

## **PÓSTER Nº 52**

### **Eje Temático: f - Ecotoxicología y Química Ambiental**

**Título del trabajo:** Evaluación del método del Azul de Molibdeno. Análisis en campo de Arsénico en aguas.

**Datos de los autores:**

Co-Autor (1): Paula Sarmiento

Co-Autor (2): Mg. Ing. José Peralta

Co-Autor (3): Mg. Ing. Miguel Rosa

**Institución a la que representan:**

Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Villa María, Departamento de Química, Proyecto de Investigación "EVALUACIÓN Y APLICACIÓN DE TECNOLOGÍAS ALTERNATIVAS PARA LA REMEDIACIÓN DE EFLUENTES INDUSTRIALES Y AGUAS SUPERFICIALES Y SUBTERRÁNEAS" UTI2117.

**Nombre de los directores del trabajo:**

Mg. Ing. José Peralta. Mg. Ing. Miguel Rosa

**Palabras Claves:** Método del Azul de Molibdeno; validación; especiación Arsénico; aguas de consumo humano.

### **INTRODUCCIÓN**

El hidroarsenismo crónico regional endémico (HACRE), producto de la diseminación del arsénico a través de aguas de consumo, alcanza niveles mundiales.

En Argentina el arsénico se presenta en aguas de una amplia región del norte y del centro del país. En el sudeste de la provincia de Córdoba, específicamente en la ciudad de Bell Ville, se describió por primera vez el problema del HACRE en Argentina. En esta región y al sudoeste de la provincia se alcanzan niveles de 100 ppb de arsénico en las aguas subterráneas. Otras zonas aledañas presentan contenidos menores, pero igualmente preocupantes. (CONAPRIS; UnIDA; ATA 2007).

Generalmente, la especie predominante es el As(III), cien veces más tóxica que el As(V). Dado que la oxidación de la especie As(III) por el oxígeno del aire sucede fácil y rápidamente luego del muestreo, es de gran importancia su determinación inmediata in situ (Meng, Ying y Korfiatis 2003).

El uso de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) asociada a la espectrometría de fluorescencia es el método más popular para la especiación del arsénico. Esta metodología implica una gran inversión de equipamiento de laboratorio y no puede ser utilizada para el análisis in situ. Liao & Deng (2006) señalan la urgente necesidad del desarrollo de un método de especiación

efectivo con equipamiento accesible, desde el punto de vista de los costos, para el monitoreo rutinario del As en campo.

El objetivo de este trabajo es la puesta a punto del método del azul de molibdeno en condiciones particulares de preparación y uso de la mezcla colorante, soluciones oxidantes y reductoras para su aplicación como método de rutina y en campo para la determinación del As en muestras de aguas de la región considerada de alto riesgo de HACRE. Se estudió la linealidad y se determinó el límite de detección, proponiéndose mejoras para la optimización de los resultados obtenidos en esta etapa.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Materiales y Equipo**

El material requerido se limita a material de vidrio de uso común. Se emplea un espectrofotómetro de haz simple UV/Visible Mecasys Optizen POP con celdas de 1 cm de paso óptico. Los espectros de absorción de los complejos de arseno-molibdato y fosfo-molibdato formados utilizando las concentraciones del reactivo colorante optimizado son muy similares y presentan un máximo centrado entre 875 y 880 nm (R. K. Dhar, y otros 2004), por lo tanto la absorbancia se mide a 880 nm durante todas las experiencias.

### **Soluciones Patrón**

Se preparan soluciones madre de 125 mg/L As(V) y As(III) disolviendo arseniato de sodio ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) y arsenito de sodio ( $\text{NaAsO}_2$ ) de grado analítico en agua desionizada ( $5 \mu\text{S}/\text{cm}$ ). La solución de As(V) se conserva con 1ml/100ml de HCl concentrado, mientras que la solución de As(III) se conserva con 1mg/ml de ácido ascórbico (R. Dhar, y otros 2004). A partir de estas soluciones se preparan diariamente estándares secundarios de 25 o 12.5 mg/L. También se utiliza un patrón de  $\text{As}_2\text{O}_3$  preparado en el laboratorio de análisis de la facultad, con una concentración de 1 g/L de As(III). El estándar secundario de esta solución es de 10 mg/L.

