipiente que contiene la muestra debe permanecer abierto a la atmósfera, pueden surgir problemas de contaminación con sustancias provenientes del aire o del equipo. También pueden ocurrir pérdidas por la incorporación del analito a las paredes del recipiente, a altas temperaturas.

En todos los procedimientos, puede ser un problema las pérdidas por volatilidad del analito. El analito también puede perderse por formación de un residuo insoluble.

Pérdidas por volatilización. El mercurio y muchos de sus compuestos son volátiles a temperatura relativamente baja. Por ello cuando se va a determinar mercurio se deben tomar precauciones especiales durante la descomposición de la muestra. Es esencial asegurarse que existan condiciones oxidantes durante toda la descomposición.

Los elementos que forman hidruros covalentes, arsénico, antimonio, selenio, estaño y telurio, se pierden rápidamente como hidruros a temperaturas relativamente bajas. También en este caso es necesario mantener las condiciones oxidantes.

La presencia o formación de haluros metálicos puede causar problemas en la descomposición. Muchos haluros metálicos son volátiles a bajas temperaturas. Teniendo en cuenta los puntos de ebullición de estos compuestos, puede observarse que muchos metales pueden perderse a las temperaturas empleadas comúnmente en la mineralización (450-850°C). Muchas muestras biológicas y ambientales contienen estos compuestos.

Pérdida por formación de residuos y por incorporación a las paredes del recipiente.

Los analitos pueden incorporarse a las paredes del recipiente durante la mineralización a altas temperaturas. El mecanismo no está claro, pero la reacción entre un óxido metálico y silicatos puede formar vidrios que no son fácilmente atacados por ácidos minerales. La presencia de cloruro de sodio, un componente común de las muestras orgánicas, se cree que agrava este problema.

Muchos materiales orgánicos contienen apreciable cantidad de silicón. Durante la mineralización la silicón permanece en el residuo como dióxido de silicón o como un silicato. Tales residuos pueden retener analitos metálicos.

Mineralización por vía seca. Aunque generalmente requiere un largo tiempo, es conveniente porque el operador interviene muy poco, pueden emplearse muestras grandes, y a menos que sea necesaria la adición de reactivos, la contaminación por esta causa es mínima.

Deben mantenerse las condiciones oxidantes tanto como sea posible durante todo el proceso. La temperatura empleada depende de la presencia o ausencia de compuestos volátiles y de que metales se consideren. A veces se recomienda la adición de nitrato de aluminio o magnesio, para ayudar a mantener las condiciones de oxidación, acelerar la descomposición y minimizar las interacciones del analito con las paredes del recipiente.

La contaminación puede ser un problema serio, ya que la muestra debe permanecer expuesta al aire por un largo período, y partículas de polvo pueden quedar atrapadas en la muestra. También las paredes del horno pueden ser una fuente de contaminación. Debe realizarse este procedimiento en un ambiente lo más limpio posible y siempre se debe correr un ensayo en blanco.

La materia orgánica comúnmente contiene apreciables niveles de sustancias que forman un residuo insoluble en ácido durante la mineralización. El más común es la silicón. Este residuo puede atrapar trazas de elementos que no serán recuperados posteriormente en el tratamiento con ácidos. Es importante no descartar el residuo de la mineralización hasta no estar seguro de que ningún elemento ha sido retenido. Para solubilizar estos residuos se emplea ácido fluorhídrico, o fusión con persulfato de potasio o metaborato de litio.

Los materiales orgánicos varían en la temperatura requerida para su descomposición. Un rango de temperatura promedio sería 550-600°C. El tiempo requerido depende de la naturaleza del material y puede ser de 2 a 24 horas.

Mineralización por vía húmeda. Una gran variedad de ácidos y mezclas de ácidos se han propuesto para la descomposición de muestras orgánicas. La mayoría de las veces es imprescindible emplear un agente oxidante (un ácido u otro compuesto mezclado con el ácido) para obtener una descomposición completa. Cuando existe la posibilidad de pérdidas por volatilización, la descomposición debe hacerse bajo reflujo o en un recipiente cerrado.

