

6 INTEGRACIÓN DE LOS ELECTRODOS DE CONFIGURACIÓN TUBULAR EN UN SISTEMA DE INYECCIÓN EN FLUJO (FIA)

Como ya hemos mencionado los sistemas de flujo continuo y especialmente los basados en la técnica FIA han aportado una serie de ventajas a los análisis de control rutinarios, debido a que posibilitan el diseño de sistemas robustos, simples y altamente reproducibles para el análisis rápido de un gran número de muestras a bajo coste. Estos sistemas vienen caracterizados por una serie de variables hidrodinámicas que afectan a la señal analítica obtenida y que por tanto deben ser optimizadas. Estas variables son: el caudal, la longitud de los tubos, la composición de la disolución acondicionadora y el volumen de muestra inyectada en el sistema.

Debido a que el objetivo de este trabajo es el desarrollo de un sistema FIA para la monitorización del ion plomo, que incorpore ESIs como detectores, este capítulo trata de la optimización de las variables hidrodinámicas antes mencionadas y de otros parámetros importantes como la influencia de especies interferentes, el tiempo de vida del dispositivo sensor, la repetitividad y la reproducibilidad. Inicialmente se seleccionan para el sistema FIA las dos membranas (M1/o-NPOE y M4/DOS) que ofrecieron los mejores resultados en la evaluación en discontinuo (ver Capítulo 5).

6.1 OPTIMIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL SISTEMA FIA DIRECTO PARA LA DETERMINACIÓN DEL ION PLOMO

En primer lugar se diseñó un sistema de flujo sencillo de configuración monocanal (sistema de la Figura 3.8 adaptado a configuración monocanal) donde los valores de cada una de las variables (volumen de inyección, caudal, disolución portadora etc.) se escogen de manera arbitraria y se utilizan los electrodos basados en la membrana M4/DOS. En este sistema la muestra es inyectada en una disolución portadora que la transporta hacia el detector y genera una señal como resultado del cambio de concentración del ion principal (pico positivo). No obstante la existencia de variaciones en la fuerza iónica/conductividad entre la disolución portadora y los patrones de plomo puede generar una respuesta en sentido contrario al del analito. Por ello cuando tenemos una baja concentración salina en la muestra respecto al fondo iónico utilizado en la disolución portadora se obtienen picos deformados, tal y como los que aparecen en la Figura 6.1. La señal tiene sentido negativo en comparación con un pico FIA normal del analito y esta deformación del pico es más acusada cuando la concentración del analito es más baja y el volumen de inyección más pequeño. Se concluye entonces que el diseño monocanal no es el más adecuado para nuestros propósitos.

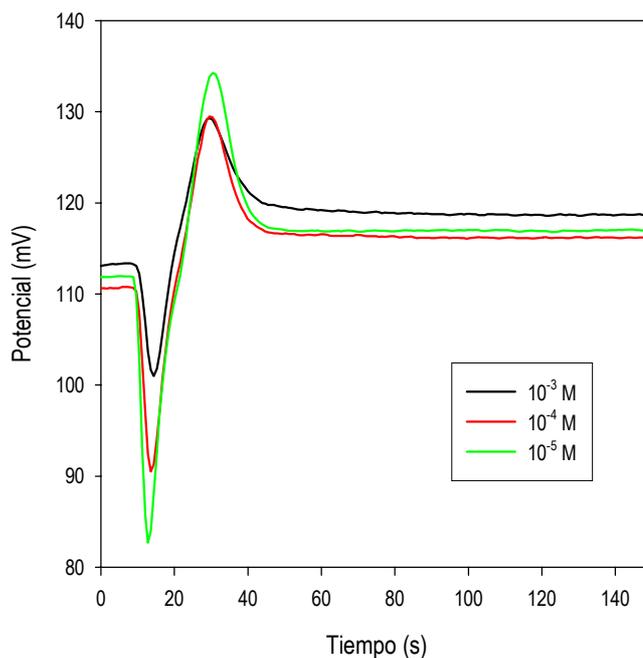


Figura 6.1: Respuesta de un electrodo que contiene la membrana M4/DOS en un sistema monocanal y un volumen de inyección de 300 μl de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ a diferentes concentraciones; disolución portadora NaNO_3 10^{-2} M.

Este problema de deformación de los picos se podría solucionar ajustando la fuerza iónica de los patrones hasta eliminar las variaciones de conductividad entre la disolución portadora y las muestras, pero esta solución no sería aplicable cuando en las muestras se desconozca la composición real de la matriz.

Se decide entonces el diseño de un sistema de flujo de configuración bicanal (ver Figura 3.8) que evite los posibles problemas generados como consecuencia de cambios bruscos de fuerza iónica y conductividad. De esta manera al sensor le llegará una mezcla de dos canales, uno donde se realiza la inyección (H_2O Mili-Q) y otro donde se encuentra la disolución acondicionadora encargada de ajustar la fuerza iónica y el pH de muestras y patrones.

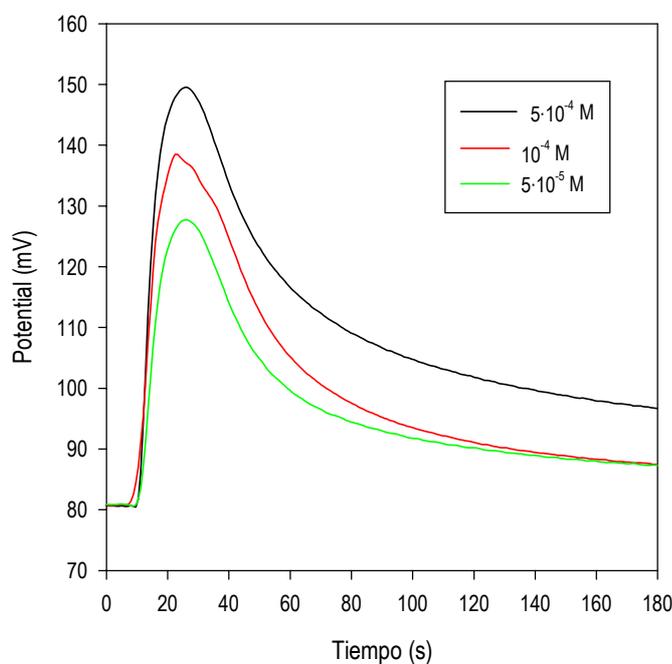


Figura 6.2: Registros de la señal obtenida después de introducir un canal de ajuste de fuerza iónica y conductividad del sistema. Solución acondicionadora NaNO_3 10^{-2} M y solución portadora H_2O Mili-Q, bucle de inyección $300 \mu\text{l}$.

La Figura 6.2 muestra que la introducción de este segundo canal soluciona el problema observado en cuanto a fuerza iónica/conductividad. A continuación se procede a estudiar las variables que caracterizan nuestro sistema FIA en las nuevas condiciones experimentales.

6.1.1 Sistema FIA bicanal

En primer lugar se realiza una comprobación operativa de las membranas escogidas (M1/o-NPOE y M4/DOS) en un sistema de flujo de configuración bicanal (descrito en el apartado 3.6.1, Figura 3.8), para ello se utilizan disoluciones acondicionadoras que contienen iones poco interferentes (Na^+ , Ca^{2+} , etc) a un nivel de concentración lo suficientemente elevado para no tener problemas de fuerza iónica.

Los resultados experimentales demuestran (ver Figura 6.3) que existe una marcada diferencia en la respuesta obtenida con las dos membranas en estudio. Se observa como la membrana M4/DOS experimenta saltos de potencial acusados al introducir secuencialmente disoluciones de concentración 10^{-4} M y 10^{-3} M de ion plomo. Estas disoluciones se mezclan con una disolución acondicionadora de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 10^{-2} M, a $\text{pH}=4$ antes de llegar al detector. Por el contrario, la membrana M1/o-NPOE apenas detecta estas variaciones. Al introducir los electrodos basados en esta membrana en el sistema de flujo sólo se observan variaciones apreciables de la señal para patrones con concentraciones elevadas de plomo. Este comportamiento también se observó utilizando disoluciones acondicionadoras de TRIS 10^{-2} M, NaNO_3 10^{-2} M, NH_4NO_3 10^{-2} M y $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 10^{-2} M. Esta falta de sensibilidad de la membrana M1/o-NPOE puede deberse a problemas cinéticos en la interfase membrana-disolución cuando se trabaja en condiciones hidrodinámicas de flujo. El resultado experimental nos sugiere que la difusión-extracción hacia la membrana de los iones presentes en la disolución acondicionadora parece estar más favorecido que la difusión-extracción del ion plomo.

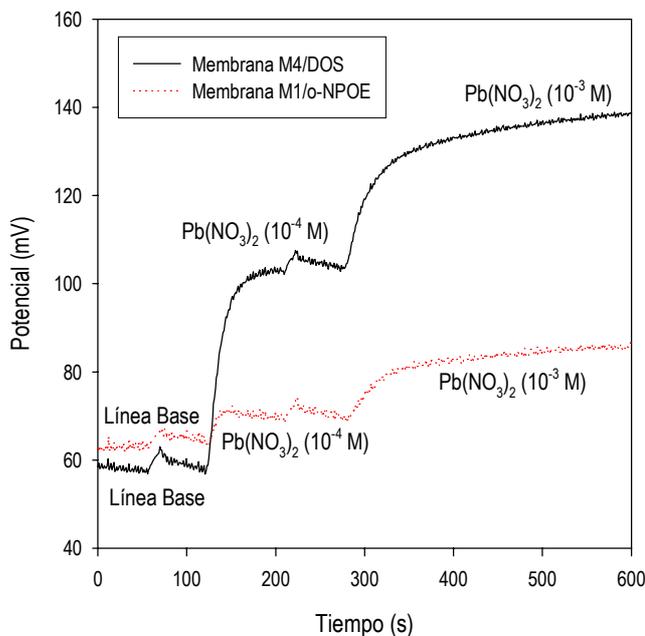


Figura 6.3: Comparación cualitativa de los incrementos de potencial de las membranas en estudio. Se utiliza una disolución acondicionadora de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 10^{-2} M, $\text{pH}=4$.

En consecuencia se descarta la membrana M1/o-NPOE de futuros estudios y a partir de este momento la optimización y la caracterización del sistema de flujo se realizarán únicamente utilizando la membrana que incorpora M4 como ionóforo y DOS como plastificante.

Disolución Acondicionadora

El primer estudio que se lleva a cabo en la optimización del sistema de flujo es la elección de la disolución acondicionadora. Esta disolución contiene básicamente un electrolito inerte a una elevada concentración y se usa para mantener la conductividad eléctrica entre el electrodo

indicador y el electrodo de referencia, ajustar la fuerza iónica de las muestras y minimizar, junto al electrodo de tierra, los potenciales de corriente que se puedan originar en el sistema de flujo. Desafortunadamente, los parámetros característicos de los electrodos, tales como el límite de detección o el intervalo de trabajo se verán afectados por la interferencia, que en la respuesta de la membrana, pueda ocasionar la elevada concentración del electrolito de fondo. Por este motivo es necesario utilizar sales de aquellos iones que provoquen menor interferencia, teniendo en cuenta que esta disolución estará en contacto permanente con la membrana sensora.

Para ello se ensayaron diferentes disoluciones acondicionadoras, entre las que podemos citar NaNO_3 $2 \cdot 10^{-2}$ M, pH=3-5; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ $2 \cdot 10^{-2}$ M, pH=4 y $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ $2 \cdot 10^{-2}$ M, pH=4. Tal y como se muestra en la Tabla 6.1 las mejores características de respuesta se obtuvieron al utilizar nitrato de magnesio. En todos los casos, la línea base se mantuvo estable y el tiempo de retorno a la línea base, después de la inyección, fue similar.

| SAL UTILIZADA EN LA DISOLUCIÓN ACONDICIONADORA | RANGO LINEAL (M) | LIMITE DE DETECCIÓN-C (M) | PENDIENTE-B (mv/déc) |
|--|-------------------------------|---------------------------|----------------------|
| NaNO_3 | $7 \cdot 10^{-6}$ - 10^{-2} | $5 \cdot 10^{-6}$ | 28.6 (2.2) |
| $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ | $2 \cdot 10^{-5}$ - 10^{-2} | 10^{-5} | 25.9 (2.5) |
| $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ | $6 \cdot 10^{-6}$ - 10^{-2} | $4 \cdot 10^{-6}$ | 28.2 (3.3) |

Tabla 6.1: Parámetros de calibración obtenidos utilizando diferentes disoluciones acondicionadoras ($C= 2 \cdot 10^{-2}$ M, pH=4). Los valores en paréntesis corresponden a la desviación estándar absoluta de tres electrodos diferentes y tres calibrados por electrodo.

Caudal y Volumen de Inyección

El caudal y el volumen de inyección son dos de los parámetros a estudiar para obtener unas condiciones operativas óptimas de los sistemas de flujo. En nuestro estudio se ha optado por que los caudales de las disoluciones acondicionadora y portadora (agua Mili-Q) sean iguales. Así, se evitarán los problemas de homogeneidad que puedan surgir como resultado de una mezcla inadecuada de ambas disoluciones. Como consecuencia de esto, la muestra inyectada llegará al detector diluida a la mitad.

En la Figura 6.4 se muestra la influencia del caudal en la señal cuando se varia éste entre 0.5 y 3 ml/min inyectando 3 volúmenes diferentes de una disolución 10^{-4} M $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Se observa que para los tres volúmenes de muestras inyectados, la señal se incrementa a medida que aumenta el caudal pasando por un valor máximo de 1.2 ml/min y posteriormente la señal comienza a disminuir.

Para interpretar estos resultados hay que tener en cuenta que el tiempo de respuesta del electrodo depende fundamentalmente de dos factores, por una parte del grosor de la capa de difusión

existente entre el seno de la disolución de trabajo y la superficie de la membrana y por otra de la cinética de la reacción de intercambio en la superficie de la membrana.

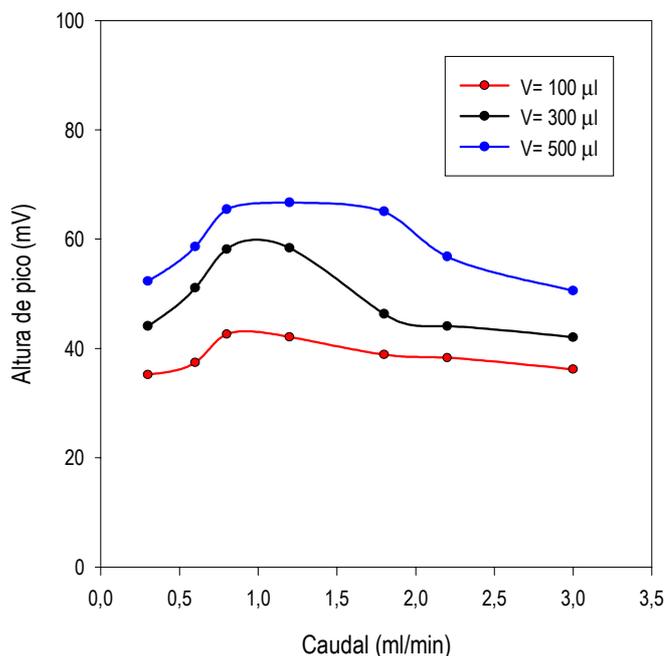


Figura 6.4: Variación de la señal medida al variar el caudal, inyectando diferentes volúmenes de muestra 10^{-4} M de $Pb(NO_3)_2$.

En los electrodos de configuración tubular, un incremento en la velocidad de flujo (caudal) provoca una reducción del grosor de la capa de difusión adyacente a la membrana, como consecuencia de esto, el tiempo de difusión del analito desde la disolución hacia la superficie de la membrana se reduce y se incrementa la señal hasta un valor máximo. En este momento, el tiempo de respuesta está controlado por la cinética de intercambio en la superficie de la membrana. Por otra parte, cuando el caudal se incrementa excesivamente, el tiempo de interacción entre el analito y la membrana se reduce, disminuyendo de esta manera la señal que se obtiene. El caudal al cual se puede observar este fenómeno dependerá también del volumen de muestra y de la cinética de intercambio.

