UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN SUELOS USANDO VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y APROXIMACIÓN EXPERIMENTAL

Carlos Andrés España Sánchez

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Departamento de Química
Bogotá D. C. Colombia
Agosto de 2.018

DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN SUELOS USANDO VOLTAMPEROMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA Y APROXIMACIÓN EXPERIMENTAL

Carlos Andrés España Sánchez

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Magister en Ciencias Química
Modalidad de profundización
Director
Jesús Alberto Ágreda Bastidas
Línea de Investigación
Química Ambiental
Grupo de Investigación
GERMINA

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Departamento de Química
Bogotá D. C. Colombia
Agosto de 2.018

Quiero expresar mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Colombia y al departamento de Química por brindarme la oportunidad, a través de esta maestría, de crecer personal y profesionalmente. Agradezco de forma especial al Profesor Dr. Jesús Alberto Ágreda Bastidas por aceptarme de nuevo bajo su tutoría para realizar este trabajo de maestría. Su apoyo, muestra de confianza en mis capacidades y su prestancia para guiarme ha sido un aporte invaluable para el desarrollo de este trabajo. Quiero destacar, finalmente, su disponibilidad y compromiso haciendo de este trabajo un valioso aporte para mi crecimiento personal.

Dedicado a mi familia y a mis amigos por sus enseñanzas y su apoyo

Resumen

En este trabajo se hizo una revisión bibliográfica sobre la determinación de As usando la voltamperometría de re-disolución anódica (ASV). Para ello, se investigó el mecanismo de la reacción electroquímica del par redox As(III)/As(0) en electrodos policristalinos de Au, encontrando que la transferencia del primer electrón es la etapa lenta de la reacción. A partir de este hecho, se consultó sobre las superficies más utilizadas como electrodo de trabajo para la determinación de este metaloide. Encontramos que con los discos de Au se obtuvieron límites de detección muy bajos, 0,02 $\mu g\ L^{-1}$, pero su desempeño en el tiempo disminuye por la presencia de óxidos de Au. La literatura consultada, ofrece como alternativa a esta dificultad, el uso de electrodos modificados con nanopartículas metálicas de Au, óxidos de Co, Th, Zr y nanopartículas mixtas de FePt, FeAu y FePd. Se ha propuesto que las condiciones ideales para la determinación de As por voltamperometría implican que las concentraciones de estas nanopartículas, en la superficie del electrodo de trabajo, sean cercanas al 20%, con grosores menores a 10 nm y una distribución de gránulos menor a 100 nm. Alternativamente, se han usado electrodos modificados con materiales compuestos, sobre los cuales se fijaron compuestos como L-cisteína, pirrolidina ditiocarbamato de amonio y dietil-ditiofosfato de amonio, que poseen en su estructura, el grupo funcional Sulfhidrilo (S-H). También, se encontraron investigaciones en las cuales la detección se basó en las reacciones del par As(V)/As(III), lo cual es útil para estudios de especiación. En cuanto a las condiciones específicas de la ASV, los autores consultados estudian la diferencia de potencial y el tiempo empleados para la pre-concentración, el electrolito soporte (especie química, pH y concentración), y la forma del pulso usado para la re-disolución. En este respecto, no se encontraron condiciones comunes, por lo que tales parámetros resultan particulares de cada laboratorio de análisis. Por lo tanto, deben ser optimizados en el desarrollo de cada sistema de medición particular. Finalmente, se revisó el desempeño analítico de la ASV considerando el límite de detección, el intervalo de linealidad, la selectividad y la exactitud. Si bien la literatura disponible da luces en estos temas, también es claro que no existe, hasta donde se logró llegar, un reporte detallado y completo sobre estos aspectos. Así, y con el fin de hacer un aporte al tema, al final de este trabajo y considerando todos los aspectos revisados sobre la determinación de As por ASV, se estableció un modelo general para la estimación de la incertidumbre.

Palabras Clave

Arsénico; Voltamperometría de redisolución anódica; Electrodos de trabajo, Electrodos modificados; electrolito soporte; Técnicas de pulso; Límite de detección; Intervalo lineal; Selectividad; Exactitud; Estimación de la incertidumbre.

Abstract

A review about Arsenic determination by anodic stripping voltammetry (ASV) was made. The electrochemistry reaction mechanism of As(III)/As(0) on polycrystalline gold electrodes was review. We find that first electron transfer, is the rate-determining step of this electrochemical reaction. Also, the most used surfaces as working electrode by Arsenic determination using ASV technique were investigated. We find a very low detection limits (0,02 μg L^{-1}) using gold disk electrodes but, the performance of this working electrodes decreases by the appearance of gold oxides on the electrode surface. By overcome this restriction, we found that gold, cobalt, thorium, zirconium and bimetallic nanoparticle electrodes such FePt, FeAu y FePd can be used. It has been proposed that the surface concentration of mediator species for Arsenic determination must be 20 %, with a thickness of 10 nm, and the size distribution of nanoparticles on the surface close to 100 nm. Alternatively, it has been used modified electrodes as composites, including species as L-cysteine, APDTC and ADDTP, all of them with sulfhydryl group (SH). Also, we found some papers where Arsenic determination is based on As(V)/As(III) redox couple. This fact is useful in speciation studies. In respect of specific conditions of the ASV technique, we found that the most authors consider factors such as potential difference, the deposition time employed in a pre-concentration step, the supporting electrolyte (chemical composition, pH and concentration) and the characteristics of pulse technique in the stripping step. In this fact, we were unable to find common conditions by these factors, so such parameters are particular in each testing laboratory and thus must be optimized in a development of each measurement system. Finally, the analytic performance of the ASV technique considering factors such detection limit, linearity, selectivity and accuracy was review. Although, the available literature sheds light on these issues, also it is clear that do not exist, as far as we know, a detailed report about these aspects. Thus, and in order to make a contribution to the issue, at the end of this work and considering all the aspects reviewed on the determination of As by ASV, a general model was proposed for the uncertainty estimation.

Keywords

Arsenic; Anodic stripping voltammetry; Working electrodes, Modified electrodes; Supporting electrolyte; Pulse techniques; Detection limit; Linear range; Selectivity; Accuracy; Uncertainty estimation.

Tabla de contenido

Resumen v
Palabras Clave v
Abstract.. vi
Keywords vi
Tabla de contenido vii
Lista de Figuras. ix
Lista de Tablas. x
Lista de Ecuaciones. xi
Lista de Abreviaturas xii
Glosario de términos. xiv
Introducción xvi
1. Generalidades sobre la cuantificación del Arsénico por voltamperometría. 1
1.1 El Arsénico en medios acuosos. 1
1.2 Fundamentos de la voltamperometría de redisolución anódica (ASV) 1
1.3 Comportamiento electroquímico del As. 3
2. Detalles experimentales de la cuantificación de Arsénico por ASV. 8
2.1 Material del electrodo de trabajo para medir Arsénico 8
2.1.1 Electrodos de Hg y de disco metálico 8
2.1.2. Electrodos modificados con películas de nanopartículas metálicas 11
2.1.2.1 Electrodos de trabajo recubiertos con películas de Au. 11
2.1.2.2. Electrodos con películas de metales diferentes al Au. 13
2.1.3. Electrodos modificados con materiales compuestos 14
2.2. Condiciones experimentales para la pre-concentración 15
2.3. Las técnicas de pulso durante la etapa de re-disolución. 15
2.4. El electrolito soporte. 16
2.4.1. El pH del electrolito soporte 16
2.4.2 La concentración del electrolito soporte. 17
3. Desempeño analítico de la ASV para la determinación de As. 18
3.1 Límite de detección 18
3.2 Intervalo de linealidad. 18
3.3 Selectividad 19
3.4 Exactitud en la determinación de As por ASV 20
3.5 La ASV como una técnica de análisis de rutina para la cuantificación de As. 21

4. Estimación de la incertidumbre en la determinación de As por ASV 22
4.1 Fuentes de incertidumbre en la medición de As por ASV 22
4.2 Consideraciones sobre el proceso de estimación de la incertidumbre. 25
5. Conclusiones. 26
6. Anexo: Determinación de As por ASV 28
6.1 Aspectos experimentales sobre la determinación de As por ASV 28
6.2 Evaluación del límite de detección y del intervalo lineal. 28
6.3 Evaluación de la selectividad 29
6.4 Determinación de As en el material de referencia MAT-SL de suelo 31
7. Bibliografía 34

Lista de Figuras.

Figura 1. Diagrama de Pourbaix (E-pH) para especies acuosas de As en el sistema As-O_2-H_2O a 25 C y 1 bar de presión. Imagen tomada de Smedley et al., 2002[29] 1

Figura 2. Perfil de potencial típico de un experimento de ASV para la determinación de As. 2

Figura 3. Un voltamperograma cíclico para el As. Condiciones experimentales: Electrodo de trabajo BDD con película de Au formada durante 30 s; concentración de As 0,10 ± 0,01 µg L^{-1}; velocidad de barrido 50mV s^{-1} y electrolito soporte regulador de pH 5 de fosfatos 100 mM. 7

Figura 4. Intervalo de concentraciones explorado para la determinación de As^{3+} usando DP-ASV..... 28

Lista de Tablas.

Tabla 1. Niveles máximos permitidos de As en diferentes matrices según la legislación de Colombia. xvii

Tabla 2. Listado de laboratorios de ensayo acreditados por la ONAC para la determinación de As en agua potable. xvii

Tabla 3. Métodos analíticos usados para la cuantificación de As en Aguas. xix

Tabla 4. Principales aspectos experimentales reportados para la determinación de As por ASV. 9

Tabla 5. Expresión general para los coeficientes de sensibilidad asociados a cada variable en el modelo matemático. 24

Tabla 6. Curva de calibración en concentraciones bajas, (0,011 a 0,084 μg L^{-1}), para la cuantificación de As(III) usando DP-ASV. 29

Tabla 7. Variación de la altura de pico del As en DP-ASV en presencia de Cd, Pb y Cu usando el electrodo de BDD con película de oro formada durante 30 segundos. 30

Tabla 8. Especies químicas extraíbles en agua regia, y sus concentraciones, según el certificado del material de referencia MAT-SL de suelo. 31

Tabla 9. Cuantificación de As usando DP-ASV en el material certificado MAT-SL. 33

Lista de Ecuaciones.

Ecuación 1. Posibles procesos de óxido-reducción del As en VC, reportados por Wei et al.[37]..... 3

Ecuación 2. Reacción de reducción de As(III)..... 3

Ecuación 3. Formación de H_3AsO_3 a partir de $As^0_{(ad)}$ y $HAsO_2$ en medio acuoso. 4

Ecuación 4. Acoplamiento entre la evolución de hidrógeno y la reducción de $As(OH)_{3(sol)}$. 4

Ecuación 5. Oxidación de As^0 durante la re-disolución..... 4

Ecuación 6. Etapas de la reacción de oxidación del As^0 durante la re-disolución..... 4

Ecuación 7. Transferencia de electrones durante la oxidación de la especie $As^0_{(ad)}$..... 5

Ecuación 8. Ecuaciones diferenciales del modelo matemático propuesto por Robles et al.[41] 5

Ecuación 9. Proceso de electrodo de la pareja As(III)/As(0) asociada a la señal de respuesta durante la cuantificación de As usando voltamperometría. 6

Ecuación 10. Especies de Co mediadoras en la reacción de oxidación de As(III) hasta As(V) según Salimi et al. 13

Ecuación 11. Agrupamiento de las incertidumbres típicas según: electrodo de trabajo (A), parámetros de la técnica (B), pre-tratamiento de la muestra (C), y exactitud (D)..... 23

Ecuación 12. Modelo matemático genérico para la determinación de As por ASV..... 24

Ecuación 13. Expresión general para la estimación del coeficiente de sensibilidad en la medición de [As]..... 24

Ecuación 14. Expresión para el cálculo de la incertidumbre combinada en la determinación de As por ASV..... 25

Lista de Abreviaturas

Abreviatura	Significado
INM	Instituto Nacional de Metrología
MRC	Material de referencia certificado
NIST	National Institute of Standards and Technology
ONAC	Organismo Nacional de Acreditación de Colombia
ASV	Voltamperometría de Redisolución Anódica
DP-ASV	Voltamperometría de Redisolución Anódica con detección por DPV
SW-ASV	Voltamperometría de Redisolución Anódica con detección por SWV
DPV	Voltamperometría de pulso diferencial
SWV	Voltamperometría de onda cuadrada
LSV	Voltamperometría de barrido lineal
VC	Voltamperometría cíclica
CSV	Voltamperometría de redisolución catódica
FePt	Electrodo de nanopartículas de hierro y platino
FeAu	Electrodo de nanopartículas de hierro y Oro
FePd	Electrodo de nanopartículas de hierro y paladio
HDME	Electrodo de gota colgante de mercurio
SCE	Electrodo de calomel saturado
Ag/AgCl	Electrodo de referencia de plata/cloruro de plata
CP	Electrodo de pasta de carbón
CP-ZrO_2-5	Pasta de carbón modificada con ZrO_2 al 5%
CP-ZrO_2-10	Pasta de carbón modificada con ZrO_2 al 10%
CP-ThO_2-5	Pasta de carbón modificada con ThO_2 al 5%
CP-ThO_2-10	Pasta de carbón modificada con ThO_2 al 10%
RDE	Electrodo de disco rotatorio
HA	Ácidos húmicos
APDTC	Pirrolidina ditiocarbamato de amonio
ADDTP	Dietil-ditiofosfato de amonio
GC-Q-Fe-L-Cys	Material compuesto de quitosano modificado con Fe y L-cisteína sobre electrodo de GC
ICP-OES	Plasma acoplado inductivamente con detección óptica
ICP-MS	Plasma acoplado inductivamente con detección de espectrometría de masas
AAS	Espectroscopia de Absorción atómica
HG-AAS	Absorción atómica con generación de hidruros
IR-TF	Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier
GC	Electrodo de carbón vítreo
BDD	Electrodo de diamante dopado con boro
$HAuCl_4$	Ácido tetracloroaúrico
UBM	Unbalanced magnetron cosputtering
XPS	Espectroscopia fotoelectrónica
AFM	Microscopia de fuerza atómica
u_c	Incertidumbre combinada
k	Factor de cobertura
U	Incertidumbre expandida
u_{xi}	Incertidumbre típica de la variable x_i
c_{xi}	Coeficiente de sensibilidad de la variable x_i
RSD	Desviación estándar relativa porcentual
LD	Límite de detección

Abreviatura	Significado
$[As]_{total}$	Concentración de As total obtenida a partir del modelo matemático
$[As]_{reg}$	Concentración de As obtenida a partir del modelo de regresión
$m_{muestra}$	Masa de la muestra tomada durante la medición de la concentración de As
m_{d1}	Dilución en masa 1
m_a	Alícuota de la disolución obtenida a partir de la dilución en masa 1
m_{df}	Dilución en masa final
u_{we}	Incertidumbre típica asociada al electrodo de trabajo
c_{we}	Coeficiente de sensibilidad asociado a la variable electrodo de trabajo
u_{pt}	Incertidumbre típica asociada a parámetros de la técnica
c_{pt}	Coeficiente de sensibilidad asociado a la variable parámetros de la técnica
u_{pm}	Incertidumbre típica asociada al pre-tratamiento de la muestra
c_{pm}	Coeficiente de sensibilidad asociado a la variable pre-tratamiento de la muestra
u_e	Incertidumbre típica asociada a la exactitud
c_e	Coeficiente de sensibilidad asociado a la variable exactitud
u_I	Incertidumbre típica asociada a los interferentes
c_I	Coeficiente de sensibilidad asociado a la variable interferentes
x_{we}	variable electrodo de trabajo
f_{we}	Factor asociado a la variable electrodo de trabajo
x_{pt}	variable pre-tratamiento de la muestra
f_{pt}	Factor asociado a la variable pre-tratamiento de la muestra
x_{pm}	variable parámetros del método
f_{pm}	Factor asociado a la variable parámetros del método
x_e	variable exactitud
f_e	Factor asociado a la variable exactitud
x_I	variable interferentes
f_I	Factor asociado a la variable interferentes

Nota: En este trabajo todas las diferencias de potencial están referidas al electrodo de Ag/AgCl, excepto en los casos en los cuales se especifique lo contrario.

Glosario de términos.

Los siguientes términos son tomados del vocabulario internacional de metrología[1]:

Precisión: Proximidad entre los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas de una misma propiedad bajo condiciones especificadas, las cuales pueden ser:

-Condición de Repetibilidad: Condición de medición que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medición, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas de la misma propiedad en un periodo corto de tiempo.

-Condición de Precisión intermedia: Condición de medición que incluye el mismo procedimiento de medición, el mismo lugar y mediciones repetidas de la misma propiedad durante un periodo amplio de tiempo y que puede incluir otras condiciones que involucren variaciones.

-Condición de Reproducibilidad: Condición de medición que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medición y mediciones repetidas de la misma propiedad.

Error de medida: Diferencia entre el valor medido de una propiedad y un valor de referencia.

Error sistemático: Componente del error de medida que, en mediciones repetidas, permanece constante o varía de manera predecible.

Error aleatorio: Componente del error de medida que, en mediciones repetidas, varía de manera impredecible.

Veracidad: Proximidad entre la media de un número infinito de valores medidos repetidos y un valor de referencia de un mensurando.

Incertidumbre: Parámetro no negativo relacionado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores atribuibles a la propiedad objeto de la medición.

Evaluación tipo A de la incertidumbre: Evaluación de un componente de la incertidumbre de medida mediante un análisis estadístico de los valores medidos obtenidos bajo condiciones de medida definidas.

Evaluación tipo B de la incertidumbre: Evaluación de un componente de la incertidumbre de medida de manera distinta a una evaluación tipo A. Está basada en información obtenida a partir de valores:

- Publicados y reconocidos.
- De un material de referencia certificado obtenidos a partir de un certificado de calibración.
- Asociados a la deriva de un instrumento de medición.
- De la clase de exactitud de un instrumento de medida verificado.
- De los límites procedentes de la experiencia personal.

Desviación típica: Llamada también desviación estándar es una medida del grado de dispersión de un conjunto de datos con respecto a un valor central. En términos prácticos corresponde a la variación

esperada con respecto a la media de una serie de valores obtenidos de la medición de una propiedad determinada en condiciones de repetibilidad, precisión intermedia y/o reproducibilidad.

Incertidumbre típica: Incertidumbre de medida expresada como una desviación típica.

Incertidumbre combinada: Incertidumbre típica obtenida a partir de las incertidumbres típicas individuales asociadas a las variables de entrada de un modelo de medición.

Incertidumbre expandida: Producto de una incertidumbre típica combinada y un factor mayor que uno. Tal factor depende del tipo de distribución de probabilidad de la variable de salida en un modelo de medición y del intervalo de probabilidad de cobertura elegido.

Intervalo de probabilidad de cobertura: Probabilidad de que el conjunto de los valores verdaderos de un mensurando esté contenido en un intervalo de cobertura especificado.

Factor de cobertura: Número mayor que uno por el que se multiplica una incertidumbre típica combinada para obtener una incertidumbre expandida.

Intervalo de cobertura: Intervalo que contiene el conjunto de valores verdaderos de una propiedad con una probabilidad determinada, basada en la información disponible.

Cadena de trazabilidad metrológica: Propiedad de un resultado de medida que permite relacionar la medida realizada con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de la medida.