Se prepara una solución madre de 10 mmol/L de fosfatos disolviendo  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en agua desionizada. Diariamente se preparan estándares secundarios de 1 mmol/L.

### **Preparación de Reactivos**

Se utilizan los mismos reactivos empleados por Johnson y Pilson (1972), pero con la optimización del reactivo colorante sugerida por Dhar (2004).

El agente oxidante empleado es  $\text{KIO}_3$  2 mmol/L, se prepara disolviendo el reactivo en agua desionizada conteniendo 2% (v/v) de HCl. El medio ácido es necesario para lograr una oxidación completa del As(III) en un menor tiempo (Hu, Lu y Jing 2012).

Se utiliza el agente reductor de Johnson (1971), el cual consiste en una mezcla de metabisulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ) al 14%, tiosulfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) al 1.4% y ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) al 10% (v/v) en una proporción 2:2:1

respectivamente. Esta solución se prepara diariamente ya que solo es estable durante 6 horas a temperaturas inferiores a 30°C.

El reactivo colorante está conformado por ácido ascórbico ( $C_6H_8O_6$ ) al 10.8%, molibdato de amonio ( $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ ) al 3%, tartrato de antimonio y potasio ( $C_8H_4K_2O_{12}Sb_2 \cdot 3H_2O$ ) al 0.56% y ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) 2.5 M. Estas soluciones deben mezclarse en una relación 2:2:1:5, respectivamente, pero debido a problemas de estabilidad en la mezcla obtenida, el ácido ascórbico se agrega a la alícuota tratada en primer lugar, y luego se agrega la mezcla de los demás compuestos.

### Procedimiento

Todas las muestras analizadas se preparan con agua desionizada y se pretratan de la siguiente manera: se acidifica al 1% con HCl y se adiciona con fosfato para lograr una concentración mínima de 2  $\mu\text{mol/L}$ . Esto último elimina cierta dependencia que existe entre el P y el As, mejorando la velocidad de desarrollo del color y logrando mediciones más precisas (R. Dhar, y otros 2004).

Para el análisis de la muestra, se toman tres alícuotas de 5 ml; en la primera se agregan 0.5 ml de agua destilada (muestra sin tratar), en la segunda 0.5 ml de agente oxidante (muestra oxidada), y en la tercera 0.5 ml de agente reductor (muestra reducida). Se agitan y se dejan reaccionar durante 15 minutos. En cada alícuota se agrega 0.1 ml de ácido ascórbico, se agita y se agregan 0.4 ml de reactivo colorante. Se vuelve a agitar, se deja reaccionar durante 30 minutos y se mide la absorbancia. Las concentraciones de las diferentes especies de arsénico en la muestra se calculan como sigue:

$$AS_{Total} = AS_{oxidada} - AS_{reducida}$$

$$AS_{(V)} = AS_{sin\ tratar} - AS_{reducida}$$

$$AS_{(III)} = AS_{oxidada} - AS_{sin\ tratar}$$

Todos los análisis se realizan por duplicado o triplicado.

### Curva de calibración

Para elaborar la curva de calibración se preparan muestras con agua desionizada y concentraciones conocidas de arsénico, y se realiza el pretratamiento. Se aplica el método de azul de molibdeno y se calcula la absorbancia correspondiente al arsénico total. Todas las mediciones se realizan por triplicado y con corrección de blanco de reactivos. Se efectúa la regresión lineal para obtener la pendiente y la ordenada al origen, y un modelo representativo de los datos.

Mediante la aplicación de un software de análisis de datos se realiza el análisis estadístico de los datos para evaluar la linealidad y la confianza del modelo planteado.

