

PARTE EXPERIMENTAL

3 PARTE EXPERIMENTAL

En este capítulo se describirán los reactivos utilizados durante el trabajo experimental, el modo de preparación de los electrodos en función de su configuración, el contenido del cóctel sensor y la forma de prepararlo para cada una de las membranas estudiadas. Por otra parte se hará una descripción detallada de la instrumentación utilizada para realizar las medidas, tanto en discontinuo como en los sistemas de flujo.

3.1 REACTIVOS Y DISOLUCIONES

En la preparación del *composite* conductor epoxi-grafito se ha utilizado: grafito en polvo de un tamaño de partícula de 50 μm (Merck), epoxi Araldit M/5490 Ciba Geigy y endurecedor HR Ciba Geigy.

En la preparación de las membranas selectivas se han utilizado como ionóforos, 1-furoil-3-feniltiourea y 1-furoil-3-p-tetradecilfeniltiourea (ambos sintetizados en el laboratorio de sustancias especiales de la Universidad de la Habana) cuyo esquema de síntesis se describe en la Figura 3.1. Los otros dos ionóforos metil bis-diisobutilditiocarbamato y N, N, N', N'-tetradodecildioxaoctanoditioamida han sido adquiridos de Fluka.

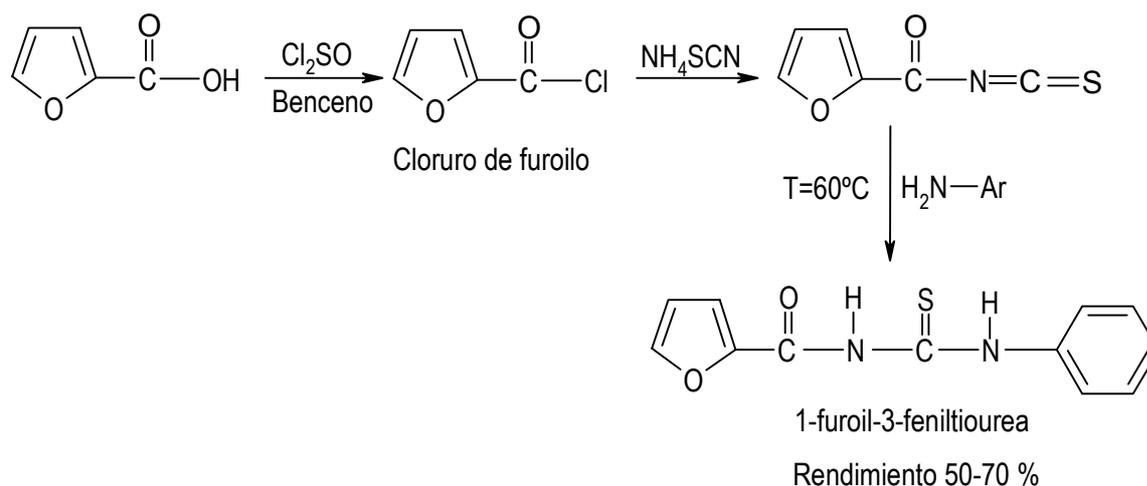


Figura 3.1: Procedimiento de síntesis utilizado para la obtención de las tioureas.

Los disolventes mediadores (plastificantes) utilizados fueron el orto-nitrofenil octil éter (o-NPOE) (Fluka) y el dioctil sebacato (DOS) (Fluka). Como soporte polimérico se utiliza PVC (HMW) de Fluka y para la homogenización total de los diferentes componentes de la membrana se emplea tetrahidrofurano (THF) de Merck.

Materiales sorbentes utilizados en la preconcentración

En la preconcentración de plomo se han evaluado las siguientes resinas comerciales Chelex 100, 200-400 mesh suministrada por *Bio-Rad*; Lewatit TP 207, 16-40 mesh suministrada por *Fluka* y Duolite GT-73, 16-50 mesh suministrada por *SUPELCO*.

3.1.1 Preparación de las disoluciones

Las disoluciones utilizadas a lo largo de esta memoria se preparan con agua Mili-Q y reactivos de calidad para análisis o similar. Las calibraciones se realizan utilizando disoluciones preparadas semanalmente. Las disoluciones de baja concentración del analito se preparan por dilución a partir de una disolución stock de concentración 10^{-4} M, la cual se prepara por pesada directa de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ de Fluka (pureza del 99%), o bien a partir del patrón estándar de 1000 ppm de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (*lead atomic spectroscopy standard solution*, Fluka).

3.1.2 Muestras Reales

Las muestras reales procedentes de redes de distribución de agua potable han sido recogidas por la empresa AGBAR. Se guardan en recipientes de vidrio y se les adiciona ácido nítrico concentrado (1-5 ml por cada 100 ml de muestra) con la finalidad de evitar la formación de algún precipitado en la muestra.

Las muestras procedentes de suelos fueron recolectadas por el Instituto Tecnológico de la Laguna (México) siguiendo criterios estandarizados de muestreo [1]. Una vez recogidas las muestras se someten a un cuarteo, para garantizar la mayor homogeneidad posible en la fracción que será analizada. Posteriormente se realiza una digestión ácida con HNO_3 en horno de microondas, se filtra y se enrasa al volumen deseado.

3.2 CONSTRUCCIÓN DE LOS ELECTRODOS DE CONFIGURACIÓN CONVENCIONAL

En la Figura 3.2 se muestra el esquema de construcción de los electrodos de configuración convencional.

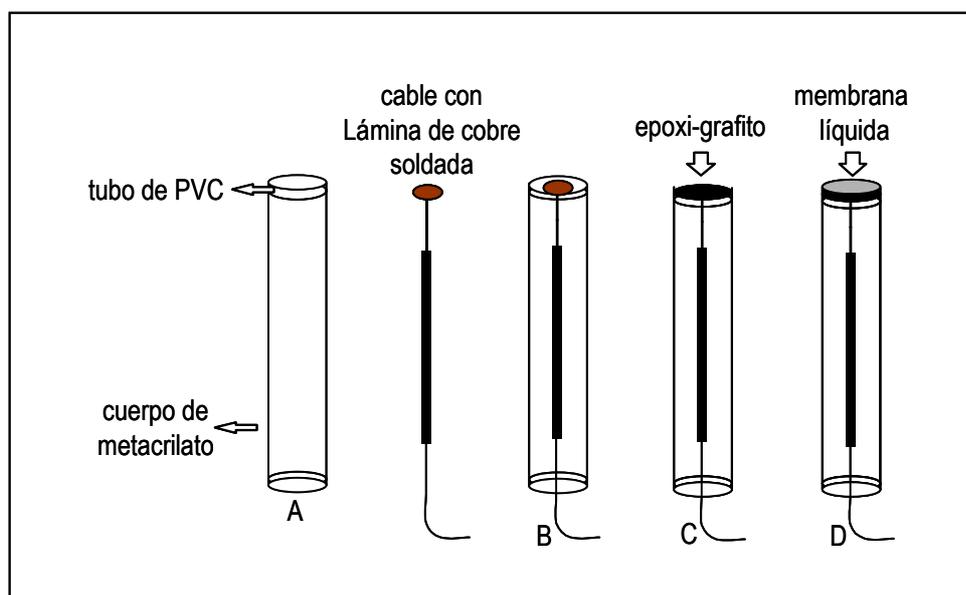


Figura 3.2: Esquema que muestra las etapas de construcción de los electrodos de configuración convencional.

En el proceso de construcción de los electrodos se parte de un tubo de metacrilato de 10-12 cm de longitud y 0.8 mm de diámetro interior (Figura 3.2 A). Por ambos extremos del tubo se coloca un pequeño trozo de un tubo de PVC, dejando en uno de los extremos una separación de aproximadamente 0.5 cm (el otro extremo pegado al borde), se introduce un cable al cual se le ha soldado una placa de cobre (Figura 3.2 B), esta placa queda soportada sobre el trozo de PVC colocado en el extremo. El cable se fija por el otro extremo con cola.

Encima de la placa de cobre se deposita la pasta conductora epoxi-grafito (Figura 3.2 C) que posteriormente soportará la membrana sensora. Esta pasta se prepara con una proporción 1:1 de grafito:epoxi, siendo el epoxi una mezcla 1:0,4 de Araldit M:Endurecedor HR [2,3]. El conjunto se homogeniza bien con la ayuda de una varilla de vidrio, de manera que la pasta conductora sea lo más homogénea posible y evitando que queden burbujas de aire en el interior. Posteriormente se deja secar esta pasta en una estufa a 40° C durante 24 horas.

Esta pasta conductora actúa como referencia interna sólida. En este tipo de electrodos (*all solid state*), con una gran similitud con los electrodos de hilo recubierto [4], se asume que el responsable del potencial interno de referencia del sistema pasta epoxi-conductora/membrana sensora de PVC es el par redox formado por H_2O/O_2 , como consecuencia de la permeabilidad del PVC al agua y al oxígeno [5]. La ausencia de un contacto interno líquido permite utilizar este tipo de sensores potenciométricos en cualquier posición (horizontal, vertical, etc.) y sobre todo la construcción de sensores de muy variada configuración.

A continuación se pule la superficie de la pasta hasta obtener una cavidad de 0.3 mm de profundidad donde posteriormente se aplica la membrana (Figura 3.2 D). Antes de depositar la membrana se limpia bien la superficie con agua y jabón. Esto evita la presencia de suciedad que pueda afectar la correcta adherencia de la membrana en la resina conductora. El cóctel sensor se añade gota a gota sobre el electrodo en varias etapas, esperando un tiempo prudencial entre adición y adición para evitar el atrapamiento de burbujas.

Los electrodos construidos se dejan secar y a continuación se acondicionan en una disolución 10^{-3} M de $Pb(NO_3)_2$ durante 24 horas [6].

En este estudio se evalúan seis cócteles sensores diferentes y se preparan tres unidades de cada uno de los cócteles. A partir de este momento cada cóctel sensor recibirá la denominación de familia.

3.3 CONSTRUCCIÓN DE LOS ELECTRODOS DE CONFIGURACIÓN TUBULAR

La configuración tubular diseñada para los electrodos permite una sencilla integración del dispositivo sensor en el sistema de gestión de fluidos, y un correcto mantenimiento de las características hidrodinámicas del flujo. Esta metodología de construcción de los electrodos tubulares ha sido desarrollada en nuestro grupo de investigación y descrita en varios trabajos publicados en la literatura científica [7-10].

La construcción de los electrodos consta de varias etapas. Se parte de un tubo de metacrilato para la obtención de los cuerpos de los electrodos (0.8 cm de longitud) (Figura 3.3 A), al cual se le inserta un conector (Figura 3.3 B). Dentro del cuerpo del electrodo se deposita una resina epoxi conductora y se deja secar durante 24 horas en una estufa a 40 °C.

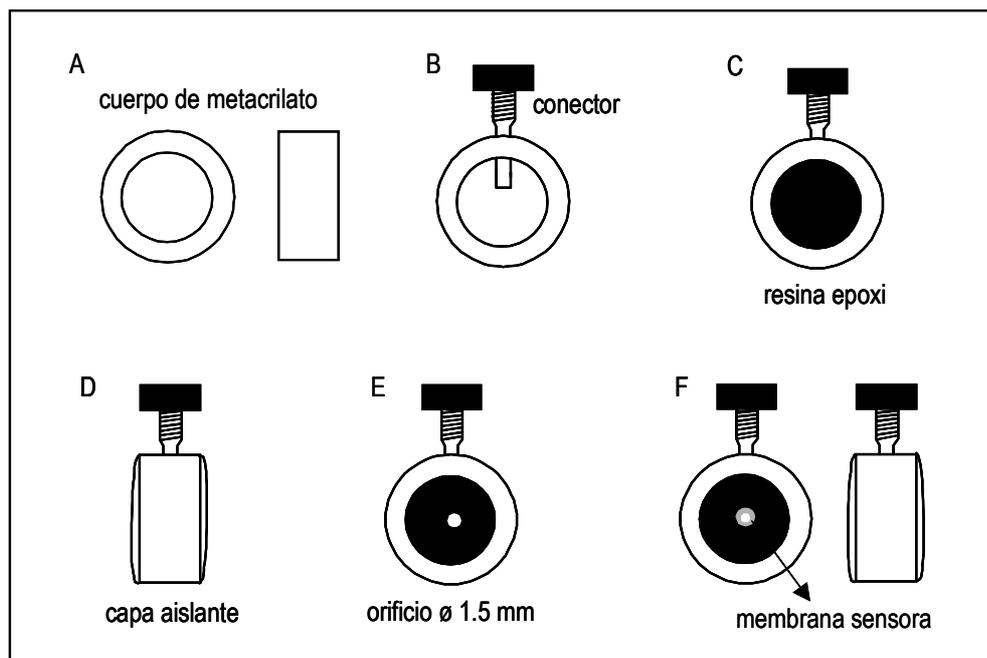


Figura 3.3: Esquema de construcción de los electrodos de configuración tubular.

Al igual que en los electrodos de configuración convencional se pulen ambas caras del tubo, pero sin profundizar. Se cubren ambas caras del cuerpo de un fina capa de epoxi que actúa de aislante eléctrico (Figura 3.3 D). A continuación se introduce nuevamente el electrodo en la estufa a 40 °C durante 12 horas más.

Posteriormente se hace un orificio en el centro del cuerpo (Figura 3.3 E) de 1.5 mm de diámetro, en cuyas paredes se depositará la membrana sensora. La deposición de la membrana se realiza gota a gota con una pipeta Pasteur, este proceso se lleva a cabo en varias etapas, dejando evaporar el THF entre cada etapa. De esta forma se forma una película fina de membrana, evitando que se tapone el orificio. Después de la última gota, se deja secar durante 12 horas para garantizar que la membrana esté totalmente seca y, seguidamente, se acondicionan en una disolución 10^{-3} M de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ durante 24 horas [6].

Para integrar los electrodos dentro del sistema de flujo, se colocan los cuerpos entre dos piezas de metacrilato. Estas piezas están dotadas de un pequeño orificio (de igual diámetro que los tubos de teflón), por donde se introducen los tubos de teflón utilizados para conducir los líquidos en el sistema FIA. Los tres orificios, el del ESI, el de los tubos y el de las piezas de teflón deben coincidir. En la Figura 3.4 se muestra un esquema del diseño final del ESI de configuración tubular y de las piezas de metacrilato que harán de soporte del mismo.

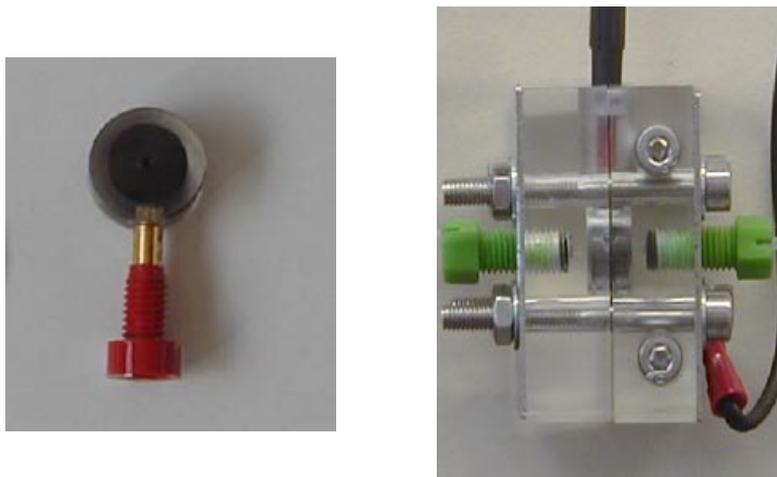


Figura 3.4: Fotografías de un ESI de configuración tubular y del soporte del mismo en un sistema FIA.

3.3.1 Preparación de la membrana sensora

Se realizó un estudio previo de solubilidad de los cuatro ionóforos en diferentes plastificantes y se escogieron finalmente el *o*-NPOE y el DOS.

- Ionóforo 1: 1-furoil-3-feniltiourea (**M1**)
- Ionóforo 2: 1-furoil-3-*p*-tetradecilfeniltiourea (**M2**)
- Ionóforo 3: metil bis-diisobutilditiocarbamato (**M3**) [11]
- Ionóforo 4: N, N, N', N'-tetradodecildioxaoctanoditioamida (**M4**) [12,13]

Después de seleccionar cada uno de los componentes de la membrana se procede a la preparación de la misma. En primer lugar se pesa el ionóforo, el plastificante, el PVC, el aditivo y por último se añade el THF, teniendo en cuenta que serán 0.05 ml de éste por cada mg de PVC. Se homogeniza la disolución empleando el agitador de membranas durante un par de horas. En la Tabla 3.1 se muestra la composición en porcentaje en peso de cada una de las membranas preparadas, además también aparece reflejado la relación mol/g del ionóforo, plastificante y aditivo para cada membrana.

Una vez preparada la membrana sensora se procede a la deposición de la misma en los cuerpos de los electrodos. Seguidamente se dejan secar las membranas durante 24 horas y posteriormente se acondicionan los electrodos en una disolución 10^{-3} M de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ también durante 24 horas [6]. Transcurrido este tiempo se considera que el sensor es operativo y se comienzan a calibrar las membranas preparadas. Entre calibrado y calibrado, los electrodos se guardan en seco.

M 1-o-NPOE				M 1-DOS			
COMPONENTES	% Teórico	% Experim	mol/g	COMPONENTES	% Teórico	% Experim	mol/g
Ionóforo	6	5.7	$2.4 \cdot 10^{-4}$	Ionóforo	6	5.9	$2.4 \cdot 10^{-4}$
Plastificante	63	62.4	$2.5 \cdot 10^{-3}$	Plastificante	63	62.2	$1.4 \cdot 10^{-3}$
PVC	30	30.1	-	PVC	30	30.03	-
Aditivo	1	0.9	$1.8 \cdot 10^{-5}$	Aditivo	1	1.02	$2 \cdot 10^{-5}$
THF	2.5*	2.5-3*	-	THF	2.5*	2.5-3*	-
M 2-o-NPOE				M 2-DOS			
COMPONENTES	% Teórico	% Experim	mol/g	COMPONENTES	% Teórico	% Experim	mol/g
Ionóforo	6	5.8	$1.3 \cdot 10^{-4}$	Ionóforo	6	5.7	$1.2 \cdot 10^{-4}$
Plastificante	63	62.4	$2.4 \cdot 10^{-3}$	Plastificante	63	62.4	$1.4 \cdot 10^{-3}$
PVC	30	30.6	-	PVC	30	30.5	-
Aditivo	1	0.9	$1.8 \cdot 10^{-5}$	Aditivo	1	0.9	$1.9 \cdot 10^{-5}$
THF	2.5*	2.5-3*	-	THF	2.5*	2.5-3*	-
M 3-o-NPOE				M 4-DOS			
COMPONENTES	% Teórico	% Experim	mol/g	COMPONENTES	% Teórico	% Experim	mol/g
Ionóforo	6	5.8	$9.3 \cdot 10^{-5}$	Ionóforo	6	5.9	$4.6 \cdot 10^{-5}$
Plastificante	59	60.2	$2.2 \cdot 10^{-3}$	Plastificante	59	59.4	$1.3 \cdot 10^{-3}$
PVC	34	34.2	-	PVC	34	34.2	-
Aditivo	1	1.02	$1.3 \cdot 10^{-5}$	Aditivo	1	1	$2 \cdot 10^{-5}$
THF	2.5*	2.5-3*	-	THF	2.5*	2.5-3*	-

Tabla 3.1: Composición de las membranas estudiadas (* ml de THF).

3.4 COLUMNA DE PRECONCENTRACIÓN

En investigaciones anteriores realizadas en nuestro grupo de trabajo [14] se estudió las dimensiones geométricas de la columna de preconcentración (longitud y diámetro del tubo utilizado como soporte del material preconcentrador), con la finalidad de minimizar la dispersión y la cantidad del material sorbente utilizado para la preconcentración del analito. El objetivo principal era encontrar una columna con las mínimas dimensiones, para evitar problemas de sobrepresión o de dilución de las muestras, pero que tuviese una capacidad de preconcentración adecuada para poder determinar bajas concentraciones del analito en muestras medioambientales.

