

Objectius



2. OBJECTIUS

La degradació de la qualitat de les aigües superficials s'ha convertit en un greu problema, tant pel negatiu impacte que aquest fet té sobre molts ecosistemes fluvials com per al seu aprofitament en nombroses activitats antropogèniques (consum humà, ús industrial i agrícola, oci, etc.). El control de la qualitat d'aquest recurs escàs ha de proveir informació que permeti establir els nivells de degradació existents, avaluar el compliment de la legislació mediambiental, verificar l'efectivitat de les mesures correctores aplicades, alertar sobre abocaments il·legals i minimitzar riscos en l'aprofitament. La complexitat en els problemes analítics que es plantegen ha portat a la definició d'un conjunt de paràmetres bàsics (indicadors de qualitat) que ens subministren una visió global de la qualitat de l'aigua en funció del seu ús posterior.

Idealment, un control adequat de la qualitat exigeix disposar d'informació en temps real de l'estat del recurs. Amb aquest objectiu, és molt important el desenvolupament d'eines analítiques que ens subministren la informació de forma automatitzada i autònoma. Aquests instruments són claus per possibilitar la implantació de xarxes d'alerta automàtica de la qualitat de l'aigua i, aquestes xarxes són imprescindibles per a la realització d'una monitorització mediambiental efectiva.

Un dels problemes greus que afecten a la qualitat de l'aigua és l'eutrofització. L'eutrofització és la condició d'un sistema aquàtic a on elevades concentracions de nutrients estimulen la floració d'algues, amb els problemes que d'això se'n deriven.

L'increment de la concentració de nutrients, responsable d'aquest fenomen, apareix com a resultat d'aportacions antropogèniques massives i incontrolades. Un adequat coneixement del contingut de nutrients com a indicador de la qualitat en aigües superficials ens permetrà prendre les mesures correctores necessàries per reduir els abocaments i limitar al màxim possibles episodis d'eutrofització. D'entre tots els nutrients, el fòsfor sembla ser, en la majoria dels casos, el factor limitant en l'aparició dels processos d'eutrofització.

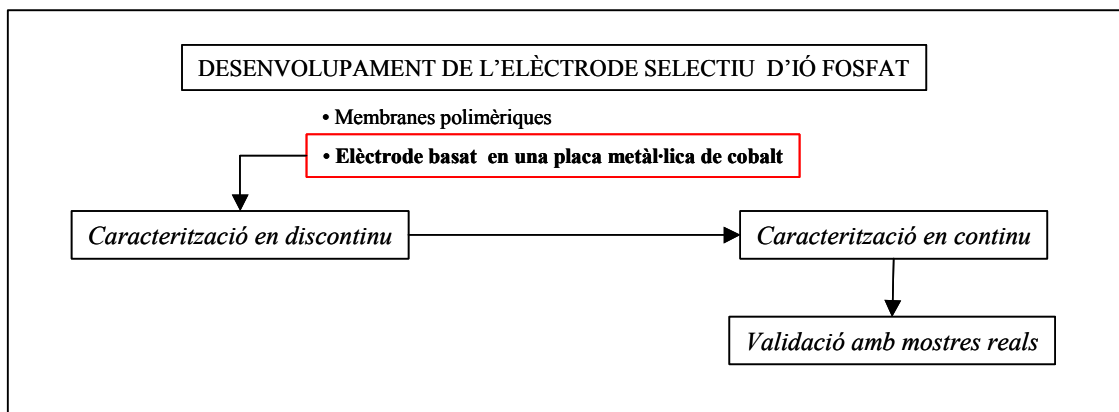
En aquest context, l'objectiu global de la present tesi és el disseny, desenvolupament i avaluació d'un analitzador automatitzat i autònom d'ió fosfat per a la monitorització continua d'aquest indicador de qualitat en aigües superficials. El desenvolupament d'aquest equip es basarà en la integració de tècniques automatitzades de flux continu (FIA) amb detectors potenciomètrics i, concretament, l'ús d'elèctrodes selectius d'ions. Per aconseguir aquest objectiu final es planteja:

1. Desenvolupar, optimitzar i avaluar un elèctrode selectiu d'ortofosfat que presenti unes característiques de resposta òptimes per ser integrat com a detector en un sistema automatitzat de flux.
2. Dissenyar i avaluar el sistema de gestió de fluids que permeti l'automatització del procediment d'anàlisi i el seu funcionament autònom.
3. Desenvolupar, optimitzar i avaluar sistemes de flux que incorporin *on-line* una etapa prèvia de preconcentració de la mostra.
4. Validar el funcionament de l'analitzador en condicions controlades de laboratori i instal·lat a camp en una estació d'alerta automàtica.

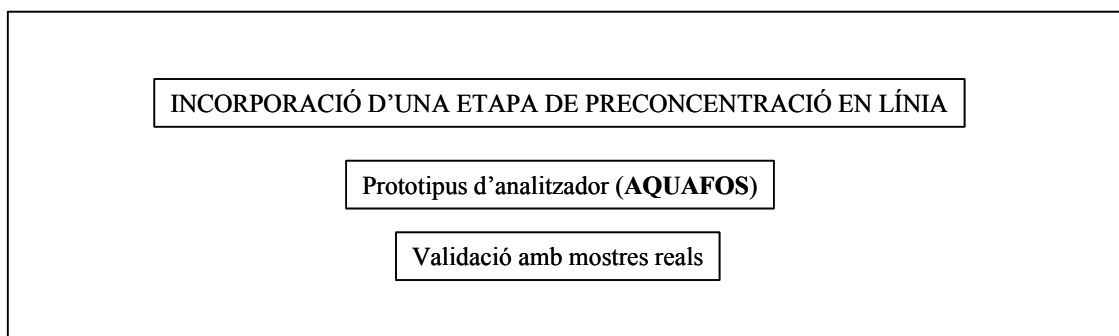
Per a la realització del treball descrit en la present tesi i en el marc del conveni de col·laboració existent entre el Grup de Sensors i Biosensors de la Universitat Autònoma de Barcelona (GSB), la Societat General d'Aigües de Barcelona (SGBA) i la seva filial d'enginyeria, l'empresa Adasa Sistemes S.A., ha estat necessari la formació d'un grup multidisciplinar que inclou químics analítics, enginyers electrònics i informàtics. L'objectiu general d'aquest conveni és el disseny i desenvolupament d'equips automàtics industrials per a l'anàlisi de paràmetres mediambientals. És condició indispensable el desenvolupament d'equips robustos que funcionin en règim autònom, a fi de realitzar un control continu i en temps real de la qualitat de les aigües superficials.

A continuació es mostra un esquema del procediment seguit en el desenvolupament del primer prototipus d'analitzador (AQUAFOS), a on es descriuen els objectius i l'estructura del treball realitzat a fi de facilitar la seva comprensió.

1a PART SISTEMA FIA D'ÍO FOSFAT AMB DETECCIÓ DIRECTA



2a PART SISTEMA FIA D'ÍO FOSFAT AMB PRECONCENTRACIÓ EN LÍNIA



Part
experimental



3. MATERIALS I MÈTODES

En aquest capítol es descriu la instrumentació emprada en l'avaluació dels elèctrodes, així com els reactius utilitzats. També s'especificaran les diferents metodologies de la construcció dels dispositius en funció de l'element de reconeixement emprat (elèctrode de segona espècie o elèctrode de membrana polimèrica) i la preparació dels còctels sensors.

3.1 REACTIUS

En la preparació de les diferents dissolucions s'utilitzen reactius de qualitat pro-anàlisi o superior i aigua bidestil·lada.

Taula 3.1: Relació de productes emprats durant el treball experimental.

Dissolucions patró			
<i>Producte</i>	<i>Marca</i>	<i>Producte</i>	<i>Marca</i>
Dihidrogenfosfat potàssic (KH_2PO_4)	Fluka	Clorur de potassi (KCl)	Merck
Monohidrogenfosfat potàssic (K_2HPO_4)	Fluka	Àcid fosfòric (H_3PO_4 85%)	Panreac
KOH (90% puresa)	Panreac	Àcid sulfúric (H_2SO_4 96%)	Panreac
Nitrat potàssic (KNO_3)	Merck	Àcid clorhídric (HCl 37%)	Panreac

Sulfat potàssic (K ₂ SO ₄)	Merck	Àcid nítric (HNO ₃)	Panreac
Hidrogencarbonat de sodi (NaHCO ₃)	Merck		
Dissolucions condicionadores			
<i>Producte</i>	<i>Marca</i>	<i>Producte</i>	<i>Marca</i>
Hidrogenftalat de potassi (KHF)	Merck	Amoníac 30%	Panreac
Tetraborat sòdic, Na ₂ B ₄ O ₇	Merck	Àcid 4-(2-hidroxiètil-piperacina-1-propan)-sulfònic (EPPS)	Fluka
Tris(hidroximetil)aminometà (TRIS)	Merck		
Preparació de les membranes			
<i>Producte</i>	<i>Marca</i>	<i>Producte</i>	<i>Marca</i>
5,10,15, 20-tetra-p-toluil-21H, 23H-porfina	Aldrich	Nitrofenilòctil èter (o-NPOE)	Fluka
1,4,8,11-tetraazacicotetradecà-5,7-diona	Fluka	Sebacat de dibutil (DBS)	Fluka
Òxid de [bis-[tris (2-metil-2-fenil-propil)estany]]	Riedel-de Haën	Adipat de bis(1-butilpentil)	Fluka
Bis-tiourea	GSB	Clorur de polivinil (HMW)(PVC)	Fluka
Cobalt metàl·lic 99.9%	Goodfellow	Bromur de tetradodecilamoni (TDABr)	Fluka
Tetrahidrofuran (THF)	Merck	Bromur de tetraoctilamoni (TOABr)	Fluka
Construcció elèctrodes			
<i>Producte</i>	<i>Marca</i>	<i>Producte</i>	<i>Marca</i>
Epoxy Araldit M	Ciba Geigy	Resina conductora de plata	EPO-TEK
Enduridor HR	Ciba Geigy	Enduridor resina conductora	EPO-TEK
Grafit	Merck		
Resines d'intercanvi iònic			
Sep-Pak (amina quaternària)	Waters	LiChrolut- NH ₂	Merck

3.1.1 Dissolucions condicionadores

Per a la caracterització i avaluació dels elèctrodes és necessària la presència en la dissolució de treball d'un medi iònic que permeti tancar el circuit elèctric format per l'elèctrode de referència i el selectiu d'ions. De forma general, cal escollir un medi que no interfereixi en la mesura potenciomètrica ni sigui agressiu per a la membrana. En el nostre cas, degut a què l'anió a determinar és una espècie polipròtica, és necessari també tamponar la dissolució al pH desitjat. L'àcid fosfòric presenta unes constants d'acidesa de 2.15, 7.20 i 12.15. A mesura que augmenta el pH apareixen les diferents espècies aniòniques, trobant a pH 4.7 aproximadament un 100% de l'espècie monovalent, H_2PO_4^- , i a pH 9.7 un 100% de l'espècie divalent, HPO_4^{2-} . Tenint en compte els criteris establerts, s'han assajat dissolucions condicionadores amb capacitat tampó en la zona de pH 4, per determinar l'espècie dihidrogenfosfat, o bé en la zona de pH 9 a fi de determinar l'hidrogenfosfat. La taula 3.2 mostra els reactius per preparar les diferents dissolucions amortidores així com les constants d'acidesa (pKa) del parell àcid-base corresponent.