### Límite de detección y cuantificación

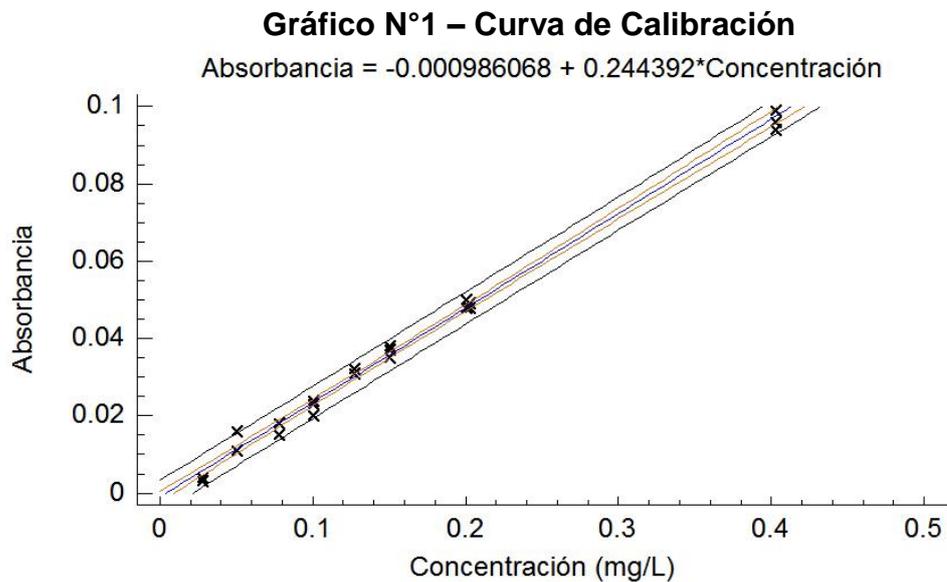
Para evaluar los límites de aplicación de la técnica, se prepara una muestra de concentración conocida de arsénico con un valor de 5 veces el límite de detección (MDL) esperado. Se realizan 9 mediciones de esta muestra a lo largo

de un periodo de tres días, se calcula la desviación estándar de estas mediciones y se multiplica por el valor correspondiente a una distribución t para 8 grados de libertad y un 99% de confianza. El límite de cuantificación práctico de la técnica (PQL) es el valor correspondiente a 5 veces el MDL calculado. (APHA,AWWA,WEF 1999)

## RESULTADOS

### Validación del método

En el Grafico N°1 se muestra la curva de calibración obtenida.

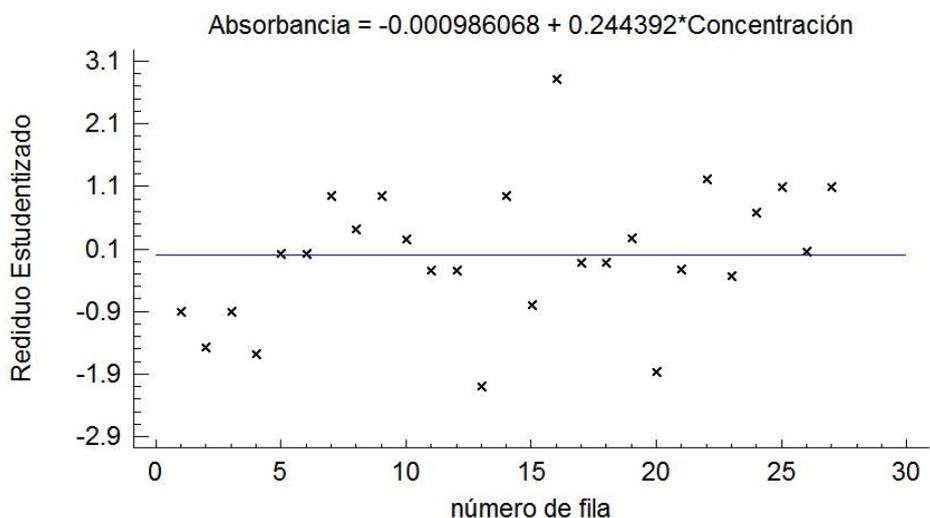


Las líneas rojas indican el intervalo de confianza del 95% para la media de varias observaciones. Las líneas negras representan los intervalos de predicción para nuevas observaciones, se ubican a una desviación estándar de la línea verdadera y describen la exactitud de nuevas predicciones.

