

#### **4.1.3 Identificación y dosaje de ácido cianhídrico en medios biológicos.**

El ácido cianhídrico (HCN) es un líquido volátil, incoloro de olor característico a almendras amargas que presenta gran difusibilidad debido su elevada presión de vapor. Las sales de cianuro (sodio o potasio) son de interés toxicológico. El cianuro de sodio es más tóxico que el de potasio porque desprende más HCN por gramo de compuesto.

El mecanismo de acción tóxica lo ejerce inhibiendo la citocromo c oxidasa bloqueando de este modo la respiración celular generando hipoxia o anoxia citotóxica. También se combina con proteínas que posean hierro en su máximo estado de oxidación (III) como la metahemoglobina. Existe una enzima cuyo funcionamiento depende de la provisión de aminoácidos azufrados, la cianuro azufre transferasa, que degrada el cianuro a tiocianato.

La exposición de grandes cantidades de cianuro puede ser mortal. La severidad de los efectos depende en parte de la forma química del cianuro, la cual puede ser cianuro de hidrógeno gaseoso o sus sales. La exposición a elevados niveles de cianuro durante corto tiempo daña el cerebro y el corazón, y puede causar coma y muerte.

Personas que han respirado cianuro de hidrógeno en concentraciones de 546 ppm han muerto después de 10 minutos de exposición, mientras que 110 ppm fueron un riesgo cierto de muerte después de una hora de exposición.

Estos síntomas se desarrollan rápidamente, dependiendo de la cantidad ingerida. Los efectos son similares si grandes cantidades de cianuro son ingeridos, bebidos, respirados o tocados. El contacto de la piel con sales de cianuro produce irritación. La exposición crónica a cianuro produce daños en la glándula tiroidea.

La sintomatología puede ser de tipo superaguda con pérdida inmediata del conocimiento, convulsiones, rigidez muscular y la muerte ocurre en pocos minutos (alrededor de 10). La intoxicación aguda presenta tres períodos. En el primero se presenta ardor y anestesia en la boca estómago, luego vértigos y zumbidos. En el segundo período se manifiesta pérdida del conocimiento con convulsiones, contractura espasmódica de maxilares, pulso irregular, cianosis. En el tercer período se presenta relajación muscular y muerte por parálisis del centro respiratorio bulbar y paro cardíaco.

La etiología de la intoxicación con ácido cianhídrico (HCN) descrita es muy variada. Las principales fuentes de compuestos cianurados son ciertas industrias en las cuales el HCN presenta aplicaciones comerciales como son la galvanoplastia, extracción de metales preciosos (oro y plata), producción de gomas sintéticas como resinas acrílicas, poliuretano, manufactura de plásticos, así como el empleo de HCN para desinfección como insecticida y raticida.

Otra fuente de compuestos cianurados son los alimentos, como algunos productos vegetales que contienen glucósidos cianogenéticos que por hidrólisis (ácida, alcalina o enzimática) dan origen al HCN. Entre estos se encuentran especies de porotos, semillas de lino, sorgo,

almendras amargas, mandioca, habas, así como en semillas de manzanas y peras y en bebidas fermentadas como el "Kirsh", el aguardiente de cerezas.

El uso de raíces de cassava como fuente primaria de alimento en países tropicales produce niveles elevados de cianuro en sangre. Se ha observado daños al sistema nervioso central, debilidad en las extremidades, caminar dificultoso y sordera. La exposición crónica a las raíces de cassava también se ha vinculado a función tiroidea disminuída.

Debe recordarse que la combustión de plásticos conteniendo nitrógeno (uretanos) es una fuente de cianhídrico gaseoso en incendios. La presencia de plásticos en los ambientes modernos obliga, en casos de muertes por incendio, a determinar no sólo el monóxido de carbono sino el cianuro, debido a que por su elevada toxicidad suele ser el responsable real de la muerte.

También se ha descrito otra fuente de compuestos cianurados en el uso farmacológico como en antiguos antitusígenos como agua de laurel cerezo. Se lo ha empleado en ejecuciones en la llamada cámara de gas y se han registrado muchos casos de intoxicaciones voluntarias y homicidas.

Todos los análisis de cualquier material sospechoso de contener cianuro deben realizarse bajo campana de extracción. Resulta útil tener a mano hipoclorito de sodio para fijar y destruir el cianuro en casos de derrames.

