

DESARROLLO Y OPTIMIZACIÓN DE UN SISTEMA AUTOMÁTICO PARA LA DETERMINACIÓN DE As ORGÁNICO POR FLUORESCENCIA ATÓMICA

Laura Chaparro¹, Laura Ferrer², Luz O. Leal¹ y Víctor Cerdà²

¹Centro de Investigación en Materiales Avanzados S.C.
Av. Miguel de Cervantes Saavedra 120
Chihuahua, México, 31109
laura.chaparro@cimav.edu.mx
luz.leal@cimav.edu.mx

²Departamento de Química
Universidad Islas Baleares
Cra. Valldemossa km 7.5
Palma de Mallorca, España, 07122
laura.ferrer@uib.es
victor.cerda@uib.es

Abstracto: El desarrollo de las técnicas en flujo ha posibilitado la automatización de los procesos analíticos, permitiendo obtener numerosas ventajas como el incremento de la calidad de los análisis, la flexibilidad de los sistemas y una mejora de la sensibilidad. El objetivo de este trabajo es la optimización de un método basado en el Análisis por Inyección en Flujo Multijeringa (MSFIA) para la determinación automatizada de arsénico orgánico, mediante AFS con irradiación UV y la interfaz de generación de hidruros. Para llevar a cabo la optimización se utilizó el dimetilarsénico (DMA) como compuesto modelo. El método consiste en una inyección simultánea de $K_2S_2O_8$ y muestra, que se irradia con una lámpara UV para separar el arsénico del compuesto orgánico. Se genera el hidruro volátil con HCl y $NaBH_4$, que es detectado por fluorescencia atómica. El rango lineal de trabajo del método propuesto es $0.5-7 \mu g As L^{-1}$, consiguiéndose un límite de detección de $0.09 \mu g As L^{-1}$.

1. INTRODUCCIÓN

El arsénico es ampliamente conocido como un elemento tóxico y está presente naturalmente a concentraciones muy bajas (Simon et al., 2004). El arsénico entra al medio ambiente a partir de fuentes naturales y antropogénicas. Éstas últimas como resultado de actividades humanas como la minería, fundición, fabricación de vidrio y la fabricación de plaguicidas (Segura et al., 2002). Se encuentra presente en formas orgánicas e inorgánicas, debido a su participación en complejos biológicos y químicos; de manera natural se encuentran especies de arsénico en agua y suelo que incluyen As (III), As (V), ácido monometilarsinico (MMA) y ácido dimetilarsinico (DMA) (Villa-Lojo et al., 2002).

Para llevar a cabo la optimización del método propuesto para la determinación de arsénico orgánico se eligió como modelo al DMA. El DMA es ligeramente tóxico por inhalación y por ingestión, se absorbe en el torrente sanguíneo con mayor facilidad a través de inhalación que por ingestión o exposición cutánea. Esta sustancia produce un espectro de toxicidad aguda, con síntomas que incluyen trastornos gastrointestinales, irritación ocular y dermatitis. Estudios experimentales han indicado que es capaz de inducir daño en el ADN, así como tumores en los órganos internos de animales de laboratorio (Perez et al., 2001).

Las técnicas de análisis en flujo permiten la total automatización de los métodos analíticos y presentan ventajas tales como la minimización de los volúmenes de muestra y de reactivos, la disminución de los tiempos de análisis y sus costos, un aumento de la reproducibilidad y una disminución de la manipulación de muestras y reactivos, aumentando así la seguridad del analista.

Una técnica de análisis automático, denominada Análisis por Inyección en Flujo Multijeringa (MSFIA, Multi-Syringe Flow Injection Analysis) ha sido propuesta en 1999 por el grupo de Química Analítica, Automatización y Medio Ambiente del Departamento de Química de la Universidad de las Islas Baleares (UIB) (Cerdà et al., 1999; Horstkotte et al., 2005; Segundo et al., 2006). Esta técnica, que se presenta como una herramienta poderosa para la manipulación automática en flujo de disoluciones, reúne diversas ventajas de las otras técnicas de análisis en flujo ya existentes, tales como la alta

frecuencia de análisis del Análisis por Inyección en Flujo (FIA), la robustez y versatilidad del Análisis por Inyección Secuencial (SIA) y la simplicidad del Análisis por Inyección Multi-Conmutado (MCFIA).