Introducción

La concentración de As máxima permitida en agua potable, según la agencia de protección ambiental[2] de los Estados Unidos, es de 10 µg L^{-1}, un valor ciertamente bajo que puede ser fácilmente superado en agua u otros alimentos contaminados, particularmente aquellos alimentos cultivados en ambientes expuestos al As[3]. El consumo continuado de agua o alimentos con As puede ocasionar problemas de salud pública, generando enfermedades crónicas tales como la arsenicosis, el cáncer de piel, de vejiga o de pulmón y/o efectos no carcinogénicos asociados a los sistemas nervioso central, reproductivo, hormonal y efectos hematológicos, entre otras patologías[4]. Existen reportes preocupantes que describen la liberación de cantidades significativas de As en aguas para el consumo humano que han afectado a millones de personas en Bangladesh, Hungría, México, Argentina, Estados Unidos, España, Polonia, Chile y Nueva Zelanda[5]. En América Latina se han documentado eventos asociados a la presencia de niveles altos de As en agua subterránea en la provincia de Córdoba y el Chaco-La Pampa en Argentina, la Comarca Lagunera y Durango en México o en la zona de Atacama al norte de Chile. Estos hechos han contribuido al desarrollo de políticas de prevención y mitigación. En Colombia la información sobre contaminación con As es escasa, aunque existen varias zonas del país con potencial riesgo de exposición al As debido al creciente consumo de agua subterránea y/o de agua proveniente de fuentes hídricas cercanas a sitios de explotación minera de oro en departamentos como Caldas, Antioquia, Tolima, Cauca, Nariño y Santander[6].

Los estudios geológicos de las rocas colombianas revelan la presencia de minerales que contienen As, especialmente en zonas mineras de Antioquia, Valle del Cauca, Nariño, Bolívar y Caldas[3], siendo la Arsenopirita el mineral más común. Particularmente, se ha reportado la presencia de este mineral en distritos mineros de oro como El Diamante en el departamento de Nariño[7] y en Marmato en el departamento de Caldas[8]. Existe un riesgo real asociado a la liberación de As en fuentes hídricas producto de la minería del oro. Este hecho ha sido evidenciado en los medios de comunicación. Así, el diario el espectador reportó el 6 de mayo de 2013[9], los resultados de una investigación realizada por la contraloría general de la nación sobre el estado de la minería en el país. En este reporte, se hace un estimativo de la cantidad de algunas sustancias liberadas por la minería del oro. Entre los más peligrosos están la liberación de 170 gramos de Pb, 10 gramos de Cr y 40 gramos de As, por cada gramo de Au extraído. En otro artículo, publicado en el número 177 del periódico de la Universidad Nacional de Colombia el 6 de mayo del año 2014, se reporta una eventual afectación de los acuíferos de la zona del municipio de Vetas-California en el páramo de Santurbán, como fruto del proceso de exploración minera en busca de Au[10]. Igualmente, la emisora Caracol Radio en la ciudad de Pereira realizó una nota el 1 de agosto de 2016 en la que informó sobre el hallazgo de arsénico en el río san Eugenio. Este río surte de agua al acueducto de la ciudad de Santa Rosa de Cabal. La nota termina anunciando actividades de mitigación (sin especificar cuáles), por parte de la secretaria de salud del departamento de Risaralda[11]. La conclusión de esta serie de reportes es la evidente presencia de As en distintas fuentes hídricas del país.

En Colombia se han establecido, a través de diferentes normas, los niveles máximos permitidos para el As en varios tipos de aguas según se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Niveles máximos permitidos de As en diferentes matrices según la legislación de Colombia.

Tipo de Matriz	Concentración máxima permitida de As / µg L^{-1}	Referencia
Agua para consumo agrícola	100	Decreto 1575 de 2007[12]
Agua dulce	100	Decreto 1575 de 2007[12]
Agua de estuarios	100	Decreto 1575 de 2007[12]
Agua de mar	100	Decreto 1575 de 2007[12]
Agua potable	10	Resolución 2115 de 2007[13]
Agua de uso doméstico	10	Resolución 2115 de 2007[13]

En la condición actual de Colombia, no existe evidencia científica suficiente para establecer el grado de cumplimiento de dichas normas. Adicionalmente, en muchas zonas del país existe la minería ilegal cuyas prácticas poco controladas, seguramente, incrementan la contaminación con As en los sitios aledaños a las zonas de explotación.

Otro aspecto a tener en cuenta, respecto a la problemática del As en Colombia, es la infraestructura para la calidad que posee el país[14]. Específicamente nos referimos a la capacidad para la determinación de este elemento tóxico, en términos de las herramientas metrológicas con las que se cuenta para garantizar la calidad de los sistemas de medición que usan los laboratorios de análisis y ensayo. En este punto, la cadena de trazabilidad metrológica es crucial y la entidad responsable de este asunto en Colombia es el Instituto Nacional de Metrología (INM). Este instituto no cuenta con la oferta adecuada de materiales de referencia certificados (MRC), ni de ensayos de aptitud para el control de los análisis de As, por ejemplo, en aguas, alimentos o suelos. Dada esta circunstancia, un laboratorio especializado en este tipo de mediciones debe adquirir tales MRC a través de organismos similares de otros países, como el NIST (*National Institute of Standards and Technology*) de EE.UU. Es bueno recordar que estos elementos de calidad metrológica constituyen un aspecto crucial en la evaluación de la competencia técnica de un laboratorio de ensayo, siendo además, de uso obligatorio para la verificación y validación de las metodologías de análisis que se acreditan según la norma ISO/IEC 17025:2005[15].

La falta de esta infraestructura para la calidad, en este tipo de mediciones, contribuye a que el país no cuente con la cantidad suficiente de laboratorios especializados para llevar a cabo esta determinación. Esto es evidente si se revisa la base de datos de la Organización Nacional de Acreditación de Colombia (ONAC), en la que solo se encuentran 4 laboratorios de ensayo acreditados para medir As en agua potable, Tabla 2.

Tabla 2. Listado de laboratorios de ensayo acreditados por la ONAC para la determinación de As en agua potable.

Laboratorio	Técnica	Intervalo de medición / µg L^{-1}
Acueducto de Bogotá[16]	ICP-OES	10 – 10.000
Inspectorate Colombia[17]	HG-AAS	1,58 - 20
Tecnimicro[18]	HG-AAS	1 - 100
Acueducto de Barranquilla[19]	HG-AAS	0,5 - 20

Este panorama constituye una oferta muy baja si se tiene en cuenta el riesgo, en constante aumento, de contaminación de los acuíferos nacionales debido al creciente aumento de la minería del Au. Además, estos laboratorios utilizan como técnicas de análisis ICP-OES y HG-AAS cuyos parámetros analíticos de desempeño son buenos, pero con costos de mantenimiento y operación muy altos. Esto justifica la búsqueda de una alternativa de medición con características metrológicas similares pero que permita bajar los costos de funcionamiento.

Debido a esta serie de circunstancias, el país está en la necesidad de generar capacidades de medición que permitan fortalecer los procesos de determinación de As en agua, suelos y sedimentos. El desarrollo de estos procesos de medición requiere la puesta a punto de metodologías de análisis para la determinación de As que tengan:

- Alta sensibilidad.
- Buena precisión, en términos de repetibilidad y precisión intermedia.
- Alta selectividad.
- Intervalo lineal suficientemente amplio.
- Buena veracidad, evaluada como porcentaje de recuperación.
- Baja incertidumbre en la medición.
- Límites de detección y de cuantificación suficientemente bajos.
- Disponibilidad de instrumentos, materiales y reactivos en condiciones de inocuidad.
- Rapidez en el análisis.
- Portabilidad.
- Bajos costos de operación y mantenimiento.

No existe un método de análisis “perfecto” y que cumpla cabalmente con todos los criterios, especificaciones y requerimientos deseados para la cuantificación de un mensurando particular (incluido el As). Por el contrario, todos los métodos de análisis presentan algún tipo de limitación, ya sea por la complejidad en el seguimiento de la propiedad que se relaciona con la concentración, por los altos costos de funcionamiento, o por la falta de alguno de los requerimientos que se acaban de listar. En el mercado existen varios tipos de metodologías para la cuantificación de As en aguas[20]. Los métodos de uso más frecuente son la emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES o ICP-MS), y la absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS) o con generador de hidruros (HG-AAS). Menos frecuente, pero con el menor límite de detección, encontramos a la voltamperometría de re-disolución anódica (ASV). Las normas que utilizan estas técnicas, y sus respectivos límites de detección, se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Métodos analíticos usados para la cuantificación de As en Aguas.

Tipo de metodología		Técnica	Límite de detección / µg L^{-1}
Multicomponente	EPA 200.8[21]	ICP-MS	1,4
	EPA 200.7[22]	ICP-OES	8
	SM 3120 B[23]	ICP-OES	50
Unicomponente	EPA 200.9[24]	GF-AAS	0,5
	SM 3113 B[25]	GF-AAS	1
	ASTM D 2972-93-C[26]	GF-AAS	5
	SM 3114 B[26]	HG-AAS	0,5
	ASTM D 2972-93-B[26]	HG-AAS	1
	EPA 7063[27]	ASV	0,10

Dentro de esta gama de posibilidades para la determinación de As, la ASV tiene mucho que aportar, dada su alta sensibilidad analítica y bajo límite de detección. Por tanto, en el presente trabajo nos hemos dado a la tarea de revisar el estado del arte de los métodos ASV para cuantificar As. Los aspectos que hemos considerado más relevantes para la construcción de esta monografía son:

- El mecanismo de óxido-reducción del As, durante los procesos de cuantificación del mismo.
- Las diferencias de potencial requeridas para la reducción y posterior oxidación del As, en una determinación cuantitativa por ASV. El tiempo requerido para la reducción ha sido incluido en este punto, como parte del estudio de la etapa de pre-concentración.
- La forma del pulso utilizado durante el paso de cuantificación.
- La naturaleza del electrolito soporte, su pH y su concentración.
- El tipo y naturaleza del electrodo de trabajo, incluyendo los electrodos químicamente modificados.
- El desempeño de la técnica en términos de los principales parámetros analíticos usados para su eventual validación, a saber:
    - Límite de detección.
    - Intervalo de linealidad
    - Selectividad.
    - Exactitud.
    - Evaluación de la incertidumbre en la medición.
    - Factibilidad de implementación de la técnica a nivel de laboratorios de análisis de rutina

1. Generalidades sobre la cuantificación del Arsénico por voltamperometría.

1.1 El Arsénico en medios acuosos.

El arsénico es un metaloide capaz de formar varios oxianiones en disoluciones acuosas. La presencia de una u otra especie depende del pH y del potencial redox del medio[28]. En aguas naturales es comúnmente encontrado como oxianiones de As(III) o As(V). Las formas orgánicas del As pueden presentarse como una consecuencia de la actividad biológica en un ambiente determinado, sobre todo en aguas superficiales expuestas a la contaminación industrial. La relación entre las formas As(III)/As(V) puede monitorearse a partir del potencial redox (E) y del pH del medio[29]. El diagrama de Pourbaix, que se observa en la Figura 1, muestra que bajo condiciones oxidantes la especie dominante es $H_2AsO_4^-$ particularmente en valores bajos de pH (menores a 6,9), mientras que a valores altos de pH la especie $HAsO_4^{2-}$ pasa a ser la dominante. De otra parte, las especies $H_3AsO_4^0$ y AsO_4^{3-} son dominantes en condiciones extremas de acidez y alcalinidad, respectivamente. En condiciones reductoras, y con pH menor a 9,2, predomina la especie $H_3AsO_3^0$, mientras que por encima de pH = 9,2 predominan las especies $H_2AsO_3^-$, $HAsO_3^{2-}$ y AsO_3^{3-}.

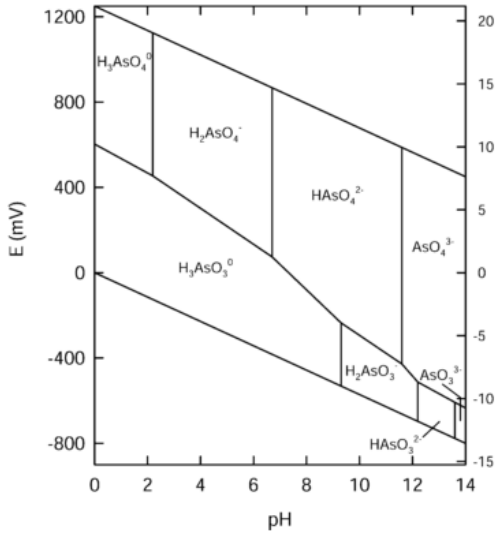


Figura 1. Diagrama de Pourbaix (E-pH) para especies acuosas de As en el sistema As-O_2-H_2O a 25 C y 1 bar de presión. Imagen tomada de Smedley et al., 2002[29]

Este comportamiento del As en medios acuosos permite seleccionar el electrolito soporte más adecuado para realizar los procesos de medición por ASV y distinguir entre las formas As(III) y As(V) en estudios de especiación[30].

1.2 Fundamentos de la voltamperometría de redisolución anódica (ASV)

Los métodos electroquímicos se basan en la medición de señales de corriente relacionadas con procesos redox interfaciales en los que interviene la especie química de interés[31]. La voltamperometría fue desarrollada a partir de la polarografía que fue inventada por Jaroslav Heyrovsky hacia el año 1922[32]. Posteriormente, se desarrollaron las técnicas de pulso y de re-disolución[33]. Actualmente, la voltamperometría de redisolución anódica ASV, es una de las técnicas electroanalíticas más utilizadas para la determinación de elementos tóxicos a nivel de trazas ($\mu g\ kg^{-1}$) en muestras ambientales, clínicas e industriales[34]. La alta sensibilidad de la ASV se debe tanto al paso de pre-concentración del analito sobre la superficie del electrodo de trabajo, como al paso de análisis en el que se emplean pulsos de potencial que logran discernir la señal de oxidación del analito (corriente faradaica), de la señal capacitiva de fondo. La ASV se lleva a cabo en tres etapas a saber[35]:

- **Paso de pre-concentración**: La pre-concentración del analito sobre la superficie del electrodo de trabajo, se logra mediante el control de la diferencia de potencial aplicada, el tiempo durante el cual se aplica dicha diferencia de potencial, la velocidad de agitación, la temperatura y el área del electrodo[36].

- **Periodo de reposo**: Después de un tiempo determinado se detiene la etapa de pre-concentración, suspendiendo la agitación, pero manteniendo la diferencia de potencial aplicada. Durante esta etapa, se disminuyen los fenómenos convectivos, permitiendo que la transferencia de masa del analito esté controlada esencialmente por la difusión.

- **Etapa de re-disolución**: Es la aplicación de un barrido de potencial que provoca la re-disolución del analito. Este paso genera una señal en forma de pico, cuya área es directamente proporcional a la concentración de la especie química que se está midiendo. El barrido de potencial puede realizarse de varias maneras, los más usados son el pulso diferencial (DP) y la onda cuadrada (SW).

La Figura 2 muestra un esquema, en función del tiempo, de la forma usual de realizar una ASV.

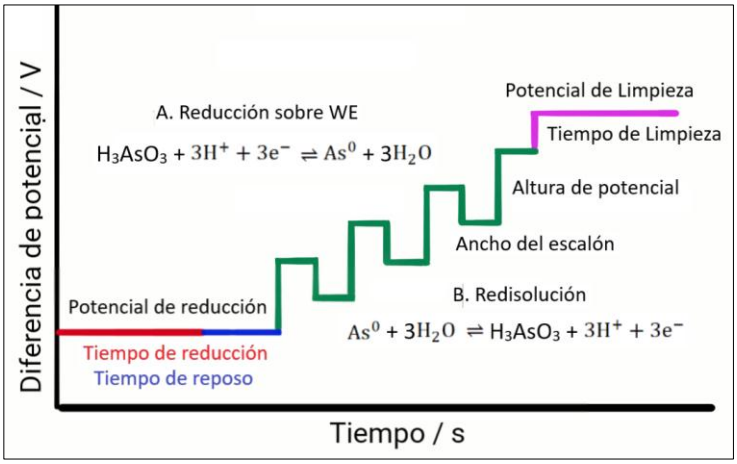


Figura 2. Perfil de potencial típico de un experimento de ASV para la determinación de As.

Existen tres tipos de técnicas derivadas de este proceso general que pueden ser utilizadas para la determinación de elementos tóxicos: la ya mencionada, voltamperometría de redisolución anódica (ASV), la voltamperometría de redisolución catódica (CSV) y la voltamperometría de redisolución adsortiva (AdSV). En cualquier caso, se deben tener en cuenta las siguientes variables[36]:

- El material de los electrodos de trabajo.
- Las condiciones hidrodinámicas del sistema.
- La naturaleza del electrolito soporte.
- La diferencia de potencial aplicada para la reducción (E_r), u oxidación, según corresponda.
- El tiempo de reducción (t_r), u oxidación.
- El tiempo de reposo (t_p).
- Las características del barrido de potencial usado para obtener la señal de respuesta.
- La ventana de potencial.

1.3 Comportamiento electroquímico del As.

Existen varias investigaciones sobre el comportamiento electroquímico del As. Wei et al.[37] estudiaron la reacción de óxido-reducción de una mezcla de As(III) y As(V) en HCl 1 M mediante VC utilizando un electrodo de disco rotatorio de Pt de 0,5 cm^2 de área geométrica. Estos autores relacionaron las señales en los respectivos VC con las reacciones redox de la Ecuación 1, esto es, la reacción del par redox $HAsO_2/H_3AsO_4$ (A), del par $As^0/HAsO_2$ (B) y de la posible formación de Arsina (C).

$$H_3AsO_4 + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons HAsO_2 + 2H_2O;\ E^0 = 317\ \text{mV versus SCE}\ \ (A)$$

$$HAsO_2 + 3H^+ + 3e^- \rightleftharpoons As^0 + 2H_2O;\ E^0 = 6\ \text{mV versus SCE}\ \ (B)$$

$$As^0 + 3H^+ + 3e^- \rightleftharpoons AsH_{3(g)};\ E^0 = -482\ \text{mV versus SCE}\ \ (C)$$

Ecuación 1. Posibles procesos de óxido-reducción del As en VC, reportados por Wei et al.[37]

Los autores determinaron que estas reacciones deben estar controladas por diferentes procesos superficiales de transferencia electrónica. Así, plantearon que la reacción del par redox $HAsO_2/H_3AsO_4$ depende del transporte de masa, más que la reacción entre $HAsO_2$ y As^0, y qué, por lo tanto, es más probable que los picos encontrados en los VC, representen la reacción redox entre el As^0 y el $HAsO_2$, dado que dichos picos tienen una forma gausiana, en concordancia con lo esperado cuando se tienen especies adsorbidas sobre el electrodo de trabajo[38]. Esta hipótesis está sustentada con el estudio de las reacciones redox de arsénico en electrodos de disco rotatorio (RDE) de Pt en ácido perclórico[39]. Además, al realizar experimentos de VC a 1000 rpm, variando la velocidad de barrido entre 50 y 900 mV s^{-1}, Wei et al., encontraron que la diferencia entre los potenciales de pico anódico y catódico aumentó hasta 300 mV. Tal resultado se usó como indicio de la irreversibilidad de la reacción del par redox $HAsO_2/As^0$.

Por su parte, Brusciotti et al.[40] estudiaron la reacción redox del As en disoluciones ácidas por VC, usando mezclas de $HAsO_2$ y H_3AsO_4 en diferentes relaciones de concentración y variando el pH del electrolito soporte. Ellos encontraron que la reacción de reducción del As involucra el intercambio de tres electrones con la superficie del electrodo. También encontraron que la señal de oxidación en 1000 mV es proporcional a la concentración de $HAsO_2$ y que la misma no se ve afectada por la concentración de H_3AsO_4. Las conclusiones de la investigación realizada por Brusciotti et al.[40] complementan los resultados reportados por Wei et al.[37] en términos de la asignación de los procesos redox que generan los picos que aparecen en VC, de la irreversibilidad electroquímica, de la transferencia de tres electrones y de que los medios ácidos facilitan las reacciones redox del As.

Robles et al.[41] van un poco más allá de lo hecho por los anteriores autores y proponen un mecanismo detallado para los procesos redox del As. Experimentalmente, usan SW-ASV con un electrodo policristalino de oro de 2 mm de diámetro y realizan el modelamiento matemático de la reacción considerando lo siguiente:

1. La reducción del As sobre la superficie de un electrodo de Au ocurre según la reacción:

$$As(OH)_{3(sol)} + 3H^+ + 3e^- \rightleftharpoons As^0_{(ad)} + 3H_2O$$

Ecuación 2. Reacción de reducción de As(III).

