



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

FACULTAD DE CIENCIAS

Grado en Química

Memoria del Trabajo de Fin de Grado

***METODOLOGÍA ANALÍTICA VERDE PARA DETERMINAR
CADMIO EN SEDIMENTOS***

METODOLOXÍA ANALÍTICA VERDE PARA DETERMINAR CADMIO EN SEDIMENTOS

GREEN ANALYTICAL METHODOLOGY FOR CADMIUM DETERMINATION IN SEDIMENTS

**Directoras: Rosa María Soto Ferreiro
Alatzne Carlosena Zubieta**

LAURA QUINTAS FERNÁNDEZ

Curso: 2014/2015 – Convocatoria: junio



El trabajo titulado **METODOLOGÍA ANALÍTICA VERDE PARA DETERMINAR CADMIO EN SEDIMENTOS** que constituye la Memoria del Trabajo de Fin de Grado de la alumna **LAURA QUINTAS FERNÁNDEZ**, ha sido realizado en la Facultad de Ciencias de la Universidade da Coruña, bajo la tutorización académica de las profesoras Rosa María Soto Ferreiro y Alatzne Carlosena Zubieta.

A Coruña, 18 de junio de 2015

Rosa María Soto Ferreiro

Alatzne Carlosena Zubieta

Agradecimientos

A las profesoras Rosa Soto y Alatzne Carlosena por el seguimiento, supervisión y orientación durante la elaboración del proyecto de Fin de Grado, así como de su gran disponibilidad, no solo de tiempo, sino también de medios para el correcto desarrollo del proyecto y de sus muchos consejos.

Al doctorando Javier Terán Baamonde por su gran ayuda con el instrumento y las muestras, sus consejos y su ayuda.

A mis padres, mi hermano y mi abuela que me han apoyado siempre y me han ayudado psicológicamente y económicamente todos estos años.

A todos, muchas gracias.

Índice

I.-Resumen.....	1
Summary	3
Resumo	5
II.- Objetivo	7
III.- Introducción	9
III.1.- Impacto de los Metales en el Medio Ambiente	9
III.2.- Metales en Sedimentos	10
III.3.- Características del Cadmio	13
III.4.- La Química Analítica Verde.....	14
III.5.- Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS).....	16
III.5.1.- Programas rápidos de atomización en Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS)	22
IV.- Parte experimental.....	25
IV.1.- Aparatos y reactivos	25
IV.2.- Tratamiento de la muestra.....	25
IV.3.- Condiciones para la determinación de cadmio por ETAAS	26
V.- Resultados y Discusión	27
V.1.- Optimización del programa rápido de atomización.....	27
V.2.- Características analíticas	31
V.2.1.- Método de cuantificación.....	31
V.2.2.- Límites de Detección y Cuantificación. Sensibilidad y masa característica.	34
V.2.3.- Precisión.....	35
V.2.4.- Exactitud	37
VI.- Conclusiones	39
Conclusions	40
Conclusións	41
VII.- Bibliografía	43

I.-Resumen

El trabajo presentado en este Proyecto de Fin de Grado se ha centrado en el desarrollo de un método para determinar cadmio en sedimentos marinos mediante Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS), basado en la Química Analítica Verde. Para ello se utilizan estrategias que reducen la cantidad de reactivos utilizados y residuos generados así como minimizan el tiempo de análisis.

Experimentalmente se optimizaron las condiciones de medida del cadmio en ETAAS para el análisis de extractos ácidos de sedimentos, teniendo como principal objetivo el establecimiento de un programa rápido de temperaturas del horno de grafito. Es decir, eliminando la etapa de calcinación en la cual se descomponen los concomitantes de la matriz. Además, se evalúa la posibilidad de realizar la medida instrumental en ausencia de modificador químico, habitualmente empleado dada la volatilidad del cadmio. En el tratamiento de las muestras se empleó ácido clorhídrico diluido con objeto de evaluar la fracción biodisponible de cadmio en este tipo de muestras. La etapa de extracción se llevó a cabo en tan solo 16 min y se empleó un mínimo volumen de reactivos (1 mL).

Se estableció un programa de temperaturas del horno con dos etapas de secado, a fin de conseguir un secado suave y evitar proyecciones de la muestra en el atomizador; se fijó experimentalmente la etapa de atomización en 1300°C y una etapa final de limpieza. Se llevó a cabo el análisis en ausencia de modificador químico, obteniendo un buen perfil atómico, tanto para las disoluciones patrón como para los extractos de sedimento, con una señal de fondo despreciable.

El efecto de los componentes de la matriz de sedimento en la determinación de cadmio se evaluó mediante la comparación de las pendientes de las rectas de calibrado y de adición aplicando el test estadístico t. Se obtuvo un valor de t experimental menor que el de la t tabulada lo cual permite considerar que la matriz no interfiere y que, por tanto, se puede cuantificar directamente utilizando el calibrado con disoluciones patrón de cadmio.

Se estudiaron las características analíticas del método establecido para la medida de cadmio en ETAAS. El método proporcionó una buena sensibilidad, con valores de masa característica ($0,48 \pm 0,06$ pg y $1,29 \pm 0,002$ pg, respectivamente, para disoluciones patrón y para la muestra) que son comparables a los recogidos en la bibliografía para programas de horno convencionales. También se alcanzaron Límites de Detección y Cuantificación del procedimiento global adecuados para la determinación de cadmio en muestras de sedimentos marinos ($0,56$ µg/g y $1,07$ µg/g, respectivamente). Con

respecto a la precisión, la desviación estándar relativa (DER) fue menor del 3% para las disoluciones patrón e inferior al 10 % para el procedimiento global.

El sedimento de referencia BCR 701 se utilizó para evaluar la exactitud, el cual tiene contenidos certificados de cadmio de las tres fracciones del protocolo estándar establecido por el Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, antiguo BCR). De acuerdo con la bibliografía consultada, la suma de esas tres fracciones es una buena aproximación al contenido biodisponible o lábil del cadmio en sedimentos. De esta forma, se comparó el contenido de cadmio obtenido con el método propuesto en este trabajo ($11,39 \pm 1,08 \mu\text{g/g}$) con la suma del contenido certificado de las tres etapas ($11,34 \pm 0,45 \mu\text{g/g}$). A un nivel de confianza del 95%, los valores de t experimental y tabulada no difieren significativamente, por lo que se puede concluir que el método propuesto es una alternativa viable para evaluar la fracción biodisponible de cadmio en sedimentos marinos.

Por lo tanto, se alcanzó el objetivo del trabajo, al desarrollar un método basado en la Química Analítica Verde, tanto en la etapa de preparación de la muestra como en la medida instrumental, ya que se reduce el tiempo de análisis, se minimiza la cantidad de reactivos utilizados y la consiguiente generación de residuos.

Palabras clave

Cadmio en sedimentos

Espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS)

Programa rápido de atomización

Química analítica verde

Summary

This Final Graduation Work has focused on developing a method to determine cadmium in marine sediments by Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy (ETAAS) based on the Green Analytical Chemistry principles. For this, strategies were utilized to reduce the amount of reagents used and the residues generated as well as minimizing the time of the analysis.

The experimental conditions for cadmium measurement by ETAAS were optimized for the analysis of acid extract of sediments, with the main objective of establishing a rapid temperature program for the graphite furnace; namely, eliminating the pyrolysis step in which the concomitants of the matrix are decomposed. Furthermore, the possibility of performing the instrumental measurement in absence of chemical modifiers (usually employed due to the volatility of cadmium) is evaluated. Diluted hydrochloric acid is employed for sample treatment in order to evaluate the bioavailable fraction of cadmium in these kind of samples. The extraction step was carried out in only 16 min and a minimum volume of reagent (1 mL) was used.

A temperature program of the graphite furnace was established, with two drying steps, in order to achieve a gentle drying, avoiding sample projections into the atomizer; the atomization temperature was experimentally studied and set at 1300°C, and a final cleaning stage was included. The analysis was performed in the absence of chemical modifier, obtaining good absorbance profiles, both, for the standard solutions and the sediment extracts, with negligible background signals.

The effect of the matrix components of the sediments in the determination of cadmium was evaluated by comparing the slopes of the calibration and addition lines applying the statistical t test. The experimental t value obtained was lower than the tabulated, which means that the matrix does not interfere and, therefore, the quantification can be directly performed using the calibration with standard solutions of cadmium.

The analytical characteristics of the method established for cadmium measurement by ETAAS were studied. The method provided a good sensitivity, with characteristic mass values ($0,48 \pm 0,06$ pg and $1,29 \pm 0,002$ pg, respectively, for standard solutions and the sample) that are comparable to those reported in the bibliography for conventional furnace programs. Procedural Limits of Detection and Quantification achieved ($0,56$ µg/g and $1,07$ µg/g, respectively) were adequate for cadmium determination in marine sediments. Regarding precision, the relative standard deviation (RSD) was lower than 3% and 10%, for the standard solutions and the overall procedure, respectively.

In this study the reference sediment BCR 701 with certified cadmium contents of the three fractions of the standard protocol established by the Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, former BCR) was analyzed. According to literature, the sum of these three fractions is a good approximation of the bioavailable or labile content of cadmium in sediments. Thus, the content of cadmium obtained with the approach proposed in this study ($11,39 \pm 1,08 \mu\text{g/g}$) was compared with the sum of the certified content of the three stages ($11,34 \pm 0,45 \mu\text{g/g}$). The experimental and tabulated t values do not differ significantly, at a confidence level of 95%, so it can be concluded that the proposed method is a viable alternative to evaluate the bioavailable fraction of cadmium in marine sediments.

Therefore, the aim of the work was achieved, developing a method based on Green Analytical Chemistry, both for the sample preparation step and the instrumental measurement, since it reduces the time of analysis, minimizes the amount of reagents used and the subsequent generation of residues.

Keywords

Cadmium in sediments

Electrothermal atomic absorption spectroscopy (ETAAS)

Fast atomization program

Green analytical chemistry

Resumo

O traballo presentado neste Proxecto de Fin de Grao centrouse no desenvolvemento dun método para determinar cadmio en sedimentos mariños mediante Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS), baseado na Química Analítica Verde. Para iso utilízanse estratexias que reducen a cantidade de reactivos empregados e de residuos xerados, así como minimizan o tempo de análise.

Experimentalmente optimizáronse as condicións de medida do cadmio por ETAAS para a análise de extractos ácidos de sedimentos, tendo como principal obxectivo o establecemento dun programa rápido de temperaturas do forno de grafito. É dicir, eliminando a etapa de calcinación na cal se descompoñen os concomitantes da matriz. Ademais, evalúase a posibilidade de realizar a medida instrumental en ausencia de modificador químico, habitualmente empregado dada a volatilidade do cadmio. No tratamento das mostras empregouse ácido clorhídrico diluído con obxecto de avaliar a fracción biodisponible de cadmio neste tipo de mostras. A etapa de extracción levouse a cabo en tan só 16 min e empregouse un volumen mínimo de reactivos (1 mL).

Estableceuse un programa de temperaturas do forno con dúas etapas de secado, para conseguir un secado suave e evitar proxeccións da mostra no atomizador; estableceuse experimentalmente a etapa de atomización en 1300°C e unha etapa final de limpeza. Levouse a cabo a análise en ausencia de modificador químico, obtendo un bó perfil atómico, tanto para as disolucións patrón como para os extractos de sedimentos, cunha señal de fondo desprezable.

O efecto dos compoñentes da matriz de sedimento na determinación de cadmio evaluouse mediante comparación das pendentes das rectas de calibrado e de adición aplicando o test estadístico t. Obtívose un valor de t experimental menor que o da t tabulada, o cal permite considerar que a matriz non interfire e que, por tanto, pódese cuantificar directamente empregando o calibrado con disolucións patrón de cadmio.