En la Figura 6.5 se muestra el efecto que provoca el volumen de inyección en la señal medida. La experiencia consiste en ir variando el volumen de inyección, midiendo por triplicado una muestra de 10^{-4} M de $Pb(NO_3)_2$ y registrando las alturas de pico correspondientes. Podemos observar que la altura del pico se incrementa cuando aumentamos el volumen de muestra hasta que se alcanza el estado de equilibrio (*steady-state*) o estabilización del potencial (dispersión nula). Esto sucede para un volumen inyectado de 800 µl.

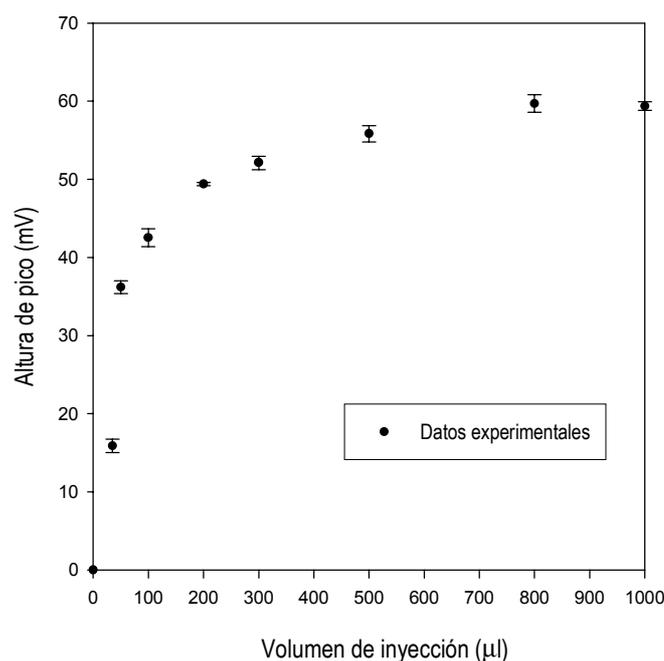


Figura 6.5: Variación de la señal respecto al volumen de inyección de un patrón de 10^{-4} M de $Pb(NO_3)_2$ a un caudal de 1.2 ml/min.

A partir de la Figura 6.5 y llegando a un compromiso entre los requerimientos de un tiempo de análisis mínimo y una señal adecuada, se escoge 200 μ l como el volumen óptimo para futuras experiencias. En estas condiciones se alcanza un 83 % del valor final de estabilización sin que ello alargue excesivamente el tiempo de análisis.

En la tabla Tabla 6.2 se resumen las variables del sistema FIA seleccionadas finalmente para la determinación del ion Pb^{2+} .

| VARIABLES | CONDICIONES |
|----------------------------|---|
| Disolución Portadora | Agua Mili-Q |
| Disolución acondicionadora | $Mg(NO_3)_2$ ($2 \cdot 10^{-2}$ M, pH=4) |
| Caudal Total | 2.4 (1.2+1.2) ml/min |
| Volumen de Inyección | 200 μ l |

Tabla 6.2: Variables optimizadas del sistema FIA.

6.1.2 Características de respuesta en el sistema FIA

En este apartado se describirán los resultados obtenidos al trabajar con el sistema FIA de configuración bicanal optimizado. La Figura 6.6 muestra un registro de los picos y un calibrado obtenido con el sistema FIA en las condiciones óptimas de trabajo establecidas.

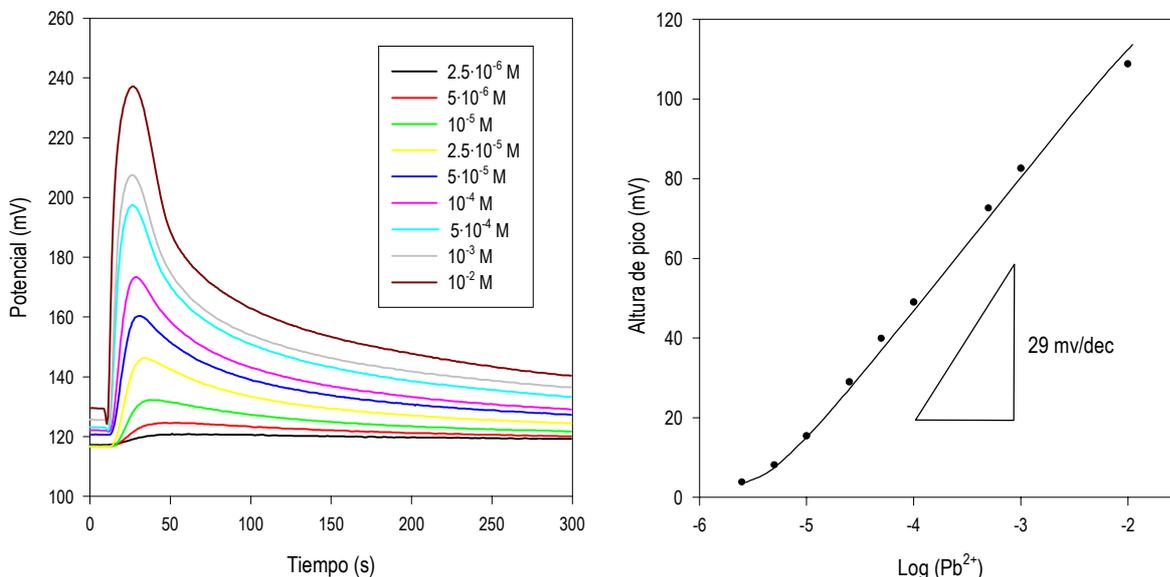


Figura 6.6: Registro de los picos y curva de calibrado obtenida con la membrana M4/DOS en condiciones óptimas. El triángulo representa la pendiente teórica de Nernst para un ion divalente.

| PARÁMETROS DE CALIBRACIÓN* | |
|-----------------------------------|--------------------------------------|
| Pendiente-B (mV/déc) | 28.4±2 |
| Intervalo lineal de respuesta (M) | 6·10 ⁻⁶ -10 ⁻² |
| Límite de detección-C (M) | 4·10 ⁻⁶ (4 %) |
| Límite de detección (ppm) | 0.82 |
| Número de calibrados | 15 |
| r ² | 0.9995 |

Tabla 6.3: Parámetros de calibración obtenidos. La sensibilidad va acompañada de su intervalo de confianza al 95 %, la C o límite de detección va acompañado de la desviación estándar relativa. * Regresión no lineal.

Si establecemos una comparación entre las características de respuesta de esta membrana en FIA (Tabla 6.3) y en electrodos de configuración convencional (ver Tabla 5.7, capítulo 5), notaremos que se ha producido una ligera disminución de la pendiente que se puede atribuir a la realización de las medidas en condiciones dinámicas de flujo [3]. Por otra parte el límite de detección aumenta en estas condiciones como consecuencia de la elevada concentración de electrolito de fondo con la que estamos trabajando.

6.1.3 Evaluación de Interferencias

En este apartado, al igual que en la caracterización de los electrodos en configuración convencional, se hace un estudio de la interferencia de algunas especies comunes en la determinación del ion principal.

En primer lugar se hizo un estudio cualitativo para estimar la influencia de cada especie y posteriormente se calculó la K_{pot} utilizando el método de las disoluciones mezcladas (ver apartado 4.3.4).

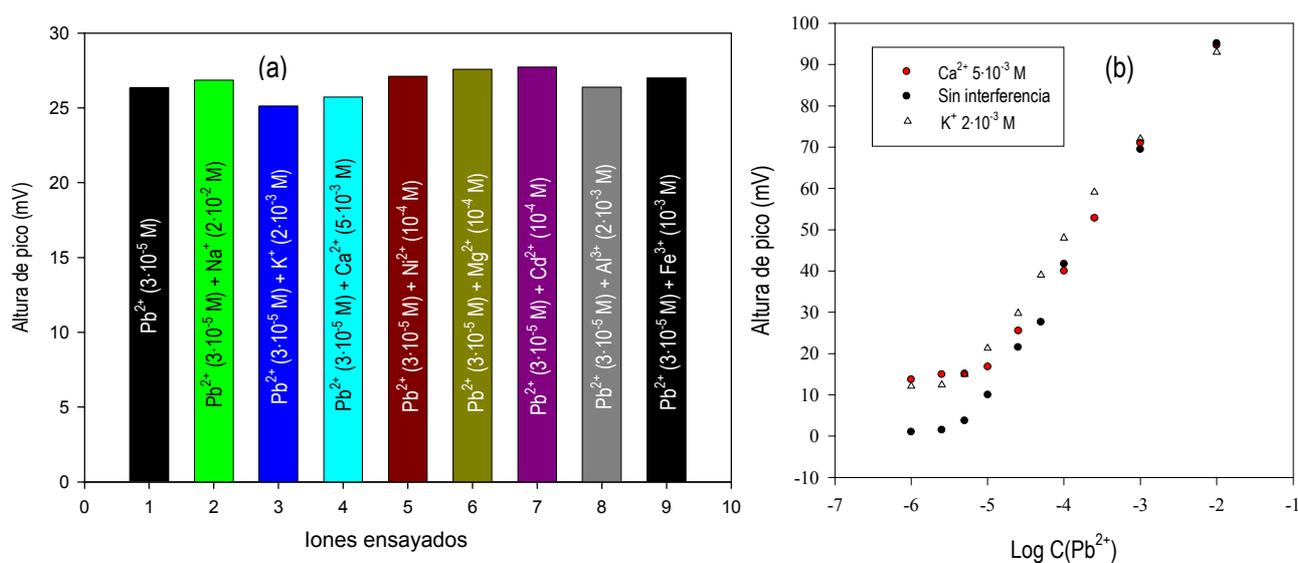


Figura 6.7: (a) Evaluación cualitativa de la influencia de algunas especies interferentes en la respuesta del electrodo; (b) Calibrado comparativo sin interferencia y en presencia de dos iones interferentes.

Del gráfico de la Figura 6.7 (a) se puede extraer información cualitativa de la influencia de algunas especies interferentes en la respuesta al ion Pb^{2+} . Se observa que los iones evaluados apenas interfieren en la respuesta del electrodo (al nivel de concentración ensayado). Si comparamos la señal del plomo solo ($3 \cdot 10^{-5}$ M) con la del plomo más las especies interferentes, podemos concluir que la señal del electrodo en presencia de interferentes es prácticamente la misma que la obtenida cuando sólo hay de plomo en la disolución. En la Figura 6.7 (b) se hace una representación comparativa de calibrados sin y con especies interferentes (calcio y potasio), demostrándose que los parámetros característicos del electrodo apenas varían lo cual demuestra la escasa interferencia que ocasionan estos iones.

En este estudio también realizamos una evaluación de la K_{pot} (Tabla 6.4), siguiendo la metodología descrita en el capítulo 5. Los resultados coinciden prácticamente en todos los casos con los obtenidos en la evaluación en configuración convencional (ver apartado 5.3, Tabla 5.13).

| Iones | z_j | [J] (M) | $\text{Log } K_{\text{Pb}^{2+},j}^{\text{Pot}}$ |
|------------------|-------|---------|---|
| Na ⁺ | 1 | 0.02 | -3.00 |
| K ⁺ | 1 | 0.002 | -3.12 |
| Ca ²⁺ | 2 | 0.005 | -2.94 |
| Mg ²⁺ | 2 | 0.001 | -3.85 |
| Zn ²⁺ | 2 | 0.0001 | -3.10 |
| Ni ²⁺ | 2 | 0.0001 | <-4 |
| Cu ²⁺ | 2 | 0.0001 | -2.45 |
| Co ²⁺ | 2 | 0.0001 | <-4 |
| Cd ²⁺ | 2 | 0.0001 | 0.6 |
| Al ³⁺ | 3 | 0.002 | <-4 |
| Fe ³⁺ | 3 | 0.001 | <-4 |

Tabla 6.4: Coeficientes de selectividad potenciométricos.

En la Tabla 6.4 se observa que los iones monovalentes, o iones como el calcio y el magnesio no provocan interferencia en la respuesta del plomo. Por otra parte la mayoría de los metales de transición evaluados tampoco interfieren en la respuesta, con la excepción del cobre y el cadmio, que tal y como comprobamos en la evaluación de los electrodos en configuración convencional, provocan una interferencia ligera en el caso del cobre y muy acusada en el caso del cadmio al nivel de concentración que se ha evaluado. Por este motivo se investiga con mayor profundidad la respuesta de los electrodos en presencia de plomo y cadmio simultáneamente (ver apartado 6.1.5).

6.1.4 Tiempo de vida y reproducibilidad del sistema de medida

Con el objetivo de evaluar el tiempo de vida operativo de los electrodos desarrollados, se siguió la evolución en función del tiempo de parámetros importantes como el límite de detección y la sensibilidad de los electrodos. En nuestro caso se decide que cuando la sensibilidad del electrodo decrezca en un 20 % y el límite de detección se duplique es necesario cambiar el electrodo. La Figura 6.8 muestra, para dos unidades de electrodos, como evolucionan estos parámetros durante el período de estudio y se observa como ambos parámetros permanecen prácticamente invariables durante aproximadamente 7 meses.

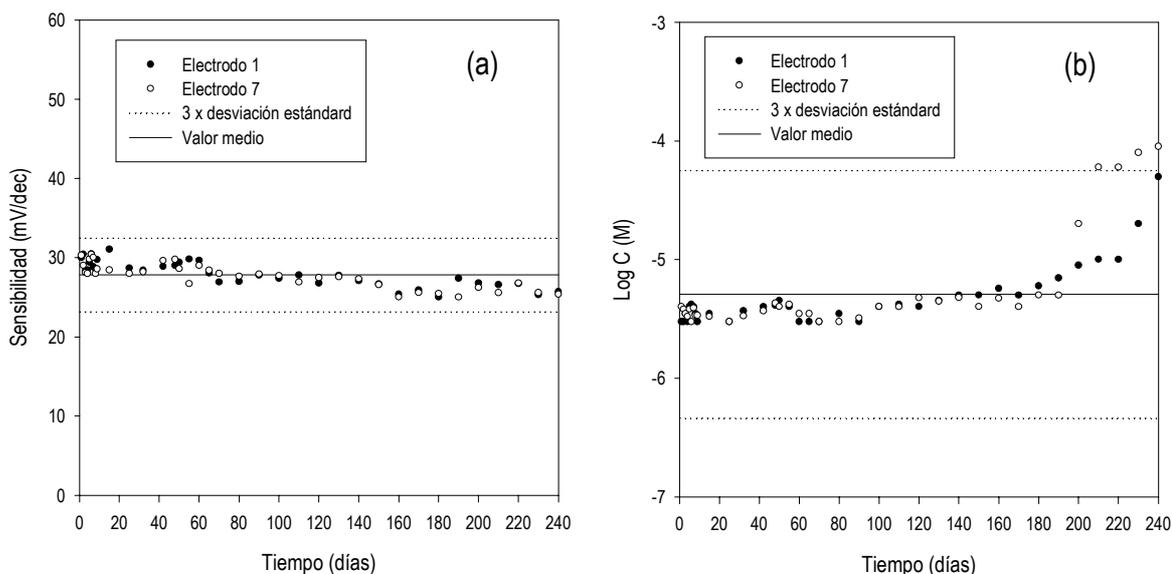


Figura 6.8: (a) Variación de la sensibilidad a lo largo del tiempo; (b) Variación del logaritmo del límite de detección. En ambos gráficos se muestran dos unidades de electrodos preparados en días diferentes.

A partir de ese momento, el aumento del límite de detección y la disminución de la sensibilidad a lo largo del tiempo (Figura 6.8) son indicativos de la degradación de la respuesta de los dispositivos sensores. La degeneración de estos parámetros nos indica la necesidad de reemplazar el sensor por uno nuevo.