Vale la pena aclarar que, Robles et al.[41] usan $As^{3+}_{(ac)}$ como especie inicial en su mecanismo, la cual se va hidratando. En primera instancia, se obtiene la especie $HAsO_2$, que es la usada por Wei et al.[37] y Brusciotti et al.[40]. Luego, se llega a H_3AsO_3, que es la misma especie $As(OH)_{3(sol)}$ que usan Robles et al. El proceso se resume en la Ecuación 3.

$$As^{0}_{(ad)} \rightleftharpoons As^{3+}_{(ac)} + 3e^{-}$$
$$As^{3+}_{(ac)} + H_2O \rightleftharpoons HAsO_2 \text{ (A)}$$
$$HAsO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_3AsO_3 \text{ (B)}$$

Ecuación 3. Formación de H_3AsO_3 a partir de $As^0_{(ad)}$ y $HAsO_2$ en medio acuoso.

2. La formación de la especie $As^{0}_{(ad)}$, sobre la superficie del electrodo de Au, podría ser favorecida por la presencia de $H_{2(g)}$, según las reacciones:

$$2H^{+}_{(ac)} + 2e^{-} \rightleftharpoons H_{2(g)} \text{ (A)}$$
$$2As(OH)_{3(sol)} + 3H_{2(g)} \rightleftharpoons 2As^{0}_{(ad)} + 6H_2O \text{ (B)}$$

Ecuación 4. Acoplamiento entre la evolución de hidrógeno y la reducción de $As(OH)_{3(sol)}$.

En medio ácido, y durante la reducción de $As(OH)_{3(sol)}$, se genera hidrógeno gaseoso que, eventualmente, favorece la formación de $As^{0}_{(ad)}$ durante la pre-concentración. Sin embargo, una producción excesiva de hidrógeno puede disminuir la formación de $As^{0}_{(ad)}$ sobre la superficie del oro[42]. Esto sugiere que el control del pH del medio es crítico y, en particular, que se debe evitar la formación excesiva del gas, Ecuación 4A.

3. La oxidación del As^0 en la etapa de re-disolución se da según:

$$As^{0}_{(ad)} + 3H_2O \rightleftharpoons As(OH)_{3(sol)} + 3H^{+} + 3e^{-}$$

Ecuación 5. Oxidación de As^0 durante la re-disolución.

Esta es la reacción global de oxidación que a su vez fue dividida en dos semi reacciones, que se usaron para establecer las condiciones de frontera en el modelamiento matemático. Las semi reacciones son:

$$As^{0}_{(ad)} \rightleftharpoons As^{3+}_{(ac)} + 3e^{-};\ k_s, k_{-s} \text{ (A)}$$
$$3H_2O + As^{3+}_{(ac)} \rightleftharpoons As(OH)_{3(sol)} + 3H^{+};\ k_1,\ k_{-1} \text{ (B)}$$

Ecuación 6. Etapas de la reacción de oxidación del As^0 durante la re-disolución.

La Ecuación 6A muestra la formación de la especie $As^{3+}_{(ac)}$ a partir de $As^{0}_{(ad)}$, con k_s la constante de transferencia electrónica directa y k_{-s} la inversa. La Ecuación 6B permite observar la formación de la especie $As(OH)_{3(sol)}$ a partir de la reacción de $As^{3+}_{(ac)}$ con agua, siguiendo una cinética de pseudo-primer orden y sus respectivas constantes de velocidad k_1 y k_{-1}. El modelo asume que k_1 es mucho mayor que k_{-1} por lo cual la especie mayoritaria es $As(OH)_{3(sol)}$. Además, también pueden existir las especies $As(OH)^{2+}_{(sol)}$ y $As(OH)^{+}_{2(sol)}$[43].

4. Usando información obtenida a partir de curvas de Tafel[38], los autores establecieron que la transferencia de los tres electrones en la Ecuación 6A se da según la secuencia:

$$\mathrm{As^0_{(ad)}} \rightleftharpoons \mathrm{As^+_{(ac)}} + 1e^- \; ; \; k_s \, , k_{-s} \; \text{(A)}$$
$$\mathrm{As^+_{(ac)}} \rightleftharpoons \mathrm{As^{2+}_{(ac)}} + 1e^- \; \text{(B)}$$
$$\mathrm{As^{2+}_{(ac)}} \rightleftharpoons \mathrm{As^{3+}_{(ac)}} + 1e^- \; \text{(C)}$$

Ecuación 7. Transferencia de electrones durante la oxidación de la especie $\mathrm{As^0_{(ad)}}$.

Siendo el paso determinante de la reacción, la transferencia del primer electrón, Ecuación 7A. Los autores asumen que el coeficiente de transferencia, β, tiene un valor de 0.5 y a partir de él determinan que la constante de transferencia aparente, α, es 0.2. Así, los autores proponen un mecanismo $E_{ad}C$ para la reacción redox del As, que involucra las especies: $\mathrm{As^0_{(ad)}}$, $\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}$ y $\mathrm{As(OH)_{3(sol)}}$. En el modelo se describe la variación de la concentración de estas especies en función del tiempo y de la distancia, según la segunda ley de Fick y asumiendo un coeficiente de difusión $D = 9\times10^{-6}$ cm^2 s^{-1}. La Ecuación 8 muestra las ecuaciones diferenciales propuestas por los autores.

$$\frac{\mathrm{d}\left[\mathrm{As^0_{(ad)}}\right]}{\mathrm{dt}} = \mathrm{D}\left(\frac{\partial^2\left[\mathrm{As^0_{(ad)}}\right]}{\partial \mathrm{x}^2}\right) - k_s\left[\mathrm{As^0_{(ad)}}\right] + k_{-s}\left[\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}\right] \; \text{(A)}$$

$$\frac{\mathrm{d}\left[\mathrm{As(OH)_{3(sol)}}\right]}{\mathrm{dt}} = \mathrm{D}\left(\frac{\partial^2\left[\mathrm{As(OH)_{3(sol)}}\right]}{\partial \mathrm{x}^2}\right) - \mathrm{k_{-1}}\left[\mathrm{As(OH)_{3(sol)}}\right] + \mathrm{k_1}\left[\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}\right] \; \text{(B)}$$

$$\frac{\mathrm{d}\left[\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}\right]}{\mathrm{dt}} = \mathrm{D}\left(\frac{\partial^2\left[\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}\right]}{\partial \mathrm{x}^2}\right) + \mathrm{k_{-1}}\left[\mathrm{As(OH)_{3(sol)}}\right] - \mathrm{k_1}\left[\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}\right] \text{(C)}$$

Ecuación 8. Ecuaciones diferenciales del modelo matemático propuesto por Robles et al.[41]

La solución de estas ecuaciones involucró el uso de las condiciones de frontera adecuadas, la transformada de Laplace, un cambio de variable y un conjunto de integrales de convolución que se resolvieron por integración numérica[41,44]. Al final, los autores obtuvieron las concentraciones de $\mathrm{As^0_{(ad)}}$, $\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}$ y de $\mathrm{As(OH)_{3(sol)}}$, así como la corriente para el proceso directo e inverso, con las cuales se simularon los SW-ASV.

En el plano experimental, Robles et al.[41] estudiaron el proceso de pre-concentración del As, relacionando la corriente del pico de SW-ASV con la variación de la diferencia de potencial y el tiempo usados para la reducción. Los autores encontraron que la máxima corriente de pico se obtiene con una diferencia de potencial de -300 mV y un tiempo de 120 segundos. Además, obtuvieron dos señales, una sobre 100 mV y otra sobre 300 mV. Ambas asignadas a la oxidación de $\mathrm{As^0_{(ad)}}$. La diferencia fue atribuida a la formación de distintas especies de $\mathrm{As^{3+}_{(ac)}}$ que interactúan de manera diferente con el electrodo de Au[45]. También establecieron que la corriente y la diferencia de potencial para tales señales dependen de la concentración de $\mathrm{As(OH)_{3(sol)}}$, $\mathrm{As(OH)^{2+}_{(ac)}}$ y $\mathrm{As(OH)^+_{2(ac)}}$.

Al comparar los SW-ASV experimentales con los obtenidos por el modelamiento matemático, Robles et al.[41], proponen que el proceso corresponde a una reacción electroquímica cuasi-reversible, dado que la constante de la reacción del paso de oxidación del $\mathrm{As^0_{(ad)}}$, que encontraron, fue de $k_s = 4 \pm 2$ s^{-1}. En cuanto al valor hallado para la constante de transferencia aparente, $\alpha = 0.20 \pm 0.01$, los autores lo usan para concluir que la reacción redox ocurre en múltiples pasos y que la pérdida del primer electrón por la especie $\mathrm{As^0_{(ad)}}$ es la etapa lenta del proceso de transferencia de carga[38].

El modelo de Robles et al.[41], pese a solo considerar la adsorción reversible del As y no tener en cuenta las interacciones con otras especies adsorbidas, o con la superficie del Au, permite establecer las siguientes conclusiones que, además, son soportadas y complementadas con el trabajo experimental realizado:

1. La reducción del As(III) es posible a partir de diferencias de potencial aplicadas menores o iguales a -100 mV. Aunque pueden usarse valores más negativos, se debe ser precavidos y no llegar a valores más negativos de -400 mV, porque entonces la evolución de hidrógeno impide una reducción efectiva del As(III).

2. Un tiempo adecuado para la acumulación de As(0) está cercano a 120 segundos, dado que en tiempos mayores el aumento en la corriente de pico es poco significativo.

3. El potencial formal para la reacción estudiada fue de 55 ± 2 mV, valor cercano al potencial estándar de reducción de la pareja H_3AsO_3 / As^0, 48 mV, reportado por el NIST[46] (ver Ecuación 9).

4. Durante el proceso de medición se debe asegurar que la especie mayoritaria sea H_3AsO_3. Esto con el fin de evitar la interacción de múltiples especies de As con la superficie del electrodo durante la pre-concentración. Por lo cual, se recomienda que el electrolito soporte sea suficientemente ácido y contenga un agente reductor.

5. Teniendo en cuenta que la especie $As^0_{(ad)}$ puede ocupar posiciones intermedias entre los átomos de Au del electrodo de trabajo, dicha superficie debería, durante la pre-concentración, cubrirse máximo con un 25% de As(0). Coberturas más altas pueden generar desviaciones en la linealidad de la relación corriente de pico vs concentración de As, debidas a que los átomos que componen la capa de As(0) pueden interactuar entre sí para formar películas que evitarían su oxidación, entre otras cosas por la disminución en la conductividad de la superficie del electrodo de Au ($4{,}5 \times 10^7$ S m^{-1} a 20 °C)[47] por la presencia de la capa de As(0) ($3{,}3 \times 10^6$ S m^{-1} a 20 °C)[48].

A manera de complemento de las investigaciones que se acaban de analizar, en la presente monografía se obtuvo experimentalmente el VC de la Figura 3, que muestra la reducción del As(III), presente en disolución como H_3AsO_3 y obtenido a partir de As_2O_3, pico 1 alrededor de 150 mV. Igualmente, aparece la señal de oxidación sobre 320 mV, pico 2. Estos procesos se resumen en la Ecuación 9.

$$H_3AsO_3 + 3H^+ + 3e^- \rightleftharpoons As^0 + 3H_2O;\ E^0 = 247{,}5 \text{ mV versus ENH } (48 \text{ mV vs Ag/AgCl})^{46}$$

Ecuación 9. Proceso de electrodo de la pareja As(III)/As(0) asociada a la señal de respuesta durante la cuantificación de As usando voltamperometría.

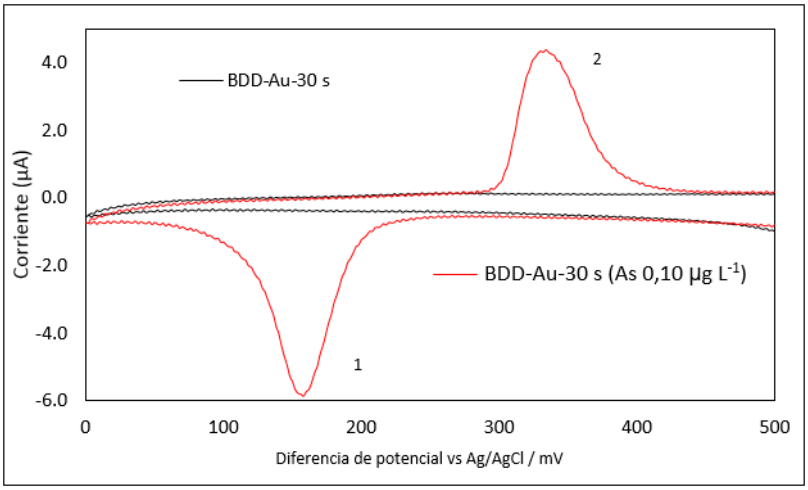


Figura 3. Un voltamperograma cíclico para el As. Condiciones experimentales: Electrodo de trabajo BDD con película de Au formada durante 30 s; concentración de As 0,10 ± 0,01 µg L^{-1}; velocidad de barrido 50mV s^{-1} y electrolito soporte regulador de pH 5 de fosfatos 100 mM.

En conclusión, podemos decir que el conocimiento del comportamiento electroquímico de la pareja H_3AsO_3/As^0 es clave para el desarrollo de la técnica de cuantificación de As por ASV, puesto que tal proceso presenta una serie de desafíos a nivel experimental que pueden superarse solo en la medida en que se conozcan y entiendan los pasos elementales que ocurren en esta reacción.

En el siguiente capítulo nos enfocaremos en los principales detalles experimentales que deben ser tenidos en cuenta al momento de realizar una cuantificación de As por ASV.

2. Detalles experimentales de la cuantificación de Arsénico por ASV.

En este capítulo abordaremos la discusión sobre los principales detalles experimentales que se deben tener en cuenta al momento de realizar una medición de As por ASV. Presentaremos el desarrollo del proceso de medición, revisando las publicaciones más relevantes sobre el tema, las cuales se han resumido en la Tabla 4. A partir de esta información, analizaremos como se afectan las mediciones de As por ASV en función del material usado en los electrodos de trabajo, las condiciones experimentales para la pre-concentración, las características del impulso durante el barrido de potencial y electrolito soporte.

2.1 Material del electrodo de trabajo para medir Arsénico

La naturaleza y tipo de los electrodos de trabajo, usados para la determinación de As por ASV, ha evolucionado en la medida en que se ha requerido una mayor versatilidad y mejores desempeños analíticos durante el proceso de medición[35]. Los primeros materiales utilizados fueron el Hg, (HDME), y los discos metálicos de Pt, Ag y Au. Luego apareció lo que se conoce como modificación química de los electrodos de trabajo[49], siendo la más común la formación de películas metálicas, que con el tiempo se convirtieron en electrodos de nanopartículas metálicas[50]. Actualmente, tal modificación está relacionada con los sensores electroquímicos, obtenidos a partir de materiales compuestos sobre superficies de electrodos como GC o BDD. Veamos entonces como ha sido tal evolución y de qué forma ha influido en la determinación del As por ASV.

2.1.1 Electrodos de Hg y de disco metálico

Forsberg et al.[51] realizaron la cuantificación de As por DP-ASV usando electrodos de HDME y de Pt, Au y Ag de 2 mm de diámetro. Los resultados más relevantes de este estudio son:

- Los electrodos de HDME y Ag presentan una señal de oxidación cercana a la del As, por lo cual carecen de utilidad a nivel analítico.

- Al usar Au y Pt, la evolución de hidrógeno favorece la reducción del As en la pre-concentración. Sin embargo, el hidrógeno adsorbido sobre el electrodo de Pt afecta la señal del As, si este último se encuentra en concentraciones bajas. Este efecto es menor cuando se usa el electrodo de Au.

- Al usar superficies de Au y Pt, el área de pico para la oxidación del As es dependiente del estado de la superficie del electrodo, particularmente, de la formación de capas de óxidos.

Los autores concluyeron que el Au es la superficie más adecuada para la determinación de As por ASV, no solo por la menor tendencia a la reducción de hidrógeno respecto al Pt, sino porque con Au se obtiene un límite de detección de 0,02 $\mu g\ L^{-1}$. Sin embargo, estos autores dejan claro que el estado del electrodo

Tabla 4. Principales aspectos experimentales reportados para la determinación de As por ASV.

Tipo Electrodo de Trabajo	Características	Técnica	Electrolito soporte (ES)	Parámetros Experimentales	Interferentes	Matriz	Limite detección ($\mu g\ L^{-1}$)
Discos metálicos[51–57]	Au Pt Ag y HDME	DP-ASV	HCl, $HClO_4$, HNO_3, H_2SO_4 todos 1 M	ν= 10 mV/s, A_p= 50 mV, E_r= -700 mV, t_r= 4 min	No se estudian	ES	0.02 (Au)
	Au 25 µm	ASV	HCl 5 M	ν = 100 mV/s, E_r= -300 mV, F= 0,7 mL/min, t_r= 90 s	Cu y Hg (50 $\mu g\ L^{-1}$)	Agua de Mar	0,15
	Au 0,6 a 1mm	DP-ASV	H_2SO_4 1 M y HCl 100 mM	ν = 20 mV/s, E_r= -300 mV, t_r= 90 s	Cu y Pb	Agua natural	0,15
	Ag 0,02 cm^2, Au 0,003 cm^2, Pt 0,008 cm^2	SW-ASV	HNO_3 100 mM	f= 75 Hz, A_p = 90 mV, A_e= 9 mV E_r= -600 mV, t_r= 120 s	Cu 20 µM	Agua potable	50
	Au 25 µm	CSV	KCl 10 mM pH= 9,5	E_r= -200 mV, t_r= 120 s	Cl^-, Br^-, I^-, F^- y SO_4^{2-}	Agua Natural	0,04
	Au 12,7 µm	SW-ASV	N_2H_4. 2 HCl 38 mM	f= 50 Hz, A_p= 20 mV, V_r= 600 rpm, A_e = 5 mV E_r= -350 mV, t_r= 90 s	Ácidos húmicos, Hg, Pb, Cu,	Agua subterránea	5,01
	Au entre 15,41 y 25,67 µm	SW-ASV	H_2SO_4 500 mM	E_r= -400 mV, t_r= 120 s, ν = 100 mV/s	Cd, Hg, Pb, Cu, ácidos húmicos	Agua potable	2,6
Nanopartículas Metálicas[58–69,70]	GC-Au	ASV	H_2SO_4 1M	E_r= -300 mV, t_r= 200 s	Ag, Cd, Ni, Pb, Sn, Zn, S, Fe, Bi, Mn mayor a 100 mg kg^{-1}	Cobre	0,56
	GC-Au Rotatorio	ASV	8 mL muestra en 2 mL de HCl conc.	ν = 30 mV/s, V_r= 5000 rpm, E_r= -300 mV, t_r= 4 min	Cu, Sb, ácidos húmicos	Agua de Mar	0,19
	GC-Au	LSV	HCl 1M	ν = 100 mV/s, E_r= -300 mV, t_r= 180 s	Cu	Agua natural	0,0096
	BDD-Au	DP-ASV	HCl 1M	ν = 100 mV/s, Ap= 50 mV, A_e= 4 ms, E_r= -450 mV, t_r= 120 s	Cu, Hg, Pb y ácidos húmicos	Agua	0,005
	Si (100)-BDD-Au	DP-ASV	Regulador de fosfato salino pH 5 100 mM	ν = 200 mV/s, E_r= -400 mV, t_r= 60 s	No se estudian	Agua de grifo	5
	GC-óxidos Cobalto	VC	Regulador de fosfato salino pH 7 100 mM	ν = 20 mV/s,	Cu, Bi, Pb, Hg, Fe	Agua de grifo	0,82
	Nanopartículas de Oro	SW-ASV	HCl 1M	f= 250 Hz, A_p= 75 mV, A_e= 12 mV E_r= -400 mV, t_r= 180 s	Cu	Electrolito soporte	0,005
	SCE-GC-Au	LSV	HCl 1M	F= 2 µL/s, E_r= -1800 mV, t_r= 520 s	Cu 100 $\mu g\ L^{-1}$	Agua natural	0,03
	CPE-Au	DP-ASV	HCl 0,5 M	ν = 150 mV/s, E_r= -300 mV, t_r= 150 s, A_p= 100 mV, A_e= 5 mV	Cu 10 µM	Agua subterránea	0,9
	FePt, FeAu, FePd depositadas sobre Si (100)	SW-ASV	Regulador de fosfato salino 100 mM pH 7	E_r= -400 mV, t_r= 60 s	Cu 1705 mg L^{-1}	Agua potable	1,2
	GC-Au 12 mm diámetro, microelectrodos Au 25 µm diámetro	SW-ASV	Regulador de acetato pH 4,6 200 mM	E_r= -800 mV, t_r= 300 s	Cu, Fe, Pb, Cd	Agua de rio	0,01
	CPE-Nanopartículas de óxido de Th y Zr	DP-ASV	HCl 3M	ν = 75 mV/s, A_p= 75 mV, E_r= -1100 mV, t_r= 150 s	Ag, Cu, Hg, Sb y Se	Agua natural	0,1
	CPE-Au	SW-ASV	Regulador de fosfatos pH 5 100 mM	f= 50 Hz, A_p= 30 mV, E_r= -800 mV, t_r= 120 s	Cu (1000 $\mu g\ L^{-1}$)	Agua de grifo	0,55
Materiales compuestos[71,72]	GC-Quitosano-cisteína-$Fe(OH)_3$	DP-ASV	Regulador de acetato pH 5,2 100 mM	E_r= -900 mV, t_r= 100 s	Mn, Zn, Pb, Cu, Cd	Agua golfo bengala	0,072
	HDME modificado con APDTC y ADDTP	DP-AdSV	HCl 1,25 y 2,0 M	[ligante] optima= 0,20 y 1,5 µM, V_r= 2000 rpm, ν = 10 mV/s, A_p= 5 mV, A_e= 40 ms, E_{ad}= -200 y -800 mV, t_{ad}= 80 y 60 s	Cd, Ni, Li, Al, Co, Mg, Be, Se, Fe, Pb	Agua de rio	0,08 y 0,27

es fundamental para lograr una medición con un desempeño analítico adecuado en términos de la exactitud, ya que la formación de óxidos de Au altera la cinética de la reacción redox del As[41]. Por tal razón, los autores sugieren la implementación de una metodología de limpieza que remueva dichos óxidos de la superficie del electrodo. Así, se sugiere que la limpieza se haga sumergiendo los electrodos de Au en HNO_3 6 M, seguido de lavados con agua destilada y luego una polarización del electrodo a 0,0 mV en HCl 1 M hasta observar una pequeña caída en la corriente de línea base.