Taula 3.2: Dissolucions amortidores utilitzades en els calibratges.

Reactiu	pKa
Hidrogenftalat de potassi (KHF)	2.95; 5.41
Tetraborat sòdic, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$	9.24; 12.74; 13.80
Tris(hidroximetil)aminometà (TRIS)	8.08
Amoníac 30%	9.24
Àcid 4-(2-hidroxietil-piperacina-1-propan)-sulfònic (EPPS)	8.0

Les dissolucions es preparen amb aigua bidestil·lada i s'ajusten al pH desitjat amb àcid sulfúric o hidròxid de potassi.

3.2 PREPARACIÓ DE LES MEMBRANES SELECTIVES DE PORTADOR MÒBIL

En una primera etapa del treball es van estudiar diferents molècules com a potencials ionòfors d'ió fosfat. En concret, es van avaluar quatre ionòfors: una porfirina, una poliamida cíclica, una bis-tiourea i un compost organometàl·lic d'estany. Amb cadascun d'ells es van preparar diferents còctels sensors variant el percentatge de ionòfor i d'additiu, així com el solvent mediador utilitzat. Respecte a aquest últim, la seva capacitat per solubilitzar l'element de reconeixement és el pas limitant quan aquest és una espècie bastant polar. Per tant, la primera

condició a l'hora de seleccionar el plastificant és que aquest permeti la solubilització de l'element de reconeixement en el còctel sensor final.

Una vegada s'han seleccionat els diferents components, el següent pas és la preparació de la membrana sensora. El tipus de membrana preparada es cataloga com a membrana polimèrica o de PVC, al ser aquest el component que presenta la funció de matriu i de suport físic.

De forma general, totes les membranes polimèriques preparades, tant en l'estudi preliminar com en la caracterització posterior presenten la següent composició (% en pes):

-60-65% de plastificant

-30-33% de PVC

-0.2-5% de ionòfor

-0.25-0.50 d'additiu en relació molar respecte a el ionòfor. Component opcional en algunes membranes i necessari en d'altres.

La metodologia de preparació dels còctels sensors és sempre la mateixa: els components es pesen i barregen en un vial. Després s'afegeix THF, en una proporció de 0.05 ml per cada 1 mg de PVC. El THF dissol i homogeneïtza els diferents components de la membrana. Aquesta dissolució es diposita sobre el suport conductor. El THF s'evapora i s'obté un film, que es deixa assecar durant 24 hores a temperatura ambient i finalment es condicionen els elèctrodes abans de realitzar els calibratges.

La composició detallada de cada membrana preparada i el condicionament dels diferents dispositius, es comentarà en el capítol de resultats a fi de facilitar la lectura.

3.3 CONSTRUCCIÓ DELS ELÈCTRODES

3.3.1 Configuració convencional

3.3.1.1 Elèctrode de membrana polimèrica

La caracterització inicial de les membranes formulades es realitza mitjançant la construcció d'elèctrodes de configuració convencional^[1] per a ser usats en sistemes discrets de mesura. Aquests es caracteritzen per presentar un contacte elèctric intern sòlid (*all solid state*), constituït per un polímer conductor d'epoxi-grafit. S'assumeix que, com a conseqüència de la permeabilitat del PVC a l'aigua i l'oxigen, el parell redox format per O₂/H₂O és el

responsable del potencial intern de referència del sistema epoxi-grafit/membrana de PVC^[2-3]. Els principals avantatges d'aquest tipus d'elèctrodes en front dels de membrana amb dissolució interna líquida són la seva robustesa mecànica i la gran versatilitat en quan a configuracions que es poden dissenyar i construir en funció de les necessitats de l'aplicació.

Com es mostra a la figura 3.1, i per a l'obtenció d'elèctrodes de configuració convencional es prepara, inicialment, el cos del sensor i la connexió elèctrica i posteriorment, es deposita la membrana sensora.

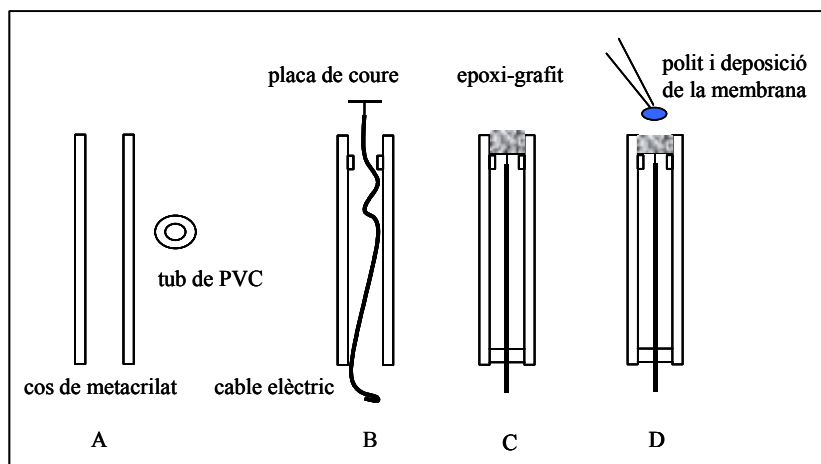


Figura 3.1: Construcció d'un elèctrode convencional d'estat sòlid de membrana polimèrica.

En un tub de metacrilat de 0.8 cm de diàmetre intern i 10 cm de llargada, introduïm un petit tros de tub de PVC a 0.5 cm de distància dels extrems (fig. 3.1A). Paral·lelament es solda, perpendicular al cable elèctric, una placa de coure (fig. 3.1B).

S'introdueix el cable en el tub de metacrilat de manera que la placa quedi centrada i perfectament recolzada sobre el tros de tub de PVC. Es tensa el cable i s'encola al tub de PVC per l'extrem oposat. El buit que queda entre la placa de coure i el cos de metacrilat s'omple amb pasta conductora epoxi-grafit (1:1) (fig. 3.1C)^[4-5]. L'epoxi és una resina formada per Araldit M i enduridor HR en proporcions 1:0.4. Un cop omplert es cura la pasta durant 24 hores a 40°C. Posteriorment, es poleix la superfície i es genera una cavitat de 0.3 mm on es depositarà finalment el còctel sensor (fig. 3.1D).

Abans de realitzar la deposició del còctel sensor, es neteja la superfície polida amb etanol a fi d'eliminar impureses i assegurar una bona adherència de la membrana. El procés de deposició de la membrana es fa gota a gota deixant evaporar el THF després de cada addició. L'addició de les primeres gotes és el pas més crític per obtenir una distribució homogènia de la membrana en tota la superfície. Cal anar en compte que no es formin bombolles d'aire que restarien atrapades a l'assecar-se i distorsionarien la resposta de l'elèctrode.

La següent figura mostra de forma més "real" tot el procés descrit:

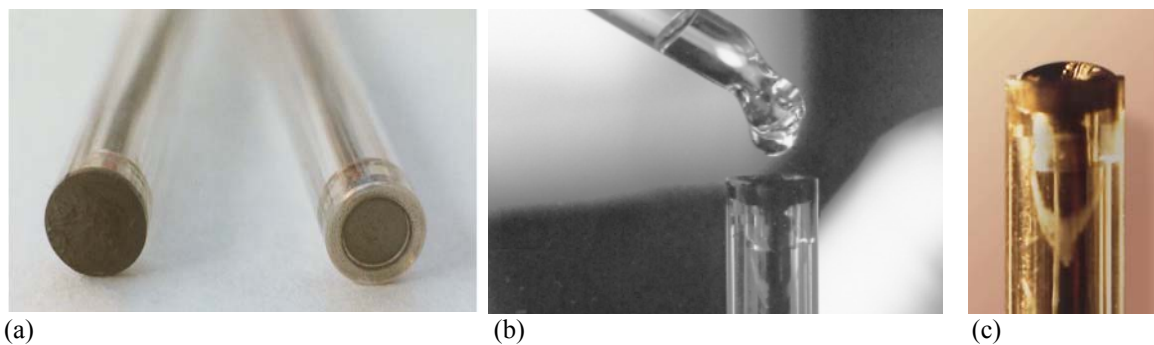


Figura 3.2: Detalls de l'etapa de construcció de l'elèctrode: (a) Vista frontal dels elèctrodes abans i després de polir la pasta epoxi-grafit. (b) Deposició de la membrana gota a gota. (c) Gota de còctel sensor dipositada que es deixa reposar fins a l'evaporació del THF.

3.3.1.2 Elèctrode basat en una placa metàl·lica de cobalt

La metodologia de construcció d'aquest elèctrode de segona espècie és més senzilla que l'anterior. En aquest cas, la placa de cobalt, que actua com a element de reconeixement es solda directament al fil elèctric (fig. 3.3A). El cos de l'elèctrode es construeix de la mateixa manera que en l'apartat anterior. S'utilitza un tub de metacrilat al qual li hem introduït un tros de tub de PVC a cada extrem, a una distància de 0.2 cm, de tal manera que la placa de cobalt queda aproximadament a nivell del tub de metacrilat.

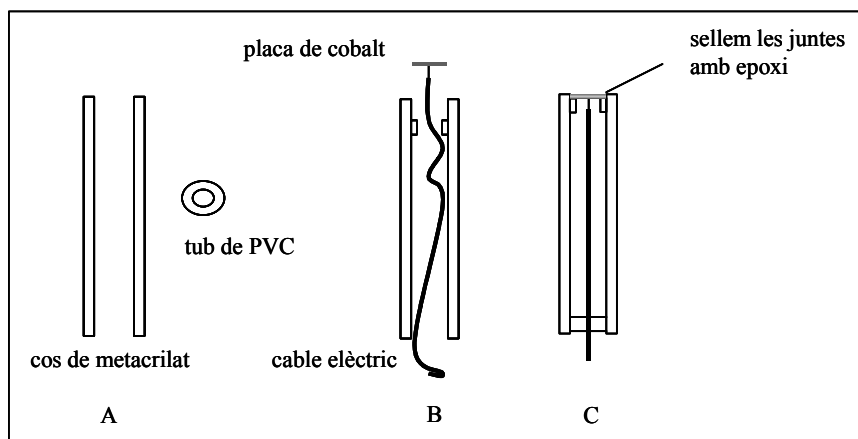


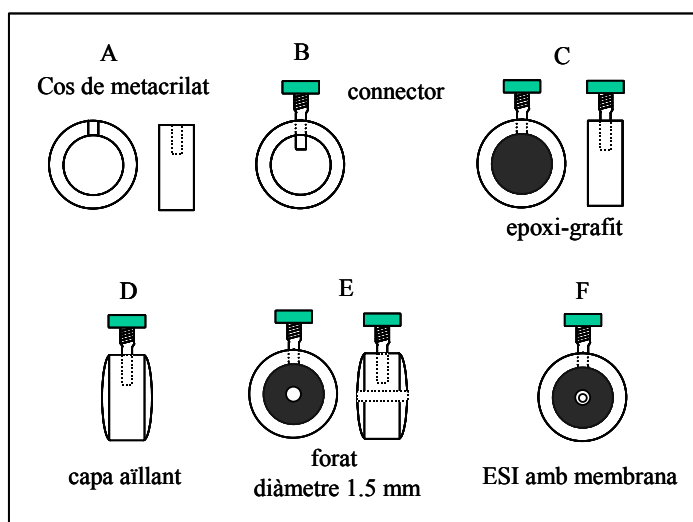
Figura 3.2: Construcció dels elèctrodes de configuració convencional basats en una placa de cobalt.