El problema de la pérdida de mercurio durante la descomposición de muestras orgánicas, hace necesario utilizar un sistema de reflujo. El equipo típico consta de un matraz de base redonda unido a un condensador de reflujo. También se emplea en la determinación de elementos que forman hidruros covalentes.

Propiedades de los ácidos en la descomposición de materia orgánica

Acido nítrico: El ácido nítrico por sí mismo es adecuado para descomponer muestras orgánicas. Puede emplearse en muestras de orina (ácido nítrico hirviendo), muestras de hígado y suero (tratamientos repetidos con ácido nítrico fumante). Sin embargo, el ácido nítrico es comúnmente usado con ácido perclórico para oxidar la materia orgánica en la mayoría de las muestras.

Acido perclórico: Caliente y concentrado es agente oxidante extremadamente fuerte. Si se usa solo para oxidar materia orgánica pueden ocurrir violentas explosiones. Toda descomposición con ácido perclórico debe hacerse con una mezcla de ácido nítrico y ácido perclórico, con ácido nítrico en exceso (3 a 5 partes de nítrico por cada parte de perclórico).

Acido sulfúrico: Sus propiedades oxidantes no aparecen si no se lo calienta. Como es un excelente deshidratante, su uso solo, resulta en un residuo negro de productos carbonáceos que son difíciles de tratar. Por eso, generalmente se lo usa junto con otras sustancias como peróxido de hidrógeno o ácido nítrico. La adición de estas sustancias tiene el efecto adicional de acelerar la descomposición de otro modo lenta. El ácido sulfúrico precipita el plomo, y no debe usarse cuando se quiere determinar plomo. También precipita el sulfato de calcio, que se sabe, puede ocluir otros metales. El ácido sulfúrico es el de mayor punto de ebullición de los ácidos usados. Esta propiedad es de gran valor cuando se desea remover las trazas de constituyentes más volátiles de una mezcla en descomposición. (Ej. Cl^- o F^-).

Agua regia. (1:3 HNO_3 :HCl) no es comúnmente empleada para descomponer muestras orgánicas. Sin embargo su uso es satisfactorio en muchos casos en análisis de muestras biológicas o ambientales, tal como el análisis de trazas de metales en suelos y sedimentos.

Acido fluorhídrico. No tiene poder oxidante. Solo tiene aplicación en la descomposición de muestras orgánicas. La mayoría de las muestras orgánicas contienen silicón o sílica en cantidades variables. Durante la descomposición es común que se forme un residuo conteniendo sílica, que retiene los metales de interés. Se debe tratar entonces la muestra con una mezcla de ácidos como perclórico, nítrico y fluorhídrico para asegurarse que todos los metales pasen a la solución. En este caso no debe usarse material de vidrio para la descomposición. Puede usarse recipientes de teflón.

Fusiones

Las fusiones, aunque son muy efectivas en la descomposición de materia orgánica, tienen la desventaja de que en el análisis de trazas, adicionan contaminantes. Se recomienda no emplearla si existe otro procedimiento satisfactorio.

Se dispone de una variedad de fundentes. Estos se mezclan en gran exceso (hasta diez veces) con la muestra. Los fundentes más comunes usados con muestras orgánicas son peróxido de sodio, hidróxido de sodio, piro sulfato de potasio, fluoruro de potasio y metaborato de litio. La fusión debe hacerse en un recipiente resistente al calor y a la mezcla de fusión. Ningún material es enteramente resistente al ataque del fundente, y se produce contaminación. Generalmente se utiliza el platino. Luego de la fusión, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se disuelve en ácidos diluidos.

