

# Validación de un método electroanalítico para determinación *in-situ* de cadmio y plomo en agua potable

## Validation of an electroanalytical method to *in-situ* determination of cadmium and lead in potable water

\* Valdiviezo J.<sup>1</sup>, Muñoz G.<sup>1</sup>, Carchi T.<sup>1</sup>, Fernández, L.<sup>2</sup>, Carrera, P.<sup>3</sup>, Lapo, B.<sup>1</sup>,

<sup>1</sup>Universidad Técnica de Machala. Ecuador

<sup>2</sup>Universidad Simón Bolívar. Venezuela

<sup>3</sup>Universidad Politécnica Nacional. Ecuador (Programa Prometeo)

<sup>3</sup>Nanoinstruments Cia. Ltda

\*blapo@utmachala.edu.ec

### RESUMEN

Varios métodos para la determinación de cadmio y plomo en agua de consumo humano han sido reportados, sin embargo, la necesidad de ser aplicados en el monitoreo en campo a tiempo real es una limitante instrumental. La presente investigación describe la validación de un método para el análisis de cadmio y plomo mediante voltamperometría de redisolución anódica en agua de consumo humano, con la posibilidad de ser aplicado *in situ*, mediante el uso de un potencióstato tipo portátil. Los parámetros de validación evaluados fueron: incertidumbre, linealidad, sensibilidad, límite de detección y cuantificación, precisión y exactitud. El coeficiente de repetibilidad para cadmio en un rango lineal de 2  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  fue del 10,40 % y en y 40  $\mu\text{g.L}^{-1}$  a 120  $\mu\text{g.L}^{-1}$  fue de 9,07%, mientras que en la reproducibilidad se obtuvo 1,56% y 0,10%, para los dos rangos de trabajo respectivamente. La exactitud obtenida como porcentaje de recuperación fue del 93% y del 117,75% para el primer y segundo rango lineal. La exactitud, medida como porcentaje de recuperación para el primer caso lineal en plomo fue de 91,00% mientras que 103,33% para el segundo. Las muestras de agua potable evaluadas no presentaron presencia de Pb y Cd en el límite de detección del método.

**Palabras clave:** Validación, métodos voltamétricos, cadmio, plomo.

## ABSTRACT

Several methods for the determination of cadmium and lead in water for human consumption have been reported, however, the need to be applied in the field is an instrumental limitation. The present investigation describes the method validation of cadmium and lead by anodic stripping voltammetry in water for human consumption, with the possibility of being applied *in situ*, using a portable potentiostat. The validation parameters evaluated were: uncertainty, linearity, sensitivity, limit of detection and quantification, precision and accuracy. The repeatability coefficient for cadmium in a linear range from 2  $\mu\text{g.L}^{-1}$  to 10  $\mu\text{g.L}^{-1}$  was 10.40% and in and 40  $\mu\text{g.L}^{-1}$  to 120  $\mu\text{g.L}^{-1}$  was 9.07%, whereas in the reproducibility it was obtained 1.56% and 0.10%, for the two working ranges respectively. The accuracy obtained as percent recovery was 93% and 117.75% for the first and second linear range. Accuracy, measured as percent recovery for the first linear lead case was 91.00% while 103.33% for the second. The samples of drinking water evaluated did not present presence of Pb and Cd in the limit of detection of the method.

**Keywords:** Validation, anodic stripping voltammetry, cadmium, lead.

## INTRODUCCIÓN

La importancia de la validación de un método analítico cuantitativo, radica en la necesidad de generar resultados confiables de los análisis de laboratorio. La validación es el proceso que sirve para confirmar que el equipo de análisis, método o sistema para una prueba específica es el idóneo para el uso previsto (Papadoyannis & Samanidou, 2016). Un método validado es parte del sistema de gestión de calidad de un laboratorio. En el Ecuador el proceso de normalización y acreditación es llevado a cabo por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE), el mismo que utiliza para evaluar la competencia técnica de laboratorios de ensayo y calibración, la norma NTE INEN ISO/IEC 17025, la cual solicita dentro de sus requisitos técnicos el uso de métodos validados (SAE, 2015). El sistema de gestión de calidad es el conjunto de normas internacionales, que ayudan en la organización y administración de manera ordenada en una empresa u organización, para que ella pueda garantizar la calidad de sus productos o sus servicios conferidos (Arias Coello, 2012).