El MSFIA se beneficia de la versatilidad y robustez de los sistemas de inyección secuencial utilizando bombas de pistón provistas de jeringas como impulsores de líquidos. De este modo, se evitan los continuos procedimientos de recalibración requeridos en los sistemas basados en bombas peristálticas, como consecuencia del envejecimiento de los tubos flexibles de Tygon®, manteniendo la eficiencia de la mezcla radial de las zonas de muestra y reactivos de los métodos de inyección en flujo. Debido a que los líquidos entran en contacto solamente con tubos de vidrio o de PTFE, el MSFIA permite el uso de reactivos agresivos y disolventes orgánicos.

La propuesta de este trabajo es la optimización de un método en flujo automatizado para la determinación de arsénico orgánico, mediante un acoplamiento de la técnica MSFIA y AFS con irradiación UV y la interfaz de generación de hidruros. El detector de AFS es relativamente nuevo, con una excelente sensibilidad, pero todavía no se utiliza ampliamente como un instrumento en la especiación de analitos de interés medioambiental, a pesar de su simplicidad y bajo costo.

2. EXPERIMENTAL

2.1 Reactivos

Todas las disoluciones fueron preparadas con reactivos de grado analítico en agua ultra pura obtenida de un sistema Milli-Q (Millipore).

Las disoluciones patrón fueron preparadas a partir de dimetilarsénico (DMA) de 1000 mg As L⁻¹ (Sigma Aldrich, >98%), la disolución oxidante de K₂S₂O₈ (Sigma, extrapuro) se preparó al 3% en una disolución al 3% de NaOH (Sigma, grado analítico). Las disoluciones generadoras del hidruro se prepararon con NaBH₄ (Sigma, 98%) al 2.2% (w/v) estabilizado en 0.8% (w/v) de NaOH (Sigma, grado analítico) y HCL (Fluka, 32%, suprapuro) 3 mol L⁻¹.

Los gases utilizados en el procedimiento (argón, nitrógeno e hidrógeno) fueron de grado analítico (Carbuos Metálicos, España).

2.2 Sistema de flujo y software

El sistema MSFIA está compuesto por un módulo con cuatro jeringas, movidas conjuntamente por un mismo pistón. Cada jeringa tiene acoplada en su cabeza una válvula solenoide de tres vías, lo que permite una gran variedad de modalidades de inyección, como protocolos de multiconmutación (Miró et al., 2002). Además, gracias a estas válvulas, los reactivos son devueltos a sus depósitos cuando no son necesarios, sin perturbar el desarrollo de la reacción. Por lo tanto, se logra una reducción de más de 10 veces en la generación de residuos respecto a los procedimientos usuales de técnicas de inyección en flujo. El conjunto de tuberías o manifold se compone de tubos de PTFE (0,8 mm de diámetro interno) y conectores de PMMA (polimetilmetacrilato) de tres vías. Un ordenador controla el sistema MSFIA, las válvulas solenoides adicionales y el muestreador automático.

Un esquema del sistema acoplado MSFIA-UV-HG-AFS es presentado en la Figura 1. El sistema está constituido por una bureta multijeringa programable (MicroBU 16A Crison, Alella, Barcelona), dos válvulas solenoides de tres vías adicionales (V1 y V2) (Takasawo Electric, INC.) y un automuestreador (Crison). Los volúmenes de las jeringas (Hamilton, Suiza) utilizados para la muestra y el reactivo oxidante fueron de 5ml y para los reactivos generadores del hidruro de 2.5ml. El foto-reactor está hecho de un tubo PTFE (0.8 mm d.i., longitud de 200 cm) enrollado en una lámpara Sylvania Ultravolt (8 W, 28.5 cm de longitud). El bucle de reacción está formado por un tubo PTFE (0.8 mm d.i., longitud de 50 cm) anudado para favorecer la mezcla entre muestra y reactivos. Los reactivos utilizados para la generación del hidruro, HCl y NaBH₄, se han añadido al sistema a un caudal de 4ml min⁻¹ de manera simultánea. Una celda de separación gas-líquido descrita anteriormente (Semenova et al., 2000) es utilizada para esta reacción; un conector T introduce el hidrógeno al sistema. Las mediciones se realizaron con un detector de fluorescencia atómica (PS Analytical Excalibur 10.044).

