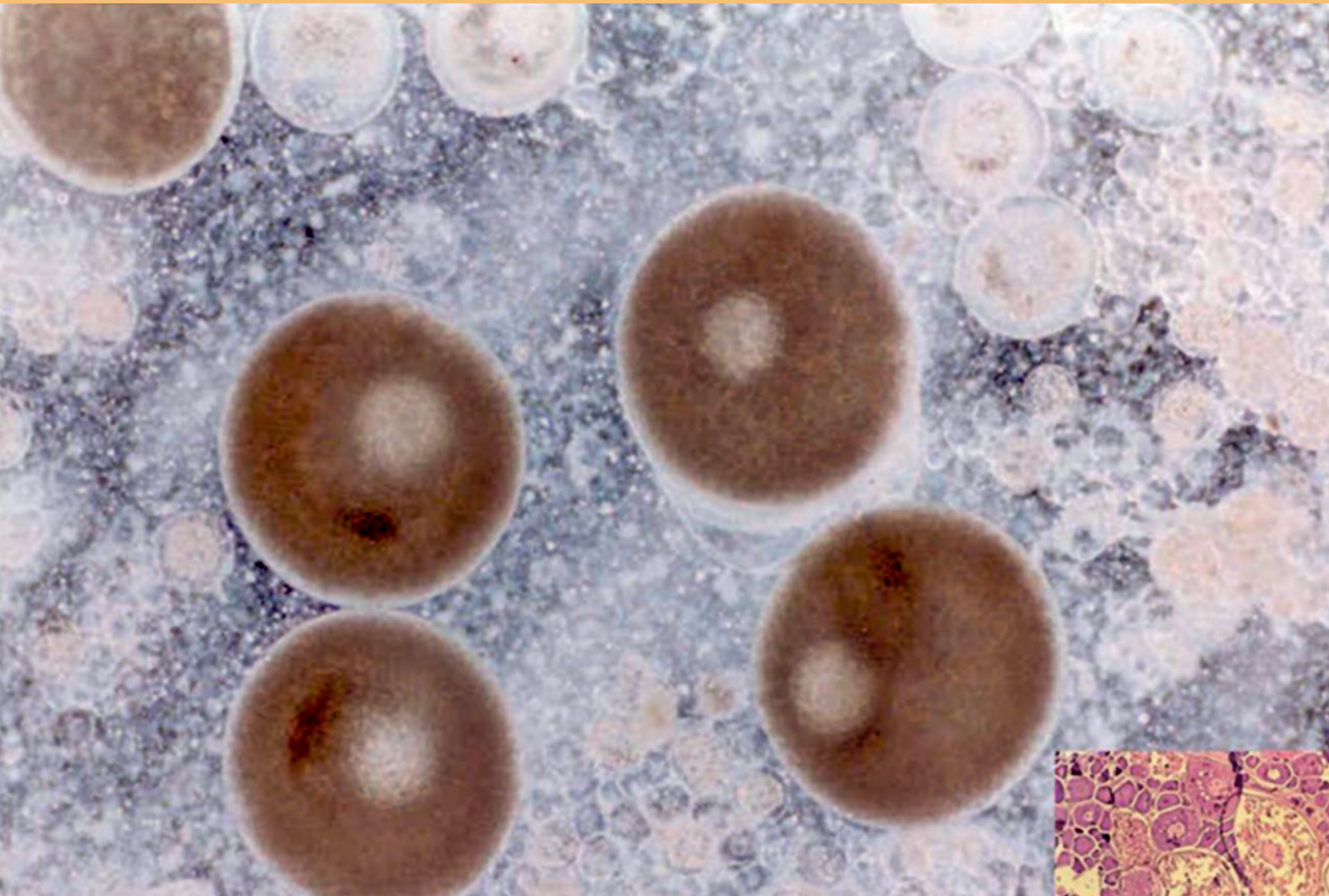




INSTITUTO DEL MAR DEL PERÚ
INFORME

ISSN 0378-7702

Volumen 39, Números 1-2



Enero - Junio 2012
Callao, Perú

VALIDACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE SULFUROS DE HIDRÓGENO (H₂S) EN AGUA INTERSTICIAL DE SEDIMENTOS MARINOS RECIENTES

