Optimización del método de digestión por microondas y espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruro para la cuantificación de arsénico en diferentes matrices

Optimization of microwave digestion method and atomic absorption spectrophotometry with hydride generator for arsenic quantification in different matrices

DOI: 10.46932/sfjdv2n5-057

Received in: Jun 1st, 2021

Accepted in: Sep 30th, 2021

Diana Diez-Pérez-Núñez

Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay, 1055
Máster en Química Ambiental, Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, San Lorenzo, Paraguay,
Laboratorio de Agua, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay, 1055
E-mail: ddiezperez@qui.una.py

Derlysa Colmán

Estudiante de la carrera de Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay, 1055

Lilian García

Estudiante de la carrera de Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay, 1055

Saori Nakagoe

Estudiante de la carrera de Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay, 1055

Karina Ramírez

Laboratorio de Agua, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay, 1055

Oscar Torres

Estudiante de la Maestría en Química Ambiental, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay, 1055

José Chamorro Olivares

Asesor internacional, Servicio Agrícola Ganadero, SAG, Chile, 902000

Laura Mereles

Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias Químicas, UNA, Paraguay

RESUMEN

El arsénico es un metaloide natural presente abundantemente en la corteza terrestre que requiere ser estudiado; se caracteriza por su capacidad de bioacumulación y como consecuencia puede causar efectos nocivos en los organismos vivos. El objetivo del estudio fue optimizar los métodos analíticos para cuantificar arsénico total en muestras de agua, suelo y arroz. Para el estudio se colectaron muestras de agua y suelo de los humedales del Lago Ypoá, considerada un área con mínima actividad antropogénica, mientras que para el arroz se seleccionaron muestras comerciales de procedencia nacional de arroz pulido y descascarillado. La aplicación de los métodos de ensayo se llevó a cabo por duplicado mediante digestión ácida asistida por horno microondas y posterior cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruro. Se evaluaron pruebas de linealidad, recuperación y la adición de distintas proporciones de reactivos. Se observó linealidad de la respuesta instrumental para la curva de calibración en el rango comprendido entre 0,2 a 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$, los porcentajes de recuperación fueron superior al 95 % y para las muestras de suelo se identificó que la proporción de reactivos adecuada para la cuantificación de arsénico total con menor sesgo fue de 3,5 mL HNO_3 + 1 mL HF + 0,5 mL HCl + 0,6 g H_3BO_3 para 0,2 g de muestra. Estos resultados permiten delinear futuros trabajos para evaluar el contenido de arsénico en muestras ambientales para su aplicación en salud pública y apoyo a la producción agrícola y ganadera del país.

Keywords: arsenic, microwave digestion, Atomic Absorption Spectrophotometry.

ABSTRACT

Arsenic is a natural metalloid abundantly present in the earth's crust that requires study; it is characterized by its capacity for bioaccumulation and as a consequence can cause harmful effects on living organisms. The objective of the study was to optimize analytical methods to quantify total arsenic in water, soil and rice samples. For the study, water and soil samples were collected from the wetlands of Lake Ypoá, considered an area with minimal anthropogenic activity, while for rice, commercial samples of polished and husked rice were selected from national sources. The application of the test methods was carried out in duplicate by acid digestion assisted by microwave oven and subsequent quantification by atomic absorption spectrophotometry with hydride generator. Tests of linearity, recovery and the addition of different proportions of reagents were evaluated. Linearity of the instrumental response was observed for the calibration curve in the range from 0.2 to 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$, the recovery percentages were higher than 95 % and for the soil samples it was identified that the proportion of reagents suitable for the quantification of total arsenic with less bias was 3.5 mL HNO_3 + 1 mL HF + 0.5 mL HCl + 0.6 g H_3BO_3 for 0.2 g of sample. These results allow outlining future work to evaluate the arsenic content in environmental samples for their application in public health and to support agricultural and livestock production in the country.