Estudáronse as características analíticas do método establecido para a medida de cadmio por ETAAS. O método proporcionou unha boa sensibilidade, con valores de masa característica ($0,48 \pm 0,06$ pg e $1,29 \pm 0,002$ pg, respectivamente, para disolucións patrón e para a mostra) que son comparables ós recollidos na bibliografía para programas de forno convencionais. Tamén se alcanzaron Límites de Detección e Cuantificación do procedemento global axeitados para a determinación de cadmio en mostras de sedimentos marinos ($0,56$ µg/g e $1,07$ µg/g, respectivamente). Con respecto á precisión, a desviación estándar relativa (DER) foi menor do 3% para as disolucións patrón e inferior ao 10% para o procedemento global.

No estudo analizouse o sedimento certificado BCR 701 o cal ten contidos certificados de cadmio das tres fracción do protocolo estándar establecido polo Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, antigo BCR). Dacordo coa bibliografía consultada, a suma das tres fracción é unha boa aproximación do contido biodispoñible ou lábil do cadmio en sedimentos. Desta forma, comparouse o contido de cadmio obtido co método proposto neste traballo ($11,39 \pm 1,08 \mu\text{g/g}$) coa suma do contido certificado das tres etapas ($11,34 \pm 0,45 \mu\text{g/g}$). A un nivel de confianza do 95%, os valores de t experimental e tabulada non difiren significativamente, polo que se pode concluir que o método proposto é unha alternativa viable para avaliar a fracción biodispoñible de cadmio en sedimentos mariños.

Polo tanto, alcanzouse o obxectivo do traballo, ao desenvolver un método baseado na Química Analítica Verde, tanto na etapa de preparación da mostra como na medida instrumental, reducíndose o tempo de análise, minimizándose a cantidade de reactivos usados e a xeración posterior de residuos.

Palabras clave

Cadmio en sedimentos

Espectroscopia de absorción atómica con atomización electrotérmica (ETAAS)

Programa rápido de atomización

Química analítica verde

II.- Objetivo

El Trabajo de Fin de Grado que se recoge en esta memoria tiene como objetivo desarrollar un método basado en la Química Analítica Verde para determinar cadmio en sedimentos marinos mediante Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS).

Se llevará a cabo la optimización de un programa rápido de temperaturas del horno de grafito, es decir, eliminando la etapa de calcinación y no se emplearán modificadores químicos para estabilizar el analito. De esta forma se pretende reducir los tiempos de análisis y la cantidad y peligrosidad de los reactivos utilizados.

Una vez establecido el procedimiento de medida instrumental, se investigará el efecto de los componentes de la matriz de sedimento en la determinación de cadmio y se evaluarán las características analíticas del método establecido.

III.- Introducción

III.1.-Impacto de los Metales en el Medio Ambiente

Durante el siglo XIX la química experimentó un gran desarrollo industrial: la explotación del petróleo, la fabricación a gran escala de plásticos, fibras sintéticas o antibióticos, etc. Por su parte, el hecho más importante del siglo XX fue el uso del petróleo como materia prima, primero para la obtención de combustibles y posteriormente para su transformación en productos para la cosmética, la alimentación, etc. También fue en ese siglo cuando se descubrió el caucho vulcanizado, se desarrollaron las resinas termoestables (bakelitas) y se comenzó la producción a gran escala de polietileno y polipropileno de alta densidad.

Como consecuencia de ello han surgido una gran cantidad de problemas medioambientales relacionados con productos químicos, siendo los más perjudiciales los errores debidos a la manipulación de dichos productos y/o a la mala gestión de su uso, que derivan en daños irreparables a la biosfera, como la lluvia ácida o la destrucción de la capa de ozono [1].

Entre todos los contaminantes, los metales poseen una gran influencia ecológica y biológica debido a su acumulación y no biodegradabilidad. Por ello, el estudio de la presencia de metales traza en matrices medioambientales adquiere mayor relevancia día a día.

De entre todas las matrices ambientales, destacan los suelos y los sedimentos por ser la base de la vida en la Tierra. Ambas matrices pueden actuar en la incorporación de los metales traza en la cadena alimentaria, pudiendo acumularse en los tejidos e incluso alcanzar niveles tóxicos para los seres vivos. Los metales se pueden incorporar en los organismos vivos por diferentes vías: debido a la absorción de las plantas o, en el caso de los animales, a través de la ingestión de alimentos, adsorción cutánea o por inhalación de polvo en suspensión.

Como ya se ha mencionado, un aspecto importante relacionado con la presencia de metales en el medio ambiente es que este tipo de contaminantes no se degradan por lo que se va a producir su acumulación en los distintos compartimentos ambientales. Por otro lado, el comportamiento de los metales en el medio ambiente depende de las especies particulares que está formando, y la mayor toxicidad de una especie no necesariamente coincidirá con la mayor concentración total del metal. Por lo que la biodisponibilidad, toxicidad, distribución, etc. de un elemento en el medioambiente no puede predecirse a partir de su concentración total en dicho medio.

En concreto en los ecosistemas acuáticos, el estudio de la contaminación por metales pesados incluye la evaluación de los contenidos de dichos elementos en los diferentes compartimentos que los constituyen: el agua, los sedimentos y la biota. En particular en los sedimentos resulta de interés el conocimiento del contenido total de los metales y de la denominada fracción biodisponible que proporciona información sobre la cantidad de estos elementos que va a ser transferida al medio acuoso y por tanto estará disponible para los organismos vivos presentes en dicho medio.

Además, la especiación o estudio de las diferentes formas químicas en las que se encuentra el metal es especialmente útil en el caso de metales cuyas especies químicas tienen diferente toxicidad.

Para evaluar el grado de biodisponibilidad de los metales en suelos y sedimentos se proponen en la bibliografía diversos métodos de extracción secuencial y única [2, 3]. Sin embargo, el principal problema en el estudio del impacto de la contaminación por metales es que no existe un protocolo de referencia para este tipo de estudios.

Uno de los procedimientos de extracción secuencial más utilizados es el establecido por el Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, antiguo BCR), que incluye tres etapas y divide el contenido metálico en la fracción extraíble, la reducible y la oxidable. El sedimento de referencia certificado BCR-701 proporciona contenidos certificados de estas tres fracciones.

En cuanto a los procedimientos de extracción única el ácido clorhídrico diluido es ampliamente utilizado para evaluar la denominada fracción biodisponible de Cd, Cu, Ni, Pb, y Zn, que en la bibliografía es comparada con la suma de las tres etapas de extracción del procedimiento del IRMM [4].

III.2.-Metales en Sedimentos

Los sedimentos son capas de partículas de minerales y de materia orgánica, a menudo de grano fino, que se encuentran en las profundidades de las masas de agua natural de ríos, lagos y océanos y que se originan por diferentes procesos físicos, químicos y biológicos. La mayor parte de estos sedimentos se forman a partir de procesos de sedimentación de las partículas sólidas procedentes de la erosión continental y que entran por medio de los aportes fluviales. La menor velocidad que adquieren las partículas al entrar a la masa de agua propicia su sedimentación, a lo que deben añadirse los procesos de coagulación y floculación que ocurren en el encuentro entre las aguas. La velocidad de sedimentación es mayor en la costa que en el océano abierto [5].

El agua es el vehículo principal de transporte de sedimentos, aunque el viento también es importante. La acción del agua, que fluye en los arroyos o ríos, divide las orillas y lleva los materiales sedimentarios a grandes distancias. La mayor parte del agua que fluye y que contiene carga disuelta (minerales en solución que son formadores de sedimentos) se origina en el subsuelo, donde el agua ha tenido la oportunidad de disolver los minerales de los estratos de rocas a través de los cuales ha pasado el agua. El grado y la velocidad de movimiento del material sedimentario en suspensión en las corrientes dependen de la velocidad del flujo de agua y de la velocidad de sedimentación de las partículas en suspensión [6].

Los ríos movilizan los materiales sedimentarios mediante la erosión, transportan los materiales junto con el flujo del río y los liberan de forma sólida durante la deposición. Cuando las condiciones, como la disminución de la velocidad de la corriente de agua comienzan a favorecer la deposición las partículas mayores, más fácilmente depositables son liberadas primero. Esto produce un ordenamiento en el fondo, de tal manera, que las partículas de tamaño y tipo similar tienden a encontrarse juntas [6]. Como consecuencia de esto, los sedimentos contienen poros saturados de agua intersticial que procede del agua sobrenadante, del agua atrapada durante la formación del sedimento o que se produce en procesos químicos que tienen lugar en el seno del mismo sedimento [5].

Los sedimentos tienen una gran importancia ambiental porque son los depósitos de muchos compuestos químicos, en especial los metales pesados (como cadmio, cromo, molibdeno, níquel, cobalto y manganeso) y los compuestos orgánicos [7]. Los contaminantes se unen a las partículas mientras se desplazan a través de la columna de agua y se incorporan a los sedimentos. Esta incorporación de contaminantes a los sedimentos es un modo importante de transporte ya que en condiciones de reposo, los coloides se agregan, llegando a tener un nivel importante de contaminación [6]. Posteriormente, estos compuestos pueden intercambiarse con las aguas que los rodean. En concreto, los iones de los metales pesados se absorben sobre la superficie de las partículas que están suspendidas en el agua, en vez de estar disueltos como iones libres o como complejos con biomoléculas solubles [7].

Una pequeña fracción de los sedimentos está constituida por sustancias obtenidas en reacciones químicas en las que se forman compuestos insolubles como carbonatos, óxidos, sulfuros. etc. [6] Así, la actividad biológica es la responsable de la formación de algunos sedimentos acuáticos, por ejemplo existen especies bacterianas que producen óxido de hierro (III) en grandes cantidades, otras especies en atmósferas anóxicas usan el ión sulfato como receptor de electrones, e incluso algunas especies reaccionan entre sí para generar una capa de sedimento de sulfuro de hierro (III) [6].

Sin embargo, el principal aporte de contaminantes a los ambientes acuáticos lo constituyen las fuentes antropogénicas, sobre todo las que se encuentran cerca de los

ríos o las costas. En la **Figura 1** se pueden observar los diferentes factores antropogénicos, como son los efluentes industriales y urbanos, los vertidos de hidrocarburos, las actividades ganaderas (que son responsables del aporte de metales como Ag, Cu y Zn que se añaden al alimento del ganado y emergen en los residuos generados por los animales) y las actividades agrícolas, en las que a través de la utilización de fertilizantes a base de fosfatos se produce el aporte de diferentes metales pesados [5].

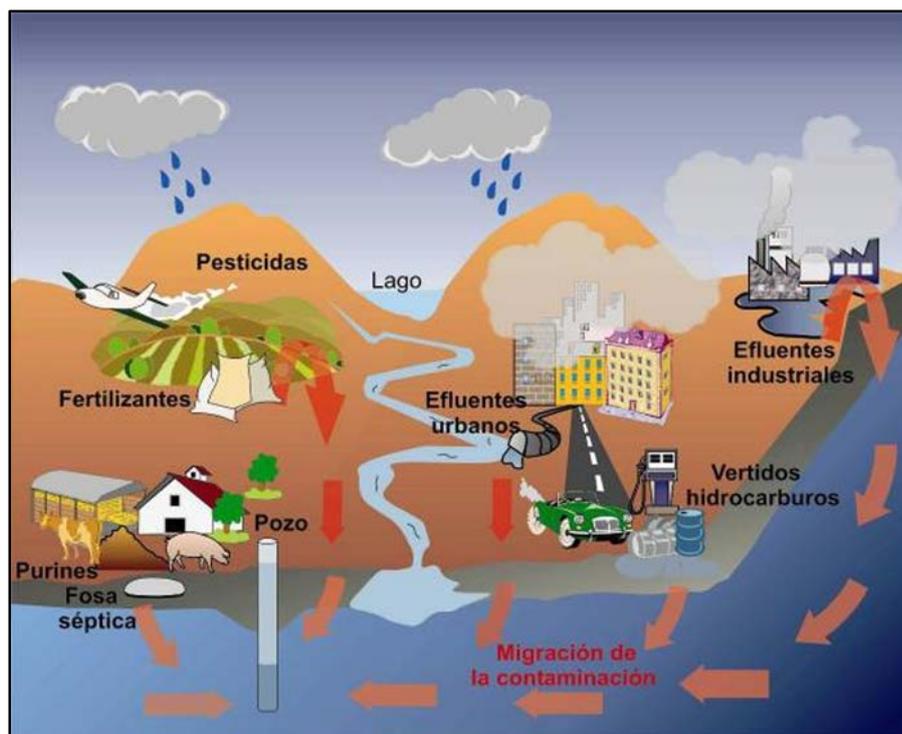


Figura 1. Esquema general de las fuentes de contaminación de los medios acuáticos.