#### **4.1.3.1 Consideraciones generales de la analítica toxicológica.**

La investigación de ácido cianhídrico puede realizarse con diferentes tipos de muestra: vísceras (que necesitarán de una previa homogenización), líquidos biológicos, sangre u orina, alimentos (productos vegetales o animales) y medicamentos.

La sangre venosa presenta un color rojo vivo característico. En cadáveres frescos se observa color rojo cereza así como manchas de color rojo más o menos intenso. Junto al olor típico de almendras amargas que desprenden los órganos se observan numerosas hemorragias pequeñas en las serosas.

Se debe prestar especial cuidado en casos de suicidio con cianuro al realizar la autopsia, en especial al retirar o manipular el contenido gástrico, dado que por su pH puede liberar

cantidades peligrosas de cianhídrico. Cualquier envase obtenido del lugar del hecho debe ser analizado bajo campana de extracción de gases.

El recipiente que contiene la muestra debe estar escrupulosamente limpio, seco y cerrado herméticamente para evitar pérdidas. Si el material son vísceras, no deben conservarse en formol porque este reacciona con el ácido cianhídrico formando cianhidrinas de las que no se puede liberar HCN. Las muestras deben conservarse en frío para evitar la acción enzimática y bacteriana sin agregado de conservantes.

Existen tres tipos de determinaciones del ácido cianhídrico: los ensayos inmediatos o preliminares, los ensayos mediatos y los ensayos cuantitativos.

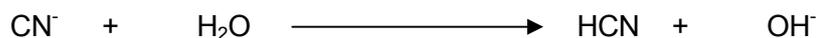
#### 4.1.3.2 Ensayos cualitativos o inmediatos.

La identificación directa del HCN en el recipiente que contiene el material es posible gracias a su elevada presión de vapor a temperatura ambiente y procesos hidrolíticos que ocurren con cierta rapidez por las condiciones del medio, pH, temperatura, etc.

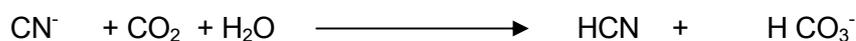
Guatelli, M.A ha revisado en detalle las reacciones y métodos analíticos para cianuros y ácido cianhídrico.

En la atmósfera del recipiente se libera CNH que puede deberse a dos tipos de procesos: hidrolíticos y putrefactivos

Hidrolíticos



El equilibrio se desplaza hacia la derecha. En vísceras en estado putrefactivo se libera CNH de acuerdo con



Los ensayos inmediatos son técnicas que se realizan en la atmósfera del recipiente que contiene la muestra mediante el empleo de los llamados papeles sensibles. Se utilizan papeles impregnados en diferentes reactivos:

#### 4.1.3.2.1 Utilización de papel de guayaco.

El ensayo se fundamenta en el aumento del potencial de oxidación de las sales cúpricas al pasar a sales cuprosas insolubles o poco disociadas. El sistema Cu(II)-cianuro se acopla a un compuesto reductor (resina de guayaco) que por oxidación origina un derivado coloreado (de color castaño vira al azul).

##### Reactivos:

- Solución acuosa de sulfato de cobre al 0,2%
- Solución alcohólica de resina de guayaco al 10% recién preparada.

##### Procedimiento.

En el momento de su uso, se embebe una franja de papel de filtro en una solución de  $\text{SO}_4\text{Cu}$  al 0,2 % dejando escurrir el exceso. Luego se embebe en una solución alcohólica de resina de guayaco al 10% de reciente preparación. El reactivo del papel de guayaco colocado en la boca del recipiente que contiene el material a analizar y el  $\text{O}_2$  producido en la reacción forman un compuesto de color azul en forma inmediata.



Un ensayo negativo permite descartar la presencia de HCN dada su sensibilidad. Un ensayo positivo no entrega mayores datos y requiere confirmación con ensayos específicos. El ensayo presenta interferencias de tipo oxidantes directos de la resina de guayaco y reductores que actúan de la misma forma que el cianuro sobre las sales de cobre.

Es un ensayo clásico, sensible pero inespecífico, pudiendo detectarse hasta 0,25  $\mu\text{g}$  de ácido cianhídrico.

#### 4.1.3.2.2 Ensayo con o-tolidina.

Presenta igual fundamento que la reacción anterior pero la visualización se realiza con o-tolidina. También se puede usar bencidina, fenoftaleína o cualquier sustancia que al oxidarse forme un complejo coloreado. Esta reacción es altamente sensible pero inespecífica.