Aprovechando que la configuración tubular de los electrodos no distorsiona las características hidrodinámicas del flujo que los atraviesa, se han insertados dos electrodos secuencialmente para estudiar la existencia de diferencias significativas entre los resultados suministrados por cada uno de ellos. En la Tabla 6.5 se reflejan dos de las características de respuesta obtenidas para ambos electrodos en función del tiempo.

Considerando que ambos electrodos fueron evaluados en las mismas condiciones experimentales se decide realizar una prueba t por parejas, analizando la diferencia existente entre cada par de resultados. Esta comparación estadística nos permitirá comprobar si existen o no diferencias significativas entre las pendientes y los límites de detección obtenidos con los dos electrodos, verificando si la media de las diferencias entre ambos electrodos difiere significativamente de cero. En la Tabla 6.6 se representan las operaciones efectuadas en la comparación de ambos electrodos.

| TIEMPO (DÍAS) | ELECTRODOS COMPARADOS | PENDIENTE-B (mV/déc) | Log LD-C (M) |
|---------------|-----------------------|----------------------|--------------|
| 1 | E-1 | 30.01 | -5.5229 |
| | E-2 | 30.30 | -5.3979 |
| 2 | E-1 | 30.40 | -5.5229 |
| | E-2 | 29.01 | -5.4202 |
| 3 | E-1 | 28.30 | -5.4559 |
| | E-2 | 28.11 | -5.4559 |
| 4 | E-1 | 28.43 | -5.5229 |
| | E-2 | 28.00 | -5.4815 |
| 5 | E-1 | 29.39 | -5.3979 |
| | E-2 | 29.82 | -5.4202 |
| 6 | E-1 | 30.45 | -5.3768 |
| | E-2 | 30.41 | -5.5229 |
| 7 | E-1 | 28.87 | -5.3979 |
| | E-2 | 30.00 | -5.4089 |
| 8 | E-1 | 28.59 | -5.4559 |
| | E-2 | 28.02 | -5.4685 |
| 9 | E-1 | 29.76 | -5.4685 |
| | E-2 | 28.53 | -5.4685 |
| 15 | E-1 | 31.06 | -5.4559 |
| | E-2 | 28.45 | -5.4815 |
| 25 | E-1 | 28.68 | -5.5229 |
| | E-2 | 28.02 | -5.5229 |
| 32 | E-1 | 28.40 | -5.4318 |
| | E-2 | 28.21 | -5.4763 |
| 42 | E-1 | 28.93 | -5.3979 |
| | E-2 | 29.60 | -5.4318 |
| 48 | E-1 | 29.01 | -5.3872 |
| | E-2 | 29.78 | -5.3665 |
| 50 | E-1 | 29.42 | -5.3478 |
| | E-2 | 28.61 | -5.3979 |
| 55 | E-1 | 29.38 | -5.3979 |
| | E-2 | 26.70 | -5.3768 |
| 60 | E-1 | 29.65 | -5.5229 |
| | E-2 | 29.00 | -5.4559 |
| 65 | E-1 | 28.03 | -5.5229 |
| | E-2 | 28.42 | -5.4559 |
| 70 | E-1 | 26.90 | -5.5229 |
| | E-2 | 28.01 | -5.5229 |

| TIEMPO (DÍAS) | ELECTRODOS COMPARADOS | PENDIENTE-B (mV/déc) | Log LD-C (M) |
|---------------|-----------------------|----------------------|--------------|
| 80 | E-1 | 27.02 | -5.4559 |
| | E-2 | 27.63 | -5.5229 |
| 90 | E-1 | 27.81 | -5.5229 |
| | E-2 | 27.90 | -5.4949 |
| 100 | E-1 | 27.43 | -5.3979 |
| | E-2 | 27.69 | -5.3979 |
| 110 | E-1 | 27.85 | -5.3768 |
| | E-2 | 26.92 | -5.3979 |
| 120 | E-1 | 26.86 | -5.3979 |
| | E-2 | 27.51 | -5.3206 |
| 130 | E-1 | 27.74 | -5.3468 |
| | E-2 | 27.36 | -5.3516 |
| 140 | E-1 | 27.06 | -5.3010 |
| | E-2 | 27.30 | -5.3188 |
| 150 | E-1 | 26.68 | -5.3010 |
| | E-2 | 26.61 | -5.3979 |
| 160 | E-1 | 25.40 | -5.2441 |
| | E-2 | 25.30 | -5.3279 |
| 170 | E-1 | 25.90 | -5.3010 |
| | E-2 | 25.56 | -5.3979 |
| 180 | E-1 | 25.01 | -5.2218 |
| | E-2 | 25.45 | -5.3010 |
| 190 | E-1 | 27.40 | -5.1549 |
| | E-2 | 25.03 | -5.3010 |
| 200 | E-1 | 26.80 | -5.0458 |
| | E-2 | 26.26 | -4.6990 |
| 210 | E-1 | 26.61 | -5.0000 |
| | E-2 | 25.61 | -4.2218 |
| 220 | E-1 | 26.76 | -5.0000 |
| | E-2 | 26.78 | -4.2218 |
| 230 | E-1 | 25.32 | -4.6990 |
| | E-2 | 25.61 | -4.0969 |
| 240 | E-1 | 25.78 | -4.3010 |
| | E-2 | 25.44 | -4.0458 |

Tabla 6.5: Evolución de los parámetros de respuesta de dos electrodos evaluados a lo largo del tiempo.

| MÉTODO ESTADÍSTICO | VALOR DE LOS PARÁMETROS (AL 95 %) | EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS DOS ELECTRODOS AL 95 % DE CONFIANZA? |
|--|--|--|
| Prueba t por parejas $t = \frac{\bar{x}_d}{\sqrt{n} \cdot s_d}$ | Pendiente: $t_{cal} = 1.816, t_{tab.} = 2.04; t_{cal} < t_{tab}$ | No |
| grados de libertad=35 | LD o C : $t_{cal} = -1.8, t_{tab.} = 2.04; t_{cal} < t_{tab}$ | No |

Tabla 6.6: Comparación estadística de la respuesta de dos electrodos.

Tal y como demuestran los resultados de la comparación estadística (Tabla 6.6) no se aprecian diferencias significativas entre los parámetros obtenidos para ambos electrodos, lo cual nos permite concluir que tanto la metodología de construcción y activación de los electrodos como la metodología de evaluación de los mismos es reproducible. Estos resultados demuestran la robustez de nuestros sensores y del sistema FIA en general. Este estudio comparativo también se realizó para otros electrodos evaluados en las mismas condiciones y los resultados obtenidos fueron similares.

La repetitividad del sistema se evalúa realizando sucesivas inyecciones de una misma muestra en un mismo día de trabajo. La Figura 6.9 muestra los resultados obtenidos al realizar treinta inyecciones de un patrón de $Pb(NO_3)_2$ de concentración $2.5 \cdot 10^{-5}$ M. La precisión de nuestro sistema expresada como RSD es del 3.5 % .

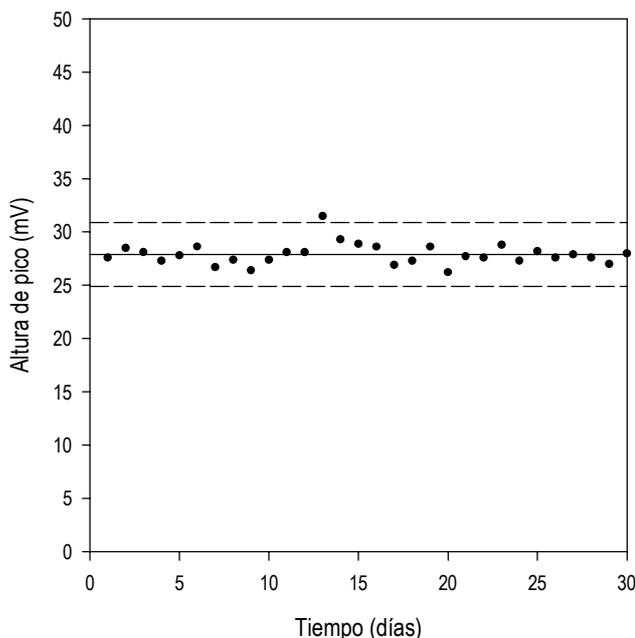


Figura 6.9: Evaluación de la reproducibilidad del sistema para una muestra de $2.5 \cdot 10^{-5}$ M en $Pb(NO_3)_2$.

Finalmente se evalúa la reproducibilidad del sistema a partir de diferentes ESIs construidos. Así para 7 electrodos evaluados durante 4 meses obtuvimos una pendiente media de 28.13 mV/déc con una desviación estándar relativa del 2.5 %. La frecuencia de muestreo del sistema FIA es de 20 muestras por hora (20 h⁻¹).

6.1.5 Estudio de la respuesta al ion cadmio con el ionóforo M4

Como mencionamos en el capítulo 5, un ionóforo muy similar al utilizado en esta memoria ha sido utilizado en la preparación de membranas selectivas al ion cadmio [4]. Por este motivo, y teniendo en cuenta la interferencia que causa el cadmio en la determinación del ion plomo, hemos considerado oportuno evaluar la respuesta de los sensores desarrollados frente al ion cadmio y comparar las características de respuesta con las obtenidas para plomo en las mismas condiciones.

En la Figura 6.10 se muestran las señales suministradas por el electrodo al analizar una disolución de idéntica concentración de iones cadmio y plomo así como, una disolución mixta de ambos iones. En el gráfico se puede apreciar la mayor sensibilidad al plomo frente al cadmio. No obstante, la respuesta al ion cadmio es lo suficientemente elevada como para que nuestro dispositivo sensor se pueda utilizar también como sensor de cadmio en estas condiciones. El registro mixto nos muestra el incremento de señal que se obtiene al pasar de una disolución que sólo contiene plomo (10⁻⁴ M) a una que además de plomo contiene una concentración 10⁻⁴ M de cadmio.

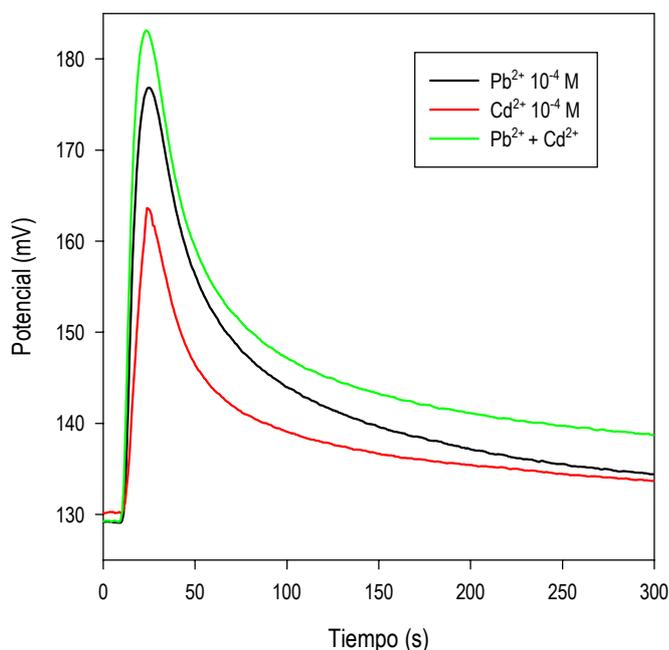


Figura 6.10: Comparación de señales entre disoluciones de plomo y cadmio únicamente y mezcla de ambos iones.

Esto confirma que podríamos utilizar este sensor para estimar las cantidades de plomo y cadmio en una muestra donde ambos iones estén presentes al mismo nivel de concentración. Generalmente, aquellas muestras naturales donde está presente el plomo, no contienen cadmio o existen bajos niveles de este elemento (como mínimo 100 veces menos). Por este motivo, dependiendo de la matriz donde se desee determinar el plomo, no tendremos problemas de interferencia en la señal por parte del cadmio. En la Figura 6.11 se muestra un calibrado mixto obtenido cuando las concentraciones de cadmio y plomo son las mismas. Los parámetros característicos de respuesta aparecen en la Tabla 6.7.

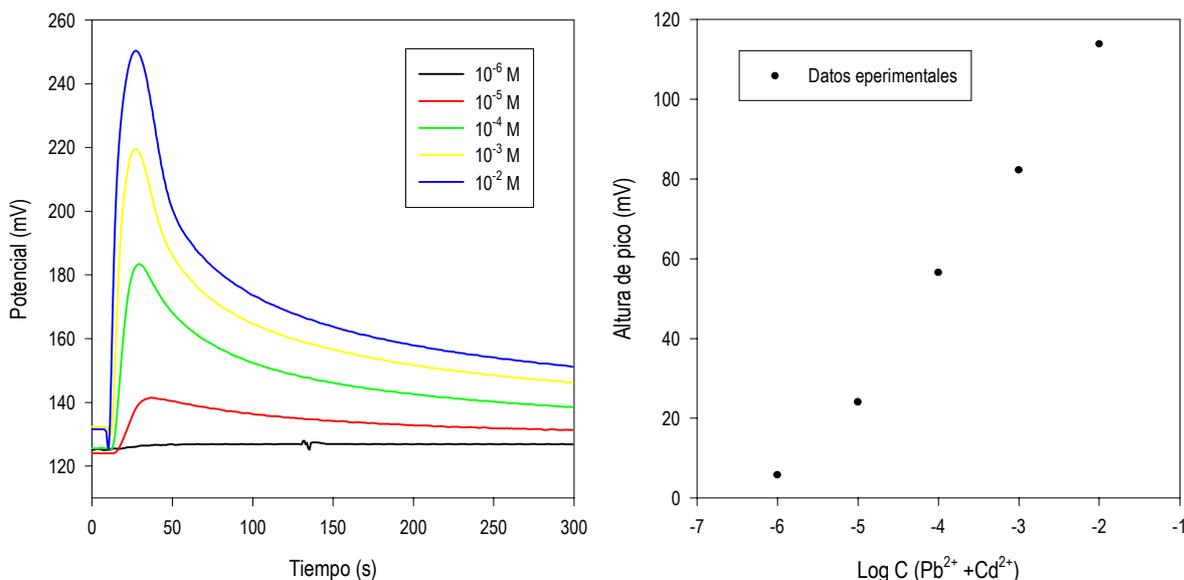


Figura 6.11: Registro de los picos y curva de calibrado obtenida con la membrana M4/DOS en presencia de disoluciones mezcladas de plomo y cadmio.

| PARÁMETROS DE CALIBRACIÓN* | |
|-----------------------------------|-------------------------------|
| Pendiente-B (mV/déc) | 33.8±3 |
| Intervalo lineal de respuesta (M) | $3 \cdot 10^{-6}$ - 10^{-2} |
| Límite de detección-C (M) | $2 \cdot 10^{-6}$ (4 %) |
| Número de calibrados | 3 |
| r^2 | 0.998 |

Tabla 6.7: Parámetros de calibración obtenidos (tres calibrados consecutivos). La sensibilidad va acompañada de su intervalo de confianza al 95 %, la C o límite de detección va acompañado de la desviación estándar relativa. * Regresión no lineal.

Si analizamos las características de respuesta obtenidas al realizar el calibrado mixto notamos que las mismas difieren muy poco de las obtenidas en el calibrado cuando solo hay plomo (ver Tabla 6.3), obteniéndose en el calibrado mixto una mayor sensibilidad y un menor límite de detección. Esto puede ser consecuencia de la falta de selectividad del sensor, el hecho de que el electrodo no sea capaz de distinguir entre ambos iones, provoca que en el calibrado mixto la respuesta del sensor sea provocada por una contribución de ambos iones presentes en la disolución.

Referencias bibliográficas

- [1] I. M. P. L. V. O. Ferreira, J. L. F. C. Lima. *Analyst*, **119** (1994) 209.
- [2] J. Alonso. Diseño y Construcción de detectores potenciométricos para FIA. Aplicación al análisis multiparamétrico en FIA. Tesis doctoral, UAB, Bellaterra (1987).
- [3] D. Gozzi, G. Scorcelletti. *J. Electroanal. Chem.*, **93** (1978) 109.
- [4] A. Borracino, L Campanella, M. P. Sammartino, M Battilotti. *Sensor & Actuators*, **B7** (1992) 535.