Los sedimentos presentan una característica muy importante que es su capacidad de intercambiar cationes con el medio acuático que lo rodea. La capacidad de intercambio catiónico (CIC), mide la capacidad de los sólidos, en este caso sedimentos, para asimilar cationes. Varía con el pH y con la concentración de sales. Un método común para la determinación del CIC consiste en: 1) tratar el sedimento con una disolución de una sal de amonio para que todos los sitios intercambiables sean ocupados por el ión NH_4^+ 2) desplazar el ión amonio con una disolución de NaCl y 3) determinar la cantidad de ión amonio desplazado. Los valores de CIC pueden expresarse como el número de miliequivalentes de ión amonio intercambiado por 100 g de muestra seca. Los sedimentos de agua dulce tienen valores de CIC entre 20-30 miliequivalentes/100 g [6].

III.3.- Características del Cadmio

El cadmio es el elemento número 48 (grupo IIB) de la Tabla Periódica, su peso atómico es 112,411 g/mol y tiene valencia +2. Aparece en la naturaleza como sulfuro de cadmio en el mineral denominado Greenockita (**Figura 2**), que tiene estructura hexagonal y forma cristales pequeños. Su abundancia oscila entre 0,1 y 0,2 ppm en la corteza terrestre. Se halla en pequeñas cantidades y como impureza de la blenda, apareciendo como una capa sobre las menas de zinc. Químicamente es muy similar al zinc, por lo que habitualmente experimentan procesos geoquímicos juntos e incluso puede reemplazar al zinc en algunos enzimas, alterando su actividad catalizadora. Se cree que parte de la acción fisiológica del cadmio proviene de dicha similitud [8].



Figura 2. Mineral denominado Greenockita formado por sulfuro de cadmio.

El cadmio está clasificado como un metal tóxico, por lo que existe un alto riesgo de envenenamiento agudo en áreas industriales debido al polvo o al humo desprendido en las etapas de calentamiento, purificación, soldadura, etc. Así, los trabajadores de la fundición de cadmio pueden presentar un envenenamiento crónico. Estos trabajadores deberían trabajar en un ambiente con un buen sistema de ventilación o con exposiciones intermitentes, y siempre usando mascarillas filtradoras de aire individuales. Por otro lado, la enfermedad de Japón o Itai-Itai es debida a una gran ingesta por vía oral de cadmio en comida y bebida, y se caracteriza por una progresiva desmineralización de los huesos [9, 10].

En los sedimentos la forma en la que se encuentra el cadmio va a depender de la profundidad de los mismos y la presencia/ausencia de oxígeno; así, estará en forma de sulfuro en condiciones reductoras y en forma de carbonato en condiciones oxidantes [11]. Por lo que a medida que aumenta la profundidad, disminuye el oxígeno disuelto, lo que favorece la precipitación de Cd y su acumulación en el sedimento de fondo.

La mayoría de los niveles altos de cadmio en el medio ambiente se deben al impacto antropogénico, como por ejemplo la adición de desechos sólidos al suelo, la actividad

minera y los usos industriales, siendo alguno de ellos los que se comentan a continuación[7]:

- Fabricación de baterías de níquel-cadmio recargables utilizadas en calculadoras y dispositivos similares. Cada pila contiene unos 5 gramos de cadmio, la mayoría del cual se volatiliza y se libera al medio ambiente si se incineran las pilas gastadas como basura.
- Preparación de pigmentos. Debido a que el color del sulfuro de cadmio (CdS) depende del tamaño de las partículas se pueden preparar pigmentos de cadmio de muchas tonalidades. Durante muchos años, los pintores han incorporado los pigmentos de sulfuro de cadmio a las pinturas para producir colores amarillos, como por ejemplo en el famoso cuadro de Van Gogh de los girasoles.
- Existen plásticos que contienen cadmio como estabilizante (PVC).
- Se utiliza en el chapado metálico de aplicaciones de alta tensión.
- Junto con la plata, forman una aleación que constituyen las barreras de control en las centrales nucleares, cuya función es la absorción de neutrones para el control de la fisión nuclear.

III.4.-La Química Analítica Verde

La Química es una disciplina muy antigua que data de la época de los antiguos egipcios y griegos. La química moderna empezó a resurgir en los siglos XVII y XVIII, gracias a estudiosos como Robert Boyle y Antoine Lavoisier, alcanzando un rápido desarrollo en los dos siglos siguientes. En la actualidad, la química contribuye a mejorar nuestro bienestar y nuestra esperanza de vida. Los compuestos químicos están presentes en todos los ámbitos de la vida humana (en forma de pesticidas, detergentes, fertilizantes, etc.) y muchos de ellos contaminan el medio ambiente. Algunos se degradan pudiendo originar compuestos todavía más peligrosos y otros pueden persistir mucho en el tiempo antes de descomponerse [12].

La Química Verde nace de la amplia cantidad de tóxicos que se generan debido al uso de la Química en la sociedad, comercio y/o medioambiente y es una nueva forma de entender y aplicar la química. Se basa en la utilización de técnicas químicas que reducen o eliminan el uso o generación de productos, subproductos, reactivos, etc. que son tóxicos para el medio ambiente o para la salud de los seres humanos, así como del empleo de materiales peligrosos [1]. Y se define como “el movimiento hacia la búsqueda de la química con el conocimiento de que las consecuencias de la síntesis y del uso de reactivos no se detienen con las propiedades de la molécula diana o con la eficacia de un reactivo en particular” [13].

Se han establecido 12 principios de la Química Verde y, en la mayoría de los casos, es imposible cumplir simultáneamente con todos ellos, sin embargo constituyen una guía general con el fin de orientar la investigación hacia la mejora de la ecoeficiencia de los productos y procesos químicos. Una gestión ecoeficiente de los procesos de producción implica reducir el uso de recursos, reducir el volumen y la toxicidad de los residuos generados así como el empleo de energía y la emisión de contaminantes [13].

La necesidad de revisar los efectos secundarios de la Química en general y de la Química Analítica en particular, ha llevado a los laboratorios a controlar el gasto y recoger los residuos para evitar la contaminación del agua. Sin embargo, el principal problema es la gestión de la gran cantidad de residuos tóxicos generados. Con estos antecedentes, la Química Analítica Verde comenzó una búsqueda de prácticas alternativas para el tratamiento de los desechos y los residuos con el fin de reemplazar las metodologías contaminantes por otras menos o casi no contaminantes [14]. La Química Analítica Verde no trata de renunciar al progreso en el desarrollo de métodos pero añade un compromiso con la conservación del medio ambiente [1, 13].

Basándose en los doce principios de la Química Verde, Namiesnik estableció los 7 principios de la Química Analítica Verde, que son los siguientes:

- No producción de contaminantes en los procesos y técnicas analíticas
- Eficiencia energética, de tiempo y de trabajo.
- Ausencia o sencillez de los procesos de preparación de la muestra.
- Baja o nula destrucción de la muestra.
- Bajo o nulo gasto de reactivos y generación de residuos; además de la eliminación de reactivos altamente tóxicos.
- Análisis in situ/in vivo y monitorización en tiempo real.
- Instrumentación simple/portátil manteniendo una alta sensibilidad y selectividad.

Hay que destacar que estos 7 principios deben ser considerados en conjunto y no de forma individual cuando hablamos de Química Analítica Verde. El término “verde” es sólo un ideal, ya que es imposible que todas las metodologías analíticas satisfagan los 7 principios. Pero es beneficioso para la sociedad realizar procedimientos lo más “verdes” posibles [15].

III.5.-Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS)

La Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS) aparece en torno a los años 70 como técnica complementaria de la atomización con llama, ya que ésta a menudo no alcanzaba los bajos niveles de concentración buscados. La atomización electrotérmica es capaz de proporcionar menores límites de detección (mayor sensibilidad) debido a que se emplean volúmenes pequeños de muestra (10-100 μL), no existe proceso de nebulización y se produce la atomización en un corto período de tiempo de la totalidad de la misma. Al contrario que la llama, la cámara de grafito permite introducir la muestra no solo como disolución, sino que también es posible introducirla en forma de suspensión o en forma sólida y es aplicable a una amplia variedad de matrices gracias a su alta sensibilidad, selectividad, exactitud y precisión [16].

Las desventajas del horno de grafito frente a la llama se deben a la existencia de un mayor número de interferencias de matriz, el mayor tiempo de análisis, el obligado uso del corrector de fondo y en muchos casos, de modificadores químicos. Además, el coste de la instrumentación y del mantenimiento es más elevado.

Los dispositivos empleados para este tipo de atomización son hornos o cámaras de grafito (**Figura 3**). La cámara de grafito consta de un tubo hueco de grafito de 2 a 5 cm de longitud (dependiendo del diseño), con un diámetro interno inferior a 1 cm, que posee un orificio en la parte superior por el que se introduce la muestra, de forma manual o automática. Los extremos del tubo están conectados a unos contactos eléctricos de grafito, de forma que al pasar la corriente actúan como resistencias, provocan su calentamiento y permiten obtener altas temperaturas (hasta 3000°C). Estos contactos están en el interior de una caja metálica que dispone de un circuito cerrado de agua, y de esta forma, se enfrían rápidamente tras alcanzar temperaturas elevadas. Por el interior del tubo circula una corriente de gas inerte (argón o nitrógeno), que elimina el aire en el interior del tubo, los componentes volátiles provenientes de la matriz que se generan en la etapas de secado y calcinación y evita que se produzca el efecto memoria ya que elimina los restos de analito y matriz en la etapa de limpieza. La corriente de gas inerte se interrumpe durante la etapa de atomización para evitar la pérdida de analito. Además, alrededor del tubo de grafito circula un flujo de gas inerte que evita que el grafito del tubo se oxide debido al oxígeno del aire [16].

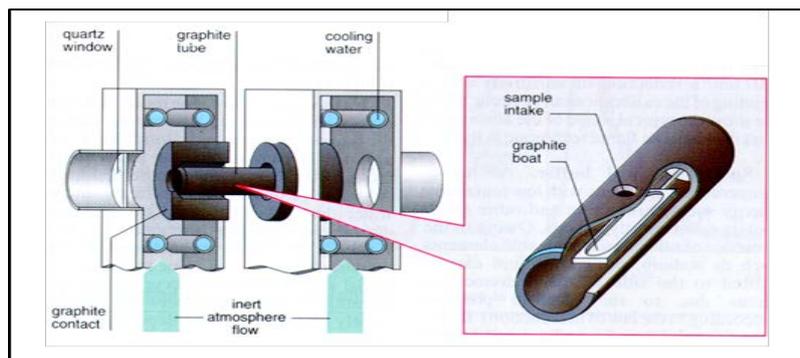


Figura 3. Esquema del interior de la cámara de grafito y atomizador con plataforma de L'vov.

Los tubos de grafito son intercambiables, y existen diferentes tipos dependiendo de cómo se haya tratado su superficie. El grafito presenta una superficie porosa y esto puede provocar que en la etapa de atomización, la matriz y el analito difundan a su través y se ralentice el proceso de atomización, disminuyendo tanto la sensibilidad como la reproducibilidad asociada a dicho proceso. Además, este tipo de superficie puede verse perjudicada por el uso de sustancias fuertemente oxidantes, reduciéndose el tiempo de vida del tubo. Por ello, la mayoría de los tubos de grafito se recubren en su superficie con una fina capa de carbono pirolítico disminuyendo dicha porosidad y confiriendo una mayor uniformidad a la superficie del tubo.