VALIDATION AND QUANTIFICATION OF HYDROGEN SULFIDE (H₂S) IN INTERSTITIAL WATER OF MARINE SEDIMENTS RECENT

Juana Solís A.¹ Wilson Carhuapoma²

Federico Velazco¹ Michelle Graco¹

¹ Instituto del Mar del Perú (IMARPE)

² Universidad Nacional Federico Villarreal

RESUMEN

SOLÍS J, CARHUAPOMA W, VELAZCO F, GRACO M. 2012. *Validación y cuantificación de sulfuros de hidrógeno (H₂S) en agua intersticial de sedimentos marinos recientes. Inf Inst Mar Perú. 39(1-2): 77-81.*- Para la validación del método analítico de cuantificación de sulfuros en aguas intersticiales se analizaron varios parámetros: la especificidad, determinándose que el único compuesto formado es el azul de metileno con absorbancia máxima a 670 nm; la linealidad en intervalo de 3 a 36 µM (y= 0,0319 x +0,0142) con coeficiente de regresión 0,9983; la repetitividad obteniéndose promedio de 0,1043% y CV de 5,0811. La reproducibilidad se analizó con la prueba t de Student, determinándose que t calculado <t tabulado (1,67 <1,753, GL = 15, p = 0,05), no existiendo diferencias significativas. El límite de detección obtenido fue 0,01989 µM con el método recomendado por IUPAC. Las muestras del Callao (EFC2 y EFC5) indican que las concentraciones de H₂S en el agua intersticial varían, siendo importante la presencia de Zona de Mínimo de Oxígeno (ZMO). PALABRAS CLAVE: Sulfuros de Hidrógeno, agua intersticial, sedimentos marinos, Zona de Mínimo de Oxígeno.

ABSTRACT

SOLÍS J, CARHUAPOMA W, VELAZCO F, GRACO M. 2012. *Validation and quantification of hydrogen sulfide (H₂S) in interstitial water of marine sediments recent. Inf Inst Mar Perú. 39(1-2): 77-81.*- For validation of the analytical method for the quantification of sulfides in pore waters were analyzed several parameters. The specificity, demonstrating that the only compound formed is the methylene blue with maximum absorbance at 670 nm in the linear range of 3 to 36 µM (y = 0.0319 x +0.0142) with regression coefficient of 0.9983; repeatability average yield 0.1043% and CV 5.0811. Reproducibility was analyzed with Student's t test, determining that t calculated <t tabulated (1.67 <1.753, GL= 15, p= 0.05), with no significant differences. The detection limit was 0.01989 µM obtained with the method recommended by IUPAC. Samples of Callao (EFC2 and EFC5) indicate that concentrations of H₂S in pore water vary, being important the presence of Oxygen Minimum Zone (OMZ). KEYWORDS: Hydrogen Sulfide, interstitial water, marine sediments, Oxygen Minimum Zone.

1. INTRODUCCIÓN

El objetivo del presente estudio es la cuantificación de sulfuros de hidrógeno (H₂S) en agua intersticial procedentes de sedimentos marinos.

Investigadores como EMEIS y MORSE (1990) afirman que la formación de los sulfuros en el sedimento marino, es el resultado de la reducción del sulfato durante la oxidación de la materia orgánica en ausencia de oxígeno por medio de bacterias sulfato reductoras. Por su parte, una fracción

del sulfuro de hidrógeno producido por estas bacterias puede reaccionar con los minerales de hierro detrítico, formando compuestos como el monosulfuro de hierro y la pirita.