Otros pre-tratamientos que se han utilizado para la limpieza de los electrodos de disco de Au son:

- Jagner et al.[52]: Lavados sucesivos en HNO_3 6 M, H_2SO_4 2 M y etanol al 99 %.

- Kopanica et al.[53]: Pulido con γ-alúmina seguido de inmersión en H_2SO_4 100 mM durante 3 minutos. Luego, 50 barridos por VC entre 200 y 1900 mV a 500 mV s^{-1} con H_2SO_4 1 M como electrolito soporte.

- Compton et al.[54]: Pulido con γ-alúmina de tamaño de partícula desde 1 µm hasta 0,3 µm.

- Gibbon et al.[55]: Tratamiento con ácido sulfúrico 500 mM, seguido de 5 barridos en VC entre 0 y 1500 mV a 100 mV s^{-1}.

- Huang et al.[56]: 10 ciclos en VC barriendo la diferencia de potencial entre -200 y 1500 mV a 100 mV s^{-1} y usando H_2SO_4 500 mM como electrolito soporte.

Así entonces, podemos agrupar los procesos de limpieza de los electrodos de disco de Au, de la siguiente manera:

- Tratamiento químico en medio fuertemente ácido.
- Abrasión mecánica mediante pulido con γ-alúmina.
- Lavados con agua desionizada o con etanol al 99%.
- Tratamiento electroquímico. Se polariza el electrodo o se realizan varios ciclos de VC dentro de una ventana de potencial adecuada.

A pesar de la implementación de la limpieza, como parte de la medición, está comprobado que dicho proceso no es ciento por ciento efectivo e, incluso, el desempeño del electrodo puede disminuir en la medida en que la limpieza se aplique repetidamente[51]. De esta forma, la utilidad de los discos de Au se ve limitada, ya que no es posible obtener la limpieza requerida para llegar a la exactitud deseada. Esto no implica que los electrodos de Au hayan entrado en desuso para la determinación de As por ASV; más bien, como ya se dijo, han evolucionado. Así, hoy en día, la tendencia es hacia el empleo de microelectrodos de Au, cuyas áreas geométricas son bastante más pequeñas que aquellas de los electrodos de disco tradicionales. En principio, estos microelectrodos son más fáciles de acondicionar, tanto que la limpieza se puede limitar, eventualmente, a solo la etapa del tratamiento electroquímico, usando un electrolito soporte adecuado[57]. El desempeño analítico de los microelectrodos será discutido más adelante.

2.1.2. Electrodos modificados con películas de nanopartículas metálicas

Una vez fueron identificadas las principales limitaciones de los discos de Au, la investigación se enfocó en superar tales falencias con el fin de obtener un mejor desempeño analítico de la ASV para la determinación de As. De esta forma, se empezaron a implementar las metodologías que usan electrodos de trabajo modificados con películas metálicas. De las 13 publicaciones consultadas sobre este tipo de sistemas, en 10 de ellas el agente modificador es el Au. De las otras tres, en dos se utilizaron óxidos de metales de cobalto, torio y zirconio y, en la última, se formaron películas de nanopartículas mixtas de FePt, FeAu y FePd.

Este tipo de modificación química, inicialmente denominada "*películas metálicas*" pasó a llamarse "*nanopartículas metálicas*" ya que se hizo evidente que la forma, microestructura y distribución de los gránulos de las especies químicas, formadas sobre la superficie de partida del electrodo de trabajo, tienen una gran influencia en el proceso de medición de As por ASV y, claramente, el tamaño nanométrico mejora los parámetros analíticos de desempeño de las técnicas de análisis. Entremos, entonces, en los detalles experimentales reportados para este tipo de electrodos.

2.1.2.1 Electrodos de trabajo recubiertos con películas de Au.

Las investigaciones relacionadas con la formación de películas de Au, para ser usadas como electrodos de trabajo, se resumen a continuación:

- Hamilton y Ellis[58] sumergieron un electrodo de GC en una disolución de Au^{3+} de 50 mg L^{-1} purgada con nitrógeno durante 5 minutos. Luego, aplicaron una diferencia de potencial de -200 mV durante 5 minutos para formar una película de oro. No se reportó caracterización alguna.

- Sun et al.[59] formaron una película de Au sobre un electrodo rotatorio de GC aplicando -200 mV durante 4 minutos. No especificaron el electrolito soporte utilizado, ni la caracterización de la película.

- Compton et al.[70] sumergieron electrodos de GC en $AuCl^-_4$ 100 mM preparado en H_2SO_4 1M, y aplicaron un barrido de potencial desde 1055 hasta -245 mV vs SCE en tiempos de 5, 15, 30 y 150 segundos. La caracterización por AFM permitió observar la aparición de pequeños puntos, poco distinguibles en la superficie del electrodo, cuyo tamaño medio pasó de 9,5 hasta 11 nm con el aumento del tiempo usado para la reducción del Au. La reducción óptima se encontró a los 15 segundos, tiempo en el cual se formó una capa de 75 μm de espesor con un tamaño medio de las partículas de 11 nm.

- Swain et al.[60] formaron una película de Au sobre BDD usando Au^{3+} de 100 μg L^{-1} disuelto en HCl 1 M. La diferencia de potencial de reducción usada fue de -450 mV durante 120 segundos.

- Yamada et al.[61] sumergieron electrodos de BDD en una disolución de $HAuCl_4$ 50 μM y aplicaron una diferencia de potencial de -400 mV. La caracterización por SEM permitió observar la formación de granos de Au con diámetros medios de 79,5 ± 11,3; 152,8 ± 11,4 y 222,8 ± 18,3 nm al variar el tiempo entre 10, 30 y 60 segundos. Esto significa que, a mayor tiempo de reducción más gruesa será la película de Au formada.

- Korolczuk et al.[67] sumergieron un electrodo de GC en una disolución de Au^{3+} 125 mM en HCl 25 mM y aplicaron -300 mV durante 120 segundos. Los autores no reportaron una caracterización de la superficie del electrodo.

- Mardegan et al.[63] formaron una capa de nanopartículas de oro sobre una membrana de policarbonato que se sumergió en $Na_3Au(SO_3)_2$ 7,9 mM a 0 °C durante 30 minutos. Después, se agregó formaldehido 625 mM y se dejó en reposo durante 24 horas. La capa de oro obtenida se caracterizó por AFM. Al examinar zonas de 50 × 50 µm se observó una estructura lisa que en la medida en que entró en contacto con HCl entre 0,02 y 1 M se tornó más rugosa por la formación de óxidos de Au.

- Chailapakul et al.[64] usaron un sistema de inyección de flujo secuencial para formar una película de Au sobre un electrodo serigrafiado de carbón. El proceso se llevó a cabo mediante el paso de 2500 µL de una disolución de Au^{3+} a 10 µL s^{-1}, mientras se fijó la diferencia de potencial en -500 mV. No se caracterizó la superficie modificada. Sin embargo, de lo escrito por los autores, se puede suponer que el crecimiento de los granos de Au es controlado mediante la manipulación adecuada de la inyección de la disolución de Au.

- Kauffmann et al.[65] partieron de un electrodo serigrafiado y de un electrodo de pasta de carbón de 3 mm sobre los cuales formaron películas de Au, de dos formas: 1) Aplicando -500 mV durante 15 segundos al electrodo de trabajo sumergido en $HAuCl_4$ 100 mM y; 2) Agregando cinco volúmenes de 10 µL de una suspensión de nanopartículas de oro. El electrodo de pasta de carbón modificado con oro se sumergió en una disolución de cisteína 10 mM en etanol al 50 % durante 2 horas. Los autores no caracterizaron las superficies.

- Niwa et al.[69] formaron capas de nanopartículas de Au inmovilizadas sobre películas de carbón. El sustrato de partida es una oblea de Si (100) modificada mediante la técnica UBM. El agente modificador fue una mezcla de Au y grafito. El electrodo sintetizado se caracterizó por XPS. Se obtuvieron superficies de carbono recubiertas con Au en cantidad de 13, 17 y 21 %. Al usar TEM, los autores determinaron que el grosor de la capa de Au dispersa en la matriz de carbono era de 5 nm. En la caracterización por VC se encontró que la intensidad de las señales del As fue más alta para el sistema que contenía 21% de Au. Obsérvese que este valor es cercano al reportado por Robles et al.[41], página 6, como máximo recomendado para el contenido de As sobre la superficie del electrodo de trabajo en la etapa de pre-concentración. Si bien, en un caso se refiere al As y en el otro al Au, si es claro que un valor cercano al 20 %, parece ser lo ideal para el recubrimiento de la superficie de los electrodos de trabajo. Esto puede ser entendido, como ya se mencionó antes, página 6, en función de la disminución de la conductividad de la superficie que se generaría debido a la película de As, si tal superficie supera ese aparentemente crítico 20 % de recubrimiento. Así entonces, si la superficie en donde se favorece la reducción del As, solo llega al 20 %, se puede asegurar, de manera indirecta, que el recubrimiento con As, tampoco será mayor a ese 20 %.

De los trabajos que se acaban de presentar, vale la pena destacar los siguientes aspectos:

1. Es claro que con tiempos más largos para la reducción del Au se obtiene una película de mayor grosor. Sin embargo, un mayor espesor no garantiza necesariamente una mejor respuesta, por lo cual variables como la diferencia de potencial y la concentración de $HAuCl_4$, deben tenerse en cuenta durante este proceso, para que al final se obtenga el tamaño adecuado de las partículas de Au que favorezcan la reducción y posterior oxidación del As. En este orden de ideas, se observa que, luego de la formación de la película, los investigadores realizan una etapa de caracterización textural de la superficie, en la que se miden el espesor de la película, el tamaño medio de los gránulos y su distribución. Lo que se busca con esto es relacionar las propiedades texturales de la película con la respuesta de la superficie a la presencia de As. Particularmente, Yamada et al.[61] plantean que los gránulos de oro deben estar distribuidos homogéneamente sobre la superficie del electrodo, para así favorecer al máximo la interacción Au-As durante la pre-concentración.

Además, se busca que el grosor de la capa de As(0) no sea muy alto dada su naturaleza poco conductora, lo cual se consigue, en parte, gracias a una distribución homogénea de la capa de Au en el sustrato, lo que a su vez permite garantizar una distribución uniforme del As(0) durante la pre-concentración.

2. Un electrodo de trabajo modificado con una película de Au debería tener las siguientes características:
   - Una concentración de Au en superficie cercana al 20 %.
   - Una capa de Au con grosor menor a 10 nm.
   - Una distribución de tamaño de granulo menor a 100 nm.

A partir de lo que acabamos de presentar, podemos concluir que una distribución adecuada de los gránulos de Au, así como un tamaño conveniente de los mismos, sobre la superficie del electrodo de trabajo, generan una distribución homogénea de la capa de As(0) que se forma durante el proceso de pre-concentración. Este hecho, al parecer, es la clave para obtener mediciones significativas del As por ASV.

Examinemos ahora el uso de nanopartículas de otras especies metálicas, las cuales también han sido usadas para la determinación de As por ASV.

2.1.2.2. Electrodos con películas de metales diferentes al Au.

- Salimi et al.[62] formaron capas de nanopartículas de óxido de cobalto sobre electrodos de GC por VC usando cloruro de cobalto 1mM disuelto en un regulador de fosfato salino de pH 7. La película se caracterizó por SEM entre 5 μm y 500 nm. Las micrografías mostraron una distribución de tamaño de grano entre 100 y 600 nm. Al realizar VC entre -400 y 800 mV a 20 mV/s, los autores encontraron señales de oxidación en 100, 220 y 550 mV debidas a la formación de las especies $Co(OH)_2$, Co_3O_4, CoOOH y CoO_2. Al barrer entre 400 y 1100 mV en presencia de As(III) 70 μM encontraron un pico en 900 mV atribuido a la reacción del par redox As(III)/As(V) mediada por la especie CoOOH, según la Ecuación 10.

$$Co_3O_4 + H_2O + OH^- \rightleftharpoons 3CoOOH + e^- \quad (A)$$

$$6CoOOH + As^{3+} + 2H^+ \rightleftharpoons 2Co_3O_4 + As^{5+} + 4H_2O \quad (B)$$

Ecuación 10. Especies de Co mediadoras en la reacción de oxidación de As(III) hasta As(V) según Salimi et al.

- Leung et al.[66] formaron electrodos de películas bimetálicas (BNPE) de FePt, FeAu y FePd sobre Si (100) por cronoamperometría potenciostática. La caracterización por SEM permitió establecer que los granos son de forma esférica con tamaños medios debajo de los 100 nm: AuPt (40 nm), FePt (100 nm), FePd (20 nm), FeAu (20 nm), Pd (20 nm) y Au (30 nm). Se encontró que su distribución no es uniforme y por lo tanto las películas no son totalmente homogéneas. La composición relativa fue estudiada por espectroscopía dispersiva de rayos X y se reportó una composición de 45 % de Au y 55 % de Pt para la película AuPt ($Au_{45}Pt_{55}$). En los otros casos se obtuvo $Fe_{70}Pd_{30}$, $Fe_{40}Pd_{60}$ y $Fe_{10}Au_{90}$. También se realizaron VC en presencia de As 1 mM. El electrodo de Si (100) no mostró las señales para la óxido-reducción del As. En los demás casos, se observaron señales para las reacciones redox de los pares As(0)/As(III) y As(III)/As(V).

- Aller et al.[68] modificaron electrodos de pasta de carbón (CP) con nanopartículas de ThO_2 y ZrO_2. Las nanopartículas de ThO_2 se obtuvieron por precipitación de Th^{4+} de 2500 mg L^{-1} mediante hidrólisis básica a pH 8 usando una disolución de NaOH. Usando las mismas condiciones, se

obtuvieron nanopartículas de ThO_2 en presencia de L-cisteína 250 mM y nanopartículas de ZrO_2. Se adicionó entre 1 y 5 mg de cada sustancia sobre la pasta de carbón para obtener los electrodos CP, CP-ZrO_2-5 (con ZrO_2 al 5%), CP-ZrO_2-10 (con ZrO_2 al 10%), CP-ThO_2-5 (con ThO_2 al 5%) y CP-ThO_2-10 (con ThO_2 al 10%). Al caracterizarlos por TEM se estableció que los tamaños medios de los gránulos son de 10 nm aproximadamente. Los DP-ASV realizados en presencia de As entre 0 y 200 μg L^{-1} mostraron la oxidación de As(0) hasta As(III) en 150 mV, con una corriente de pico pequeña para CP y cada vez mayor según la secuencia CP-ZrO_2-5, CP-ZrO_2-10, CP-ThO_2-5 y CP-ThO_2-10 enriquecido con L-cisteína.

El análisis de este tipo de electrodos confirma que, los investigadores buscan películas con espesores pequeños, una distribución de tamaño de gránulo lo más uniforme posible y el establecimiento de la concentración óptima del mediador en superficie. Además, es claro que existen materiales distintos al Au que también facilitan los procesos redox del par As(0)/As(III) e incluso, en algunos casos los del par As(III)/As(V). Este conjunto de hechos nos indica que existen diversas posibilidades al momento de elegir un método para cuantificar As por ASV, incluida la posibilidad de hacer especiación de As.

En conclusión, cada vez más, se están explorando nuevos métodos de síntesis de superficies cuyas microestructuras y propiedades texturales resultan adecuadas para la cuantificación de As por ASV. Además, las nanopartículas metálicas no son la única vía de modificación de un electrodo de trabajo. Existen también, estudios con materiales compuestos, en mucha menor proporción, eso sí. A continuación presentaremos las más destacadas.

2.1.3. Electrodos modificados con materiales compuestos

- Sarkar et al.[71] modificaron un electrodo de GC con un material compuesto de quitosano, enriquecido con $Fe(OH)_3$ y L-cisteína. Los autores prepararon una disolución de quitosano al 2%, en ácido acético al 5%, que se calentó a 60 ^{0}C durante 4 horas en agitación constante. Adicionaron $FeCl_3$ 500 mM y mantuvieron la agitación por más de 1 hora. Sobre el electrodo de GC adicionaron 10 μL de L-cisteína al 4% y 10 μL de NaOH 1M. La superficie se secó a 35 ^{0}C durante 15 minutos y se caracterizó por SEM. Se encontró que el material era esponjoso y poroso, pero luego de la formación de $Fe(OH)_3$ se generó una estructura tipo red más uniforme y con aglomeraciones de L-cisteína. La caracterización por AFM permitió observar que el grosor de la capa de quitosano era de 4,34 nm, mientras que el grosor total fue de 33,8 nm. A partir de la caracterización por IR-TF se identificó una señal en 1390 cm^{-1} asignada al estiramiento del enlace S-H de la L-cisteína.

- Arancibia et al.[72] modificaron el electrodo HDME con los agentes quelantes pirrolidina ditiocarbamato de amonio (APDTC) y dietil-ditiofosfato de amonio (ADDTP) en un proceso *in-situ*. Para ello optimizaron la concentración de APDTC en 0,5 μM y de ADDTP en 1,5 μM.

En estas investigaciones, observamos que la interacción del As con la superficie modificada está basada en la formación de un enlace con un ligando que se fija, por métodos químicos, al electrodo. Los ligandos usados para este tipo de electrodos poseen la función sulfhidrilo. La naturaleza de la interacción As-S da lugar a la generación de sistemas selectivos, capaces de soportar niveles de Cu de hasta 60 mg L^{-1}, un interferente común en la determinación de As por ASV[72].