En cuanto al diseño, existen los tubos de grafito convencionales en los que la muestra se deposita en la pared del tubo, y los tubos con plataforma de L'vov (**Figura 3**), que incluyen una plataforma, también de grafito ubicada en el interior del tubo justo debajo del orificio por el que se introduce la muestra, donde se deposita la misma. Su función es ralentizar el aumento de la temperatura durante el proceso de atomización para conseguir un calentamiento homogéneo de todo el analito y disminuir la difusión del analito a través de sus paredes. De esta forma, la muestra no está en contacto directo con las paredes del tubo por lo que el calentamiento es más uniforme y los picos obtenidos son más reproducibles que los picos obtenidos sin plataforma. La señal obtenida con la plataforma de L'vov es mayor, y aunque la atomización se produce más tarde, se disminuyen las señales de fondo debido a los procesos de condensación.

En la mayoría de los instrumentos, el tubo de grafito está dispuesto en forma longitudinal, pero también es posible un posicionamiento transversal; de esta forma, se consigue un calentamiento del tubo más uniforme y evita la condensación de la matriz, disminuyendo la señal de fondo [16].

En la **Figura 4** se muestra el perfil de temperaturas y tiempos para la atomización en horno de grafito. En dicha figura se observan las etapas principales: el secado, la calcinación, la atomización y la limpieza.

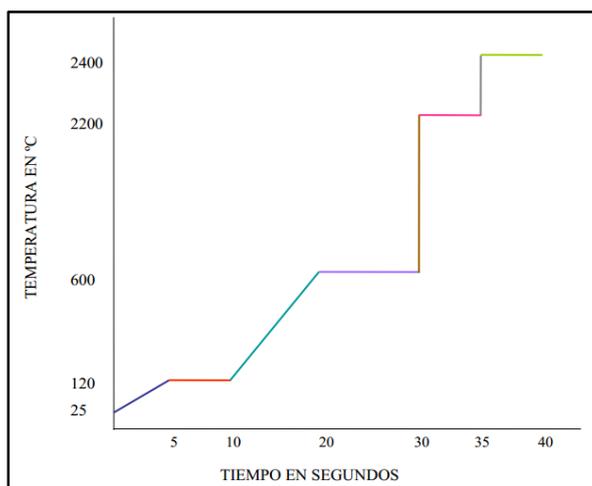


Figura 4. Programa convencional de tiempos y temperaturas aplicado al tubo de grafito.

1. **Secado:** en esta etapa se calienta la muestra líquida a una temperatura y tiempo que produzcan la vaporización del disolvente. La temperatura debe ser lo suficientemente alta para secar la muestra con rapidez pero evitando la ebullición violenta que provoque la proyección de muestra hacia las paredes del tubo. Como regla general, la temperatura de secado suele ser un poco superior a la temperatura de ebullición del disolvente empleado. En esta etapa se utiliza una rampa de unos pocos segundos.
2. **Calcinación o mineralización:** en esta etapa se somete la muestra a una temperatura y un tiempo suficientes para eliminar la mayoría de los componentes volátiles de la matriz (materia orgánica y sales) sin que se produzca la pérdida de analitos volátiles, por lo que es la más crítica del programa. Se incluye también un tiempo de rampa para conseguir que la volatilización sea progresiva y no se produzcan proyecciones que podrían dar lugar a pérdidas del analito. La temperatura de mineralización se estudia construyendo la curva de mineralización (**Figura 5**), en la que se registran los valores de absorbancia en función de la temperatura, y el valor óptimo será aquel que proporcione un mayor valor de absorbancia sin que se produzcan pérdidas de analito.
3. **Atomización:** en ella se somete el tubo a un calentamiento intenso e instantáneo, con un tiempo de rampa cero y a una temperatura de entre 2000-2800°C durante un tiempo entre 1-5 segundos. De esta forma se obtiene un vapor atómico de la muestra que dura unos segundos y que contiene los átomos libres del elemento a determinar. El estudio de la temperatura de atomización se realiza obteniendo experimentalmente la curva de atomización (**Figura 5**), siendo la temperatura óptima la mínima que proporciona un mayor valor de absorbancia. Si la temperatura de atomización es demasiado elevada, se pueden producir la expansión y

pérdida de gases debido al fenómeno de difusión y se acelera el deterioro del tubo.

4. **Limpieza o acondicionamiento:** se calienta el tubo durante unos segundos a una temperatura entre 200 y 300°C por encima de la temperatura empleada durante la atomización para eliminar los posibles restos de muestra y/o analito que hayan podido quedar impregnados en el tubo, que provocarán un resultado falso o “efecto memoria” en siguientes análisis. Esta etapa incluye un tiempo de rampa de unos pocos segundos.

Todas las etapas, salvo la de atomización, se llevan a cabo en presencia de una corriente de argón, que facilita la eliminación de los componentes volátiles generados en cada etapa y evita que interfieran en la determinación del analito. Durante la atomización interesa que el vapor atómico permanezca en el tubo, para poder llevar a cabo la medida de la señal, por lo que la corriente de argón no se suele aplicar en esta etapa.

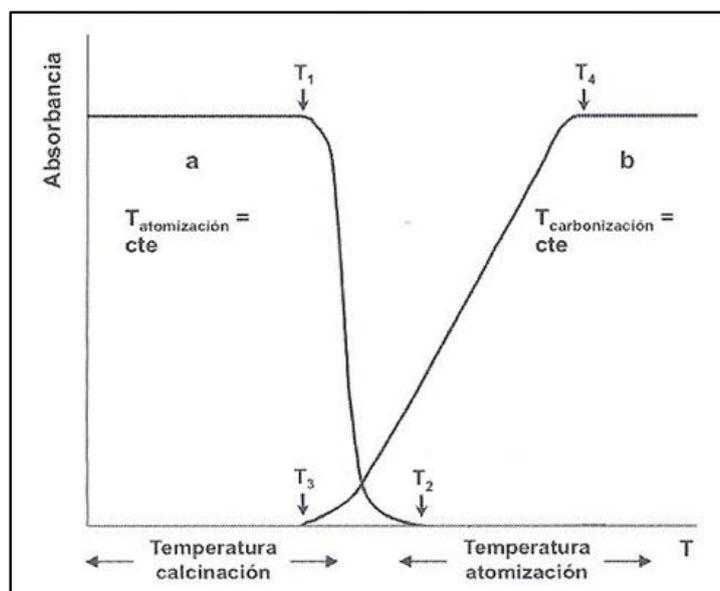


Figura 5. Curvas teóricas de calcinación y atomización que se obtienen en la cámara de grafito [16].

Las principales interferencias que presenta la Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica son las que se comentan a continuación.

Las **interferencias físicas** son debidas a las propiedades físicas de las disoluciones y pueden provocar errores en el momento de ser aspiradas por el muestreador automático. Se compensan fácilmente igualando las propiedades físicas de las disoluciones a analizar.

Las **interferencias espectrales o absorción de fondo** son debidas a especies moleculares que están presentes en el tubo de grafito en el momento de la atomización y la interferencia se produce cuando la banda de absorción de estas especies coincide con la línea de absorción del analito. Para corregirlas se utilizan los correctores de fondo, que son unos dispositivos que están incluidos en los instrumentos y que realizan dos tipos de medida, la absorbancia total y la del fondo. Los correctores de fondo más habituales son los siguientes:

- *Corrector de fuente continua*: este dispositivo emplea normalmente una lámpara de deuterio como fuente secundaria de radiación continua en la región del ultravioleta, de forma que ésta se enciende y se modula a la misma frecuencia que la lámpara de cátodo hueco, pero con un desfase de 180° con respecto a ésta. El equipo dispone de un divisor de haz o cortador (chopper) que dejará pasar por el tubo de grafito el haz proveniente de la lámpara de deuterio o el de la lámpara de cátodo hueco alternadamente (**Figura 6**). Ambos tipos de radiación son absorbidos por el analito y por los componentes de la matriz, pero la fracción absorbida por el analito de la fuente continua se puede considerar despreciable. En estas condiciones la diferencia entre la absorbancia de la lámpara de cátodo hueco y la de la lámpara de deuterio se deberá al analito. Este corrector permite corregir señales de fondo de hasta 0,2 unidades de absorbancia y es óptimo cuando se trabaja por debajo de 350 nm y por encima de 200 nm.

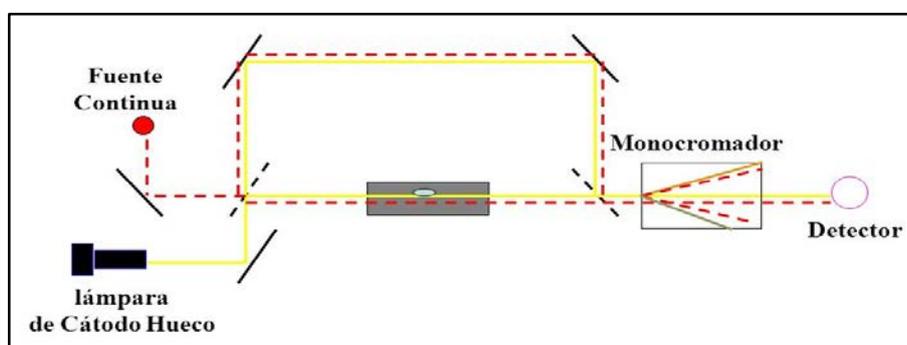


Figura 6. Sistema de corrector de fondo con fuente continua.

- *Corrector basado en el efecto Zeeman*: se basa en el desdoblamiento de los niveles electrónicos de los átomos (en estado gas) en presencia de un intenso campo magnético. Se emplea un campo magnético modulado en el cual la absorbancia total es medida con el campo magnético apagado y la señal de fondo se mide con el campo magnético encendido. La principal ventaja es que la corrección de fondo se realiza a la misma longitud de onda que la utilizada en la medida de la absorción atómica. Este tipo de corrector incluye un imán que rodea al tubo de grafito y un polarizador rotatorio que polariza el haz de

radiación procedente de la fuente en dos haces perpendiculares. La corrección se produce debido al distinto comportamiento que tienen las líneas de absorción/emisión de los átomos frente a la radiación polarizada (**Figura 7**).

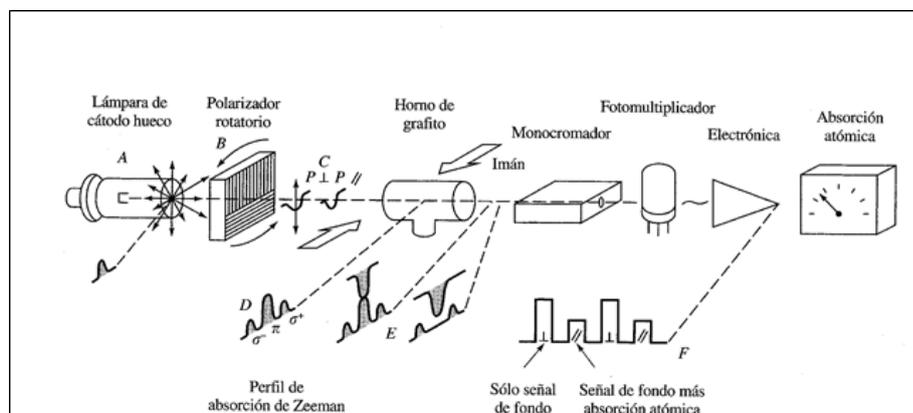


Figura 7. Sistema de corrección de fondo Zeeman.

Las **interferencias químicas** se producen debido a la formación de compuestos del analito que tienen diferente volatilidad que el analito. Así, si se forman compuestos más volátiles se van a producir pérdidas de analito en la etapa de mineralización; por el contrario, la formación de compuestos más refractarios dificulta el proceso de atomización, generando un efecto memoria que provoca un aumento de la absorbancia en siguientes atomizaciones.

Para corregir las interferencias químicas se utilizan los modificadores químicos, que son especies que pueden reaccionar con el analito o con los componentes de la matriz. Los requisitos de un modificador químico son: que tenga elevada pureza, no debe reducir la vida del tubo de grafito, no producir absorción de fondo, debe estabilizar el analito a una mayor temperatura y volatilizar la matriz [16, 17]. Algunos ejemplos típicos son:

- Incremento de la volatilidad de la matriz: para la determinación de metales volátiles (Pb, Cd, As, Sb, Ag) en muestras con alto contenido en sales disueltas (agua de mar, orina) se utiliza el nitrato de amonio (NH_4NO_3) como modificador.
- Reducción de la volatilidad del analito: para la determinación de cadmio en muestras con alto contenido orgánico se utiliza el paladio (Pd) como modificador
- Incremento de la volatilidad del analito: para la determinación de metales refractarios (V, Al, Mo, etc) se utilizan modificadores que contengan fluoruros.