La formación de compuestos de azufre es importante en el estudio de ecosistemas; BOTTRELL et al. (1998) aseguran que utilizando la relación C/S pueden reconstruir la historia diagenética del carbono y azufre en sedimentos del pleistoceno medio. BÖNING et al. (2004) estudiando los sedimentos frente a la

costa del Perú, encontraron que la concentración de sulfato disminuye con la profundidad y la formación de sulfuro de hidrógeno aumenta encontrando valores entre 0,1 y 0,8 mM a profundidades mayores a 10 cm. KUWABARA et al. (1999) encontraron el mismo comportamiento en sedimentos procedentes de la bahía de Santa Bárbara.

El sulfuro de hidrógeno presente en los sedimentos marinos, es considerado tóxico para una gran variedad de organismos. WANG y CHAPMAN

(1999) hacen referencia de la toxicidad del sulfuro de hidrógeno en 3 maneras principales: (i) como agente tóxico en forma de sulfuro de hidrógeno, (ii) mediante la formación de sulfuros de metales insolubles y (iii) mediante la formación de complejos de metales de sulfuro.

CLINE (1969) describe una de las primeras metodologías para el análisis de sulfuro disuelto (H_2S , HS^- y S^{2-}) en agua de mar a partir del método espectrofotométrico basado en la formación del azul de metileno. Posteriormente, varios autores han modificado esta metodología según las características de sus muestras; por ejemplo, HAYES y TAYLOR (2006) lo hicieron para analizar tiosulfato y sulfuros en muestras de la bahía de Cariaco, obteniendo buenos resultados.

Este trabajo describe un método efectivo para determinar sulfuro en muestras de agua intersticial procedente de sedimentos marinos. Para el análisis se adaptaron metodologías ya conocidas, con la respectiva validación.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Colecta de muestras

Las muestras de sedimento marino se recolectaron mediante un multisacatestigos (MUC) de 4 tubos marca Oktopu®.

Una vez obtenido el testigo de sedimentos se procedió a submuestrear el testigo a cada centímetro hasta los 10 cm de profundidad.

Para la extracción del agua intersticial se usaron rizomas de extracción para cada centímetro del sedimento. El volumen obtenido fluctuó entre 2 y 5 mL. Luego de obtener la muestra se agregó inmediatamente acetato de zinc como preservante. Este reactivo permitió estabilizar los sulfuros. Las muestras se almacenaron refrigeradas hasta su análisis en laboratorio.

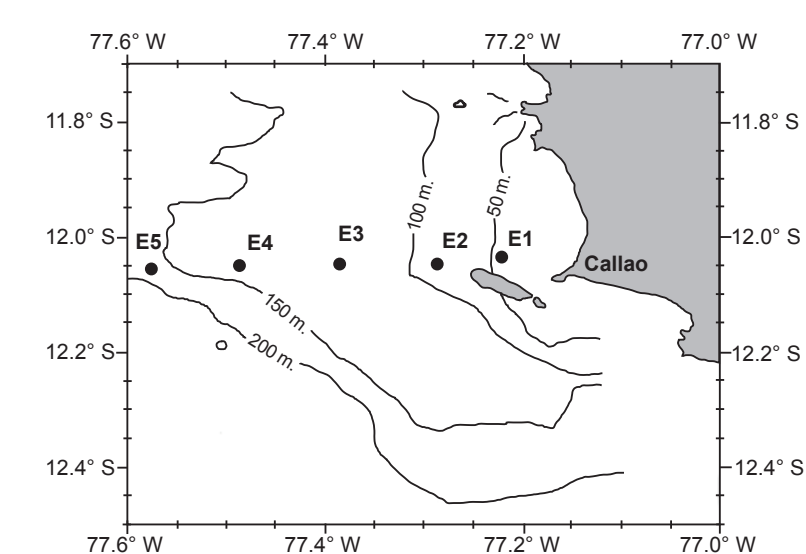


Figura 1.- Estaciones fijas, Callao

Tabla 1.- Datos de las estaciones fijas, Callao

Estación	Ubicación		Profundidad (m)
	Latitud S	Longitud W	
EFC1	12°01.985'	77°22.325'	48
EFC2	12°02.716'	77°27.060'	93
EFC3	12°03.348'	77°38.472'	117
EFC4	12°05.926'	77°49.059'	143
EFC5	12°06.426'	77°58.043'	178

Las muestras analizadas corresponden a las estaciones fijas Callao EFC (Fig. 1).