7 SISTEMA FIA DE ION PLOMO CON PRECONCENTRACIÓN ON-LINE

La elevada toxicidad del plomo ha llevado a reducir drásticamente los umbrales de tolerancia a este elemento y, con ellos, el nivel máximo permitido en aguas de consumo humano (Directiva 98/83/CE del consejo 3 de noviembre de 1998). La verificación del cumplimiento de la nueva legislación comunitaria exige una mejora de los límites de detección de los sistemas analíticos existentes.

Las características operacionales del sistema FIA descrito anteriormente no permitían la determinación de plomo al nivel de concentración en que éste se encuentra en muestras medioambientales o en agua potable. Para solventar este problema y dotar de aplicabilidad al analizador desarrollado, se decidió integrar una etapa de preconcentración con la finalidad de reducir el límite de detección del sistema y favorecer la eliminación de interferencias. Para la integración de esta etapa en el sistema de flujo se siguió la estrategia propuesta por *Ruzicka y colaboradores* [1], pioneros de la técnica FIA. Ruzicka et al., propusieron el primer sistema FIA con preconcentración on-line aplicado al análisis de metales pesados en agua de mar [1]. Posteriormente han aparecido una serie de trabajos que utilizan sistemas similares, en su mayoría aplicados a la determinación de metales pesados en muestras medioambientales de matriz variada. La introducción de esta etapa adicional implica incrementar la complejidad del sistema pero a la vez permite abarcar un mayor número de aplicaciones.

A partir de estos trabajos hemos planteado una metodología de preconcentración, fácilmente automatizable e integrable en el sistema de gestión de fluidos, basada en la extracción en fase sólida (SPE) cuyo fundamento se ha descrito en el apartado 1.4.2.1. Con estos mismos principios, nuestro grupo de investigación ha desarrollado un analizador para la determinación de tensoactivos aniónicos [2].

7.1 CARACTERIZACIÓN Y EVALUACIÓN DEL SISTEMA FIA CON PRECONCENTRACIÓN ON-LINE

La primera etapa de optimización del sistema que se propone desarrollar consiste en caracterizar los posibles materiales sorbentes a utilizar en la etapa de preconcentración. Posteriormente se optimizan otros parámetros como el caudal, el volumen de preconcentración y el volumen de eluyente. Inicialmente, y para realizar la caracterización de los materiales sorbentes, se partió del sistema de flujo optimizado en el capítulo 6 utilizando las columnas de preconcentración descritas en el apartado 3.4. En estas condiciones, se procedió a caracterizar los diferentes materiales sorbentes para la preconcentración del ion plomo mediante la determinación de las curvas de ruptura utilizando el sistema FIA descrito en el apartado 4.4.1.

Es importante comentar que estas curvas de ruptura nos muestran el comportamiento del material en presencia de altas concentraciones de analito y caudales extremadamente bajos. Estas condiciones experimentales están muy alejadas de las condiciones operativas del sistema y no contemplan algunos factores críticos como la elución o el tiempo de análisis. No obstante, proporcionan una información valiosa sobre la capacidad de carga de la columna.

7.1.1 Evaluación de los Sorbentes y Curvas de Ruptura

Los materiales estudiados en esta memoria son tres resinas quelatantes (Chelex-100, Lewalit TP-207 y Duolite GT-73) fácilmente regenerables en medio ácido diluido, pero que poseen una diferente naturaleza química y física. Las resinas Chelex-100 y Lewatit TP 207 se clasifican dentro de las resinas ácidas débiles de intercambio catiónico debido a la presencia de grupos carboxílicos (ver Figura 7.2). Ambas resinas son copolímeros de poliestireno divinilbenceno funcionalizadas con grupos iminodiacéticos con un diferente grado de entrecruzamiento y diferente tamaño de partícula, lo cual ejerce un efecto decisivo en la velocidad del intercambio iónico. Por otra parte la resina Duolite GT-73 es también una resina ácida débil de poliestireno enlazada con sitios activos y cuya capacidad de complejación viene dada principalmente por los grupos tioles (-SH) y en menor medida por los grupos sulfónicos.

En la Figura 7.1, se muestran las curvas de ruptura obtenidas con los tres materiales en estudio. En el caso de la resina Chelex-100, se observa una retención máxima desde el inicio del experimento, característica que la diferencia del resto. Esta resina es capaz de retener una gran cantidad de analito (volumen de ruptura de alrededor de 100 ml, concentración de plomo de 10^{-5} M), equivalente a 10^{-6} moles, antes de que se produzca su saturación.

La resina Duolite GT-73 también es capaz de retener una gran cantidad de plomo (volumen de ruptura de 130 ml aproximadamente, (concentración de analito de $5 \cdot 10^{-6}$ M), equivalente a $6 \cdot 10^{-7}$ moles, con la diferencia que una pequeña cantidad de analito se libera constantemente de la resina durante la experiencia. Esto puede ser consecuencia de su mayor tamaño de partícula que favorece la formación de canales preferentes durante el llenado de la columna. Estos canales permitirían el paso del analito sin interactuar con el sorbente y por tanto la existencia de una pequeña porción de analito no retenido. Esta explicación es coherente con el hecho que el valor de C/C_0 sea diferente de cero al inicio de la experiencia. Cuánto mayor es el tamaño de partícula, más lento es el proceso de intercambio iónico, dada la menor superficie específica (menor difusión por unidad de tiempo) y la mayor distancia media que los iones tienen que difundir.

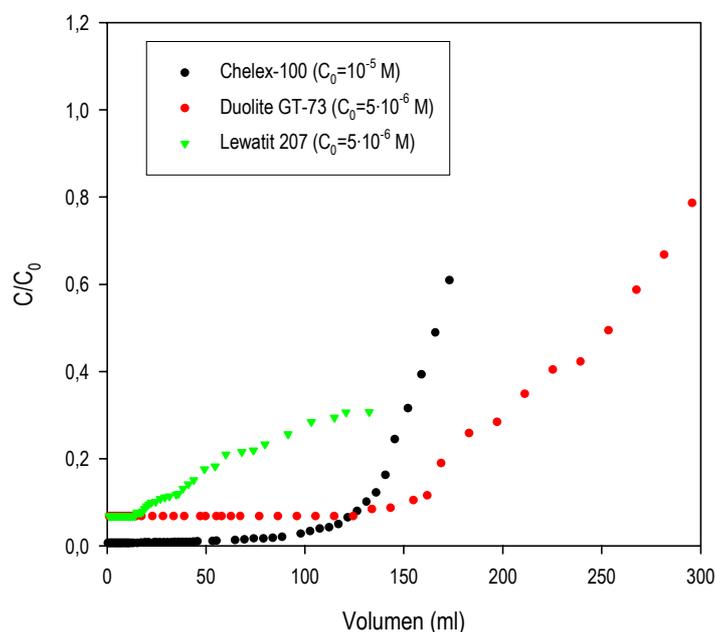


Figura 7.1: Representación de las curvas de ruptura obtenidas para los materiales en estudio.

La resina Lewatit TP 207, al igual que la Duolite GT 73, presenta un valor de C/C_0 diferente de cero al inicio de la experiencia. Esto puede explicarse una vez más por la formación de canales durante el llenado de la columna, debido al elevado tamaño de partícula de este material. Por otra parte esta resina comienza antes que el resto a liberar plomo y presenta un volumen de ruptura de alrededor de 30 ml (concentración de analito de $5 \cdot 10^{-6}$ M), equivalente a 10^{-7} moles.

En general, los tres materiales en las condiciones ensayadas podrían ser utilizados para preconcentrar nuestro analito, ya que los mismos son capaces de retener una cantidad de plomo claramente superior a la esperable en una muestra real sin saturarse la resina. Se decide usar la resina Chelex-100 por su mayor facilidad para rellenar la columna y por la extensa bibliografía sobre su uso para la preconcentración de metales [3-7]. No obstante, presenta como inconveniente su capacidad de retener otros metales pesados distintos al plomo lo cual podría generar problemas de selectividad.

Esta resina contiene grupos iminodiacéticos capaces de enlazar de forma muy efectiva iones metálicos divalentes y trivalentes (ver Figura 7.2). Este material difiere de otros intercambiadores catiónicos comunes por su alta selectividad por los metales de transición y su elevada constante de complejación.

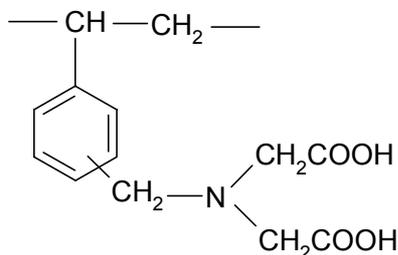


Figura 7.2: Resina de ácido iminodiacético.

Además puede ser utilizada en disoluciones básicas, neutras o débilmente ácidas (hasta pH=4). A valores de pH inferiores a 4, esta resina actúa como un intercambiador aniónico, tal y como se muestra en la Figura 7.3.

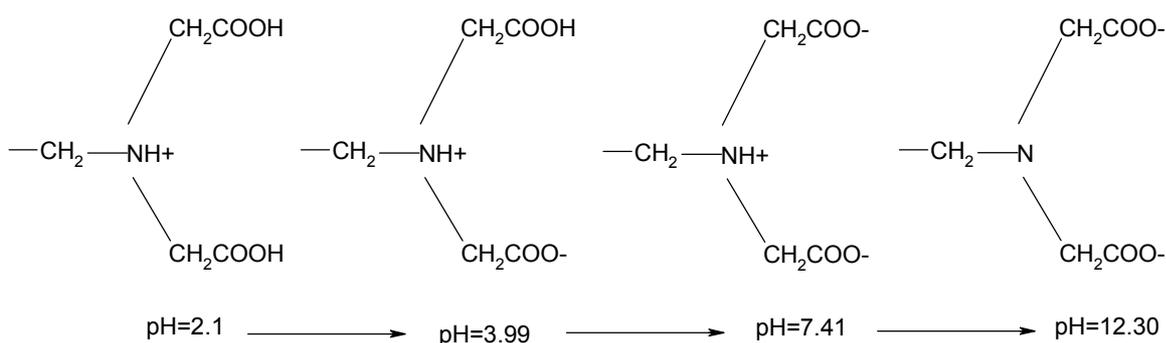
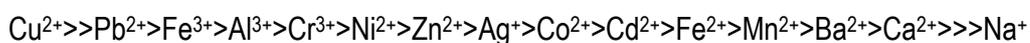
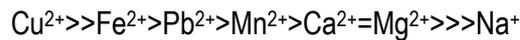


Figura 7.3: Cambios en la estructura de la resina Chelex-100 con el incremento del pH.

La selectividad de la resina Chelex-100 se corresponde con la que posee el ácido iminodiacético. En la literatura consultada [8], el factor de selectividad para varios cationes divalentes respecto al Zn^{2+} se usa para medir cuantitativamente la afinidad de la resina por un catión determinado. Estos valores de selectividad se establecen para cada sistema en particular ya que dependen de múltiples factores como el pH, la fuerza iónica o la presencia de otras especies complejantes. Así, el mercurio presenta un factor de selectividad elevado en presencia de iones nitrato y por el contrario en presencia de cloruros aparece entre los más bajos en la serie, probablemente debido a la formación de complejos con este anión. Un orden de selectividad aproximado en esta resina para cationes en disoluciones de nitrato o cloruros es el siguiente:



Por otra parte, la serie de selectividad para cationes en tampón de acetato a pH=5 es el siguiente:



7.1.2 Optimización de las variables en el sistema FIA con preconcentración

Una vez escogido el material que se utilizará para efectuar la preconcentración y definidas sus características, se procede a optimizar y evaluar el resto de variables del sistema FIA. Las variables estudiadas son: la composición y el volumen del eluyente, el caudal de muestra y el efecto del volumen de preconcentración. La optimización de estas variables se realizó utilizando el primer prototipo de analizador facilitado por la empresa ADASA SISTEMAS S.A, cuyo esquema se describió en el apartado 3.6.3 y se muestra a continuación:

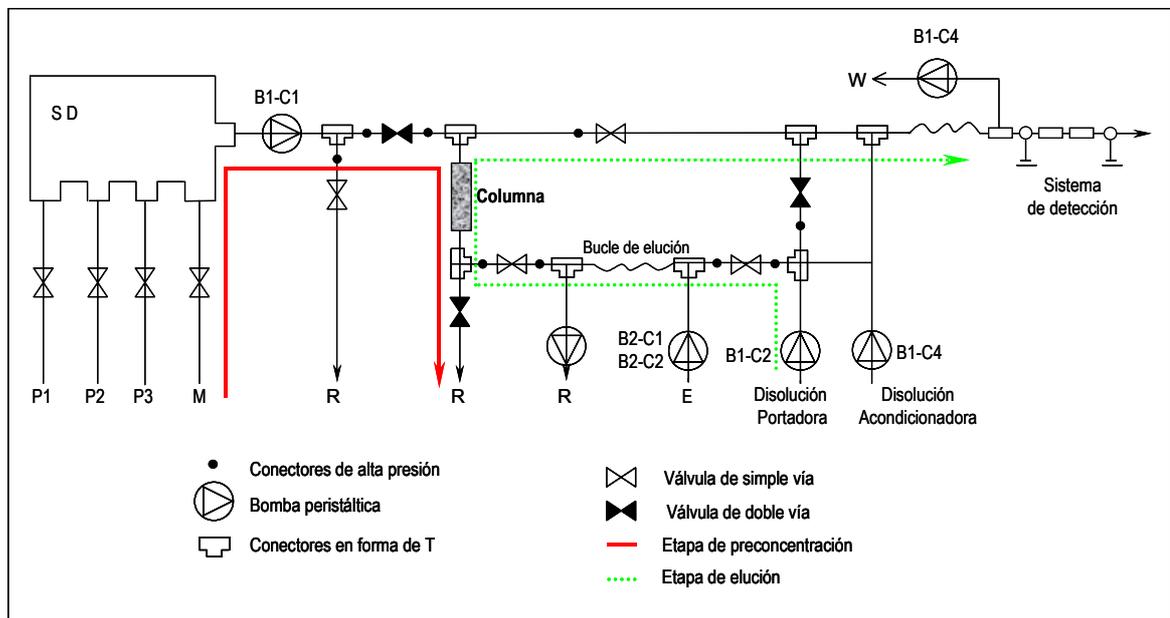


Figura 7.4: Esquema del prototipo de analizador con preconcentración on-line.

Composición y volumen de eluyente

Un eluyente habitualmente utilizado para la elución de metales cuando se emplean resinas quelatantes es el ácido clorhídrico aunque también han sido descritos otros ácidos inorgánicos como el nítrico. En nuestro caso se propone la utilización de éste último, debido a que el ácido clorhídrico forma complejos muy estables con el ion Pb^{2+} que pueden disminuir la concentración de la especie detectable por nuestros electrodos.

El eluyente ha de tener una concentración suficiente para provocar la elución completa del analito retenido en la resina y además debe provocar un mínimo de interferencia en la respuesta del electrodo. Como hemos comentado en el capítulo 5, la membrana M4/DOS tiene un intervalo operativo de pH entre 3-6.5, este hecho ha de ser tenido en cuenta en la optimización del volumen y la concentración del ácido utilizado en la elución. La acidez del eluyente hace necesario introducir

una nueva disolución acondicionadora de baja interferencia capaz de ajustar la fuerza iónica y la conductividad del medio, y sobre todo neutralizar el eluyente ácido antes de llegar al electrodo. En este sentido, se propone el uso de una disolución tampón acético/acetato 0.1 M, pH=5 en el canal de la disolución acondicionadora.