La placa es centra sobre el tub de PVC, es tensa el cable i es segella amb silicona (fig. 3.3B). El buit que queda al voltant la placa i el tub s'omple d'epoxi per aïllar les connexions elèctriques de la dissolució (fig. 3.3C). Es deixa a l'estufa aproximadament 12 hores i finalment els dispositius es condicionen.

3.3.2 Configuració tubular

3.3.2.1 Elèctrode de membrana polimèrica

Per a la construcció dels elèctrodes de configuració tubular s'utilitza la metodologia establerta pel Grup de Sensors i Biosensors^[4, 6-7]. Tal i com mostra la figura 3.4, la tècnica consisteix en els següents passos. A un tub cilíndric de metacrilat (0.8 cm de longitud i 1.2 cm de diàmetre intern) s'insereix el connector elèctric per la part central (fig. 3.4B). El cos de l'elèctrode s'omple de pasta epoxi-grafit i es cura a 40 °C durant 24 hores. Igual que en el cas anterior es



poleixen ambdues cares del dispositiu deixant a nivell l'epoxi-grafit amb el cos de metacrilat (fig. 3.4C). Un cop fet, s'aïllen amb una capa d'epoxi les dues cares polides i es deixen curar a l'estufa durant 12 hores (fig. 3.4D). Finalment, es perfora de forma longitudinal el centre del cos amb una broca de 1.5 mm (fig. 3.4E) i es realitza la deposició de la membrana (fig. 3.4F).

Figura 3.3: Construcció d'un elèctrode tubular de membrana líquida.

La deposició de la membrana es realitza gota a gota en varies etapes, per afavorir la formació d'una pel·lícula homogènia que recobreix internament el forat de l'elèctrode. D'aquesta manera es redueix el seu diàmetre inicial fins a un valor aproximat de 0.8 mm. Finalment, després de la darrera deposició es deixa secar a temperatura ambient a fi d'assegurar-nos que tot el THF s'ha evaporat i es condicionen submergint-los en una dissolució 0.1 M de l'analit a determinar durant una hora^[8].

3.3.2.2 Elèctrode basat en una placa metàl·lica de cobalt

En aquest cas també es construeixen elèctrodes de configuració tubular amb la placa de cobalt. El procediment de construcció, consta de menys etapes que en els elèctrodes de PVC i els materials emprats són pràcticament els mateixos però amb diferents mides.

El cos de l'elèctrode es construeix a partir d'un tub de metacrilat de 0.5 mm de diàmetre intern (fig. 3.5A), de manera que el disc de cobalt encaixi perfectament en l'orifici. Posteriorment, s'introdueix el connector que presenta forma de pinça. La placa de cobalt queda encaixada entre les petites potes del connector (fig. 3.5B) i es segella la unió amb epoxi-plata per assegurar una bona connexió elèctrica (fig. 3.5C). A l'igual que en els elèctrodes de membrana polimèrica, s'aïllen les dues cares de l'elèctrode amb una resina epoxi (fig. 3.5D) i es deixa curar a l'estufa durant 24 hores a 40°C. Finalment, es perfora longitudinalment el centre del dispositiu amb una broca de 1.0 mm (fig. 3.5E).

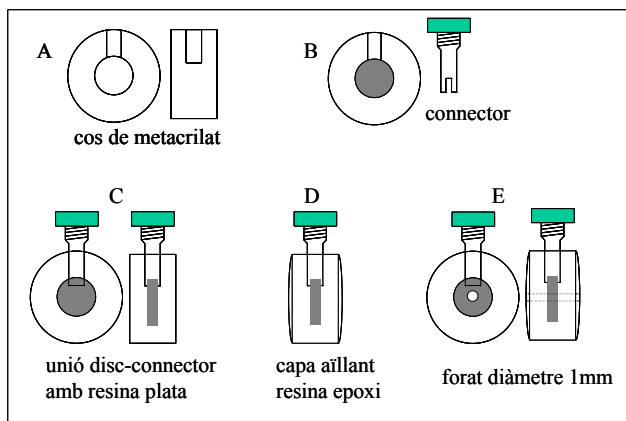


Figura 3.4: Construcció de l'elèctrode de cobalt en configuració tubular.

La construcció d'aquest tipus d'elèctrodes amb configuració tubular permet una integració senzilla en sistemes de flux i el manteniment de les condicions hidrodinàmiques d'aquest. La figura 3.6 mostra una fotografia del suport de l'ESI tubular dissenyat. L'elèctrode es col·loca entre dues peces de metacrilat que presenten un orifici central per on circulen els líquids i que ha de coincidir amb l'orifici del sensor. Les dues peces de metacrilat s'uneixen entre si amb quatre cargols que es troben en els vèrtexs de les mateixes. La pressió exercida pels cargols es clau, ha de permetre la circulació dels líquids però mantenir la estanqueïtat del dispositiu a fi d'evitar pèrdues dels fluids que circulen.

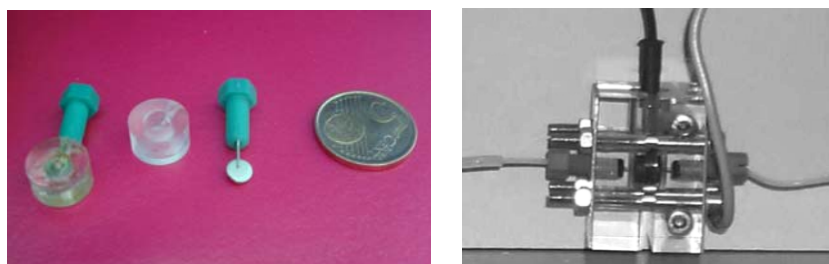


Figura 3.6: Fotografies. Esquerra: elèctrode de cobalt en configuració tubular; dreta: suport d'elèctrodes tubulars.

3.4 COLUMNA DE PRECONCENTRACIÓ

3.4.1 Disseny de la columna de preconcentració

En base a l'experiència del grup^[9] en la integració d'etapes de preconcentració en sistemes de flux continu, es construeixen columnes de metacrilat amb el disseny que es mostra en la figura 3.7. El diàmetre intern (D) és de 1.8 mm. Aquest ha estat optimitzat a fi de minimitzar la dispersió de la mostra i la sobrepressió que s'origina al passar el flux per l'adsorbent i s'ha avaluat la influència de la longitud de la mateixa (L), és a dir, la quantitat de resina necessària per a assolir la capacitat de preconcentració requerida en el cas de detectar fosfats a nivells mediambientals (aigües naturals). En el capítol de resultats es discutirà de forma més detallada la longitud de la columna i el volum de mostra a preconcentrar necessaris per a assolir els límits de detecció requerits.

Les columnes s'omplen del rebliment desitjat per aspiració d'una suspensió de la resina amb aigua bidestil·lada. Inicialment es col·loca el fritat en l'extrem superior de la columna. La aspiració es realitza mitjançant una bomba peristàltica i el sorbent es va empaquetant fins que s'observa que la columna està totalment reblerta. Finalment, es col·loca el fritat a l'extrem oposat i es condiciona la columna amb aigua bidestil·lada durant 10 minuts i amb una dissolució àcida, en el nostre cas hidrogenftalat de potassi a pH 4 durant 15 minuts^[10-11]. Cal evitar que la columna quedi seca ja que podrien aparèixer canalitzacions en el propi material que farien que el camí mig recorregut per l'analit no fos reproducible.

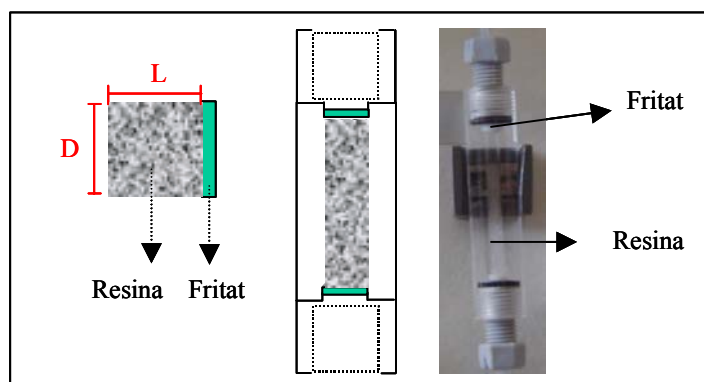


Figura 3.5: Esquema general de la columna de preconcentració i fotografia de la mateixa.

Els fritats emprats són de polipropilè amb un tamany de porus de 35 micres subministrats per MoBiTec. I pel que fa als rebliments assajats s'escullen dues resines de bescanvi

aniònic, una de forta basada en grups amino quaternaris amb matriu sintètica d'estirè-divinilbenzè (Waters), i una de feble que presenta com a grup bescanviador una amina primària enllaçada a una matriu de sílica (LiChrolut NH₂, Merck).

3.5 INSTRUMENTACIÓ

3.5.1 Mesures en discontinu (*batch*)

Aquesta configuració ha estat l'emprada per al desenvolupament i caracterització de noves membranes i sensors de fosfat. Es mesura la diferència de potencial entre l'elèctrode indicador i el de referència, mitjançant un potenciòmetre Crison 2002 (± 0.1 mV). Com a elèctrode de referència s'utilitza un de Ag/AgCl de doble unió líquida (Orion 90-02-00). El compartiment intern d'aquest elèctrode s'omple d'una dissolució de clorur de potassi saturada de clorur de plata subministrada per la mateixa casa Orion i, l'extern, amb la mateixa dissolució tampó utilitzada en els calibratges. A fi d'agilitar el procés de caracterització dels dispositius, s'ha dissenyat i construït en el Grup de Sensors i Biosensors un commutador digital que permet mesurar simultàniament el potencial generat per vuit elèctrodes. Aquest està controlat per un PC, que també s'encarrega d'obtenir el senyal del potenciòmetre digital mitjançant un cable de comunicació RS-232C. L'ordinador tracta i representa les dades capturades facilitant i agilitant el procés de calibratge. El sistema de mesura es mostra a la figura 3.8.

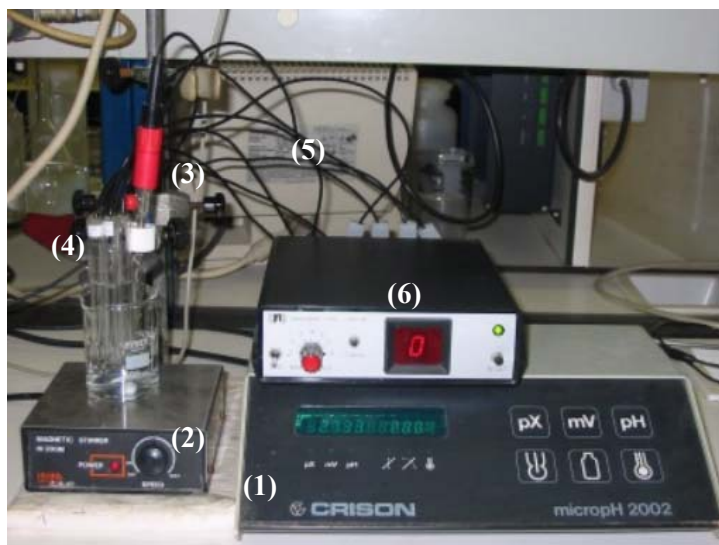


Figura 3.8: Dispositiu instrumental utilitzat en la caracterització del sensor en discontinu: (1) potenciòmetre Crison MicropH 2002, (2) agitador magnètic, (3) elèctrode de referència Orion 90-02-00, (4) elèctrodes selectius, (5) connexions elèctriques, (6) commutador digital.