En resumen, podemos decir sobre el material para los electrodos de trabajo usados para la cuantificación de As usando ASV que, los discos de Au proporcionan límites de detección bajos, pero tienen una reproducibilidad inadecuada debido, posiblemente, a la formación de óxidos sobre su superficie. Esto llevó al desarrollo de los electrodos de nanopartículas metálicas de Au, óxidos de Co, Th y Zr, nanopartículas mixtas de $Au_{45}Pt_{55}$, $Fe_{70}Pd_{30}$, $Fe_{40}Pd_{60}$ y $Fe_{10}Au_{90}$ y materiales compuestos con ligantes

orgánicos. El impacto del uso de estos materiales en el desempeño de la ASV será discutido en el siguiente capítulo.

2.2. Condiciones experimentales para la pre-concentración

Además de la selección del electrodo de trabajo adecuado para la determinación de As por ASV, es crucial optimizar las condiciones de la pre-concentración, específicamente, la diferencia de potencial en la cual se lleva a cabo la reducción y el tiempo que dura tal proceso. Por ejemplo, Robles et al.[41], obtienen que el análisis de As por ASV funciona adecuadamente reduciendo a -100 mV durante 120 segundos. Sin embargo, esta es una condición particular de los autores y no significa que siempre deba realizarse así. Esto se puede confirmar revisando el trabajo de Forsberg et al.[51] , quienes realizaron la reducción en una diferencia de potencial de -700 mV durante 240 segundos. Al parecer, son estas condiciones las que le permiten a Forsberg et al.[51] reportar un límite de detección tan bajo, 0,02 µg L^{-1}. Así mismo, Leung et al.[66], hicieron la pre-concentración a -400 mV durante 60 segundos. En este caso, un tiempo corto implica una menor cantidad de As reducido y por tanto un límite de detección más alto, 1,2 µg L^{-1}, que es casi 100 veces mayor al reportado por Forsberg et al.[51]. Sin embargo, esto se compensa, en parte, debido a que en las condiciones de trabajo de estos autores se logra hacer la especiación del As. Las cosas aún pueden ser más diversas, por ejemplo Salimi et al.[62] no realizaron la pre-concentración ya que ellos no cuantifican por ASV sino por VC, gracias a la presencia de la especie CoOOH que favorece la oxidación de As(III) hasta As(V). Bajo estas condiciones, los autores reportan un límite de detección suficientemente bajo, 0,82 µg L^{-1}, a pesar de no usar la pre-concentración, ni las técnicas de pulso. Una variación más, se puede observar en el trabajo de Gibbon et al.[55], quienes desarrollan la medición por CSV, usando la pre-concentración, pero no para formar As(0) sino para formar $As(OH)_3$. En este caso los autores aplicaron una diferencia de potencial de -200 mV durante 120 segundos.

En cualquier caso, estos parámetros, electrodo de trabajo, diferencia de potencial para la pre-concentración y tiempo de oxidación/reducción, deben optimizarse para cada circunstancia, ya que como hemos visto en la sección anterior, cada electrodo de trabajo tiene condiciones particulares para su preparación (cuando corresponde), su limpieza, para la pre-concentración y para la posterior oxidación/reducción del As, según se desarrolle la ASV, la CSV o la VC.

2.3. Las técnicas de pulso durante la etapa de re-disolución.

De las 22 publicaciones mencionadas en la Tabla 4, se tiene que 17 utilizan técnicas de pulso durante la aplicación del barrido de potencial. De estas, en 8 se utilizó voltamperometría de pulso diferencial (DPV), y en 9 onda cuadrada (SWV). Además, en 2 no se especificó el tipo de pulso usado. De las otras tres, en 2 utilizaron el barrido lineal (LSV) y en una la VC. Claramente, es mayor el uso de las técnicas de pulso, aclarando que, la VC se usa en casi todos los casos, además de las técnicas de pulso, para la caracterización electroquímica de los electrodos[49].

No se encontró una evidencia experimental que justifique el uso de una técnica de pulso sobre la otra. Esto está en concordancia con la paridad en el número de estudios que utilizan la DPV y la SWV, ver la columna "***Técnicas***" de la Tabla 4. Teniendo en cuenta lo anterior, se podría inferir que la forma del pulso no es un parámetro que mejore el desempeño analítico. Lo más parecido a un estudio comparativo de esta índole es el trabajo de Compton et al.[70]. Sin embargo, estos autores no comparan dos técnicas de pulso sino la LSV y la SWV. En este trabajo, la pre-concentración fue realizada a -300 mV durante 60 segundos. Los autores encontraron que la SWV tiene mayor sensibilidad (71,7 µA μM^{-1}), respecto a la LSV (14,2 µA μM^{-1}). No obstante, el límite de detección de la SWV fue mayor (0,15 µM) respecto a la LSV (0,075 µM), debido al ruido encontrado en SWV. En cualquier caso, es importante recordar que las técnicas de pulsos permiten eliminar el efecto de las corrientes capacitivas involucradas en el proceso de medición[50], lo cual debería, en principio, disminuir el límite de detección.

2.4. El electrolito soporte.

El electrolito soporte tiene un rol clave en el proceso de medición, ya que según sea su naturaleza se favorecerán o no los procesos redox del As. El pH del medio y la concentración del electrolito son parámetros cruciales. A continuación, se presentan los aspectos más relevantes encontrados en las publicaciones consultadas.

2.4.1. El pH del electrolito soporte

Según el diagrama de Pourbaix para el As, estudiado en el capítulo 1, en condiciones reductoras y con un pH menor a 9,2 se tiene que la especie predominante de As en medio acuoso es H_3AsO_3 o, equivalentemente, $As(OH)_3$. Por su parte, Robles et al.[41] han reportado, en estas mismas condiciones, la formación de las especies $As(OH)^{2+}_{(ac)}$ y $As(OH)^{+}_{2(ac)}$. En cualquier caso, estas especies de As tienen un estado de oxidación de +3. Así, una buena parte de los trabajos consultados buscan maximizar la concentración de la especie H_3AsO_3 en el seno de la disolución manteniendo el pH ácido durante el proceso de medición. La explicación de este hecho se basa en que, al realizar la pre-concentración en una disolución que contiene una mezcla de As(III) y As(V), antes de formar la capa de As(0), se debe dar la reducción de As(V) hasta As(III), lo cual afecta la eficiencia del proceso de reducción deseado. Por lo cual, si se quiere estudiar específicamente la reacción redox de la pareja As(III)/ As(0), se debe procurar que la concentración de As total, al inicio del experimento, corresponda solo a la especie H_3AsO_3. Este hecho se pone de manifiesto en la columna "***Electrolito soporte***" de la Tabla 4, en donde se puede apreciar que la mayoría de los electrolitos usados corresponde a disoluciones ácidas, en una concentración que oscila entre 10 mM y 5 M, con lo cual se favorece la presencia de H_3AsO_3 sobre otras especies. En la misma tabla y columna, también se puede apreciar que el ácido más usado es el HCl, por encima de los ácidos H_2SO_4, HNO_3 y $HClO_4$.

Igualmente, vale la pena destacar que las condiciones de acidez suelen ser más drásticas cuando se utilizan electrodos de disco de Au, como en el estudio de Jagner et al.[52], quienes usan HCl 5 M. Mientras que para las películas de nanopartículas de metales suelen usarse condiciones de acidez más moderadas, un ejemplo lo tenemos en la investigación de Yamada et al.[61], en donde se utilizó un regulador de pH 5 a base de fosfatos y un electrodo de película de Au sobre BDD.

Ahora bien, lo anterior aplica a superficies que involucran Au, pero como ya vimos en la sección dedicada a los electrodos de trabajo, existen otras superficies que se han usado para la cuantificación de As por voltamperometría. Nos referimos a los llamados electrodos modificados, en los cuales no parece requerirse un medio tan ácido como en los casos que acabamos de mencionar. Esto queda en evidencia en el estudio realizado por Salimi et al.[62], quienes utilizan un pH neutro para la determinación de As usando la pareja redox As(III)/As(V). De otra parte, Gibbon et al.[55] utilizan el regulador Britton–Robinson de pH 9 (una mezcla de KCl 100 mM con H_3BO_3 100 mM), para medir la concentración de As usando la CSV y gracias a la reducción del $As(OH)_3$ adsorbido sobre el electrodo de trabajo.

En conclusión respecto al uso del electrolito soporte, lo más común para la cuantificación de As por ASV es utilizar medios ácidos, de manera tal que las reacciones redox se den entre la pareja As(III)/As(0). Sin embargo, gracias al desarrollo de los electrodos modificados, es posible realizar la determinación de As utilizando las reacciones redox asociadas a la pareja As(V)/As(III), para lo cual se requieren medios neutros e incluso básicos, contrario al primer y más usual caso.

2.4.2 La concentración del electrolito soporte.

La concentración del electrolito soporte suele ser mucho mayor que la del analito, ya que su exceso permite que el transporte de masa por efectos de migración del analito, sea significativamente menor a su respectivo transporte de masa por difusión[73]. Así, un exceso de electrolito soporte es recomendable. Sin embargo, la presencia de un exceso de especies químicas, como el Cl^-, pueden afectar la reducción del As^{3+} durante la pre-concentración; por lo cual, existe una concentración óptima de electrolito soporte para la cuantificación de As por ASV. No obstante, al igual que en otros casos, que hemos considerado en esta monografía, no hay una única concentración que sea la óptima en todas las circunstancias. El efecto de la concentración del electrolito soporte sobre la determinación de As por voltamperometría fue revisado en 2 de las 22 publicaciones consultadas:

- Forsberg et al.[51] estudiaron la oxidación de As(0) a As(III) en una concentración de 1 µg mL^{-1} utilizando como electrolito soporte disoluciones 1 M de H_2SO_4, HNO_3, $HClO_4$ y H_3PO_4, y un electrodo de disco de Au. Estos autores encontraron que al disminuir la concentración de ácido cae la corriente de pico, pero no mencionan un efecto, particularmente significativo, de las especies sulfato, nitrato, perclorato o fosfato; es decir, según estos autores, cualquiera de las especies ácidas propuestas funciona adecuadamente para la determinación de As por ASV. Sin embargo, reportaron que un cambio en la fuerza iónica del medio afecta la sensibilidad de la técnica, por esta razón, en sus mediciones usaron KCl 1 M como parte del electrolito soporte.

- Gibbon et al.[55] optimizaron la fuerza iónica del electrolito soporte durante su proceso de medición por CSV, utilizando un microelectrodo de Au. Para ello, estudiaron la variación en la respuesta a la reducción de $As(OH)_3$ hasta As(0) en presencia de los iones Cl^-, Br^-, I^-, F^- y SO_4^{2-}, cuyas concentraciones se variaron entre 1M y 1 nM. Los autores encontraron que la concentración del ion Cl^- es particularmente importante para el proceso de medición, ya que esta especie se adsorbe fuertemente sobre los electrodos de Au[74], afectando así la interacción del Au con el As y por lo tanto el desempeño de la técnica de análisis. Esto se puede interpretar como una competencia, entre el As y los Cl^-, por los sitios activos del electrodo de trabajo de Au; particularmente importante si la concentración de los Cl^- es alta. A pesar de este hecho, los autores encontraron que usar KCl 100 mM, como parte del electrolito soporte, maximiza la señal del As.

En cuanto a los estudios realizados con electrodos de superficies diferentes al Au, las investigaciones sobre el efecto del electrolito soporte se limitan al pH del medio y a su fuerza iónica, pero no se menciona el efecto de la concentración.

En resumen, en este capítulo hemos encontrado que no existe un conjunto de condiciones experimentales únicas para la determinación de As por ASV, incluyendo que la reacción del par As(III)/As(0) no es la única estudiada para la cuantificación de este metaloide, dado que, gracias al desarrollo de los electrodos modificados, es posible usar, alternativamente, la pareja As(V)/As(III). Esto último es bastante importante, dado que tal hecho permite hacer estudios de especiación.

En el próximo capítulo, estudiaremos la influencia de las condiciones experimentales, que acabamos de revisar, sobre los parámetros analíticos de desempeño de la técnica de análisis de As por ASV.

3. Desempeño analítico de la ASV para la determinación de As.

El desempeño analítico de la técnica ASV para determinar As se revisará en función del límite de detección, el intervalo de linealidad, la selectividad y la exactitud, esta última en términos de la precisión y la veracidad.

3.1 Límite de detección

El límite de detección, LD, es quizá el parámetro analítico de desempeño más estudiado a lo largo de los años para el proceso de medición de As por ASV. Se han reportado LD varios ordenes de magnitud más bajos que el límite máximo de As permitido en agua potable[2]. La columna "***Límite de detección***" de la Tabla 4, muestra valores para este parámetro analítico entre 0,0096 y 5 µg L^{-1}; por ejemplo, Forsberg et al.[51] 0,02 µg L^{-1}; Gibbon et al.[55] 0,04 µg L^{-1}; Aller et al.[68] 0,1 µg L^{-1} y Sarkar et al.[71] 0,072 µg L^{-1}. La obtención de límites de detección tan bajos es uno de los mayores atributos de la técnica ASV y se da gracias a la combinación de la pre-concentración y del pulso adecuado en el paso de re-disolución. Ambas partes del proceso de medición deben optimizarse para lograr LD tan bajos como los reportados.

3.2 Intervalo de linealidad.

El área de los picos de la señal de As por ASV no siempre crece de manera lineal con la concentración, dado que en cualquier electrodo de trabajo los sitios activos se van saturando a medida que se realizan las mediciones o, en general, la superficie del electrodo se altera. Así, existe una concentración crítica de As a partir de la cual el área de pico tiende a ser constante o incluso disminuye. Ahora bien, tanto el punto más alto del intervalo de linealidad, como el más bajo, correspondiente al límite de cuantificación, varían significativamente en las referencias consultadas; por ejemplo, (todos los valores están en µg L^{-1}) Kopanica et al.[53] entre 0,5 y 250 para As^{3+}; Yamada et al.[61] entre 5 y 30 para As(III) y entre 100 y 1000 para As(V); Salimi et al.[62] entre 1 y 50 para As(V); Gibbon et al.[55] entre 0,07 y 2,25 para As(III); Mardegan et al.[63] entre 0,2 y 3,0 para As(III) y Kauffmann et al.[65] entre 4 y 1498 para As(III).

Esta variación, en los intervalos de linealidad, depende de la forma en que cada autor ha desarrollado su proceso de medición de As. Llama la atención la extensión del intervalo lineal reportada por Kopanica et al.[53] y Kauffmann et al.[65]. En estos estudios, es tan alto el límite de linealidad superior, que el valor de 10 µg L^{-1}, máximo permitido en agua potable[2], queda en la zona baja de las curvas de calibración. De otro lado, los sistemas de medición desarrollados por Gibbon et al.[55] y Mardegan et al.[63] tienen LD tan bajos que el punto más alto de sus intervalos lineales es mucho menor que el valor máximo permitido para el As en agua potable. Por su parte, los intervalos lineales reportados por Yamada et al.[61] y Salimi et al.[62], ubican al valor de referencia, 10 µg L^{-1}, en las cercanías de la zona central de la recta de calibración. Esta es la situación más deseable, ya que al estar ubicados en esta zona, el aporte a la incertidumbre combinada por la interpolación, durante la cuantificación, es más pequeño[75]. En conclusión, es poco deseable que este intervalo se encuentre muy alejado del valor de referencia de 10 µg L^{-1}, lo ideal es que se tengan unos puntos por encima y otros por debajo y así disminuir el aporte a la incertidumbre combinada debida a operaciones como la dilución[76]. Vale la pena precisar, que la anterior discusión se hizo con el fin de comparar los diferentes intervalos lineales encontrados en la revisión bibliográfica; puesto que es claro que, si se tienen muestras muy concentradas y se quieren analizar con curvas de calibración en intervalos de concentraciones bajas, basta con hacer las diluciones correspondientes, más allá del efecto que tal dilución tenga sobre la propagación de la incertidumbre. Igualmente, se aclara que lo importante es tener LD suficientemente bajos, tal que sea posible detectar el nivel que hemos usado como referencia, máximo contenido de As en agua potable.

3.3 Selectividad

En una muestra real, además de la concentración del As, existe una gran cantidad de sustancias que pueden generar variaciones en el área del pico. La columna "***Interferentes***", de la Tabla 4, presenta una recopilación de sustancias que se han estudiado como interferentes durante la determinación de As por ASV. En esta recopilación, encontramos que los principales interferentes para la determinación de As son Cu, Hg y en menor medida Cd y Pb, que son cationes inorgánicos; mientras que los ácidos húmicos (HA), constituyen un interferente de naturaleza orgánica. A continuación, se discuten algunos de los detalles más importantes mencionados en las referencias consultadas:

- Jagner et al.[52] reportaron que la oxidación de As(0) hasta As(III) en 160 mV presentó una interferencia debida a la presencia de Cu, observada en 100 mV. El efecto es más significativo cuando la concentración de Cu es mayor a 50 μg L^{-1}.

- Swain et al.[60] estudiaron la presencia de varios interferentes fijando la concentración de As en 50 μg L^{-1}. Con una relación 1:1 de As/Cu encontraron que la señal del As se incrementó gracias a que la formación del compuesto intermetálico Cu_3As_2 favorece la reducción del As sobre la superficie del electrodo. Al incrementar la concentración de Cu hasta tener una relación de 1 a 5, los autores encontraron que la señal del As cayó hasta un 30 % respecto al primer ensayo. Luego, al fijar la concentración de Pb y Hg en 25 μg L^{-1}, correspondiente a una relación de 2:1, encontraron una disminución de la señal del As, similar a la anterior. Por último, estos autores estudiaron la variación de la señal en presencia de ácidos húmicos entre 0 y 5 mg L^{-1}, encontrando una caída de la señal de hasta un 50 %.

- Huang et al.[56] estudiaron la eficiencia en la detección del As a partir de pruebas de estabilidad y reproducibilidad en presencia de HA durante 70 días, con temperaturas que oscilaron entre 0 y 30 ^{0} C. Además, evaluaron la variabilidad de la respuesta de una disolución de As entre 10 y 100 μg L^{-1} en presencia de HA de 20 mg L^{-1}, Fe de 200, Hg de 10, Pb de 3,1, Mn de 50, Mg de 100, Cd de 0,22, Cu de 3,2, Zn de 8 y Ca de 110 μg L^{-1}. Los autores encontraron que en estos niveles de concentración las especies metálicas Cu, Hg, Pb y Cd no afectan significativamente la señal del As, mientras que la presencia de HA puede causar una variabilidad de la señal cercana al 15 % debido a la capacidad de los HA para formar compuestos de coordinación.

- Sarkar et al.[71] reportaron que su método de análisis es capaz de soportar la presencia de hasta 200 μg L^{-1} de Cu, 50 μg L^{-1} de Pb y 100 μg L^{-1} de Cd.

Es importante destacar en este punto, que el efecto de los interferentes en la variación de la señal del As es una fuente de incertidumbre, y que la misma debe ser tenida en cuenta en el presupuesto de incertidumbre, como se verá en el capítulo siguiente.

A partir de los estudios de selectividad, podemos concluir que el conocimiento del comportamiento de los interferentes en el medio y su grado de interacción con el As, tanto en el seno de la disolución como en la superficie del electrodo de trabajo y durante las diferentes etapas del proceso de medición, es fundamental para el desarrollo de una metodología de análisis de As por ASV. En cualquier caso, estas interferencias generan respuestas erróneas que afectan la exactitud de la técnica, por lo cual es necesario establecer la concentración máxima permitida de los interferentes, tal que su presencia no genere una variación significativa en el área del pico usado para cuantificar.

3.4 Exactitud en la determinación de As por ASV

La exactitud de la técnica ASV para la determinación de As se evalúa a partir de dos componentes, la precisión y la veracidad. La precisión es la capacidad del sistema de medición de generar un número suficiente de réplicas de la señal de oxidación del As, con la menor dispersión posible. Esta puede evaluarse en condiciones de repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad[76]. La veracidad es la comparación entre el valor experimental encontrado con el sistema de medición y el valor reportado, que suele tomarse del certificado de un material de referencia suficientemente caracterizado por un proveedor capacitado. Un estudio formal de la exactitud debe evaluar estos dos parámetros[76].