Basándonos en estos estudios previos decidimos utilizar en nuestros estudios iniciales una columna de preconcentración de 16 mm de longitud y 1.8 mm de diámetro interno. En la Figura 3.5 se muestra un esquema de la columna de metacrilato utilizada para llevar a cabo cada una de las experiencias.

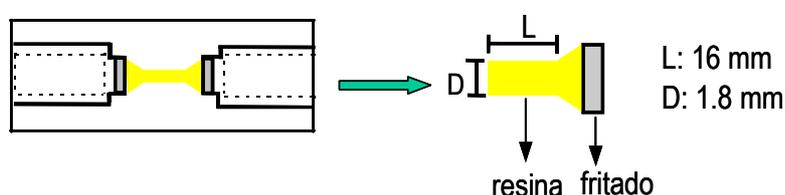


Figura 3.5: Esquema general de la columna de preconcentración utilizada, *L*-longitud; *D*- diámetro.

Los sistemas FIA que incorporan una columna de preconcentración presentan, de manera general, problemas de sobrepresión. Esto conlleva que, en los puntos más débiles del sistema, se produzca una desconexión con la consiguiente pérdida de líquidos. Para intentar minimizar los problemas derivados de la sobrepresión en los puntos críticos se introducen conectores Gilson de baja presión (P/N 810065, Villiers Le Biel, Francia) con la finalidad de aumentar la robustez del sistema FIA.



Figura 3. 6: Fotografía de las columnas utilizadas para efectuar la preconcentración del analito.

3.4.1 Preparación y acondicionamiento de las columnas

Las columnas se rellenan con el sorbente por aspiración. En primer lugar se introduce el material sorbente en una disolución de ácido nítrico. En un extremo de la columna se coloca un fritado y se conectan, a los dos extremos de esta, tubos de teflón que permitirán impulsar líquidos a través de ellos. Con la ayuda de una bomba peristáltica se aspira la suspensión de forma que el sorbente se va empaquetando hasta rellenar completamente la columna. Finalmente se retira la resina sobrante del extremo abierto de la columna y se coloca otro fritado para cerrarla totalmente y evitar pérdidas.

En nuestro caso se han utilizado fritados de polipropileno de una medida de poro de 90 μm suministrado por MoBiTec (Göttingen, Alemania). Estos fritados son de fácil montaje y suministran una adecuada robustez.

Una vez llena la columna se procede a impulsar agua Mili-Q a través de ella para garantizar el correcto empaquetado y acondicionamiento de la misma y eliminar todo el exceso de ácido que pueda haber quedado. Este procedimiento se lleva a cabo al menos durante 15 minutos, evitando que la columna quede en algún momento totalmente seca, ya que podrían producirse canalizaciones en el propio material, hecho que provocaría falta de reproducibilidad en el camino recorrido por el analito.

3.5 SISTEMA DE MEDIDA UTILIZADO PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS ELECTRODOS DE CONFIGURACIÓN CONVENCIONAL

En la Figura 3.7 se muestra el sistema de medida utilizado para la evaluación de los electrodos de configuración convencional, así como los diferentes elementos que lo componen.



Figura 3.7: Sistema de medida potenciométrico de configuración convencional.

Para las medidas de potencial se emplea un potenciómetro Crison micropH 2002 ($\pm 0.1\text{mV}$). Como electrodo de referencia se utiliza un electrodo de Ag/AgCl de doble unión (Orion 90-02-00). El compartimiento externo de este electrodo se llenará con una disolución determinada en función de las experiencias. La disolución de referencia interna es suministrada por la propia casa comercial Orion.

En las medidas de pH se ha utilizado un electrodo combinado de vidrio Ingold modelo 10/402/3092, calibrado con las disoluciones tampones adecuadas.

Para efectuar las medidas empleamos un conmutador digital que ofrece la posibilidad de medir ocho electrodos simultáneamente, éste fue construido en el Grupo de Sensores y Biosensores

(GSB). Se utiliza un ordenador que controla al conmutador y permite adquirir las señales del potenciómetro digital Crison. Para la adquisición de los cambios de potencial que se originan se utiliza un cable de comunicación RS-232C y un software desarrollado especialmente en QuickBASIC [15]. El ordenador permite así procesar y representar los datos obtenidos.

3.6 INSTRUMENTACIÓN UTILIZADA EN EL SISTEMA DE GESTIÓN DE FLUIDOS

3.6.1 Sistema FIA directo

En la Figura 3.8 se muestra un esquema del sistema FIA utilizado para la evaluación de los ESIs de configuración tubular con los diferentes elementos que lo constituyen.

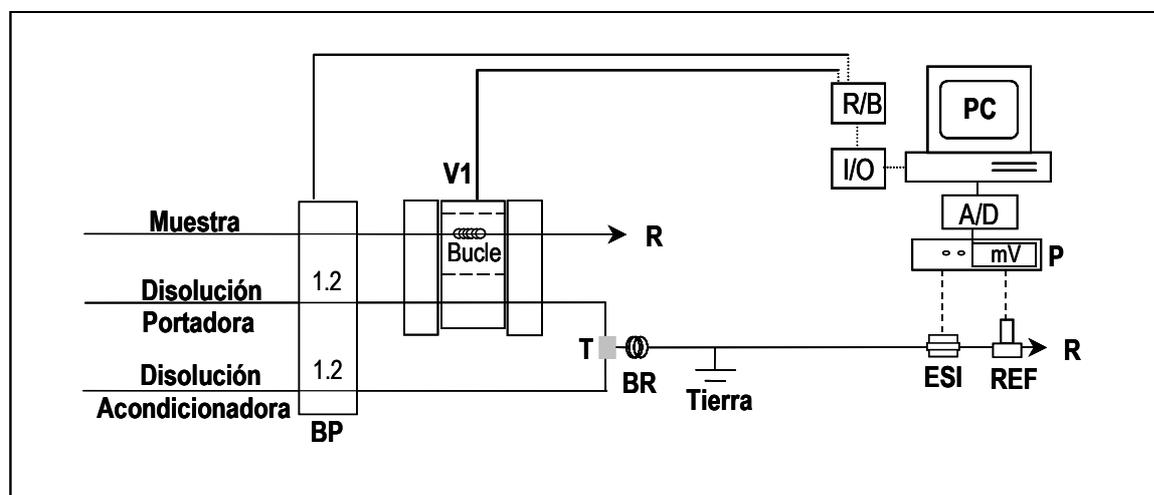


Figura 3.8: Sistema FIA para el análisis directo del ion Pb^{2+} . BP-bomba peristáltica, V1-inyector-conmutador, T- unión en forma de T, BR-bucle de reacción, ESI-electrodo selectivo de iones, REF-electrodo de referencia, R-residuo, P-potenciómetro, A/D-tarjeta de adquisición de datos, I/O-tarjeta de control digital, R/B-tarjeta de relés, PC-ordenador.

Desde un punto de vista instrumental, la caracterización de la señal suministrada por los electrodos tubulares es más compleja que la suministrada por los electrodos de configuración convencional. Esto es consecuencia de que los sensores integrados como detectores en los sistemas de flujo continuo suministran señales transitorias, cuya captura debe ser lo suficientemente rápida para no perder información (mínimo 10 lecturas por segundo). Por esta razón es indispensable el uso de un ordenador provisto de una interfase adecuada para la adquisición de los datos.

El potenciómetro es un milivoltímetro modelo ESI Amplifier, construido por MTB Tecnología Ambiental (Cerdanyola, España). Éste incluye cuatro potenciómetros que permiten el seguimiento simultáneo de hasta cuatro electrodos, en condiciones dinámicas de flujo.

El sistema de adquisición de datos es un ordenador compatible que controla el sistema de inyección de la muestra. Este ordenador incorpora una placa de conversión analógica-digital PCL-

812 PG (Advantech). El proceso de adquisición de datos se controla mediante un software desarrollado para esta aplicación en lenguaje QuickBASIC.

Como sistema de propulsión se utiliza una bomba peristáltica de cuatro canales, marca Gilson, modelo Minipuls 2 (Pacisa). Los tubos de bomba utilizados son de Tygon, un tipo especial de PVC transparente, y son suministrados por Elkay Eireann (Galway, Irlanda). Se usaron de diferentes diámetros según sea el caudal que se desee emplear (entre 0.13 y 2.79 mm). Los tubos de bomba constan de dos o tres pivotes con una doble función, por una parte sirven de puntos de sujeción de la bomba y por otra, mediante un código de colores, identifican su diámetro interno, lo cual ofrece una orientación sobre el caudal suministrado.

El sistema de inyección (V1) es un inyector-conmutador (inyector proporcional) diseñado y construido en el grupo de investigación del C.E.N.A de Piracicaba (Brasil) [16]. La configuración más simple de este tipo de inyector consiste en tres bloques (2 fijos y uno móvil) de polietileno o metacrilato. Este sistema presenta la ventaja que se pueden utilizar simultáneamente diferentes circuitos de inyección, lo que permite realizar inyecciones simultáneas en canales diferentes.

Para suprimir los potenciales de corriente fluctuantes generados por el uso de bombas peristálticas se utiliza un electrodo de toma de tierra (en inglés *grounding electrode*). Éste consiste en un tubo de acero inoxidable de igual diámetro interno que el tubo de teflón utilizado en el sistema que se inserta justo antes del electrodo indicador [17].

Las uniones en forma de T son unas piezas construidas en metacrilato que permiten la confluencia de diferentes canales (disolución portadora y disolución acondicionadora), con el objetivo de provocar la mezcla de diferentes disoluciones en un único canal de salida antes del detector.

Al igual que para la caracterización de los electrodos en configuración convencional, utilizamos un electrodo de referencia de doble unión líquida ORION 90-02-00, el cual se inserta en el sistema de flujo mediante un soporte de metacrilato al cual se le ha efectuado una cavidad específica.

Todas las conducciones del sistema FIA están hechas con tubos de teflón, de la firma Omnifit, de 0.8 mm de diámetro interno, los cuales son fácilmente integrables en el sistema de flujo mediante conectores de cromatografía líquida de baja presión, construidos en PVC en el taller de mecánica de la UAB. Para asegurar el cierre hermético de las conexiones se utilizan juntas tóricas de viton (Epidor S.A) de diámetro interno 1.78 mm. Los bucles de inyección y los de reacción se construyen utilizando también tubo de teflón.

3.6.2 Sistema FIA con preconcentración on-line

En la Figura 3.9 (A) se presenta el sistema FIA utilizado para el análisis del ion Pb^{2+} en muestras medioambientales, que incluye una etapa previa de preconcentración de muestra antes de efectuar la etapa de medida.

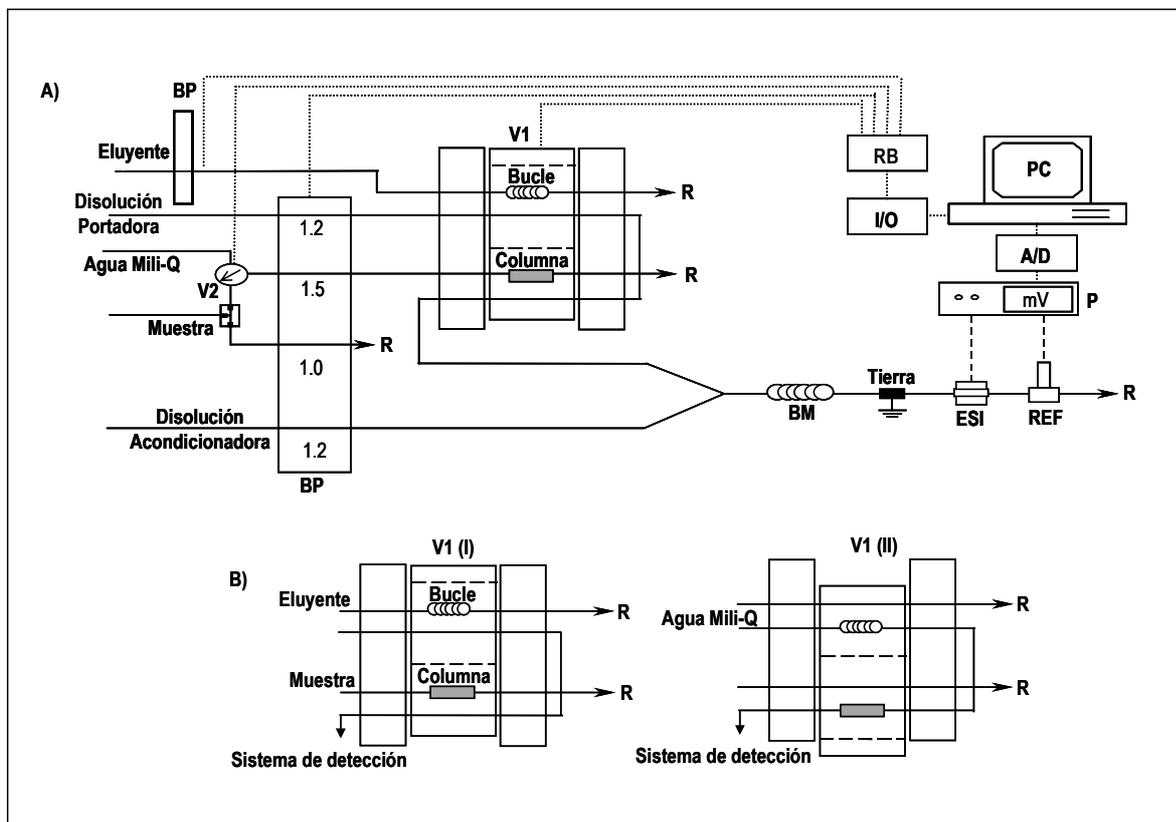


Figura 3.9: (A) Sistema con preconcentración on-line. BP-bomba peristáltica, V1-inyector-conmutador, V2-válvula de inyección, T-unión en forma de T, BM-bucle de mezcla, ESI-electrodo selectivo de iones, REF-electrodo de referencia, R-residuo, P-potenciómetro, A/D-tarjeta de adquisición de datos, I/O-tarjeta de control digital, R/B-tarjeta de relés, PC-ordenador. (B) Esquema del inyector-conmutador. (I)-Posición de preconcentración, (II)-Posición de elución.

Este sistema FIA, a diferencia del descrito en el apartado anterior, incorpora dos canales adicionales, el canal por donde circula el eluyente y el canal de una segunda disolución portadora (Agua Mili-Q) encargada de arrastrar el eluyente desde el bucle donde está contenido y hacerlo pasar a través de la columna de preconcentración. Además de los dos canales introducidos también hay dos elementos nuevos, una columna de preconcentración, que se integra en uno de los canales del inyector-conmutador y un nuevo sistema de inyección de la muestra basado en una válvula solenoide de tres vías que realiza la inyección por tiempo.

Las válvulas solenoides, a diferencia de otras válvulas de inyección (válvula rotatoria o de inyección proporcional), permiten la inyección controlada por tiempo. La inyección por tiempo permite incrementar la frecuencia de muestreo y variar de forma automática el volumen de muestra inyectado [18]. No obstante, este tipo de válvulas implica un sistema de inyección más complicado.

Consiste en un conjunto de pequeñas válvulas solenoides, que mediante un preciso control electrónico de apertura y cierre de cada una de ellas permite introducir volúmenes controlados de muestra dentro del sistema. Son mecánicamente más sencillas que las válvulas rotatorias, ya que son la combinación de un émbolo de solenoide y un orificio mediante el cual se puede abrir o cerrar completamente el paso de un flujo de disolución. El resultado es un conjunto de pequeñas unidades combinadas con la finalidad de obtener el sistema de inyección. Las válvulas solenoides introducen directamente la muestra dentro de la columna de preconcentración, durante un intervalo de tiempo, esto representa un inconveniente, ya que tienen gran dependencia con el caudal. Teniendo en cuenta que los caudales proporcionados por las bombas peristálticas convencionales son muy sensibles a las sobrepresiones que se crean en los sistemas de flujo que incorporan columnas on-line, es necesario realizar un control periódico del caudal, sobre todo cuando se observen problemas de baja reproducibilidad de las señales a lo largo del tiempo.

Tal y como se observa en la Figura 3.9 (B), el sistema inyector-conmutador tiene una doble función. En primer lugar hace de soporte a la columna de preconcentración y, además, se utiliza para inyectar el eluyente. Este sistema permite realizar en una sola operación, y de una manera rápida y simple, la elución a contracorriente. Este tipo de elución supera a la elución a favor del flujo, ya que minimiza los problemas de sobrepresión que puedan originarse causados por un empaquetamiento prematuro del material sorbente. Según estudios realizados por *Fang y colaboradores* [18], la elución a contracorriente permite obtener una menor dispersión y una mejor reproducibilidad del sistema.

3.6.3 Desarrollo de prototipos de sistemas FIA

Este trabajo, como se ha comentado en los objetivos de esta memoria, se enmarca dentro de un convenio de colaboración existente, entre nuestro grupo de investigación y la empresa AGBAR. Resultado de este, la empresa ADASA SISTEMAS perteneciente al grupo AGBAR, ha construido una serie de prototipos de analizadores para su integración en estaciones automáticas de control medioambiental, basándose en los sistemas FIA desarrollados en nuestros laboratorios de investigación.

Todos los analizadores desarrollados son sistemas automáticos, en los cuales el control y la programación del funcionamiento se hacen mediante un pequeño microprocesador incorporado. Los procesos de autocalibración son automáticos y programables, así como los análisis de cada una de las muestras. En el caso particular del AQUAMET, se utilizan tres patrones P1, P2 y P3, siendo P1 agua Mili-Q. Este patrón constituirá el blanco que nos permitirá corregir la señal generada por el eluyente. Estos prototipos tienen la capacidad de almacenar 100 análisis y 50 calibraciones en una memoria tipo pila y disponen de una salida de comunicación RS-232C que nos permite extraer todos estos datos. Algunos de los componentes instrumentales utilizados en los equipos de laboratorio han sido sustituidos por otros, con la finalidad de aumentar la robustez del

prototipo y reducir los costes. Así, se utilizan bombas peristálticas Ismatec de velocidad fija (20 rpm), siendo la única manera de variar los caudales, el uso de tubos de bomba de diferentes diámetro interno. En lo referente al sistema de inyección, se utilizan válvulas solenoides de pinzamiento (Sirai).

En las Figura 3.10 y Figura 3.11 se muestran un esquema y una fotografía del primer prototipo de analizador AQUAMET. Al igual que el equipo de laboratorio, este consta básicamente de dos etapas: la etapa de preconcentración, donde el analito de los patrones y la muestra, tanto en el autocalibrado como en el análisis, es retenido en la columna de preconcentración; y la posterior etapa de elución, donde el analito se desabsorbe de la resina y viaja con el eluyente hacia el detector. El sistema descrito en la Figura 3.10 puede simplificarse y ser utilizado como sistema FIA directo si la columna se sustituye por un conector y las muestras y patrones se inyectan a través del bucle del eluyente. Para utilizarlo en esta modalidad sólo sería necesario programar convenientemente el analizador de manera que no haya etapa de preconcentración.