En el cas de realitzar les corbes de calibratge a pH variable, fem mesures simultànies de potencial i pH incorporant al sistema un elèctrode combinat de membrana de vidre Ingold model 10/402/3092 (Crison).

3.5.2 Mesures en flux

3.5.2.1 Sistema FIA

Tecnològicament, els elèctrodes tubulars tenen unes especificacions de funcionament diferents als de tipus convencional. La integració d'un dispositiu en un sistema de flux provoca que la resposta de l'elèctrode sigui transitòria i el temps de contacte de la mostra amb la membrana depengui del cabal al qual circula la dissolució. Per no perdre informació es requereix l'adquisició d'un gran nombre de mesures en poc temps que han de ser amplificades (recomanable de 10 lectures per segon). Aquests requeriments comporten l'ús d'un sistema d'adquisició de dades especial que incorpora a l'ordinador una targeta d'adquisició de dades PCLAB model 812PG. Per a la mesura de potencial s'utilitza un aparell dissenyat en el nostre grup de recerca, que permet la lectura simultània de fins a quatre elèctrodes i presenta dues entrades addicionals: una per a l'elèctrode de referència i l'altra per a la de presa de terra. A més, aquest sistema permet, via un ordinador, el control de la bomba i de la vàlvula.

La figura 3.9 mostra el disseny final del sistema de flux bicanal emprat en la caracterització dels sensors. Cal comentar que les primeres experiències es van realitzar en un sistema en configuració monocanal (es suprimeix del sistema la dissolució condicionadora i la unió T) per la major simplicitat que aquest suposa però, tal i com es discutirà en el capítol de resultats (vegeu capítol 6), era inviable la utilització d'aquest disseny. Finalment es van optimitzar les variables hidrodinàmiques del sistema de flux en configuració bicanal.

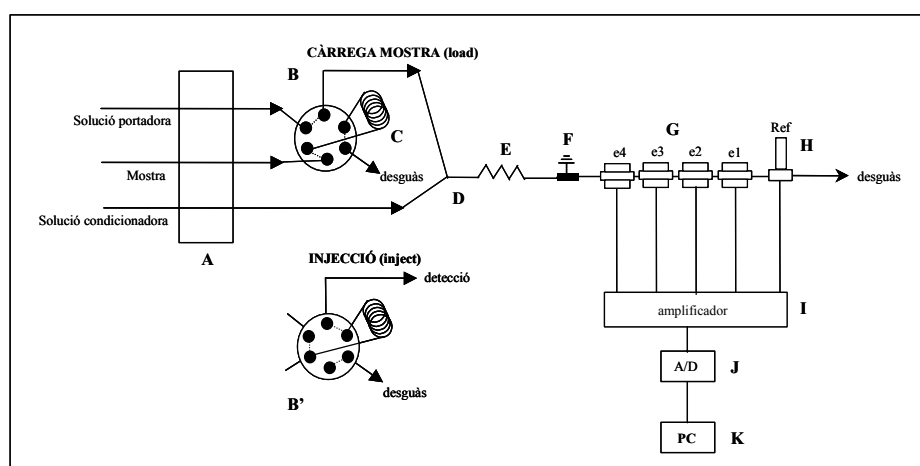


Figura 3.9: Sistema FIA bicanal per a l'anàlisi directa d'ortofosfats. (A) Bomba peristàltica Gilson Minipuls2; (B, B') vàlvula d'injecció automatitzada (Rheodyne), en les dues posicions: de càrrega de mostra i injecció de la mateixa; (C) bucle d'injecció; (D) unió T (peça de metacrilat); (E) tub de mescla; (F) presa de terra; (G) elèctrodes tubulars i suports; (H) elèctrode de referència; (I) potenciòmetre/amplificador; (J) targeta d'adquisició de dades; (K) ordinador personal.

El circuit de fluids, per a tots els sistemes, està constituït per tub de tefló (PTFE) de diàmetre intern 0.8 mm (Omnifit). La unió dels tubs entre sí i amb les diverses parts del sistema es realitza mitjançant connectors (ràcords). Per assegurar l'estanqueïtat de les connexions s'utilitzen juntes tòriques de Viton (Epidor S.A.) (diàmetre intern 1.78 mm). I la confluència de dos canals diferents que constitueixen un punt de mescla, es realitza mitjançant una unió T fabricada en metacrilat.

3.5.2.2 Sistema FIA amb preconcentració on-line

Degut a l'elevat límit de detecció que presenten els dispositius avaluats per a la detecció de l'anió ortofosfat en aigües superficials, es decideix dissenyar un sistema de flux que incorpori una etapa de preconcentració en línia. Amb aquesta finalitat, es construeix un sistema que incorpora una columna de preconcentració integrada i es substitueix la configuració bicanal per una de monocanal tal i com mostra la figura 3.10. Pel que fa a la instrumentació emprada és la mateixa que en el cas anterior, una vàlvula de sis vies permet preconcentrar la mostra. En la posició de càrrega, la mostra passa a través de la columna, preconcentrant-se l'analit. En la posició d'injecció, l'eluent empeny l'analit retengut en la columna cap al detector a on serà mesurat. Així, el grau de preconcentració vindrà determinat pel cabal d'impulsió de mostra i pel temps de càrrega seleccionat.

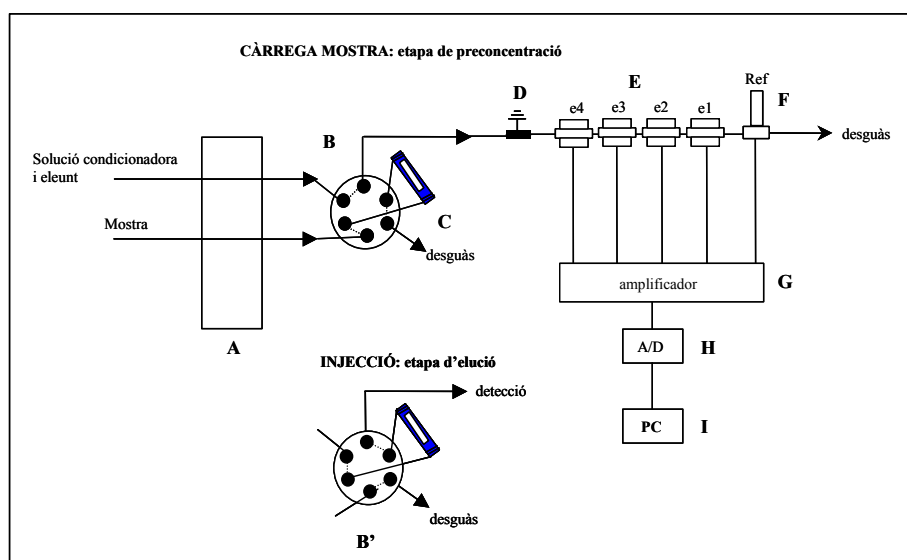


Figura 3.10: Sistema FIA de laboratori amb etapa de preconcentració on-line. (A) Bomba peristàltica; (B, B') Vàlvula d'injecció, en les dues posicions: de càrrega de mostra (preconcentració) i injecció (elució i detecció); (C) Columna de preconcentració; (D) Presa de terra; (E) Elèctrodes tubulars i suports; (F) Elèctrode de referència; (G) Potenciòmetre/amplificador; (H) Targeta d'adquisició de dades; (I) Ordinador personal.

En la figura 3.11 es mostra una fotografia del sistema FIA de laboratori utilitzat per a l'avaluació i caracterització de l'etapa de preconcetració.

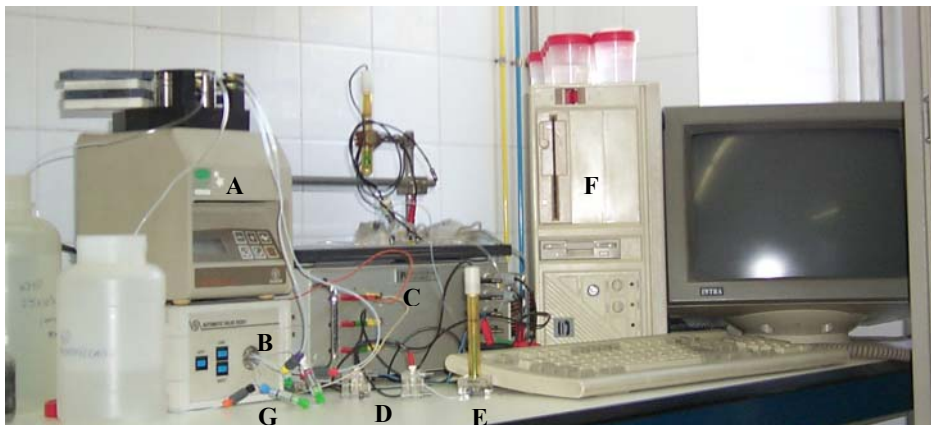


Figura 3.11: Fotografia del sistema FIA de laboratori. (A) Bomba peristàtica Gilson Minipuls2; (B) Vàlvula d'injecció automatitzada (Rheodyne); (C) Potenciometre/amplificador (GSB); (D) Elèctrodes tubulars; (E) Elèctrode de referència; (F) Ordinador personal; (G) Columna de preconcetració.

3.5.2.3 Prototipus d'analitzador AQUAFOS amb etapa de preconcetració on-line

A continuació es mostra el primer disseny del prototipus d'analitzador d'ortofosfats (AQUAFOS) construït per l'empresa ADASA SISTEMAS (fig. 3.12).

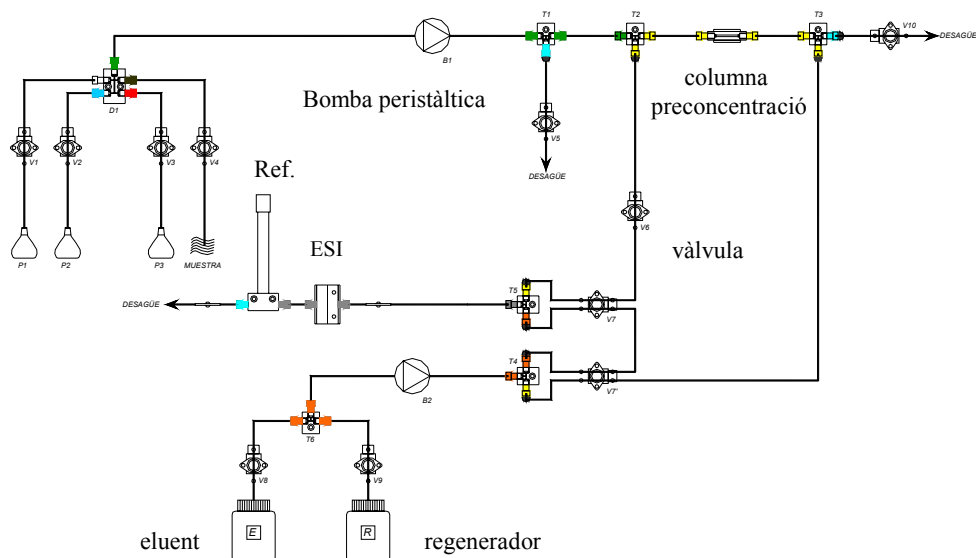


Figura 3.12: Disseny del sistema d'anàlisi automàtic d'ió fosfat (AQUAFOS).