III.5.1.-Programas rápidos de atomización en Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS)

En la bibliografía se encuentran una gran variedad de aplicaciones de la Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS) para la determinación de metales traza en matrices muy diversas, debido sobre todo a los bajos límites de detección que se obtienen. Sin embargo, una de sus desventajas radica en que es una técnica relativamente lenta, debido a los tiempos que se necesitan en el programa de temperaturas para lograr la atomización del analito en ausencia de interferencias.

Con el fin de disminuir los tiempos de análisis se han desarrollado los denominados programas rápidos de atomización que eliminan la etapa de mineralización, y que permiten obtener resultados satisfactorios en determinadas condiciones.

Filgueiras y cols. [18] realizaron un estudio comparativo entre programas de atomización convencionales y programas rápidos para la determinación de Pb, Cu, Ni y Cr en sedimentos, así como el efecto de la adición de modificadores químicos. A partir de los resultados obtenidos concluyen que con los dos tipos de programas se alcanzan exactitudes y precisiones similares, pero con los programas rápidos reducen de forma significativa el tiempo requerido para obtener la señal analítica. El uso de modificadores puede ser evitado en el caso de Cu, Cr y Ni.

Un estudio similar es llevado a cabo por Catarino y cols. [19] para la determinación de cobre a niveles traza en vinos. En este caso, a pesar de que la mayoría de las características analíticas resultaron ser similares, el programa convencional con modificador químico proporcionó una sensibilidad más alta, lo cual es especialmente importante para realizar la determinación de los bajos niveles de Cu presentes en los vinos.

Los programas rápidos de atomización también se aplicaron a la determinación de metales en suspensiones de muestras sólidas. Así, López y cols. [20] proponen un método para la determinación de Sn y Ti en suspensiones de suelos, sedimentos y lodos que se introducen en el tubo de grafito en forma de suspensiones, utilizando un programa de atomización sin etapa de mineralización. Obtienen resultados con una reproducibilidad comparable a la indicada en los materiales de referencia analizados o a la obtenida con programas de atomización convencionales.

En concreto, para la determinación de cadmio, las aplicaciones más representativas que utilizan programas rápidos de atomización se comentan a continuación.

Bermejo y cols. [21] utilizan un programa rápido de temperaturas para la determinación de Pb, Cd y Mn en suspensiones de muestras de pelo humano. Obtienen resultados satisfactorios utilizando paladio y nitrato de magnesio como modificadores químicos y un sistema de corrección de fondo basado en el efecto Zeeman, para reducir los altos valores de absorción de fondo que se producen cuando se analizan muestras con matrices complejas sin realizar un tratamiento previo de las mismas.

Meerevali y cols. [22] también preparan suspensiones a partir de materiales de referencia biológicos para la determinación de Cd, Cu, Mn y Pb. La utilización de un programa de atomización rápido proporciona en este caso resultados satisfactorios en ausencia de modificadores químicos. El estudio de interferencias no revela efectos significativos en los niveles estudiados (5 – 10 veces más altos que los esperados en las muestras).

Los programas rápidos de temperatura también se han aplicado a la determinación de metales en muestras con alto contenido orgánico. Así, Barrera y cols. [23] determinaron Ag, Al, Cd y Mn en cocaína y heroína. Las muestras disueltas se analizan utilizando los modificadores químicos apropiados (paladio/nitrato de magnesio para Ag, Al y Mn y dihidrógenofosfato amónico para Cd) con lo que se obtienen precisiones satisfactorias, señales de absorbancia elevadas y valores de absorción de fondo bajos. El corrector de fondo de deuterio es adecuado para la determinación de Ag, Al y Mn, pero para la determinación de Cd es necesario utilizar el corrector Zeeman.

Chen y cols. [24] determinan Cd en muestras de orina por ETAAS. Realizan una digestión con microondas de las mismas y una separación de la matriz a través de una resina con 8-hidroxiquinolina. Obtienen resultados satisfactorios al utilizar un programa de atomización rápido en ausencia de modificador químico y cuantificando con disoluciones patrón, siendo la precisión y los límites de detección superiores en comparación con los métodos convencionales.

Feo y cols. [25] desarrollaron un método con un programa de atomización rápido para la determinación de Cd en muestras biológicas y ambientales con un alto contenido en cloruro sódico. Utilizaron para ello níquel como modificador químico, obteniendo valores de límites de detección y masa característica del orden de los que aparecen en la bibliografía, así como precisión y exactitud satisfactorias.

Por su parte, Meeravali y cols.[26] determinan bajos niveles de cadmio en muestras de alimentos y biológicas sin utilizar modificadores químicos. Analizan diferentes materiales de referencia cuantificando con disoluciones patrón y con el método de adiciones estándar. De los resultados obtenidos concluyen que las

interferencias debidas a la matriz de las muestras son despreciables, pudiendo cuantificar directamente con disoluciones patrón.

IV.- Parte experimental

IV.1.-Aparatos y reactivos

Los aparatos empleados en este trabajo son los siguientes:

- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 4100 equipado con cámara de grafito modelo HGA-700 y sistema corrector de fondo de Deuterio.
- Lámpara de cátodo hueco de cadmio de Z-tek.
- Tubos de grafito pirolítico con plataforma de L`vov de SCP SCIENCE (Canadá).
- Micropipetas automáticas (Eppendorf) con puntas desechables (10-100 μ L y 20-200 μ L).

Para la realización de los análisis se utilizan los siguientes reactivos:

- Disolución patrón de cadmio de 1000 mg/L, a partir de la cual se preparan las disoluciones de trabajo.
- Ácido nítrico 70% para análisis de trazas de J.T.Baker.
- Ácido clorhídrico 37% para análisis de trazas de J.T.Baker.
- Sedimento de Referencia Certificado BCR 701 del Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM).

Todo el material utilizado en el presente trabajo se lava con agua y con jabón, se enjuaga tres veces con agua ultrapura y se sumerge en ácido nítrico al 10 % durante 24 horas, posteriormente se enjuaga con abundante agua ultrapura antes de su uso.

IV.2.- Tratamiento de la muestra

La determinación de cadmio en muestras ambientales se realiza habitualmente utilizando técnicas de espectroscopia atómica, tanto de atomización en llama, por su sencillez y su rapidez en la obtención de los resultados, como de atomización electrotérmica debido a la mayor sensibilidad que proporciona.

Las muestras de sedimentos requieren como norma general, un tratamiento previo para poner en disolución el analito de interés y así poder analizarlo mediante ETAAS.

En este trabajo los sedimentos se someten a un procedimiento de extracción desarrollado en el grupo de investigación de Química Analítica Aplicada que se basa en la extracción con HCl diluido de la fracción biodisponible de cadmio. El método consiste en pesar una alícuota de muestra de 0,025 g directamente en un cubilete del automuestreador, se le añade 1 mL de ácido clorhídrico 1M y se agita durante 16 min con una sonda de ultrasonidos. El extracto así obtenido se analiza por ETAAS previa dilución del mismo, si es necesario.

IV.3.- Condiciones para la determinación de cadmio por ETAAS

Para llevar a cabo la optimización de las condiciones de medida del Cd por ETAAS, estableciendo un programa rápido de temperaturas del horno de grafito se utiliza el extracto obtenido del sedimento de referencia certificado BCR 701, el cual se diluye convenientemente con agua ultrapura, previamente al análisis (1:40).

Se utilizan tubos de grafito pirolítico con plataforma de L'vov y se parte de las condiciones recogidas en la **Tabla 1**. El estudio se lleva a cabo con una disolución patrón de 1,5 µg/L de Cd y con el extracto ácido obtenido a partir de los sedimentos (se inyectan en el tubo 3 µL y se completa el volumen total inyectado a 20 µL con agua ultrapura).

Tabla 1. Condiciones iniciales para la determinación de Cd por ETAAS.

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo rampa (s)	Tiempo calentamiento (s)	Flujo Argón (mL min⁻¹)
Secado 1	100	5	5	300
Secado 2	150	20	10	300
Atomización	1100	0	4	0
Limpieza	2400	2	2	300

V.- Resultados y Discusión

V.1.- Optimización del programa rápido de atomización

En primer lugar se establece la etapa de secado del programa de temperaturas del horno de grafito. Se fija una primera etapa de secado a 100°C teniendo en cuenta que el diluyente es agua ultrapura. Esta temperatura se alcanzará de forma rápida, y luego se incrementará suavemente hasta una segunda etapa de secado, con objeto de que el secado sea suave, uniforme y que no se produzcan proyecciones de la muestra (evitando la ebullición brusca de la misma). La segunda etapa de secado se estudió entre 150 y 300°C.

Cuando la temperatura se fija en 150°C el secado se produce de forma brusca, se oye “chisporroteo” dentro del tubo y se observa la salida de humos desde su interior al aumentar la temperatura en la etapa de atomización, con lo que se comprueba que el secado no se produce adecuadamente. Al aumentar la temperatura de esta etapa a 200°C, se observa que el secado de la alícuota de muestra tiene lugar de forma gradual, es uniforme y no produce salpicaduras. En estas condiciones se obtiene una buena señal atómica con un pico estrecho, simétrico y con poca cola **Figura 8**. Si se aumenta dicha temperatura hasta 300°C no se obtienen mejoras significativas por lo que la temperatura de la segunda etapa de secado se establece en 200°C.

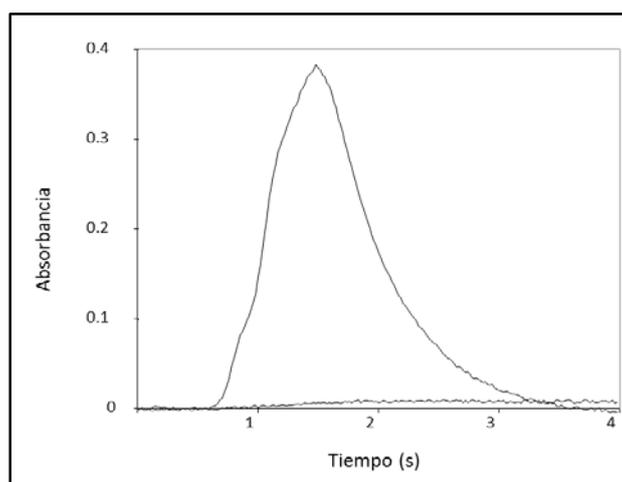


Figura 8. Señal registrada para el Cd al analizar un extracto de sedimento con una temperatura de secado de 200°C.

A continuación, se realiza el estudio de la temperatura de atomización, entre 1100 y 1700°C con una disolución patrón de 1,5 µg/L y con el extracto ácido. En esta

etapa la velocidad de calentamiento ha de ser máxima para que los átomos se volatilicen simultáneamente y el pico de absorbancia que se obtenga sea lo más estrecho posible. Así, se establece un tiempo de rampa de 0 s con lo que el equipo aplica su máxima potencia para aumentar la temperatura en un tiempo muy corto.

Los valores de absorbancia obtenidos para la disolución patrón en función de la temperatura de atomización se muestran en la **Tabla 2**, y en la **Figura 9** se observa que el pico de absorbancia se hace más estrecho al aumentar dicha temperatura.

Tabla 2. Absorbancias obtenidas para una disolución patrón de 1,5 µg Cd/L en función de la temperatura de atomización.