Existen dos tipos de validación: la retrospec-

tiva y la prospectiva. La validación retrospectiva se realiza a métodos tradicionalmente empleados pero que aún no son normalizados. Se realizan con datos históricos, que posteriormente son ordenados y seleccionados. Los mismos que pueden ser: curvas de calibración, resultados de ensayos, cartas de control, ensayos de aptitud; mientras por otra parte existe la validación prospectiva, que se realiza en caso de ser un nuevo método o de ser métodos antiguos pero que no se posee datos suficientes, generando por análisis datos experimentales. El presente estudio corresponde a una validación prospectiva. Los parámetros evaluados durante la validación de un método generalmente son: Linealidad, Precisión en términos de repetibilidad y reproducibilidad, sensibilidad, límite de detección, límite de cuantificación, Robustez, entre otros (Miller, 2000; ICH, 2005).

Los metales pesados cadmio y plomo son clasificados como elementos tóxicos dentro de los términos de contaminación ambiental, debido a que se caracterizan por: causar efectos adversos tanto para el hombre como también el medio ambiente, poseen capacidad de bioacumulación, persisten en el medio ambiente y poseen una rápida propagación de contaminación debido al viento y

al agua. Debido a que su uso es variado, ejemplo de ello es la fabricación de baterías; productos químicos (pinturas y gasolina), soldaduras, tuberías, municiones, esmalte de cerámica, acero y otros metales. La exposición del ser humano es inevitable debido a que por cualquier motivo estamos cerca de él, y esto se debe a que lo inhalamos a través del aire y lo ingerimos por medio del agua y alimentos contaminados con las fuentes de origen natural o provocados por el hombre (Grabarczyk&Wardak, 2016). Sus consecuencias en la salud son: daño renal, enfisema pulmonar, alteraciones óseas, hematopoyético, y neurológico, siendo estos sistemas de gran importancia en nuestro cuerpo y causando grandes daños en los mismos (Leal et al., 2015). La Organización de las Naciones Unidas para Alimentos y la Agricultura, establece que el nivel máximo de cadmio y plomo en agua es de  $3\mu\text{g.L}^{-1}$  y  $10\mu\text{g.L}^{-1}$  respectivamente.

La voltamperometría de redisolución anódica, se basa en una previa acumulación del analito sobre una superficie conductora, debido a una electrólisis a potenciales de reducción u oxidación en donde posteriormente la especie se redissuelve a un potencial en sentido contrario a la electrólisis, lo cual provoca la oxidación o reducción de las especies. La redisolución es realizada con una técnica moderna como lo es la voltamperometría de onda cuadrada. Estas dos etapas aportan gran sensibilidad a la técnica en donde la corriente medida se relaciona con la cantidad del analito que se redujo inicialmente (Harris, 2010). Esta técnica electroanalítica es capaz de detectar límites bajos de concentración, y el aumento de la sensibilidad pueden ser obtenida por la aplicación de pasos previos a la preconcentración, como las exploraciones realizadas mediante la redisolución (Souza, S, & Bertotti, 2012). Una de las principales ventajas de la voltametría sobre otras técnicas es la posibilidad de analizar la muestra con poca o ninguna etapa de extracción y / o separación, debido a que esto da lugar a una contaminación de la muestra o pérdida del analito de interés (Tonietto&Grassi, 2012).

Las técnicas analíticas para determinar estos metales son generalmente las asociadas a espectrometría como la de plasma acoplada in-

ductivamente ICP, ICP acoplada a Masas ICP-MS, Absorción Atómica con horno de grafito que permite llegar a detección en el orden de los  $\mu\text{L}^{-1}$ , sin embargo, estas técnicas son costosas debido a la instrumentación de alta tecnología, y al uso de gases como argón, nitrógeno, y consumibles durante el análisis; lo que convierte a la voltametría en una técnica atractiva, dado que su instrumentación es relativamente barata.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El sistema electroquímico consistió en un electrodo de trabajo de carbón vítreo, electrodo de referencia Ag/AgCl(1M KCl) y contra electrodo de platino, llevados a cabo en una celda de un compartimiento y tres electrodos, conectada a un potencióstato CH Instruments 1220B tipo portátil.