Keywords: arsenic, microwave digestion, Atomic Absorption Spectrophotometry.

1 INTRODUCCIÓN

El arsénico (As) es un elemento perteneciente al grupo V-A de la tabla periódica, de número atómico 33 y peso atómico 74,92. Es un metaloide natural presente abundantemente en la corteza terrestre. Posee propiedades intermedias entre los metales y los no metales, aunque por su electronegatividad y energía de ionización predominan las características de no metal y forma más fácilmente aniones que cationes (Marta I. Litter et al., 2019a; Moreno-Jiménez et al., 2010).

En América Latina, la problemática del arsénico afecta al menos a 14 países como Argentina, Brasil, Chile, Bolivia entre otros (Marta I. Litter et al., 2019a), principalmente debido a la liberación geogénica procedente de la cordillera de los Andes, por meteorización y disolución de rocas volcánicas (Nriagu et al., 2007). En el Paraguay hay pocos estudios sobre los niveles de arsénico en diferentes compartimentos ambientales, por lo que su estudio es de gran relevancia.

En la actualidad, se encuentran disponibles varias metodologías normalizadas, de distinta complejidad y límites de detección, para la determinación de la concentración de As en diferentes matrices, tales como los métodos por espectrofotometría UV-Vis, espectrometría de masas, espectrometría de emisión y la espectrofotometría de absorción atómica (Association American Public Health et al., 2000; M.I. Litter et al., 2009; Vieira et al., 2005; Zagal & Sadzawka, 2007) sin embargo, algunos pueden conllevar pérdida del analito, mientras que otros, más exactos y precisos, deben ser ajustados según las condiciones de cada laboratorio de ensayo, de tal manera a lograr la optimización y emisión de resultados confiables (García-Rico & Jara-Marini, 1996; Gholami et al., 2016).

La técnica de digestión por microondas se caracteriza por su rapidez, eficiencia, reproducibilidad y reducción de uso de reactivos y muestras (Gholami et al., 2016) y puede ser utilizada para una diversidad de matrices como alimentos, fluidos biológicos, muestras ambientales entre otros (García-Rico & Jara-Marini, 1996; Gholami et al., 2016; Nazzari et al., 2021; Vieira et al., 2005). Otra ventaja de este método es que se obtienen muestras digeridas en su totalidad que pueden ser leídas por el Espectrofotómetro de Absorción Atómica (EAA), caracterizado por su elevada sensibilidad y robustez, tal es así que para la cuantificación de arsénico, cuando el EAA se acopla al Generador de Hidruro (GH), la concentración de arsénico puede llegar al límite de detección de $1,45 \text{ ng.mL}^{-1}$ y al límite de cuantificación de $2,53 \text{ ng.mL}^{-1}$.

Ante la posibilidad de poder implementar los métodos de análisis para la cuantificación de arsénico total se propuso como objetivo optimizar los métodos para diferentes matrices por extracción con microondas y cuantificación por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generador de Hidruros (EAA-GH) y evaluar los parámetros de desempeño instrumental del EAA-GH.

2 METODOLOGÍA

Para el estudio se colectaron muestras de agua y suelo de los humedales del Lago Ypoá, considerada un área con mínima actividad antropogénica, mientras que para el arroz se seleccionaron muestras comerciales de procedencia nacional de arroz pulido y descascarillado.