Temperatura (°C)	Absorbancia (µA)
1100	0,2359
1200	0,1924
1300	0,1808
1400	0,1213
1500	0,0847
1600	0,0626
1700	0,0478

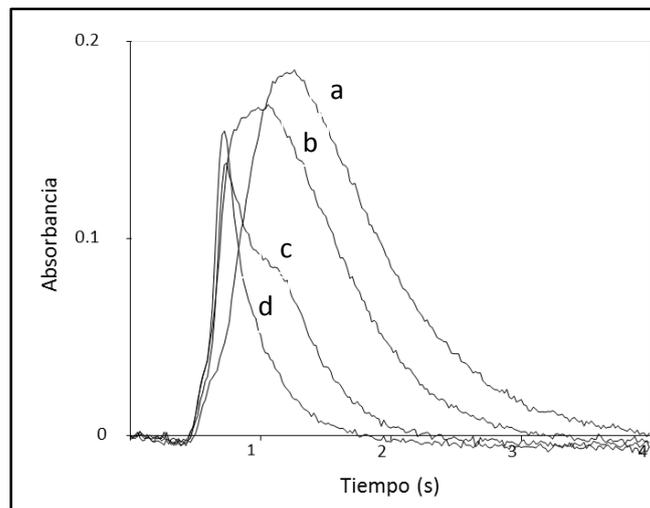


Figura 9. Señales registradas para una disolución patrón de 1,5 µg Cd/L con una temperatura de atomización de: (a) 1100, (b) 1300, (c) 1500 y (d) 1700°C.

Por su parte, los valores de absorbancia obtenidos para el extracto de muestra en función de la temperatura de atomización se muestran en la **Tabla 3**. El perfil del pico atómico se hace más estrecho al aumentar dicha temperatura (**Figura 10**) de la misma forma que ocurre cuando se analizan disoluciones patrón.

Tabla 3.- Absorbancias obtenidas para el Cd al analizar un extracto de sedimento en función de la temperatura de atomización.

Temperatura (°C)	Absorbancia (uA)
1100	0,4287
1200	0,3802
1300	0,3548
1400	0,2647
1500	0,1993
1600	0,1510
1700	0,1147

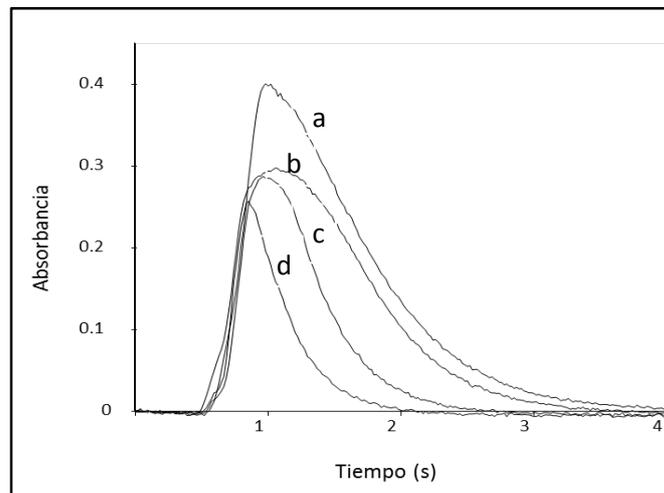


Figura 10. Señales registradas para el Cd al analizar un extracto de sedimento con una temperatura de atomización de: (a) 1100, (b) 1300, (c) 1500 y (d) 1700°C.

En la **Figura 11** se representan las curvas de atomización obtenidas para la disolución patrón de Cd y para el extracto ácido. Como se puede observar, la forma de la curva de atomización es similar para ambas disoluciones. Así, la señal de absorbancia disminuye ligeramente entre 1100 y 1300°C, y a partir de ahí disminuye de forma más brusca. Además, como ya se ha mencionado, el perfil del pico se hace más estrecho al aumentar la temperatura, lo que conlleva una mejora de la reproducibilidad en la medida. Teniendo en cuenta estas consideraciones se selecciona como temperatura óptima de atomización 1300°C.

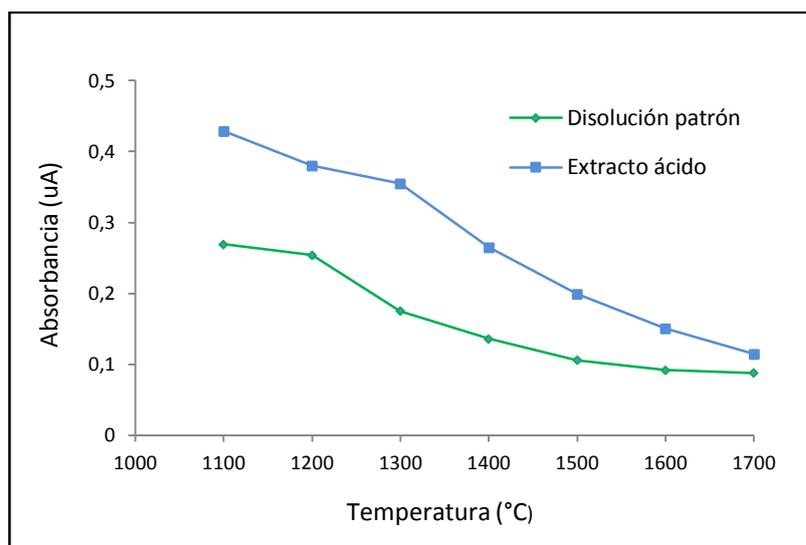


Figura 11. Curvas de atomización del Cd para una disolución patrón de 1,5 µg/L y un extracto de sedimento.

A partir de los estudios anteriores se establece el programa rápido del horno de grafito que se muestra en la **Tabla 4** para determinar cadmio en extractos ácidos de sedimentos. En estas condiciones se obtienen señales de fondo despreciables y un buen pico atómico con poca cola tanto para las disoluciones patrón de Cd como para los extractos ácidos (**Figura 12**).

Tabla 4. Programa rápido del horno de grafito para la determinación de Cd por ETAAS.

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo rampa (s)	Tiempo calentamiento (s)	Flujo Argón (mL min ⁻¹)
Secado 1	100	5	5	300
Secado 2	200	20	20	300
Atomización	1300	0	4	0
Limpieza	2400	2	2	300

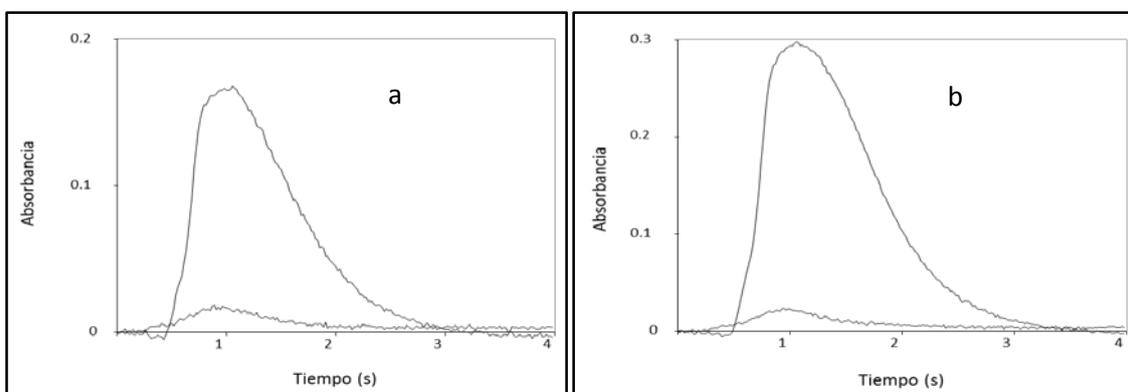


Figura 12. Señales registradas para el Cd al analizar: (a) una disolución de 1,5 µg Cd/L y (b) un extracto ácido.

V.2.- Características analíticas

V.2.1.- Método de cuantificación

Las técnicas espectroscópicas para el análisis de trazas requieren métodos de cuantificación exactos y precisos. Comúnmente, para cuantificar se construye una recta de calibrado donde se relaciona la absorbancia (altura o área del pico), que es la magnitud física medida, representada en el eje de abscisas, frente a la concentración de analito, representada en el eje de ordenadas, usando el método de mínimos cuadrados. Para conocer la concentración de analito en la muestra desconocida se realiza una interpolación de la señal en la recta obtenida. En el caso más simple, esta relación es lineal, y se expresa con la siguiente ecuación:

$$y = a + bx$$

donde la pendiente b , es el factor de proporcionalidad.

Las rectas de calibrado nos permitirán además establecer los límites de detección y cuantificación del método por lo que es importante determinar los errores asociados a los valores de la ordenada en el origen y la pendiente de la recta de calibrado [27].

La calibración directa con patrones acuosos se recomienda siempre que sea posible porque es un procedimiento rápido y sencillo, que permite además la cuantificación en un gran número de muestras, siempre y cuando no exista variación en las condiciones instrumentales ni en el protocolo analítico.

En el caso de muestras complejas, como son los sedimentos, la señal del analito se puede ver alterada por los componentes de la matriz, pudiendo obtener resultados erróneos al emplear calibrados acuosos para realizar la cuantificación. En estos casos se aconseja usar el método de las adiciones estándar que consiste en construir una recta que relacione las señales obtenidas para distintas concentraciones de analito a las que se le ha añadido una cantidad fija de muestra, teniendo en cuenta con ello el efecto de la matriz. Este procedimiento tiene la ventaja de que permite conseguir una adecuada compensación de la matriz, pero por el contrario es un método más laborioso que la calibración directa y el rango analítico suele ser inferior.

Existe un tercer método de cuantificación, denominado método de calibrado de adición, que combina las ventajas de los dos anteriores. Consiste en construir una recta de adición con una muestra y cuantificar las restantes empleando esa misma recta. Este procedimiento es apropiado cuando la matriz que causa interferencias es constante para todas las muestras.

Con objeto de seleccionar el método más adecuado para la cuantificación, se comprueba si existen diferencias significativas entre las pendientes de la recta de calibrado y de la recta de adición aplicando un test de igualdad de las pendientes [27]. Para ello debe establecerse en primer lugar si las desviaciones estándar de ambas difieren estadísticamente con un test F. El parámetro estadístico F se calcula como:

$$F_{exp} = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

donde S_1^2 y S_2^2 son las varianzas para las rectas de calibrado y adición ($S_1^2 > S_2^2$).

El valor obtenido se compara con el valor crítico de F (prueba de una cola) para un nivel de confianza $P= 0,05$. Si el valor de F experimental es menor que el valor de F tabulado, las desviaciones estándar de las rectas de calibrado y de adición no difieren estadísticamente y, por lo tanto, a partir de las desviaciones estándar individuales se puede estimar una desviación conjunta según la siguiente ecuación:

$$S^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

donde n_1 y n_2 son el número de valores de la recta de calibrado y adición, respectivamente. S_1 y S_2 son las desviaciones estándares para cada una de las rectas.

La comparación de los valores numéricos de las pendientes se hace mediante el test t de Student, calculando t experimental (t_{exp}) mediante la siguiente expresión:

$$t = \frac{(x_1 - x_2)}{S \sqrt{\left(\frac{1}{n_1}\right) + \left(\frac{1}{n_2}\right)}}$$

donde x_1 y x_2 son las medias de las rectas de calibrado y adición; n_1 y n_2 son el número de valores para la recta de calibrado y para la recta de adición, respectivamente, considerando un número de grados de libertad ($n_1 + n_2 - 2$).

Si por el contrario, el valor de F calculado es mayor que el valor de F tabulado, las desviaciones estándar de las rectas de calibrado y adición difieren estadísticamente y, por lo tanto, para realizar el cálculo del estadístico t se debe utilizar la siguiente ecuación:

$$t = \frac{x_1 - x_2}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}}}$$

con grados de libertad redondeando el valor obtenido de la siguiente ecuación al número entero más próximo:

$$n = \frac{\left(\frac{S_1^2}{n_1} + \frac{S_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{S_1^4}{(n_1-1)n_1^2} + \frac{S_2^4}{(n_2-1)n_2^2}\right)} - 2$$

Si el valor de t calculado es menor que el tabulado para un nivel de confianza del 95% y el número de grados de libertad correspondiente, se puede establecer que no existen diferencias significativas entre las pendientes de ambas rectas y, por lo tanto, la cuantificación se puede realizar directamente usando la recta de calibrado, con la consiguiente simplificación del análisis. En caso contrario, será necesario utilizar el método de adiciones estándar, o en su defecto el método de calibrado de adición, para compensar el efecto provocado por la matriz.