Para el control instrumental y adquisición de datos se utilizó el programa Autoanalysis 5.0 (Sciware, Palma de Mallorca), desarrollado por el mismo grupo de trabajo que presentó el MSFIA.

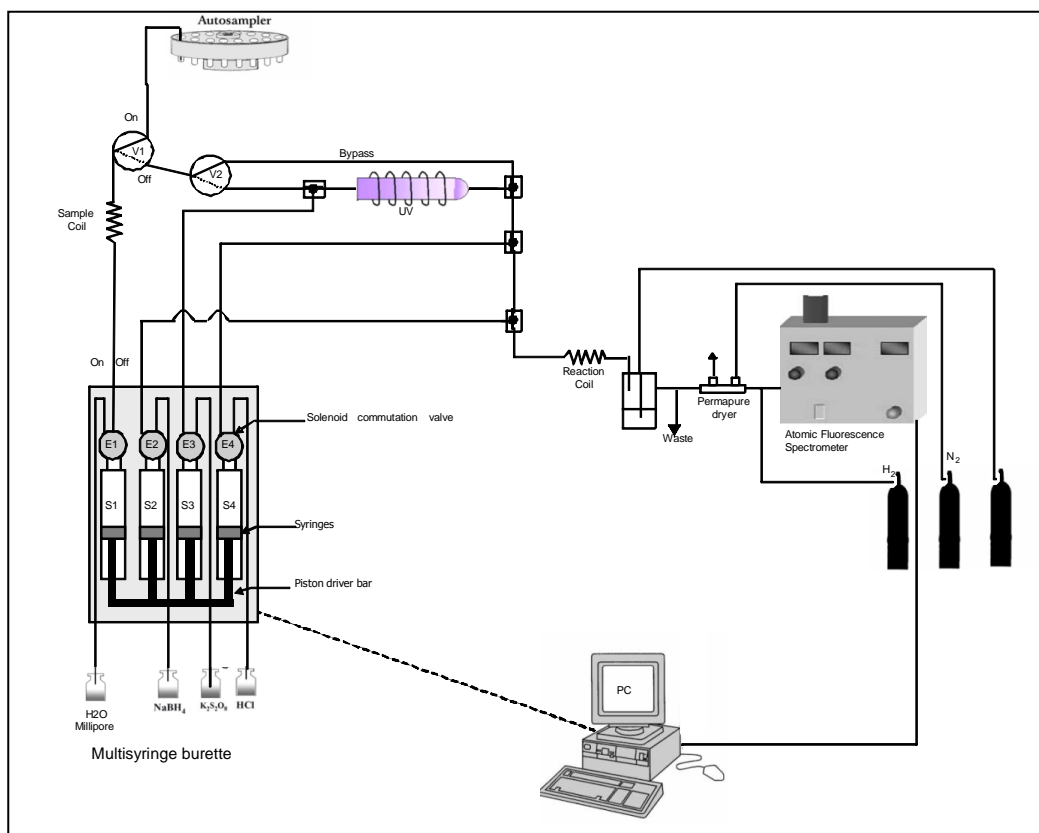


Figura 1. Sistema en flujo para la determinación de As orgánico.

La optimización se llevó a cabo mediante diseño experimental utilizando el programa Minitab® 15.1.0.0. En primer lugar se realizaron estudios preliminares, para establecer condiciones de operación y lectura del sistema, así como el establecimiento de la longitud del tubo PTFE y el tiempo de irradiación. Luego se realizó un planeamiento factorial para estudiar las variables y sus interacciones que influyen al sistema dentro del rango establecido para cada una de ellas.