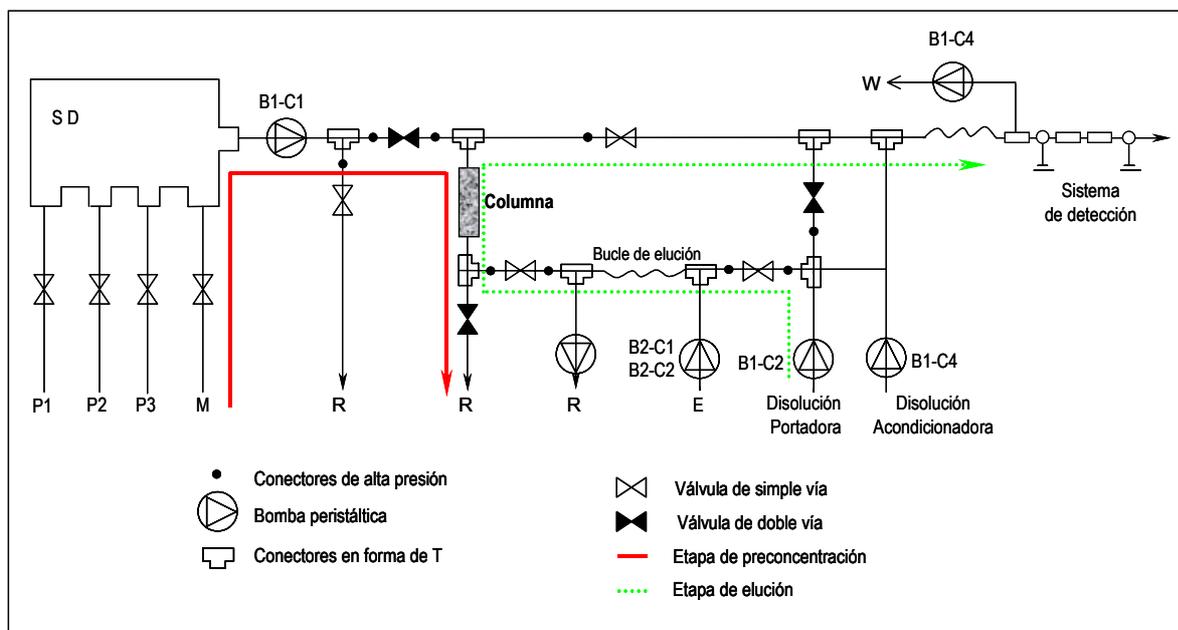


Figura 3.10: Esquema del prototipo de analizador con preconcentración on-line.

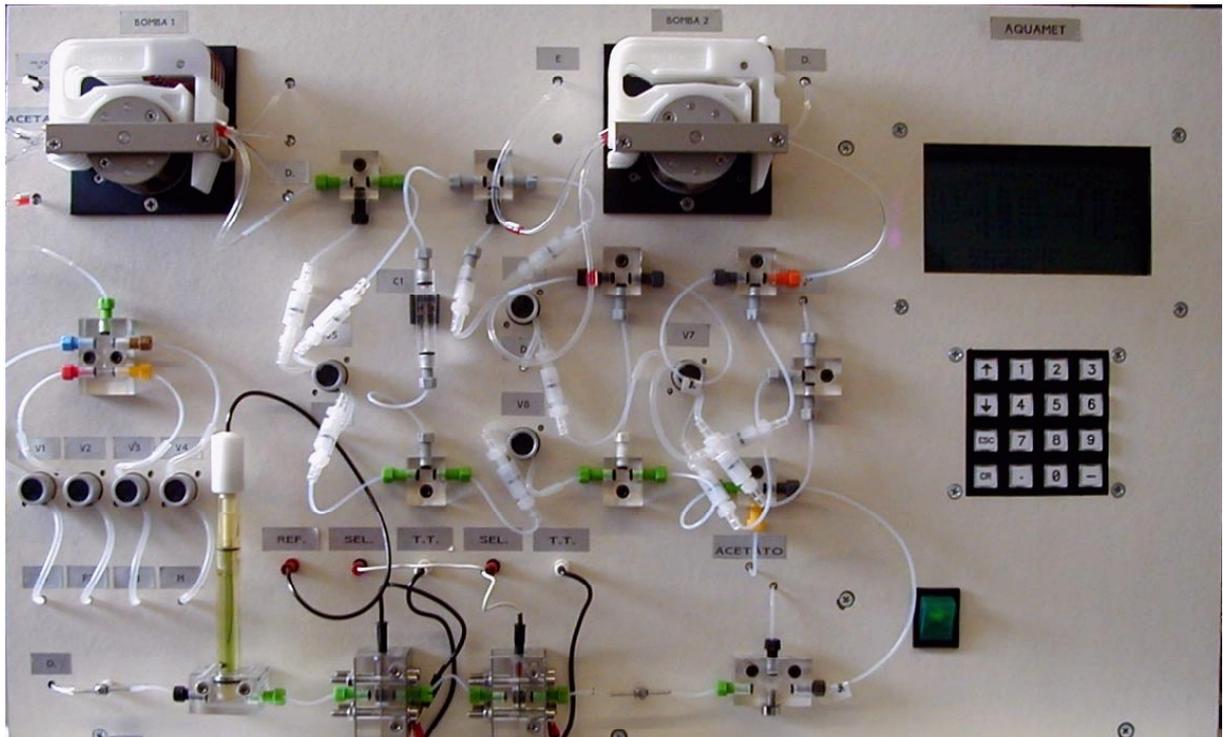


Figura 3.11: Fotografía del primer prototipo de analizador de plomo (AQUAMET).

Referencias Bibliográficas

- [1] Designation: E 1727-99. Standard Practice for Field Collection of Soil Samples for Lead Determination by Atomic Spectrometry Techniques.
- [2] J. Alonso. "Diseño y construcción de detectores potenciométricos para FIA. Aplicación al análisis multiparamétrico en FIA". Tesis Doctoral. UAB, Bellaterra (1987).
- [3] E. Barquero. "Desenvolupament d'un analitzador mediambiental automatizat d'ió nitrat basat en un sistema potenciométric en flux". Treball de Recerca, UAB, Bellaterra setembre (1997).
- [4] H. James, G. Carmack, H. Freiser. "Coated wire ion selective electrodes". *Anal. Chem.*, **44** (1972) 856.
- [5] J. Bobacka, M. McCarrick, A. Lewenstan. A. Ivaska. *Analyst*, **119** (1994) 1985.
- [6] E. Malinowska. Z. Zbigniew. K. Kasiura., *Anal. Chim. Acta*, **298** (1994) 253.
- [7] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, J. L. F. C. Lima, A. A. S. C. Machado, J. M. Paulís. *Quim. Anal.*, **6** (1987) 278.
- [8] E. Martínez-Fábregas. "Sensors Potentiometrics All-Solid-State d'Amoni i la seva conversió en Biosensors d'urea (Construcció, Avaluació I Aplicació)". Tesi Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona (1989).
- [9] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, J. L. F. C. Lima, A. A. S. C. Machado, J. M. Paulís. *Anal. Lett.*, **18** (1985) 2291.
- [10] S. Alegret, J. Bartrolí. Membranes selectives d'ions per a dispositius potenciomètrics de control de processos químics. *Butll. Soc. Cat. Cièn.*, **9** (1989) 15.
- [11] S. Kamata, K. Onoyama. *Anal. Chem.*, **63** (1991) 1295.
- [12] M. Lerchi. E. Bakker. B. Rusteholz. W. Simon. *Anal. Chem.*, **64** (1992) 1534.
- [13] T. Sokalski, A. Ceresa. T. Zwickl, E. Pretsch. *J. Am. Chem. Soc.*, **119** (1997) 11347.
- [14] S. Martínez. "Desenvolupament d'analitzadors de tensioactius aniònics i no iònics per a l'aplicació medioambiental". Tesi Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona (2002).
- [15] E. Barquero. "Disseny, construcció y avaluació d'analitzadors per a la monitorització medioambiental". Tesi Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona (2001).
- [16] H. Bergamin, X. J. Medeiros, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto. *Anal. Chim. Acta*, **101** (1978) 9.
- [17] P. Van der Winkel, J. Mertens, D. L. Massart. *Anal. Chem.*, **46** (1974) 1765.
- [18] Z. Fang, S. Xu, S. Zhang. *Anal. Chim. Acta*, **290** (1994) 329.

**METODOLOGÍA DE CÁLCULO Y EVALUACIÓN
DE LOS SISTEMAS DESARROLLADOS**

4 METODOLOGÍA DE CÁLCULO Y EVALUACIÓN DE LOS SISTEMAS DESARROLLADOS

En este capítulo se expondrá la metodología utilizada para evaluar los parámetros que describen la respuesta de los electrodos estudiados y se caracterizarán los principales elementos que componen los sistemas FIA desarrollados.

4.1 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DE LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

La ecuación de Nernst predice una respuesta que relaciona el logaritmo del potencial obtenido con la actividad de la especie en disolución en lugar de la concentración. La dependencia logarítmica de la señal respecto a la actividad de una determinada sustancia hace necesario el cálculo de la actividad de éste y de todos los iones presentes en la disolución de trabajo.

La actividad de cada especie es directamente proporcional a su concentración y a su coeficiente de actividad, según la expresión 4.1:

$$a_i = c\gamma \quad (4.1)$$

donde: a_i - actividad del ion i ; c - concentración del ion; γ - coeficiente de actividad.

El coeficiente de actividad es un parámetro que depende de la fuerza iónica del medio, éste se aproxima a la unidad cuando la fuerza iónica es pequeña. En cambio, si la fuerza iónica es elevada este término se aleja de la unidad, pero siempre estará en el intervalo entre 0-1. En la caracterización de los electrodos en discontinuo trabajaremos en un amplio intervalo de

concentraciones por lo que este parámetro se aleja de la unidad y será dependiente de la fuerza iónica que haya en el medio. La fuerza iónica se define como:

$$I = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^i z_i^2 (C)_i \quad (4.2)$$

donde z_i es la carga del ion i y $(C)_i$ es la concentración de este mismo ion. El término sumatorio se refiere a la suma de todos los iones que están en disolución.

La ecuación de Debye-Hückel extendida relaciona los coeficientes de actividad con la fuerza iónica del medio de tal forma que:

$$\log \gamma_{\pm} = \frac{A |z_+ z_-| \sqrt{I}}{1 + B^* a \sqrt{I}} + C_1 I \quad (4.3)$$

donde: z_+ , z_- representan las cargas del catión y del anión del electrolito; a es el radio iónico expresado en Ångströms [1] (ver valores en Tabla 4.1); A ($\propto T^{3/2}$) y B ($\propto T^{1/2}$) son parámetros constantes que a 25 °C y en agua toman los valores de -0.507 y 0.3282 respectivamente y C_1 es un parámetro que se utiliza para ampliar el intervalo de aplicabilidad de la ecuación de Debye-Hückel. Su valor dependerá de la sal de utilizada (el valor de este parámetro para cada especie se expresa en la Tabla 4.1).

IONES	a (Å)	C ₁
NH ₄ ⁺	2.5	-0.03074
K ⁺	3	-0.09478
Na ⁺	4	-0.03436
Pb ²⁺	4.5	0.03991
Cd ²⁺	5	-0.2*
Ca ²⁺	6	-0.2*
Cu ²⁺	6	0.03646
Zn ²⁺	6	-0.2*
Ni ²⁺	6	0.06391
Co ²⁺	6	0.05558
Mg ²⁺	8	-0.2*

Tabla 4.1 Parámetros utilizados en la ecuación de Debye-Hückel (-0.2* es un valor constante que se le ha asignado a C₁ para estos iones) [2].

4.1.1 Calibración de las membranas en configuración convencional

Con el objetivo de evaluar la respuesta de los electrodos preparados se utiliza siempre el mismo procedimiento basado en la realización de calibrados sucesivos, adicionando volúmenes conocidos de una disolución de plomo sobre un fondo de 25 ml de agua Mili-Q o de un fondo iónico determinado.

Se hacen microadiciones de diferentes disoluciones patrones de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$: 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} y 10^{-1} M y se mide el valor del potencial después de cada microadición. Las primeras series de calibraciones tienen como objetivo determinar las características de respuesta de los sensores en ausencia de iones interferentes por lo que el fondo utilizado es agua Mili-Q.

La curva de calibración de un ESI se construye representando el potencial medido frente del logaritmo de la actividad (a_i) (Figura 4.1). Se observa la existencia de dos zonas diferentes: una zona lineal o nernstiana y la otra no lineal o subnernstiana.

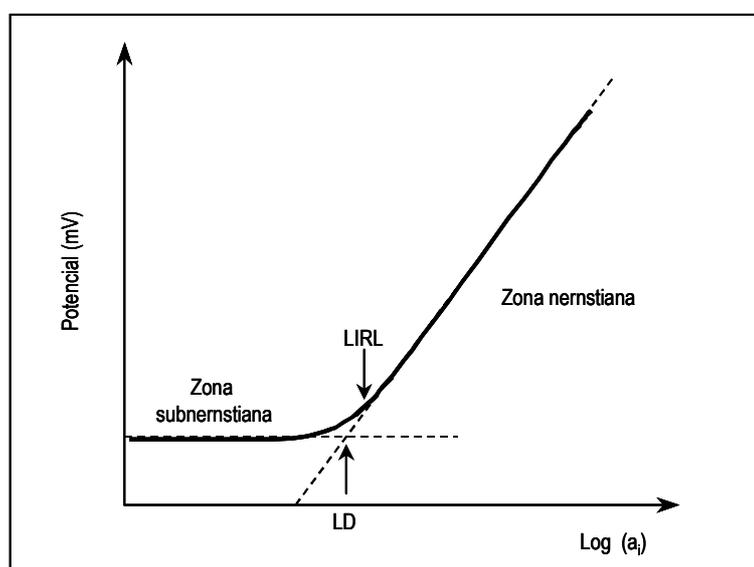


Figura 4.1: Representación de una curva de calibración de un ESI; LD-límite de detección, LIRL-límite inferior de respuesta lineal, a_i -actividad del ion principal.

4.1.2 Tratamiento matemático de los datos obtenidos

En todos los calibrados se utiliza la misma metodología de cálculo para determinar los diferentes parámetros que definen las características de funcionamiento de las membranas sensoras. Los cálculos se realizan utilizando el paquete gráfico SIGMAPLOT 4.0 que utiliza el algoritmo de Marquardt-Levenberg [3] y el programa Excel 7.0.

En el tratamiento básico de los datos se hace uso de la ecuación de Nernst:

$$E = E_0 + B_1 \log a_i \quad (4.4)$$

Donde E es el potencial que se obtiene después de cada adición y se expresa en mV, a_i es la actividad de ion principal. El término B_1 es la sensibilidad del ESI en el tramo lineal (zona nernstiana) (ver Figura 4.1). Los coeficientes de esta expresión se obtienen por regresión lineal.

Para realizar los ajustes no lineales se hace uso de otras dos expresiones:

$$E = E_0 + B_2 \log(a_i + \sum K_{Pb^{2+},j}^{Pot} a_j^{z_i/z_j}) \quad (4.5)$$

$$E = E_0 + B_3 \log(a_i + C) \quad (4.6)$$

Con el uso de los ajustes no lineales, los cálculos son de mayor complejidad, pero los resultados que se obtienen tienen mayor importancia práctica, ya que es en esta zona donde se puede distinguir con mayor facilidad la pérdida de sensibilidad del sensor. Los términos B_2 y B_3 son la sensibilidad del sensor, incluyendo toda la curva de calibración, o sea, la zona lineal y la zona no lineal de respuesta, a_j y z_j son la actividad y la carga del ion interferente, K^{pot} es la constante de selectividad potenciométrica que nos da una medida directa de la interferencia provocada por la especie interferente (j) sobre el ion principal (i) (ion plomo en nuestro caso, $z=2$).

El término C en la expresión 4.6 se define como:

$$C = LD_{ap} + \sum K_{Pb^{2+},j}^{Pot} a_j^{2/z_j} \quad (4.7)$$

donde LD_{ap} , es una constante empírica obtenida durante el ajuste por regresión de los datos, se define como el límite de detección aparente (LD_{ap}) ya que no coincide con el LD clásico que define la IUPAC [4].

En la expresión 4.5 hemos despreciado el término LD_{ap} ya que cuando estamos en presencia de un fondo iónico consideramos que $K_{Pb^{2+},j}^{Pot} a_j^{2/z_j} \gg LD_{ap}$. En estas condiciones, y desde un punto de vista práctico, el límite de detección dependerá del nivel de interferente presente en la disolución. Por ello, en presencia de interferente utilizaremos la expresión 4.5.

4.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES INTEGRADOS EN SISTEMAS DE FLUJO

Para realizar las calibraciones de los electrodos integrados en sistemas de flujo se preparan diferentes disoluciones de analito de concentraciones perfectamente conocidas, de manera que cada patrón se inyecta secuencialmente en el sistema. Se inyectan los diferentes patrones de menor a mayor concentración para evitar la saturación de las membranas sensoras.

La representación de la altura del pico obtenida por inyección del patrón (H) respecto a la línea base, frente al logaritmo de actividad ($\log a_i$) permite obtener las curvas de calibración. La respuesta sigue el modelo predicho por la ecuación de Nernst:

$$H = E_0 + B_1 \log a_i \quad (4.8)$$

Normalmente en los sistemas de flujo se trabaja con una disolución acondicionadora de una concentración salina elevada, por lo que se puede considerar que el coeficiente de actividad, calculado a partir de la ecuación de Debye-Hückel es constante,

$$-\log \gamma = (0.5 \cdot z_i^2 I^{1/2}) / (1 + I^{1/2})$$

$$I = 0.5 \sum (c_i \cdot z_i^2)$$

siendo z_i la carga del ion principal, I la fuerza iónica de la disolución y c_i la concentración del ion principal.

Una vez considerado que el coeficiente de actividad es constante, la ley de Nernst se modifica ya que el potencial variará en función del logaritmo de la concentración y no del logaritmo de la actividad del analito. Así la expresión que caracteriza la zona de respuesta nernstiana será la siguiente:

$$H = E_0 + B_1 \log c_i \quad (4.9)$$

En nuestro caso, y dado que en la mayoría de las ocasiones trabajaremos en la zona de respuesta no lineal, utilizaremos siempre la expresión que involucra esta zona de trabajo,

$$H = E_0 + B_3 \log(c_i + C) \quad (4.10)$$

La curva de calibración que se obtiene es similar a la representada en la Figura 4.1, pero en lugar de representar el potencial se representa la altura de pico (H) frente al logaritmo de la concentración del analito.

4.3 CARACTERÍSTICAS DE RESPUESTA DE LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

4.3.1 Sensibilidad o Pendiente de la curva de calibración

La definición más sencilla de este parámetro es aquella que acepta la IUPAC, definida como la pendiente de la curva de calibración [4]. La pendiente de la recta de calibrado (B) es uno de los parámetros más importantes a determinar cuando se comparan diferentes electrodos o sistemas de flujo, ya que se utiliza como criterio discriminatorio para determinar el tiempo de vida útil de un dispositivo sensor.

Tenemos que para un ion monovalente, el valor teórico de la pendiente en la zona lineal de la curva de calibración es de 59 mV/déc mientras que para un ion divalente, la pendiente teórica sería de 29.5 mV/déc a 25 °C. Si las pendientes son menores se habla de rectas subnernstianas, que es el caso más habitual o rectas supernernstianas cuando estas son mayores.

4.3.2 Límite inferior de respuesta lineal (LIRL)

El límite inferior de respuesta lineal se define como el valor mínimo de actividad del ion principal, a partir del cual la respuesta del electrodo tiene un comportamiento nernstiano (ecuación 4.4) (ver Figura 4.1).

Teniendo en cuenta que no existe un criterio generalizado para la determinación de este parámetro, se utiliza el procedimiento descrito por *H. Hara et al* [5]. En dicho trabajo se propone un criterio basado en el seguimiento de un parámetro estadístico que es el coeficiente de correlación de Pearson (r).

La determinación de este parámetro se realiza a partir de un programa de cálculo realizado por *E.Barquero* [6], la metodología consiste en ir eliminando puntos de la zona subnernstiana (no lineal) hasta conseguir ajustar la zona lineal de forma tal que se cumpla el criterio de $r \geq 0.998$. Este método requiere de un gran número de puntos. En nuestro caso, y con el objetivo de obtener un valor apropiado para este parámetro semiempírico, utilizaremos 31 puntos experimentales (en las calibraciones en *batch*) para su determinación.

