

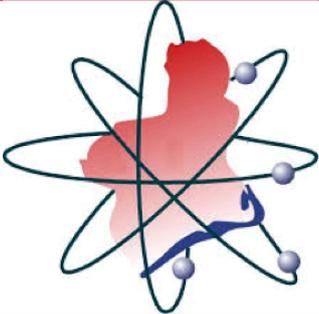
Prácticas de Toxicología Analítica

UNIVERSIDAD DE MURCIA

ANÁLISIS de TÓXICOS ORGÁNICOS



*Antonio Juan García Fernández
Isabel Navas Ruíz*



Área de Toxicología.
Dpto. Ciencias Sociosanitarias
Universidad de Murcia

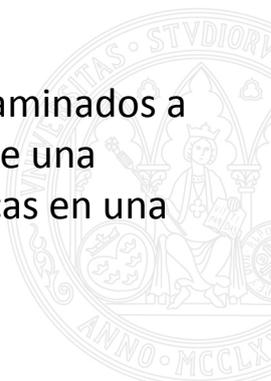


TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
INTRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD DE MURCIA

ANÁLISIS TOXICOLÓGICO

Conjunto de procesos analíticos encaminados a poner de manifiesto la presencia de una sustancia de las consideradas tóxicas en una muestra



Muestras para análisis

- **Muestra problema**
- **Muestras especiales:**
 - Enriquecidas o fortificadas
 - Certificadas o estándares de referencia

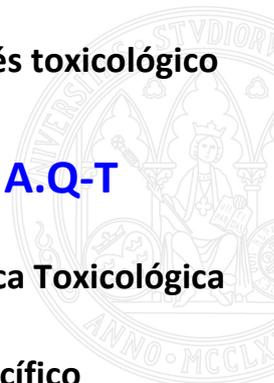


Análisis químico toxicológico

- Muestra homogénea
- Separación de las sustancias de interés toxicológico

Modalidades o tipos de A.Q-T

- **A) No sospecha: Sistemática Analítica Toxicológica General**
- **B) Sospecha concreta: Método específico**



Fases del A.Q-T general

- Fraccionamiento de la muestra de laboratorio
- Obtención de la muestra analítica
- Extracción del tóxico de la muestra analítica
- Purificación del extracto: eliminación de interferencias
- Detección de sustancias xenobióticas
- Identificación del tóxico
- Determinación o valoración cuantitativa

SISTEMÁTICAS ANALÍTICAS TOXICOLÓGICAS

- **Volátiles (gases y vapores)**
 - Sistemática para gases y vapores
- **Inorgánicos**
 - Sistemática para tóxicos inorgánicos
- **Orgánicos**
 - Sistemática para tóxicos orgánicos

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
INTRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD DE MURCIA

SEPARACIÓN O AISLAMIENTO DE TÓXICOS

- **Compuestos volátiles:**
 - Destilación, calentamiento, acidificación, alcalinización, reducción
- **Elementos inorgánicos:**
 - Destrucción previa de la materia orgánica. Mineralización, formación de quelatos.

Compuestos orgánicos:

- Extracción con disolventes orgánicos: Extracción L-L o S-S, extracción por cromatografía, separación por electroforesis

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
INTRODUCCIÓN

UNIVERSIDAD DE MURCIA

ANÁLISIS DE TÓXICOS INORGÁNICOS (METALES):

ESPECTROSCOPIA ATÓMICA
VOLTAMPERIMETRÍA - POLAROGRAFÍA

ANÁLISIS DE TÓXICOS ORGÁNICOS Y VOLÁTILES:

MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS
MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS
INMUNOQUÍMICOS
ESPECTROMETRÍA DE MASAS

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Cromatografía. Concepto y definiciones

UNIVERSIDAD DE MURCIA

Es el método por excelencia para la separación de sustancias químicas (Ej. ▲, ■, ●)

The diagram illustrates the chromatography process. On the left, a 'Muestra compleja' (complex sample) consisting of green circles, blue squares, and red triangles is shown. A blue arrow labeled 'Fase móvil' (mobile phase) points to the right, passing through a 'Fase estacionaria' (stationary phase) represented by a blue rectangular block. On the right, the 'Analitos separados' (separated analytes) are shown as distinct groups of green circles, blue squares, and red triangles. Below this, a chromatogram displays three distinct peaks corresponding to the green, blue, and red analytes.