Para evaluar el efecto del volumen de eluyente en la respuesta del electrodo se escoge inicialmente una concentración arbitraria de ácido nítrico (0.1 M) y se preconcentra una disolución 10^{-7} M (20 ppb) de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

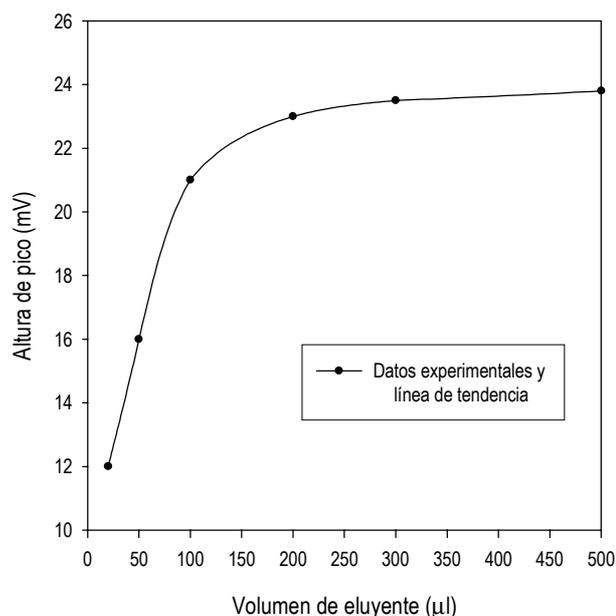


Figura 7.5: Influencia del volumen de eluyente en la señal del analito.

En la Figura 7.5 se muestra como aumenta la señal del analito al aumentar el volumen del eluyente, hasta llegar a un punto donde ésta se estabiliza. A partir de estos resultados se decide escoger un volumen de elución de 100 μl para llevar a cabo la desorción del analito. Para este volumen de elución la señal que se obtiene es ligeramente inferior a la obtenida utilizando volúmenes superiores pero el factor de preconcentración es superior.

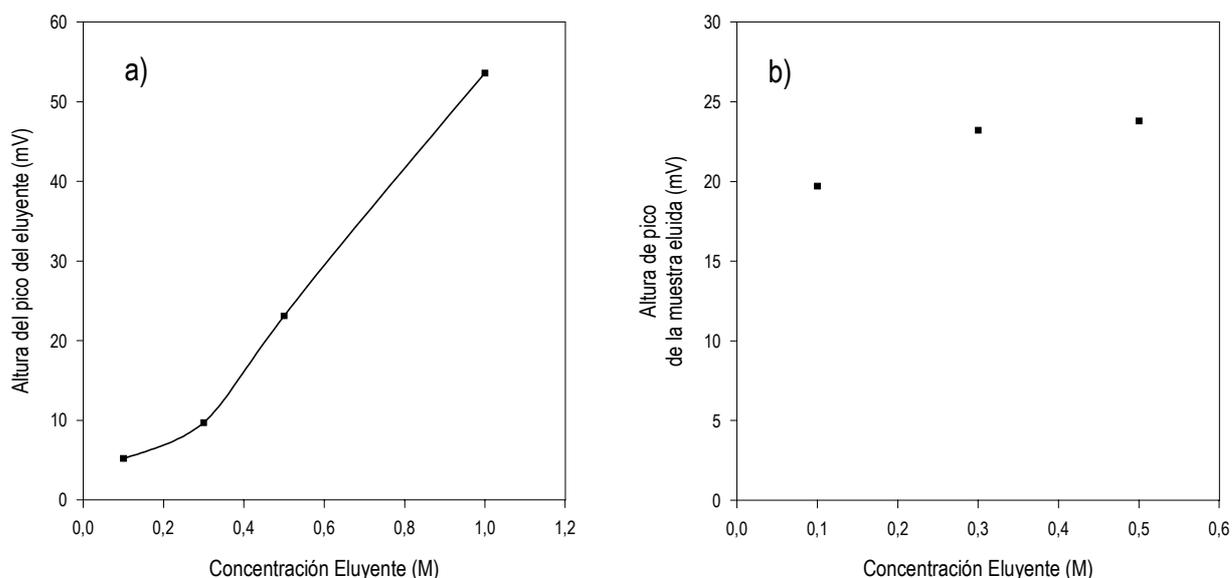


Figura 7.6: (a) Señal del electrodo en función de la concentración de eluyente (sin preconcentración previa de plomo); (b) Señal del electrodo en función de la concentración de eluyente con preconcentración previa de un patrón de plomo (10^{-7} M).

Una vez establecido el volumen de eluyente, se escogerá la concentración de ácido más adecuada para desorber el analito desde la resina. Inicialmente se estudia como afecta la concentración de ácido nítrico a la respuesta del electrodo. Para ello se inyectan 100 μ l de disoluciones sucesivas de ácido como si fueran patrones de plomo y se registra la señal obtenida (ver Figura 7.6 (a)). En esta figura se observa una variación exponencial de la señal del electrodo en función de la concentración del ácido, debido a la respuesta al protón que posee la membrana sensora (ver capítulo 5). Seguidamente se realiza una experiencia que consiste en preconcentrar una concentración determinada de plomo (10^{-7} M) y efectuar la elución con 100 μ l de diferentes concentraciones de ácido (Figura 7.6 (b)). Como era de esperar la señal de plomo aumenta ligeramente a medida que aumenta la concentración de ácido, hasta una concentración de 0.5 M de ácido donde se estabiliza. Si analizamos en detalle la señal obtenida para esta última concentración y la comparamos con la obtenida en la Figura 7.6 (a) se puede observar que ambas son idénticas, por lo que se concluye que el electrodo, en estas condiciones, está respondiendo al protón en vez de a nuestro analito. Esto es probablemente debido a que el tampón ya no es capaz de neutralizar la disolución ácida. Esta respuesta al medio ácido se verifica con otras concentraciones inferiores y superiores de plomo. En todos los casos se obtiene la misma señal, lo que confirma que nuestra membrana, en presencia de altas concentraciones de ácido, no responde al ion plomo y sí al medio ácido.

En conclusión se propone el uso de una concentración de eluyente HNO_3 0.3 M en una decisión de compromiso entre la necesidad de eluir todo el plomo retenido y que el eluyente no sobrepase la capacidad tamponadora de la disolución acondicionadora.

7.1.3 Influencia del caudal y del volumen de preconcentración de muestra en la señal

El caudal de muestra que entra en la columna (influyente) es un parámetro muy importante a tener en cuenta en la optimización del sistema de medida. El incremento de la velocidad de flujo del influyente no afecta por igual a todos los procesos. Así, cuando la cinética de un proceso no es favorable si aumentamos excesivamente el caudal del influyente, puede disminuir la retención del analito en la resina. En nuestro caso hemos observado que un incremento en el caudal del influyente de 0.3 ml/min a 2 ml/min, nos provoca una disminución de la altura de pico de alrededor de un 30 % aunque conseguimos una reducción substancial del tiempo de análisis. Ante esta disyuntiva se llegó a una situación de compromiso entre el caudal del influyente y el tiempo de análisis, fijando un caudal de influyente de 1.2 ml/min en todos los experimentos.

Por otra parte es necesario realizar un estudio del volumen de muestra preconcentrada y analizar su influencia en la respuesta del sistema. La cantidad de muestra a preconcentrar viene relacionada directamente con los niveles de analito que existan en las mismas.

En nuestro caso y dado que el plomo se encuentra en muestras medioambientales a niveles de concentración muy bajos, la introducción de la columna de preconcentración tendrá que aumentar significativamente el contenido de analito en la muestra (enriquecimiento de trazas). Así mismo aprovecharemos simultáneamente el sistema de preconcentración para eliminar aquellas posibles interferencias asociadas al analito que puedan estar presentes en la matriz.

La influencia del volumen de muestra se estudió comparando curvas de calibración del sistema obtenidas utilizando diferentes volúmenes de preconcentración. En la Tabla 7.1 se resumen algunas de las características de respuesta del sistema utilizando diferentes volúmenes de muestra.

| VOLUMEN DE PRECONCENTRACIÓN (ml) | LÍMITE DE DETECCIÓN (M) | FACTOR DE PRECONCENTRACIÓN* |
|----------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 2 | $9 \cdot 10^{-7}$ | 3 |
| 5 | $2.8 \cdot 10^{-7}$ | 10 |
| 10 | $3.8 \cdot 10^{-8}$ | ~ 100 |

Tabla 7.1: Efecto del volumen de preconcentración de muestra en la respuesta del sistema. *El factor de preconcentración se ha calculado como el cociente del límite de detección del sistema directo y el límite de detección del sistema con preconcentración.

En esta tabla podemos observar como a medida que aumenta el volumen de preconcentración se incrementa el factor de preconcentración. Por ello, para el análisis de muestras medioambientales escogimos un volumen de muestra de 10 ml, ya que en estas condiciones podemos llegar a límites de detección más bajos, aunque ello conlleve a una disminución del número de muestras analizables por hora.

7.1.4 Efecto memoria de las columnas de preconcentración

En el apartado anterior se ha comentado que la necesidad de obtener bajos límites de detección, que permitan determinar el plomo a muy bajas concentraciones, nos ha llevado a aumentar el volumen de muestra a preconcentrar. Este hecho puede tener efectos indeseables si la concentración de plomo en las muestras fuera elevada. A medida que aumenta la concentración de plomo en la muestra nos encontramos que se reduce la capacidad del eluyente, para desorber todo el analito de la resina. Esto obliga a realizar un mayor número de eluciones para regenerar eficientemente la resina de preconcentración. Este efecto memoria de las columnas (*carry-over effect*) hace que, a altas concentraciones de analito, sea necesario efectuar tres etapas de descarga (elución) antes de llevar a cabo el siguiente análisis.

En la Figura 7.7 se muestra la influencia de este efecto a medida que aumenta la concentración de plomo en la muestra. Este hecho nos obliga a programar el analizador, de manera que realice las descargas o limpiezas necesarias para que la resina esté completamente regenerada y pueda efectuar los siguientes análisis.

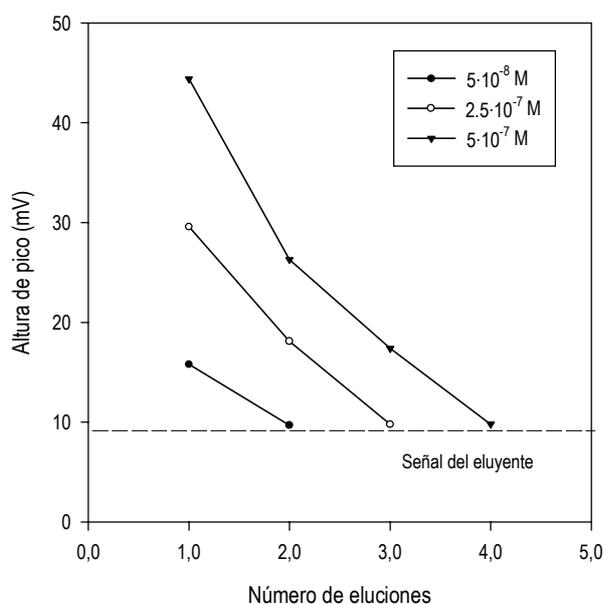


Figura 7.7: Representación del número de etapas de descargas necesarias para lograr la completa elución del analito desde la resina.

7.1.5 Regeneración de la resina de preconcentración

Algunos autores recomiendan la conversión de la resina Chelex-100 a su forma NH_4^+ , después de efectuada la elución [9,10]. Para ello se hace pasar una disolución de NH_4^+ y posteriormente se limpia con agua hasta eliminar el exceso de amonio. Olsen y colaboradores [1] utilizan un procedimiento similar excepto que ellos emplean acetato de amonio como disolución portadora en el sistema FIA.

En nuestro trabajo hemos estudiado el efecto que, sobre la preconcentración del ion Pb^{2+} , provoca usar la resina en forma H^+ en lugar de en forma NH_4^+ . Con este propósito se comprobó la operatividad de la resina en forma ácida (H^+), después de haber realizado las diferentes etapas de descarga, y en forma NH_4^+ (2 ml de acetato de amonio 0.05 M se pasan a través de la columna después de la elución, seguido de 2 ml de agua para eliminar el exceso de ion amonio). Los resultados obtenidos nos demostraron que no existen diferencias significativas que nos hagan preferir una forma iónica sobre la otra, con lo cual decidimos utilizar la resina en forma H^+ . De esta manera, las etapas de limpieza, además de eliminar el exceso de analito que pueda quedar retenido en la columna, nos regeneran la resina de manera eficiente y no necesitamos etapas de acondicionamiento adicionales para convertir la resina en otra forma iónica.

Variables optimizadas del sistema FIA

En la Tabla 7.2 se hace un resumen de los diferentes parámetros del sistema FIA con preconcentración on-line.

| VARIABLES | CONDICIONES |
|-----------------------------|------------------------------------|
| Resina | 20 mg de Chelex-100 |
| Disolución Portadora | Agua Mili-Q |
| Disolución acondicionadora | Tampón acético/acetato 0.1 M, pH=5 |
| Caudal Influyente | 1.2 ml/min |
| Volumen de Preconcentración | 10 ml |
| Eluyente | 100 μ l HNO_3 0.3 M |
| Etapas de Descarga | 3 |

Tabla 7.2: Variables del sistema FIA con preconcentración on-line de ion plomo.

7.2 EVALUACIÓN DEL SISTEMA FIA CON PRECONCENTRACIÓN ON-LINE

En este apartado se procede a la evaluación del sistema FIA que integra la etapa de preconcentración una vez definidos los parámetros para iniciar su funcionamiento. En nuestro estudio con el sistema con preconcentración nos hemos limitado al análisis de muestras con concentraciones inferiores a 10 ppm. Cuando se analicen muestras con concentraciones superiores podremos utilizar el sistema FIA directo sin necesidad de preconcentrar el analito. En la evaluación inicial del analizador hemos procedido de manera manual para así poder estudiar a fondo todos los posibles factores que afectan la respuesta. Una vez definidos todos los parámetros y estudiadas cada una de las variables, el prototipo se programará para que funcione de manera automática (se describirá en apartados posteriores).

La Figura 7.8 muestra una comparación de las señales de los sistemas FIA sin y con preconcentración, en la misma se observa el enriquecimiento que se obtiene con el sistema

propuesto al introducir la etapa de preconcentración, lo cual nos permite lograr una mejora considerable de la señal analítica.

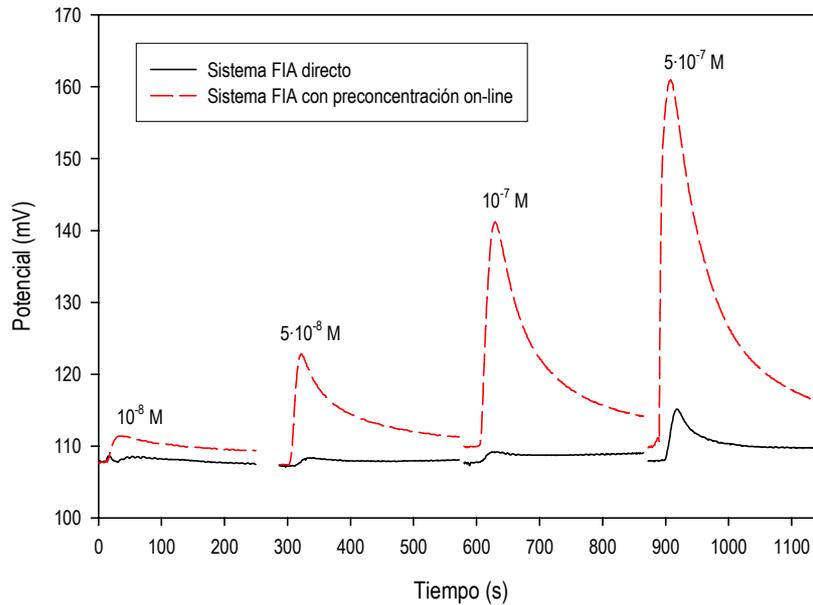


Figura 7.8: Incremento de las señales obtenidas utilizando el sistema FIA con preconcentración on-line (10 ml de muestra preconcentrada) en comparación con el sistema FIA directo (sin preconcentración) 200 μ l de muestra inyectada.

En la Figura 7.9 se muestran las curvas de calibrado que se obtienen utilizando los dos sistemas y se comparan diferentes volúmenes de preconcentración. Para una mejor comparación de las señales, se ha corregido la señal del eluyente en los gráficos con preconcentración.