#### **Reactivos.**

- Solución acuosa de sulfato de cobre al 0,2%
- Solución alcohólica de o-tolidina al 1%.

#### **Procedimiento**

El ensayo es similar al anterior. En presencia de ácido cianhídrico se observa en forma inmediata color azul verdoso que rápidamente vira al azul neto. Presenta mayor sensibilidad que el ensayo guayaco-cúprico.

#### **4.1.3.2.3 Ensayo de Grignard.**

El ensayo se fundamenta en que el ácido pícrico en presencia del HCN, liberado de la muestra ácida, forma isopurpurato alcalino, de color rojo al rojo naranja en el transcurso de cinco minutos.

#### **Reactivos**

- Solución acuosa de ácido pícrico 1% caliente que antes del enfriamiento se agregan 10 gr de  $\text{CO}_3\text{Na}_2$ .

#### **Procedimiento.**

Embeber tiras de papel filtro con solución acuosa de ácido pícrico y escurrir el exceso. Si el papel se prepara en el momento, el ensayo presenta su máxima sensibilidad. El reactivo dura indefinidamente. El papel es puesto en la boca del recipiente que contiene la muestra a analizar.

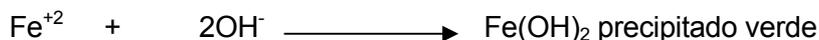
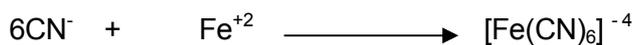
Un color rojo naranja indica resultado positivo.

#### **4.1.3.2.4 Ensayo de Magnin.**

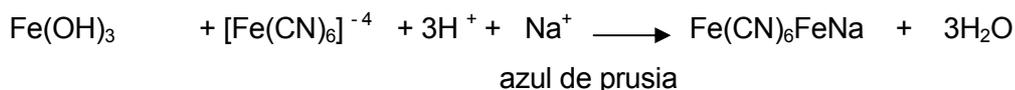
Se basa en la formación de azul de Prusia.



Luego



en medio HCl



### Reactivos

- Solución acuosa de hidróxido de sodio al 2%
- Solución acuosa de sulfato ferroso al 2% recientemente preparada.

### Procedimiento.

Se impregna una tira de papel con hidróxido de sodio al 2% y se expone en el interior del recipiente unos minutos. Se retira y se extiende sobre una cápsula de porcelana. Se distribuyen sobre la superficie expuesta 4 gotas de solución de sulfato ferroso 2%. Se observa un precipitado verdoso que luego pasa a castaño (hidróxido férrico). Finalmente por agregado de unas gotas de ácido clorhídrico concentrado se observa color azul por formación azul de Prusia. Es una reacción poco sensible pero muy específica

Siempre se efectúan por lo menos dos reacciones: una muy sensible y otra muy específica. Si las dos reacciones arrojan resultados positivos se realiza el aislamiento.

## 4.1.4 Ensayos mediatos.

### 4.1.4.1 Aislamiento e identificación del ácido cianhídrico de cianuros alcalinos.

#### Aislamiento.

Cuando se sospecha la presencia de ácido cianhídrico mediante los ensayos antes especificados, se procede al aislamiento y posterior identificación. Para la realización de los ensayos mediatos, se requiere de una separación previa del HCN de la muestra. Son adecuadas una destilación simple o una microdifusión.

En la destilación simple se agrega al material ácido tartárico. El destilado se recoge en hidróxido de sodio para evitar pérdidas del ácido cianhídrico liberado. En el caso de muestras en estado de putrefacción se debe agregar al material a destilar acetato básico de plomo para retener el ácido sulfhídrico.

**Reactivos:**

- Acido tartárico al 10%.
- Hidróxido de sodio al 10%.

**Equipos**

Aparato de destilación simple.

**Procedimiento**

Colocar 10 gr del material biológico en un matraz de destilación y cubrir con agua (aproximadamente 60 ml). Agregar 10 ml de ácido tartárico al 10% y destilar recogiendo sobre 5 ml de NaOH 10%. Se calienta al principio suavemente para evitar la formación de espuma y una vez alcanzado el punto de ebullición se eleva lentamente la temperatura. Es importante que la extremidad del tubo de desprendimiento conectado al extremo del refrigerante tome contacto con la solución alcalina. Suspender la destilación cuando hayan pasado alrededor de 1/3 del volumen inicial. Medir el volumen destilado para realizar posteriormente determinaciones cuantitativas.