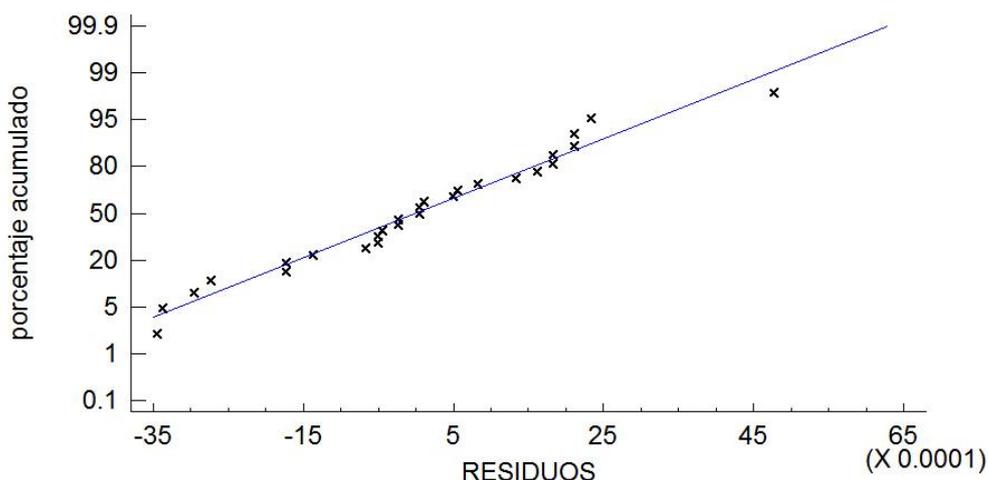
El análisis de varianza (ANOVA) para el modelo propuesto arroja un valor-p menor a 0.05, lo cual indica con un 95% de confianza que existe una relación estadísticamente significativa entre las variables. El grado de ajuste de la regresión es de 0.9947, por lo tanto el modelo propuesto explica el 99.47% de la variabilidad en la absorbancia medida. El coeficiente de correlación obtenido (0.9973), indica una relación lineal fuerte entre las variables analizadas. La desviación estándar de los residuos del modelo es de 0.001980, mientras que el valor promedio de los mismos es de 0.001479.

Se realiza una prueba de falta de ajuste para determinar si el modelo seleccionado es adecuado para describir los datos observados; en este caso el valor-p para la falta de ajuste del ANOVA es mayor a 0.05, por lo tanto se puede asegurar que el modelo lineal brinda una buena correlación de los datos medidos.

## Gráfico N°2 – Análisis de Residuos



## Gráfico N°3 – Probabilidad Normal de Residuos



El Gráfico N° 2 muestra la distribución de los residuos respecto al número de fila de los datos. Se observa una distribución pareja de los valores respecto al eje central, por lo tanto pueden descartarse alteraciones en los datos debidas a influencias externas. Los puntos 13 y 16 se encuentran a más de 2 desviaciones estándares y pueden considerarse valores atípicos, pero no se excluyen del análisis ya que se encuentran dentro de 3 desviaciones.

En el Gráfico N°3 se observa el ajuste de los residuos a una distribución normal; como estos se distribuyen aleatoriamente a lo largo de la recta normal y no presentan colas se puede aceptar que los residuos, y por lo tanto los datos, siguen una distribución normal.

En la tabla N° 1 se muestran los resultados de pruebas estadísticas realizadas para corroborar la normalidad de los residuos. Como todos los valores-p de las pruebas son mayores a 0.05, no se puede rechazar la hipótesis que los residuos provienen de una distribución normal con un 95% de confianza.

**Tabla N°1 - Pruebas de Normalidad para residuos**

Prueba	Estadístico	Valor-p
Chi-Cuadrado	8.77778	0.6423
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.969044	0.5994
Valor-Z para curtosis	0.43572	0.6630

### **MDL y PQL**

Mediante la aplicación de la curva de calibración, se convierten los valores de absorbancia obtenidos en unidades de concentración. En la siguiente tabla se resumen los límites calculados para el método de azul de molibdeno.