En la Tabla 1 se puede observar la ubicación geográfica y profundidad de cada estación fija.

2.2 Reactivos

- **Solución I:** Se pesó 0,0510 g de N, N-dimetil-p-fenilenodiaminodihidrocloruro y se disolvió en 25 mL de HCl 6M.
- **Solución II:** Se pesó 0,4162 g de $FeCl_3$ hidratado y se disolvió en 25 mL de HCl 6M.
- **Solución Estándar (3050 μM):** Se pesó 0,183g de $Na_2S \cdot 9H_2O$ y se disolvió con agua libre de oxígeno hasta un volumen de 250 mL.
- **Solución de Trabajo (152,5 μM):** Se tomó 10 mL de la solución estándar y se diluyó hasta

200 mL con agua libre de oxígeno, se agregó 2 mL de solución preservante (Acetato de Zinc).

2.3 Validación del método analítico

2.3.1 Especificidad

La especificidad, es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés, y no a otros componentes de la muestra.

Para el estudio de especificidad se realizó un barrido de una muestra entre 400 y 800 nm.

2.3.2 Linealidad

Este procedimiento analítico tiene como objetivo determinar que la concentración del analito es di-

rectamente proporcional a la señal dada por un equipo de análisis. Para su determinación se preparó una curva de calibración usando diferentes concentraciones a partir de la solución de trabajo (se realizaron 8 concentraciones diferentes) y se obtuvieron sus respectivas absorbancias. El equipo utilizado fue un espectrofotómetro UV/vis modelo lambda 45, el ancho de celda fue de 1cm y la longitud de onda 670 nm.

2.3.3 Repetitividad

Es la precisión obtenida bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo (mismo día), por un mismo analista, en la misma muestra homogénea y en el mismo equipo.

Para este análisis se determinó varias veces la absorbancia de una misma muestra de agua intersticial.

2.3.4 Reproducibilidad

Es la precisión obtenida al comparar los resultados entre dos analistas diferentes y en días diferentes. Para este análisis se usó una misma muestra y el mismo equipo, se compararon los valores de absorbancia y se realizó el test t de Student.

2.3.5 Limite de detección (LDD)

Es la cantidad más pequeña de analito en una muestra, que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado.

2.4. Análisis de muestras

Para el análisis de muestras de agua intersticial procedentes de sedimento marino, se trabajó con las muestras extraídas de las estaciones EFC2 y EFC5, en abril 2010. Estas estaciones corresponden a una condición costera y somera y otra más asociada con condiciones de océano abierto (EFC5). Los análisis se efectuaron hasta los 10 cm de profundidad en el sedimento.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio de especificidad del método se basó en un barrido entre las longitudes de 400 y 800 nm, con lo cual se obtuvo el espectro de absorción (Fig. 2). Este espectro pertenece al rango de absorción del azul de metileno que es el compuesto formado a partir de los sulfuros presentes en la muestra con los reactivos de la solución I y la solución II del método de análisis. Como se puede observar, el máximo de absorción se da en la longitud 670 nm, lo cual responde a lo descrito para el azul de metileno, y además nos indica a que longitud de onda se van a realizar las lecturas.

Para comprobar la linealidad de la metodología analítica, se probó la linealidad de una sustancia de referencia, el sulfuro de sodio $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, en un intervalo de concentración de 3 a 36 μM . Con los datos obtenidos se construyó la recta de regresión que fue $y=0,0319x+0,0142$ y un coeficiente de regresión de 0,9983 (Fig. 3). Los resultados indican que la curva obtenida cumple con la ley de LAMBER y BEER, y, por lo tanto, la concentración es directamente proporcional a la absorbancia y, en consecuencia, puede utilizarse como curva de calibración para cuantificar la concentración de sulfuros.