En el caso de las calibraciones realizadas en sistemas de flujo continuo, el criterio escogido a la hora de fijar el intervalo de linealidad es menos riguroso, debido al menor número de puntos de que disponemos. En este caso se incluyen todos los valores de concentraciones que se disponen y se realiza un ajuste por mínimos cuadrados de los datos hasta obtener un coeficiente de regresión lo más próximo a 1 (> 0.99).

4.3.3 Límite de detección (LD)

Existe una gran diversidad de criterios en cuanto al límite de detección en potenciometría. Por analogía a las definiciones adoptadas en otros campos, se define este parámetro como la concentración de analito a partir de la cual, el potencial (E) se desvía en un múltiplo arbitrario del error estándar del potencial medio correspondiente a la región de bajas concentraciones (zona subnernstiana) (ver Figura 4.1).

Por cuestiones prácticas, la IUPAC hace una definición más simple y conveniente de este parámetro, definiéndolo como la actividad (o concentración) de ion principal que corresponde al punto de intersección entre la extrapolación de la recta con comportamiento nernstiano y el segmento inicial de bajas concentraciones, normalmente horizontal (ver Figura 4.1) [7].

Otra definición aceptada del límite de detección es aquella que se deriva de aplicar métodos no lineales de ajuste. Este tipo de regresión no lineal (ecuación 4.6) permite ajustar todos los datos experimentales, incluido aquellos valores inferiores al límite inferior de respuesta lineal.

$$E = E_0 + B_3 \log(a_i + C) \quad (4.6)$$

El término B_3 constituye la sensibilidad del sensor en todo el intervalo de calibración (zona lineal y no lineal) y el parámetro C engloba dos factores, el límite de detección aparente y la existencia de posibles interferencias.

$$C = LD_{ap} + \sum K_{Pb^{2+},j}^{Pot} a_j^{2/z_j} \quad (4.7)$$

A lo largo de todo este trabajo se utiliza este tipo de ajuste no lineal para establecer el límite de detección, siguiendo la metodología establecida en nuestro grupo de trabajo.

Con el objetivo de seguir la respuesta del sensor, se considera apropiado evaluar la evolución de este parámetro en función del tiempo, ya que este suele aumentar a lo largo del tiempo de vida del dispositivo sensor.

4.3.4 Constante de selectividad potenciométrica

La selectividad es una de las características más importantes de cualquier técnica analítica y puede determinar el grado de aplicabilidad de la misma. La determinación de las constantes de selectividad de un sensor químico nos informa de la influencia que tienen otras especies (denominadas interferentes) en la respuesta y funcionamiento del mismo [8]. Es imprescindible su evaluación ya que la presencia de dichas especies interferentes puede provocar medidas erróneas de la actividad o concentración del ion principal.

El valor de la constante de selectividad respecto a un ion interferente dado depende, en gran medida, de las condiciones bajo las cuales se haya realizado su determinación. Por este motivo, resulta más aconsejable denominarlo coeficiente o parámetro de selectividad que constante de selectividad potenciométrica.

La IUPAC aconseja dos métodos experimentales para el cálculo de este parámetro [9,10], denominados de las disoluciones mezcladas y de las disoluciones separadas, que sólo serán aplicables cuando el electrodo presente un comportamiento nernstiano tanto para el ion principal, como para las especies interferentes.

Ambos métodos han sido ampliamente estudiados y se han obtenido un gran número de resultados, que en alguno de los casos, han sido hasta contradictorios. Se han encontrado muchas discrepancias entre los coeficientes determinados por diferentes autores según sean las condiciones experimentales o el método empleado. Es por ello que este parámetro se suele expresar en forma logarítmica $\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ y se compara teniendo en cuenta el orden de magnitud.

En esta memoria se ha utilizado el método de las disoluciones mezcladas para la determinación de este parámetro. Este procedimiento resulta más adecuado porque se ajusta mejor a las condiciones reales de medida de las muestras. A la hora de evaluar la interferencia de una especie sobre el ion principal, se fija la cantidad de especie interferente y por regresión se evalúa el valor del parámetro $K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ utilizando la ecuación de Nikolskii-Eisenmann [11,12] (ver ecuación 4.5). Un coeficiente de selectividad pequeño nos indica que la presencia de ion interferente no modifica la respuesta al analito que se quiere determinar.

Es necesario que, tras las primeras adiciones, tanto en la zona subnernstiana como en el tramo inicial de la zona de respuesta lineal, la actividad del ion interferente (a_j) se mantenga constante. El potencial medido en esta zona vendrá gobernado por la expresión:

$$E = E_0 + B_2 \log(a_i + \sum K_{Pb^{2+},j}^{Pot} \cdot a_j^{z_i/z_j}), \text{ en esta zona se cumple que: } a_i \ll K_{Pb^{2+},j}^{Pot} a_j^{z_i/z_j}$$

A medida que aumenta la actividad del ion principal prevalece la respuesta lineal al analito y la expresión 4.5 estará gobernada por $a_{Pb^{2+}}$ obteniéndose:

$$E = E_0 + B_2 \log a_{Pb^{2+}}$$

Es importante mencionar en este apartado que la validez de la expresión de Nikolskii-Eisenmann y su aplicabilidad para iones de diferentes cargas ha sido ampliamente discutida [13-17]. La ecuación de Nikolskii-Eisenmann no es aconsejable cuando se trata de iones de diferente carga. El coeficiente de selectividad puede tener un valor mayor o menor del real en función de cual sea el ion principal y cual el ion interferente. En nuestro trabajo, el ion principal (Pb^{2+}) tiene carga 2+, por

lo que la actividad del ion interferente en la expresión 4.5 siempre estará elevada al cuadrado. Esto provoca en muchas ocasiones una disparidad notable entre el nivel de interferencia observado experimentalmente y el calculado matemáticamente. En nuestro caso, este problema se ha planteado cuando se ha evaluado la interferencia de algunos iones monovalentes como el Na^+ , K^+ , o NH_4^+ .

En el capítulo 5 y con el fin de solucionar este problema se ha determinado también la K^{pot} excluyendo el superíndice, en el mismo se presentarán y discutirán los resultados de ambos cálculos. Otro inconveniente de la ecuación de Nikolskii-Eisenmann es la pérdida de aplicabilidad cuando la respuesta del sensor a los iones interferentes no presenta un comportamiento no nernstiano.

Se han hecho numerosos intentos por resolver estos inconvenientes, la aproximación más empírica propuesta para evaluar estos coeficientes ha sido la metodología de los potenciales equivalentes [18,19] (*MPM Matched Potential Methods*) introducida por *Gadzekpo y Christian* que últimamente ha ganado seguidores por la fácil interpretación de los resultados. Este método consiste en la realización de dos experimentos separados. En una disolución de referencia se añade la cantidad de ion principal que permita alcanzar un nivel de concentración analítica determinada y se mide el potencial generado. A continuación en otra disolución sin analito se va añadiendo cantidades crecientes de ion interferente hasta alcanzar el mismo valor de potencial. El resultado del cociente entre la concentración de ion principal y la concentración de ion interferente final es lo que se denomina coeficiente de selectividad del MPM, K_{ij}^{MPM} . Esta metodología es poco práctica en aplicaciones a casos reales.

4.3.5 Tiempo de respuesta

El tiempo de respuesta de los ESIs está considerado como uno de los factores críticos y limitantes para su aplicación futura en sistemas de flujo continuo, ya sea en el ámbito clínico o en el de la monitorización ambiental. El estudio de este parámetro permitirá clasificar las membranas en estudio según sea la velocidad de respuesta de las mismas.

El método utilizado nos suministra información de la velocidad de respuesta del sistema de medida al provocar una variación en la actividad del ion principal (Pb^{2+}), pero no de la velocidad intrínseca de respuesta de la membrana. Esta velocidad de respuesta global la evaluaremos a partir de la determinación del tiempo necesario para que el sensor alcance el 95 % de la variación total de la señal (criterio $t_{95\%}$ [20-22]), tras provocar un salto de la actividad del ion principal.

Hay que tener en cuenta que la velocidad de respuesta estará muy influenciada por factores tales como la agitación que permite homogenizar la disolución después de cada adición. Si fijamos las condiciones experimentales podremos obtener información útil sobre los tiempos de respuesta, teniendo en cuenta las necesidades de los sistemas de flujo.

Este estudio se realizó en medio acuoso y en medio NH_4NO_3 10^{-2} M. Se registra el potencial (E^0) antes de provocar la variación de actividad y después de la adición, hasta un tiempo teórico infinito que nos proporciona el potencial de equilibrio final (E^∞). La expresión sería:

$$E(t_{95\%}) = E^0 + 0.95(E^\infty - E^0) \quad (4.11)$$

La velocidad de respuesta que se obtenga dependerá del salto de actividad provocado [22]. En nuestro caso se mide la variación de potencial en un sentido creciente de actividad y a muy bajas concentraciones.

En el capítulo 5 se representan de forma gráfica los resultados obtenidos para cada una de las membranas en estudio.

4.3.6 Tiempo de vida

El tiempo de vida es un parámetro importante a considerar en la caracterización de un sensor químico. Es muy importante controlar la evolución de las características de respuesta de los electrodos para poder decidir cuando estos han perdido funcionalidad.

Existen una serie de exigencias con relación a este parámetro, las cuales serán más rigurosas en función del campo de aplicación final que vayan a tener los sensores desarrollados. Por ejemplo, en aplicaciones clínicas, los sensores pueden tener un tiempo de vida de pocos días e incluso de unas horas, mientras que en aplicaciones ambientales nos interesa que el dispositivo mantenga sus características de respuesta durante un largo período de tiempo.

Una de las causas que generalmente limita el tiempo de vida de los electrodos es la exudación de algunos de los componentes (ionóforo y plastificante) de la fase membrana [23]. En este estudio se verificará la sensibilidad y el límite de detección en diferentes etapas de la caracterización de las membranas.

4.3.7 Estudio del pH

La evaluación de la influencia del pH sobre la respuesta de los electrodos selectivos de iones es otro de los parámetros a tener en cuenta en la caracterización de cualquier sensor. Para llevar a cabo este estudio, se procede a medir la señal suministrada por el sensor sumergido en una disolución de analito, cuya concentración se mantiene constante mientras se provocan variaciones de pH mediante la adición de HNO_3 o NaOH . A partir de la representación de la variación del potencial en función del pH se obtienen los denominados diagramas Reilley que permiten establecer el intervalo de pH útil del sensor.

4.3.8 Parámetros evaluados en los sistemas de gestión de fluidos: Repetitividad y Reproducibilidad

Además del seguimiento de los parámetros de calibración en función del tiempo y del tiempo de vida operativo de los dispositivos sensores, es necesario, en los sistemas de gestión de fluidos, controlar otros factores que nos indiquen que el sistema desarrollado y cada uno de sus componentes funcionan de manera adecuada.

Para ello hacemos uso de dos conceptos básicos que a pesar de su similitud se aplican en situaciones diferentes, este es el caso de la reproducibilidad y la repetitividad. El término repetitividad hace alusión a la correspondencia existente entre sucesivos resultados obtenidos al analizar una misma muestra mediante un mismo método y bajo las mismas condiciones experimentales, en cambio la reproducibilidad hace referencia a condiciones más heterogéneas, ya sea por cambios en el operario, pequeñas modificaciones en el sistema de medida (por ejemplo, cambio de columna de preconcentración, tubos de bomba, etc.) o bien por el muestreo en diferentes períodos de tiempo (cada tres días, semanal, etc.).

En esta memoria, la repetitividad se evaluará realizando diferentes análisis de una misma muestra utilizando nuestro sistema de medida a lo largo de un día. Por otra parte, la reproducibilidad se analizará estudiando el comportamiento del sistema a lo largo del tiempo, además de comparar la respuesta del sistema (anализador con preconcentración on-line) cuando se hacen algunas modificaciones en un mismo día.

4.4 ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS MATERIALES UTILIZADOS EN LA EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

La determinación del ion plomo en muestras medioambientales requiere de una etapa de preconcentración previa que permita la medida con los sensores desarrollados. Por tanto es necesario estudiar y evaluar una serie de materiales sorbentes, utilizados frecuentemente para el enriquecimiento de metales, que permitan disminuir los límites de detección de nuestros sensores.

La correcta selección del material que mejor se adapta al analito es una etapa importante a la hora de optimizar el proceso de preconcentración. La adecuada caracterización del relleno de la columna de preconcentración hace necesaria la determinación de las curvas de ruptura de cada uno de los materiales así como la capacidad y el factor de preconcentración que se obtiene [24-26].

4.4.1 Obtención de las curvas de ruptura y capacidad

El objetivo de este estudio es determinar que cantidad del analito, después de atravesar la columna, es retenido en el material sorbente. La retención del analito en el relleno de la columna debe ser máxima, de tal manera que la mayor parte del analito que entra quede retenido en el sorbente.

A medida que aumentamos el volumen de muestra que pasa a través de la columna, hay cierta cantidad de analito que deja de ser retenido por el material sorbente. Teniendo en cuenta que la capacidad de dicho material es finita, llegará un momento en que todo el analito que entra en la columna sale sin ser retenido. Es entonces cuando decimos que el relleno está saturado y no es capaz de admitir más analito.

Una manera de caracterizar el proceso de preconcentración se basa en la obtención de las curvas de ruptura. Éstas describen la relación que existe entre la concentración de analito que entra y sale de la columna (C/C_0) con el volumen de muestra que pasa a través de ésta. Este volumen se puede relacionar con el tiempo mediante el caudal. De la curva de retención se determina el volumen de ruptura (V_R), que se corresponde con el máximo volumen de muestra que se puede pasar a través de la columna sin pérdida del analito. Desde un punto de vista práctico el nivel de ruptura o volumen de ruptura se fija entre un 1-10 %, es decir, un valor de C/C_0 entre 0.01 y 0.1 [27].

En este trabajo, las curvas de ruptura se determinan utilizando el sistema FIA directo mostrado en el apartado 3.6.1, con una pequeña modificación (ver Figura 4.2), ya que se introduce la columna de preconcentración, rellena con el material sorbente que se quiere caracterizar, antes de la válvula de inyección (V_1). *Elsholz y colaboradores* [26] propusieron un sistema FIA similar para la determinación de las curvas de ruptura de algunos materiales utilizados en la preconcentración de metales pesados.

En la Figura 4.2 se muestra un esquema del sistema FIA utilizado, así como una representación de una curva de ruptura teórica obtenida.

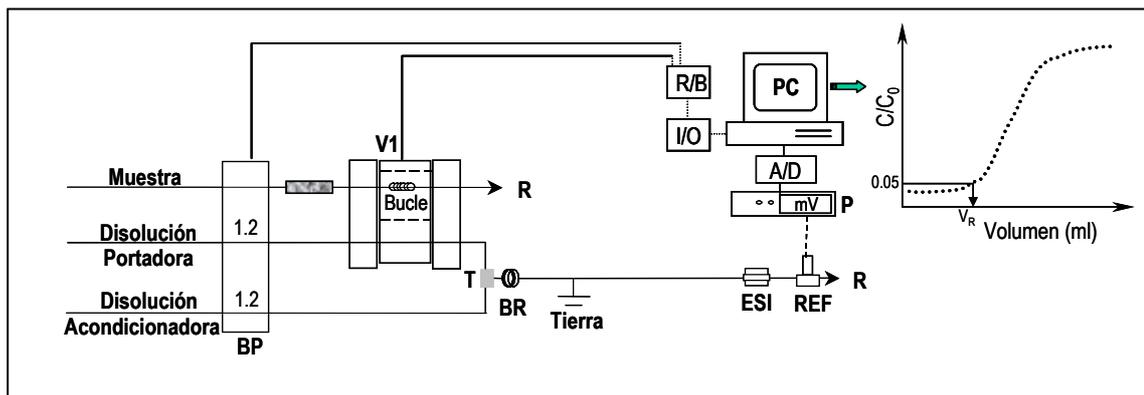


Figura 4.2: Esquema FIA utilizado para la caracterización del material de relleno y curva de ruptura teórica de un sorbente de extracción en fase sólida.

Como se puede apreciar en el esquema FIA representado, la salida de la columna está conectada a un bucle que se encuentra situado en la válvula de inyección (sistema inyector-conmutador), que se irá llenando con el eluato que sale de la columna. A determinados intervalos de tiempo, el contenido del bucle se inyectará conmutando la válvula en el sistema de medida registrándose la señal suministrada por el sensor. Posteriormente, la válvula volverá a la posición de carga recibiendo nuevamente líquido procedente de la columna. El proceso se repite periódicamente hasta completar la curva de ruptura (ciclos repetitivos de llenado de bucle e inyección). Es importante reseñar que para obtener una correcta curva de ruptura, es necesario realizar una calibración previa del sistema. A partir de ésta y realizando la interpolación de las alturas de pico obtenidas durante el proceso de preconcentración, se trazará la gráfica representada en la Figura 4.2.

Una vez obtenidas las curvas de ruptura se procede a calcular la capacidad de cada uno de los materiales. La capacidad es la cantidad total de analito que pueden ser retenido en una determinada masa de sorbente y suele expresarse en mg o mmols de analito por gramo de relleno seco. No obstante, en algunas ocasiones también se expresa como mg o mmols de analito por ml de sorbente empaquetado cuando es difícil tener el material con un contenido de agua constante sin que pierda sus propiedades.

Generalmente, la capacidad de la mayoría de los sorbentes se encuentra entre 10-20 mg de analito por gramo de resina seca [28]. Esta estimación es adecuada si no existen otros compuestos en la muestra que también puedan ser retenidos, en cuyo caso la capacidad se verá reducida en función de la cantidad de dichos compuestos que queden retenidos.

4.4.2 Factor de Preconcentración

El factor de preconcentración (FP) expresa la efectividad del proceso de preconcentración [29] y no es más que la ganancia neta obtenida en términos de concentración del analito, al comparar un sistema directo con un sistema con preconcentración.

En la literatura aparecen descritos diversos métodos para calcular el FP [27,30]. En los métodos espectrofotométricos este factor se expresa como la relación que existe entre las sensibilidades (pendiente de la recta de calibrado) del sistema directo y el sistema con preconcentración.

En cambio en nuestro caso, y siguiendo las recomendaciones sugeridas en los métodos espectrofotométricos, el factor de preconcentración se expresará como el cociente entre los límites de detección del sistema directo y el sistema con preconcentración, tal y como lo expresa la siguiente ecuación:

$$FP = \frac{LD_{\text{directo}}}{LD_{\text{preconcentración}}}$$

Hemos de considerar que en potenciometría la sensibilidad es siempre constante (en ambos sistemas), lo cual provocaría que el factor de preconcentración siempre fuese 1. En cambio utilizando la comparación de los límites de detección podemos evaluar la mejora obtenida al introducir la etapa de preconcentración en el sistema.