Con objeto de establecer el método adecuado para la cuantificación de Cd, se construyen rectas de calibrado en el rango establecido y las de adición para el sedimento certificado BCR 701. Los resultados obtenidos para dichas rectas se muestran en la **Tabla 5** y están representadas en la **Figura 13**.

Tabla 5. Rectas de calibrado y adición para el Cd.

Concentración Cd (µg/L)	Absorbancia	
	Calibrado	Adición
0	0,0043	0,1765
0,25	0,0583	0,1936
0,50	0,0952	0,2348
1,00	0,1803	0,2918
1,50	0,2573	0,3890
2,00	0,3396	0,4353
	Abs= 0,1649[Cd] + 0,0116 r= 0,9993 S _b = 0,0029 ; S _a = 0,0033	Abs= 0,1363[Cd] + 0,1613 r= 0,9951 S _b = 0,0067 ; S _a = 0,0076

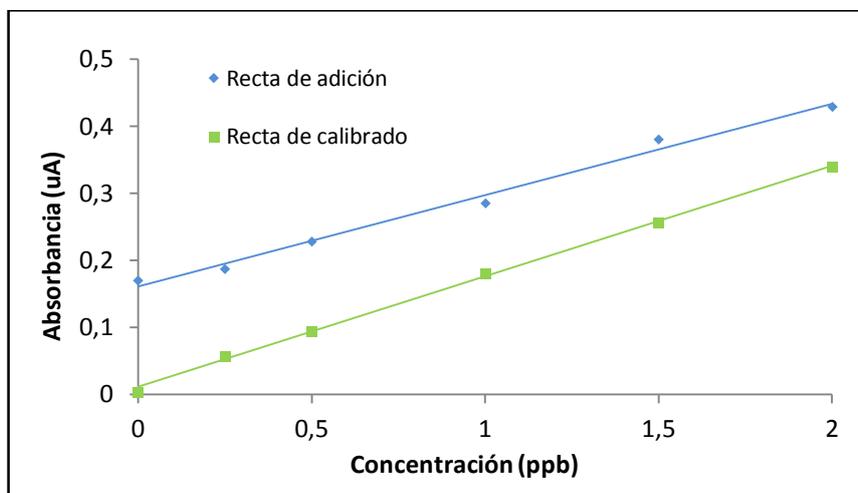


Figura 13. Rectas de calibrado y adición para el Cd.

Se calcula el parámetro F ($F_{exp} = 1,25$) obteniendo un valor menor que el crítico ($F_{tab} = 19,00$), por lo que las varianzas de las rectas de calibrado y de adición se pueden considerar estadísticamente comparables y se puede llevar a cabo el cálculo de la desviación estándar conjunta (S). Por su parte, el valor de t_{exp} ($t = 0,61$), calculado según la ecuación descrita al inicio de este apartado, es menor el valor de t_{tab} ($t_{(95\%,4)} = 2,78$) para un nivel de confianza del 95% y un número de grados de libertad de 4, lo que significa que **no** existen **diferencias significativas entre los valores medios de las pendientes de las dos rectas**, por lo que **no** existe **efecto matriz** y la cuantificación se puede realizar directamente usando la recta de calibrado.

V.2.2.- Límites de Detección y Cuantificación. Sensibilidad y masa característica.

El **límite de detección** está definido por la IUPAC como la mínima concentración o masa de analito que genera una señal que no puede ser confundida con la de un blanco. Se calcula con la siguiente ecuación:

$$LDD = \frac{Y_B + 3S_B}{b}$$

donde Y_B es la media de once señales obtenidas para el blanco de reactivos, S_B es la desviación estándar correspondiente a esas medidas y b es la pendiente de la recta de regresión. El factor 3 asegura un nivel de confianza del 99,9%.

El **límite de cuantificación** se define como la concentración de analito a partir de la cual se pueden realizar cuantificaciones estadísticamente significativas, y se calcula según la siguiente expresión:

$$LDC = \frac{Y_B + 10S_B}{b}$$

Se define la **sensibilidad** como la capacidad de un instrumento para diferenciar pequeñas variaciones en la concentración de analito. En la mayoría de los procesos analíticos la sensibilidad de un instrumento o de un método se expresa normalmente mediante la relación que existe entre la señal analítica y la concentración del analito en la muestra. La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) define la sensibilidad como la pendiente de la curva de calibrado a la concentración objeto de estudio.

Por ello, los factores que coartan la sensibilidad son la pendiente de la curva de calibrado del analito y la precisión del sistema de medida. Se pueden comparar distintas técnicas o métodos en cuanto a sensibilidad siempre y cuando la propiedad medida sea la misma. Por ello, si dos técnicas poseen la misma precisión, será más sensible aquella que presente una mayor pendiente del calibrado.

La sensibilidad de un método de análisis por ETAAS se puede evaluar también utilizando la **masa característica**, m_0 , que es un término que fue propuesto por L'vov y se define como la masa de analito (en pg) que produce una señal de absorbancia (expresada como área integrada) igual a 0,0044 uA. Se calcula para varios niveles de concentración utilizando la siguiente ecuación, y se expresa como el valor medio de los resultados obtenidos.

$$m_0 = \frac{C(\mu\text{g/L}) \cdot V_{\text{muestra}}(\mu\text{L}) \cdot 0.0044}{A_{ic} - A_b}$$

donde C es la concentración del analito (en $\mu\text{g/L}$), V es el volumen de la muestra inyectado en el atomizador (en μL), A_{ic} es la absorbancia correspondiente a cada nivel de concentración y A_b es la absorbancia correspondiente al blanco de reactivos.

Por el método propuesto se obtuvo un límite de detección instrumental de 52,4 ng/L. Para calcular el límite de detección de procedimiento global de análisis se tienen en cuenta las etapas de preparación de la muestra, obteniendo un valor de 0,56 $\mu\text{g/g}$. El límite de cuantificación instrumental obtenido es de 0,10 $\mu\text{g/L}$ y el referido al procedimiento global es de 1,07 $\mu\text{g/g}$.

La masa característica se calcula registrando las absorbancias para patrones de Cd de distintos niveles de concentración (0-2 $\mu\text{g/L}$) y realizando al menos 3 réplicas para cada uno de ellos. El valor medio de este parámetro es $0,48 \pm 0,06$ pg para las disoluciones patrón. Este valor es comparable al facilitado por el fabricante para patrones acuosos (0,35 pg) y al obtenido por Noorbasha et al [26] de 0,40 pg. Para las muestras se alcanzó un valor medio de $1,29 \pm 0,002$, que es del orden del obtenido por Correia et al. (1,46 pg) [28].

V.2.3.- Precisión

La precisión se define como el grado de concordancia entre los resultados obtenidos en las mismas condiciones. Para evaluar la precisión se estudia la precisión de la medida (dispersión de varias medidas realizadas en las mismas condiciones a partir de una alícuota de muestra) y la reproducibilidad del método (estudiando los datos obtenidos para varias alícuotas de muestra analizadas en días diferentes). En ambos

casos se calculan la desviación estándar (S) y la desviación estándar relativa (DER) según las siguientes expresiones:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_i(x_i-\bar{x})^2}{(n-1)}} \qquad DER = \frac{10S}{\bar{x}}$$

donde \bar{x} es la media de los valores obtenidos, n el número de réplicas y x_i son los distintos valores considerados.

La precisión de la medida se estudia para disoluciones patrón de Cd de 0,5 y 2,0 $\mu\text{g/L}$ y también para los extractos ácidos del sedimento de referencia BCR 701 analizando dos volúmenes diferentes (3 y 6 μL), siendo el volumen total introducido en el atomizador de 20 μL (diluyente agua ultrapura). Se realizan con este fin 10 medidas de absorbancia para cada una de las disoluciones. Los valores obtenidos, así como su valor promedio (\bar{x}), la desviación estándar (S) y la desviación estándar relativa (DER) se muestran en la **Tabla 6**. Se observa que la precisión de la medida alcanzada es satisfactoria con valores de $DER < 3\%$, en todos los casos.

Tabla 6. Precisión de la medida de Cd (n=10)

Absorbancia			
Patrón 0,5 $\mu\text{g/L}$	Patrón 2,0 $\mu\text{g/L}$	Extracto 3 μL	Extracto 6 μL
0,136	0,382	0,263	0,426
0,134	0,384	0,265	0,430
0,137	0,389	0,266	0,430
0,137	0,385	0,270	0,422
0,138	0,384	0,269	0,428
0,139	0,387	0,267	0,432
0,137	0,387	0,255	0,428
0,139	0,382	0,254	0,437
0,136	0,383	0,251	0,434
0,137	0,384	0,257	0,433
$\bar{x} = 0,137$	$\bar{x} = 0,385$	$\bar{x} = 0,262$	$\bar{x} = 0,430$
$S = 0,0015$	$DE = 0,0023$	$S = 0,0068$	$S = 0,0043$
$DER = 1,1\%$	$DER = 0,6\%$	$DER = 2,6\%$	$DER = 1,0\%$

Se evalúa la reproducibilidad del método con el fin de considerar la variabilidad introducida por el procedimiento de análisis. Para ello se pesan diferentes alícuotas de 0,025 g del sedimento BCR 701, se le añade 1 mL de ácido clorhídrico 1 M a cada una y se agita durante 16 min con una sonda de ultrasonidos. El extracto obtenido se diluye para adaptar los niveles de Cd en el tubo de grafito y se determina su concentración utilizando el programa rápido de atomización desarrollado, realizando la medida por triplicado. Los resultados obtenidos (**Tabla 7**) muestran que la reproducibilidad alcanzada para el procedimiento global es satisfactoria, con una $DER < 10\%$.

Tabla 7. Precisión del método (n=6)

Concentración (µg/g)
11,86
13,12
11,62
10,63
11,09
10,01
x= 11,39
S= 1,08
DER= 9,5%

V.2.4.- Exactitud

La exactitud se define como la proximidad o concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia que se acepta como verdadero. El valor verdadero de una determinada variable se conoce a través de los materiales de referencia certificados, que son muestras de diferentes tipos que tienen contenidos exactamente conocidos de ciertas especies. Para evaluar la exactitud de un determinado procedimiento debemos analizar un material de referencia de naturaleza similar a las muestras objeto de estudio, con un contenido certificado de la especie que se va a determinar, y comparar el resultado obtenido con el verdadero utilizando la siguiente ecuación:

$$\mu = x \pm \frac{tS}{\sqrt{n}}$$

donde μ es el valor certificado, x el valor medio obtenido, S la desviación estándar, n el número de resultados y t el parámetro estadístico de Student. Se calcula la t experimental y se compara con la t crítica para un determinado nivel de confianza (normalmente 95%) y $n-1$ grados de libertad. Si la t experimental es menor que t crítica, el método es exacto, y por lo tanto el valor verdadero está incluido en el intervalo de confianza calculado con los datos experimentales.

En este trabajo se analizan diferentes alícuotas de 0,025 g del sedimento BCR 701 sometidas al procedimiento ya descrito y analizadas utilizando el programa rápido de atomización desarrollado en este trabajo. Las medidas de absorbancia se realizan por triplicado.

Como se ha mencionado en la introducción de esta memoria, el material de referencia certificado BCR-701 proporciona contenidos certificados de cada una de las

tres fracciones descritas en el procedimiento de extracción secuencial establecido por el Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, antiguo BCR). Sin embargo, el método de extracción empleado en este trabajo se realiza en una sola etapa con objeto de simplificar el procedimiento así como reducir el tiempo y coste del análisis. De acuerdo con la bibliografía, el empleo de HCl diluido en la etapa de extracción proporciona una buena estimación del contenido biodisponible o lábil de los metales en muestras de sedimentos. Al no existir sedimentos certificados para el contenido metálico extraído con este ácido, se considera que la suma de las tres fracciones certificadas en el BCR 701 es una buena aproximación a dicho contenido biodisponible [29, 30].