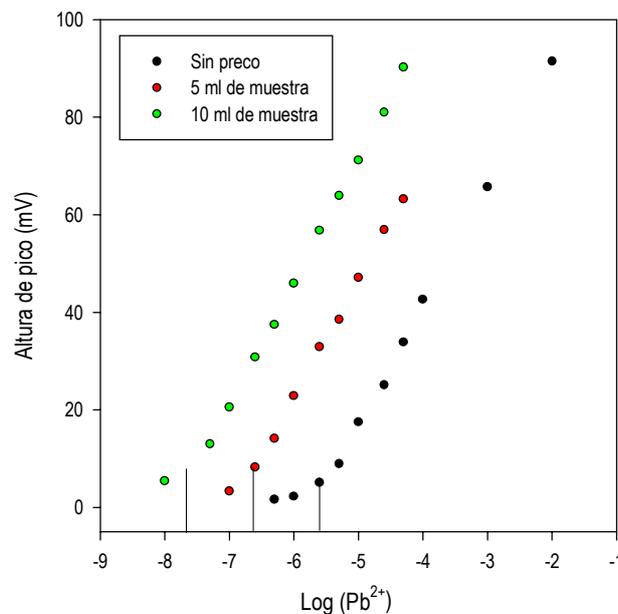


Figura 7.9: Curvas de calibrado en el sistema FIA directo y en el sistema FIA con preconcentración on-line. Las líneas verticales en el gráfico indican el límites de detección de cada calibrado

La Tabla 7.3 muestra las características de respuesta en las diferentes condiciones de trabajo. Se puede apreciar la ganancia neta que se obtiene al pasar del sistema sin preconcentración al sistema con la etapa de preconcentración incorporada. Es importante destacar que cuando preconcentramos 10 ml de muestra obtenemos un límite de detección adecuado (~ 8 ppb) para efectuar el análisis de muestras medioambientales con bajo contenido de plomo.

| PARÁMETROS | SIN PRECONCENTRACIÓN | 5 ML DE MUESTRA PRECONCENTRADA | 10 ML DE MUESTRA PRECONCENTRADA |
|----------------------|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Pendiente (mV/déc) B | 28.4 (2) | 28.32 (3) | 28.03 (3) |
| LIRL (ppm) | 1 | 0.1 | 0.02 |
| LD-C (M) | $4 \cdot 10^{-6}$ (3) | $3.5 \cdot 10^{-7}$ (4) | $3.8 \cdot 10^{-8}$ (5) |
| LD-C (ppm) | 0.82 | 0.072 | 0.0078 |

Tabla 7.3: Parámetros de calibración obtenidos en diferentes condiciones de trabajo (utilizando la ecuación $H=A+B \cdot \log(X+C)$). Los valores que aparecen en paréntesis representan la desviación estándar relativa (%) de 20 calibraciones sucesivas.

7.2.1 Análisis de Interferencias

Una vez definidos los parámetros de calibración, se estudian todas aquellas especies que pudieran tener una influencia en la preconcentración del plomo en la resina. En particular se estudian los iones más comunes presentes en muestras medioambientales al nivel de concentración máximo en que se suelen encontrar en muestras de aguas potables y superficiales.

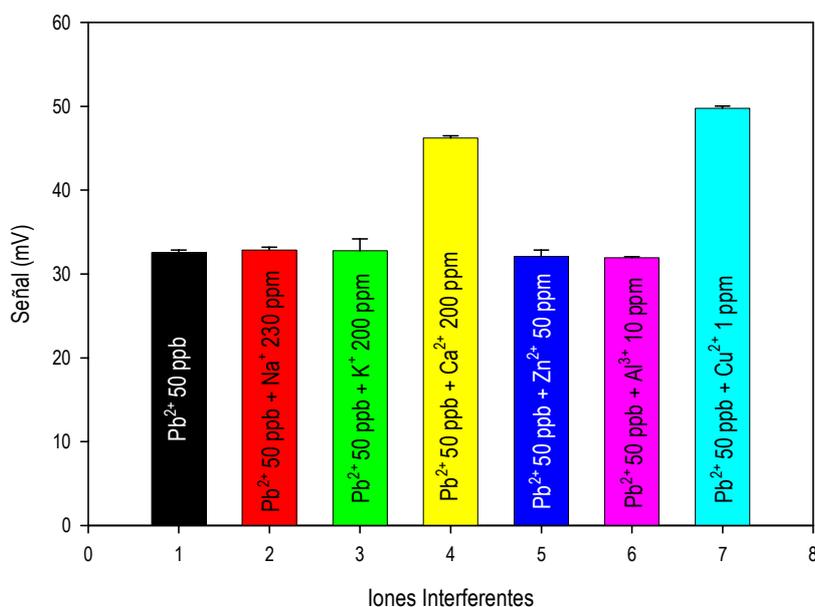


Figura 7.10: Comparación cualitativa de la interferencia ocasionada por algunos iones.

En la Figura 7.10 se compara cualitativamente la señal de una disolución que solo contiene plomo (50 ppb) con otras que además contienen otras especies interferentes. Se puede apreciar que los iones ensayados no provocan distorsión en la señal del plomo, exceptuando los iones calcio y cobre. A partir de este resultado se decide estudiar las condiciones en que se lleva a cabo la preconcentración con el fin de evitar la retención de estos dos iones interferentes en la resina.

En primer lugar se estudia la influencia del pH de muestras y patrones en la preconcentración. En este sentido se hicieron una serie de pruebas con la finalidad de escoger las condiciones idóneas para efectuar la retención, ya que hasta este momento, los patrones de plomo se hacían pasar directamente por la columna de preconcentración sin ajustar el pH de los mismos.

Para ello diseñamos una experiencia que consistió en preparar los patrones sobre un fondo de tampón $[\text{Mg}(\text{OAc})_2]$ 0.1 M (valor arbitrario) a diferentes pH y comparar la señal con la obtenida cuando estos eran preparados sobre agua Mili-Q.

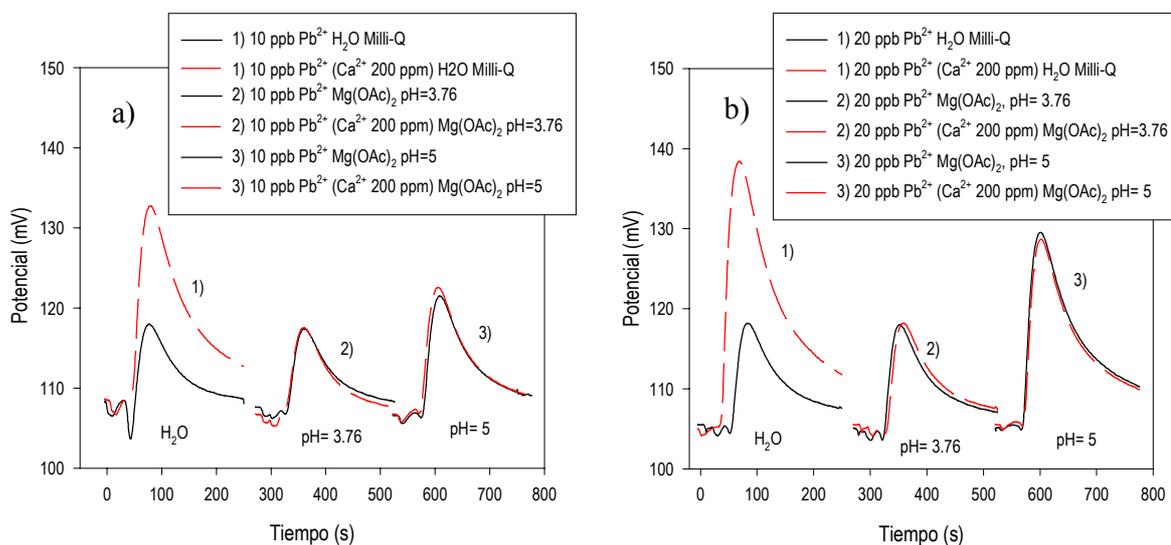


Figura 7.11: Señal obtenida al ajustar el pH de los patrones antes de efectuar la preconcentración; a) 10 ppb de Pb^{2+} , b) 20 ppb de Pb^{2+} .

Se observa que trabajando con los patrones tamponados conseguimos evitar que el calcio quede retenido en la columna (ver Figura 7.11). Los mejores resultados se obtuvieron utilizando el tampón a pH=5, ya que se obtienen señales más elevadas y se elimina la interferencia del calcio. Este comportamiento a pH=5 es coherente con la serie de selectividad de esta resina cuando se trabaja con tampón de acetato (ver apartado 7.1.1).

A continuación se procedió a optimizar la concentración del tampón en un intervalo comprendido entre 0.01 M y 0.1 M. Se observó que a medida que aumenta el fondo iónico la señal del plomo disminuye ligeramente, debido a la posible interferencia del Mg^{2+} y el acetato a tan elevadas concentraciones. No obstante se escoge una concentración elevada de tampón (0.1 M, pH=5), ya que en estas condiciones desaparece la retención del calcio en la resina y la disminución de la señal del plomo no es muy considerable (ver Figura 7.12).

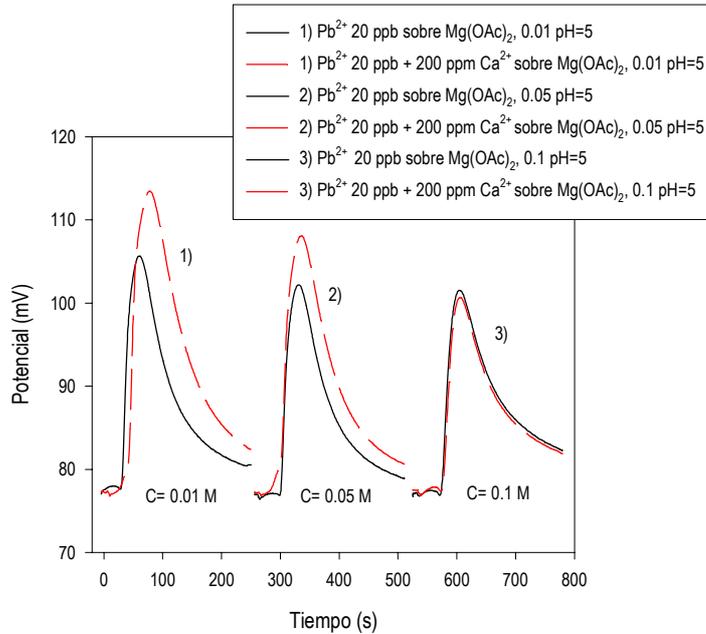


Figura 7.12: Variación de la señal en función de la concentración del tampón.

Una representación más clara de la eliminación del calcio después de tamponar las muestras se muestra en la Figura 7.13. En la misma se puede apreciar como desaparece totalmente la señal del calcio después de mezclarse con el tampón, siendo la señal resultante idéntica a la del eluyente, lo que demuestra una eliminación cuantitativa del calcio en estas condiciones.

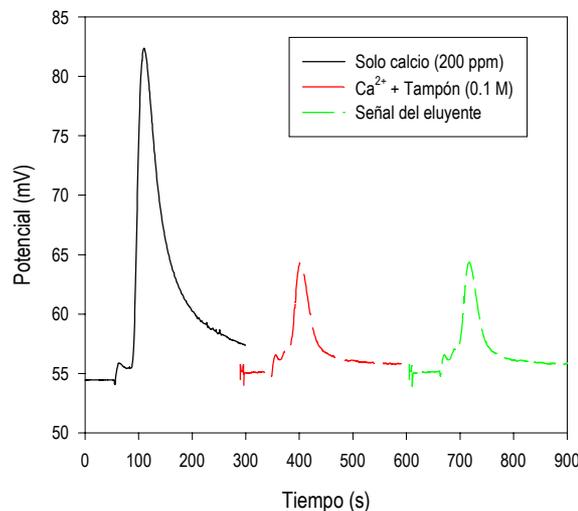


Figura 7.13: Representación de la eliminación del calcio después de mezclarse con el tampón.

Este hecho no es fácilmente explicable, pero puede ser debido a una competición entre el magnesio (no interferente para el sensor) y el calcio por los sitios activos de la resina, estando más favorecido el primer ion por estar a una concentración más elevada.

Al repetir estas mismas experiencias con la finalidad de eliminar el Cu^{2+} se observa un comportamiento muy diferente. La utilización de este tampón no evita la retención del cobre en la resina, probablemente debido a la gran afinidad que presenta la resina Chelex-100 por este ion.

7.2.1.1 Estudios realizados para eliminar la retención del cobre en la resina

En este apartado se describirán las pruebas que se han realizado con la finalidad de eliminar el ion cobre antes de la etapa de preconcentración y así evitar su retención en la resina. Para ello se ensayan diferentes agentes complejantes como tiourea, ácido salicílico, amoníaco (tampón $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$), ácido oxálico, ácido picolínico y dipicolínico que actuarán como agentes secuestrantes del interferente y se fija una concentración de cobre de $1.6 \cdot 10^{-5}$ M (1 ppm), valor que está por encima de lo que normalmente podremos encontrar en muestras de aguas naturales.

Se ensayaron diferentes niveles de concentración de estos agentes complejantes y a diferentes valores de pH. Se encontró que para el ácido salicílico (10^{-3} y 10^{-2} M, pH=5) y el amoníaco (10^{-2} M, pH=8.5), la señal del cobre permanecía invariable, lo cual nos indicaba que no existía complejación en las condiciones ensayadas. En el caso del ácido oxálico (10^{-2} M, pH=2) si conseguimos eliminar el cobre, pero también desaparecía la señal del plomo, con lo cual descartamos este compuesto.

En los ensayos con la tiourea se encontró que una concentración $5 \cdot 10^{-2}$ M, pH=5, conseguía eliminar parcialmente la señal provocada por el cobre, pero también se observaba una drástica disminución de la señal del plomo. A concentraciones inferiores a $5 \cdot 10^{-2}$ M, no presentó propiedades complejantes. Este hecho nos obligó también a descartar este compuesto.

Posteriormente y en base a estudios previos descritos en la literatura [11-13], se ensayó la familia de los ácidos piridincarboxílicos como posibles candidatos en la eliminación del cobre, concretamente se estudiaron los ácidos dipicolínico y picolínico. Se observó que la señal del cobre desaparece cuando empleamos el ácido dipicolínico, debido a la complejación del metal con este compuesto pero, a su vez, la señal del plomo también desaparece por el mismo motivo.

Finalmente, al estudiar las propiedades de complejación del ácido picolínico observamos que éste es el mejor candidato para evitar la retención del cobre en la resina. Las constantes de estabilidad de los complejos picolinato de Cu (II) y Pb (II) encontradas en la literatura son $\log \beta=16$ y $\log \beta=4$ respectivamente [14]. Esta marcada diferencia en cuanto a propiedades de complejación nos ha posibilitado la eliminación del cobre, sin que la señal del plomo se vea modificada. Para confirmarlo se realizó un estudio de la influencia de este compuesto, a diferentes niveles de concentración, sobre la respuesta obtenida para ambos iones

En la Figura 7.14 se puede apreciar las notables diferencias que aparecen en cuanto a la complejación de ambos metales. Se observa como la señal del cobre desaparece en presencia de ácido picolínico 10^{-3} M, mientras que la señal del Pb^{2+} no sufre variación en estas condiciones. En realidad sólo se obtiene una disminución significativa de la señal del plomo a concentraciones superiores de agente complejante.