**4.1.4.2 Técnica del Azul de Prusia modificada o técnica de Chellen-Klassen.**

El ensayo se fundamenta en la formación de un precipitado azul por formación de azul de prusia (ferricianuro férrico) a partir del destilado, afectuando un ajuste previo del pH a un valor de 8 para favorecer la precipitación.

**Reactivos**

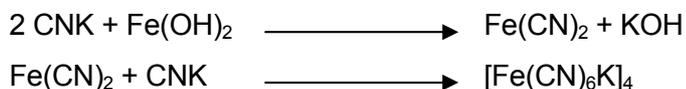
- Solución alcohólica de fenoftaleína al 1%.

- Acido sulfúrico 0,1N.
- Solución acuosa de carbonato de sodio al 10%.
- Solución de sulfato ferroso al 1% recientemente preparada.
- Acido clorhídrico concentrado.
- Solución acuosa de hidróxido de bario al 10%.

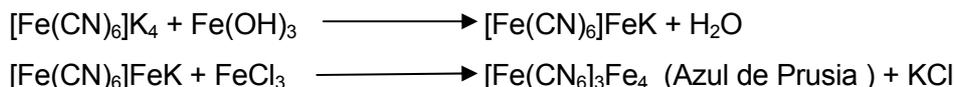
### Procedimiento.

A 1ml de destilado se le agrega 2 gotas de solución de fenolftaleína (medio básico rosada), y luego lentamente solución diluida de ácido sulfúrico hasta vivir el indicador a incolora. Luego se lleva a pH alcalino con solución de carbonato de sodio al 20% gota a gota hasta viraje al rojo. Agregar 3 gotas de solución de sulfato ferroso al 2% y dejar reposar 3 minutos. Acidificar con clorhídrico concentrado. Color azul indica HCN. Si aparece color verde suave agregar gotas de ácido fosfórico. Si aún no se observa color azul, se puede aumentar la sensibilidad de la reacción y agregar gotas de solución de cloruro de bario al 10% y dejar reposar unas horas. Si se observan puntos azules sobre fondo blanco, indica presencia de HCN.

Las reacciones correspondientes son las siguientes:



Se agrega HCl y se agita:



Se intensifica con  $\text{H}_3\text{PO}_4$  o  $\text{Cl}_2\text{Ba}$ , pues forman sales insolubles de  $\text{SO}_4\text{Ba}$  que sedimentan arrastrando el Azul de Prusia al fondo del tubo, donde se observará un botón blanco azulado.

La sensibilidad de la reacción es de hasta 10  $\mu\text{g}$  de ión cianuro. Con el agregado de cloruro de bario se puede revelar hasta 5  $\mu\text{g}$  de ión cianuro.

#### 4.1.4.3 Reacción sulfocianica o de Von Liebig.

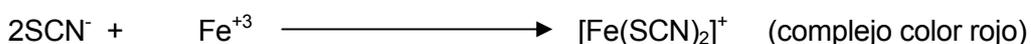
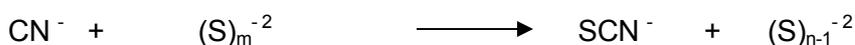
El método consiste en el agregado de un exceso de polisulfuro al destilado y posterior calentamiento para formar sulfocianuro. Luego se acidifica la solución formándose ácido sulfocianhídrico que con cloruro férrico aparece color rojo.

### Reactivos

- Solución de sulfuro de amonio amarillo (polisulfuro).
- Acido clorhídrico concentrado.
- Solución rojo Congo.
- Solución acuosa de cloruro férrico al 0,5%.
- Eter etílico.

### Procedimiento

Unos 5 ml de destilado se colocan en una cápsula de porcelana y se agregan unas gotas de polisulfuro de amonio (amarillo). Se procede calentando suavemente durante 5 minutos sobre tela metálica, agitando el líquido con varilla y agregando sulfurente a medida que la solución se decolora. Cuando el contenido se haya concentrado (1 ml) y se observe persistencia de color amarillo se considera prácticamente realizada la transferencia en sulfocianuro. Se deja enfriar y se acidifica con solución concentrada de HCl hasta reacción ácida frente al rojo congo. El compuesto puede aislarse por tratamiento con éter etílico realizando tres extracciones con 20, 10 y 10 ml de éter cada una. Los extractos etéreos se evaporan en cápsula de porcelana y dejar evaporar el éter a temperatura ambiente. Luego se trata el residuo con 2 o 3 gotas de cloruro férrico al 0.5% y aparece color rojo intenso de intensidad variable (50 µg de HCN transformado en SCN<sup>-</sup> el color aparece rápidamente)

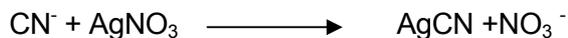


El ensayo es altamente sensible y específico. Algunos autores estiman que es posible revelar ión cianuro en la proporción de 100 µg/L.