En l'anàlitzador industrial s'ha substituït alguns dels elements emprats en el sistema de laboratori a fi d'augmentar la robustesa mecànica i estabilitat de l'equip en camp. S'utilitza una bomba peristàltica Ismatec de velocitat fixa (20 rpm), per tant, el cabal ve predeterminat pel tub de bomba emprat i pel seu diàmetre intern. Les vàlvules de sis vies són substituïdes per vàlvules solenoides de pinçament (Sirai). Amb aquestes s'eviten els problemes derivats de l'existència de parts mòbils dintre de la vàlvula que es veuen sotmeses a continua fricció i corresponent desgast, a més dels problemes derivats de l'obtenció d'aquestes parts quan la mostra presenta partícules sòlides en suspensió. Les vàlvules de pinça es caracteritzen per una major robustesa i simplicitat i un menor cost, tot i que existeix una pèrdua relativa de reproductibilitat, ja que el volum de mostra injectat passa a dependre del temps d'obertura/tancament de diferents vàlvules i del cabal de la mostra. Això implica un control periòdic del cabal subministrat per les bombes. Aquest fet té major significació quan el sistema incorpora una columna de preconcentració que pot ocasionar sobrepressions en el circuit. De forma general, els tubs de bomba es canvien cada quinze dies. En l'anàlitzador de camp també s'ha modificat el procediment de connexió entre tubs flexibles i rígids introduint connectors d'alta pressió (Gilson) que minimitzen els efectes provocats per la sobrepressió que genera la presència de la columna en el sistema de flux. En la figura 3.12 s'han representat els mateixos amb un punt negre en la unió dels tubs.

L'anàlitzador dissenyat té un funcionament totalment automatitzat i autònom. L'equip incorpora un microprocessador (PLC) que controla els diferents elements de gestió de fluids així com l'adquisició i tractament del senyal. Aquest microprocessador presenta una capacitat d'emmagatzematge de 100 dades i 50 calibratges en una memòria tipus pila. Les dades obtingudes es poden extreure mitjançant una sortida de comunicació RS-232C. Els processos d'autocalibratge són totalment automàtics, es realitzen amb una freqüència programable, i en el nostre cas s'utilitzen tres patrons per a l'autocalibratge.

La figura 3.13 mostra els esquemes de les diferents etapes que l'equip realitza durant una anàlisi de mostra o patró. Aquestes es poden dividir en: (A) *refresc*: consisteix en fer circular la nova mostra (o patró) pel tub de bomba a fi de netejar aquest de la mostra anterior. La mostra que circula és enviada finalment al desguàs (fig. 3.13A); (B) *neteja*: es fa circular a través de la columna una substància que permeti la regeneració i neteja del material bescanviador (fig. 3.13B); (C) *preconcentració*: la mostra es fa passar a través de la columna durant un temps prefixat i programable i és enviada al desguàs (fig. 3.13C); (D) *estabilització*: la dissolució condicionadora passa a través de l'elèctrode selectiu per establir la línia base (fig. 3.13C); (E) *elució*: l'eluent es fa circular a través de la columna, a contracorrent per evitar compactacions del material absorbent^[12], i posteriorment l'anàlit és detectat (fig. 3.13D); i finalment té lloc una etapa de *regeneració* idèntica a l'etapa de neteja (fig. 3.13B). Tots

aquests passos són programables i s'ha d'optimitzar el temps assignat a cadascun d'ells. Cal comentar que en l'etapa de preconcentració i estabilització s'utilitzen dues bombes diferents el que permet realitzar les dues etapes simultàniament. Això permet reduir el temps d'anàlisi. Tal i com es comentarà en el capítol de resultats, la dissolució condicionadora i eluent són la mateixa, el que simplifica el disseny de l'analitzador final.

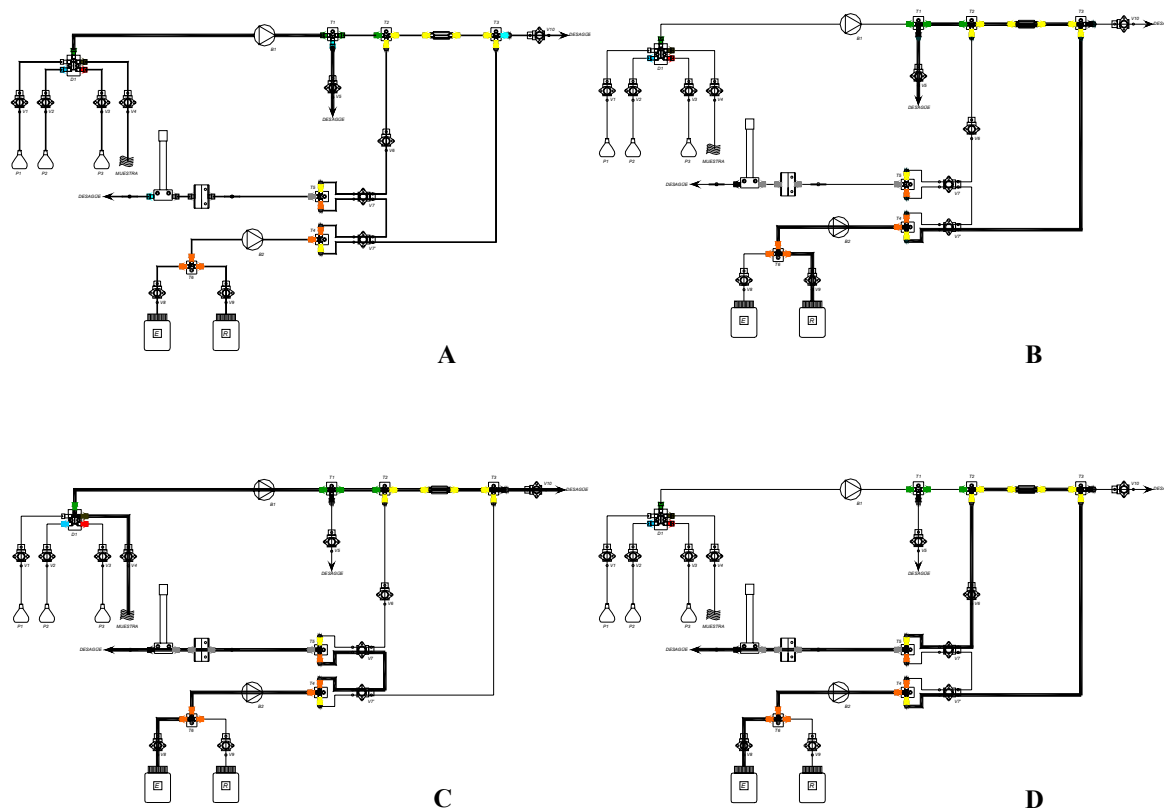


Figura 3.13: Etapes de l'analitzador automàtic per a l'ió fosfat (AQUAFOS). (A) etapa de refresc de la mostra; (B) etapa de neteja i regeneració final; (C) etapa de preconcentració i estabilització de la línia base i (D) etapa d'elució.

III. BIBLIOGRAFIA

- [1] J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, *Analyst*, **111** (1986): 799.
- [2] J. Bobacka, M.Mc Carrick, A. Lewenstam, A. Ivaska, *Analyst*, **119** (1994): 1985.
- [3] S. Alegret, A. Florido, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, *Quím. Anal.*, **5** (1986): 36.
- [4] J. Alonso, *Diseño y construcción de detectores potenciométricos para FIA. Aplicación al análisis multiparamétrico en FIA. Tesis doctoral* UAB, Bellaterra (1987).
- [5] E. Barquero, *Desenvolupament d'un analitzador mediambiental automatitzat d'ió nitrat basat en un sistema potenciomètric en flux. Treball de recerca* UAB, Bellaterra (1997).
- [6] J. Alonso, J. Bartrolí, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, *Anal. Chim. Acta*, **179** (1986): 503.
- [7] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, J.M. Paulís, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, *Anal. Letters*, **18** (1985): 2291.
- [8] J.L.F.C. Lima, M.C.B.S.M. Montenegro, A.M. Roque da Silva, *Quím. Anal.*, **11** (1992): 67.
- [9] S. Martínez, *Desenvolupament d'analitzadors de tensioactius aniònics i no iònics per a l'aplicació mediambiental. Tesis doctoral* UAB, Bellaterra (2002).
- [10] Bio-Rad. AG[®]1, AG2 and Bio-Rex[®] Strong Anion Exchange Resin. Instruction Manual. Bio-Rad Laboratories, 2000.
- [11] Bio-Rad. AG[®]3, AG4 and Bio-Rex 5[®] Anion Exchange Resin. Instruction Manual. Bio-Rad Laboratories, 2000.
- [12] Z. Fang, S. Xu, S. Zhang, *Anal. Chim. Acta*, **200** (1987): 35.

4. METODOLOGIA D'AVALUACIÓ

A continuació s'exposen les metodologies emprades en l'avaluació i caracterització dels sensors químics desenvolupats, així com les equacions utilitzades i els paràmetres a determinar.

4.1 CÀLCUL DE L'ACTIVITAT

És conegut que quan es construeix una cel·la potenciomètrica, a la superfície de l'elèctrode indicador submergit en una dissolució, s'origina un potencial que depèn de l'activitat dels ions en dissolució i del nombre d'electrons implicats en el procés. Per relacionar el potencial subministrat amb l'activitat de l'espècie d'interès s'utilitza un model lineal, conegut com a llei de Nernst i que ve definit per la següent equació:

$$E = E_0 + (RT / Z_i F) \ln(a_i) \quad (4.1)$$

on E és el potencial mesurat, E_0 el potencial estàndard de l'elèctrode, R la constant dels gasos ($8.3145 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$), T la temperatura absoluta, Z_i representa la càrrega de l'ió principal amb el seu signe corresponent, F la constant de Faraday ($9.6486\cdot 10^4 \text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$), i a_i l'activitat de l'ió principal. Si s'agrupen les constants, l'equació resultant és:

$$E = E_0 + s \log(a_i) \quad (4.2)$$

On s pren un valor teòric de 59.16 mV/dèc. d'activitat per a un ió monovalent a una temperatura de 25°C.

Com descriu l'equació de Nernst per al funcionament d'un ESI, canvis en el potencial mesurat són deguts a variacions en l'activitat de l'ió d'interès i no a la concentració.

En les dissolucions d'electròlits, la concentració total no representa necessàriament la concentració efectiva degut a la existència d'interaccions entre ions. A fi de caracteritzar aquesta concentració efectiva s'introdueix el concepte d'activitat.

L'activitat d'un ió s'entén com la mesura de la concentració efectiva de l'espècie que es mesura en dissolució i es relaciona amb la concentració per mitjà de l'expressió 4.3.

$$a_i = \gamma_i [X] \quad (4.3)$$

on γ_i és el coeficient d'activitat mig i $[X]$ la concentració de l'ió d'interès (HPO_4^{2-} o H_2PO_4^-).

El càlcul del coeficient d'activitat mig d'un electròlit depèn de la concentració iònica de la dissolució. La desviació de les propietats de les dissolucions electrolítiques del seu estat ideal es deu a la interacció entre ions. Així, activitat i concentració només adquireixen el mateix valor a dilució infinita, quan el coeficient d'activitat pren el valor d'1. Amb la finalitat d'avaluar l'extensió d'aquestes interaccions, s'introdueix el concepte de força iònica. La força iònica és la mesura del contingut iònic d'una dissolució i ve definida per l'expressió:

$$I = \frac{1}{2} \sum_{n=1}^i Z_i^2 [C] \quad (4.4)$$

on s'observa que, I depèn de la concentració de tots els ions presents en la dissolució ($[C]_i$) així com de la seva càrrega (Z_i).