**Parámetros de validación:** Las curvas de calibración fueron realizadas en dos rangos de concentración, de  $2\mu\text{g.L}^{-1}$  a  $10\mu\text{g.L}^{-1}$  y  $40\mu\text{g.L}^{-1}$  a  $120\mu\text{g.L}^{-1}$ , los análisis fueron realizados por quintuplicado para determinar diferencias no significativas con una confianza estadística del 95%. Los ensayos de reproducibilidad fueron realizados durante 5 días diferentes. La determinación de exactitud se llevó a cabo mediante el análisis de % recuperación mediante adición estándar en muestras reales. La comparación de resultados fue llevada a cabo mediante el análisis estadístico de varianza ANOVA y pruebas paramétricas. Los objetivos de validación fijados son mostrados en la Tabla 1.

**Reactivos y muestras reales:** Como medio electrolito fue utilizada una solución buffer acetato pH 4,6. Las soluciones patrones para las curvas de calibración de Cd y Pb fueron preparadas a partir de solución patrón de  $1000\text{mg.L}^{-1}$  (Inorganic ventures), se utilizó Hg para la deposición sobre carbón vítreo (Inorganic ventures). Todos los reactivos fueron de grado analítico, así como agua desionizada tipo II. Deliberadamente, no se realizó desoxigenación con nitrógeno con el fin de establecer la aplicabilidad en el campo, dado que se utilizó un potencióstato de tipo portátil. Se recolectaron 25 muestras de agua potable to-

madras en puntos aleatorios de la ciudad de Machala-Ecuador; fueron tomados volúmenes de 1 litro en sub volúmenes de 100 ml, en intervalos de tiempo de 5 minutos en cada caso, los que fueron recolectados directamente del grifo de cada punto de muestreo en envases de polietileno nuevos y previamente lavados con ácido nítrico 1%, agua desionizada, y secados previamente. Las muestras fueron acidificadas a pH=2 antes de su transporte al laboratorio (American Public Health Association, 1999). Para la determinación se realizaron 5 determinaciones diarias durante 5 días.

Tabla 1. Objetivos de validación establecidos para Cadmio y Plomo

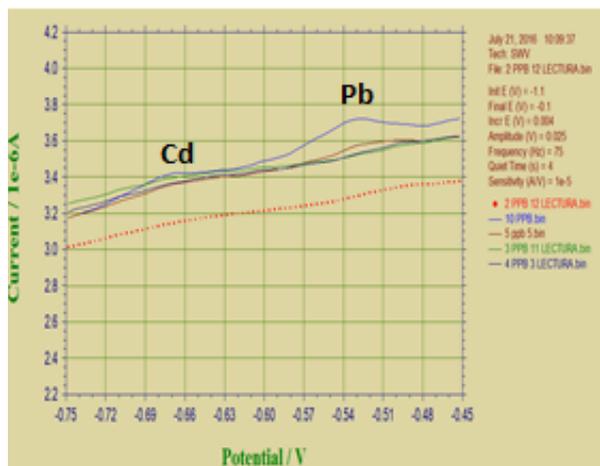
PARÁMETRO	OBJETIVOS
Linealidad	$R^2 \geq 0.998$
Límite de Detección	1 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Límite de Cuantificación	2 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Precisión (repetibilidad CVr, y reproducibilidad CVR)	CVr $\leq 15\%$ CVR $\leq 15\%$
Exactitud (% de Recuperación)	80-120%
Intervalo de Trabajo	Bajo: 2 - 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ Alto: 4 - 120 $\mu\text{g.L}^{-1}$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

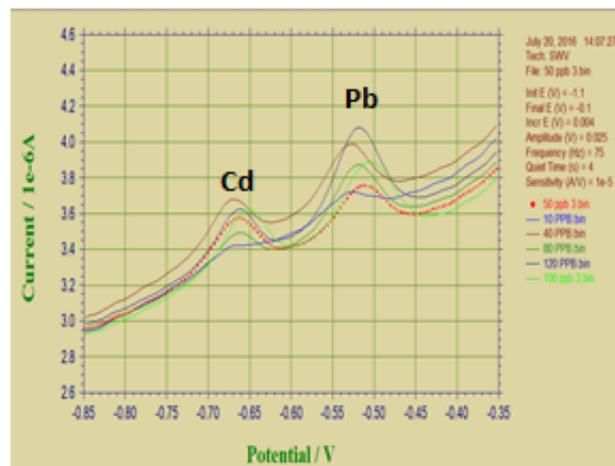
**Rangos lineales:** Las señales analíticas de Cd y Pb son mostradas en la Figura 1. Se puede observar mejor capacidad resolutive en el rango alto de concentración de los analitos, sin embargo las corridas en el rango bajo ofrecen resultados que luego del análisis estadístico muestran confiabilidad aceptable.