A continuación, presentaremos cómo, en las investigaciones revisadas, los diferentes autores se aproximan a esta medición de la exactitud:

- Jagner et al.[52] estudiaron la veracidad de la técnica ASV a partir del uso de los materiales de referencia de agua de mar, NASS-1 y CASS-1, con contenidos de As declarados de 1,65 ± 0,19 y 1,04 ± 0,07 μg L^{-1}. Los autores encontraron en su estudio un contenido de As de 1,58 y 1,14 μg L^{-1}, correspondiente a sesgos del -4,17 y +9,61 %, respectivamente.

- Sun et al.[59] realizaron un estudio de la repetibilidad de la técnica de detección de As entre 1 y 5 μg L^{-1}, encontrando un RSD entre 0,6 y 2,0 %. Adicionalmente, estudiaron la veracidad usando el material de referencia CASS-1. El valor experimental encontrado por ellos fue de 1.01 ± 0,02 μg L^{-1} correspondiente a un sesgo de -2,88 %.

- Swain et al.[60] estudiaron dos materiales de referencia de agua con valores declarados de Arsénico de 16,4 ± 0.9 y 23.2 ± 2.9 μg L^{-1}. En su estudio realizaron cuatro replicas para cada muestra, encontrando sesgos de +2,4 y +4,0 % respectivamente.

- Yamada et al.[61] durante la especiación de As realizaron un estudio de la precisión en condiciones de repetibilidad, encontrando un RSD de 7,5 % para As(III) y de 8,4 % para As(V).

- Huang et al.[56] realizaron un estudio de la precisión durante 70 días en condiciones de precisión intermedia encontrando un RSD de 1,28 %.

- Niwa et al.[69] estudiaron la precisión de su sistema de medición en condiciones de repetibilidad y precisión intermedia. Estos autores usaron As de 10 μg L^{-1} en presencia de Cu de 1000 μg L^{-1} y EDTA 100 mM. En sus experimentos obtuvieron un RSD de 2,6 % para tres réplicas (repetibilidad) y 11,7 % para 15 réplicas (precisión intermedia).

Desde el punto de vista de la veracidad, los resultados de Jagner et al.[52] muestran que la dispersión de su sistema de medición es debida a errores aleatorios, dado que en un caso tienen un sesgo negativo y en el otro uno positivo, al estudiar dos MRC distintos. Mientras que los resultados de Sun et al.[59] y Swain et al.[60] muestran la presencia de errores sistemáticos, dado que sus sesgos siempre tienen el mismo signo. Esto indica que cada investigador debe desarrollar, en su método, una estrategia particular para controlar las variables que generan los errores en sus mediciones y que, como se ve en las diferentes publicaciones, dependen de las circunstancias de cada laboratorio. Ahora, en cuanto a la precisión, expresada ya sea como repetibilidad o precisión intermedia, se encuentran valores entre 0,6 y 11,7 %[56, 59, 61, 69]. Lo cual nos muestra un grado de control adecuado respecto de la precisión del método.

En resumen, de las 6 publicaciones consultadas, en las que se reportan datos asociados a la exactitud de las mediciones de As por voltamperometría, solo en una se estudió la exactitud del sistema de medición considerando la precisión y la veracidad. La veracidad se estudió a partir del uso de MRC de agua de mar; la precisión se estableció solo en términos de repetibilidad y de precisión intermedia, mientras que la reproducibilidad, que se evalúa a partir de ensayos de aptitud[76], no se reportó en ninguna de las investigaciones consultadas.

3.5 La ASV como una técnica de análisis de rutina para la cuantificación de As.

A partir de las consideraciones anteriores, resumidas en la Tabla 4, podemos decir que el uso de la ASV para la determinación de As es pertinente y puede ser llevado a cabo al nivel de ensayos de rutina en laboratorios de nuestro país. Sin embargo, los laboratorios que quieran incorporar, en sus ensayos acreditados, la medición de As por ASV, deben validar la metodología de análisis teniendo en cuenta, como mínimo, todos los aspectos que fueron discutidos en este trabajo[1]; además, por supuesto, de los requerimientos que implica la norma ISO/IEC 17025:2005[15]. Hechas estas salvedades, consideramos que la implementación de técnicas de análisis de rutina de As por ASV, contribuirá significativamente al aumento de la oferta de laboratorios de ensayo acreditados para la determinación de As, una necesidad real para el desarrollo técnico-científico del país, ya que según se presentó en la Tabla 2, en Colombia solo existen cuatro laboratorios acreditados para la medición de As[16–19].

En el siguiente capítulo, y como un insumo necesario durante el proceso de validación de un análisis de As por ASV, realizaremos un estudio preliminar sobre la estimación de la incertidumbre, basados en los procedimientos de medición reportados en la Tabla 4.

[1] En el siguiente capitulo se presentan, en forma de fuentes de incertidumbre, los ítems que consideramos deben tenerse en cuenta.

4. Estimación de la incertidumbre en la determinación de As por ASV

La incertidumbre está relacionada con la calidad de un resultado[77]; es decir, en la medición de una propiedad, la incertidumbre tiene que ver con el conjunto de estrategias que el experimentador utiliza para controlar las fuentes de error durante el proceso de medición. Un control poco adecuado de tales variables genera incertidumbres de medición demasiado altas, o sospechosamente bajas; por ejemplo, en la determinación de As por ASV, Sun et al.[59] reportan una incertidumbre de 0,02 μg L^{-1} en sus mediciones al MRC-CASS-1, pero este valor es más de tres veces menor a la incertidumbre reportada para dicho material de referencia de 0,07 μg L^{-1}. Esto no tiene sentido desde el punto de vista metrológico,[77] dado que en un proceso de medición, la estimación de la incertidumbre incluye, como fuente de error, la incertidumbre reportada por el proveedor del MRC.

Ahora, de las 22 publicaciones consultadas para la detección de As por ASV, Tabla 4, solo Sun et al.[59] reportan la incertidumbre de su medición, pero subestimada como acaba de verse. Esto implica que la incertidumbre no ha sido suficientemente estudiada en la determinación de As por ASV; prueba de ello son los resultados nulos obtenidos luego de la búsqueda, de este tipo de estudios, en las revistas especializadas "***Metrología***", "***The Quality Assurance Journal***" y "***Traceability in Chemical Measurement***"[78]. Así, hasta donde hemos logrado llegar con nuestra revisión bibliográfica, no existe un estudio sobre la evaluación de la incertidumbre en la medición de As por ASV. Vale la pena mencionar, eso sí, que durante la búsqueda en cuestión, se encontró la estimación de la incertidumbre (como parte del proceso de validación), de la DP-ASV para la determinación de Cd y Pb en agua[79], señal de que este tipo de trabajo es útil, necesario y que está pendiente de hacerse para el caso de la determinación de As por ASV. Por otro lado, es importante recordar que existen publicaciones con recomendaciones para la estimación de la incertidumbre, entre ellas la "***Guía para la expresión de la incertidumbre***" del BIPM[80]. Si los investigadores hacen uso de estas guías, se pueden obtener resultados más dicientes para sus mediciones de As, y que permitan una comparación entre los desempeños analíticos de las diferentes metodologías utilizadas para la medición. Basados en lo anterior, podemos decir que la estimación de la incertidumbre para la determinación de As por ASV está por desarrollarse.

A continuación, y basándonos en los procedimientos de medición estudiados en los capítulos anteriores, vamos a presentar una propuesta de modelo general para la estimación de la incertidumbre en la determinación de As por ASV.

4.1 Fuentes de incertidumbre en la medición de As por ASV

La estimación de la incertidumbre en la medición de As por ASV empieza por el conocimiento de todos los detalles experimentales que se tienen en cuenta durante el proceso de medición. A continuación, se presenta un procedimiento genérico para la determinación de As, con sus respectivas fuentes de incertidumbre:

1. Variación en la señal del As por efecto del proceso de limpieza de la superficie del electrodo de trabajo (u_L).

2. Variación en la señal del As por efecto del proceso de modificación de la superficie del electrodo de trabajo (u_M).

Estas fuentes de incertidumbre pueden estar correlacionadas, por lo cual deberían estudiarse en conjunto a partir de un análisis de varianza o un diseño experimental anidado[75]. Así mismo, podría considerarse una corrección por blanco en el modelo de medición[78].

3. Parámetros del método aplicados durante la pre-concentración (u_{pre}). Aquí se incluye la diferencia de potencial y el tiempo usados para la reducción del As. Se espera que el aporte para esta fuente de incertidumbre sea muy bajo ya que depende de la resolución del potenciostato.

4. Parámetros del método aplicados durante el proceso de re-disolución (u_{red}). Al igual que en el caso anterior se espera que el aporte para esta fuente de incertidumbre sea muy bajo ya que depende de la resolución del potenciostato.

5. Concentración del electrolito soporte ($u_{[ES]}$). Esta fuente de incertidumbre puede estimarse a partir de una serie de experimentos en condiciones de repetibilidad, o controlarse gravimétricamente y con el uso de reactivos de alta pureza.

6. Pre-tratamiento de la muestra antes del proceso de medición. Algunos de estos procesos pueden ser el secado de la muestra (u_{sec}), el pesaje (u_{pes}), la digestión (u_{dig}) y las diluciones (u_{dil}).

7. Medición de las muestras en condiciones de repetibilidad (u_{rep}) y/o precisión intermedia (u_{pi}), según el alcance de la validación.

8. Evaluación de la veracidad, mediante el uso de muestras enriquecidas o materiales de referencia certificados (u_{ver}).

9. Efecto de los interferentes en la variación del área de pico a partir del estudio de la selectividad (u_I).

Estas incertidumbres, que podemos considerar típicas dado que pueden expresarse como desviaciones típicas (ver glosario de términos), se pueden agrupar así:

Electrodo de trabajo; $u_{we} = \sqrt{u_L^2 + u_M^2}$; (A)

Parámetros de la técnica; $u_{pt} = \sqrt{u_{pre}^2 + u_{red}^2 + u_{[ES]}^2}$; (B)

Pre-tratamiento de la muestra; $u_{pm} = \sqrt{u_{sec}^2 + u_{pes}^2 + u_{dig}^2 + u_{dil}^2}$; (C)

Exactitud; $u_e = \sqrt{u_{rep}^2 + u_{pi}^2 + u_{ver}^2}$; (D)

Ecuación 11. Agrupamiento de las incertidumbres típicas según: electrodo de trabajo (A), parámetros de la técnica (B), pre-tratamiento de la muestra (C), y exactitud (D).

Usando este esquema de medición, podemos establecer un modelo matemático que relaciona la concentración de As con las fuentes de incertidumbre identificadas. En este ejercicio, vamos a considerar que se tomó una muestra en peso, m_m, la cual se llevó a una dilución en peso, m_{d1}, de la que se tomó una alícuota para llevar a la celda electroquímica, m_a, en donde se hace la medida sobre una masa final, que implica una dilución final, m_{df}. Si se requiriesen más diluciones, basta con agregar más secuencias como las que se acaban de presentar. El esquema de cálculos aplica igual, si las diluciones se hacen en volumen, en vez de en masa. El esquema de trabajo que se acaba de presentar, se resume en el siguiente modelo de medición del As[81]:

$$[\mathrm{As}]_{\mathrm{T}} = \frac{[\mathrm{As}]_{\mathrm{reg}}\, m_{df}\, m_{d1}}{m_a\, m_m} + f_{we}\, x_{we} + f_{pt}\, x_{pt} + f_{pm} x_{pm} + f_e x_e + f_I x_I$$

Ecuación 12. Modelo matemático genérico para la determinación de As por ASV.

Siendo f_{we}, f_{pt}, f, f_e y f_I factores asociados a las variables: electrodo de trabajo (x_{we}), parámetros de la técnica (x_{pt}), pre-tratamiento de la muestra (x_{pm}), exactitud (x_e) e interferentes (x_I).

También, es posible obtener los correspondientes coeficientes de sensibilidad (c_i) a partir de la derivada parcial de la concentración de $[\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}$ con respecto a cada fuente de incertidumbre, u_i, la Tabla 5 presenta la expresión general para los coeficientes de sensibilidad de las variables que hacen parte del modelo matemático genérico.

$$c_i = \frac{\partial [\mathrm{As}]_T}{\partial u_i}$$

Ecuación 13. Expresión general para la estimación del coeficiente de sensibilidad en la medición de [As].

Tabla 5. Expresión general para los coeficientes de sensibilidad asociados a cada variable en el modelo matemático.

Fuente de incertidumbre	**Símbolo**	**Coeficiente de sensibilidad (c_i)**
Concentración de As obtenida por regresión	$[\mathrm{As}]_{\mathrm{reg}}$	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{reg}}} = \frac{m_{df}\, m_{d1}}{m_a\, m_m}$
Dilución en masa 1	m_{d1}	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial m_{d1}} = \frac{[\mathrm{As}]_{\mathrm{reg}}\, m_{df}}{m_a\, m_m}$
Dilución en masa final	m_{df}	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial m_{df}} = \frac{[\mathrm{As}]_{\mathrm{reg}}\, m_{d1}}{m_a\, m_m}$
Alícuota en masa	m_a	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial m_a} = \frac{[\mathrm{As}]_{\mathrm{reg}}\, m_{df}\, m_{d1}}{m_m} \times \left(-\frac{1}{{m_a}^2}\right)$
Masa de muestra	m_m	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial m_m} = \frac{[\mathrm{As}]_{\mathrm{reg}}\, m_{df}\, m_{d1}}{m_a} \times \left(-\frac{1}{{m_m}^2}\right)$
Electrodo de trabajo	x_{we}	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial\, x_{we}} = f_{we}$
Pre-tratamiento	x_{pt}	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial\, x_{pt}} = f_{pt}$
Parámetros del método	x_{pm}	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial\, x_{pm}} = f_{pm}$
Exactitud	x_e	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial\, x_e} = f_e$
Interferentes	x_I	$\frac{\partial [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}}{\partial\, x_I} = f_I$

Así entonces, la incertidumbre combinada $u_{c[\mathrm{As}]}$ teniendo en cuenta las fuentes que se acaban de establecer tiene la siguiente forma:

$$u_{c[\mathrm{As}]} = \sqrt{(u_{calc})^2 + (c_{we}u_{we})^2 + \left(c_{pt}u_{pt}\right)^2 + \left(c_{pm}u_{pm}\right)^2 + (c_e u_e)^2 + (c_I u_I)^2}$$

Ecuación 14. Expresión para el cálculo de la incertidumbre combinada en la determinación de As por ASV.

En esta expresión u_{calc} se obtiene a partir de:

$$u_{calc} = \left\{ \sqrt{\left(\frac{m_{df}\, m_{d1}}{m_a\, m_m} \times \frac{u_{[As]_{reg}}}{[As]_{reg}}\right)^2 + \left(\frac{[As]_{reg}\, m_{d1}}{m_a\, m_m} \times \frac{u_{df}}{m_{df}}\right)^2 + \left(\frac{m_{df}\, [As]_{reg}}{m_a\, m_m} \times \frac{u_{d1}}{m_{d1}}\right)^2 + \left(\frac{m_{df}\, m_{d1}[As]_{reg}}{m_m} \times \frac{u_a}{m_a}\right)^2 + \left(\frac{m_{df}\, m_{d1}[As]_{reg}}{m_a} \times \frac{u_m}{m_m}\right)^2} \right\} \times [\mathrm{As}]_{\mathrm{T}}$$

Ahora, podemos obtener la incertidumbre expandida $U_{[As]} = u_{c[As]} \times k$, en donde *k* es el factor de cobertura[80].

4.2 Consideraciones sobre el proceso de estimación de la incertidumbre.

La incertidumbre final de una medición, según se acaba de presentar, tiene que ver fundamentalmente con la expresión $(c_i u_i)^2$ y, su magnitud depende del grado de control que se tenga sobre cada una de las variables involucradas en el proceso de medición; por tanto, dicho control es crucial para obtener resultados con buena exactitud y baja incertidumbre.

Es importante precisar que, en el proceso de estimación de la incertidumbre de la medida de As por ASV, las fuentes del error dependen de las condiciones específicas de cada laboratorio en el cual se desarrolla la medición y, del alcance del protocolo de validación que se quiera implementar, puesto que la utilización de diferentes instrumentos, personal y condiciones ambientales va a generar diferentes niveles de incertidumbre. En este sentido, un buen ejercicio para la estimación de la incertidumbre consiste en establecer un valor objetivo para la incertidumbre combinada, u_c; esto es, un valor suficientemente bajo al cual nos gustaría llegar o quizá un valor que esté definido por una norma nacional o internacional. Luego, se diseñan una serie de experimentos tales que los resultados de los mismos nos permitan estimar el valor experimental de u_c en las condiciones de nuestro laboratorio. Si el resultado de la incertidumbre es superior al valor de referencia escogido, entonces debemos comenzar a mejorar los protocolos de medida, empezando por aquellos que presenten el mayor aporte a la incertidumbre final; en este punto, es en donde el conocimiento de los valores de $(c_i u_i)^2$será de gran ayuda para empezar nuestro proceso de mejora, buscando disminuir, en primer lugar, aquellos valores que sean los más altos.

5. Conclusiones.

La cuantificación de arsénico, usando la voltamperometría, tiene múltiples posibilidades, empezando por la pareja redox que se analiza, As(0) / As(III) o As(III) / As(V). Esto es importante, ya que la posibilidad de cuantificar diferentes tipos de As nos permite la especiación del mismo, información que es valiosa de por sí y generalmente difícil de obtener. Este hecho implica la elección del electrodo de trabajo, electrolito soporte, pH, tipo de técnica de pulso y los parámetros relacionados con ella, tal que, su selección adecuada nos permita estudiar la reacción del par As(0) / As(III), As(III) / As(V) o ambos.

La pareja As(0) / As(III) es la más estudiada y utilizada para la cuantificación de As por ASV. Los estudios revisados muestran que la oxidación del As(0) ocurre a través de pasos sucesivos, en los cuales se transfiere un electrón a la vez, y siendo el intercambio del primer electrón, la etapa lenta del proceso. De esta manera, la búsqueda de mejores electrodos de trabajo, para la cuantificación de As por ASV, se basa en la síntesis de una superficie que facilite la transferencia de ese primer electrón.

El electrodo de trabajo, empleado en las diferentes voltamperometrías para la cuantificación de As, ha evolucionado desde los discos de superficies metálicas hasta los materiales compuestos. Durante este recorrido, se ha demostrado que los electrodos de discos de Ag, Pt y el HDME no son las mejores superficies para la determinación de As por ASV. En cambio, los electrodos de disco de Au han resultado ser adecuados en términos de la sensibilidad y el límite de detección, aunque se han reportado problemas debidos a la formación de óxidos de Au, en su superficie, que están asociados al uso continuo de los mismos. Esta limitación se ha superado mediante el uso de electrodos cuyas superficies están hechas de nanopartículas de Au. Además de las nanopartículas de Au, también se han reportado resultados aceptables, cuando tales superficies están hechas de nanopartículas de óxidos de Co, Th, Zr e incluso nanopartículas mixtas de FePt, FeAu y FePd. Al respecto, la tendencia parece indicar que las mejores superficies para la determinación de As por voltamperometría deben tener una concentración en superficie del modificador cercanas al 20%, un grosor menor a 10 nm y una distribución de gránulos menor a 100 nm.

Otras superficies que se han estudiado, para la determinación de As por voltamperometría, son aquellas que tienen un ligante inmovilizado en la superficie del electrodo, particularmente aquellas que favorecen la formación de enlaces As-S, por ejemplo, L-cisteína dispersa en quitosano.

Según las publicaciones consultadas, podemos decir que una determinación de As por ASV debería incluir los siguientes elementos, los cuales, además, serán la base para la validación del proceso de medición:

- Selección del electrodo de trabajo.
- Limpieza del electrodo de trabajo que garantice líneas base suficientemente horizontales, sin que dañe significativamente la superficie del electrodo. Por ejemplo, pulido con gamma alúmina, lavado en H_2SO_4 100 mM y 50 ciclos en VC entre -200 y 1500 mV.
- Selección del electrolito soporte, incluyendo el pH, y teniendo en cuenta el tipo de electrodo de trabajo usado y la reacción del par redox del As: As(0) / As(III), As(III) / As(V) o ambas, en la cual se base el proceso de medición.
- Optimización de la diferencia de potencial y del tiempo usados para la reducción del As(III) en el paso de pre-concentración, si se trata de ASV, o de las condiciones equivalentes, si se trata de CSV.
- Optimización del tipo y características del impulso que se aplicará durante el paso de re-disolución.