Para el análisis de repetitividad, se analizaron 16 veces la misma muestra por un mismo analista, de este estudio se obtuvo un valor promedio de 0,1043, un coeficiente de variación de 5,0811% y una desviación estándar de 0,0053 (Tabla 2). Los resultados indican que el método aplicado es robusto para el análisis cuantitativo.

En cuanto al estudio de reproducibilidad, se realizó un análisis estadístico obteniendo un coeficiente de variación de 7,1974% para 16 muestras estudiadas (Tabla 3). El test t de Student presentó un va-

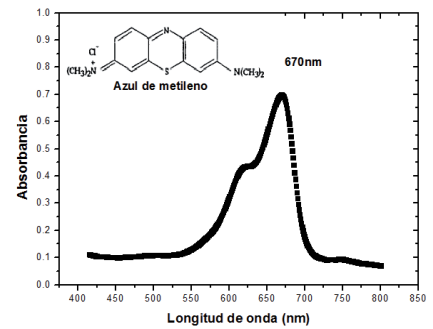


Figura 2.- Espectro de absorción del azul de metileno procedente de la muestra.

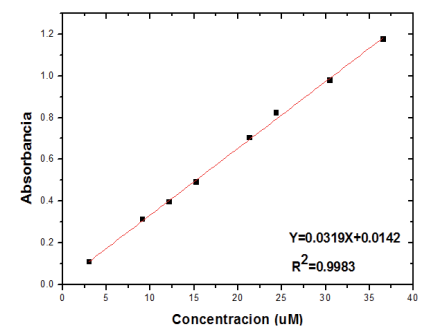


Figura 3.- Curva de calibración para cuantificar sulfuros.

lor de 1,67, de donde se tiene que t calculado $< t$ tabulado ($1,67 < 1,753$, $GL=15$, $p=0,05$), lo cual indica que no existen diferencias significativas con respecto al valor tabulado. Con este resultado se puede afirmar que el método es preciso.

Para calcular el valor de límite de detección (LDD), se usó la ecuación

$$\text{LDD} = (K \cdot S_b) / m$$

Dónde:

K : constante que depende del nivel de confianza, usualmente 3.

S_b : desviación estándar del blanco.

m : pendiente de la curva de calibración.

El valor obtenido de límite de detección (LDD) fue 0,01989 μM ; este método es recomendado por la IUPAC (Unión Internacional de Química Pura y Aplicada).

Las muestras analizadas de las estaciones fijas de Callao (EFC)

2 y 5, representan dos condiciones asociadas a la plataforma continental central. La EFC 2, corresponde a una estación costera relativamente somera; la EFC 5, permite analizar un perfil de sedimento profundo y una condición de océano abierto.

Los procesos biogeoquímicos en sedimentos marinos están relacionados a los procesos que ocurren en la columna de agua, ya que la deposición de la materia orgánica está directamente asociada a la productividad en las capas superiores y a las condiciones que afectan su estado de preservación tanto en la columna de agua como en el fondo en contacto con los sedimentos (MIDDELBURG y LEVIN 2009). Uno de los factores que más influye en la formación y permanencia de sulfuros en el sedimento marino es la ausencia de oxígeno. En efecto, ante la deficiencia de oxígeno, el nitrato y el sulfato funcionan como aceptores de electrones oxidando la materia orgánica y, en el caso del sulfato-reducción el sulfuro es uno de los productos (LIBES 1992). En el Callao, en presencia de una Zona Mínima de Oxígeno (ZMO), característica que condiciona los procesos biogeoquímicos (GRACO

et al. 2007) y en los sedimentos con valores de oxígeno cercanos a cero (GUTIÉRREZ et al. 2008), se favorecen los procesos de sulfato reducción.

La concentración de sulfuros en las aguas intersticiales procedentes del sedimento marino es más intensa en la estación más alejada de la costa (EFC5) (Fig. 4). Esto puede asociarse al efecto de la ZMO, que es más intensa a partir de los 150 m de profundidad, pero también a la cantidad de materia orgánica presente (Graco, com. pers.).

