

VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE SB, AS, CD, CU, CR, HG, NI, PB Y ZN EN SEDIMENTOS POR ICP-MS

Hermógenes Rosas Rodríguez

Universidad Privada Boliviana

hrosas@upb.edu

(Recibido el 20 mayo 2003, aceptado para publicación el 03 de junio 2003)

RESUMEN

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en la validación de la técnica ICP-MS utilizada para la determinación de nueve elementos en sedimentos: Sb, As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn. Para ello se llevó a cabo el estudio de los siguientes parámetros de fiabilidad: precisión, exactitud y límites de detección y cuantificación. Para el análisis de estos elementos se utilizó un ICP-MS ELAN 6000 de Perkin Elmer®. El estudio de los distintos parámetros de validación fue muy satisfactorio para la mayoría de los analitos, alcanzándose límites de detección y de cuantificación muy bajos (inferiores a 1 µg/l) e incluso de 1 ng/l para el Cd. El método ICP-MS es exacto y preciso, obteniéndose para la mayoría de los elementos coeficientes de variación en torno al 2% y porcentajes de recuperación del 100%.

Palabras Clave: Metales Pesados, Sedimentos, Límites de Detección y Cuantificación, Exactitud y Precisión, ICP-MS.

1. INTRODUCCION

La aplicación de la técnica ICP-MS (Plasma de Acoplamiento Inductivo unido a la Espectrometría de Masas) en el control de la contaminación de aguas y sedimentos supone un gran avance tanto por el número de elementos y muestras que pueden ser determinados, como por la rapidez con que pueden ser analizadas, de ahí la necesidad de llevar a cabo (un procedimiento) de la validación de esta metodología para asegurar la autenticidad de resultados.

La validación de un método es de aplicación a todos los métodos analíticos de desarrollo interno del laboratorio y a los métodos normalizados a los que se haya incorporado alguna modificación o mejora, a lo largo de las etapas del proceso de ensayo. El procedimiento de validación mediante procedimientos aceptables de investigación [3], es fundamental cuando se desarrolla un método completamente nuevo. En este trabajo se estudian la fiabilidad del método analítico basándose en criterios de precisión, exactitud y límites de detección y cuantificación.

Asimismo, este artículo pretende exponer de una manera general el procedimiento de la determinación de metales pesados en los sedimentos, para lo cual en el apartado 2 se detalla la metodología analítica que se sigue en el análisis de estos elementos traza, los mismos que en el medio ambiente se presentan en concentraciones bajas, pero por su elevada toxicidad y carácter bioacumulativo en los seres vivos son gran interés en su estudio.

2. METODOLOGIA ANALITICA

La metodología que se sigue para la determinación de metales pesados en los sedimentos involucra los siguientes: tamizado, digestión de sedimentos y la preparación de las rectas de calibrado, los mismos se describen a continuación:

▪ Tamizado de sedimentos

La determinación del contenido metales pesados no se realiza en los sedimentos totales, sino en una fracción del tamaño inferior a 63 µm, que incluye arcillas (<2 µm) y limos (2-63 µm). En esta fracción se concentran prácticamente la totalidad de la materia orgánica y de los metales pesados según los estudios de diversos autores [11]. Para obtenerlos, deben pasarse los sedimentos a través de un tamiz de teflón de 63 µm de luz de malla, al mismo tiempo que se consigue la homogeneización del material a estudiar.

Una vez tamizados los sedimentos, para el análisis de los elementos químicos más volátiles, como son el As y el Hg, se ha secado el sedimento a 60°C durante 16 horas [7]. Para la determinación de los demás elementos (Sb, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn) el secado se ha llevado a cabo a 105°C durante 24 horas [14].

▪ Digestión de sedimentos

La digestión de los sedimentos se realiza con mezclas de HNO₃ y HCl a distintas temperaturas, utilizando un recipiente de Pyrex cerrado. A continuación describimos la metodología que se sigue para la digestión de los sedimentos:

- 1) Se pesa un gramo de sedimento seco en recipiente de Pyrex cerrado con protección.
- 2) Se añaden 15 ml de HNO₃ y 5 ml de HCl concentrados para determinar el Sb, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb y Zn y se mantiene durante tres horas en baño de arena a 150°C.
- 3) Para los elementos As y Hg se utilizan 5 y 15 ml de HNO₃ y HCl, respectivamente, y se calienta a 80°C durante tres horas.
- 4) Después de enfriar el extracto digerido se diluye a 100 ml con agua Milli-Q y se centrifuga a 3000 r.p.m. durante 20 minutos. Del líquido sobrenadante se toman 10 ml y se diluye de nuevo a 100 ml antes del análisis.