**Tabla N°2 – Límites de la técnica**

Parámetro	Valor
Media	0.0313444
Desviación estándar	0.00677147
Valor t (8 GL – 99%)	2.896
MDL	0.0196 mg/L
PQL	0.098 mg/L

El límite de detección obtenido para esta técnica es de 20 µg/L, valor superior al límite establecido por la OMS para arsénico en agua potable, 10 µg/L.

### **CONCLUSIONES**

Los datos de absorbancia obtenidos mediante el método del azul de molibdeno se ajustan satisfactoriamente por un modelo lineal, aunque la variabilidad es mayor a la deseable en un método espectrofotométrico. Esto puede atribuirse a diferentes problemas que surgieron durante las experiencias, como inestabilidad en el color del complejo formado y dificultades en la aplicación del oxidante en medios muy ácidos, que pueden corregirse con modificaciones en el reactivo colorante y en el pretratamiento de la muestra.

El análisis se centró en la determinación del arsénico total, para enfocarse en la puesta a punto de la técnica general antes de su aplicación a la especiación en determinaciones más específicas.

El límite de detección logrado por la técnica para estas condiciones particulares de preparación y uso de reactivos es alto si se compara con el valor máximo permitido en aguas de consumo humano. El valor obtenido está afectado por los mismos problemas planteados anteriormente, por lo tanto sería posible alcanzar valores más bajos mediante ciertas modificaciones en el método.

Optimizado el método es de interés la aplicación y comparación de resultados obtenidos con otras técnicas, utilizadas actualmente en laboratorios de esta Universidad, en el análisis de arsénico en aguas naturales.

### **BIBLIOGRAFÍA**

APHA,AWWA,WEF. *Standard methods for the examination of water and wastewater* (1999).

- Arora, M., M. Megharaj, y R. Naidu. «Arsenic testing field kits; some considerations and recomendations.» *Environmental Geochemistry and Health* 31, nº S1 (s.f.): 45-48.
- CONAPRIS; UniDA; ATA. «Epidemiología del Hidroarsenicismo Crónico Regional Endémico en la República Argentina.» *Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación*. 19 de noviembre de 2007. [http://www.ambiente.gov.ar/archivos/web/UniDA/File/libro\\_hidroarsenicismo\\_completo.pdf](http://www.ambiente.gov.ar/archivos/web/UniDA/File/libro_hidroarsenicismo_completo.pdf) (último acceso: 10 de mayo de 2015).
- Dhar, R. K., Y. Zheng, J. Rubenstone, y A. van Green. «A Rapid Colorimetric Method for Mesuring Arsenic Concentrations in Groundwater.» *Analytica Chimica Acta* 526, nº 2 (2004): 203-209.
- Höll, Wolfgang, y Marta Litter. «Ocurrencia y Química del Arsénico en Aguas. Sumario de Tecnologías de Remoción de Arsénico de Aguas.» En *Tecnologías Económicas para el Abatimiento de Arsénico en Aguas*, de Marta Litter, Ana María Sancha y Ana María Ingallinella, 17-31. Buenos Aires: CYTED, 2010.
- Hu, S., J. Lu, y C. Jing. «A Novel Colorimetric MEthod for Field Arsenic Speciation Analysis.» *Journal of Environmental Sciencies* 24, nº 7 (2012): 1341-1346.
- Johnson, D.L. «Simultaneous determination of arsenate and phosphate in natural waters.» *Environmental science and technology*, 5(5), (1971): 411-414.
- Johnson, D.L., y M.E.Q. Pilson. «Spectrophotometric determination of arsenite, arsenate, and phosphate in natural waters.» *Analytica Chimica Acta*, 58, (1972): 289-299.
- Liao, M.X., y T.L. Deng. «Arsenic species in porewater and sediments using hydride generation atomic fluorescent spectrometry.» *Journal of environmental science*, 18(5), (2006): 995-999.
- Meng, X. G., C. Y. Ying, y G.P. Korfiatis. «Biogeochemistry of Environmentally Importance Trace Elements.» Washington D.C.: American Chemical Society, 2003. 70-83.
- Murphy, J, y J. P. Riley. «A Modified Single Solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Waters.» *Analytica Chimica Acta*, nº 27 (1962): 31-36.