Finalmente se llevó a cabo una superficie de respuesta para seleccionar el valor óptimo de cada variable. Otro conjunto de variables se estudió más exhaustivamente de modo univariante.

2.3 Procedimiento

El procedimiento analítico puede resumirse en los siguientes pasos:

1. Carga de la muestra en el bucle de carga.
2. Inyección simultánea de muestra y oxidante realizada por las jeringas S1 y S2. Los volúmenes dispensados fueron de 1.6 y 0.8 ml para muestra y reactivo oxidante, respectivamente.
3. Irradiación de la mezcla por un tiempo de 20 s, con ayuda de las válvulas solenoides adicionales (V1 y V2) en flujo continuo, de tal manera que se logre un tiempo de residencia suficiente para separar el As del compuesto orgánico.
4. A partir de aquí, se realiza una inyección en simultáneo de la muestra y los reactivos generadores de hidruro. Primero la muestra irradiada se mezcla con el ácido y luego esta muestra acidificada se mezcla con el NaBH₄. Este segmento de muestra más los reactivos se conducen hacia un bucle de reacción, para luego seguir llevando la muestra a la celda de separación gas-líquido.

5. Una vez en la celda de separación, el hidruro generado es separado de la mezcla líquida. El hidruro es arrastrado con la ayuda de un gas portador (Ar). Con el objetivo de eliminar la humedad, se hace pasar por una membrana permeable (Permapure Dryer) que mantiene un flujo inverso de un gas secante (N₂).
6. Finalmente el segmento de hidruro se conduce al detector para ser atomizado en la llama, que es generada por el gas H₂ conectado al sistema. La señal se obtiene por fluorescencia atómica del As con una lámpara de As de cátodo hueco de doble descarga.

El sistema establecido permite la adquisición sucesiva de señales de lectura en forma de picos, de tal forma que se pueden obtener n lecturas, cuantas sean necesarias, obteniendo una alta frecuencia de análisis.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los estudios preliminares realizados para establecer las condiciones de operación y de lectura del sistema se obtuvieron resultados para establecer los caudales de los gases y los caudales de los reactivos en el sistema de flujo. El Ar se estableció en un caudal de 300 ml min⁻¹, el H₂ en 55 ml min⁻¹ y el caudal del N₂ se utilizó en 300 ml min⁻¹, aunque éste último no supone influencias significativas en la detección del As ya que sólo se utiliza para deshumidificar la muestra (Semenova et al., 2002). Dado que el tiempo de irradiación depende de la geometría del tubo (Simon et al., 2004) se ensayaron diferentes longitudes, seleccionándose una de 200 cm, la cual necesita un tiempo de irradiación de 20 s para completar la oxidación.

Las variables optimizadas para este método fueron las concentraciones y los volúmenes de HCl (entre 3 y 8 mol L⁻¹, y entre 0.4 y 4 ml, respectivamente), NaBH₄ (entre 0.5 y 3% w/v, y entre 0.4 y 4 ml, respectivamente), K₂S₂O₈ (entre 0.5 y 3% w/v, y entre 0.16 y 1.6 ml, respectivamente) y el volumen de muestra (entre 0.16 y 1.6 ml).

La optimización se llevó a cabo mediante diseño experimental, en el cual se creó primeramente un planeamiento factorial del cual se realizaron una serie de experimentos, dando como resultado una interacción entre todas las variables dentro de los rangos estudiados. Luego se procedió a realizar nuevos experimentos para generar una superficie de respuesta y se analizaron los resultados de esta superficie para obtener los valores óptimos de las variables.