▪ Preparación de las rectas de calibrado

Se parte de soluciones madre de 1000 mg/l para los nueve elementos en estudio. Se preparan disoluciones de distintas concentraciones para cada uno de los metales en función de la concentración que llevan las muestras certificadas. A partir de éstas, se obtienen para cada elemento cinco patrones cuyas concentraciones oscilan entre: 1-10 µg/l para el Sb; 5-50 µg/l para el As; 0.1-2 µg/l para el Cd; 10-200 µg/l para el Cu; 10-1000 µg/l para el Cr; 0.2-5 µg/l para el Hg; 10-100 µg/l para el Ni; 10-100 µg/l para el Pb y 20-500 µg/l para el Zn. Todas las disoluciones patrón, muestras y el blanco se preparan con agua Milli-Q y HNO₃-HCl (3:1) al 2% y con Rh en una concentración de 10 µg/l, éste actúa como patrón interno y corrige posibles interferencias químicas y físicas [13].

3. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

Los límites de detección y cuantificación son parámetros que determinan la capacidad de análisis de un método analítico en condiciones de mayor sensibilidad permisibles por el sistema informático. El límite de detección es la mínima concentración de analito en una muestra detectable en un proceso de análisis con un nivel aceptable de confianza, pero no necesariamente cuantificada [1], [8], [10], [12]. El límite de cuantificación es la concentración mínima de analito que puede determinarse con un nivel aceptable de exactitud y precisión.

Para el estudio de los límites de detección y cuantificación, las rectas de calibrado se preparan siguiendo el mismo procedimiento del apartado 2. Con disoluciones patrón que oscila entre: 0.1-5 µg/l para el Sb; 0.1-5 µg/l para el As; 0.01-2 µg/l para el Cd; 0.1-5 µg/l para el Cu; 0.1-10 µg/l para el Cr; 0.1-2 µg/l para el Hg; 0.1-10 µg/l para el Ni; 0.1-5 µg/l para el Pb y 0.1-10 µg/l para el Zn. Todas las soluciones patrón y las muestras se preparan con agua Milli-Q y HNO₃-HCl (3:1) al 2%, y el blanco con HNO₃ al 1%. Tras analizar las disoluciones patrón, el cálculo posterior del límite de detección se determina mediante el análisis cuantitativo y repetitivo de siete blancos, como si se tratase de una muestra de sedimento.

El límite de detección (LD) se calcula con los resultados obtenidos, a partir de la fórmula de la IUPAC [4, 9, 10]:

$$LD = \bar{X}_{n=7} + 3 \cdot S_{n-1} \quad (1)$$

donde:

$\bar{X}_{n=7}$ = Concentración media.

S_{n-1} = Desviación estándar de las concentraciones.

El límite de cuantificación (LC) se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación [2], [7]:

$$LC = \bar{X}_{n=7} + 10 \cdot S_{n-1} \quad (2)$$

En la Tabla 1 se representan los valores de los límites de detección y cuantificación para los nueve metales pesados en estudio. Igualmente, en la cuarta columna se dan los resultados obtenidos por la firma que fabrica el equipo ICP-MS utilizado (Perkin Elmer). Por otro lado, estos parámetros se representan gráficamente en la Figura 1.

Como puede observarse en la Figura 1, los valores de los límites de detección y cuantificación corresponden concentraciones inferiores a 0.100 µg/l para todos los elementos. Los mejores límites de detección y cuantificación los presenta el Cd con valores de 0.001 y 0.002 µg/l, respectivamente. Por el contrario, los límites de detección y cuantificación más elevados son para el Cu de 0.086 y 0.142 µg/l, y para el Zn de 0.300 y 0.500 µg/l respectivamente. Para estos dos metales, es difícil alcanzar niveles más bajos debido a la presencia de impurezas en los ácidos utilizados, aun siendo de calidad ICP, incluso el agua Milli-Q contiene cierta cantidad de estos elementos, por lo que son previsibles estos resultados.

A partir de los límites de detección establecidos por Perkin Elmer, se puede indicar que los resultados hallados en este trabajo son satisfactorios para la mayoría de los metales. Para algunos elementos se obtienen valores iguales (Cd, Ni) y para otros incluso inferiores (Cr).