La curva de calibración se muestra en la Figura 2. Todas las curvas presentan excelente linealidad, con coeficientes de correlación  $R^2 > 0,9985$ , lo que indica que se puede trabajar en cualquiera de los rangos de concentración seleccionados para los dos analitos. Otras investigaciones (Robledo y Castaño, 2012) reportan que la linealidad para cadmio y plomo por voltamperometría de redisolución anódica se pierde a partir de una concentración de 1000  $\text{mg.L}^{-1}$  mientras que la validación de los mismos metales mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito hacen referencia que la linealidad del método no sobrepasa un valor de 800  $\mu\text{g/L}$ .

**Precisión:** En términos de repetibilidad y reproducibilidad, se obtuvieron buenos resultados en el rango de concentración bajo para cadmio obteniéndose en este un coeficiente de variación



a)



b)

Figura 1. Señal analítica para el análisis de cadmio y plomo a) rango bajo, b) rango alto

de 9,074% y en los rangos de concentración altos entre 2,023-3,679 %, mientras que en el rango de concentración bajo de plomo fue de 14,109 % y el rango de concentración alto se halló entre 10,154- 10,601% para el coeficiente de variación. Acorde al codex alimentario, el porcentaje de repetibilidad o coeficiente de repetibilidad  $CVR \leq 15\%$  y para la Reproducibilidad en los rangos del coeficiente de reproducibilidad  $CVR \leq 20\%$ , lo que satisface lo encontrado en el presente estudio. Por otra parte, fue calculada la incertidumbre de la reproducibilidad, dando como resultado

17,54%-18,40% y 10,32%-13,20% para cadmio y plomo respectivamente.

**Límite de detección y cuantificación:** El cálculo del límite de detección (LD), fue posible a partir de la desviación estándar de la concentración conocida del blanco, resultando un LD de  $1,37 \mu\text{g.L}^{-1}$ , mientras que el límite de cuantificación (LC) fue determinado experimentalmente por medio de 3 concentraciones del rango bajo, resultando como límite de cuantificación del método  $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Otros trabajos muestran LD y LC,  $1,00 \mu\text{g.L}^{-1}$  y  $2,50 \mu\text{g.L}^{-1}$ , para cadmio y plomo res-