Referencias Bibliográficas

- [1] P. C. Meier, D. Ammann, H. F. Osswald, W. Simon. *Med. Progr. Technol.*, **5** (1977) 1.
- [2] S. Kamata, K. Yamasaki, M. Higo., *Analyst*, **113** (1988).
- [3] S.S. Rao. "Optimization. Theory and its applications", 2nd edition. New Delhi: Jonh Wiley & Sons (1987).
- [4] G. G. Guilbault, R. A. Durst. "IUPAC recommendation for nomenclature of ion-selective-electrodes". *Pure Appl. Chem.*, **48** (1976) 127.
- [5] H. Hara, K. Takahashi, H. Ohkubo. *Anal. Chim. Acta*, **290** (1994) 329.
- [6] E. Barquero. "Disseny, construcció y avaluació d'analitzadors per a la monitorització medioambiental". Tesi Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona (2001).
- [7] IUPAC, *Compendium of Analytical Nomenclature, Definitive Rules*. Oxford: Pergamon Press (1997) cap 8.
- [8] Y. Umezawa. "Handbook of ion-selective electrodes: selectivity coefficients". CRC Press (1990).
- [9] IUPAC. *Appendices on Provisional Nomenclature Symbols, Units and Standarst, Inform. Bull* **43**, (1975).
- [10] Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato. *Pure & Appl. Chem.*, **67** (1995) 507.
- [11] M. S. Mohan, R. G. Bates. *Clin Chem.*, **21** (1975) 864.
- [12] D. Wegmann, H. Weiss, D. Ammann, W. E. Morf, E. pretsch, W. Simon. *Mikrochim. Acta*, **III** (1984) 1.
- [13] R.P.Buck, F. S. Stover., *Anal. Chim. Acta.*, **101** (1978) 231.
- [14] "Recommended methods for reporting Kpot values". *Pure & Appl. Chem.*, **67** (3) (1995) 507.
- [15] C. Maccá. *Anal. Chim. Acta*, **321** (1996) 1.
- [16] E. Bakker, R. K. Meruva, E. Pretsch., *Anal. Chem.*, **66** (1994) 3021.
- [17] E. Bakker. *Trends in Anal. Chem.*, **16** (1996) 263.
- [18] V. P. Y. Gadzekpo, G. D. Christian. *Anal. Chim. Acta*, **164** (1984) 279.
- [19] G. D. Christian. *Analyst*, **119** (1994) 2309.
- [20] E. Pungor, Y. Umezawa., *Anal. Chem.*, **55** (1983) 1432.
- [21] A. Shatkay. *Anal. Chem.*, **48** (1976) 1039.
- [22] E. Lindner, K. Tóth, E. Pungor. *Anal. Chem.*, **48** (1976) 1071.
- [23] D. Ammann. *Ion-Selective Microelectrodes. Principles, design and application* (1986) Cap. 4
- [24] J. Liska, A. Kuthan, J. Krupcik. *J. Chromatogr. A.*, **509** (1990) 123.
- [25] O. Elsholz, G. Schulze. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **353** (1995) 119.

- [26] C. E. Werkhoven-Goewie, U. A. Th. Brinkman, R. W. Frel. *Anal. Chem.*, **53** (1981) 2072.
- [27] J. Liska. *J. Chromatogr. A.*, **655** (1993) 163.
- [28] J. T. Baker. *Solid Phase Extraction for Sample Preparation: A Technical guide to theory, method development and use*. J. T. Baker Inc. (1994).
- [29] H. L. Lancaster, G. D. Marshall, E. R. Gonzalo, J. Ruzicka, G. D. Christian. *Analyst*, **119** (1994) 1459.
- [30] R. E. Santelli, M. Gallego, M. Valcárcel. *Talanta*, **41** (1994) 817.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5 ESTUDIO DE IONÓFOROS SELECTIVOS DE ION PLOMO

En la revisión bibliográfica realizada en el apartado 1.3.3, se describen una gran variedad de compuestos para el reconocimiento selectivo del ion plomo. Entre todos estos compuestos se seleccionaron aquellos ionóforos que presentaban una mayor potencialidad para su aplicación en muestras medioambientales. Además, se decide explorar la posibilidad de utilizar una nueva familia de ionóforos basados en tioureas susceptibles de ser utilizadas en la obtención de sensores de plomo. Utilizando estos compuestos se construyen electrodos mediante la tecnología de fabricación desarrollada en nuestro grupo de investigación, la cual facilitará el posterior desarrollo de sensores de configuración tubular integrables en sistemas de flujo continuo.

Con este objetivo se han utilizado cuatro tipos de ionóforos diferentes (ver Figura 5.1), las dos tioureas ensayadas (M1 y M2) no habían sido utilizadas hasta el momento para estos fines. Estos compuestos han sido seleccionados por su relativa simplicidad de síntesis, su estabilidad química y su bajo coste. Ambas tioureas sólo se diferencian en el sustituyente $-C_{14}H_{29}$ que posee una de ellas en el anillo bencénico, por lo que podremos estudiar la influencia que este grupo ejerce en las características de respuesta de las membranas basadas en este ionóforo.

Los otros dos ionóforos seleccionados (M3 y M4) son comercialmente accesibles y han sido evaluados anteriormente en sensores con referencia interna líquida [1-3]. En nuestro estudio serán evaluados con referencia interna sólida.

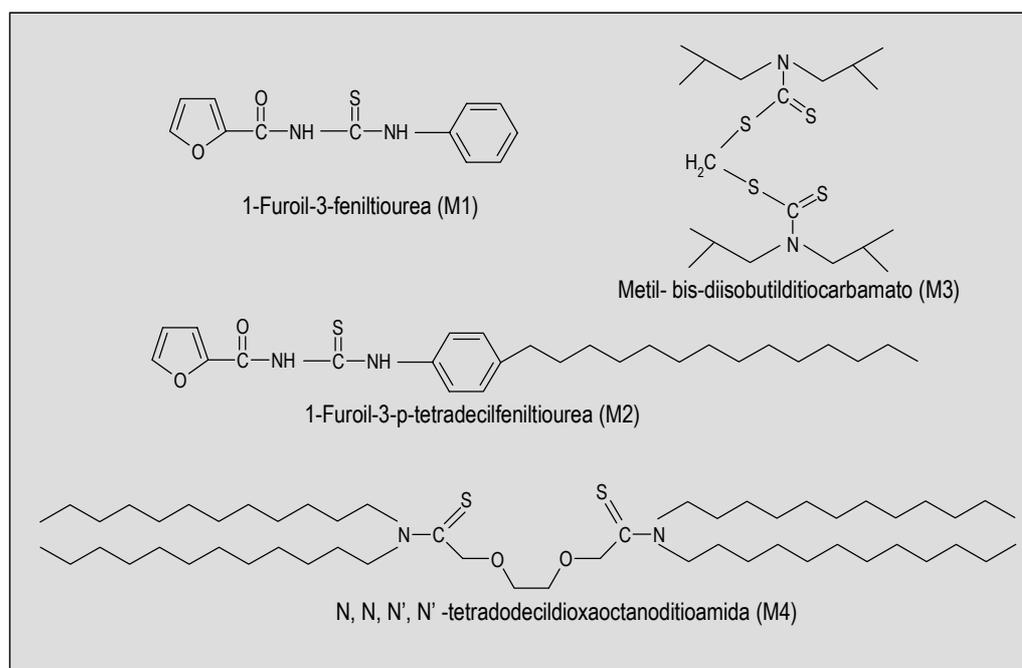


Figura 5.1: Ionóforos ensayados en el desarrollo del sensor de plomo.

Como se observa en la Figura 5.1 todos los ionóforos ensayados tienen en común la presencia de átomos de azufre, lo cual resulta beneficioso ya que, como es conocido, el azufre tiene una elevada afinidad por el ion Pb^{2+} . No obstante, también tiene afinidad por otros metales pesados, lo que puede conducir a una cierta inespecificidad.

5.1 ESTUDIOS PRELIMINARES

Como paso previo a la formulación de las membranas sensoras basadas en los ionóforos M1 y M2 se estudió la necesidad de introducir aditivos en las membranas, atendiendo al hecho de que ambos compuestos son neutros y que la presencia de aditivos puede facilitar la extracción del catión desde la disolución de trabajo hacia la membrana. En este sentido se decidió preparar inicialmente membranas con cada uno de los ionóforos utilizando *o*-NPOE como plastificante y sin ningún aditivo.

COMPONENTES	% EN PESO
Ionóforos	5
Plastificante	65
PVC	30

Tabla 5.1: Cóctel sensor preparado en los estudios preliminares.

Los electrodos así preparados se calibraron utilizando la metodología habitual, siendo los calibrados de 31 puntos cada uno, correspondiendo cada punto a una actividad diferente del analito en el intervalo de estudio. Para los calibrados se ha fijado un tiempo de 3 minutos entre adición y

adición. Los resultados obtenidos (ver Figura 5.2) muestran que los electrodos no experimentan una variación notable del potencial a medida que se incrementan las concentraciones de plomo.

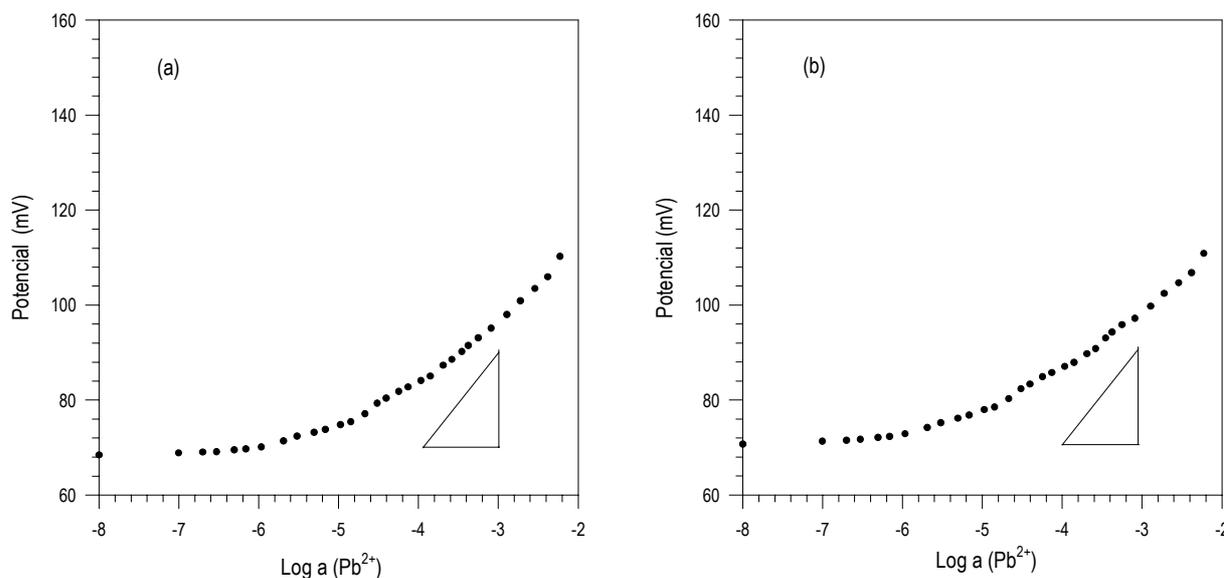


Figura 5.2: Estudio de las membranas M1 y M2 en ausencia de aditivo, (a) M/1 o-NPOE y (b) M/2 o-NPOE. El triángulo refleja la pendiente teórica de Nernst.

Los electrodos preparados no responden de forma nernstiana al ion plomo, ya que las pendientes son de 13 y de 14 mV/déc respectivamente. Se concluye que los ionóforos no exhiben respuesta al ion de interés en ausencia de aditivos aniónicos en la fase membrana [4]. Este fenómeno puede deberse a limitaciones cinéticas en cuanto a la transferencia de iones desde la disolución de la muestra hacia la membrana.

La introducción de sitios aniónicos dentro de la fase membrana puede ejercer un decisivo efecto en la extracción del catión, actuando como catalizadores eficientes de la transferencia catiónica entre las dos fases y, por supuesto, en el potencial de respuesta del electrodo [5-7]. Muchos estudios han demostrado que en ausencia de aditivos, algunos ionóforos no muestran actividad, o sea, algunos ionóforos sólo se comportan como tales si existen simultáneamente sitios aniónicos lipofílicos en la fase membrana [4-7].

Se decidió entonces preparar membranas con estos dos ionóforos (M1 y M2) y el aditivo p-clorofenilborato de potasio (KTPClPB) en la fase de la membrana. En la Figura 5.3 (a) se presenta la respuesta que exhiben los electrodos preparados con y sin aditivos. En la misma se observa como la presencia de aditivo en la membrana provoca una respuesta nernstiana en los electrodos frente al ion plomo.

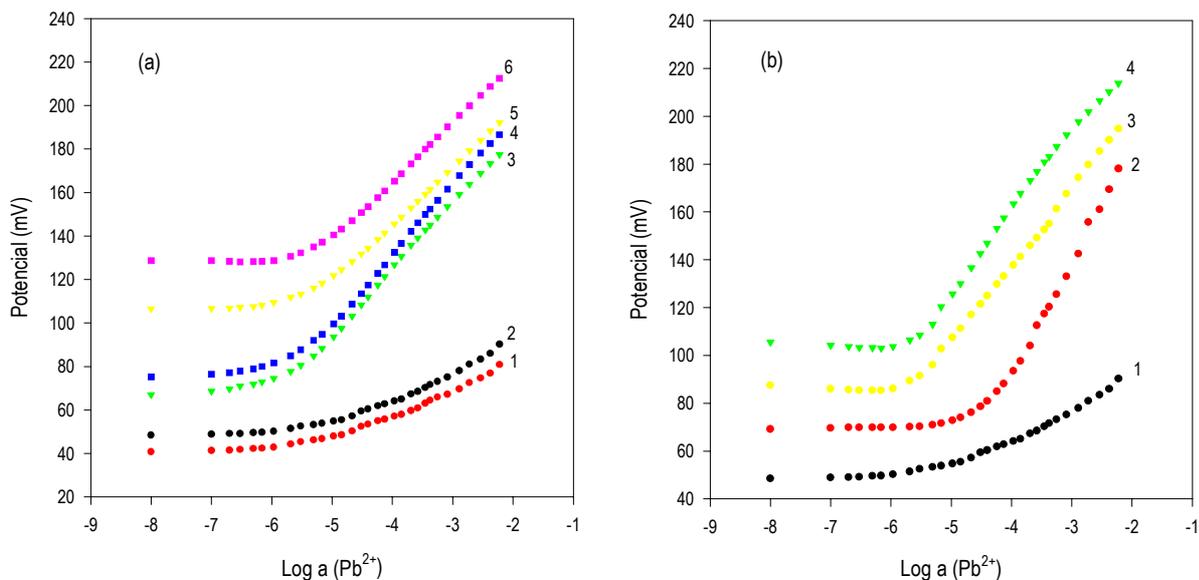


Figura 5.3: (a) Respuesta del electrodo al ion Pb^{2+} . (1) M1/o-NPOE sin KTpCIPB; (2) M2/o-NPOE sin KTpCIPB; (3) M1/0-NPOE con KTpCIPB; (4) M1/DOS con KTpCIPB; (5) M2/o-NPOE con KTpCIPB; (6) M2/DOS con KTpCIPB; (b) Diferente contenido de KTpCIPB en la membrana del electrodo preparado con la membrana M1/0-NPOE. (1) sin KTpCIPB, (2) 0.1 % KTpCIPB, (3) 1 % KTpCIPB, (4) 2 % KTpCIPB.

En vista de los resultados obtenidos se procede a estudiar el efecto de la concentración de aditivo sobre la respuesta de la membrana, para ello se evalúan contenidos variables de éste entre 0-2 % en peso. En el gráfico de la Figura 5.3 (b) se observa que un incremento de 0.1 % a un 1 % de aditivo provoca una mejora substancial del límite de detección, contenidos superiores a un 2 % de aditivo no provoca una mejora significativa de la respuesta del electrodo. Por tanto se escoge un 1 % como contenido óptimo de aditivo en la membrana.

5.2 EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE RESPUESTA

En la preparación de los electrodos con los ionóforos (M1 y M2) se han utilizado dos plastificantes: o-NPOE y DOS. El plastificante es un componente mayoritario en la membrana y puede influir en las propiedades físicas y químicas de la misma. Previamente se verifica la solubilidad de los ionóforos en los plastificantes. Se preparan cócteles sensores con los ionóforos M1 y M2 en los cuales el contenido de plastificante es de un 63 %.

Las membranas 3 y 4 se preparan con los mismos plastificantes que aparecen descritos en la bibliografía, o-NPOE para el ionóforo M3 y DOS para el ionóforo M4. En ambos casos, y según indica la bibliografía, se añade un 59 % de plastificante [1-3]. El cóctel sensor, en todos los casos, contiene PVC como matriz y cada membrana se prepara según la composición descrita en el capítulo 3.

Se realizan calibrados sucesivos para evaluar las características de respuesta sobre un fondo de agua Mili-Q utilizando diferentes soluciones de $Pb(NO_3)_2$.

En la Figura 5.4 se muestra un ejemplo de calibrado para todas las membranas estudiadas. En la misma puede observarse como ahora todas las membranas ensayadas muestran un comportamiento según lo previsto por la ecuación de Nernst para un ion divalente (alrededor de 29 mV/déc.).

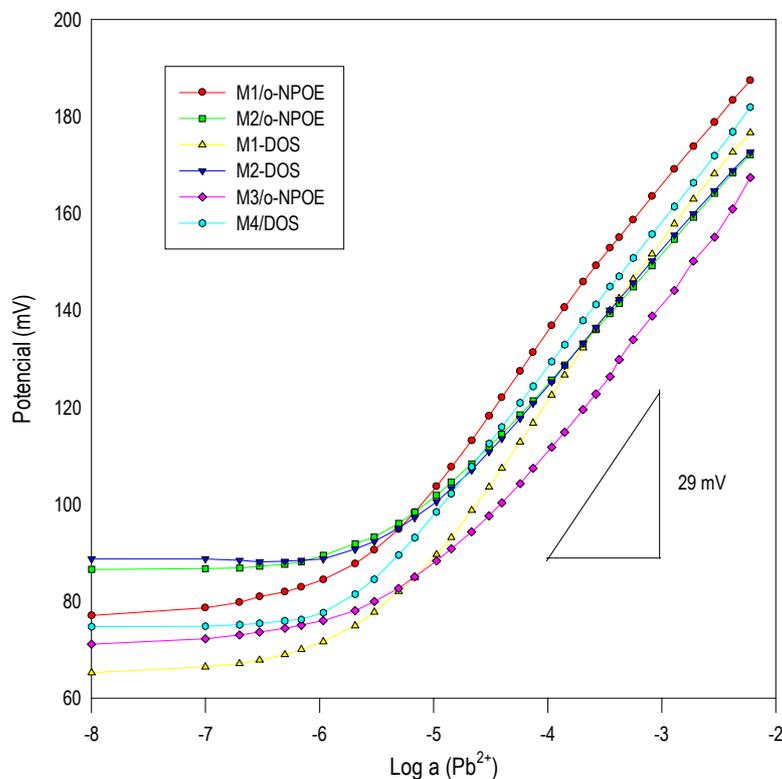


Figura 5.4: Ejemplo de un calibrado en medio agua Mili-Q de todas las membranas. El triángulo representa el valor teórico de la pendiente de Nernst.

La utilización de agua Mili-Q como fondo de calibración nos permite obtener información de la respuesta de las membranas en ausencia del efecto interferente de otros iones. Tras la construcción de los electrodos se realizan más de 5 calibrados de cada membrana sobre fondo de agua Mili-Q. Posteriormente, se inicia una fase de evaluación del efecto de un bloque de especies interferentes que incluyen los iones K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , después de este estudio se vuelven a calibrar los electrodos también en agua y finalmente se realiza una última serie de calibrados en agua después de evaluar la interferencia causada por los cationes Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} y Cd^{2+} . La comparación a lo largo del tiempo de los resultados obtenidos sobre un fondo de agua Mili-Q nos proporciona información útil acerca de la evolución de cada parámetro, del tiempo de vida y de cómo se ve afectada la respuesta de los electrodos después de haber estado en contacto con disoluciones de interferentes. Para cada composición de membrana se han fabricado y evaluado simultáneamente tres unidades a lo largo de todo el proceso.

Con el objetivo de evaluar el tiempo de vida para cada familia se analizan los parámetros relacionados con la zona subnerstiana, estos parámetros son la C o LD y el LIRL. El deterioro de

las características de respuesta de los electrodos suele verificarse prioritariamente en la zona subnerstiana y afecta básicamente al LD y al LIRL. El valor medio de los resultados obtenidos para cada membrana en las diferentes etapas así como, el intervalo de error correspondiente al 95 % de confianza expresado como error relativo en porcentaje se muestran en las tablas siguientes.