TABLA 1 - LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN EN SEDIMENTOS

Elementos	$X_{n=7}$ (µg/l)	S_{n-1}	$\frac{LD}{s/PE}$ (µg/l)	LD (µg/l)	LC (µg/l)
Antimonio	0,003	1,0E-3	0,003	0,006	0,013
Arsénico	0,005	1,0E-3	0,005	0,008	0,015
Cadmio	0,001	1,0E-4	0,001	0,001	0,002
Cobre	0,062	8,0E-3	0,050	0,086	0,142
Cromo	0,028	3,0E-3	0,050	0,037	0,058
Mercurio	0,019	3,0E-3	-	0,028	0,049
Níquel	0,035	5,0E-3	0,050	0,050	0,085
Plomo	0,020	2,0E-3	0,005	0,026	0,040
Zinc	0,243	2,5E-2	0,050	0,318	0,493

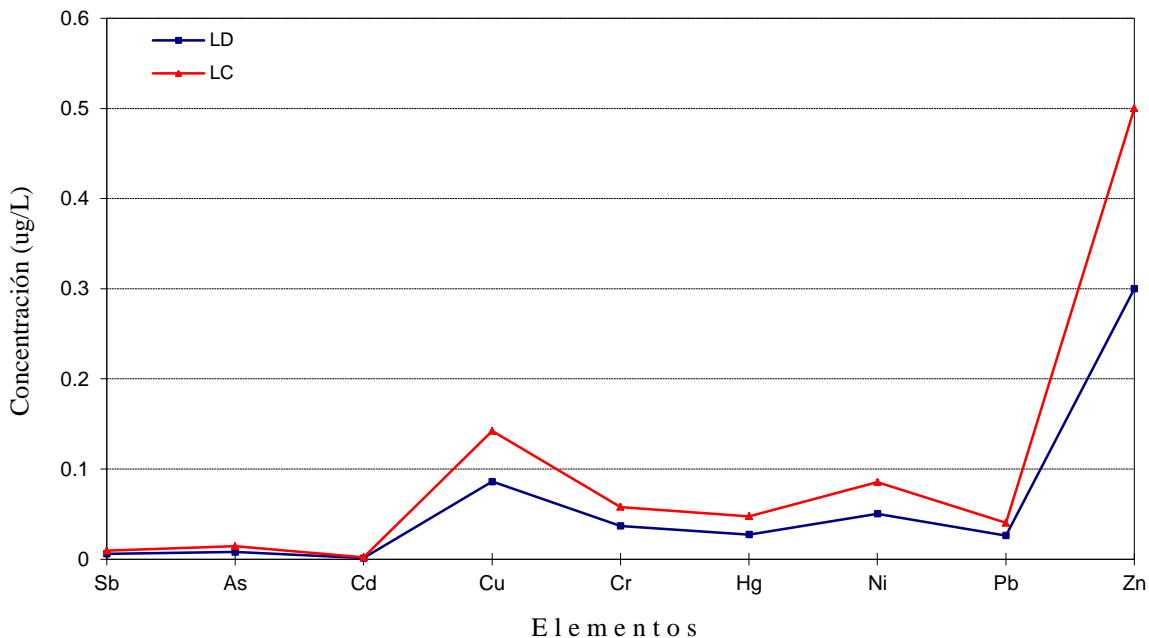


Figura 1 - Representación gráfica del estudio de los límites de detección y cuantificación.

4. PRECISION

La precisión indica el grado de concordancia entre los resultados obtenidos al aplicar el mismo proceso experimental repetidas veces a la misma muestra, bajo condiciones constantes establecidas [1], [12]. La precisión de un método analítico se determina evaluando la dispersión de varias determinaciones de los mismos elementos efectuadas sobre las mismas muestras, y se representa mediante el cociente entre la desviación de las mediciones y el valor medio de éstas expresado en porcentaje (coeficiente de variación, CV).

Para el estudio de la precisión, se seleccionó un sedimento certificado. El sedimento se digiere por duplicado en cuatro días distintos y se analiza por triplicado (n=24). Las condiciones de trabajo fueron las mismas en los diferentes días, con idénticos reactivos y los mismos elementos de análisis Sb, As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn. Las disoluciones patrón para las rectas de calibrado fueron preparadas diariamente siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 2.