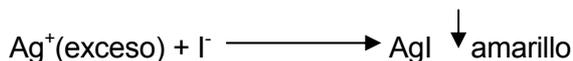
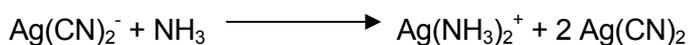
## 4.1.5 Ensayos cuantitativos.

### 4.1.5.1 Método de Denigés.

Constituye una valoración en donde se forma una sal estable de AgCN y el exceso de Ag<sup>+</sup> en el punto final forma un compuesto de color amarillo con el ión yoduro de acuerdo con las siguientes reacciones. Este procedimiento es apto para concentraciones elevadas.



Se corrige con NH<sub>3</sub>



### Reactivos

- Amoníaco concentrado.
- Yoduro de potasio al 10%.
- Solución de nitrato de plata 0,01N.

### Procedimiento.

Tomar 10 ml de destilado y agregar 10 ml de amoníaco concentrado y 1 ml de KI al 10%. Titular con solución de nitrato de plata 0.01N hasta aparición de turbiedad permanente.

Cálculos = 1 ml de NO<sub>3</sub>Ag (0.01 N) = 5.4 10<sup>-4</sup> gr HCN = 0.54 mgr de HCN.

#### 4.1.5.2 Determinación de cianuro en alimentos, sangre e hígado. Método de formación de manchas de azul de prusia.

El método se fundamenta en que el cianuro de la muestra es liberado por acción del ácido sulfúrico o ácido tricloroacético y aspirado a través de un disco de papel impregnado en sulfato ferroso dentro de un flange y se forma ion férrico visualizado como manchas de ferrocianuro ferrico (azul de Prusia). El disco es luego sumergido en ácido clorhídrico hasta que toda la porción sin

reaccionar sea eliminada. La intensidad de la mancha es proporcional a la cantidad de cianuro presente en la muestra.

### Reactivos.

- $\beta$  glucosidasa.
- Agente antiespumante.
- Solución acuosa al 11% de cloruro férrico: pesar 11g de cloruro férrico y llevar a 100 ml con agua destilada.
- Solución acuosa de sulfato ferroso amónico al 19%: pesar 19 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$  y llevar a 100 ml con agua destilada.
- Solución acuosa al 10% de hidróxido de sodio: pesar 10 g de NaOH y llevar a 100 ml con agua destilada.
- Solución acuosa de 1N de hidróxido de sodio: pesar 40 g de NaOH y llevar a 1000 ml con agua destilada.
- Solución stock de cianhídrico (1000  $\mu\text{g/ml}$ ): pesar 0,2503 g de cianuro de potasio y transferir en un matraz de 100 ml agregar 10 ml de NaOH 1N y diluir al volumen con agua destilada.
- Solución standard intermedia de cianhídrico (100  $\mu\text{g/ml}$ ): diluir 1 ml de la solución stock de cianhídrico en 10 ml de agua destilada. Preparar diariamente.
- Solución de trabajo de cianhídrico (10  $\mu\text{g/ml}$ ): diluir 5 ml de la solución intermedia standard de cianhídrico en 50 ml de agua destilada. Preparar diariamente.
- Solución acuosa al 20% de ácido sulfúrico: agregar 50 ml de agua a un frasco graduado de 100 ml. Agregar 20 ml de ácido sulfúrico concentrado y llevar al volumen con agua destilada.
- Solución de ácido clorhídrico 25%: agregar 50 ml de agua en una probeta de 100 ml, agregar 25 ml de HCl concentrado y llevar a volumen con agua destilada.
- Papel de filtro Watman N° 40 cortado en forma de discos 16 mm diámetro.

### Aparatos y equipos.

- Aparato para cianhídrico
- Baño de agua a 75°C.
- Bomba de aire
- Baño de vapor o evaporador.