MÉTODOS DE SEPARACIÓN Y PRECONCENTRACIÓN

Los métodos de separación y preconcentración implican pasos extra en el análisis y deben evitarse si no son esenciales. Es aquí donde se presentan frecuentemente problemas debido a contaminación o pérdidas.

La razón para efectuar una preconcentración en un procedimiento, es llevar la concentración del analito a un nivel detectable para el método de determinación escogido. Afortunadamente los progresos en la instrumentación mejoran cada vez más los límites de detección. Con el correr del tiempo, la necesidad de la preconcentración irá decreciendo.

Las separaciones son algunas veces necesarias para separar al analito de una matriz interferente. Al igual que la preconcentración, su necesidad va decreciendo a medida que mejora la instrumentación.

Los procedimientos más comunes y los más apropiados para el análisis de trazas son la extracción con solventes y la cromatografía de intercambio iónico.

ERRORES EN LA OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE TRAZAS DE METALES

Tipos de errores

Adición de metales o contaminación. Las adiciones no deseadas pueden tener efectos devastadores en los resultados, en el análisis de trazas, sobre todo para aquellos metales que existen en niveles muy bajos en las muestras biológicas, pero que están presentes a altos niveles en el ambiente o los materiales en contacto con la muestra. Existen numerosas fuentes de adición.

Los dispositivos para extracción de sangre (agujas, jeringas y tubos colectores) son importantes fuentes de adición no deseada de elementos como cromo, manganeso, cobalto y níquel. Las agujas metálicas deben usarse con precaución y de preferencia emplear catéteres plásticos en el estudio de metales.

La jeringa constituye otra fuente de error. Se obtienen valores erróneos para el zinc, a causa de adición proveniente del émbolo de goma o el tubo de plástico.

Con fines investigativos, solo se usan tubos de cuarzo en la recolección de muestras de sangre. Antes de su uso se limpian con extremo cuidado. Se lavan con agua destilada; se sumergen por dos días en peróxido de hidrógeno 30%, y se enjuagan con agua bidestilada; se hierve por ocho horas en una mezcla 1:1 de ácidos nítrico y sulfúrico; se enjuaga con agua bidestilada; se hierve por ocho horas dos veces en agua bidestilada; se enjuaga con agua bidestilada, y finalmente se coloca en corriente de agua bidestilada por 6-8 horas. Esto se menciona solo para ejemplificar el extremo cuidado que debe tenerse cuando se trabaja en el análisis de trazas.

Otra importante fuente de contaminación es el aire del ambiente, que contiene partículas de diferente origen: naturales, como el polvo ambiental o el polen, y aportadas por la actividad del hombre, el tráfico, las industrias, etc. Constituye una de las más importantes fuentes de error.

Otro problema lo constituyen los reactivos químicos. Cuando se trabaja con sangre o plasma se debe prestar atención al contenido de metales del anticoagulante que se usa. Se debe investigar en todos los anticoagulantes la presencia de aluminio.

Los mayores problemas con los reactivos se producen durante los **pretratamientos** (dilución, descomposición, preconcentración, separación, extracción, etc.). Estos problemas son relativamente fáciles de manejar cuando el nivel del elemento a determinar es del orden de 10^{-6} ($\mu\text{g/g}$), pero muy difíciles de controlar cuando es del orden de 10^{-9} (ng/g) o menor.

Pérdida de elementos. Las pérdidas de analito pueden alterar la integridad de la muestra. En investigación biomédica, sin embargo, las pérdidas son mucho menos preocupantes que las adiciones. Se estudiaron los efectos del recipiente en contacto con la muestra a distintas temperaturas. Se determinó el contenido de cobre y zinc en pools de suero humano contenido en erlenmeyers de vidrio de distinta composición, a tres temperaturas: ambiente, de refrigeración y de freezer. Se encontró que las pérdidas eran significativas pero pequeñas, después de muchos días de almacenamiento. Aún no existen datos concluyentes, y las observaciones realizadas deben tomarse con precaución. La literatura contiene un gran número de observaciones experimentales sobre el intercambio de metales entre soluciones acuosas diluidas y recipientes de distintos materiales.