Con los resultados obtenidos se calcula la media aritmética, la desviación estándar y, finalmente, el coeficiente de variación (CV) experimental. Este último se calcula con la siguiente ecuación [1], [12].

$$CV(\%) = \frac{S_{n-1}}{\bar{X}_{n=24}} * 100 \quad (3)$$

donde S_{n-1} = Desviación estándar y $\bar{X}_{n=24}$ = Media de las concentraciones.

Según Horwitz [5] en la determinación de cualquier tipo de muestra, la precisión de varios laboratorios del método analítico, se considera aceptable cuando su coeficiente de variación (CV) experimental es inferior al valor calculado con la siguiente ecuación teórica:

$$\%CV = 2^{(1-0.5 \log c)} \quad (4)$$

donde c = es la concentración del elemento analizado expresada en g/ml.

Asimismo, se considera como precisión de un solo laboratorio aceptable cuando el valor de CV experimental es inferior a $\frac{1}{2}$ CV obtenido al aplicar la ecuación anterior. Los valores calculados con la ecuación de Horwitz [5] se consideran límites razonables de variabilidad que permiten comparar y calificar la precisión intralaboratorio de cualquier método analítico, en función de la concentración del analito determinado en una muestra.

Como puede observarse en la Figura 2, los coeficientes de variación experimentales oscilan en torno al 2%. Estos son inferiores a los CV de Horwitz [5] que son del 25% (Figura 2) por lo que la precisión es satisfactoria, para el método analítico utilizado en este trabajo.

El elemento que presenta mayor coeficiente de variación experimental (3.31%) es el mercurio. Este valor es ligeramente elevado respecto al resto de los elementos en estudio, debido a que éste metal es poco estable por la alta volatilidad que lo caracteriza. Por el contrario, el elemento que presenta un coeficiente de variación experimental más bajo es el zinc de 0.85% situándose muy por debajo del coeficiente de variación intralaboratorio obtenido (10%) con la ecuación teórica descrita por Horwitz [5].

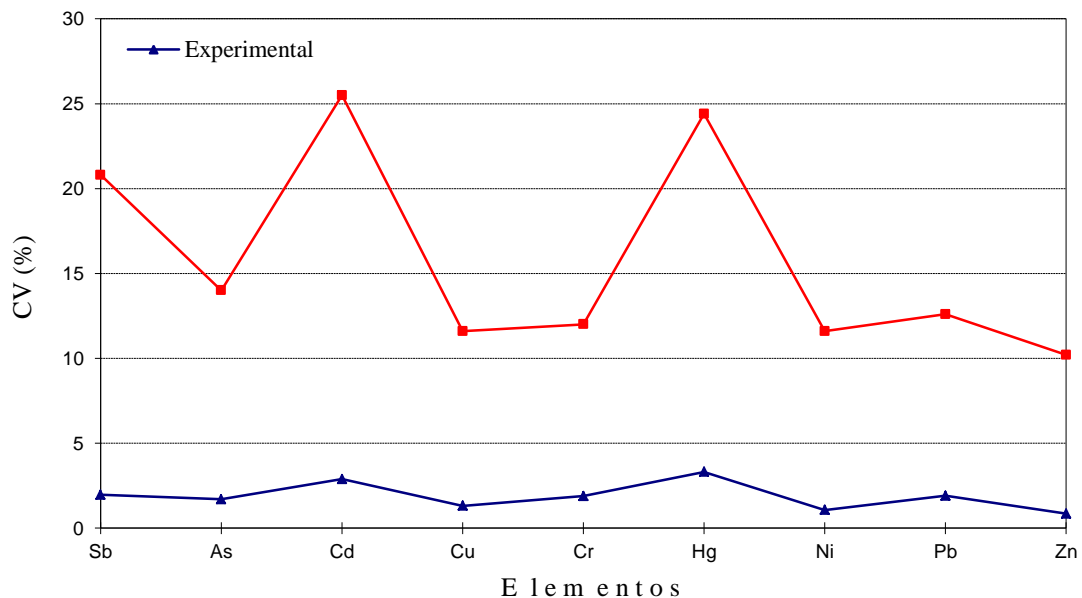


Figura 2 - Estudio de la precisión experimental e intralaboratorio en sedimentos.

5. EXACTITUD

La exactitud es un parámetro que mide el grado de concordancia entre el valor obtenido y el valor real de una determinada muestra. La exactitud se puede expresar como el porcentaje de recuperación de las cantidades adicionadas de analito a una muestra (método patrón añadido).