La digestión de la muestra se realizó por duplicado mediante el horno digestor microondas (CEM, MARS2, USA). Según la matriz en estudio se aplicó el programa de calentamiento descrito en la **Tabla**

1 y el tratamiento de la muestra de agua (25 mL) se realizó con el agregado de 4,5 mL HNO₃ (65% p.a. Cicarelli, Argentina) y 0,5 mL HCl (36.5-38%, p.a., Cicarelli, Argentina), además, se aplicó un método descrito en la literatura (M.I. Litter et al., 2009); para la muestra de arroz se utilizó menor cantidad de muestra (0,5 g) y una relación de ácidos HNO₃: HCl igual a 4:1. En el caso de las muestras de suelo se aplicaron varios métodos de digestión, tal como se describe en la **Tabla 2**, el HF (48 - 51%, p.a., Cicarelli, Argentina) fue agregado para la disolución de silicatos presentes en la muestra (Vieira et al., 2005), sin embargo, esto conlleva a la necesidad de realizar una segunda etapa de digestión (**Tabla 1**) para la neutralización del HF con H₃BO₃, que también fue agregado en diferentes proporciones para encontrar el resultado óptimo.

Tabla 1. Programa de calentamiento en el horno digestor microondas

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (mm:ss)	Mantenimiento (mm:ss)	Presión (psi)	Potencia (Watt)
<i>Agua</i>					
1	170	10:00	10:00	800	900-1800
<i>Suelo</i>					
1	175	15:00	15:00	800	900-1800
2*	170	15:00	15:00	800	900-1800
<i>Arroz</i>					
1	210	20:00	15:00	800	900-1800

* Neutralización del HF con H₃BO₃

Tabla 2. Digestión de muestras de suelo

Método	Descripción
A	0,25 g de suelo + 4 mL HNO ₃ + 1 mL HCl
B	0,25 g de suelo + 3,5 mL HNO ₃ + 1 mL HF + 0,5 mL HCl + 0,25 g H ₃ BO ₃
C	0,2 g de suelo + 3,5 mL HNO ₃ + 1 mL HF + 0,5 mL HCl + 15 mL H ₃ BO ₃ al 4 %
D	0,2 g de suelo + 3,5 mL HNO ₃ + 1 mL HF + 0,5 mL HCl + 0,6 g H ₃ BO ₃
E	0,2 g de suelo + 3,5 mL HNO ₃ + 1 mL HF + 0,5 mL HCl + 0,46 g H ₃ BO ₃
F	0,2 g de suelo + 3,5 mL HNO ₃ + 2 mL HF + 0,5 mL HCl + 0,96 g H ₃ BO ₃

Una vez finalizada la digestión de las muestras de arroz y suelo se realizó una reducción del volumen del HNO₃ (hasta 2 mL aproximadamente), lo cual no fue necesario para las muestras de agua. Este extracto concentrado se llevó a un matraz aforado y posteriormente, a todas las muestras se le agregó un volumen de HCl 4,5 M (10 mL), yoduro de potasio (99 %, Techno Pharmchem, India) y ácido ascórbico (99 %, Cicarelli, Argentina) en sólido, para obtener la reducción del As (III) (M.I. Litter et al., 2009; Mamani Tola, 2016; Ringmann et al., 2002), transcurrido 1 h de tiempo, se procedió a las lecturas de las muestras en el EAA-GH según los ajustes descritos en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Parámetros de operación del EAA-GH

Parámetro	Ajustes
Elemento	As
Fuente de radiación	Lámpara de cátodo hueco
Tiempo de estabilización de la lámpara	5 – 30 minutos
Mínima corriente de la lámpara (mA)	10
Altura del quemador (mm)	16
Modo de muestreo	Manual
Flujo del acetileno (L.min ⁻¹)	2,0
Tiempo de lectura (mm:ss)	2:00
Réplicas	2
Modo de medición	Flujo continuo
Agente reductor	Borohidruro de sodio
Succión de la muestra	4 mL
Succión de reactivos	1,5 mL
Atomización	Celda de absorción calentada por llama aire-acetileno
Gas de arrastre	Argón, presión 0,32 MPa

Se prepararon curvas de calibración de concentraciones entre 0,2 – 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a partir de la solución patrón de arsénico (1000 mg.L^{-1} , trazable al NIST, Supelco, Alemania) en solución ácida y preparadas bajo las mismas condiciones que las muestras para determinar la reproducibilidad; las curvas de calibración fueron preparadas por diferentes analistas y en 2 días distintos, una de las curvas se volvió a leer al cuarto día. Además, se realizaron ensayos de recuperación para la verificación del método. Los resultados fueron analizados con el software IBM SPSS Statistics (USA)

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó linealidad de la respuesta instrumental para la curva de calibración en el rango comprendido entre 0,2 a 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (**Figura 1**), sin diferencia significativa entre días de lectura nianalista (U de Mann-Whitney $p = 0,667$).