### Procedimiento

#### Pretratamiento de alimentos.

1. Pesar cerca de 10 g de alimento y transferir a un homogeneizador
2. Agregar 200 ml de agua y 0,02g de  $\beta$  glucosidasa
3. Homogenizar durante 4 minutos.
4. Dejar decantar 1 hora.
5. Proceder al paso 10 del análisis.

### **Pretratamiento en muestras de sangre.**

1. Agregar 300 ml de agua, 5 ml de sangre y 2 ml de antiespumante a un probeta de 500 ml.
2. Reemplace el tapón de goma en el aparato de cianhídrico con el tapón ajustado en la probeta de 500 ml.
3. Prepare suficiente cantidad de agua caliente (paso 5 del análisis) que pueda contener la probeta de 500 ml.

### **Procedimiento.**

- 1) Agregar aproximadamente 20 ml de agua al tubo muestra. Pipetear 0,5 ml de solución standard de trabajo en el tubo.
- 2) Agregar 20  $\mu$ l de cada uno de los siguientes reactivos  $\text{FeCl}_3$  11%,  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$  19%, y NaOH 10% en el centro del papel de filtro de 16 mm de diámetro.
- 3) Ubicar el papel de filtro en el aparato de cianhídrico mientras esté húmedo y ensamble el aparato.
- 4) Agregar 1,0 ml de ácido sulfúrico/g de estándar con una jeringa a través de la entrada del tubo de aire al tubo muestra.
- 5) Ubicar el tubo en baño de agua a 75°C.
- 6) Aplicar succión durante 4 minutos. Menor tiempo de succión puede dar incompleta recuperación y mayor tiempo puede condensar agua arriba del disco.
- 7) Revelar el papel con HCl al 25% caliente (en baño de vapor o en plancha calefactora) hasta que el papel es vea blanco con manchas azul.
- 8) Enjuagar el disco con agua destilada y secar. Alinear las manchas standard en línea sobre un fondo blanco. Si las manchas son de color oscuro excesivo, puede deberse a sulfuros que tienden a desaparecer al ubicar el papel en HCl.
- 9) Repetir los pasos 2-8 con standard de 10  $\mu$ g, 20  $\mu$ g y 50  $\mu$ g standard.
- 10) Colocar una porción de la muestra homogeneizada (1-5g) estimando que contiene un total de 5 – 20  $\mu$ g de cianuro en el tubo muestra. Agregue 20 ml de agua al tubo de la muestra.

11) Agregue 1ml de ácido sulfúrico por gramo de muestra. Como mínimo de 1 ml, pudiendo agregarse más volumen si la muestra es básica.

12) Repetir los paso 5-8.

13) Repetir el análisis de la muestra con un sobreagregado de 5 µg.

14) Puede usarse una comparación visual o cuantificar en un densitómetro.

15) Construir la curva de calibración usando los estándares de cianuro y determinar los niveles en la muestra por comparación de absorbancia. Informar en ppm.

Consideraciones generales: Medir el pH del contenido estomacal. Si el pH es ácido, el ión cianuro es probable que se haya perdido.

- ***Precauciones: Este método emplea soluciones de HCN siendo importante realizar esta preparación y manipuleo con sumo cuidado y siempre bajo campana de extracción de gases.***

#### **4.1.5.3 Método de microdifusión de Feldstein-Klendshoj.**

##### **Fundamento.**

En la cápsula de Conway el ácido cianhídrico difunde del compartimiento externo al interno siendo fijado como cianuro en la solución alcalina. Se toma una alícuota del compartimiento interno y se agrega cloramina T, formándose cloruro de cianógeno. Luego por el agregado de piridina se forma cloruro de cianopiridina.

La acción hidrolítica determina la apertura del anillo piridínico, para dar lugar a la formación del ácido glutacónico. Si este derivado se hace reaccionar con ácido barbitúrico se forma un complejo rojo que se lee a 580 nm.

**Muestra:** sangre entera con heparina, orina u homogenato de vísceras.

##### **Reactivos.**

- Hidróxido de sodio 0,1N
- Acido sulfúrico 10% en volumen
- Lubricante: a base de siliconas o mezclar 2 partes de vaselina sólida y 1 parte de parafina.
- Fosfato monosódico 1M.
- Cloramina T al 0,25%. Se guarda en heladera hasta el momento de usar.

- Reactivo piridina-barbitúrico: en un matraz aforado de 50 ml colocar 3 g. de ácido barbitúrico, 15 ml de piridina purísima y 3 ml de ácido clorhídrico concentrado. Mezclar hasta disolución total, llevar a volumen con agua destilada y filtrar.