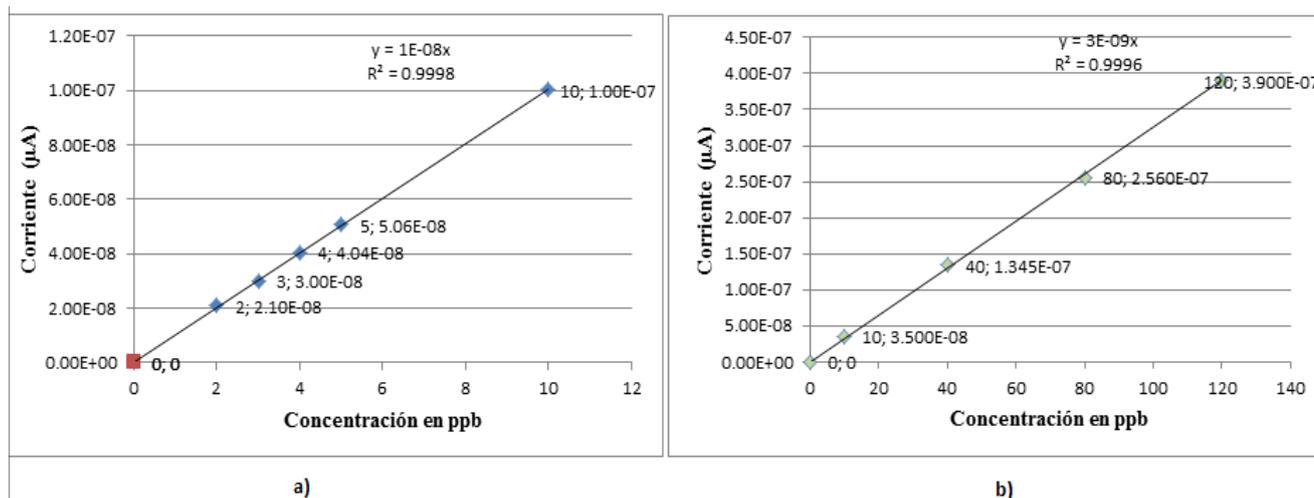


Figura 2. Curvas de calibración para Cadmio a) Rango Bajo, b) Rango Alto

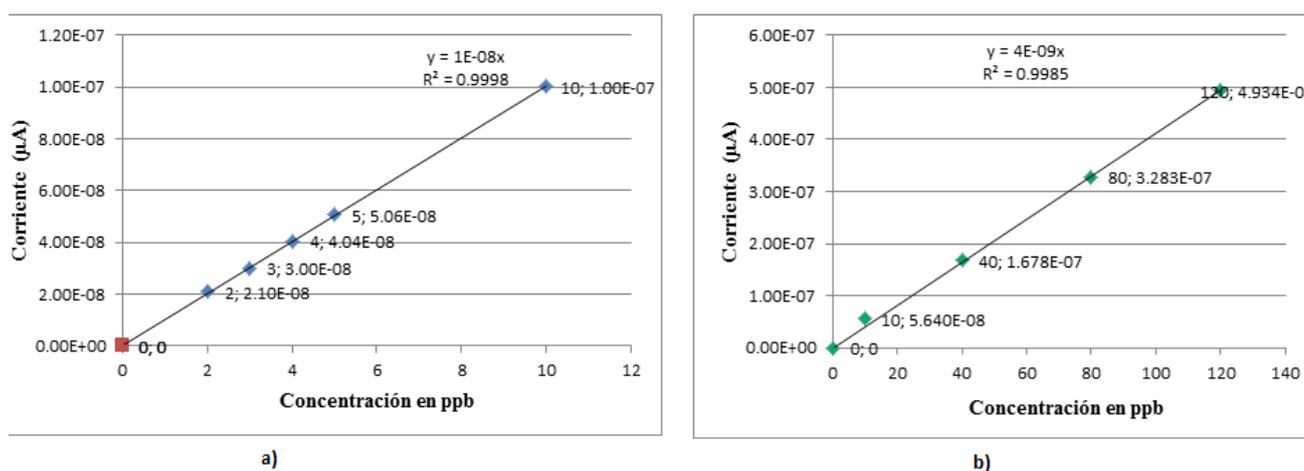


Figura 2. Curvas de calibración para Cadmio a) Rango Bajo, b) Rango Alto

pectivamente (Méndez, 2015), mientras que mediante absorción atómica por horno de grafito los LD y LC de 0,5847  $\mu\text{g.L}^{-1}$  y 1,98  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente (Robledo and Castaño, 2012). Es decir, tanto el LD, como LC muestran valores similares cuando se usa voltametría, mientras que son mejores cuando se usa AAHG, sin embargo, cabe recalcar que el presente trabajo es realizado sin uso de nitrógeno previo los análisis, el cual mejora sustancialmente la señal analítica, mejorando así los LD y LC.

**Sensibilidad:** La sensibilidad obtenida en el rango bajo para cadmio fue de 11,40  $\mu\text{A.L.}\mu\text{g}^{-1}$  y en el rango alto se obtuvo 7,35  $\mu\text{A.L.}\mu\text{g}^{-1}$ , mientras que en Plomo el resultado fue para el rango bajo de 11,00  $\mu\text{A.L.}\mu\text{g}^{-1}$  y de 13,20  $\mu\text{A.L.}\mu\text{g}^{-1}$  en el rango alto demostrando así que el método tiene una buena sensibilidad debido a que mientras menos se aproxime la recta al eje de las ordenadas menos variación se producirá en las lecturas.

**Exactitud:** Como se establece en el Codex Alimentarius el porcentaje de recuperación de cadmio esta 80-120% y de plomo de 90-107%, valores que son cumplidos en la presente investigación, donde se establece 117,75% para cadmio y 103,33% para plomo.

### CONCLUSIONES

Se validó un método para determinar cadmio y plomo en agua potable mediante voltamperometría de redisolución anódica. Los resultados obtenidos demuestran que es posible el uso de esta técnica analítica para determinar trazas de estos metales en agua potable con niveles de detección acorde a las normativas vigentes. Dado que la instrumentación empleada en esta validación es portátil, y las condiciones de operación no necesitan el uso de gases de purga previo el análisis, es

Tabla 2. Resultados de validación para cadmio y plomo por voltametría de redisolución anódica