El estudio de la exactitud, fue realizado con dos sedimentos certificados por la Comunidad Europea CE-141 y CE-142, cuyas características corresponden a un suelo calcáreo y otro suelo silíceo respectivamente. Estos sedimentos fueron digeridos por duplicado y analizado por triplicado ($n=6$). Una vez que se tienen los extractos digeridos se añaden

concentraciones crecientes de cada elemento (tabla 2), las cuales se han escogido en función de las concentraciones de cada elemento en el sedimento de partida. A continuación se analiza y se calcula el porcentaje de recuperación.

La recuperación global de cada elemento se calcula a partir de la media de las recuperaciones individuales con la ecuación propuesto por Horwitz [1, 12]:

$$\%R = \frac{Y - X_i}{X_a} * 100 \tag{5}$$

donde:

- Y = Concentración de la muestra más el patrón añadido (X + X_a).
- X_i = Concentración inicial de la muestra.
- X_a = Concentración del patrón añadido.

Los resultados obtenidos en el estudio de la exactitud se presentan en la Tabla 2 y gráficamente en la Figura 3. Estos valores representan la concentración media de las tres concentraciones añadidas. Como se puede apreciar, todas las recuperaciones oscilan en torno al 100%, lo que significa que el método analítico empleado es aceptable, puesto que cumple con los límites permisibles.

TABLA 2 - CONCENTRACIÓN DE PATRONES DE LAS TRES ADICIONES DE CADA ELEMENTO (µg/l)

Elementos	C. Inicial CE-141	C. Inicial CE-142	Adición I	Adición II	Adición III	C. Anal. CE-141	C. Anal. CE-142	%R _{n=18} CE-141	%R _{n=18} CE-142
Antimonio	0,36	1,42	2,0	3,0	5,0	5,34	6,37	100,7	100,8
Arsénico	26,28	16,50	5,0	10,0	15,0	41,20	31,78	99,9	101,8
Cadmio	0,36	0,27	0,5	1,0	1,5	1,88	1,77	101,3	100,8
Cobre	30,52	25,74	10,0	20,0	30,0	60,60	56,40	99,5	101,5
Cromo	74,19	70,62	10,0	30,0	50,0	125,24	121,91	100,4	101,6
Mercurio	0,06	0,09	0,2	0,5	1,0	1,10	1,11	103,0	103,4
Níquel	71,81	57,76	10,0	20,0	30,0	101,18	87,91	99,3	100,9
Plomo	27,32	35,05	10,0	20,0	30,0	57,80	65,31	101,2	101,4
Zinc	78,11	88,61	20,0	50,0	100,0	179,24	195,35	101,0	101,0