En la Tabla 1 se muestran los valores óptimos de cada variable. Para el reactivo oxidante, la concentración y el volumen óptimos se establecieron en 3% y 0.8 ml respectivamente. El valor de concentración coincide con el establecido por Rubio et al. (1993) para determinar As orgánico mediante un sistema FIA. En cuanto al NaBH₄, la concentración y el volumen se fijaron en 2.2% y 1 ml respectivamente. El valor de concentración es similar al establecido por Simon et al. (2004b) que utiliza 2.5% a 0.3 ml min⁻¹ también mediante un sistema FIA. El HCl presentó valores óptimos de concentración y volumen a 3 mol L⁻¹ y 1 ml respectivamente. En este caso, la concentración óptima de ácido también fue similar a la establecida por Simon et al. (2004). Sin embargo, al comparar los volúmenes utilizados con aquellos provenientes de métodos basados en la técnica FIA, cabe destacar que si bien la concentración utilizada es similar, los sistemas FIA inyectan reactivo constantemente al sistema, mientras que en MSFIA los reactivos son enviados a su reservorio cuando no son requeridos. Finalmente, el volumen de muestra con el que se alcanza la mayor señal analítica se estableció en 1.6 ml.

Tabla 1. Valores de las variables optimizadas

Variable	Valor óptimo
Concentración K ₂ S ₂ O ₈	3 %
Volumen K ₂ S ₂ O ₈	0.8 ml
Concentración NaBH ₄	2.2 %
Volumen NaBH ₄	1ml
Concentración HCl	3 mol L ⁻¹
Volumen HCl	1 ml
Volumen Muestra	1.6 ml

Una vez establecidos los valores óptimos de las variables del sistema, se determinaron algunos parámetros analíticos que se muestran en la Tabla 2. Así, se estableció el rango lineal de trabajo entre 0.5 y 7 $\mu\text{g As L}^{-1}$ alcanzándose un límite de detección (LD) de 0.09 $\mu\text{g As L}^{-1}$. El LD fue calculado como $3\sigma_b/S$, donde σ_b es la desviación estándar del blanco ($n=10$) y S es la pendiente de calibración. El LD alcanzado es del mismo orden de magnitud que los obtenidos por métodos de determinación de As orgánico utilizando fluorescencia atómica, pero basados en la técnica FIA, como por ejemplo, 0.5 $\mu\text{g As L}^{-1}$ obtenidos por Slejkovec et al. (1998). También hay otros métodos basados en la técnica FIA con detección mediante fluorescencia atómica, que si bien presentan una frecuencia de inyección más elevada, su LD es dos órdenes de magnitud por debajo del alcanzado en este estudio (LD de 14 $\mu\text{g As L}^{-1}$, Pérez-Ruiz et al, 2001).

En la Figura 2 se muestra una curva de calibración, donde cada punto es el promedio de tres inyecciones para cada disolución ($n=24$). Se obtuvo una ecuación de la recta $y=22.6922x-2.0487$, con un ajuste de $R^2= 0.9993$.

Tabla 2. Parámetros analíticos

Parámetro	Valor
Rango lineal trabajo	0.5 – 7 $\mu\text{g As L}^{-1}$
Límite de Detección	0.09 $\mu\text{g As L}^{-1}$
Límite de Cuantificación	0.29 $\mu\text{g As L}^{-1}$
Sensibilidad	22.69 UI/ $\mu\text{g As L}^{-1}$
Frecuencia de Inyección	24 h^{-1}