CADMIO					PLOMO				
PRECISIÓN Y EXACTITUD					PRECISIÓN Y EXACTITUD				
Rango de Conc.	Repetibilidad		Reproducibilidad		Rango de Conc.	Repetibilidad		Reproducibilidad	
	Sr	%CvR	SR	%CVR		Sr	%CvR	SR	%CVR
bajo: 0,002-0,01	0,34	10,399	0,086	1,56	bajo: 0,002-0,01	0,047	11,6	0,045	0,6
alto: 0,04-0,12	0,035	9,074	0,084	0,10	alto: 0,04-0,12	0,0272	71,384	0,038	0,0292
Límite de Detección (LD)	0,00137 $\text{mg.L}^{-1}$				Límite de Detección (LD)	0,00137 $\text{mg.L}^{-1}$			
Límite de Cuantificación (LC)	0,002 $\text{mg.L}^{-1}$				Límite de Cuantificación (LC)	$\text{mg.L}^{-1}$			
CRITÉRIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO					CRITÉRIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO				
EXACTITUD: 80-120%, datos de 93%-117,75%; Validación Aceptada.					EXACTITUD: 80-120%, datos de 91%-103,33%; Validación Aceptada.				
Incertidumbre $\leq 35\%$ ; datos de 17.5498%-18,4005%; Validación aceptada					Incertidumbre $\leq 35\%$ ; datos de 10.3204%-13,207%; Validación Aceptada.				
%CVR $\leq 20\%$ , datos de 0,02%-3,32%					%CVR $\leq 20\%$ , datos de 0,001%-0,75%				

posible aplicar este ensayo *in situ* para la determinación confiable de estos metales.

Las matrices analizadas de agua potable de la Ciudad de Machala no evidencian presencia de cadmio y plomo para el límite de cuantificación del método de  $2 \mu\text{g.L}^{-1}$  en ambos analitos.

El presente trabajo proporcionará información suficiente para elaborar la documentación que requiera usar el laboratorio de investigación de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala para su posterior acreditación en éstos parámetros.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Public Health Association. (1999). Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, American Water Works Association, Water Environment Federation (20 ed.).
- Alimentarius (2015). *Normas Alimentarias- CODEX ALIMENTARIUS*; Vol. 1.
- Arias Coello, A. (2012) *La Gestión de La Calidad: Conceptos Básicos.*
- Grabarczyk, M.; Wardak, C. (2016a) Rapid Determination of Lead in Environmental Water by Anodic Stripping Voltammetry. *Anal. Lett.* 49 (7), 1004-1014.
- Grabarczyk, M.; Wardak, C. (2016b,) Rapid Determination of Lead in Environmental Water by Anodic Stripping Voltammetry. 2719 (June), 1004-1014.
- Harris, D. (2010.) *Análisis Químico Cuantitativo*, 3a edición.; Grepe, n., ed.; Grupo Editorial Iberoamérica S.A
- INEN 1108. (2014) *Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN - Agua Potable. Requisitos*; ECUADOR, pp 1-10.
- International Conference on Harmonisation ICH . (2005). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. International Conference on Harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use.
- Leal, M. F. C.; Catarino, R. I. L.; Pimenta, A. M.; Souto, M. R. S.; Afonso, C. S.; Fernandes, (2015). Lead Migration from Toys by Anodic Stripping Voltammetry Using a Bismuth Film Electrode. *Arch. Environ. Occup. Health* 2015, 8244 (October), 300-306.
- Méndez, P. Escuela Politécnica Nacional.
- Miller, J., & Miller, J. (2000). Estadística y quimiometría para química analítica. Madrid: Pearson Education Limited.
- Papadoyannis, I. N.; Samanidou, V. F. (2016) Validation of HPLC Instrumentation. 6076 (June), 754-782.
- Pública, I. de S. (2010) *Validación de Métodos Y Determinación de La Incertidumbre de La Medición: Aspectos Generales Sobre La Validación de Métodos.*
- Robledo, L. M.; Castaño, A. (2012) Validación de La Metodología Para El Análisis de Los Metales Cadmio Y Plomo En Agua Tratada Por Absorción Química Con Horno de Grafito, Tecnológica de Pereira.
- SAE. Historia NORMA 17025.
- Souza, A. P. R. De; S, B.; Bertotti, M. (2012) On Site Stripping Voltammetric Determination of Zn(II), Cd(II) and Pb(II) in Water Samples of the Cananéia-Iguape Estuarine-Lagoon Complex in São Paulo State, Brazil. 23 (7), 1320-1326.
- Tonietto, A. E.; Grassi, M. T. (2012). Análise de especiação de Cobre e Zinco empregando voltametria de redissolução anódica com pulso diferencial. *Quim. Nova*, 35 (1), 170-174.