Es fa necessari per tant, treballar amb activitats quan la força iònica del medi és variable. En aquestes condicions, el coeficient d'activitat s'allunya de la unitat i corregeix al terme de concentració.

La dependència del senyal mesurat amb l'activitat de l'ió ens obliga a utilitzar models de càlcul complexos amb l'objectiu de determinar, de manera precisa, el coeficient d'activitat. En els càlculs realitzats en aquesta tesi es treballa amb l'expressió de Debye-Hückel ampliada:

$$\log \gamma_{\pm} = \frac{A \cdot |Z_+ \cdot Z_-| \cdot \sqrt{I}}{1 + B' \cdot \sqrt{I}} + C \cdot I \quad (4.5)$$

on A (proporcional $T^{-3/2}$) és una constant de valor 0.507 a 20°C en aigua; Z_+ i Z_- són la càrrega del catió i de l'anó de l'electròlit; I , la força iònica de la dissolució, calculada a partir de

l'equació (4.4) i B' i C són constants que ajusten el model teòric als valors de γ_{\pm} mesurats experimentalment (Meier^[1]). El valor de B' correspondria al producte del terme a , relacionat amb el radi iònic de l'espècie (Angströms) i del terme B (proporcional $T^{-3/2}$), dependent del dissolvent utilitzat i de valor 0.3282 per l'aigua (a 20°C). Aquesta expressió introdueix correccions empíriques sobre el model teòric de Debye-Hückel que permetran determinar el **coeficient d'activitat mig** (γ_{\pm}) en un ampli interval de força iònica.

Els valors de les constants empíriques que s'utilitzen són els calculats per P.C. Meier en els seus estudis^[1] i es mostren en la següent taula:

Taula 4.1: Paràmetres utilitzats en l'equació de Debye-Hückel ampliada (4.5).

Electròlit	B'	C
NaH ₂ PO ₄	1.2056	-0.11081
KH ₂ PO ₄	0.9166	-0.11627
KCl	1.2796	0.00393
KNO ₃	0.9585	-0.09478

En el cas d'anions divalents, l'expressió anterior de Debye-Hückel (4.5) perd precisió i s'usa per calcular la força iònica una relació totalment empírica^[2]:

$$\gamma(\log I) = B_{(0)} + B_{(1)}\left(\log \frac{I}{3}\right) + B_{(2)}\left(\log \frac{I}{3}\right)^2 + B_{(3)}\left(\log \frac{I}{3}\right)^3 + B_{(4)}\left(\log \frac{I}{3}\right)^4 \quad (4.6)$$

Els coeficients emprats per a cadascun dels anions divalents es mostren en la taula 4.2:

Taula 4.2: Paràmetres utilitzats en l'equació (4.6).

IÓ	B ₍₀₎	B ₍₁₎	B ₍₂₎	B ₍₃₎	B ₍₄₎
HPO ₄ ²⁻	0.26105	-0.14418	0.09165	0.03109	0.00274
SO ₄ ²⁻	0.20428	-0.18911	0.09425	0.03767	0.00353

4.2 EQUACIÓ DE NIKOLSKII-EISENMAN

Les membranes potenciomètriques habitualment són dissenyades a fi de què la seva resposta depengui fonamentalment d'una determinada espècie, denominada ió principal. En realitat, el potencial que generen depèn també de la presència d'altres ions, anomenats ions interferents,

que contribueixen al potencial de membrana. En presència d'ions interferents, l'equació de Nernst és substituïda per l'expressió de Nikolskii-Eisenman^[3]:

$$E = E_o + s \log \left(a_X + \sum K_{X,Y}^{pot} a_Y^{Z_X/Z_Y} \right) \quad (4.7)$$

On E és el potencial mesurat; E_o el potencial estàndard del sistema; s és el pendent o sensibilitat expressada com a mV/dècada d'activitat; a_X l'activitat de l'ió principal; $K_{X,Y}^{pot}$ el coeficient de selectivitat potenciomètrica de l'espècie principal X respecte l'espècie interferent Y ; a_Y és l'activitat de l'ió interferent Y ; i Z_X i Z_Y són la càrrega de l'ió principal i interferent respectivament.

Aquesta expressió relaciona el potencial mesurat amb l'activitat o concentració dels ions (força iònica constant) en els mètodes potenciomètrics. I a partir de la mateixa es calcularà la sensibilitat, selectivitat i límit de detecció que definiran les característiques de resposta del sensor.

4.3 CORBES DE CALIBRATGE

Per avaluar la resposta potenciomètrica dels ESI dissenyats es realitzen calibratges successius seguint sempre el mateix procediment. En el nostre cas, degut a la forta dependència de l'anió a determinar front del pH, es realitzen dos procediments de calibratge diferenciats, que anomenem: calibratges a pH fixe i calibratges a pH variable. Aquest últim és el procediment seguit per D. Liu *et al.* en els seus estudis^[4].

En els calibratges a pH variable es parteix de 25 ml d'àcid fosfòric de concentració 10^{-3} M i es fan microaddicions de NaOH o KOH produint variacions de 0.5 unitats de pH aproximadament en un interval de 3 a 11. Després de cada addició es mesura el pH final de la dissolució i el potencial generat. Això ens permetrà conèixer en una primera aproximació quina és l'espècie o espècies ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}) reconegudes selectivament per l'elèctrode.

En els calibratges a pH fix, partim de 25 ml d'una dissolució amortidora que ajustarem prèviament al pH de treball desitjat. Es fan microaddicions de diferents dissolucions estàndards de fosfat de concentracions 10^{-4} M, 10^{-3} M, 10^{-2} M, 10^{-1} M i 1 M que ens permetran abastar un ampli interval de concentracions (activitats). Aquestes dissolucions estàndards es preparen a partir de la sal de fosfat corresponent sobre la dissolució amortidora de fons. Finalment, s'ajustarà el pH de cadascuna d'elles a fi de mantenir constant el pH de la dissolució durant el procés de calibratge.

El nombre de punts del calibratge ha de ser l'adequat, a fi de definir de la forma més acurada possible la zona de curvatura de l'elèctrode. En el nostre cas es realitzen trenta dos addicions i

es calcula, mitjançant el programa EXCEL, l'activitat del l'anió HPO_4^{2-} i de l'anió H_2PO_4^- presents en la dissolució després de cada microaddició tenint en compte el pH de treball.

Taula 4.3: Exemple de les addicions seguides durant un procés de calibratge a pH fix.

Conc. afegida (M)	Volum afegit (µl)	Volum total (ml)	conc fosfat dlo (M)	coeficient act	activitat (M)	log activitat	força iònica (M)
1.0036E-04	0	25	0.00000001	0.846374571	1.00E-08	-8	0.02425701
1.0036E-04	25	25.025	1.1025E-07	0.846374302	9.33126E-08	-7.030059917	0.02425711
1.0036E-04	50	25.075	3.1015E-07	0.846373768	2.62502E-07	-6.580866648	0.02425731
1.0036E-04	200	25.275	1.10184E-06	0.846371651	9.32566E-07	-6.030320451	0.024258102
1.0036E-03	25	25.3	2.09245E-06	0.846369003	1.77099E-06	-5.751785038	0.024259092
1.0036E-03	50	25.35	4.06781E-06	0.846363721	3.44285E-06	-5.463082231	0.024261068
1.0036E-03	50	25.4	6.03539E-06	0.846358461	5.10811E-06	-5.291740055	0.024263035
1.0036E-03	100	25.5	9.94741E-06	0.846348003	8.41897E-06	-5.07474093	0.024266947
1.0036E-03	200	25.7	1.76801E-05	0.846327335	1.49632E-05	-4.824976504	0.02427468
1.0036E-03	200	25.9	2.52934E-05	0.84630699	2.1406E-05	-4.669464899	0.024282293
1.0036E-03	200	26.1	0.00003279	0.846286961	2.77497E-05	-4.556740933	0.02428979
1.0036E-02	25	26.125	4.23624E-05	0.846261392	3.58497E-05	-4.445514405	0.024299362
1.0036E-02	50	26.175	6.14525E-05	0.84621042	5.20017E-05	-4.283982126	0.024318452
1.0036E-02	50	26.225	8.04697E-05	0.846159667	6.80903E-05	-4.166915067	0.02433747
1.0036E-02	50	26.275	9.94146E-05	0.846109134	8.41156E-05	-4.075123383	0.024356415
1.0036E-02	100	26.375	0.000137089	0.846008717	0.000115978	-3.935622959	0.024394089
1.0036E-02	100	26.475	0.000174479	0.845909159	0.000147593	-3.830934287	0.024431479
1.0036E-02	100	26.575	0.000211587	0.845810447	0.000178962	-3.747238401	0.024468579
1.0036E-02	100	26.675	0.000248417	0.845712572	0.000210089	-3.677596194	0.024505417
1.0036E-02	200	26.875	0.000321255	0.845519287	0.000271627	-3.566027045	0.024578255
1.0036E-02	200	27.075	0.000393016	0.845329221	0.000332228	-3.478563446	0.024650016
1.0036E-01	25	27.1	0.000485237	0.845085496	0.000410067	-3.387145565	0.024742237
1.0036E-01	50	27.15	0.000669168	0.844601148	0.00056518	-3.247812981	0.024926168
1.0036E-01	100	27.25	0.001035006	0.843644649	0.000873177	-3.058897492	0.025292006
1.0036E-01	200	27.45	0.001758686	0.841778764	0.001480424	-2.829613834	0.026015686
1	25	27.475	0.002667003	0.839484137	0.002238907	-2.649963933	0.026924003
1	50	27.525	0.004478689	0.835054462	0.003739949	-2.427134278	0.028735689
1	100	27.625	0.008082386	0.826762187	0.006682211	-2.175079796	0.032339386
1	200	27.825	0.015212073	0.812014678	0.012352426	-1.908247732	0.039469073
1	500	28.325	0.032595796	0.782419707	0.025503593	-1.59339863	0.056852796
1	1000	29.325	0.065584857	0.740366638	0.04855684	-1.313749586	0.089841857
1	2000	31.325	0.125244243	0.686744412	0.086010784	-1.065447093	0.149501243

4.4 TRACTAMENT MATEMÀTIC DE LA CORBA DE CALIBRATGE

En tot procés de calibratge, en el qual es mesura una propietat en funció d'una altra que varia de forma controlada i coneguda, el tractament de les dades obtingudes i que consisteix, bàsicament, en l'ajust d'una funció que relaciona la variable observada i la modificada és una etapa de gran importància. En el nostre cas, es mesura el potencial en mV subministrat per la cel·la electroquímica en variar la quantitat d'espècie (activitat) present en la dissolució. En tots els calibratges s'aplicarà la mateixa metodologia de càlcul amb la finalitat de comparar les característiques de cadascun dels elèctrodes avaluats.

S'utilitzaran regressions lineals i no lineals per ajustar els valors de potencial obtinguts amb l'activitat de l'anió d'interès fonamentades en l'equació de Nernst (eq. 4.2) i de Nikolskii-Eisenman (eq. 4.7). El fet d'utilitzar regressions no lineals implica treballar amb un model

matemàtic més complex però que ens permetrà definir tota la corba de calibratge podent així, treballar tant a l'interval lineal com a l'interval no lineal.