### **Instrumental.**

- Espectrofotómetro.
- Cubetas de sección cuadrada de 1 cm de paso de luz.
- Cámaras de Conway.

### **Procedimiento.**

1. Colocar en el compartimiento interno de la unidad de microdifusión de Conway 3,3 ml de hidróxido de sodio 0,1N y en el compartimiento externo 2 a 4 ml de sangre total u orina, o 5 ml de homogenato de tejido (equivalente a 1 g de tejido). Como reactivo liberador se agregan 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico al 10% en el compartimiento externo.
2. Tapar inmediatamente y homogenizar por rotación. Sellar perfectamente las cámaras con vaselina. El tiempo de difusión es de 3 a 4 horas a temperatura ambiente.
3. Transcurrido el tiempo indicado se toma 1 ml de la solución alcalina del compartimiento interno y se coloca en un tubo de ensayo. Se prepara un blanco colocando en otro tubo 1 ml de hidróxido de sodio 0,1N. A cada tubo agregar 2 ml de fosato monosódico 1M y 1 ml de cloramina T al 0,25%. Mezclar y dejar en reposo 2 a 3 minutos, agregar por último 3 ml de reactivo piridina-barbitúrico, mezclar y dejar en reposo 10 minutos. En presencia de ión cianuro aparece color rosado cuya absorbancia se mide a 580 nm.

Se compara la absorbancia con testigos de cianuro en concentraciones comprendidas entre 0,1 a 2,0 g/ml de solución de hidróxido de sodio 0,1N.

#### **4.1.6 Valores normales de cianuro en individuo adulto.**

El cianuro aparece como producto del catabolismo normal en pequeñas cantidades. Hasta 15 µg/100 ml sangre es considerado como valor normal.

#### 4.1.5 Interpretación de los resultados.

El valor de TWA es de 10 ppm (OSHA, MAK) mientras que ACGIH y NIOSG recomienda un valor de STEL de 4,7 ppm. En una intoxicación por inhalación de ácido cianhídrico valores mayores de 100 µg/100 ml suelen ser fatales pero puede variar de un individuo a otro.

La ingestión de 150- 200 mg de NaCN puede provocar la muerte en un individuo adulto de 70 Kg pudiendo llegar la concentración sanguínea a valores 1 –2 mg/100 ml o superiores.

En muestras de sangre cadavérica, el cianuro desaparece rápidamente por acción enzimática y bacteriana. Hasta 15 µg/100 ml de sangre en cianuro aparece como producto del catabolismo normal en pequeñas cantidades. En sangre, niveles de cianuro mayores de 1 mg/L es asociado con casos fatales.

**Dosis tóxica:** una concentración de 1 mg/Kg de peso corporal es mortal.

#### 4.1.6. Generación de monóxido de carbono y ácido cianhídrico en Incendios de polímeros

Actualmente se pone especial énfasis en la investigación de ácido cianhídrico (HCN) junto al monóxido de carbono (CO) en personas expuestas a incendios de materias plásticas que contienen nitrógeno en su estructura. En nuestro país, han sucedido episodios trágicos durante los últimos años que tuvieron como desenlace la muerte masiva de personas (Por ejemplo: incendio en unidades penitenciarias en 1990 y 2005 y la denominada “tragedia de Once” en 2004).

En un episodio de incendio de colchones de poliuretano con 35 víctimas fatales, Ferrari et al (2001, 2005) consignaron que el CO oscilaba entre un 4%-18% con un promedio de 9%, expresado como % de saturación de COHb (carboxihemoglobina); mientras que el HCN mostraba un intervalo de 2.0-7.2 mg/L, con un promedio de 3.5 mg/L. Estos últimos valores exceden ampliamente los valores letales, mayores a 1 mg/L, consignados en bibliografía para el gas cianhídrico en sangre (Ballantyne, 1974; Baselt, 2000; Moffat et al, 2004).

Repetto y Martínez (1976) informaron que en víctimas fatales de un incendio en un “night club”, se observaba altos niveles de CO y dosis sub-letales de ácido cianhídrico en 4 de los 6 occisos.

Elkies y Coleman, citado por Guatelli (1992), señalaron que se obtiene una mayor proporción de CO con respecto a HCN en la descomposición pirogenada de plásticos nitrogenados, mientras que Montgomery (1986) consigna que el HCN en forma masiva es desprendido en ambientes con muy poco oxígeno.