Teniendo en cuenta estas consideraciones la evaluación de la exactitud se lleva a cabo comparando la concentración de Cd obtenida ($11,39 \pm 1,08 \mu\text{g/g}$) con la suma de las tres fracciones certificadas del material BCR 701 ($11,34 \pm 0,45 \mu\text{g/g}$). Al aplicar el test estadístico, se obtiene una t experimental (0,11) menor que la tabulada ($t_{(95\%,5)} = 2,57$) por lo que se puede considerar que el método propuesto es exacto.

VI. – Conclusiones

El objetivo planteado en este trabajo se alcanzó de forma satisfactoria. Se desarrolló un método para determinar cadmio en sedimentos marinos mediante Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS) basado en los principios de la Química Analítica Verde. Con él se redujo el tiempo de análisis, se minimizó la cantidad de reactivos utilizados y la consiguiente generación de residuos.

El método propuesto ha permitido:

- Establecer un programa rápido de temperaturas del horno de grafito, eliminando la etapa de calcinación, completando el análisis de cada réplica en un minuto. El programa, que consta de dos etapas de secado, una de atomización y una de limpieza, proporcionó perfiles atómicos estrechos y simétricos tanto para disoluciones patrón como para extractos de sedimentos y con una señal de fondo prácticamente despreciable.
- No utilizar modificador químico en la medida instrumental, con el consiguiente ahorro de tiempo y de coste del análisis.
- Realizar la cuantificación directa de cadmio en el sedimento empleando la recta de calibrado, al comprobar que no existe efecto de la matriz.
- Alcanzar una sensibilidad satisfactoria para la determinación de cadmio en sedimentos marinos ($m_o = 1,29 \pm 0,002$ pg; $LOD_{\text{método}} = 0,56$ µg/g; $LOQ_{\text{método}} = 1,07$ µg/g).
- Proporcionar una buena precisión de la medida (DER<3%) y del método de análisis (DER<10%).
- Evaluar la fracción biodisponible de cadmio en sedimentos marinos. El contenido de cadmio obtenido para el sedimento de referencia BCR 701 ($11,39 \pm 1,08$ µg/g) no difiere estadísticamente, a un nivel del 95%, de la suma de los contenidos certificados de las tres etapas de extracción ($11,34 \pm 0,45$ µg/g) descritas en el procedimiento establecido por el Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, antiguo BCR).

Conclusions

The objective of this work was successfully achieved. A method to determine cadmium in marine sediments by Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy (ETAAS) based on the principles of the Green Analytical Chemistry was developed. This allowed reducing the analysis time, minimizing the amount of reagents used and the residues generated.

The proposed method has enabled:

- To establish a rapid temperature program of the graphite furnace, without pyrolysis step and performing each measurement in a minute. The program, consisting on two drying steps, one of atomization and one of cleaning, provided narrow and symmetrical absorbance profiles for, both, the standard solutions and sediment extracts with negligible background signals.
- No chemical modifier added in the instrumental measurement, with subsequent save of time and cost of the analysis.
- To perform the quantification of cadmium in the sediment using the calibration curve, since no matrix effect was observed.
- To achieve a satisfactory sensitivity for the determination of cadmium in marine sediments ($m_o = 1,29 \pm 0,002$ pg; $LOD_{\text{método}} = 0,56$ µg/g; $LOQ_{\text{método}} = 1,07$ µg/g).
- To provide good precision for the measurement step (RSD<3%) and for the overall analytical procedure (RSD<10%).
- To evaluate the bioavailable fraction of cadmium in marine sediments, since the cadmium content obtained for the reference sediment BCR 701 ($11,39 \pm 1,08$ µg/g) was not statistically different, at a confidence level of 95%, from the sum of the certified contents of the three extraction steps ($11,34 \pm 0,45$ µg/g) described in the procedure established by the Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, former BCR).

Conclusións

Dos resultados obtidos neste traballo pódese concluir que se alcanzou o obxectivo planteado debido a que se desenvolveu de forma satisfactoria un método para determinar cadmio en sedimentos mariños mediante Espectroscopia de Absorción Atómica con Atomización Electrotérmica (ETAAS) baseado nos principios da Química Analítica Verde. Isto obtívose na medida instrumental, ó reducir o tempo de análise, minimizar a cantidade de reactivos empregados e a conseguinte xeración de residuos.

O método proposto permitiu:

- Establecer un programa rápido do forno de grafito, eliminando a etapa de calcinación, completando a análise de cada réplica nun minuto. O programa, que consta de dúas etapas de secado, unha de atomización e unha de limpeza, proporcionou perfís atómicos estreito e simétricos tanto para disolucións patrón como para extractos de sedimentos e cunha sinal de fondo practicamente desprezable.
- Non utilizar modificador químico de matriz na etapa de medida instrumental, co consecuente aforro de tempo e de coste da análise.
- Realizar a cuantificación directa de sedimento empregando unha recta de calibrado, ó comprobar que non existe efecto da matriz.
- Alcanzar unha sensibilidade satisfactoria para a determinación de cadmio en sedimentos mariños ($m_o = 1,29 \pm 0,002$ pg; $LOD_{\text{método}} = 0,56$ $\mu\text{g/g}$; $LOQ_{\text{método}} = 1,07$ $\mu\text{g/g}$).
- Proporcionar unha boa precisión da medida ($DER < 3\%$) e do método de análise ($DER < 10\%$).
- Evaluar a fracción biodisponible de cadmio en sedimentos mariños ó proporcionar un contido de cadmio no sedimento certificado BCR 701 ($11,39 \pm 1,08$ $\mu\text{g/g}$) que non difire estadisticamente, a un nivel do 95%, da suma dos contidos certificados das tres etapas de extraccións ($11,34 \pm 0,45$ $\mu\text{g/g}$) descritas no procedemento establecido polo Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM, antigo BCR).

Polo tanto, conseguiuase cumprir o obxectivo do traballo, debido a que o método desenvolto segue as recomendacións da Química Analítica Verde, tanto na etapa de preparación da mostra como na medida instrumental, debido a que reduce o tempo de análise, minimiza a cantidade de reactivos usados e a conseguinte xeración de residuos perigosos.

VII. – Bibliografía

- [1] J. M. L. Nieto. *La química verde*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2011.
- [2] T. Fang, X. Li, and G. Zhang. "Acid volatile sulfide and simultaneously extracted metals in the sediment cores of the Pearl River Estuary, South China" *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2005, vol. 61, no. 3, pp. 420–31.
- [3] P. Quevauviller. "Operationally-defined extraction procedures for soil and sediment analysis. Part 3: New CRMs for trace-element extractable contents" *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2002, vol. 21, no. 11, pp. 774–785.
- [4] R. A. Sutherland, F. M. G. Tack. "Extraction of labile metals from solid media by dilute hydrochloric acid" *Environ. Monit. Assess.*, 2008, vol. 138, no. 1–3, pp. 119–30.
- [5] J. D. Antúnez. *Fundamentos de química ambiental*. Síntesis, 2014.
- [6] S. E. Manahan. *Introducción a la química ambiental*. Reverté, 2006.
- [7] C. Baird, M. Cann. *Química ambiental*. Reverté, 2014.
- [8] M. J. Sanz, J. S. Andreu, A. S. Sánchez. *Química del suelo y medio ambiente*. Publicaciones de la Universidad de Alicante, 2006.
- [9] J. Daintith. *A Concise dictionary of chemistry*. Oxford University Press, 1990.
- [10] *Encyclopedia of Chemical Technology, Volumes 1-25*. John Wiley, 1998.
- [11] R. Alagarsamy. "Distribution and seasonal variation of trace metals in surface sediments of the Mandovi estuary, west coast of India" *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 2006, vol. 33, no 3, pp. 346-356.
- [12] M. Koel, M. Kaljurand. *Green Analytical Chemistry*. Royal Society of Chemistry, 2010.
- [13] M. de la Guardia, S. Armenta. *Green Analytical Chemistry: Theory and Practice*. Elsevier, 2010.
- [14] M. de la Guardia, S. Garrigues. *Handbook of Green Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, 2012.
- [15] Y. He, L. Tang, X. Wu, X. Hou, Y. Lee. "Spectroscopy: The Best Way Toward Green Analytical Chemistry?" *Appl. Spectrosc. Rev.*, 2007, vol. 42, no. 2, pp. 119–138.
- [16] A.R. Castro, R. Ríos, M.C.M Bondi, B.M Simonet. *Técnicas espectroscópicas en química analítica: Espectrometría atómica, de iones y electrones. Volumen II*. Síntesis, 2012.
- [17] A. J. A. Fernández. *Espectroscopia atómica, electrotérmica analítica*. Universidad de León, Secretariado de Publicaciones y Medios Audiovisuales, 2003.

- [18] A. Filgueiras, I. Lavilla, C. Bendicho. "Development of fast thermal programs in electrothermal atomic absorption spectrometry using hot injection and removal of the ashing stage for determination of heavy metals in sequential extracts from sediments" *Anal. Chim. Acta*, 2004, vol. 508, no. 2, pp. 217–223.
- [19] S. Catarino, I. Pimentel, A. Curvelo-Garcia. "Determination of copper in wine by ETAAS using conventional and fast thermal programs: validation of analytical method" *Spectrosc.*, 2005, vol 26, no 2, pp. 73-78.
- [20] I. López-García, I. Arnau-Jerez, N. Campillo, and M. Hernández-Córdoba. "Determination of tin and titanium in soils, sediments and sludges using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction" *Talanta*, 2004, vol. 62, no. 2, pp. 413–9.
- [21] P. B. Barrera, A. M. Piñeiro, J. M. Piñeiro, A. B. Barrera. "Slurry Sampling Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Determination of Lead, Cadmium and Manganese in Human Hair Samples Using Rapid Atomizer Programs" *J. Anal. At. Spectrom.*, 1997, vol. 12, no. 3, pp. 301–306.
- [22] N. N. Meeravali, S. J. Kumar. "Rapid slurry atomization using transverse heated electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of cadmium, copper, manganese and lead in biological reference materials" *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, vol. 13, no. 7, pp. 647–652.
- [23] P. B. Barrera, A. M. Piñeiro, J. M. Piñeiro, A. B. Barrera. "Application of rapid electrothermal atomic absorption spectrometric methods to the determination of Ag, Al, Cd and Mn in cocaine and heroin samples" *Fresenius. J. Anal. Chem.*, 1997, vol. 358, no. 7–8, pp. 844–847.
- [24] S.-C. Chen, M.-Y. Shiue, and M.-H. Yang. "Microwave digestion and matrix separation for the determination of cadmium in urine samples by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry using a fast temperature program" *Fresenius. J. Anal. Chem.*, 1997, vol. 357, no. 8, pp. 1192–1197.
- [25] J. C. Feo, M. a Castro, J. M. Lumbreras, B. de Celis, A. J. Aller. "Nickel as a chemical modifier for sensitivity enhancement and fast atomization processes in electrothermal atomic absorption spectrometric determination of cadmium in biological and environmental samples" *Anal. Sci.*, 2003, vol. 19, no. 12, pp. 1631–1636.
- [26] S. J. Meeravali, N. N., Reddy, M. Kumar. "Fast furnace program with end-capped tubes for the determination of sub-ppb levels of Cd in foods and biological SRMs using ETAAS after ultrasonic probe extraction" 2005, vol. 26, no 2, pp. 68-78.
- [27] J. N. Miller, J. C. Miller. *Estadística y quimiometría para química analítica*. Pearson Educación, 2002.
- [28] P. R. M. Correia, E. Oliveira, P. V. Oliveira. "Simultaneous determination of Cd and Pb in foodstuffs by electrothermal atomic absorption spectrometry" *Anal. Chim. Acta*, 2000, vol. 405, no. 1–2, pp. 205–211.

- [29] R. Sutherland. "Comparison between non-residual Al, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb and Zn released by a three-step sequential extraction procedure and a dilute hydrochloric acid leach for" *Appl. Geochemistry*, 2002, vol. 17, no 4, pp. 353-365.
- [30] J. Kubová, P. Matús, M. Bujdos, I. Hagarová, J. Medved'. "Utilization of optimized BCR three-step sequential and dilute HCl single extraction procedures for soil-plant metal transfer predictions in contaminated lands" *Talanta*, 2008, vol. 75, no. 4, pp. 1110–22.