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Cromatografía. Tipos

UNIVERSIDAD DE MURCIA

CLASIFICACIÓN

☐ **SEGÚN LA DISPOSICIÓN DE LA FASE ESTACIONARIA:**

- ❖ **CROMATOGRFÍA PLANA**
 - Cromatografía en papel
 - Cromatografía en capa fina
- ❖ **CROMATOGRFÍA EN COLUMNA.** Según el fluido empleado como fase móvil se distinguen:
 - Cromatografía de líquidos
 - Cromatografía de gases
 - Cromatografía de fluidos supercríticos

The diagrams illustrate different chromatography types. The first diagram shows planar chromatography: 'Movement of eluent' is indicated by upward arrows, 'Paper or thin layer plate' is the medium, and 'Samples' are applied at the bottom. The resulting 'chromatogram' shows separated spots. The second diagram shows column chromatography: a 'column bed' is shown with 'Measure eluate to obtain chromatogram' at the bottom. The process involves '(1) Apply sample' and '(2) Apply eluent'. The resulting chromatogram shows 'Concentration' versus 'Eluate volume' with a single peak.

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA

Cromatografía. Aplicaciones analíticas

UNIVERSIDAD DE
MURCIA

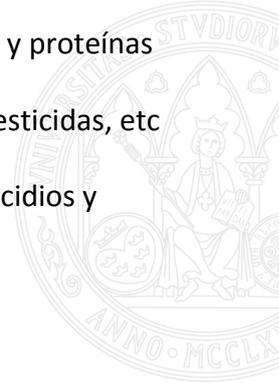
Fármacos, drogas (monitorización terapéutica o de adicción).

Vitaminas, hormonas, péptidos específicos y proteínas

Contaminantes ambientales, residuos de pesticidas, etc

Venenos implicados en homicidios, suicidios y
envenenamientos de animales

Etc.



TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA

Cromatografía. Principios básicos

UNIVERSIDAD DE
MURCIA

Todo sistema cromatográfico contiene:

Una **fase estacionaria**

Una **fase móvil**

Moléculas de la muestra
(mezcla para separación)



TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Cromatógrafo de GASES

Fase móvil:
N₂, He, etc

Carrier gas

Flow controller

Injector port

Capillary column

Oven

Detector

Recorder

PESTICIDAS
 Organoclorados,
 Organofosforados,
 Carbamatos,
 etc

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Cromatógrafos. FASES MÓVILES

UNIVERSIDAD DE MURCIA

HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Solventes polares

LAZAR

Terna system

GC (Cromatografía de gases)

Hidrógeno
 Helio
 Nitrógeno

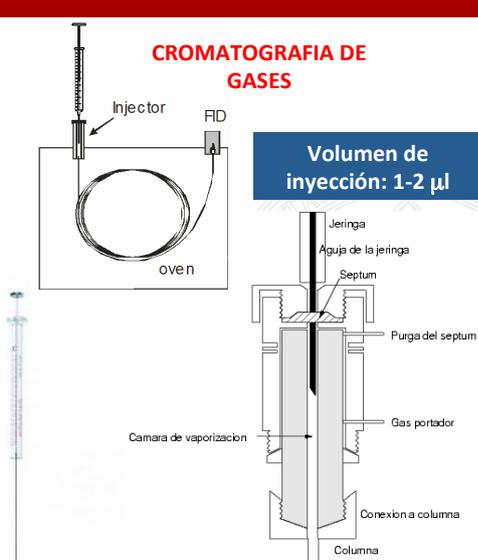
TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Cromatógrafos. FASES ESTACIONARIAS

UNIVERSIDAD DE MURCIA

<p style="text-align: center;">HPLC (High Performance Liquid Chromatography)</p>  <p>Longitud: De 3 a 30 cm Diámetro: De 2 a 5 mm Relleno: - Pelicular: 30-40 μm + F.E. 2-5 μm o - Partículas porosas: 3-10 μm</p>	<p style="text-align: center;">GC (Cromatografía de gases)</p> <p style="text-align: center;">COLUMNA CAPILAR</p>  <p>Longitud: De 2 a 60 m Diámetro interno: De 0.2 a 0.53 mm Grosor de la película: De 0.1 a 1 μm</p>
---	---

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Cromatógrafos. INYECCIÓN

UNIVERSIDAD DE MURCIA

<p style="text-align: center;">HPLC</p> <p style="text-align: center; background-color: #0056b3; color: white; padding: 5px;">Volumen de inyección: 10-30 μl</p> 	<p style="text-align: center;">CROMATOGRAFIA DE GASES</p> <p style="text-align: center; background-color: #0056b3; color: white; padding: 5px;">Volumen de inyección: 1-2 μl</p> 
--	---