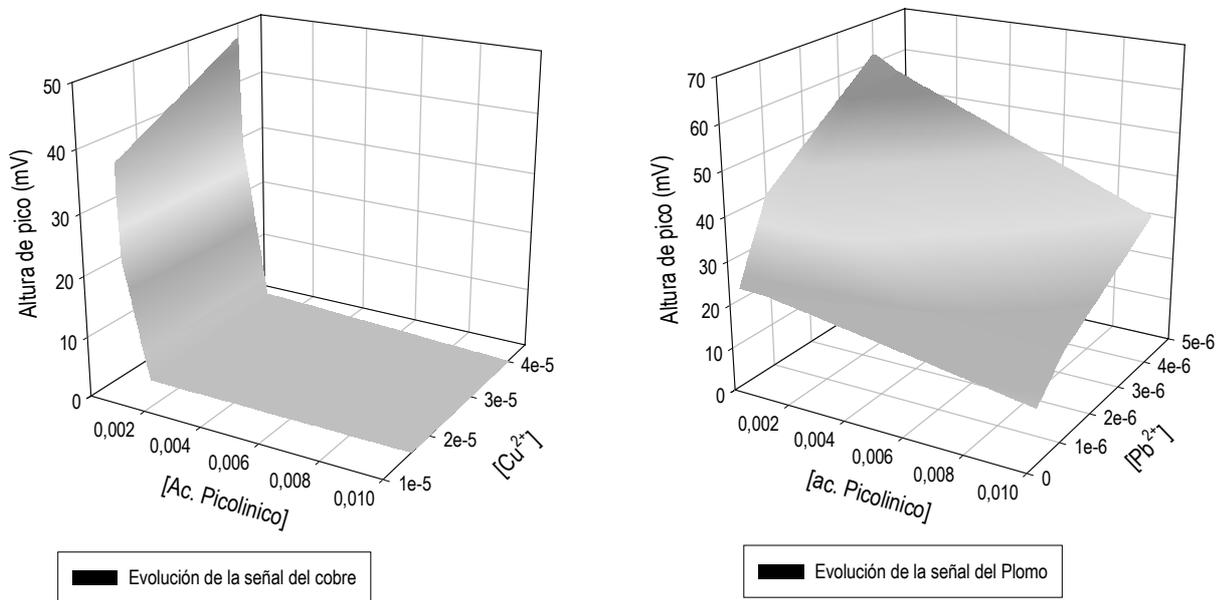


Figura 7.14: Variación de la señal de plomo y cobre en función de la concentración de ácido picolínico.

En vista de los resultados obtenidos se decide utilizar una concentración 10^{-3} M de ácido picolínico, capaz de eliminar altas concentraciones de cobre y mantener invariable la señal del plomo.

A partir de este resultado y de los estudios realizados para eliminar el calcio, hemos decidido incorporar un canal adicional en el sistema FIA (AQUAMET), que, de manera automática, permita ajustar el pH de los patrones y las muestras antes de realizar la preconcentración y evite la retención del calcio y del cobre en la resina. Este canal contendrá una disolución de $Mg(OAc)_2$ 0.1 M, pH=5 y ácido picolínico 10^{-3} M.

7.3 SISTEMA FIA CON PRECONCENTRACIÓN ON-LINE UTILIZADO PARA APLICACIONES MEDIOAMBIENTALES (AQUAMET)

Después de introducir el canal adicional en el sistema de medida (ver Figura 7.15) se procedió a la comprobación de cada uno de los parámetros de calibrado.

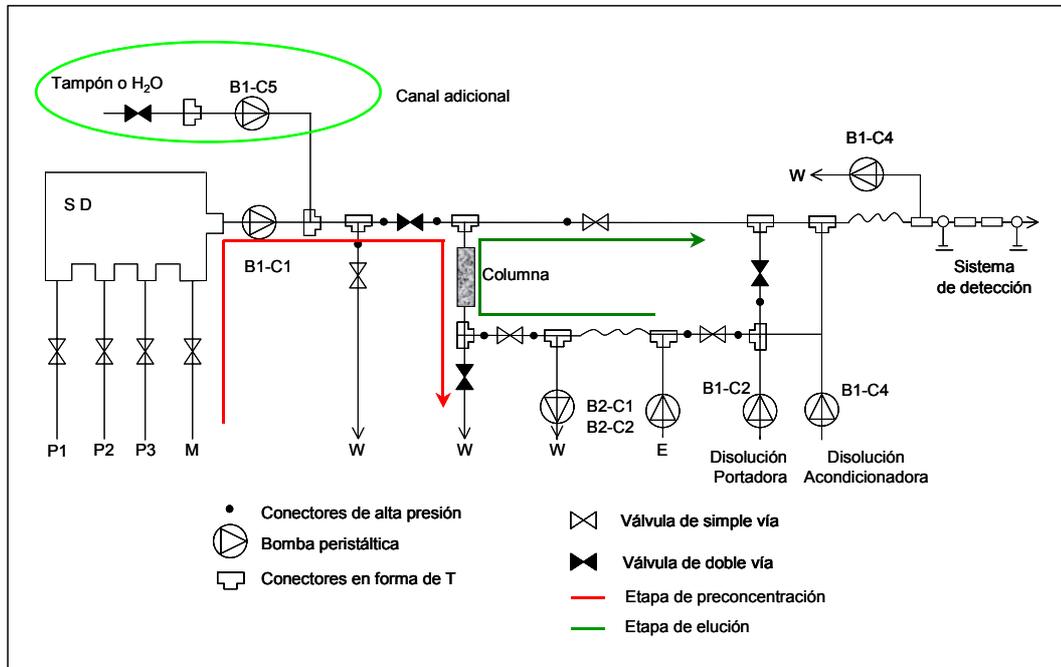


Figura 7.15: Sistema FIA con preconcentración on-line, después de introducir un canal adicional.

A continuación se muestran el gráfico de calibrado obtenido en las nuevas condiciones (Figura 7.16), así como las características de respuesta finales de este analizador (Tabla 7.4).

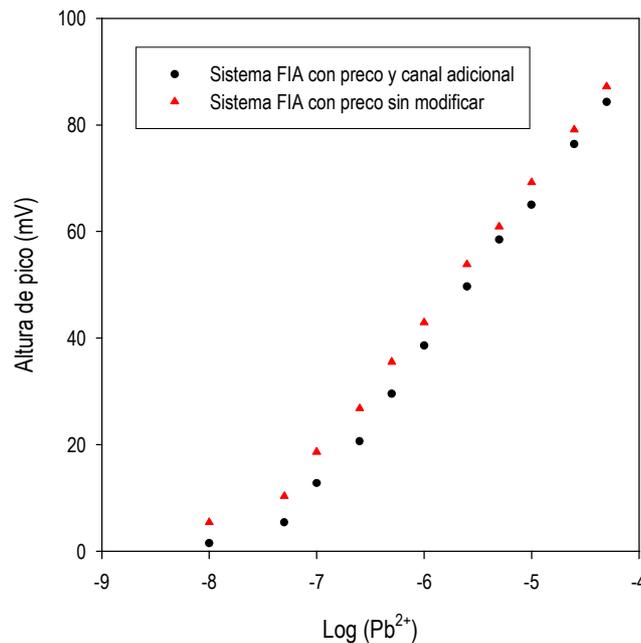


Figura 7.16: Comparación de los calibrados con el sistema antes y después de ser modificado.

Experimentalmente se encuentra una ligera disminución de las señales de los patrones de Pb^{2+} como consecuencia de una complejación parcial de este ion por las especies presentes (básicamente picolinato y acetato) en la disolución del canal adicional.

| PARÁMETROS | SISTEMA FIA CON PRECONCENTRACIÓN (INICIAL) | SISTEMA FIA CON PRECONCENTRACIÓN (MODIFICADO) |
|-----------------------|--|---|
| Pendiente (mV/déc)- B | 28.03 (3) | 27.85 (3) |
| LIRL (ppm) | 0.02 | 0.02 |
| LD-C (M) | $3.8 \cdot 10^{-8}$ (5) | $5 \cdot 10^{-8}$ (3) |
| LD-C (ppm) | 0.0078 | 0.01 |

Tabla 7.4: Características de respuesta del analizador después de introducir un canal adicional (utilizando la ecuación $H=A+B \cdot \log (X+C)$). Los valores que aparecen en paréntesis representan la desviación estándar relativa (%) de 20 calibraciones sucesivas.

7.3.1 Evaluación del tiempo de vida de los electrodos

Los parámetros de respuesta que caracterizan al analizador fueron estudiados a lo largo del tiempo, con el fin de controlar tanto el tiempo de vida operativo del electrodo como la durabilidad de la columna de preconcentración. Como hemos comentado en el capítulo anterior, se considera necesario sustituir el electrodo cuando la sensibilidad decrece en un 20 % y el límite de detección se duplica.

Durante la realización del trabajo experimental de esta memoria hemos utilizado diferentes electrodos cuyos parámetros de respuesta han sido exhaustivamente evaluados. En la Tabla 7.5 se resumen las características de respuesta de algunos de los electrodos evaluados a lo largo del tiempo.

| PARÁMETROS | E-1 | E-2 | E-6 | E-8 | E-10 |
|----------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Pendiente-B (mV/déc) | 28.02 (5) | 27.84 (4) | 30.83 (3) | 30.38 (2) | 32.02 (4) |
| LIRL (ppm) | 0.018 | 0.02 | 0.019 | 0.02 | 0.02 |
| LD-C (M) | $4.82 \cdot 10^{-8}$ (4) | $5 \cdot 10^{-8}$ (3) | $4.5 \cdot 10^{-8}$ (4) | $4.82 \cdot 10^{-8}$ (5) | $4.77 \cdot 10^{-8}$ (3) |
| LD-C (ppm) | 0.010 | 0.010 | 0.0093 | 0.010 | 0.0099 |

Tabla 7.5: Parámetros característicos de 5 electrodos diferentes a lo largo del tiempo. Los valores que aparecen en paréntesis representan la desviación estándar relativa (%) de 48 calibrados.

Las características de respuesta de dos de los electrodos estudiados en nuestro trabajo experimental se muestran en la Tabla 7.6. Estos electrodos han sido evaluados simultáneamente y,

al igual que en el capítulo anterior, hemos comparado sus respuestas para demostrar la reproducibilidad tanto del sistema de medida con la etapa de preconcentración incorporada como de la preparación de los electrodos.

Si analizamos los parámetros característicos de cada electrodo notaremos que, tras cuatro meses de funcionamiento continuado, apenas han experimentado variación.

| TIEMPO (SEMANAS) | PARÁMETROS | PENDIENTE-B (mV/déc) | LD-C (ppm) |
|------------------|------------|----------------------|-------------------|
| 1 | E-3 | 28.83 (2%, n=5) | 0.01 (3%, n=5) |
| | E-4 | 28.46 (3 %, n=3) | 0.0099 (3 %, n=3) |
| 2 | E-3 | 27.15 (1%, n=4) | 0.0099 (4 %, n=4) |
| | E-4 | 27.01 (2 %, n=5) | 0.010(3 %, n=5) |
| 4 | E-3 | 28.8 (4 %, n=4) | 0.011 (3 %, n=4) |
| | E-4 | 28.85 (2 %, n=4) | 0.010 (4 %, n=4) |
| 5 | E-3 | 28.01 (2 %, n=3) | 0.010 (3 %, n=3) |
| | E-4 | 28.06 (3 %, n=3) | 0.0099 (3 %, n=3) |
| 8 | E-3 | 27.61 (1 %, n=3) | 0.011 (3 %, n=3) |
| | E-4 | 27.45 (2 %, n=3) | 0.0099 (4 %, n=3) |
| 9 | E-3 | 27.43 (3 %, n=5) | 0.010 (4 %, n=5) |
| | E-4 | 27.05 (1 %, n=5) | 0.011 (3 %, n=5) |
| 10 | E-3 | 28.02 (3 %, n=4) | 0.010 (4 %, n=4) |
| | E-4 | 28.11 (4 %, n=4) | 0.010 (3 %, n=4) |
| 12 | E-3 | 28.03 (5 %, n=3) | 0.011 (4 %, n=3) |
| | E-4 | 28.02 (3 %, n=3) | 0.011 (3 %, n=3) |
| 18 | E-3 | 27.95 (2 %, n=5) | 0.010 (4 %, n=5) |
| | E-4 | 27.33 (3 %, n=4) | 0.010 (3 %, n=4) |

Tabla 7.6: Evolución de los parámetros de respuesta de dos electrodos evaluados a lo largo del tiempo. Se representa el valor medio semanal de cada electrodo acompañado por la desviación estándar relativa (%) del número de calibraciones que se indica en cada caso (n).

Se realiza la prueba t por parejas (ver Tabla 7.7), analizando la diferencia que existe entre los valores medios de los parámetros obtenidos por cada electrodo, en los diferentes períodos de tiempo. Los resultados demuestran que las respuestas son estadísticamente iguales para los dos electrodos durante las 18 semanas, lo cual nos permite confirmar una vez más la robustez de nuestro sistema, desde la preparación y deposición de la membrana en los electrodos, hasta el sistema de medida.

| TEST ESTADÍSTICO | VALOR DE LOS PARÁMETROS (AL 95 %) | EXISTEN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS DOS ELECTRODOS AL 95 % DE CONFIANZA? |
|--|---|--|
| Prueba t por parejas | Pendiente: $t_{cal} = 1.96$, $t_{tab.} = 2.31$; $ t_{cal} < t_{tab}$ | No |
| $t = \frac{\bar{x}_d - \bar{x}_c}{s_d} \sqrt{n}$ grados de libertad = 8 | LD o C : $t_{cal} = 0.589$, $t_{tab.} = 2.31$; $ t_{cal} < t_{tab}$ | No |

Tabla 7.7: Comparación estadística de dos electrodos evaluados.

7.3.2 Reproducibilidad del sistema de medida

Un elemento que puede reducir la robustez de nuestro sistema FIA, y por tanto la precisión de nuestros resultados, es la columna de preconcentración. Ésta puede generar problemas de sobrepresión producto del empaquetamiento progresivo del sorbente y/o la obturación de los fritados por pequeñas partículas sólidas. En este sentido, cuando se trabaja con patrones sintéticos, el tiempo operativo de las columnas es mucho más largo que cuando se trabaja directamente con muestras reales. Esto es debido a que estas últimas contienen partículas sólidas que pueden obstruir los fritados. Para decidir cuando debemos sustituir la columna por una nueva seguimos el mismo criterio que para los electrodos. Cuando se observan variaciones importantes en la sensibilidad y el límite de detección, y se descarta experimentalmente que sean debidas al electrodo, se verifica la operatividad de la columna y se cambia por otra recién preparada.

Una manera de garantizar una buena reproducibilidad en los valores generados por el analizador, es controlar el proceso de llenado de las columnas y su repercusión sobre los resultados obtenidos al efectuar la preconcentración. Por este motivo decidimos realizar un estudio con tres columnas diferentes, preparadas en períodos diferentes de tiempo, con la finalidad de comprobar si existen diferencias entre las mismas. Para ello se han registrado la señales obtenidas para tres concentraciones de plomo en el intervalo 10^{-7} - 10^{-5} M (tres replicados por cada nivel de concentración) en tres columnas diferentes (ver Tabla 7.8).

| COLUMNAS | CONCENTRACIÓN 10 ⁻⁷ M (MEDIDAS REPETIDAS) | | | CONCENTRACIÓN 10 ⁻⁶ M (MEDIDAS REPETIDAS) | | | CONCENTRACIÓN 10 ⁻⁵ M (MEDIDAS REPETIDAS) | | |
|-----------|--|-------|-------|--|------|------|--|------|------|
| | Columna 1 | 23.9 | 23.3 | 23.2 | 47.6 | 49.6 | 49.1 | 80.5 | 79.4 |
| Columna 2 | 24.9 | 24.0 | 24.32 | 46.4 | 48.5 | 47.3 | 81.6 | 80.9 | 79 |
| Columna 3 | 24.84 | 23.79 | 24.15 | 47.4 | 48.5 | 46.2 | 79.6 | 80.4 | 79.3 |

Tabla 7.8: Señales obtenidas (mV) para tres concentraciones diferentes al cambiar la columna de preconcentración.

Para comprobar que no existen diferencias significativas entre las señales obtenidas al utilizar las tres columnas se realiza un análisis de varianza (ANOVA) de un factor para cada nivel de concentración. El ANOVA de una vía separa [15] la variabilidad en la medida debida al error aleatorio de la variabilidad causada por el factor controlado o de efecto fijo, en nuestro caso las diferentes columnas. Esta última fuente de variabilidad se compara respecto al error aleatorio mediante un test F de Fisher que permite discutir la significación del efecto.