Cuando las muestras de suero o plasma deben guardarse para su análisis posterior, pueden surgir otros problemas. El almacenamiento prolongado de muestras pequeñas en recipientes de polietileno o plástico puede producir pérdidas de agua por difusión a través de las paredes o por sublimación en caso de cierre inadecuado. Aún más importantes son las pérdidas de compuestos volátiles de selenio y mercurio.

Frecuentemente se usa la deshidratación para estabilizar muestras biológicas. Existen distintas variantes, como deshidratación a presión reducida y bajas temperaturas, secado en horno, y deshidratación en freezer o liofilización. Todos estos métodos están sujetos a pérdidas de elementos y deben estudiarse en particular, sobre todo para aquellos elementos que forman compuestos volátiles.

Es necesario aclarar que no es necesario tomar las mismas precauciones para todos los elementos que se estudien. Los factores decisivos que determinan la significancia de los errores por contaminación son la concentración intrínseca del metal en la muestra, y el contenido de ese metal en todos los materiales (tubos de recolección, recipientes de almacenamiento, pipetas, reactivos, etc.) en contacto con la muestra.

DETERMINACIÓN DE TÓXICOS MINERALES EN TEJIDO HUMANO
PRETRATAMIENTOS DE LA MUESTRA

En casos de muerte por intoxicación, se procede a preparar un pool de vísceras. El médico forense toma porciones de cerebro, pulmón, hígado, corazón, aparato digestivo, vasos, sangre y orina. Generalmente no se analiza cada tejido por separado a menos que se busque un tóxico específico, que tenga un órgano blanco (Ej. Intoxicación con digitalina, se toma muestra de corazón). De lo contrario lo que se hace es un pool de vísceras, tomando una porción de cada órgano.

Si queremos determinar compuestos fijos inorgánicos, el primer paso es eliminar la materia orgánica.

Dstrucción de la materia orgánica: características

- 1) Evitar las pérdidas. Generalmente en toda materia viva hay cloruros, y estos con los metales reducidos como arsénico y mercurio forman compuestos volátiles, entonces todo procedimiento que tienda a favorecer la eliminación de cloruros volátiles modificará la composición de la muestra. Pueden haber pérdidas por arrastre mecánico; si se producen proyecciones se pierde material. Pueden haber pérdidas por adsorción, ya sea a las paredes del recipiente o cuando se forma carbón durante el proceso. La mineralización debe ser en lo posible rápida.
- 2) Evitar contaminación por los reactivos. La mayoría de los reactivos que usamos en el laboratorio contienen cierta cantidad de metales pesados, aún los de grado reactivo. Por eso es necesario hacer un blanco.
- 3) Los equipos de vidrio no deben ceder componentes. Los que más se utilizan son los de vidrio tipo pirex (boro silicato), perfectamente lavado con ácido nítrico y enjuagado con agua bidestilada hasta eliminar todo el ácido.

Los métodos que se utilizan son los métodos de mineralización de muestras orgánicas ya vistos. Los más utilizados son:

- Mineralización con mezcla sulfo-nítrico-perclórica
- Mineralización con mezcla sulfo-nítrica

Finalizada la mineralización, se obtiene una solución que debería contener la totalidad de los componentes inorgánicos de la muestra, incluyendo los tóxicos minerales, si estuvieren presentes. Se procede entonces a aplicar el método de determinación específico para el analito que se investiga.

BIBLIOGRAFIA

- R. B. Fischer - D. G. Peters, "Análisis Químico Cuantitativo"
- D. C. Harris, "Análisis Químico Cuantitativo"
- M. Valcárcel - M. D. Luque de Castro, "Non-Chromatographic Continuous Separation Techniques"
- H.G. Seiler - A. Sigel - H. Sigel, "Handbook of Metals in Clinical and Analytical Chemistry"