C. Inicial = concentración inicial; C. Anal. = concentración analítica.

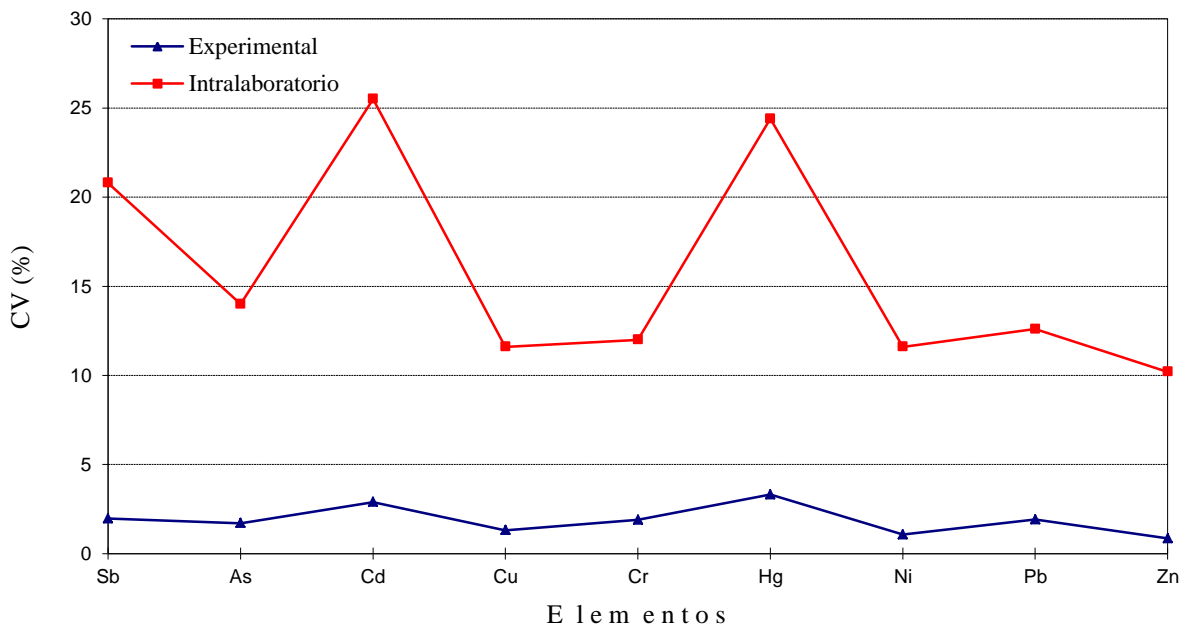


Figura 3 - Estudio de la exactitud en dos sedimentos certificados por la Comunidad Europea.

En el caso del Hg las recuperaciones se presentan en torno del 103%, esto es atribuido a que este elemento tiene bastante efecto memoria, ya que tiende a acumularse en las paredes del nebulizador. En consecuencia puede contaminar a las últimas muestras a pesar de considerarse tiempos de lavado entre muestras largos, superiores a los cinco minutos.

6. CONCLUSIONES

El estudio de los distintos parámetros de validación del método analítico ICP-MS que se ha llevado a cabo para nueve elementos: Sb, As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb y Zn fue muy satisfactorio para la mayoría de ellos. Como conclusiones se puede indicar que:

- Prácticamente todos los elementos presentan límites de detección y de cuantificación muy bajos (inferiores a 1 µg/l). El Cd presentó los mejores límites, por el contrario, el Cu y el Zn presentaron los más altos.
- La precisión del método ICP-MS se puede calificar como muy buena. El grado de concordancia entre los resultados al aplicar el mismo proceso experimental repetidas veces bajo las diferentes condiciones establecidas es aceptable. Para la mayoría de los elementos se obtienen coeficientes de variación en torno al 2%.
- La exactitud del método ICP-MS se puede considerar satisfactorio. En función de las recuperaciones calculadas para cada uno de los elementos, y del grado de concordancia entre los valores de concentración obtenidos y los teóricos, se puede afirmar que este método analítico ICP-MS es cuantitativo para todos ellos.

7. BIBLIOGRAFIA

- [1] C. Alcalde *et al.* "Validación de la metodología para la determinación del Be, Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb, Sb, y Sn en aguas con continentales por ICP-MS (II)," *Tecnología del agua*, vol. **192**, pp. 25-36, 1999.
- [2] American Chemical Society. "Subcommittee on environmental chemistry, Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry," *Analytical Chemistry*, vol. **52**, pp.2242-2249, 1980.
- [3] Apha-Awwa-Wpcf. "Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales," *Ediciones Díaz de Santos, S.A. 17 Edición*. Madrid, pp 1470, 1992.
- [4] A.R. Date and A.L Gray. "Application of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry," *Blackie, Glasgow and London*. New York, pp.253, 1989.
- [5] W. Horwitz. "Evaluation of analytical methods used for regulation," *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, vol.**65**, no.3, pp.525-530, 1982.
- [6] W. Horwitz. "Report of the Committee on Laboratory Studies," *J. Assoc. Off. Anal. Chem*, vol. 66, no. 2, pp. 455-466, 1983.
- [7] K.E. Jarvis *et al.* "Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry," *Blackie, Glasgow and London*. New York, pp. 380, 1992.
- [8] S. Katerman. "Quality control in analytical chemistry," *Ed. John Wiley & Sons*, New York 560-584, 1981.
- [9] L.E. Knoll. "Estimation to the limit of detection in chromatography," *Journal of Chromatography*, vol. **23**, pp.422-427, 1985.
- [10] G.L. Long and J.D. Winefordner. "Limit of detection." *Analytical Chemistry*, vol. 55, 712A-724^a, 1983.
- [11] H. Sakai *et al.* "Distribution of heavy metals in water and sieved sediments in the Toyohira River," *Water Research*, vol. 20, pp. 559-567, 1986.
- [12] V. Shah *et al.* "Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetic Studies," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 81, no. 3, pp. 309-312, 1992.
- [13] USEPA. *Method 6020, Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*, pp 18, 1994.
- [14] P. Winger and P. J. Lasier. Toxicity of sediment collect upriver and downriver of major cities along the lower Mississippi River. *Arch. Environmental Contamination Toxicology*, vol. 35, pp. 213-217, 1998.