Figura 1. Curvas de calibración de arsénico III.

En la muestra de agua se encontró una concentración de $1,57 \pm 0,21 \mu\text{g.L}^{-1}$ y una recuperación del 95%. El método aplicado en este estudio pudo ser finalizado hasta determinar la concentración de arsénico total, lo cual no ocurrió al aplicar otra metodología (M.I. Litter et al., 2009), pues como se observa en la **Figura 2** se observó el desprendimiento de yodo con el agregado de ioduro de potasio y ácido ascórbico, posiblemente al exceso de solución oxidante en la muestra.

Figura 2. Muestras procesadas según método descrito en la literatura.

En el caso de las muestras de suelo se observa en la **Tabla 4** las concentraciones obtenidas para cada uno de los ensayos, según la prueba estadística de ANOVA se encontró diferencia significativa entre los métodos estudiados ($p < 0,05$), sin embargo, entre los métodos A, C y D no se observó diferencia significativa ($p = 0,05$).

Tabla 4. Concentraciones de arsénico total en muestras de suelo según diferentes métodos de digestión

Opciones de métodos de ensayo	Concentración (mg.kg^{-1})
Método A	4,10
Método B	2,92
Método C	3,35
Método D	4,27
Método E	1,93
Método F	2,20

En cuanto a las muestras de arroz, la concentración de arsénico fue de $323,3 \pm 24,4 \mu\text{g.kg}^{-1}$, en arroz descascarillado y $224,0 \pm 30,2 \mu\text{g.kg}^{-1}$ para arroz pulido. El test de recuperación arrojó un %Rec del 100%, el cual se realizó con un material de referencia certificado de FAPAS. Es de destacar que se

consideran puntos críticos para la cuantificación de arsénico en arroz, las etapas de reducción del volumen de ácido, el tiempo de reducción, así como el volumen de ácido en la disolución final de lectura de la muestra en el equipo EAA-GH. Otros detalles de suma importancia son el almacenamiento del estándar de arsénico (en botellas de plástico) y del borohidruro de sodio en botellas de vidrio ámbar. El tiempo del equipo EAA-GH es también un dato relevante, el cual fue estandarizado en 2 min. para el registro correspondiente. Estos cuidados permitirán un ensayo robusto y reproducible en el tiempo.

4 CONCLUSIONES

Este trabajo permitió optimizar 3 métodos de cuantificación de arsénico total en diferentes matrices (agua, suelo, arroz pulido y descascarillado), por extracción con microondas y cuantificación por Espectrofotometría de Absorción Atómica con Generador de Hidruros (EAA-GH), con una linealidad de 0,2 a 12 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y recuperaciones >95%. Estos resultados permiten delinear trabajos futuros de evaluación del contenido de arsénico en muestras ambientales de gran aplicación para la salud pública y el apoyo a la producción agrícola.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología - CONACYT