Estudios realizados por KUWABARA y VAN GEEN (1999) encontraron que aguas intersticiales procedentes de zonas más profundas contenían mayor cantidad de sulfuros, con valores de 0,01 µM para testigos de 340 m de profundidad y 100 µM para testigos de 590 m de profundidad.

Por su parte, analizando el perfil de sedimento se observa que la concentración de sulfuros aumenta con la profundidad, teniendo un máximo de 14,7 µM a los 10 cm de profundidad para la EFC 2 y 130 µM para la EFC5. Esta tendencia es similar a la encontrada por BÖNING et al. (2004),

quienes asocian este comportamiento tanto a la débil penetración del oxígeno en el sedimento como al consumo de otros aceptores como el nitrato, existiendo entonces condiciones más favorables para la permanencia de estos compuestos reducidos.

La disminución de la concentración de sulfuros en la EFC5 a partir de los 2 cm puede estar asociada a la formación de pirita (piritización). EMEIS y MORSE (1990) indican que la presencia de sulfuros y varios metales, principalmente hierro, forman compuestos sulfurados tipo pirita (FeS₂) lo cual hace que disminuyan los iones sulfuros libres y pasen a formar compuestos insolubles como son los sulfuros de metales. La formación de azufre elemental (S⁰) también influye en la disminución de la concentración de sulfuros.

4. CONCLUSIONES

De los datos obtenidos se logró determinar los parámetros estadísticos de validación como son la especificidad, la curva de calibración, repetitividad y reproducibilidad, con los cuales se puede asegurar que el método es bastante preciso.

Tabla 2.- Estudio de repetitividad.

Réplica	Abs.	Réplica	Abs.
1	0,1048	9	0,1049
2	0,1074	10	0,1077
3	0,1051	11	0,1052
4	0,0916	12	0,0916
5	0,1066	13	0,1069
6	0,1096	14	0,1100
7	0,1036	15	0,1035
8	0,1052	16	0,1053

n=16
Promedio = 0,1043
DS = 0,0053
%CV = 5,0811
Máx. = 0,1100
Mín. = 0,0916

Tabla 3.- Estudio de reproducibilidad.

Día	Absorbancia		
	Analista 1	Analista 2	
1	0,1049	0,1025	
	0,1076	0,1078	
	0,1052	0,1063	
	0,0916	0,1068	
	0,1068	0,1048	
	0,1098	0,1066	
	0,1036	0,0919	
	0,1053	0,0973	
	2	0,0846	0,1103
		0,0845	0,1057
0,1120		0,1099	
0,0952		0,1067	
0,1048		0,1083	
0,1087		0,1045	
0,0916		0,1066	
0,0940		0,1077	