Guatelli (1964, 1992), con autoridad reconocida en el tema, comenta detalladamente ensayos experimentales y accidentes provocados por incendios en los que se generaron el HCN.

Si bien existe un considerable número de trabajos que mencionan la posible producción de HCN en incendios de plásticos nitrogenados, poco en cambio se ha informado sobre el rol del HCN como agente letal respecto del CO, especialmente en combustiones de plásticos o espumas como las de poliuretano.

La producción de HCN en diversos procesos, según los materiales involucrados, ha sido demostrada por diversos investigadores (Terril et al, 1978; Symington et al, 1978; Birky y Clarke, 1981; Montgomery, 1986; Lundquist et al, 1989; Alarie, 2002; Walsh et al, 2004; Yeoh y Braitberg, 2004). Se observa no obstante, una tendencia a atribuir un papel más relevante al CO generado que al HCN. Inclusive algunos autores sostienen que la producción de distintos compuestos nitrogenados (derivados nitrilos), podrían competir con el HCN limitando los efectos tóxicos de este último (Guatelli, 1992).

Estos estudios sugerirían que el HCN podría provocar una rápida inhibición inicial sobreviniendo posteriormente la muerte por intoxicación con CO (Purser et al, 1984). Nuestros hallazgos para el poliuretano, se contraponen a esta postura.

La combustión inicial descompone al poliuretano entre 150-300°C, liberando entre otros productos HCN y CO. Montgomery (1986) basado en experimentos animales consignó que la temperatura en la que se formaría el temido HCN puede variar según los distintos tipos de polímero, notándose una diferencia relevante en las espumas rígidas y las espumas flexibles. Además, parecería que estas diferencias se equilibran cuando se alcanzan o sobrepasan los 800°C. Por otro lado Kimmerle (cit. por Montgomery, 1986) encontró que la temperatura de descomposición de una espuma flexible de poliuretano a la cual producía una atmósfera letal en ratas era menor a 300°C, mientras que las espumas rígidas lo hacían por sobre los 650°C.

Al escindirse en una combustión más fácilmente el grupo CN<sup>-</sup> del polímero con el aumento de la temperatura, teniendo en cuenta que esta puede alcanzar entre 500-1000°C en un tiempo de 2 a 5 minutos, se deduce la rápida liberación masiva de HCN.

Cabe señalar que la propagación de la combustión en este caso es significativamente más rápida que la observada en un incendio con cantidad equivalente de madera.

La descripción de incendios incontrolables con poliuretanos sin retardantes de ignición, indica que existe una rápida diseminación de fuego y humo que puede contribuir en forma relevante al potencial letal de estos sucesos.

Guatelli (1992) en nuestro medio, nota que en unidades carcelarias se han producido incendios intencionales de colchones, con relleno de goma espuma, señalando que la muerte de muchos internos se habría producido por intoxicación oxicarbonada, sin practicar la determinación de HCN. Manifiesta además, que la incorporación de agentes retardantes de la combustión en este tipo de polímeros puede modificar los productos de degradación. Expresa también que la

adición de cobre a la espuma flexible de poliuretano redundaría en una significativa reducción del HCN generado en incendios, como también otros productos de combustión.

Nosotros opinamos que se debe realizar la determinación de ambos tóxicos volátiles, con el objeto de alcanzar una idea más acabada sobre la presunta influencia de ambos venenos en el proceso de intoxicación. Esta opinión se encuentra en línea con una publicación muy reciente de Walsh et al. (2004) que enfatiza seriamente la importancia del ácido cianhídrico en incendios de materiales diversos, consignando que entre 5,000 y 10,000 personas mueren cada año en Estados Unidos por motivo de intoxicación cianhídrica proveniente de la inhalación de gases en incendios.

Aunque el efecto letal del gas cianhídrico es bien conocido en el hombre, poca es la información disponible acerca del curso y severidad en la acción incapacitante para huída en situaciones de incendio, durante los estadios tempranos de la exposición.

También debe tenerse en cuenta que la disminución de la concentración de oxígeno en el ambiente en combustión puede ser causa de incapacidad y muerte, especialmente si disminuye en niveles inferiores al 10% (Alarie, 2002).

Por último, es muy importante realizar ensayos sobre muestras de materiales combustionados con el objeto de verificar la formación o no del HCN.