Finalmente, y respecto al desempeño del procedimiento para determinar As por ASV se deben evaluar, al menos, los siguientes factores:

- El límite de detección, que debería estar cercano a la décima parte del valor máximo permitido para As en agua potable, cuyo valor es de 10 μg L^{-1}, y que hemos usado como referencia en esta monografía.
- El intervalo de linealidad. Entre otras cosas, este intervalo va a definir las diluciones que se deben hacer a las muestras.
- La exactitud, asegurándose de incluir ensayos específicos de repetibilidad, precisión intermedia y veracidad; en esta última, haciendo uso de materiales de referencia certificados.
- El efecto de los interferentes que puedan estar presentes en las muestras ensayadas, estableciendo su concentración máxima permitida, tal que la señal del As no se vea afectada significativamente.
- La incertidumbre de la medición, haciendo énfasis en la identificación de las fuentes de error durante el proceso de medida y de la magnitud del efecto de cada una de ellas sobre la incertidumbre expandida.

6. Anexo: Determinación de As por ASV

El presente anexo contiene una aproximación experimental al proceso de medición de As por ASV. El propósito de este anexo es complementar, concretar y describir algunos detalles discutidos en la presente monografía. A continuación, se presenta el proceso realizado para la cuantificación de As en un material de referencia de suelo contaminado, estudio que incluyó la medición del límite de detección, la linealidad y la selectividad.

6.1 Aspectos experimentales sobre la determinación de As por ASV

Los experimentos se realizaron con el potenciostato e-DAQ modelo ER466. Los electrodos usados fueron: Referencia Ag/AgCl en KCl saturado, contraelectrodo de alambre de Ti recubierto con Pt y un electrodo de trabajo de diamante dopado con boro de la casa Windsor Scientific de 3 mm de diámetro. Sobre este electrodo se formó una película de oro aplicando una diferencia de potencial de -400 mV durante 30 segundos a partir de $HAuCl_4$ de 50 ± 5 mg L^{-1} obtenido por dilución de un patrón de 1000 ± 20 mg L^{-1} marca Merck. La curva de calibración se construyó a partir de una disolución de As de 1000 ± 10 mg L^{-1}, que a su vez fue preparada con As_2O_3 marca Panreac disuelto en un pequeño volumen de agua desionizada junto con dos perlas de hidróxido de sodio y llevado a volumen con HNO_3 al 10%. A partir de esta disolución se prepararon patrones de As de 100 ± 3 y 30 ± 3 µg L^{-1}. Como electrolito soporte se utilizó una disolución reguladora de fosfatos 100 mM de pH=5, preparado a partir de KH_2PO_4. La medición de As se realizó por DP-ASV fijando la diferencia de potencial en -138 mV durante 143 segundos en agitación constante, esta es la etapa de pre-concentración. Luego el sistema se dejó en reposo durante 30 segundos sin agitación y se aplicó un barrido de potencial entre -138 y 800 mV en forma de pulso diferencial con una altura de 64 mV y un ancho del escalón de 89 ms. Al final se mantuvo la diferencia de potencial en 800 mV durante 30 segundos, con el objetivo de limpiar el electrodo. Esta condición experimental se varió, ligeramente, durante el estudio de la selectividad, ya que se redujo As con una diferencia de potencial de -500 mV y el barrido de potencial se realizó entre -500 y 800 mV. Las condiciones experimentales ensayadas en esta serie de experimentos están basadas en el trabajo de Yamada et al[61].

6.2 Evaluación del límite de detección y del intervalo lineal.

La evaluación de estos dos parámetros analíticos se llevó a cabo midiendo el área del pico de oxidación del As(0) hasta As(III), en función de la concentración de As(III) y en el intervalo entre 0,010 y 0,240 µg L^{-1}. Los resultados que se presentan en la Figura 4, permiten observar que a partir de 0,010 µg L^{-1} es posible construir una curva de calibración. De esta forma, identificamos una zona de concentraciones que llamaremos bajas, entre 0,011 y 0,084 µg L^{-1}, cuya caracterización se observa en la Tabla 6.

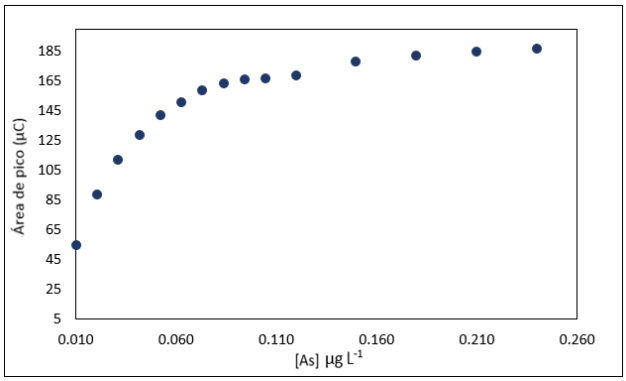
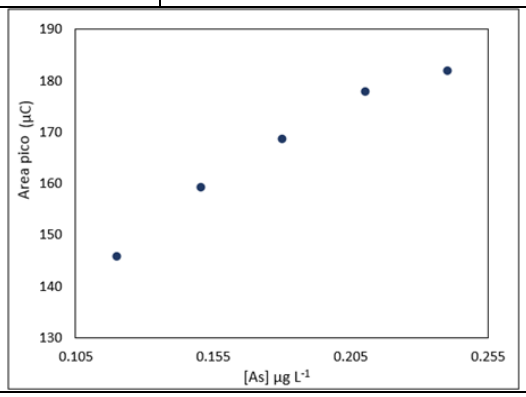


Figura 4. Intervalo de concentraciones explorado para la determinación de As^{3+} usando DP-ASV.

Tabla 6. Curva de calibración en concentraciones bajas, (0,011 a 0,084 μg L^{-1}), para la cuantificación de As(III) usando DP-ASV.

Parámetros analíticos		**Curva de calibración**		
Variable	**Unidades**			
Pendiente (b)	μC (μg $L)^{-1}$	1406	Error (S_b)	22,56 (1,6 %)
Intercepto (a)	μC	58,14	Error (S_a)	3,99 (6,9 %)
Error típico curva	μC	11,69		
Intervalo dinámico (n=3)	μg L^{-1}	0,011 a 0,105		
Intervalo lineal (n=3)	μg L^{-1}	0,011 a 0,084		
Coef. correlación lineal (r^2, n=3)	-	0,9179: La linealidad debe mejorase.		
Límite de detección (n=3)	μg L^{-1}	0,021 : Evaluado a partir del criterio del límite superior[82].		
Límite de cuantificación (n=3)	μg L^{-1}	0,064: Valor en concordancia con la mayoría de investigaciones estudiadas en la presente monografía[82].		
Sensibilidad analítica (n=3)	(μg $L)^{-1}$	120		



6.3 Evaluación de la selectividad

La selectividad se estudió mediante el cambio del área del pico de oxidación de As(0) hasta As(III), por efecto de la presencia de los interferentes Cd y Pb entre 0 y 3,68 μg L^{-1} y Cu entre 0 y 0,72 μg L^{-1}. En estos experimentos, la concentración del As se mantuvo entre 0,011 y 0,071 μg L^{-1}.

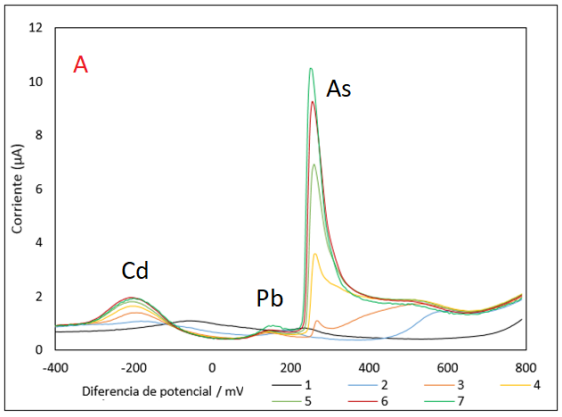
La Tabla 7 muestra la variación de la altura de pico del As en la medida en que se incrementa su concentración y la de Cd, Pb y Cu. El primer experimento (llamado BL) es la línea base entre -400 y 800 mV (línea negra gráfico A), y su comportamiento es el esperado: una línea aproximadamente horizontal y sin picos. En el experimento 2, [As^{3+}] = 0,011 μg L^{-1} (línea azul en el gráfico A), no se observó la señal para la oxidación del As(0), la cual se esperaba alrededor de 220 mV. En el experimento 3 se dobló, aproximadamente, la concentración de As (línea naranja gráfico A), y la señal de oxidación apareció con una baja intensidad sobre 245 mV. Adicionalmente, en este experimento, la concentración de Cd y de Pb se fijó en 0,56 μg L^{-1}, y se observó una pequeña señal para el Cd en -195 mV y otra, aún más pequeña, para el Pb y sobre 120 mV. Ambas señales aparecen suficientemente alejadas de la región de potencial en donde se presentó la oxidación del As. En los experimentos 4, 5 y 6 (líneas amarilla, verde y roja en la gráfica A), la concentración de Cd y Pb se aumentó hasta 2,00 μg L^{-1} y la de As hasta 0,044 μg L^{-1}. En estos tres experimentos la señal para la oxidación del As se incrementó pasando de cerca de 2 a casi 9 μA. La corriente para la oxidación del Cd pasó de 1,50 a 1,87 μA y la del Pb presentó corrientes de oxidación menores a 1 μA. Así, la corriente del pico del As es casi 5 veces mayor respecto a la del Cd, y

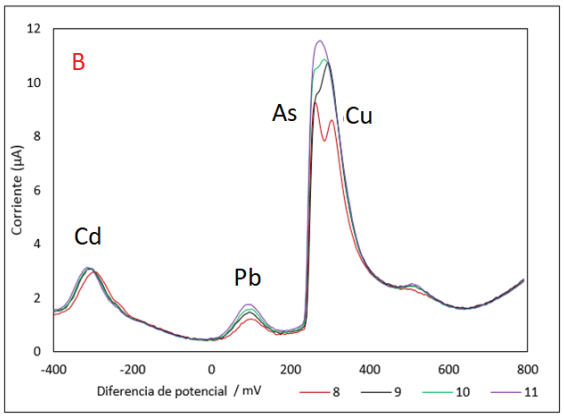
casi 10 veces mayor que la del Pb. Por lo cual, el método es capaz de medir As en presencia de, por lo menos y según nuestros experimentos, 52 veces más Cd y Pb que As.

Aparte de estos hechos, se observa que en la gráfica A, a partir de la primera adición de As (línea azul), aparece una señal cerca de 600 mV, que luego parece crecer un poco y que se desplaza hacia 400 mV, la línea naranja que corresponde al experimento 3. En las siguientes tres adiciones (experimento 4, 5 y 6) si bien la región en cuestión, alrededor de 400 mV no crece claramente, si genera una especie de fondo que indicaría la presencia de algo en el medio de análisis. Este fenómeno es distinguible respecto de la línea base y es un indicativo, según sospechamos, de la presencia de especies como $As(OH)^{2+}_{(ac)}$ y $As(OH)^{+}_{2(ac)}$.

Tabla 7. Variación de la altura de pico del As en DP-ASV en presencia de Cd, Pb y Cu usando el electrodo de BDD con película de oro formada durante 30 segundos.

Experimento	[As]/µg L^{-1}	[Cd]/µg L^{-1}	[Pb]/µg L^{-1}	[Cu]/µg L^{-1}	Relación [Cd] / [As]*	Relación [Cu] / [As]
1 (BL: Blanco)	0	0	0	0	0	0
2	0,011	0	0	0	0	0
3	0,019	0,56	0,56	0	29,5	0
4	0,029	1,09	1,09	0	37,5	0
5	0,036	1,56	1,56	0	43,3	0
6	0,044	2,00	2,00	0	45,5	0
7	0,051	2,40	2,40	0,17	47,1	3,3
8	0,056	2,76	2,76	0,32	49,3	5,7
9	0,062	3,09	3,09	0,46	49,8	7,4
10	0,067	3,40	3,40	0,60	50,7	8,9
11	0,071	3,68	3,68	0,72	51,8	10,1
Voltamperogramas experimentos 1 al 7				Voltamperogramas experimentos 8 al 11		





* Esta relación es igual en valor a la relación **[Pb] / [As]**.

Ahora, en el experimento 7 (línea verde en el gráfico A), se fijó la concentración de Cd y de Pb en 2,40 µg L^{-1}, la de As en 0,054 µg L^{-1} y adicionalmente, la de Cu en 0,17 µg L^{-1}. En estas condiciones, la corriente de pico para el Cd y el Pb no se incrementó más, mientras que la corriente de pico para la oxidación del As aumentó hasta 10,45 µA. El sistema de medición no parece notar la presencia del Cu, en una relación de concentraciones [Cu]/[As] ≈ 3. Sin embargo, en el experimento 8 (línea carmesí gráfico B), al subir la concentración de As a 0,056 y la de Cu a 0,32 µg/L, [Cu]/[As] ≈ 6, la intensidad de la señal para el As (medida en el pico de 250 mV) bajó a 8,82 µA y aparece una nueva señal en forma de hombro que corresponde al Cu (corriente de pico de 8,25 µA en un potencial de 320 mV). Así, es evidente la interferencia del Cu sobre la señal del As, mientras que el Cd y el Pb no interfieren, a pesar

de que se incrementan sus concentraciones aún más, hasta 3,68 μg L^{-1}, ([Cd] ó [Pb] / [As] ≈ 52), experimentos 9, 10 y 11. Por tanto, en lo que sigue, nos concentraremos en el efecto del Cu.

En el experimento 9 (línea negra gráfico B), al aumentar las concentraciones de As y de Cu, [Cu]/[As] ≈ 7, se tiene que se invierten las condiciones observadas en el experimento anterior, la señal del Cu ahora es la principal y su potencial disminuye a 300 mV, mientras que la señal del As ahora se presenta como un hombro de la señal del Cu sobre los 255 mV. Esto es, la señal del As se encuentra parcialmente enmascarada por la presencia del Cu. En el experimento 10 (línea verde gráfico B) las concentraciones de As y de Cu pasaron a 0,067 y 0,66 μg L^{-1} ([Cu]/[As] ≈ 9), y las dos señales apenas se diferencian: corriente de pico para el As 10,44 μA en 255 mV y para el Cu 10,81 μA en 295 mV. Finalmente, en el experimento 11 (línea morada gráfica B), solo se observa una señal, atribuible a la combinación de la oxidación de las dos especies. El pico único aparece en una diferencia de potencial de 285 mV (aproximadamente la mitad entre el potencial esperado para el As y el esperado para el Cu), y con una corriente de pico de 11,34 μA. Esto significa que para una relación [Cu]/[As] ≈ 10, la señal del As será totalmente enmascarada por la presencia del Cu.

En conclusión, si se quisiera determinar As por DP-ASV usando nuestro protocolo experimental, la máxima cantidad de Cu que puede tener la muestra a ser analizada no podrá superar en 3 veces la concentración de As que se quiera medir; o en particular y según nuestros experimentos, la cantidad máxima de Cu que no causa interferencia es 0,17 μg L^{-1} si se analiza As al nivel de 0,051 μg L^{-1}.

6.4 Determinación de As en el material de referencia MAT-SL de suelo

El material de referencia MAT-SL corresponde a una muestra de suelo. El certificado de análisis de este material y usando el método de extracción con agua regia, basado en la norma ISO 11466 de 1995[83], declara las concentraciones de los analitos que se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Especies químicas extraíbles en agua regia, y sus concentraciones, según el certificado del material de referencia MAT-SL de suelo.

Mensurando	Cantidad / mg kg^{-1}		[Mensurando] / [As]*
	Mínima	Máxima	
As	926	1.034	1-1
Cd	4,86	6,96	0,005-0,006
Cr	54,3	60,5	0,059-0,059
Cu	380	409	0,410-0,393
Ni	29,1	33,1	0,031-0,032
Pb	2.154	2.330	2,33-2,25
Zn	1.828	2.051	1,97-1,98

***Calculada a partir de la cantidad mínima y máxima declarada para cada especie**

La Tabla 8 nos muestra que aplicando el protocolo de digestión de acuerdo a la norma ISO 11466 de 1995[83] se tiene que el nivel de As oscila entre 926 y 1034 mg kg^{-1}. En cambio, la relación de concentraciones entre el As y el Cu tiende a 0,4, un valor inferior a lo que hemos trabajado y mostrado en la Tabla 7.

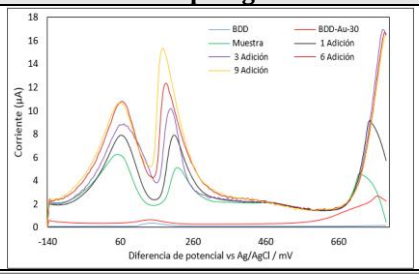
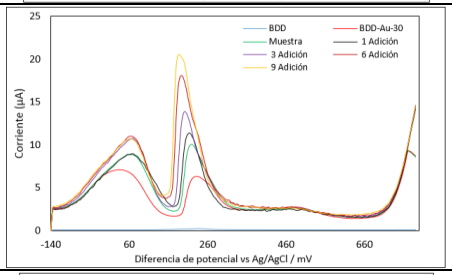
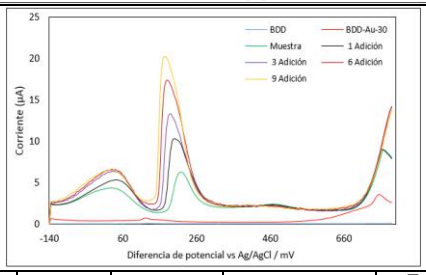
El trabajo experimental con una muestra de este tipo implica una etapa de pre-tratamiento que es anterior al proceso de medición. Nos referimos principalmente al proceso de digestión. Esta primera etapa, también requiere de una validación con el objetivo de establecer la mejor condición experimental que maximice la exactitud y minimice la incertidumbre en la medición.

La Tabla 9 muestra las áreas de pico obtenidas para la muestra MAT-SL. En la columna "***voltamperograma***", se muestran los DP-ASV para el electrodo BDD limpio y corresponde a las líneas azules que prácticamente se confunden con el eje de las abscisas. Estas son, en todos los casos, suficientemente horizontales con apenas pequeñas perturbaciones en algunos experimentos. Así mismo, se observan las líneas rojas correspondientes al voltamperograma cuando ya se tiene la película de Au. Al comparar estas líneas base con las anteriores, se observan cambios significativos y la aparición de picos en la zona en que se espera aparezca el pico de oxidación del As^0. Estas líneas base, si bien no ideales, aún son suficientemente buenas como referencia para apreciar la aparición del pico del As cuando se hacen las adiciones. De otra parte, las líneas verdes corresponden a los DP-ASV obtenidos para los extractos de los materiales MAT-SL, las cuales muestran la señal atribuible a la oxidación del As(0). La primera adición de As en cada una de las muestras estudiadas corresponde a las líneas negras, mientras que las adiciones tres, seis y nueve corresponden a las líneas morada, carmesí y amarilla; en todas ellas se aprecia el incremento en la señal. Así mismo, esta tabla contiene la columna "***Área***" que presenta los valores del área de pico para la oxidación del As en cada uno de los voltamperogramas. Finalmente, en la parte inferior se tienen los valores para las áreas medias de pico, la desviación estándar y el RSD para los voltamperogramas correspondientes al electrodo BDD, la película de Au, muestra MAT-SL y adiciones 1, 3, 6 y 9.

En los DP-ASV obtenidos para esta muestra se tiene una primera señal alrededor de 60 mV con corrientes de pico entre 4,5 y 6 μA la cual puede atribuirse a la presencia de Pb, que en este material está en un valor medio de 2.242 mg kg^{-1}. Una segunda señal aparece sobre 470 mV con una corriente de pico de 2,5 μA. Una tercera señal se insinúa hacia 700 mV (el extremo de la ventana de potencial) con una corriente de pico mayor a 4,5 μA. Finalmente, se observa la señal que nos interesa, y atribuible al As, en cercanías de 250 mV con una corriente de pico entre 5 y 20 μA, aproximadamente.