La figura 4.1 mostra una corba de calibratge típica per a anions i els paràmetres que es determinen i que caracteritzen als dispositius dissenyats.

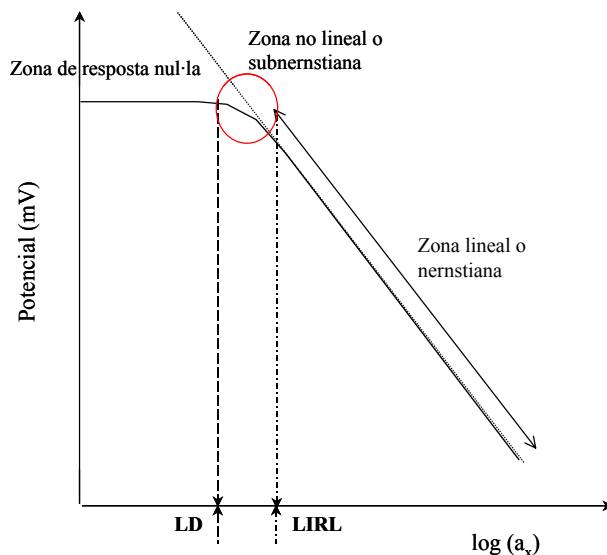


Figura 4.1 Corba de calibratge i paràmetres claus en la caracterització d'un elèctrode selectiu d'anions.

4.4.1 Ajust lineal

La zona lineal (fig. 4.1) ve descrita per l'equació de Nernst:

$$E = A_1 + B_1 \cdot \log a_x \quad (4.8)$$

on E és el potencial mesurat expressat en mV, i a_x és l'activitat de l'ió principal (X).

La determinació de B_1 és important ja que correspon a la **sensibilitat** del dispositiu en l'interval lineal d'aplicabilitat de l'equació de Nernst (definició de sensibilitat acceptada per la IUPAC^[5]). La sensibilitat és expressada en mV per dècada d'activitat i, caldria esperar que tingués el valor de -59.2 mV/dèc. (a 25°C) per anions monovalents i de -29.5 mV/dèc. per anions divalents (a la mateixa temperatura).

L'interval lineal és acotat en l'extrem inferior pel **LIRL** (límit inferior de resposta lineal) (fig. 4.1), valor que expressa l'activitat a partir de la qual el dispositiu deixa de respondre de manera lineal. La determinació d'aquest paràmetre es fa seguint la metodologia descrita per H.Hara *et al.*^[6] però variant el criteri estadístic r . La metodologia consisteix en anar eliminant punts de la zona no lineal o subnernstiana fins aconseguir un ajust en la zona lineal que compleixi el criteri de r preestablert. En el nostre cas treballarem amb un criteri $r=0.998$. Aquesta metodologia requereix un gran nombre de punts a fi de definir de manera més precisa la corba de calibratge (sobretot en la zona on comença la curvatura) i evitar així que algun

punt de la zona corba “s'introdueixi” en el càlcul lineal. L'últim punt experimental que és escollit com a pertanyent a la zona lineal es correspon amb el LIRL.

4.4.2 Ajust no lineal

L'ajust no lineal es realitza mitjançant diferents equacions. En primer lloc, s'utilitza l'equació general de Nikolskii-Eisenman:

$$E = E^0 \pm \frac{59.16}{n_X} \cdot \log \left[a_X + \sum_{y=1}^m K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)^{\frac{n_X}{n_Y}} \right] \quad (4.7)$$

Tenint un sol ió interferent, com serà el nostre cas, i detectant (X) com a anió principal (que en el nostre estudi serà HPO_4^{2-} o H_2PO_4^-), l'expressió es simplifica a:

$$E = A_2 + B_2 \cdot \log \left[a_X + K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)^{\frac{n_X}{n_Y}} \right] \quad (4.9)$$

En absència d'interferents, si això fos possible, la cel·la electroquímica presenta també zones de no resposta i de resposta lineal. Aquesta pèrdua de linealitat depèn de les característiques intrínseques de la membrana sensora. En aquest cas, es pot utilitzar l'expressió 4.10, a on el terme c , com s'explicarà més endavant engloba l'efecte de diferents factors.

$$E = A_3 + B_3 \cdot \log [a_X + c] \quad (4.10)$$

Aquestes expressions permeten realitzar ajustos no lineals de les dades obtingudes al llarg del procés de calibratge.

L'equació (4.7) (o l'equivalent (4.9)), coneguda com a equació de Nikolskii-Eisenman^[3] permet avaluar l'efecte d'ions interferents en el potencial de l'elèctrode; el coeficient de selectivitat potenciomètrica ($K_{X,Y}^{pot}$) és una mesura de la influència que causen altres anions (Y) sobre l'ió principal (X).

Els termes B_2 i B_3 presents en les equacions (4.9) i (4.10) respectivament, determinen la **sensibilitat** del dispositiu expressada en mV/dècada d'activitat en tota la corba de calibratge, tant en l'interval lineal com en el no lineal.

El paràmetre c de l'expressió (4.11) es pot desglossar en dos termes:

$$c = LD_{ap} + \sum K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)^{\frac{n_X}{n_Y}} \quad (4.11)$$

un primer constituït per una constant empírica que anomenarem límit de detecció aparent (LD_{ap}), i un segon que té en compte les interferències causades per altres anions,

$$\sum K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)^{\frac{n_X}{n_Y}} \cdot$$

En presència d'un fons iònic potencialment interferent, podem simplificar l'expressió (4.11) ja que suposem $LD_{ap} \leq K_{x,y}^{pot} \cdot (a_y)^{\frac{n_x}{n_y}}$. Això ens permet treballar amb l'equació de Nikolskii-Eisenman (4.7) on s'ha despreciat ja el terme LD_{ap} a l'hora de fer l'ajust no lineal en el càlcul d'interferències. En absència d'un fons interferent, el terme c ens dóna una idea sobre el límit de detecció inherent del dispositiu.

Per a la caracterització dels paràmetres de resposta es construeixen dos elèctrodes amb cadascuna de les membranes avaluades i es realitzen un mínim de tres calibratges amb cadascun d'ells. Per calcular els valors de B_1 , B_3 , c , $LIRL$ i LD , es consideren els resultats obtinguts amb els dos elèctrodes com si fossin replicats, i s'utilitzen, com a mínim, sis punts ($n=6$) per fer l'estudi estadístic. En cada cas, però, en les taules on es mostrin els paràmetres de calibratge s'indicarà el valor de n . Així mateix, s'inclou l'error associat a cadascun dels paràmetres calculats per a un interval de confiança del 95%.

4.5 LÍMIT DE DETECCIÓ (LD)

El límit de detecció d'un sensor químic és un paràmetre clau a determinar doncs d'aquest, en molts casos, dependrà l'operativitat i aplicabilitat del dispositiu dissenyat.

El límit de detecció (LD) ha estat objecte d'estudi amb la intenció d'ampliar l'interval de funcionalitat dels dispositius a la zona no lineal. Existeixen estudis que relacionen aquest paràmetre amb les propietats físico-químiques de la membrana. El cert, però, és que no hi ha una única equació per al seu càlcul.

D'acord amb les recomanacions de la IUPAC (1991)^[5], el límit de detecció d'un elèctrode selectiu d'ions es defineix com la concentració a la qual el potencial mesurat es desvia del potencial mitjà de la regió no lineal en un múltiple arbitrari de l'error estàndard (fig. 4.1). Per a usos pràctics, la IUPAC defineix *el límit pràctic de detecció* com l'activitat que resulta en el punt d'intersecció entre l'extrapolació de l'interval lineal de la corba de calibratge i la línia horitzontal (zona de resposta nul·la) en la qual el potencial és independent de l'activitat iònica^[7].

En el present treball s'ha emprat la definició del LD que resulta de la intersecció de les rectes provinents de l'extrapolació de la zona lineal i l'extrapolació de la zona nul·la (fig. 4.1), per als elèctrodes caracteritzats en discontinu. S'igualen les equacions 4.8 i una derivada de la 4.10 i, mitjançant càlculs iteratius amb el programa EXCEL es troba el valor del LD:

$$A_3 + B_3 \log c = A_1 + B_1 \log LD$$

$$(A_3 - A_1) + B_3 \log c - B_1 \log LD = 0 \quad (4.12)$$

Seguint la metodologia establerta en el GSB^[8], on s'ajusta tota la corba de calibratge, tant la zona lineal com no lineal, també es determina el límit de detecció aparent que correspon al terme c de l'equació 4.10, $E = A_3 + B_3 \cdot \log [a_x + c]$, quan els calibratges es realitzen en absència d'un fons interferent. Els càlculs es realitzen mitjançant el paquet gràfic SIGMAPLOT 2000, que utilitza l'algorisme Marquardt-Levenberg en les regressions no lineals^[9].

Al caracteritzar els elèctrodes en continu, tan sols es realitza l'ajust no lineal de les dades experimentals i es calcula per tant, el límit de detecció aparent (terme c de l'equació no lineal).

4.6 COEFICIENT DE SELECTIVITAT POTENCIOMÈTRICA

La selectivitat d'un ESI és un altre dels paràmetres importants que defineix sovint l'aplicabilitat del sensor. El coeficient de selectivitat potenciomètrica (K^{pot}) ens dona idea de la influència que causen d'altres anions sobre la resposta potenciomètrica del sensor. Existeixen bàsicament dues metodologies experimentals per determinar dit coeficient: el *mètode de les dissolucions mesclades* i el *mètode de les dissolucions separades*^[10].

En els últims anys, el mètode de determinació d'aquest paràmetre ha estat causa d'extenses discussions. Tradicionalment, l'equació semiempírica de Nikolskii-Eisenman (eq. 4.7) és la que s'ha utilitzat per determinar la $K_{x,y}^{pot}$ i definir així la selectivitat del dispositiu. No obstant això, diversos autors han senyalat les discrepàncies existents entre coeficients de selectivitat determinats sota diferents condicions experimentals, per exemple, diferent activitat de l'ió principal i/o interferent i utilització d'una metodologia diferent^[11-14]. Això suggereix que el coeficient de selectivitat no és una constant termodinàmica doncs el seu valor depèn de les condicions en les quals s'ha determinat. D'aquí que sigui més correcte denominar-ho coeficient de selectivitat i no constant de selectivitat.

L'equació semiempírica de Nikolskii-Eisenman és generalment adequada quan els ions interferents i l'ió principal presenten igual càrrega i la resposta de l'elèctrode a cadascun d'ells segueix un comportament nernstià. Contràriament, quan les càrregues són diferents, l'equació esdevé inconsistent i condueix a una descripció errònia de la resposta del sensor. *Gadzekpo i Christian*^[15] proposen una nova metodologia per a determinar aquest paràmetre, basada en observacions totalment empíriques (*Matched Potential Method*, MPM). Aquests consisteix en una primera part, en mesurar el potencial generat per una dissolució de referència que conté una determinada activitat de l'ió principal. En un experiment separat, s'afegeix ió interferent a una dissolució de referència idèntica a l'anterior, fins aconseguir una variació de potencial igual a la generada per l'ió principal.