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA

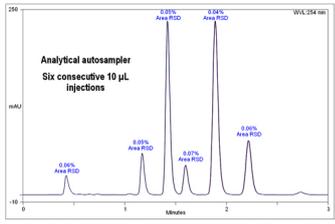
Cromatógrafos. CROMATOGRAMAS

UNIVERSIDAD DE MURCIA

HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

Influyen en la separación:

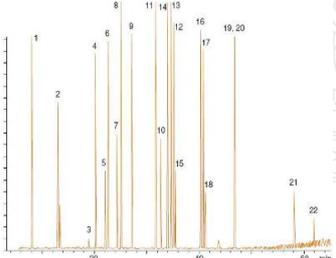
- Longitud de la columna
- Diámetro de la columna
- La fase estacionaria
- Los solventes de la fase móvil
- Velocidad de la fase móvil
- El gradiente de la fase móvil



GC (Cromatografía de gases)

Influyen en la separación:

- Longitud de la columna
- Diámetro interno de la columna
- Grosor de la película (F.E.)
- Tipo del gas portador
- Velocidad del gas portador
- Temperatura de la columna



TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA

PARÁMETROS CROMATOGRÁFICOS

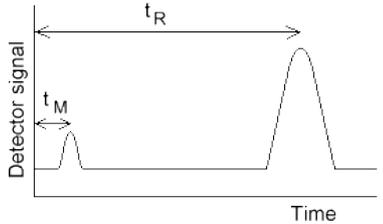
UNIVERSIDAD DE MURCIA

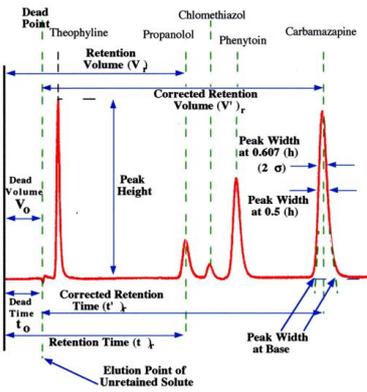
TIEMPO DE RETENCIÓN (t_R)

ÁREA (¿ALTURA?)

TIEMPO MUERTO (t_M)

TIEMPO DE RETENCIÓN AJUSTADO

$$t'_R = t_R - t_M$$




FACTOR DE CAPACIDAD O RETENCIÓN k

$$k = C_s V_s / C_m V_m = K V_s / V_m = K b$$

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE MURCIA

Cromatógrafos. DETECTORES

HPLC	CROMATOGRAFIA DE GASES
<ul style="list-style-type: none"> Espectrofotométricos De fluorescencia Electroquímicos Refractométricos <li style="color: blue;">Espectrometría de masas 	<ul style="list-style-type: none"> De ionización de llama De conductividad térmica De nitrógeno y fósforo De captura de electrones <li style="color: blue;">Espectrometría de masas

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESPECTROMETRÍA DE MASAS

El espectro de masas se presenta habitualmente como un gráfico de barras, en la que cada una de ellas corresponde a un ión. La información proporcionada incluye la relación m/z y la intensidad relativa de cada señal.

A la más intensa, denominada **pico base**, se le asigna el valor 100. Como la mayor parte de los iones formados tiene carga unidad, las relaciones m/z se corresponde con sus masas.

El ión molecular es el ión que resulta tras la pérdida de un electrón por parte de la molécula.

Pentano (Pm=72)

CH3CH2CH2CH2CH3

m/z	Relative abundance
73	0.52
72	18.56
71	4.32
57	11.2
43	100.00
42	55.27
41	37.93
39	12.44
29	26.65
28	17.75
27	31.22
15	4.22
14	2.56

Espectro de masas del n-decano (Pm=142)

CH3CH2CH2CH2CH2CH2CH2CH2CH2CH3

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Interpretación de resultados

UNIVERSIDAD DE MURCIA

Variables que influyen en los resultados analíticos

- Momento de la toma de muestras
- Estabilidad del compuesto en la muestra
- Homogeneidad de la muestra

- Amplitud y reproducibilidad del método analítico
- Interferencias en el método analítico

TÉCNICAS ANALÍTICAS EN TOXICOLOGÍA
Interpretación de resultados

UNIVERSIDAD DE MURCIA

- Defectos operatorios
 - Escasa recuperación durante la extracción
 - Inadecuada técnica extractiva
 - Insuficiente separación de analitos
 - Excesivas pérdidas (purificación, descomposición, etc)
- Desaparición del tóxico
 - Inadecuada toma de muestras (no representativa)
 - Inadecuadas condiciones de conservación de la muestra
 - Facilidad de degradación del analito