De los resultados de la Tabla 5.2 se concluye que los electrodos basados en el ionóforo M1 y o-NPOE como plastificante mantienen sus características de respuesta estables después de haber transcurrido 8 meses desde el inicio del estudio con esta familia. No existen diferencias marcadas, durante los distintos períodos, en las pendientes B₁ y B₃ correspondientes al tramo lineal y a toda la curva de calibración respectivamente. Por otra parte, el valor del parámetro C se mantiene también constante.

CARACTERÍSTICAS DE RESPUESTA						
Período	1 ^{ra} Etapa (15 calibrados)		2 ^{da} Etapa (3 calibrados)		3 ^{ra} Etapa (12 calibrados)	
	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
B ₃ (mV/déc)	29.07	± 0.84	28.91	± 1.14	31.74	± 0.73
B ₁ (mV/déc)	27.74	± 0.91	27.27	± 1.23	30.09	± 1.01
C/LD (ppm)	0.45	± 0.03	0.43	± 0.03	0.53	± 0.12
LIRL(ppm)	0.50	± 0.02	0.48	± 0.02	0.64	± 0.02

Tabla 5.2: Membrana con M 1 y o-NPOE como plastificante.

En el caso del mismo ionóforo M1, pero empleando DOS como plastificante se observa (Tabla 5.3) que tampoco hay diferencias significativas en los parámetros durante las distintas etapas de evaluación, obteniéndose límites de detección del mismo orden durante todo el estudio. No obstante, los límites de detección son ligeramente superiores a los obtenidos con éste mismo ionóforo, pero con o-NPOE como plastificante.

CARACTERÍSTICAS DE RESPUESTA						
Período	1 ^{ra} Etapa (15 calibrados)		2 ^{da} Etapa (3 calibrados)		3 ^{ra} Etapa (12 calibrados)	
	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
B ₃ (mV/déc)	29.50	± 0.98	30.63	± 1.26	33.48	± 0.66
B ₁ (mV/déc)	28.49	± 1.01	29.01	± 1.42	31.90	± 0.88
C/LD (ppm)	0.64	± 0.14	0.68	± 0.11	0.70	± 0.11
LIRL(ppm)	0.83	± 0.06	0.74	± 0.03	0.76	± 0.01

Tabla 5.3: Membrana con M 1 y DOS como plastificante.

La membrana basada en el ionóforo M2 utilizando o-NPOE como plastificante (Tabla 5.4) experimenta una variación de los parámetros B₁ y B₃ en las diferentes etapas del estudio. La

disminución del parámetro B_3 , que hace referencia a todo el intervalo de calibración, nos muestra la gradual degradación de la membrana. También se observa un aumento apreciable del parámetro C, esto es lógico si tenemos en cuenta que en el tipo de ajuste que realizamos, los parámetros C y B_3 están muy relacionados, un incremento de C trae consigo la disminución de B_3 . Los valores de C que se obtienen son más altos que los obtenidos con M1/o-NPOE y M1/DOS.

CARACTERÍSTICAS DE RESPUESTA						
Período	1ª Etapa (15 calibrados)		2ª Etapa (3 calibrados)		3ª Etapa (12 calibrados)	
	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
B_3 (mV/déc)	29.95	± 0.43	27.99	± 1.55	26.63	± 0.65
B_1 (mV/déc)	28.71	± 0.62	26.28	± 1.72	24.80	± 0.91
C/LD (ppm)	0.35	± 0.01	1.01	± 0.12	1.17	± 0.14
LIRL(ppm)	0.48	± 0.01	1.15	± 0.21	1.31	± 0.06

Tabla 5.4: Membrana con M 2 y o-NPOE como plastificante.

Al analizar los resultados de la Tabla 5.5, correspondientes a la membrana M2/DOS, se observa una clara pérdida de las características de respuesta de los electrodos a medida que transcurre el tiempo. En este caso las diferencias entre los parámetros en los distintos períodos son apreciables, observándose una disminución de B_1 y B_3 . Al analizar los parámetros C y LIRL llegamos a la conclusión que los electrodos han perdido sensibilidad e intervalo de linealidad tras cada etapa. Esta pérdida de sensibilidad puede ser consecuencia de una exudación gradual de los componentes de la membrana (mayoritariamente ionóforo y/o plastificante). Los valores del parámetro C obtenidos para esta membrana son superiores a los obtenidos con las membranas anteriores.

CARACTERÍSTICAS DE RESPUESTA						
Período	1ª Etapa (15 calibrados)		2ª Etapa (3 calibrados)		3ª Etapa (12 calibrados)	
	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
B_3 (mV/déc)	32.72	± 0.66	25.74	± 2.29	21.55	± 0.65
B_1 (mV/déc)	31.79	± 0.72	23.62	± 2.62	21.56	± 0.68
C/LD (ppm)	0.48	± 0.01	3.03	± 0.72	3.90	± 0.78
LIRL(ppm)	0.54	± 0.02	3.67	± 0.78	5.1	± 1.15

Tabla 5.5: Membrana con M 2 y DOS como plastificante.

En el caso de la membrana M3/o-NPOE (Tabla 5.6) cabe señalar la pérdida de sensibilidad de los electrodos en la segunda etapa del proceso (tras la primera etapa de evaluación de interferencias) y su posterior recuperación. Esta recuperación tiene lugar tras los calibrados en agua de la segunda etapa, y nos lleva a pensar que la realización periódica de calibrados en ausencia de

interferencias reacondiciona la membrana recuperándose su respuesta. Si comparamos los resultados de la última etapa con la primera observamos que no hay diferencias marcadas en los parámetros B_1 y B_3 , pero en esta última etapa se observa un aumento del parámetro C. Consideramos que los resultados obtenidos con esta membrana no son de utilidad práctica, ya que para nuestros propósitos el electrodo debe conservar sus propiedades durante todo el estudio. Otro aspecto importante a comentar es el envenenamiento que causan los iones plata y mercurio a los electrodos preparados con este ionóforo. Este estudio no ha sido realizado en esta memoria, pero ha sido previamente descrito en la literatura consultada [1] y constituye una de las limitaciones para la posterior utilización de la misma.

CARACTERÍSTICAS DE RESPUESTA						
Período	1 ^{ra} Etapa (15 calibrados)		2 ^{da} Etapa (3 calibrados)		3 ^{ra} Etapa (12 calibrados)	
	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
B_3 (mV/déc)	24.83	± 0.53	17.54	± 1.24	24.95	± 0.71
B_1 (mV/déc)	24.26	± 0.46	16.2	± 1.12	24.62	± 0.64
C/LD (ppm)	0.35	± 0.006	2.95	± 0.77	0.66	± 0.02
LIRL(ppm)	0.46	± 0.002	6.1	± 0.01	1.32	± 0.03

Tabla 5.6: Membrana con M 3 y o-NPOE como plastificante.

En los electrodos que incorporan la membrana M4/DOS se observa (Tabla 5.7) un aumento de los parámetros C y LIRL a medida que transcurre el tiempo de trabajo con esta membrana. Esto es una evidencia de la degradación de la membrana con el tiempo. No obstante los límites de detección que se obtienen están más cercanos a los obtenidos con M1/o-NPOE.

CARACTERÍSTICAS DE RESPUESTA						
Período	1 ^{ra} Etapa (15 calibrados)		2 ^{da} Etapa (3 calibrados)		3 ^{ra} Etapa (12 calibrados)	
	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
B_3 (mV/déc)	30.54	± 0.36	32.37	± 0.83	30.86	± 0.25
B_1 (mV/déc)	29.85	± 0.41	30.61	± 0.81	28.97	± 0.26
C/LD (ppm)	0.096	± 0.001	0.22	± 0.05	0.26	± 0.03
LIRL(ppm)	0.3	± 0.005	0.26	± 0.01	0.29	± 0.01

Tabla 5.7: Membrana con M 4 y DOS como plastificante.

5.3 ANÁLISIS DE INTERFERENCIAS

Teniendo en cuenta la futura aplicación de los electrodos desarrollados en el análisis medioambiental y la complejidad de la matriz de una muestra real, es necesario conocer el efecto interferente que pueden provocar otros iones. Así y de forma muy general los cationes más abundantes en cualquier muestra real, ya sea de agua o de suelo son: K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} . También podemos encontrar, según sea el nivel de contaminación: Zn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Ag^+ , Hg^{2+} , Hg_2^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} y Fe^{3+} pero en concentraciones muy inferiores a los cationes anteriormente mencionados.

Se recurre a la determinación del coeficiente de selectividad potenciométrico para tener una idea del grado de interferencia de los diferentes iones en la determinación del ion principal. La determinación de este coeficiente se realiza mediante el método de las disoluciones mezcladas (ver apartado 4.3.4). El procedimiento consiste en la realización de diversos calibrados de los electrodos sobre un fondo constante de la especie interferente y la determinación del coeficiente de selectividad utilizando la expresión (4.5).

$$E = E_0 + B_2 \log(a_i + \sum K_{Pb^{2+},j}^{Pot} a_j^{z_i/z_j}) \quad (4.5)$$

En el caso de la interferencia del Na^+ y el K^+ , al ser especies muy abundantes en muestras reales, se fija una concentración de fondo de 0.01 M. Esta concentración es claramente superior a la concentración habitual de estos iones en aguas naturales pero el estudio se lleva a cabo de esta forma, ya que así los resultados de $K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ que se obtengan podrán ser comparados con los de otros trabajos anteriormente descritos. En las tablas que aparecen a continuación se muestran los resultados de las diferentes $K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ obtenidas para cada membrana y los niveles de concentración utilizados para cada catión. El término $K_{Pb^{2+},j}^{Pot} **$ que aparece en las tablas se corresponde a una corrección del coeficiente de selectividad aplicado únicamente a los iones monovalentes, el mismo se comentará en el apartado 5.3.1.

EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE SELECTIVIDAD POTENCIOMÉTRICO				
iones	z_j	[J] (M)	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot **}$
Na ⁺	1	0.01	-2.09	-3.06
K ⁺	1	0.01	1.23	-1.82
NH ₄ ⁺	1	0.001	0.89	-2.16
Ca ²⁺	2	0.001	-3.13	
Mg ²⁺	2	0.001	-3.15	
Zn ²⁺	2	0.0001	<-4	
Ni ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cu ²⁺	2	0.0001	-3.37	
Co ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cd ²⁺	2	0.0001	<-4	

Tabla 5.8: Membrana con M 1 y o-NPOE.

EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE SELECTIVIDAD POTENCIOMÉTRICO				
iones	z_j	[J] (M)	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot **}$
Na ⁺	1	0.01	-1.95	-2.60
K ⁺	1	0.01	0.98	-1.82
NH ₄ ⁺	1	0.001	0.85	-2.2
Ca ²⁺	2	0.001	-3.08	
Mg ²⁺	2	0.001	-3.09	
Zn ²⁺	2	0.0001	-1.50	
Ni ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cu ²⁺	2	0.0001	<-4	
Co ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cd ²⁺	2	0.0001	<-4	

Tabla 5.9: Membrana con M 1 y DOS.

EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE SELECTIVIDAD POTENCIOMÉTRICO				
iones	z_j	[J] (M)	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot **}$
Na ⁺	1	0.01	-1.5	-2.5
K ⁺	1	0.01	1.34	-1.71
NH ₄ ⁺	1	0.001	0.96	-2.09
Ca ²⁺	2	0.001	-2.56	
Mg ²⁺	2	0.001	-2.93	
Zn ²⁺	2	0.0001	-1.29	
Ni ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cu ²⁺	2	0.0001	<-4	
Co ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cd ²⁺	2	0.0001	<-4	

Tabla 5.10: Membrana con M 2 y o-NPOE.

EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE SELECTIVIDAD POTENCIOMÉTRICO				
Iones	z_j	[J] (M)	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot **}$
Na ⁺	1	0.01	-1.09	-2.27
K ⁺	1	0.01	1.39	-1.71
NH ₄ ⁺	1	0.001	1.15	-1.89
Ca ²⁺	2	0.001	-2.32	
Mg ²⁺	2	0.001	-2.56	
Zn ²⁺	2	0.0001	-1.23	
Ni ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cu ²⁺	2	0.0001	<-4	
Co ²⁺	2	0.0001	<-4	
Cd ²⁺	2	0.0001	<-4	

Tabla 5.11: Membrana con M 2 y DOS.

EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE SELECTIVIDAD POTENCIOMÉTRICO					
Iones	z_j	[J] (M)	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot **}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot * [1]}$
Na ⁺	1	0.01	-2.00	-3.6	-2.1
K ⁺	1	0.01	0.96	-2.18	-2.3
NH ₄ ⁺	1	0.001	0.69	-2.36	-
Ca ²⁺	2	0.001	-3.48		<-5
Mg ²⁺	2	0.001	-2.95		<-5
Zn ²⁺	2	0.0001	<-4		<-3
Ni ²⁺	2	0.0001	<-4		<-3
Cu ²⁺	2	0.0001	-3.41		0.9
Co ²⁺	2	0.0001	<-4		<-5
Cd ²⁺	2	0.0001	<-4		<-3

Tabla 5.12: Membrana con M 3 y o-NPOE

EVALUACIÓN DEL COEFICIENTE DE SELECTIVIDAD POTENCIOMÉTRICO					
Iones	z_j	[J] (M)	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot **}$	$\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot * [2,3]}$
Na ⁺	1	0.01	-2.85	-4.33	-2.2
K ⁺	1	0.01	0.66	-2.28	-2.2
NH ₄ ⁺	1	0.001	0.7	-2.26	-2.5
Ca ²⁺	2	0.001	-3.17		-4
Mg ²⁺	2	0.001	-3.09		-3.6
Zn ²⁺	2	0.0001	<-4		-3.7
Ni ²⁺	2	0.0001	<-4		-4.2
Cu ²⁺	2	0.0001	-2.09		-0.5
Co ²⁺	2	0.0001	<-4		-4.3
Cd ²⁺	2	0.0001	0.55		0.9

Tabla 5.13: Membrana con M 4 y DOS.

Los resultados que se muestran en las tablas anteriores reflejan, de forma general, los bajos coeficientes de selectividad obtenidos para los metales de transición, lo cual evidencia la preferencia de los ionóforos por el ion plomo. Si analizamos los resultados para los cationes monovalentes se obtienen coeficientes de selectividad muy altos utilizando la ecuación de Nikolskii-Eisenmann (N-E), lo cual no se corresponde con los resultados experimentales que se observan. Esto es consecuencia de un desajuste de la ecuación de N-E para iones monovalentes.

Como se mencionó en el capítulo de introducción, el plastificante puede influir en la selectividad de la membrana. El plastificante más adecuado se escogerá, teniendo en cuenta el valor de su constante dieléctrica. Si se quiere obtener selectividad a cationes monovalentes sobre divalentes la elección será un plastificante de baja constante dieléctrica (ϵ) y si por el contrario lo que queremos es lograr selectividad a divalentes sobre monovalentes, el elegido será aquel que tenga un elevado valor de ϵ [8]. Si comparamos los resultados obtenidos con M1/o-NPOE y M1/DOS observamos que no existen diferencias en las constantes de selectividad obtenidas para los diferentes iones ensayados, a pesar de utilizar plastificantes diferentes. El contenido de plastificante en estas membranas es bastante elevado (entre 59-63% en peso) razón por la cual se podría pensar que la membrana mantendrá la misma constante dieléctrica que el plastificante. No obstante, hay que tener en cuenta que a las membranas también se les añade sales con aniones lipofílicos que, de cierta manera, podrían compensar las diferencias de constante dieléctrica que puedan existir entre las membranas con diferente plastificante (o-NPOE con $\epsilon=24$ y DOS con $\epsilon=3$). Es por ello, que al comparar los resultados obtenidos con ambas membranas no se observan diferencias en cuanto a preferencia de monovalentes sobre divalentes o viceversa. Este mismo resultado se obtiene también para M2/o-NPOE y M2/DOS.

En el caso de la membrana M3/NPOE hemos mostrado en las tablas el valor del coeficiente de selectividad descrito en la bibliografía ($\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ *) [1]. Para la evaluación de este coeficiente utilizan el método de las disoluciones mezcladas, aunque la concentración de fondo de las especies interferentes no es la misma que la utilizada en nuestro estudio para cada una de las especies analizadas. Al comparar nuestros resultados con los descritos, encontramos que hay bastante similitud exceptuando la interferencia causada por el cobre, que en nuestro caso es muy baja (-3.41) y en los estudios de la literatura este ion causa una interferencia considerable (0.9).

En el caso de la membrana M4/DOS es importante destacar que el coeficiente de selectividad obtenido en el caso del cobre es más alto que para el resto de las membranas. A diferencia de las otras membranas en estudio, el cadmio provoca una elevada interferencia. Este hecho puede deberse a que el cadmio al igual que el plomo forma complejo con el azufre con relativa facilidad. Un hecho interesante recogido en la bibliografía es la utilización del N, N, N',N'-tetrabutyl-3,6-dioxaoctanoditioamida como sensor de cadmio [9]. Este compuesto es muy similar al utilizado por nosotros en la membrana M4/DOS. La similitud entre ambos compuestos puede ser una explicación a la fuerte interferencia que provoca el cadmio en la determinación del ion plomo.

En la Tabla 5.13 aparece el término $\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ * que se refiere a los coeficientes de selectividad descritos en la literatura para esta membrana [2,3], en este caso utilizan el método de las disoluciones separadas para la evaluación del coeficiente, siendo los resultados obtenidos comparables con los descritos previamente. No obstante, el coeficiente de selectividad para el ion Cu^{2+} es más bajo en nuestro estudio que en el estudio previo realizado, lo cual indica la menor interferencia del cobre en nuestras condiciones. Si analizamos el resultado para el cadmio encontraremos que éste ion constituye una seria interferencia en ambos casos.

5.3.1 Influencia del superíndice en el cálculo de la $K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$

En general, la determinación de la K^{pot} utilizando la expresión de Nikolskii-Eisenmann es adecuada si los iones interferentes y el ion en estudio tienen la misma carga. Sin embargo cuando los iones interferentes tienen carga diferente al ion principal esta ecuación es inconsistente [10,11] y puede conducir a una descripción incorrecta del comportamiento experimental del electrodo.

Los cálculos del coeficiente de selectividad se realizaron también excluyendo el superíndice que aparece en la ecuación (4.5). De esta forma se obtuvieron valores de $K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ que reflejan de forma más fiable los resultados experimentales observados. En todas las tablas del apartado 5.3, aparece el término $\log K_{Pb^{2+},j}^{Pot}$ ** que se refiere al coeficiente de selectividad potenciométrico determinado sin tener en cuenta el superíndice.

En la Figura 5.5 se representa un resumen gráfico de los resultados de los coeficientes de selectividad obtenidos para cada membrana y los diferentes cationes ensayados. Los resultados que se muestran en este gráfico, en el caso de iones monovalentes, están representados teniendo en cuenta el cálculo sin superíndice.

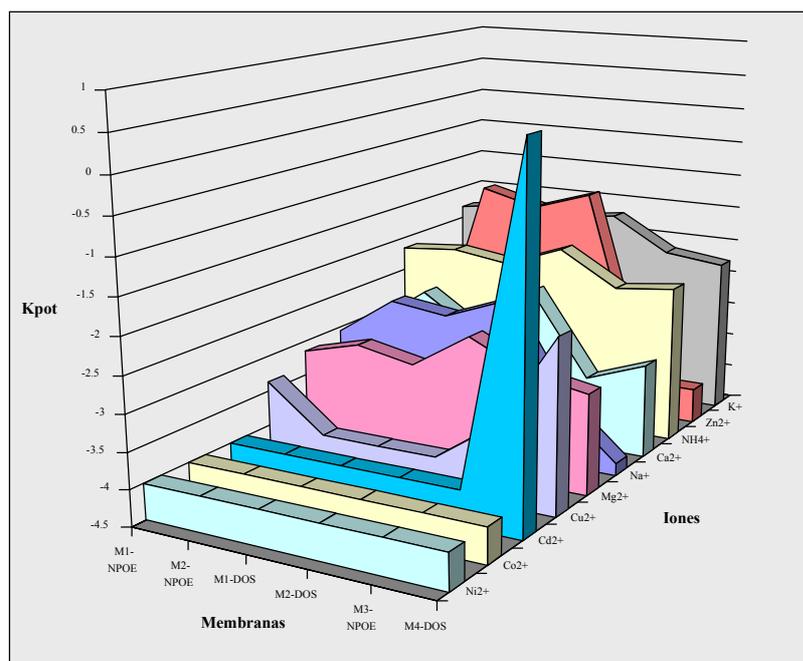


Figura 5.5: Constantes de selectividad potenciométrica.