En la Tabla 7.9 se muestran los resultados obtenidos del análisis de las respuestas de tres columnas diferentes para una misma concentración (10⁻⁷ M). En la misma se puede apreciar como el efecto columna (varianza entre grupos) no difiere significativamente del error aleatorio (varianza dentro de un grupo). Este mismo análisis se realizó para otras dos concentraciones (10⁻⁶ M y 10⁻⁵ M), obteniéndose las mismas conclusiones.

Esto demuestra la robustez del sistema y la reproducibilidad que existe en la preparación y el llenado de las columnas de preconcentración.

| TEST ESTADÍSTICO | VARIACIÓN DENTRO DE LOS GRUPOS | | | VARIACIÓN ENTRE GRUPOS | |
|--|--|---------------------------|----------------------------------|--|---|
| ANOVA de un factor | $\sigma_0^2 = \sum_i \sum_j \left(x_{ij} - \bar{x}_i \right)^2 / h(n-1)$ <p>La sumatoria sobre j y la división por (n-1) se refiere a la varianza de cada columna, la sumatoria sobre i la división por h promedia estas varianzas muestrales</p> | | | $\sigma_0^2 = \sum_i \left(\bar{x}_i - \bar{x} \right)^2 / (h-1)$ <p>Cálculo de la varianza de las medias de las columnas</p> | |
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F_{calculado} | F_{95%_{tabulado}} |
| Entre grupos | 1.191 | 2 | 0.595 | 2.211 | 5.143 |
| Dentro de los grupos | 1.615 | 6 | 0.269 | | |
| F _{cal} < F _{tab} por lo tanto no hay diferencias significativas entre las columnas comparadas | | | | | |

Tabla 7.9: Comparación de varias columnas a través del análisis de varianza de un factor para 10⁻⁷ M.

También se evaluó la reproducibilidad del sistema al inyectar una muestra determinada de $Pb(NO_3)_2$ en diferentes periodos de tiempo. El gráfico de la Figura 7.17 muestra los resultados obtenidos al realizar treinta inyecciones de un patrón de $Pb(NO_3)_2$ $2.5 \cdot 10^{-7}$ M. La precisión de nuestro sistema es del 5 %, expresada como RSD.

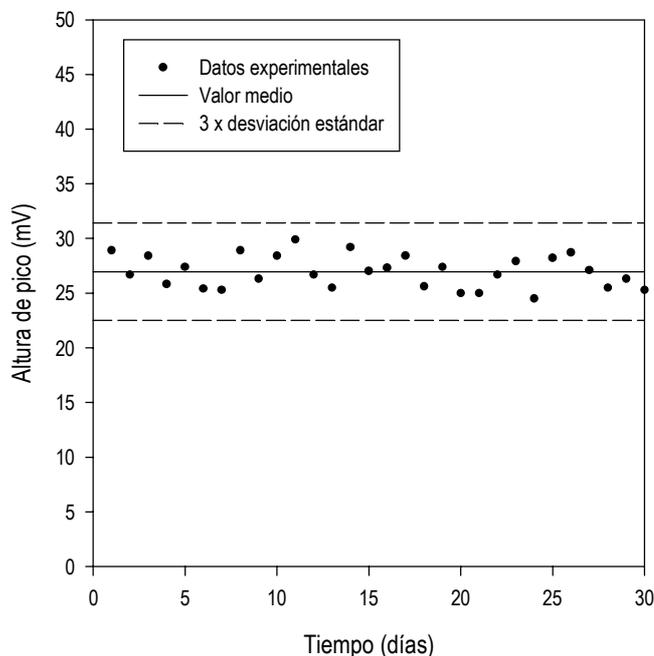


Figura 7.17: Evaluación de la reproducibilidad del sistema para una muestra de $2.5 \cdot 10^{-7}$ M en $Pb(NO_3)_2$.

7.4 EVALUACIÓN DEL ANALIZADOR AQUAMET EN CONDICIONES DE FUNCIONAMIENTO AUTÓNOMO

Una vez que se han evaluado y caracterizado cada una de las variables que definen al sistema FIA, se procede a definir las condiciones óptimas para trabajar en régimen autónomo, sin necesidad de intervención continuada del operario. Es por ello que se programa el analizador (a través del Software que dispone) para controlar de forma autónoma su funcionamiento durante periodos prolongados de trabajo (por ejemplo durante la noche y los fines de semana).

| ETAPAS DE TRABAJO DEL ANALIZADOR | |
|---|---------|
| Tiempo de preconcentración | 500 seg |
| Etapa de limpieza | 70 seg |
| Etapa de estabilización de la línea base | 100 seg |
| Etapa de Medida | 250 seg |
| Llenado del bucle de elución | 40 seg |
| Etapas de descarga (incluye limpieza y preparación de la columna para el siguiente análisis) | 3 |

Tabla 7.10: Establecimiento de las condiciones para el funcionamiento autónomo del analizador.

Estas son las etapas básicas de funcionamiento, pero también es necesario establecer cada cuánto tiempo se desea realizar un análisis y un calibrado. Esto dependerá de las necesidades que existan en cada momento.

Antes de comenzar la validación del analizador con muestras reales se realizaron una serie de estudios con muestras sintéticas para tener conocimiento previo del comportamiento del sistema. Al principio de nuestro estudio preparábamos los patrones mediante diluciones sucesivas de una disolución stock 10^{-4} M obtenida por pesada a partir de la sal $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (Fluka). Posteriormente se pasó a utilizar como disolución stock un patrón estándar de 1000 ppm (Fluka, *lead atomic spectrometry standard solution*).

La elección de los patrones de autocalibrado dependerá del nivel de concentración al que se encuentre el analito en la muestra. Teniendo en cuenta que una de las aplicaciones finales de nuestro analizador será el análisis de plomo en redes de distribución de agua potable, donde los contenidos de plomo rara vez superan los 1000 ppb, se decide escoger como patrones de autocalibrado los siguientes: P1=0 (blanco), P2= 10^{-7} M (20.7 ppb) y P3= 10^{-6} M (207 ppb).

En la Figura 7.18 aparece una comparación de dos autocalibrados, uno realizado a partir del patrón estándar y el otro realizado de la manera habitual, donde se puede apreciar que los resultados son muy semejantes. Se decidió utilizar el patrón de Fluka para preparar los restantes patrones ya que éste posee mejores propiedades metrológicas y es el utilizado en Absorción Atómica que será una de las técnicas seleccionadas como método de referencia para estudios comparativos.

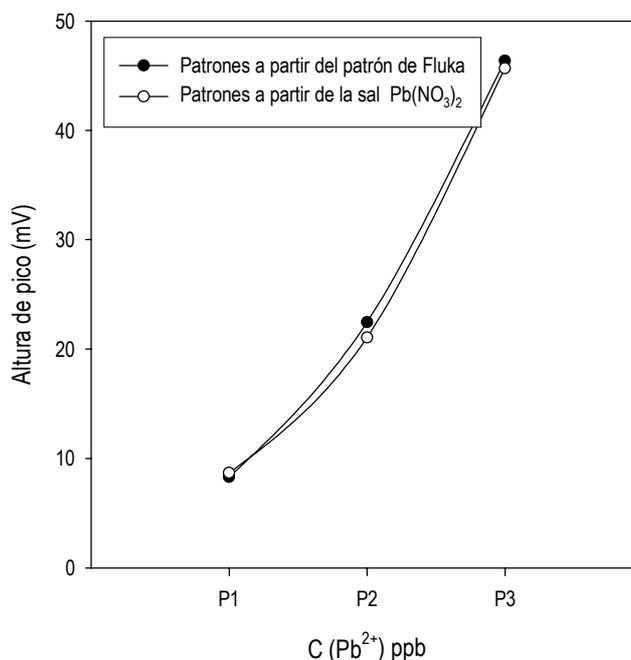


Figura 7.18: Comparación de dos autocalibrados del AQUAMET.

Se prepararon muestras de agua del grifo con un cierto contenido de plomo (intentando simular las condiciones reales) y se programó el analizador para que trabajase en régimen autónomo durante un mes. En la Figura 7.19 se presentan la evolución de las señales de los tres patrones de autocalibrado para un electrodo, así como la interpolación, en estos calibrados, de diferentes muestras de agua del grifo dopadas.

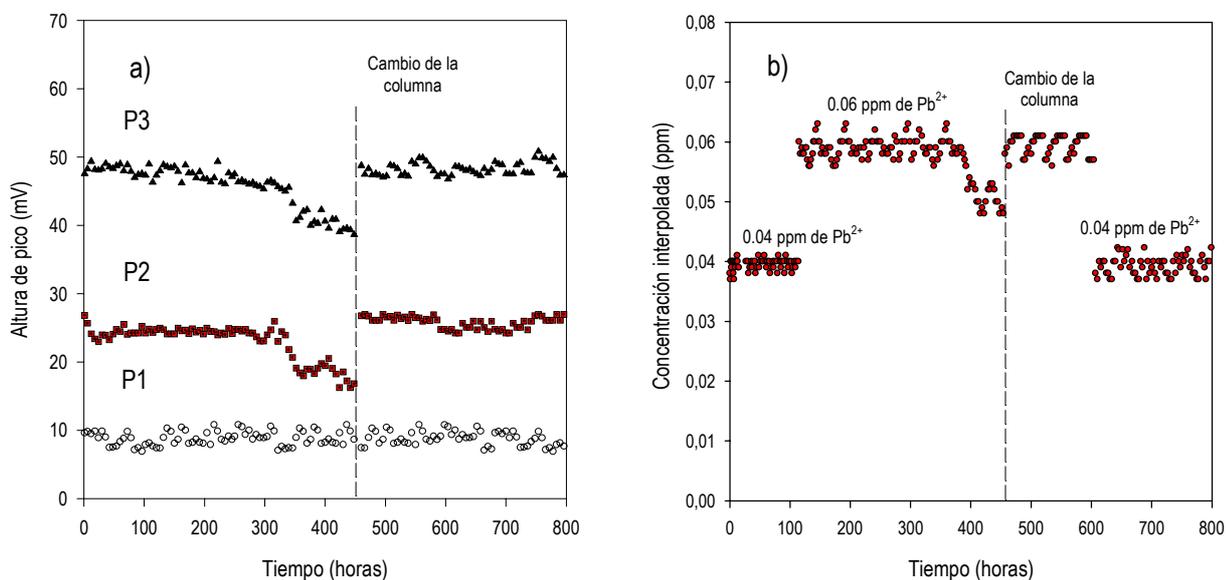


Figura 7.19: (a) Evolución de las señales de los patrones de autocalibrado; (b) Interpolación de muestras dopadas de agua del grifo.

En este estudio, el AQUAMET se calibra automáticamente cada 6 horas y con los valores experimentales obtenidos para P1, P2 y P3 se aplica una regresión no lineal, obteniéndose un valor medio para la pendiente de 29.84 ± 0.31 mV/déc ($n=135$, $I^{95\%}$) y un límite de detección de 0.01 ppm con una desviación estándar relativa del 2 %. En la Figura 7.19 (a) se muestra la constancia de las señales de los patrones de autocalibrado durante aproximadamente 18 días, posteriormente la señal de los patrones comienza a decrecer y como consecuencia de ello se sustituye la columna de preconcentración por una nueva. Una vez sustituida la columna se recuperan las señales de los patrones y los valores son semejantes a los obtenidos al inicio.

Es importante comentar, que los valores de línea base, para los tres patrones, sufren una cierta oscilación o deriva durante el estudio, pero esto no tiene gran importancia si consideramos que una de las ventajas que nos ofrece la técnica FIA es que cualquier deriva del potencial se ve minimizada gracias a que las mediciones son relativas al potencial de línea base.

En la Tabla 7.11 se muestra algunos resultados obtenidos al realizar con el AQUAMET sucesivos autocalibrados, así como las expresiones ajustadas de cada uno de ellos, en estas expresiones se podrá realizar la interpolación de las diferentes muestras analizadas.

| CALIBRADO | PATRÓN | SEÑAL (mV) | EXPRESIONES AJUSTADAS |
|-----------|--------|------------|--|
| 1 | P1 | 9.43 | $H = 66.18 + 28.62 \cdot \log(C_{Pb^{2+}} + 0.0103)$ |
| | P2 | 22.72 | |
| | P3 | 46.8 | |
| 2 | P1 | 10.01 | $H = 69.05 + 30.62 \cdot \log(C_{Pb^{2+}} + 0.0117)$ |
| | P2 | 23.15 | |
| | P3 | 48.4 | |
| 3 | P1 | 10.2 | $H = 66.98 + 29.83 \cdot \log(C_{Pb^{2+}} + 0.0106)$ |
| | P2 | 23.81 | |
| | P3 | 48.8 | |
| 4 | P1 | 10.0 | $H = 68.65 + 31.57 \cdot \log(C_{Pb^{2+}} + 0.0137)$ |
| | P2 | 22.2 | |
| | P3 | 47.5 | |
| 5 | P1 | 8.33 | $H = 67.95 + 31.27 \cdot \log(C_{Pb^{2+}} + 0.0123)$ |
| | P2 | 21.33 | |
| | P3 | 46.9 | |

Tabla 7.11: Datos de cinco calibraciones sucesivas y las expresiones ajustadas para los diferentes calibrados.

Estos autocalibrados se ha realizado dejando un tiempo de 6 horas entre cada uno de ellos, si analizamos los resultados notaremos, que los valores de los diferentes parámetros apenas varían de un calibrado a otro. Cuando analizamos muestras reales solo tenemos que aplicar las formulas de la tabla Tabla 7.11 a los datos de las alturas de pico de las muestras y de esta manera obtendremos los valores de las concentraciones para cada una de ellas.

Referencias Bibliográficas

- [1] S. Olsen, L. C. R. Pessenda, J. Ruzicka. E. H. Hansen. *Analyst*, **108** (1983) 905.
- [2] S. Martínez “Desenvolupament d’analizadors de tensoactius aninics i no iònics per a l’aplicacio medioambiental”. Tesi Doctoral. UAB (2002).
- [3] T. I. M. S. Lopes, A. O. S. S. Rangel, R. P. Sartini, E. A. G. Zagatto. *Analyst*, **121** (1996) 1047.
- [4] E. Rubí, M. S. Jiménez. F. Bauz de Mirab. R. Forteza, V. Cerd. *Talanta*, **44** (1997) 553.
- [5] S. C. Pai, P. Y. Whung, R. L. Lai. *Anal. Chim. Acta*, **211** (1988) 257.
- [6] S. D. Hartenstein, J. Ruzicka, G. D. Christian. *Anal. Chem.*, **57** (1985) 21.
- [7] E. A. Novikov, L. K. Shpigun, Y. A. Zolotov. *Anal. Chim. Acta*, **230** (1990) 157.
- [8] Chelex-100. Chelating Ion Exchange Resin: Instruction Manual, BioRad Laboratories.
- [9] M. N. Quigley, F. Vernon. *Anal. Proc.*, **28** (1991) 175.
- [10] H. M. Kingston, I. L. Barnes, T. J. Brady, T. C. Rains, M. A. Champ. *Anal. Chem.*, **50** (1978) 2064.
- [11] I. Cukrowski, S. A. Loader. *Electroanalysis*, **10 (13)** (1998) 877.
- [12] M. J. Shaw, S. J. Hill, P. Jones, P. N. Nesterenko. *Anal. Commun.*, **36** (1999) 399.
- [13] M. J. Shaw, S. J. Hill, P. Jones. *Anal. Chim. Acta*, **401** (1999) 65.
- [14] L. A. Movchan, I. A. Savich, A. S. Kudryavtsev. *Zh, Neorg. Khim.*, **16 (5)** (1971) 1441.
- [15] J. C. Miller, J. N. Miller. *Estadística para Química Analítica*, Segunda Edicio., Addison-Wesley Iberoamerican, S. A., (1993).