El estudio de la muestra MAT-SL nos permitió identificar el pico del As en los DP-ASV correspondientes, pero su cuantificación no fue posible de realizar en las condiciones de medición exploradas, dado que se encontraron porcentajes de recuperación muy bajos.

Tabla 9. Cuantificación de As usando DP-ASV en el material certificado MAT-SL.

Muestra	Réplica	Voltamperograma	DP-ASV de	Área (µC)
MAT-SL	1		BDD	0,056
			BDD-Au-30	0,695
			Muestra	19,29
			1 Adición	33,72
			3 Adición	20,59
			6 Adición	54,06
			9 Adición	67,36
	2		BDD	0,048
			BDD-Au-30	0,513
			Muestra	31,76
			1 Adición	48,28
			3 Adición	55,20
			6 Adición	79,66
			9 Adición	98,24
	3		BDD	0,032
			BDD-Au-30	0,658
			Muestra	18,43
			1 Adición	45,51
			3 Adición	63,17
			6 Adición	97,63
			9 Adición	114,44

X̄: Promedio del área expresado en µC.
s: Desviación estándar expresada en µC.

BDD	X̄ (µC)	0,05	BDD-Au-30	X̄ (µC)	0,62	Muestra	X̄ (µC)	20,79
	s (µC)	0,01		s (µC)	0,10		s (µC)	10,00
	RSD	27		RSD	15		RSD	48
1 Adición	X̄ (µC)	42.50	3 Adición	X̄ (µC)	46.32	6 Adición	X̄ (µC)	77.12
	s (µC)	7.73		s (µC)	22.64		s (µC)	21.90
	RSD	18		RSD	49		RSD	28
9 Adición	X̄ (µC)	93.35						
	s (µC)	23.92						
	RSD	26						

Finalmente queremos precisar que estos experimentos se realizaron de forma exploratoria y por lo tanto deberían tenerse en cuenta únicamente con propósitos ilustrativos.

7. Bibliografía

(1) Centro Español de Metrología. Vocabulario Internacional de Metrología Conceptos Fundamentales, generales y términos asociados (VIM). 2012. Vol. 3 edición, JCGM 200:2012.

(2) US-EPA. Technical Fact Sheet: Final Rule for Arsenic in Drinking Water. 2001.

(3) Bundschuh, J.; Litter, M. I.; Parvez, F.; Román-Ross, G.; Nicolli, H. B.; Jean, J. S.; Liu, C. W.; López, D.; Armienta, M. A.; Guilherme. One Century of Arsenic Exposure in Latin America: A Review of History and Occurrence from 14 Countries. *Science of the Total Environment*. 429 (**2012**) 2–35.

(4) Kapaj, S.; Peterson, H.; Liber, K.; Bhattacharya, P. Human Health Effects From Chronic Arsenic Poisoning–A Review. *J. Environ. Sci. Heal. Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.* **2006**, 41 (10), 2399–2428.

(5) Mandal, B. K.; Suzuki, K. T. Arsenic Round the World: A Review. *Talanta* **2002**, *58*, 201–235.

(6) Alonso, D. L.; Latorre, S.; Castillo, E.; Brandão, P. F. B. Environmental Occurrence of Arsenic in Colombia: A Review. *Environmental Pollution*. 429 (**2012**) 2–35.

(7) Bustos Rodriguez, H.; Oyola Lozano, D.; Rojas Martínez, Y. A.; Pérez Alcázar, G. A.; Balogh, A. G. Invisible Gold in Colombian Auriferous Soils. *Hyperfine Interact.* (**2005**) 166: 605–611.

(8) Tassinari, C. C. G.; Pinzon, F. D.; Buena Ventura, J. Age and Sources of Gold Mineralization in the Marmato Mining District, NW Colombia: A Miocene-Pliocene Epizonal Gold Deposit. *Ore Geol. Rev.* 33 (**2008**) 505–518.

(9) Contraloría General de la República. Minería En Colombia: Fundamnetos Para Superar El Modelo Extractivista. **2013**, 211.

(10) Uribe Perez, S. (Mayo de 2014). Arsénico pone en peligro acuíferos en Santurbán. *UN periodico: Publicacion de la Universidad Nacional de Colombia*, pp. 11-13.

(11) Caracol radio Pereira. (Marzo de 2016) El arsenico encontrado en el agua de Santa Rosa de Cabal no fue responsabilidad humana. Caracol radio. Recuperado de http://www.caracol.com.co/

(12) Ministerio de la proteccion social. Decreto número 1575 de 2007. Bogota 2007, p 14.

(13) Ministerio Proteccion social. Resolución 2115 de 2007. Bogota 2007, p 3.

(14) Direccion Nacional de Planeacion: Documento compes 3446. Lineamientos para una política nacional de la calidad. Bogota 2006, p 5.

(15) NTC/ISO/IEC 17025, Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibracion. 2005.

(16) Organismo Nacional de Acreditacion de Colombia . Certificado acreditación L1062 empresa de acueducto, alcantarillado y aseo de Bogota ESP- EAB ESP. Bogotá 2016, pp 1–25. Recuperado de http://www.onac.org.co/

(17) Organismo Nacional de Acreditacion de Colombia. Certificado Acreditación L0928 Inspectorate Colombia LTDA. Barranquilla 2016, pp 1–22. Recuperado de http://www.onac.org.co/

(18) Organismo Nacional de Acreditacion de Colombia. Certificado Acreditación L1055 Tecnimicro Laboratorio de Analisis S.A.S. Medellín 2016, pp 1–30. Recuperado de http://www.onac.org.co/

(19) Organismo Nacional de Acreditacion de Colombia. Certificado Acreditación L0777 Sociedad de acueducto alcantarillado y aseo de Barranquilla S.A. E.S.P. Barranquilla 2016, pp 1–10. Recuperado de http://www.onac.org.co/

(20) EPA-815-R-00-010. Analytical Methods Support Document for Arsenic in Drinking Water, December 1999.

(21) EPA METHOD 200.8. Determination of trace elements in waters and wastes by inductively coupled plasma-mass spectrometry. 1990.

(22) EPA-METHOD 200.7. Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. 1990.

(23) Standard Methods for the examination of water and wastewate. 3120 Metals by plasma emission spectroscopy 3120 A. 20th Edition. 1999.

(24) EPA METHOD 200.9. Determination of trace elements by stabilized temperature graphite furnace atomic absorption. 1991.
(25) Standard Methods for the examination of water and wastewate. 3113 Metals by electrothermal atomic absorption spectrometry. 20th Edition. 1999.
(26) Petrusevski, B.; Sharma, S.; Schippers, J. C.; Shordt, K. *Arsenic in Drinking Water*; International Water and Sanitation Centre: Oxford, UK, 2007.
(27) EPA-METHOD 7063. Arsenic in aqueous samples and extracts by anodic stripping voltammetry (ASV). 1996.
(28) Panagiotaras, D.; Panagopoulos, G.; Papoulis, D.; Avramidis, P. Arsenic Geochemistry in Groundwater System. *Geochemistry - Earth's Syst. Process.* **2012**, 27–38.
(29) Smedley, P. L.; Kinniburgh, D. G. A Review of the Source, Behaviour and Distribution of Arsenic in Natural Waters. *Appl. Geochemistry* **2002**, *17* (5), 517–568.
(30) Ngai K. K. T. Arsenic Speciation and Evaluation of an Adsorption Media in Rupendehi and Nawalparasi Districts of Nepal. *Dep. Civ. Environ. Eng.* **2002**, 232.
(31) Cao, L.; Jia, J.; Wang, Z. Sensitive Determination of Cd and Pb by Differential Pulse Stripping Voltammetry with in Situ Bismuth-Modified Zeolite Doped Carbon Paste Electrodes. *Electrochim. Acta*, **2008**, *53* (5), 2177–2182.
(32) Kellner, R. Electroanalytical Methods In Analytical Chemistry Part IV*: A Modern Approach to Analytical Science*; Wiley-VCH Verlag GmbH, 2005; pp 4286–4287.
(33) Molina, Á.; González, J. *Pulse Voltammetry in Physical Electrochemistry and Electroanalysis*; Springer, 2016; pp 63-64.
(34) Kokkinos, C.; Economou, A.; Raptis, I.; Efstathiou, C. E. Lithographically Fabricated Disposable Bismuth-Film Electrodes for the Trace Determination of Pb(II) and Cd(II) by Anodic Stripping Voltammetry. *Electrochim. Acta* **2008**, *53* (16), 5294–5299.
(35) Mays, D. E.; Hussam, A. Voltammetric Methods for Determination and Speciation of Inorganic Arsenic in the Environment-A Review. *Analytica Chimica Acta*. 646 (**2009**) 6–16
(36) Baron-Jaimez, J.; Joya, M. R.; Barba-Ortega, J. Anodic Stripping Voltammetry - ASV for Determination of Heavy Metals. *J. Phys. Conf. Ser.* **2013**, *466* (1).
(37) Wei, Z.; Somasundaran, P. Cyclic Voltammetric Study of Arsenic Reduction and Oxidation in Hydrochloric Acid Using a Pt RDE. *J. Appl. Electrochem.* **2004**, *131*, 1595.
(38) Jia, Z.; Simm, A. O.; Dai, X.; Compton, R. G. The Electrochemical Reaction Mechanism of Arsenic Deposition on an Au(111) Electrode. *J. Electroanal. Chem.* **2006**, *587* (2), 247–253.
(39) Cabelka, T. D.; Austin, D. S.; Johnson, D. C. Electrocatalytic Oxidation of As(III). *J Electrochem. soc* **1984**, volume 131, issue 7, 1595-1602.
(40) Brusciotti, F.; Duby, P. Cyclic Voltammetry Study of Arsenic in Acidic Solutions. *Electrochim. Acta*. 52 (**2007**) 6644–6649.
(41) Robles, A. D.; Vettorelo, S. N.; Gerpe, M.; Garay, F. The Electrochemical Reaction Mechanism of Arsenic on Gold Analyzed by Anodic Stripping Square-Wave Voltammetry. *Electrochim. Acta* **2017**, *227*, 447–454.
(42) Yang, M.; Guo, Z.; Li, L. N.; Huang, Y. Y.; Liu, J. H.; Zhou, Q.; Chen, X.; Huang, X. J. Electrochemical Determination of arsenic(III) with Ultra-High Anti-Interference Performance Using Au-Cu Bimetallic Nanoparticles. *Sensors Actuators, B Chem.* **2016**, *231*, 70–78.
(43) Arcand, G. M. Distribution of Tripositive Arsenic between Hydrochloric Acid Solutions and (Beta-Beta-Prime)-Dichlorodiethyl Ether RN - J. Am. Chem. Soc., v. 79, P. 1865-1870. **1957**, *I* (6).
(44) Smith, D. E. Alternating Current Polarography of Electrode Processes with Coupled Homogeneous Chemical Reactions II. Experimental Results with Catalytic Reductions. *Anal. Chem.* **1963**, *35* (6), 610–614.
(45) Burke, L. D.; Nugent, P. F. The Electrochemistry of Gold: I The Redox Behaviour of the Metal. *Gold Bull.* **1997**, *30* (i), 43–53.

(46) Steven, B. Standard Electrode Potential and Temperature Coeficients in Water. *J. phys. chem. ref. data* **1989**, *18* (1), 1–21.
(47) Pei, Y.-L.; Zhang, C.; Li, J.; Sui, J. Electrical and Thermal Transport Properties of $AgIn_5Te_8$. *J. Alloys Compd.* **2013**, *566*, 50–53.
(48) Giancoli, Douglas C. Ciencias e Ingeniería. *Pearson Educ.* **2009**, pp 31–36.
(49) Zen, J. M.; Kumar, A. S.; Tsai, D. M. Recent Updates of Chemically Modified Electrodes in Analytical Chemistry. *Electroanalysis*. **2003**, 15, No. 13.
(50) Luong, J. H. T.; Lam, E.; Male, K. B. Recent Advances in Electrochemical Detection of Arsenic in Drinking and Ground Waters. *Anal. Methods* **2014**, *6*, 6157–6169.
(51) Forsberg, G.; Jerome W. Determination of Arsenic by Anodic Stripping Voltammetry and Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry. *Anal. Chem.* **1975**, *47*.
(52) Hua, C.; Jagner, D.; Renman, L. Automated Determination of Total Arsenic in Sea Water by Flow Constant-Current Stripping Analysis with Gold Fibre Electrodes. *Anal. Chim. Acta* **1987**, *201*, 263–268.
(53) Kopanica, M.; Novotný, L. Determination of Traces of arsenic(III) by Anodic Stripping Voltammetry in Solutions, Natural Waters and Biological Material. *Anal. Chim. Acta* **1998**, *368*, 211-218.
(54) Simm, A. O.; Banks, C. E.; Compton, R. G. The Electrochemical Detection of arsenic(III) at a Silver Electrode. *Electroanalysis*. 17, **2005**, No. 19, 1727 – 1733.
(55) Gibbon-Walsh, K.; Salaün, P.; Van Den Berg, C. M. G. Arsenic Speciation in Natural Waters by Cathodic Stripping Voltammetry. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *662*, 1–8.
(56) Zhou, C.; Yang, M.; Li, S. S.; Jiang, T. J.; Liu, J. H.; Huang, X. J.; Chen, X. Electrochemically Etched Gold Wire Microelectrode for the Determination of Inorganic Arsenic. *Electrochim. Acta* **2017**, *231*, 238–246.
(57) Liu, Z. G.; Chen, X.; Liu, J. H.; Huang, X. J. Robust Electrochemical Analysis of As(III) Integrating with Interference Tests: A Case Study in Groundwater. *J. Hazard. Mater.* 278 (**2014**) 66–74.
(58) Hamilton, T. W.; Ellis, I.; Florence, T. M. Determination of arsenic and antimony in electrolytic copper by anodic stripping voltammetry at a gold film electrode. *AnaIytica Chim. Acta* **1980**, *119*, 225–233.
(59) Sun, Y.-C.; Mierzwa, J.; Yang, M. H. New Method of Gold-Film Electrode Preparation for Anodic Stripping Voltammetric Determination of Arsenic (III and V) in Seawater. *Talanta* **1997**, 44, 1379–1387.
(60) Song, Y.; Swain, G. M. Total Inorganic Arsenic Detection in Real Water Samples Using Anodic Stripping Voltammetry and a Gold-Coated Diamond Thin-Film Electrode. *Anal. Chim. Acta*. 593 (**2007**) 7–12.
(61) Yamada, D.; Ivandini, T. A.; Komatsu, M.; Fujishima, A.; Einaga, Y. Anodic Stripping Voltammetry of Inorganic Species of As^{3+} and As^{5+} at Gold-Modified Boron Doped Diamond Electrodes. *J. Electroanal. Chem.* **2008**, *615*, 145–153.
(62) Salimi, A.; Mamkhezri, H.; Hallaj, R.; Soltanian, S. Electrochemical Detection of Trace Amount of arsenic(III) at Glassy Carbon Electrode Modified with Cobalt Oxide Nanoparticles. *Sensors Actuators B Chem.* **2008**, *129* (1), 246–254.
(63) Mardegan, A.; Scopece, P.; Lamberti, F.; Meneghetti, M.; Moretto, L. M.; Ugo, P. Electroanalysis of Trace Inorganic Arsenic with Gold Nanoelectrode Ensembles. *Electroanalysis.* **2012**, 24, No. 4, 798 – 806.
(64) Punrat, E.; Chuanuwatanakul, S.; Kaneta, T.; Motomizu, S.; Chailapakul, O. Method Development for the Determination of Arsenic by Sequential Injection/anodic Stripping Voltammetry Using Long-Lasting Gold-Modified Screen-Printed Carbon Electrode. *Talanta*. 116 (**2013**) 1018–1025.

(65) Sakira, A. K.; Issa; Somø, T.; Ziemons, E.; Dejaegher, B.; Mertens, D.; Hubert, P.; Kauffmann, J.-M. Determination of Arsenic(III) at a Nanogold Modified Solid Carbon Paste Electrode. *Electroanalysis* **2015**, *27*, 309–316.
(66) Moghimi, N.; Mohapatra, M.; Leung, K. T. Bimetallic Nanoparticles for Arsenic Detection. *Anal. Chem.* **2015**, 87 (11), pp 5546–5552.
(67) Korolczuk, M.; Ochab, M.; Rutyna, I. Determination of As(III) by Anodic Stripping Voltammetry Following Double Deposition and Stripping Steps at Two Gold Working Electrodes. *Talanta*. 144 (**2015**) 517–521.
(68) Pereira, F. J.; Vázquez, M. D.; Debán, L.; Aller, A. J. Inorganic Arsenic Speciation by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry Using Thoria Nanoparticles-Carbon Paste Electrodes. *Talanta*. 152 (**2016**) 211–218.
(69) Kato, D.; Kamata, T.; Kato, D.; Yanagisawa, H.; Niwa, O. Au Nanoparticle-Embedded Carbon Films for Electrochemical As^{3+} Detection with High Sensitivity and Stability. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 2944−2951.
(70) Dai, X.; Nekrassova, O.; Hyde, M. E.; Compton, R. G. Anodic Stripping Voltammetry of Arsenic(III) Using Gold Nanoparticle-Modified Electrodes. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 5924–5929.
(71) Saha, S.; Sarkar, P. Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry for Detection of As (III) by Chitosan-$Fe(OH)_3$ Modified Glassy Carbon Electrode: A New Approach towards Speciation of Arsenic. *Talanta*. 158 (**2016**) 235–245.
(72) Nuñez, C.; Arancibia, V.; Gomez, M. Determination of Arsenic in the Presence of Copper by Adsorptive Stripping Voltammetry Using Pyrrolidine Dithiocarbamate or Diethyl Dithiophosphate as Chelating-Adsorbent Agents. Effect of CPB on the Sensitivity of the Method. *Microchem. J.* **2016**, *126*, 70–75.
(73) Brett, C. M. A., Brett, A. M. O. (1993). Electrochemistry: Principles, methods, and applications. Oxford: Oxford University Press. p 82.
(74) Bode, D. D. Anion and pH Effects on the Potentials of Zero Charge of Gold and Silver Electrodes. *J. Phys. Chem.* **1967**, *71* (4), 792–797.
(75) Miller Janes; Miller Jane. Estadística y Quimiometría Para Química Analítica, 4th ed.; 2005. pp 123-124.
(76) Morillas P.P., E. E. La Adecuación Al Uso de Los Métodos Analíticos: Una Guía de Laboratorio Para Validación de Métodos y Temas Relacionados, 1 edición.; Madrid, 2016.
(77) EURACHEM/CITAC. Guide CG 4 – Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 2012.
(78) De Bièvre, P.; Günzler, H. Traceability in Chemical Measurement; 2005. pp 141-147.
(79) Bisetty, K.; Gumede, N. J.; Escuder-Gilabert, L.; Sagrado, S. Determination of Lead and Cadmium in Seawater by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry: Fit-for-Purpose Partial Validation and Internal Quality Aspects. *Anal. Bioanal. Chem.* **2008**, *392* (1–2), 277–286.
(80) BIPM, IEC, IFCC, ILAC, ISO, IUPAC, IUPAP, O. Evaluation of Measurement Data: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. BIPM: Paris 2008, pp 1–134.
(81) Revilla, M. Validación de Métodos de Ensayo y Estimación de La Incertidumbre de Medida Conforme a La Norma ISO/IEC 17025, Universidad de Valladolid, 2013.
(82) Mocak, J.; Bond, a. M.; Mitchell, S.; Scollary, G. A Statistical Overview of Standard (IUPAC and ACS) and New Procedures for Determining the Limits of Detection and Quantification: Application to Voltammetric and Stripping Techniques (Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **1997**, *69* (2), 297–328.
(83) ISO 11466: 1995: Soil Quality — Part 3 : Chemical Methods — Section 3.9 Extraction of Trace elements Soluble in Aqua Regia. British standard: London 1995, p 12.