De forma general, los resultados obtenidos con todas las membranas estudiadas son comparables a otros estudios descritos en la bibliografía, incluso en alguno de los casos, como por ejemplo las membranas basadas en los ionóforos comerciales se observa que los resultados para el ion cobre son más bajos en nuestro estudio que los descritos en la bibliografía consultada [12-14].

Con la finalidad de evaluar la influencia del superíndice en el cálculo del coeficiente de selectividad hemos decidido mostrar un ejemplo de un resultado experimental obtenido en el caso particular del ionóforo M1 con o-NPOE como plastificante. En la Figura 5.6 se representan los gráficos obtenidos al evaluar la interferencia causada por el Mg^{2+} (igual carga que el ion principal) y la interferencia provocada por el NH_4^+ (carga diferente al ion principal). Ambos iones fueron ensayados utilizando la misma concentración de fondo (10^{-3} M). En la misma se puede apreciar que no hay grandes diferencias en la forma en que ambos iones influyen en la determinación del ion plomo. En cambio los resultados de K^{pot} con superíndice reflejan lo contrario ($\log K_{Pb^{2+}, NH_4^+}^{Pot} = 0.89$), mientras que para el magnesio es de $\log K_{Pb^{2+}, Mg^{2+}}^{Pot} = -3.15$.

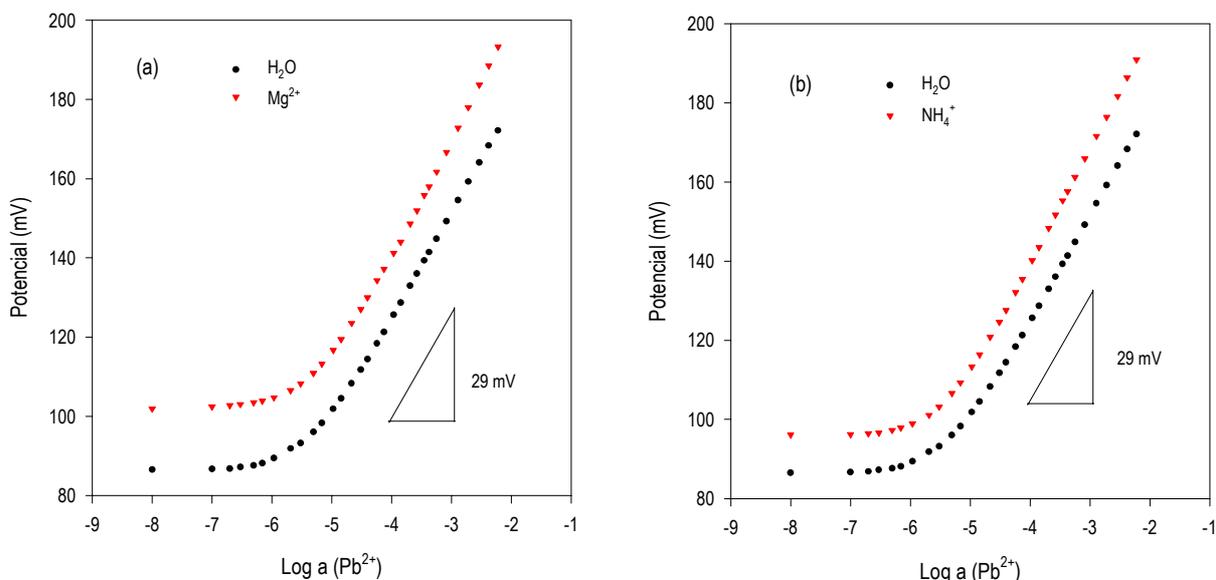


Figura 5.6: Análisis de la interferencia causada por dos iones en la medición potenciométrica del ion plomo; (a) ion Mg^{2+} y (b) ion NH_4^+ (el triángulo representa el valor teórico de la pendiente de Nernst).

En la Tabla 5.14 se resumen las características de respuesta que se obtienen en los tres fondos iónicos analizados (agua Mili-Q, nitrato de amonio y nitrato de magnesio), para la misma membrana anteriormente citada.

FONDO	AGUA BIDESTILADA		NITRATO DE AMONIO		NITRATO DE MAGNESIO	
Parámetro	Valor	Error	Valor	Error	Valor	Error
B_3 (mV/déc)	28.91	± 1.14	29.03	± 1.14	28.2	± 1.1
B_1 (mV/déc)	27.27	± 1.23	27.06	± 1.37	26.6	± 1.3
C/LD (ppm)	0.43	± 0.03	0.45	± 0.02	0.48	± 0.02
LIRL (ppm)	0.46	± 0.02	0.63	± 0.02	0.65	± 0.05

Tabla 5.14: Comparación de los parámetros de respuesta en fondo de $Mg(NO_3)_2$ y NH_4NO_3 y agua bidestilada.

Al comparar los resultados de los parámetros característicos en los tres medios observamos que no hay diferencias significativas entre los mismos. Lo cual refuerza nuestra conclusión de que ambas especies (amonio y magnesio), al nivel de concentración de fondo que estamos analizando, presentan un nivel de interferencia muy reducido y semejante en términos absolutos. Esto debería implicar coeficientes de selectividad muy parecidos. Por ello y para intentar aproximar los valores calculados al comportamiento experimental observado, excluimos el superíndice en la ecuación utilizada para el cálculo de la K^{Pot} . El nuevo valor calculado del $\log K_{Pb^{2+}, NH_4^+}^{Pot}$ es de -2.16. Este dato es más realista y se aproxima más al obtenido para el ion Mg^{2+} (-3.15).

IONES	z_j	[J] (M)	$\text{Log } K_{\text{Pb}^{2+},j}^{\text{Pot}}$	$\text{Log } K_{\text{Pb}^{2+},j}^{\text{Pot} **}$
NH_4^+	1	0.001	0.89	-2.16
Mg^{2+}	2	0.001	-3.15	

Tabla 5.15: Comparación del coeficiente de selectividad potenciométrico después de excluir el superíndice.

Para ejemplificar la influencia del superíndice, en la evaluación del coeficiente de selectividad, nos hemos basado en un caso concreto, pero esta evaluación se ha realizado para todas las membranas estudiadas en este trabajo y para todos los iones monovalentes ensayados. La inconsistencia de la ecuación de Nikolskii-Eisenmann se corrobora en todos los casos, tal y como queda reflejado en las tablas del apartado 5.3.

5.4 EVALUACIÓN DEL TIEMPO DE RESPUESTA

La metodología utilizada para evaluar este parámetro consiste en adicionar una cantidad conocida de Pb^{2+} sobre una disolución de agua o nitrato de amonio, que se encuentra en constante agitación, provocando una variación de actividad del ion principal que se registra como un salto de potencial. El potencial se mide en función del tiempo transcurrido desde la adición. Se provoca un primer salto desde el cero de actividad de la disolución de partida hasta 10^{-5} M de actividad de Pb^{2+} y se mide el potencial de estabilización antes y después de la adición. Posteriormente, se miden pares de datos tiempo-potencial hasta un tiempo teórico infinito que representa el potencial final. A partir de estos datos se evalúa el tiempo transcurrido hasta alcanzar el 95 % de respuesta. El segundo salto se provoca desde una concentración de 10^{-5} a 10^{-4} y se calcula también el tiempo hasta alcanzar el 95 % de respuesta.

Hemos decidido utilizar también una disolución que contiene 10^{-2} M de nitrato de amonio para llevar a cabo el estudio del tiempo de respuesta, atendiendo a que el ion amonio provoca una baja interferencia en la determinación del ion principal. Cabe considerar que en la posterior aplicación de los sensores desarrollados en un sistema en flujo continuo tendremos que disponer de un electrolito que nos ajuste la fuerza iónica del medio, además de mantener la conductividad eléctrica entre los electrodos utilizados para llevar a cabo la medición potenciométrica. De esta forma tendremos una visión general de como es el comportamiento de las membranas estudiadas en presencia de un fondo iónico. También podríamos haber utilizado, teniendo en cuenta el nivel de interferencia, sales de Ca^{2+} , Mg^{2+} o Na^+ .

La evaluación de la velocidad de respuesta es una prueba cualitativa y sólo indica la capacidad que tiene nuestro sensor para detectar señales transitorias de una frecuencia relativamente alta. Con el dispositivo instrumental utilizado no se espera determinar los verdaderos tiempos de respuesta relacionados con los procesos de intercambio que se verifican en la interfase membrana-cap

adyacente, pero si que nos suministra información sobre el tiempo de respuesta asociado con los procesos de difusión desde el seno de la disolución hacia la capa adyacente a la membrana.

Hemos de tener en cuenta que sobre este tiempo ejerce una fuerte influencia la velocidad de homogenización de la disolución después de la adición. Teniendo en cuenta estas limitaciones hemos realizado una clasificación de acuerdo a un sistema de pautas fijadas por los tiempos de respuesta necesarios y adecuados para la integración de los dispositivos sensores en sistemas de flujo continuo.

- Si los dos saltos tienen un $t_{95\%}$ inferior a los 25 segundos, se considera una velocidad de respuesta **rápida**
- Si uno de los dos saltos tiene un $t_{95\%}$ superior a los 25 segundos, se considera como **intermedia**
- Si los dos saltos son superiores a los 25 segundos, entonces se considera **lenta**

5.4.1 Membrana M1/o-NPOE

En la Figura 5.7 se muestra la representación gráfica del comportamiento de los electrodos preparados con esta membrana. En la misma se observa la variación del potencial en función del tiempo en los dos medios ensayados.

Si comparamos los gráficos en ambos medios, observamos que cuando utilizamos agua como fondo se observa una curvatura más pronunciada que cuando el medio es NH_4NO_3 , esto es indicativo de la lentitud de la respuesta en este primer medio. Al hacer el tratamiento matemático de los datos obtenemos que esta membrana, en medio agua, tiene una respuesta lenta de forma global (primer salto mucho más lento que el segundo). En cambio, cuando el medio es NH_4NO_3 , la respuesta es muy rápida (unos pocos segundos). También podemos observar que, cuando el fondo es agua, los saltos de potencial son más amplios, lo cual nos indica una mayor sensibilidad en este medio a pesar de que la respuesta es más lenta.

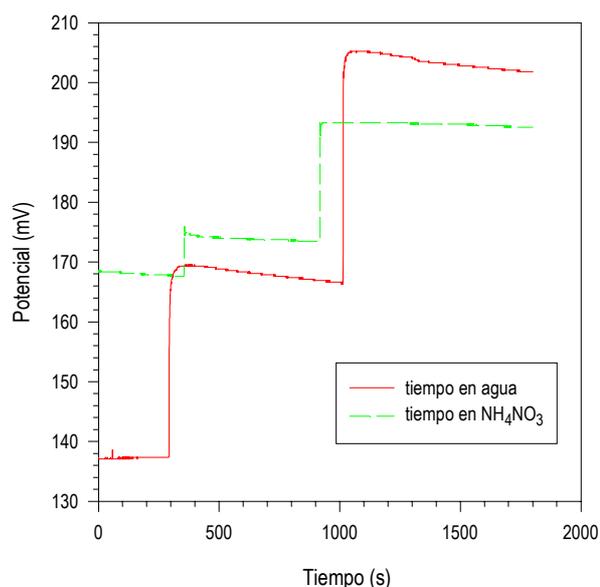


Figura 5.7: Tiempo de respuesta membrana M1/o-NPOE.

5.4.2 Membrana M1/DOS

En la Figura 5.8 se observa la evolución del potencial en función del tiempo para esta segunda membrana. En el mismo podemos apreciar que la curvatura cuando el fondo es agua es menor que en el caso de este mismo ionóforo pero con o-NPOE como plastificante, hecho que indica que la respuesta de esta membrana es más rápida que en el caso anterior.

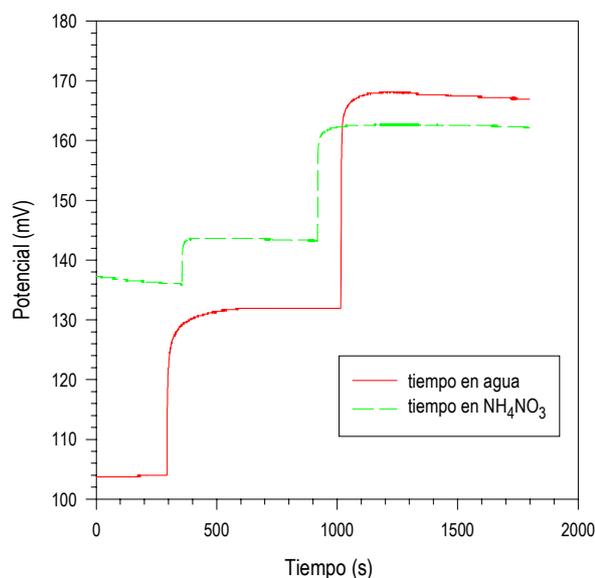


Figura 5.8: Tiempo de respuesta membrana M1/DOS.

Teniendo en cuenta el criterio cualitativo fijado al inicio en cuanto a rapidez de la respuesta, y después de haber realizado el tratamiento de los datos, consideramos que esta familia tiene una rápida respuesta cuando el medio es agua y una respuesta intermedia cuando el medio es nitrato

de amonio. Al igual que la membrana anterior la presencia del ion NH_4^+ como especie interferente limita la magnitud del salto de potencial en la disolución que contiene este electrolito de fondo.

5.4.3 Membrana M2/o-NPOE

El comportamiento de esta membrana es muy similar al del caso anterior, obteniéndose, una respuesta muy rápida (< 3 segundos) de los electrodos cuando el medio es agua y algo más lenta y menos sensible cuando el medio es amonio.

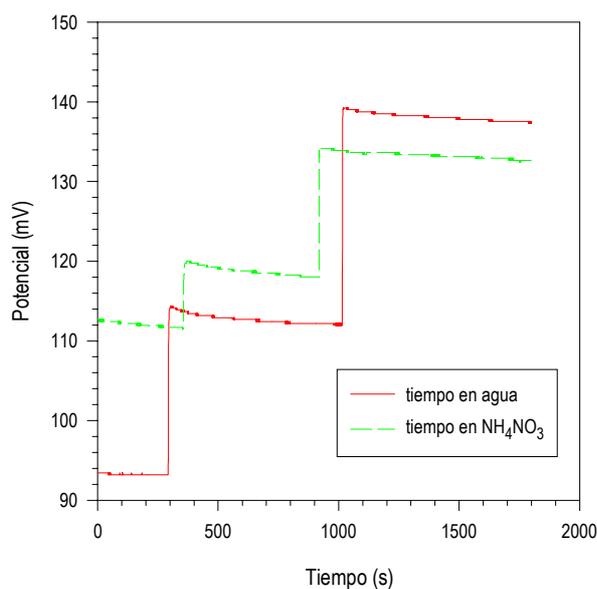


Figura 5.9: Tiempo de respuesta membrana M2/o-NPOE.

5.4.4 Membrana M2/DOS

Con esta membrana los resultados son peores que los obtenidos con este mismo ionóforo, pero utilizando o-NPOE como plastificante (Figura 5.10), obteniéndose tiempos de respuesta del orden de los minutos en los dos medios estudiados. En la figura también se observa la influencia del procedimiento experimental evidenciado en las señales suministradas por los sensores. Añadiendo las disoluciones de ion Pb^{2+} en las proximidades de las membranas se obtiene registros como los mostrados, un incremento del potencial por encima del valor real con la posterior disminución de la señal hasta estabilizarse.

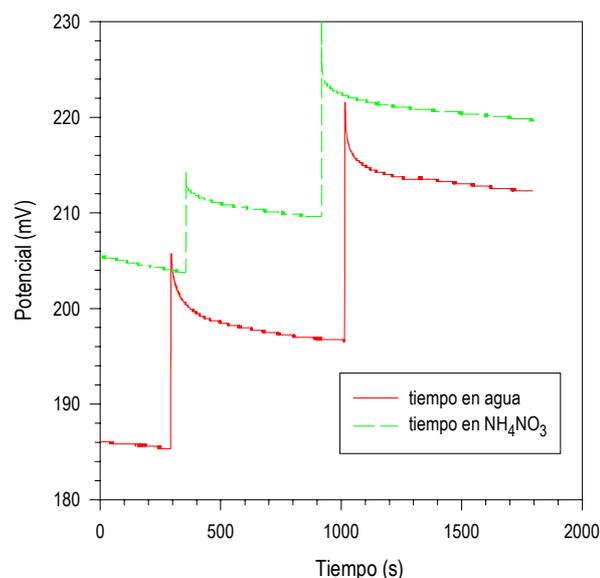


Figura 5.10: Tiempo de respuesta membrana M2/DOS.

5.4.5 Membrana M3/o-NPOE

En la Figura 5.11 se muestran los resultados obtenidos con esta membrana, observándose que presenta un tiempo de respuesta rápido cuando el fondo utilizado es nitrato de amonio. En cambio, cuando se utiliza agua de fondo la respuesta es algo más lenta.

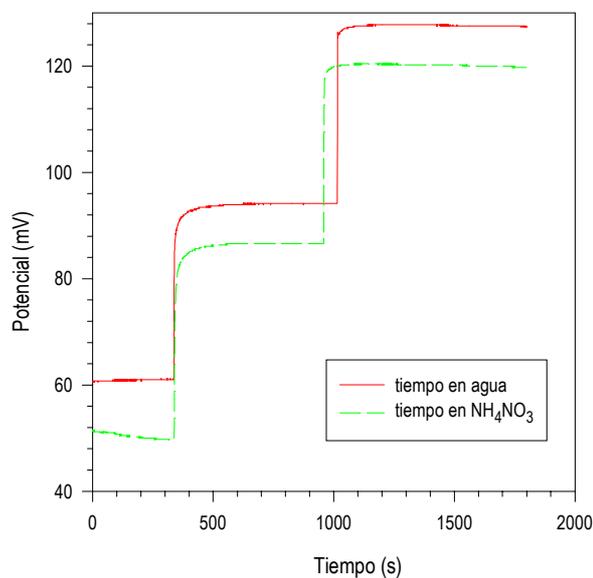


Figura 5.11: Tiempo de respuesta membrana M3/o-NPOE.

La magnitud de las variaciones de potencial en ambos medios es muy semejante lo que indica un menor nivel de interferencia del ion amonio en la respuesta de membranas preparadas con este ionóforo.

5.4.6 Membrana M4/DOS

La Figura 5.12 muestra los resultados obtenidos con la última membrana ensayada. Los electrodos preparados con esta membrana tienen una respuesta lenta en agua y se observa un pequeño incremento en el tiempo de respuesta cuando estamos en presencia de fondo nitrato de amonio. En el gráfico se observa como esta membrana es muy sensible a los incrementos de actividad de ion plomo en ambos medios, ya que presenta amplios saltos de potencial.