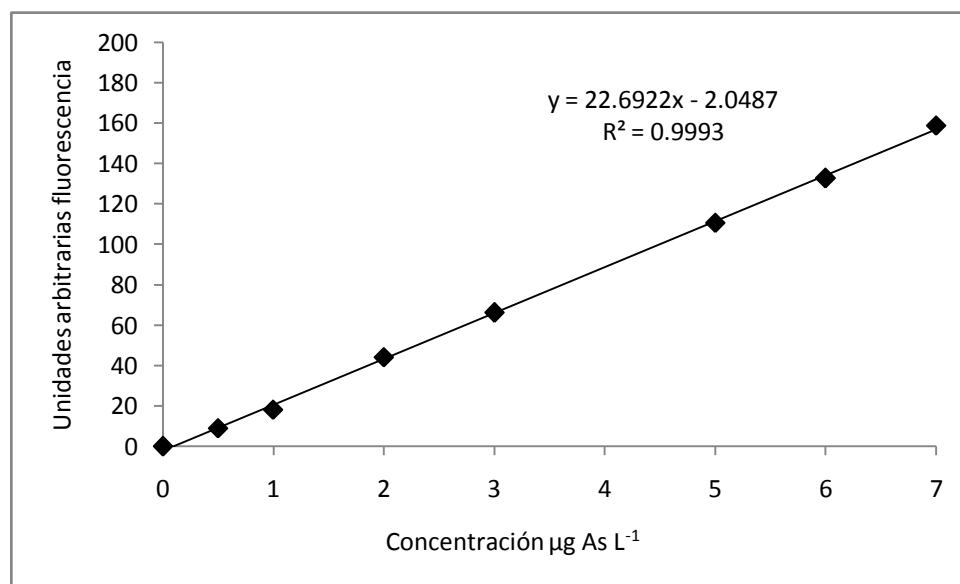


Figura 2. Curva de calibración de As.

4. CONCLUSIONES

Se ha optimizado un sistema totalmente automatizado basado en la técnica en flujo MSFIA, acoplado a un detector de AFS para la determinación de As orgánico utilizando como modelo el DMA.

El diseño experimental demuestra que es una herramienta eficiente en la etapa de la optimización del método, ya que la calidad de los resultados depende de la distribución de los experimentos en el ámbito experimental (Leardi, 2009).

Los ensayos preliminares demuestran que un tiempo de irradiación de 20 segundos es suficiente para la total descomposición del DMA a As (V). Los valores óptimos de las variables estudiadas se encuentran dentro del rango establecido por otros autores.

Los resultados obtenidos de la sensibilidad, rango lineal de trabajo, frecuencia de inyección y límites de detección y cuantificación, prueban que el método optimizado MSFIA-UV-HG-AFS es adecuado para la separación y determinación de arsénico orgánico.

5. REFERENCIAS

1. Cerdà V., Estela J.M., Forteza R., Cladera A, Becerra E., Altimira P. y Sitjar P., (1999). Talanta, 50: 695-705.
2. Cerdà V. (2006). Introducción a los Métodos de Análisis en Flujo, 1a. ed., SCIWARE S.L., Palma de Mallorca, España.
3. Horstkotte B., Elsholz O. y Cerdà V., (2005). J. Flow Injection Anal., 22: 99-109.
4. Leardi R., (2009). Anal. Chim. Acta, 652: 161-172.
5. Miró M., Cerdà V. y Estela J.M., (2002). TRAC-Trends Anal. Chem., 21: 199-210.
6. Perez-Ruiz T., Martinez C., Tomás V. y Martín J. (2001). Anal. Chim. Acta, 447: 229-235.
7. Rubio R., Padró A., Abertí J. y Rauret G., (1993). Anal. Chim. Acta, 283: 160-166.
8. Segundo M., Magalhaes L.M., (2006). Anal. Sci., 22: 3-8.
9. Segura M., Muñoz J., Madrid Y. y Cámara C., (2002). Anal Bioanal Chem, 374 :513-519.
10. Semenova N.V., Bauzá de Mirabó F.M., Forteza R. y Cerdá V., (2000). Anal. Chim. Acta, 412: 169-175.
11. Semenova N.V., Leal L.O., Forteza R. y Cerdá V., (2002). Anal. Chim. Acta, 455: 277-285.
12. Simon S., Tran H., Pannier F. y Potin-Gautier M., (2004). Journal of Chromatography A, 1024: 105-113.
13. Simon S., Lobos G., Pannier F., De Gregori I, Pinochet H. y Potin-Gautier M., (2004b). Anal. Chim. Acta, 521: 99-108.
14. Slejkovec Z., van Elterren J. y Byrne A., (1998). Anal. Chim. Acta, 358: 51-60.
15. Villa-Lojo M.C., Alonso-Rodriguez E., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S. y Prada-Rodriguez D. (2002). Talanta, 57:741-750.