N = 16
Promedio = 0,1029
DS = 0,007407
%CV = 7,1974

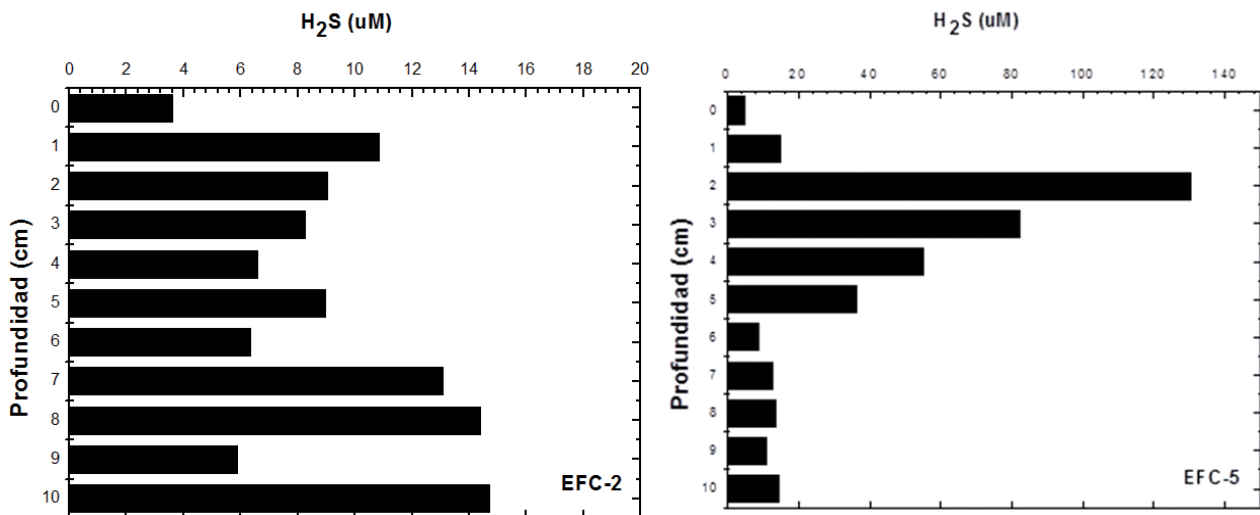


Figura 4.- Concentración de sulfuros en los 10 primeros centímetros del sedimento marino frente a Callao.

Con los valores en los testigos de sedimento, se pudo comparar la diferencia entre las dos estaciones una más costera y otra oceánica frente a Callao, como también la distribución en profundidad en el sedimento que podrían asociarse a diferencia en los procesos de óxido/reducción, regulados por la disponibilidad de oxígeno, la materia orgánica y la presencia de metales, siendo necesario profundizar estos estudios.

5. - REFERENCIAS

- BONING P, H-J BRUMSACK, BÖTTCHER M E, SCHNETGER B, KRIETE C, KALLMEYER J, BORCHERS S L. 2004. Geochemistry of Peruvian near-surface sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. Acta 68, No. 21: 4429-4451.
- BOTTRELL S, HANNAM J, ANDREWS J, MAHER B. 1998. Diagenesis and remobilization of carbon and sulfur in mid-pleistocene organic-rich freshwater sediment. *Journal of Sedimentary Research*, vol. 68, N° 1: 37-39.
- CLINE J D. 1969. Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnol. Oceanogr.* 14: 454-458
- DUNNETTE D, CHYNOWETH D. 1985. The source of hydrogen sulfide in anoxic sediment. *Water Res.* Vol. 19. N° 7: 877-878.
- EMEIS K, MORSE J. 1990. Organic carbon, reduced sulfur, and iron relationships in sediments of the Perú margin, sites 680 and 688. *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results* vol. 112: 441-442.
- GRACO M, LEDESMA J, FLORES G, GIRÓN M. 2007. Nutrientes, oxígeno y procesos biogeoquímicos en el sistema de surgencias de la corriente de Humboldt frente a Perú. *Rev. peru. biol.* 14(1): 117-128.
- GUTIÉRREZ D, ENRÍQUEZ E, PURCA S, QUIPÚSCOA L, FLORES G, GRACO M. 2008. Oxygenation episodes on the continental shelf of central Peru: Remote forcing and benthic ecosystem response. *Progress in Oceanography*. Vol. 79: 177-189.
- HAYES M, TAYLOR G. 2006. Vertical distributions of thiosulfate and sulfite in the Cariaco Basin. *Limnol. Oceanography*, vol. 51(1): 284-285.
- KUWABARA J, VAN GEEN A, MCCORKLE D, BERNHARD J. 1998. Dissolved sulfide distributions in the water column and sediment pore waters of the Santa Barbara Basin. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63 (15): 2203-2205.
- LIBES S. 1992. An introduction to marine biogeochemistry, 289 p. John Wiley & Sons. Inc.
- LIBES S. 2009. An Introduction to Marine Biogeochemistry. Second Edition. Academic Press.
- MIDDELBURG J, LEVIN A. 2009. Coastal hypoxia and sediment biogeochemistry. *Biogeosciences*. vol. 6: 1273-1274.
- WANG F, CHAPMAN P M. 1999. Biological Implications of Sulfide in Sediment-A Review Focusing on Sediment Toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18:2526-2532