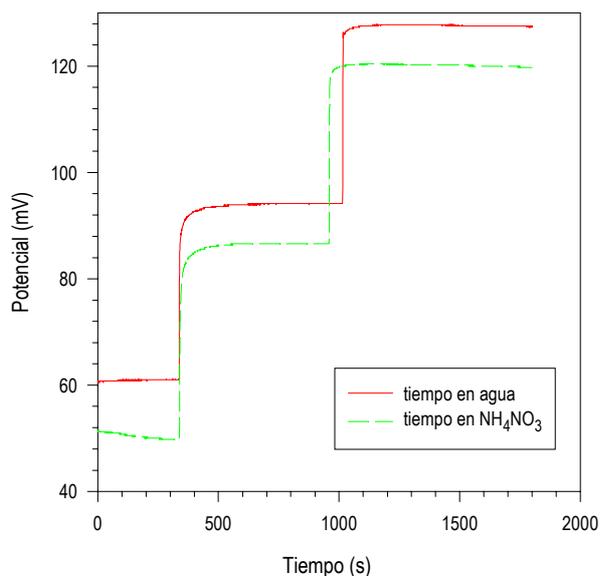


Figura 5.12: Tiempo de respuesta membrana M4/DOS.

5.5 INFLUENCIA DEL PH

La metodología utilizada ha consistido en variar el pH del medio por adición de una base a una disolución que contiene una concentración de 10^{-3} M en Pb^{2+} . Utilizamos HNO_3 para fijar el pH inicial alrededor de 2 y sucesivas adiciones de $NaOH$ para incrementar el pH. Teóricamente la membrana debe responder únicamente a la cantidad de plomo libre que hay en el medio (cantidad constante) por lo que el potencial debería mantenerse constante. En la práctica el potencial de las membranas depende del pH del medio, ya que éste altera la concentración del analito en el medio debido a la formación de hidroxocomplejos o hidróxidos insolubles. A partir de los resultados obtenidos se determinará el intervalo de trabajo útil representando el potencial en función del pH.

5.5.1 Membrana M1/o-NPOE

Al analizar el gráfico que se muestra a continuación (Figura 5.13) concluimos que a valores bajos de pH los electrodos experimentan un aumento de potencial. Los electrodos muestran una dependencia respecto al pH debido a que la membrana está respondiendo al protón, esto puede deberse básicamente a dos causas, en primer lugar a la interacción del ionóforo con el protón del medio o podría ser consecuencia de la interacción con el protón de las impurezas contenidas en el PVC [15,16]. Observamos como, a medida que vamos añadiendo NaOH, el potencial va disminuyendo, ya que desaparece la especie H^+ . A valores de pH superiores a 6 se observa una disminución del potencial como consecuencia de la desaparición de la especie Pb^{2+} , consumida en la formación de hidroxocomplejos y la posterior precipitación del hidróxido de plomo. El incremento de potencial observado entre pH 4 y 6 podría estar provocado por la adición de ion sodio (NaOH) que actuaría como ion interferente. Observamos como en esta membrana no existe una zona claramente definida donde el potencial se estabilice a medida que varia el pH del medio.

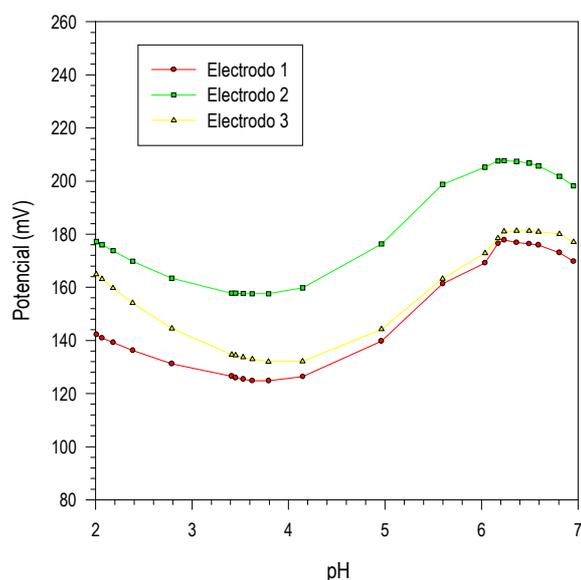


Figura 5.13: Variación del Potencial en función del pH, Membrana M1/o-NPOE.

5.5.2 Membrana M1/DOS

Los resultados obtenidos con estos electrodos muestran un comportamiento similar al anterior. Se observa (Figura 5.14) como a valores bajos de pH el potencial aumenta por la misma causa descrita anteriormente, pero si observamos en el gráfico, este incremento del potencial es superior que el obtenido en el caso anterior. A valores por encima de pH 6 el potencial disminuye ya que desaparece la especie Pb^{2+} .

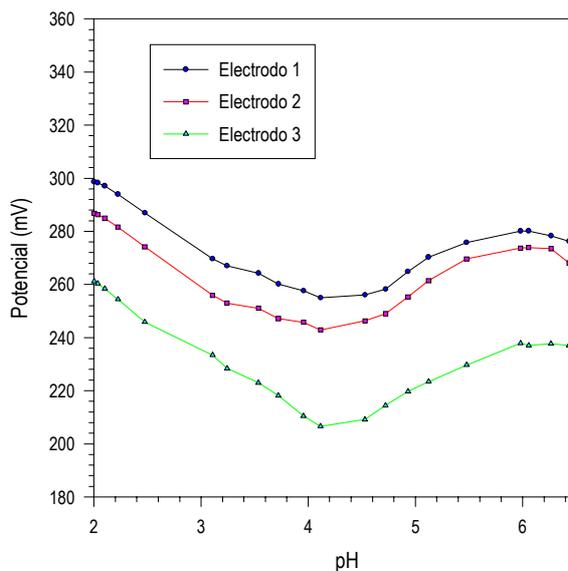


Figura 5.14: Variación del Potencial en función del pH, Membrana M1/o-DOS.

5.5.3 Membrana M2/o-NPOE

Los resultados experimentales obtenidos quedan reflejados en la Figura 5.15, donde puede observarse la fuerte dependencia de este ionóforo con el pH en el intervalo de 2-4. Se observa, sin embargo, un estrecho rango de pH donde el potencial se mantiene constante (5-6), a pH superiores a 6 el potencial comienza a disminuir como resultado de la desaparición de la especie Pb^{2+} . Los estudios realizados han demostrado que la influencia del pH en estos electrodos es mucho mayor que en el caso de los electrodos preparados con el ionóforo M1 con ambos plastificantes.

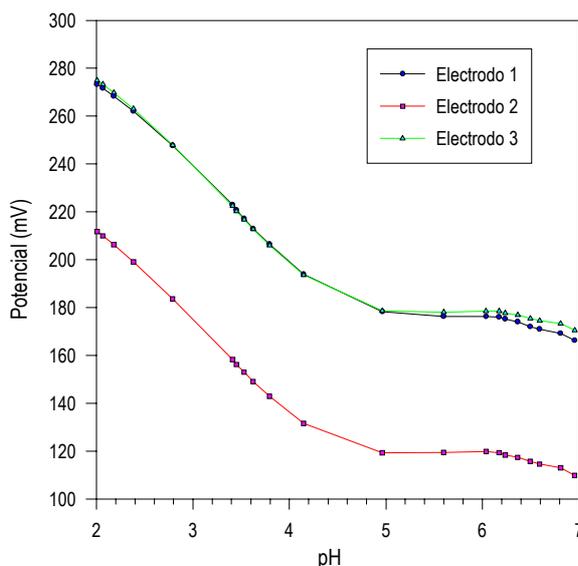


Figura 5.15: Variación del Potencial en función del pH, Membrana M2/o-NPOE.

5.5.4 Membrana M2/DOS

Un resultado similar se obtiene con el mismo ionóforo, pero utilizando DOS como plastificante. Se produce un incremento drástico del potencial a valores bajos de pH. Este aumento, como ya se mencionó con anterioridad, se debe a la respuesta de los electrodos al ion H^+ . En este caso se observa una cierta estabilización del potencial entre 4-6 antes de comenzar a disminuir el potencial como consecuencia de la desaparición del plomo libre.

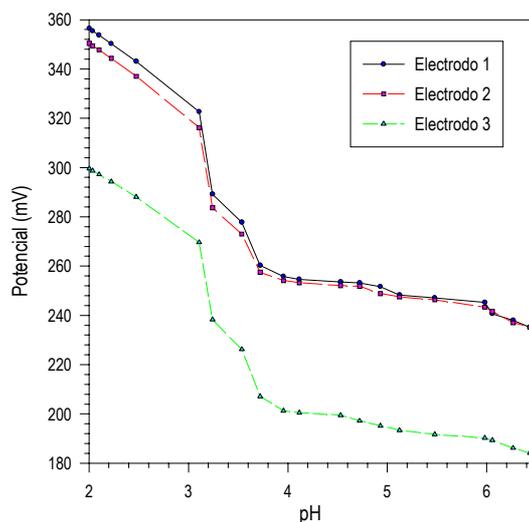


Figura 5.16: Variación del Potencial en función del pH, Membrana M2/DOS.

5.5.5 Membrana M3/o-NPOE

El intervalo de trabajo útil de esta membrana se encuentra en el intervalo de 3.5-6. A valores inferiores a 3 se observa un incremento del potencial, por las mismas causas explicadas al inicio de este apartado. Se observa como a valores superiores a 6, el potencial disminuye debido a la desaparición del Pb^{2+} .

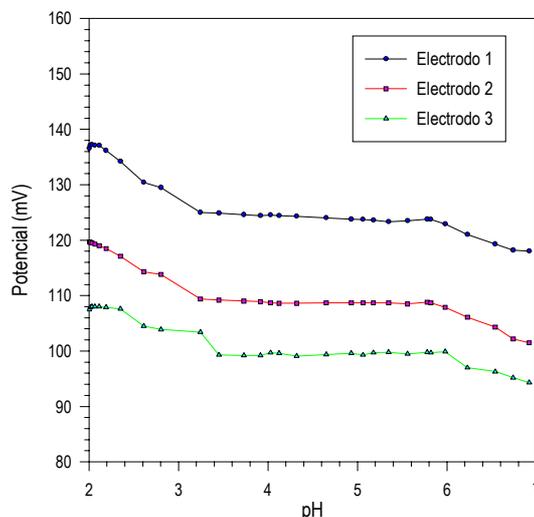


Figura 5.17: Variación del Potencial en función del pH, Membrana M3/o-NPOE.

5.5.6 Membrana M4/DOS

En la Figura 5.18 observamos que el intervalo de pH útil de este ionóforo es de 3-6.5. Valores por debajo de 3 indican una respuesta de los electrodos al ion H^+ , pero, como se puede apreciar en el gráfico, el incremento de potencial por debajo de 3 es mucho menor que en el caso anterior. Esto demuestra que la influencia del protón en los electrodos construidos con este ionóforo es menor. También se concluye la mayor estabilidad del pH de estos electrodos, observándose gran similitud entre los tres electrodos de esta familia.

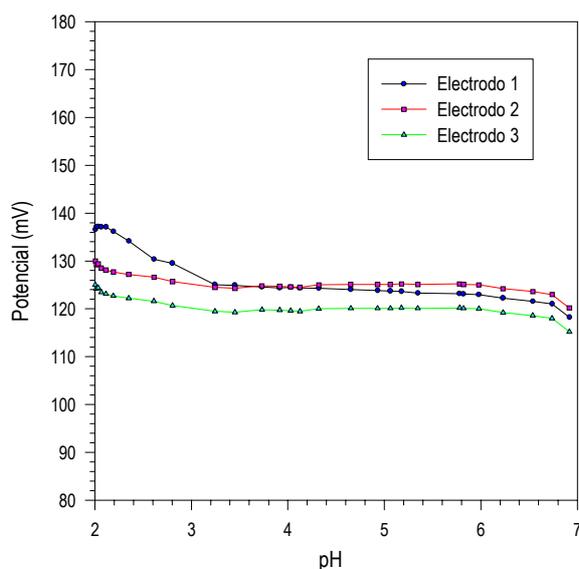


Figura 5.18: Variación del Potencial en función del pH, Membrana M4/DOS.

5.6 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS Y CONCLUSIONES

A partir de la caracterización efectuada de las seis membranas en estudio, se procedió a seleccionar las más adecuadas para realizar estudios preliminares en un sistema de análisis por inyección en flujo (FIA). Para la elección entre las seis membranas se realizará un análisis global de todos los resultados obtenidos.

Después de realizar, con cada uno de los electrodos estudiados, un gran número de calibrados, análisis de interferencias, tiempo de vida, etc., se generan irregularidades en la membrana sensora, debido a los procesos superficiales que tiene lugar en los electrodos selectivos de iones. Al final del estudio, las membranas muestran poros en su superficie y adquieren una coloración oscura. Recién preparadas, la superficie de las membranas es lisa y transparente (coloración amarillenta para el O-NPOE e incolora para el DOS). Estas diferencias en el aspecto reflejan de alguna manera el desgaste debido al uso de los ESIs y seguramente son las responsables de la pérdida de las características sensoras de los electrodos. Tomando como criterio la sensibilidad, el límite de detección, el LIRL y el tiempo de vida, el orden de preferencia fijado es el siguiente:

$$M1/o\text{-NPOE} \sim M1/DOS \sim M4/DOS > M2/o\text{-NPOE} \gg M3/o\text{-NPOE} \gg M2/DOS$$

La membrana M2/DOS va perdiendo sensibilidad a lo largo del tiempo, hecho que queda reflejado en los valores de los parámetros B_1 , B_3 , C y el LIRL en las diferentes etapas del estudio realizado (ver Tabla 5.5 y Figura 5.19 (a)). La membrana M3/o-NPOE tiene una etapa (ver Tabla 5.6 y Figura 5.19 (b)) en la cual los electrodos pierden sensibilidad y posteriormente se recuperan. Este resultado nos ha llevado a descartar esta membrana para futuros estudios.

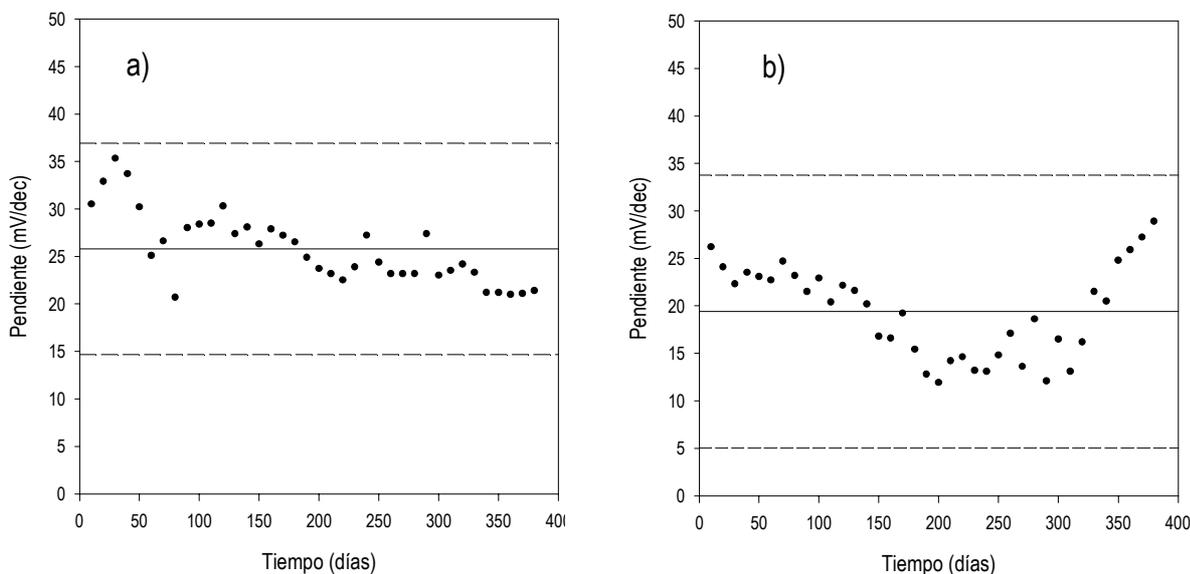


Figura 5.19: Evolución de la sensibilidad de los electrodos en función del tiempo transcurrido. (a) Membrana M2/DOS; (b) Membrana M3/o-NPOE.

Teniendo en cuenta el tiempo de respuesta, las membranas siguen el siguiente orden:

medio H_2O : $M2/o\text{-NPOE} \sim M1/DOS > M1/o\text{-NPOE} > M4/DOS > M3/o\text{-NPOE} \gg M2/DOS$

medio NH_4NO_3 : $M1/o\text{-NPOE} \sim M3/o\text{-NPOE} > M2/o\text{-NPOE} > M1/DOS > M4/DOS \gg M2/DOS$

Los resultados obtenidos del tiempo de respuesta nos permiten descartar totalmente a la membrana M2/DOS, ya que los electrodos preparados con esta membrana tienen un tiempo de respuesta muy lento. La utilización de una membrana con una respuesta lenta en FIA puede conducir a problemas cinéticos y a un consumo mayor de reactivos. También es importante comentar que a pesar de que las membranas M1/DOS y M2/o-NPOE tienen un tiempo de respuesta rápido en medio agua, el potencial no se mantiene estable después de provocados los dos saltos de actividad, observándose una ligera tendencia a disminuir.

Si hacemos un análisis de la influencia del pH tenemos que todas las membranas son más o menos sensibles al pH. Solo las membranas M3/o-NPOE y M4/DOS presentan una zona perfectamente definida de estabilización del potencial en función del pH. El resto de las membranas no tienen una zona de potencial estable, de aquí que fijemos el siguiente orden, que comienza por la menos influenciada por el pH:

M4/DOS > M3/o-NPOE > M1/o-NPOE > M1/DOS > M2/o-NPOE > M2/DOS

Al analizar los resultados de la influencia de especies interferentes en la determinación del ion Pb^{2+} , encontramos que no existen diferencias apreciables que nos permitan hacer una selección de una membrana con respecto a otra. Cabe señalar que la membrana M4/DOS presenta una elevada interferencia de cadmio y que la membrana M3/o-NPOE sufre un envenenamiento irreversible en presencia de ion plata [1], de ahí que sea imposible la determinación del ion plomo cuando está presente la plata.

Después de realizado este estudio comparativo y auxiliándonos de los resultados obtenidos, extraemos como conclusión que las membranas M1/o-NPOE y M4/DOS serán las más adecuadas para construir los sensores que integraremos en los sistemas de flujo continuo.

Referencias bibliográficas

- [1] S. Kamata, K. Onoyama. *Anal. Chem.*, **63** (1991) 1295.
- [2] T. Sokalski, A. Ceresa. T. Zwickl, E. Pretsch. *J. Am. Chem. Soc.*, **119** (1997) 11347.
- [3] M. Lerchi. E. Bakker. B. Rusteholz. W. Simon. *Anal. Chem.*, **64** (1992) 1534.
- [4] P. Bühlmann, S. Yajima, K. Tohda, K. Umezawa, S. Nishizawa, Y. Umezawa. *Electroanalysis*, **7** (1995) 811.
- [5] H. Iwamoto, T. Sonoda, H. Kobayashi. *Tetrahedron Letters*, **24** (32) (1983) 4703.
- [6] F. Behm, D. Ammann. W. Simon. *Helv. Chim. Acta*, **68** (1985) 110.
- [7] P. Gehring, W. E. Morf, E. Pretsch, W. Simon. *Helv. Chim. Acta.*, **73** (1990) 203.
- [8] D. Ammann. *Ion-Selective Microelectrodes. Principles, design and application* (1986) Cap. 4.
- [9] A. Borracino, L. Campanella, M. P. Sammartino, M. Battilotti. *Sensor & Actuators*, **B7** (1992) 535.
- [10] C. Maccá. *Anal. Chim. Acta.*, **321** (1996) 1.
- [11] E. Bakker. *Electroanalysis*, **9** (1) (1997).
- [12] P. Gruendler. *Anal. Lett, Part A*, **14** (1981) 163.
- [13] T. J. King, P. G. Harrison. *J. C. S. Chem. Comm.*, **815** (1972).
- [14] N. Tavakkoli, Z. Khojasteh, H. Sharghi, M. Shamsipur. *Anal. Chim. Acta*, **360** (1-3) (1998) 203.
- [15] A. van der Berg, P. van der Wal, M. Skowronska-Ptasinska. *Anal. Chem.*, **59** (23) (1987).
- [16] A. Hodinár, A. Jyo. *Anal. Chem.*, **61** (1989) 1169.