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, N. C., Faria, M. C. S., Pedron, T., Batista, B. L., Mesquita, J. P., Bomfeti, C. A., & Rodrigues, J. L. (2020). Isolation and characterization of bacteria from a brazilian gold mining area with a capacity of arsenic bioaccumulation. *Chemosphere*, 240, 8. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124871>
- Association American Public Health, Association American Water Works, & Federation Water Pollution Control. (2000). *Métodos normalizados : para el análisis de aguas potables y residuales*. Ediciones Díaz de Santos.
- García-Rico, L., & Jara-Marini, M. E. (1996). Aplicación de microondas en la digestión de hígado de bovino para la cuantificación de metales pesados. *Revista Interna*, 12(1), 41–44.
- Gholami, M., Behkami, S., Zain, S., & Bakirdere, S. (2016). A simple design for microwave assisted digestion vessel with low reagent consumption suitable for food and environmental samples. In *Scientific reports*. www.nature.com/scientificreports/
- Litter, M.I., Armienta, M. A., & Farías, S. S. (2009). Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. In *IBEROARSEN, CYTED, Buenos Aires, Argentina*.
- Litter, Marta I., Ingallinella, A. M., Olmos, V., Savio, M., Difeo, G., Botto, L., Farfán Torres, E. M., Taylor, S., Frangie, S., Herkovits, J., Schalamuk, I., González, M. J., Berardozi, E., García Einschlag, F. S., Bhattacharya, P., & Ahmad, A. (2019a). Arsenic in Argentina: Occurrence, human health, legislation and determination. *Science of the Total Environment*, 676, 756–766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.262>
- Litter, Marta I., Ingallinella, A. M., Olmos, V., Savio, M., Difeo, G., Botto, L., Farfán Torres, E. M., Taylor, S., Frangie, S., Herkovits, J., Schalamuk, I., González, M. J., Berardozi, E., García Einschlag, F. S., Bhattacharya, P., & Ahmad, A. (2019b). Arsenic in Argentina: Occurrence, human health, legislation and determination. *Science of the Total Environment*, 676, 756–766. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.262>
- Mamani Tola, H. R. (2016). *Validación de método analítico para la determinación de arsénico total en peces* [Universidad Mayor de San Andrés]. [http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/12049/PG-1762-Mamani Tola%2C Heidi Ruth.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/12049/PG-1762-Mamani_Tola%2C_Heidi_Ruth.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Moreno-Jiménez, E., Peñalosa Olivares, J., & Esteban Fernández, E. (2010). *Recuperación de suelos mineros contaminados con arsénico mediante fitotecnologías* (Issue January). Universidad Autónoma de Madrid.
- Nazzal, Y., Bărbulescu, A., Howari, F., Al-Taani, A. A., Iqbal, J., Xavier, C. M., Sharma, M., & Dumitriu, C. (2021). Metals Concentrations in Soils of Abu Dhabi Emirate.pdf. *Toxics*, 9, 17. <https://doi.org/10.3390/toxics9050095>
- Nriagu, J., Bhattacharya, P., Mukherjee, A., Bundschuh, J., Zevenhoven, R., & Loeppert, R. (2007). Arsenic in soil and groundwater: an overview. *Arsenic in Soil and Groundwater Environment - Biogeochemical Interactions, Health Effects and Remediation*, 9(06), 3–60. [https://doi.org/10.1016/s0927-5215\(06\)09001-1](https://doi.org/10.1016/s0927-5215(06)09001-1)

Ringmann, S., Boch, K., Marquardt, W., Schuster, M., Schlemmer, G., & Kainrath, P. (2002). Microwave-assisted digestion of organoarsenic compounds for the determination of total arsenic in aqueous, biological, and sediment samples using flow injection hydride generation electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 452(2), 207–215. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01477-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01477-5)

Vieira, E. C., Kamogawa, M. Y., Lemos, S. G., Nóbrega, J. de A., & Nogueira, A. R. de A. (2005). Decomposição de amostras de solos assistida por radiação microondas: estratégia para evitar a formação de fluoretos insolúveis. *R. Bras. Ci. Solo*, 1, 547–553. <http://www.scielo.br/pdf/rbcs/v29n4/26103.pdf>

Zagal, E., & Sadzawka, A. R. (2007). *Protocolo de métodos de análisis para suelos y lodos*. http://www.cofes.org.ar/descargas/relas/4_jornada/Protocolos_suelos_y_lodos_Sadzawka.pdf