En els estudis en discontinu i per determinar el coeficient de selectivitat potenciomètrica s'ha escollit el mètode de les dissolucions mesclades ja que es treballa en unes condicions experimentals que són les que millor reflecteixen la situació en les mostres reals. A fi d'avaluar la interferència d'una espècie sobre la resposta a l'ió principal, es fixa una quantitat d'ió interferent i es realitza un calibratge variant la concentració de l'ió principal. Per regressió s'avalua el valor del coeficient de selectivitat ($K_{X,Y}^{pot}$ on X és $H_nPO_4^{(n-3)}$) utilitzant l'equació de Nikolskii-Eisenman (4.7). És necessari que el valor de l'activitat de l'ió interferent és mantingui constant en les primeres addicions i a l'inici de la zona de resposta lineal a fi d'obtenir un valor reproducible i precís d'aquest paràmetre. En aquestes condicions el potencial inicial mesurat és descrit per l'equació (4.13):

$$E = A_2 + B_2 \cdot \log K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)^{\frac{n_X}{n_Y}} \quad (4.13)$$

simplificació de l'equació 4.9, doncs en aquesta zona de treball es compleix que

$$a_X \leq K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)^{\frac{n_X}{n_Y}}$$

A mesura que augmenta l'activitat de l'ió principal, el terme $K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)^{\frac{n_X}{n_Y}}$ és fa menyspreable i podem treballar amb l'expressió:

$$E = A_2 + B_2 \cdot \log a_X \quad (\text{zona lineal}) \quad (4.14)$$

En el present treball tindrem com anions principals HPO_4^{2-} o $H_2PO_4^-$ i s'avaluarà la interferència dels ions: clorurs, nitrats, sulfats i hidrogencarbonat (anions més habituals en aigües superficials).

Com abans s'ha comentat en el cas de tenir diferent càrrega per l'anió principal i l'interferent, l'equació 4.7 proporciona valors incongruents. Utilitzar el MPM (metodologia totalment empírica) no permet reproduir les condicions de treball amb les mostres reals, per tant, utilitzar aquesta metodologia pot donar valors de coeficients que no siguin significatius des d'un punt de vista pràctic. Finalment, s'ha optat per seguir el mètode proposat per la IUPAC de les dissolucions mesclades però obviant, al realitzar els càlculs, l'exponent que apareix en l'equació 4.7 degut a la diferent càrrega dels anions. Aquesta opció que sembla arbitrària es deriva de l'observació dels resultats experimentals obtinguts com es veurà en el capítol 5.

En l'estudi d'interferències en continu, es detallarà en l'apartat de resultats i discussió la metodologia emprada, tant en el cas de que la detecció del fosfat sigui directa (cap. 6), com en el cas de que la detecció tingui lloc després de l'etapa de preconcentració (cap. 7). En aquest últim també caldrà avaluar quin és l'efecte que causen els anions interferents sobre el procés de retenció de l'analit i sobre el rebliment emprat en l'extracció.

4.7 TEMPS DE RESPOSTA

Una característica dels sensors a tenir en compte és el temps de resposta. Aquest paràmetre adquireix una gran importància quan el dispositiu ha de ser integrat en un sistema de flux, on cal que la resposta del detector sigui ràpida i estable.

La IUPAC^[7] defineix el temps de resposta com l'interval de temps des del moment en què l'ESI en conjunció amb l'elèctrode de referència entra en contacte amb la dissolució test, o el moment en què es produeix un canvi sobtat en la concentració, fins al moment en què el potencial es desvia del potencial estacionari 1 mV.

El temps de resposta depèn de molts factors i la seva determinació de forma quantitativa no és fàcil. Així, quan es subministren dades de temps de resposta, cal especificar totes les condicions de experimentals de mesura, tal com temperatura, concentració de la dissolució, velocitat d'agitació, etc. De forma general, la resposta és més lenta quan la variació d'activitat de l'ió principal es realitza a la zona de baixes concentracions. Un augment de la temperatura disminueix el temps de resposta ja que s'afavoreix la difusió i el bescanvi d'ions. D'igual manera, una superfície de membrana neta i sense rugositats també disminueix el temps de resposta.

De forma general, podem dir que els ESIs assoleixen el 95% del valor final de resposta en un minut o menys, encara que prop del límit de detecció pot incrementar-se a alguns minuts^[16]. A fi d'obtenir informació sobre aquest paràmetre en discontinu s'ha registrat, en cada calibratge i per a cada membrana estudiada, els potencials a un minut i tres minuts després de cada addició. Posteriorment, es comprova si existeixen diferències significatives entre els valors de potencial obtinguts a cada temps de mesura prefixat. Això ens permetrà concloure, si no existeixen diferències significatives, que el temps de resposta és d'un minut o inferior.

Cal tenir en compte però que el fenomen que es verifica a la interfase membrana-dissolució i que defineix el temps de resposta en els sistemes en discontinu, canvia en les condicions dinàmiques de lectura dels sistemes de flux continu. De forma general, aquest canvi provoca millores en la característiques de resposta dels elèctrodes.

4.8 TEMPS DE VIDA

El temps de vida dels sensors pot resultar molt variable, ja que és un factor que depèn de diverses variables com la composició de la membrana, la matriu de les mostres analitzades, la metodologia de treball emprada així com del procés d'emmagatzematge dels dispositius. Normalment, el factor determinant del temps de vida, és la pèrdua dels components de la membrana, ionòfor o plastificant, cap a la dissolució aquosa. Aquesta pèrdua es tradueix en una disminució gradual de la sensibilitat i límit de detecció dels elèctrodes^[17].

Generalment si la sensibilitat s'ha reduït a menys del 80% respecte el valor normal, o el límit de detecció ha augmentat de manera considerable al llarg dels successius calibratges, l'elèctrode es substitueix per un de nou. En els elèctrodes basats en una placa metàl·lica de cobalt, la resposta òptima es recupera si es poleix la superfície sensora de forma acurada.

IV. BIBLIOGRAFIA

- [1] P.C. Meier, *Anal. Chim. Acta*, **136** (1982): 363.
- [2] K. Hartman, S. Luterotti, H.F. Osswald, M. Oehme, P.C. Meier, D. Ammann, W. Simon, *Mikrochim. Acta* **II** (1978): 235.
- [3] B.P. Nikolskii, *Acta Physiochim., URSS*, **7** (1937): 597, G. Eisenman (Ed.). *Glass electrodes for hydrogen and other cations: principles and practices*. New York, M. Dekker (1967), p. 133.
- [4] D. Liu, W. Chen, R. Yang, G. Sher, R. Yu, *Anal. Chim. Acta*, **338** (1997): 209.
- [5] G.G. Guilbault, R.A. Durst, "I.U.P.A.C. Recommendations for Nomenclature of Ion-Selective Electrodes" *Pure Appl. Chem.*, **48** (1976): 127.
- [6] H. Hara, K. Takahashi, H. Ohkubo, *Anal. Chim. Acta*, **290** (1994): 329.
- [7] I.U.P.A.C., *Compendium of analytical Nomenclature, Definitive Rules, 1997*. Oxford, Pergamon Press (1997), cap. 8.
- [8] E. Barquero. *Disseny, construcció i avaluació d'analitzadors per a la monitorització mediambiental. Tesi doctoral* UAB, Bellaterra (2001).
- [9] S.S. Rao, *Optimization. Theory and Application*. John Wiley & Sons, Inc. New Delhi (1987)
- [10] I.U.P.A.C. Infor. Bull. Appendices on Provisional Nomenclature Symbols, Units and Standards, 43 (1975).
- [11] E. Bakker, R.K. Meruva, E. Pretsch, M.E. Meyerhoff, *Anal. Chem.*, **66** (1994): 3021.
- [12] E. Bakker, *Electroanalysis*, **9** (1997): 7.
- [13] Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato, "Selectivity coefficients for ion-selective electrodes: recommended methods for reporting $K_{a,b}$ (pot) values". *Pure Appl. Chem.*, **67** (1995): 507.
- [14] C. Maccà, *Anal. Chim. Acta*, **321** (1996): 1.
- [15] V.P.Y Gadzekpo, G.D. Christian, *Anal. Chim. Acta*, **164** (1984): 279.
- [16] A. Shatkay, *Anal. Chem.*, **48** (1976): 1039.
- [17] D. Ammann, *Ion-Selective Microelectrodes*, Springer-Verlag, (1986).Cap. 3.

Resultats i
discussió



5. IONÒFORS SELECTIUS D'IÓ FOSFAT

El treball realitzat s'insereix dins d'un projecte dirigit a l'obtenció de diversos analitzadors automatitzats industrials de paràmetres químics per a la seva integració en estacions automàtiques de control de la qualitat d'aigües superficials. Per tant, a part dels paràmetres de qualitat habituals com són exactitud, selectivitat, sensibilitat, etc., s'ha de tenir en compte altres factors com són la robustesa, la simplicitat, el temps de resposta, el consum i l'estabilitat dels reactius o la capacitat de funcionament autònom.

La integració dels sensors potenciomètrics com a detectors en aquests tipus d'equipaments presenta nombroses avantatges que aporten robustesa al disseny global de l'analitzador, com ara, la simplificació dels procediments assolida gràcies a la seva selectivitat. No obstant això, algunes característiques del sensor com el temps de vida o l'estabilitat del senyal són paràmetres decisius quan l'objectiu final és desenvolupar analitzadors de camp capaços de treballar en règim autònom de funcionament durant períodes de temps elevats. Sortosament, molts d'aquests problemes poden ser minimitzats amb la seva integració en sistemes de flux continu. La possibilitat d'incorporar de forma senzilla etapes de separació d'interferents, o la correcció automàtica de derives mitjançant la pressa continua de referència a línia de base, mostren el caràcter positiu de l'associació flux continu-sensors.

La importància de la determinació de l'ió en mostres mediambientals es deu a la seva funció de nutrient, així com al fet de ser, en la majoria dels casos, el factor limitant en l'aparició de

processos d'eutrofització. Malauradament, encara no s'ha aconseguit desenvolupar un sensor selectiu d'ió fosfat amb característiques funcionals suficients per a la seva aplicació pràctica.

De forma general, i dins dels sensors potenciomètrics, els elèctrodes selectius de membrana polimèrica obren un ampli ventall de possibilitats per al disseny de nous sensors. Això és degut a què, mantenint una plataforma única d'aplicació general (la membrana polimèrica), el reconeixement selectiu, que indueix l'aparició d'un potencial de membrana en la interfase membrana-dissolució, ve modulada per la presència d'un ionòfor que pot ésser reemplaçat de manera relativament senzilla. Per altra banda, l'estructura polimèrica de la membrana permet una gran versatilitat pel que fa a la construcció del dispositiu, ja que aquesta pot ser dipositada sobre suports conductors de diferent forma i grandària. Aquests fets simplifiquen tant els processos de fabricació com de manipulació dels sensors a la vegada que faciliten la seva integració en sistemes automatitzats de flux continu.

En aquest treball es va decidir desenvolupar sensors d'ió fosfat en base a aquesta metodologia. Com a pas previ imprescindible, es van seleccionar diferents compostos susceptibles de reconèixer selectivament l'anió fosfat, mitjançant interaccions específiques, i es va avaluar el seu comportament incorporats com a ionòfors en membranes polimèriques selectives d'aquest anió.

En aquests capítol es descriuen els estudis realitzats amb els diferents ionòfors seleccionats i es recullen els resultats obtinguts amb membranes potenciomètriques que incorporen aquests ionòfors. Aquests estudis ens van permetre seleccionar l'element de reconeixement amb millors característiques de resposta per a l'obtenció d'un sensor potenciomètric selectiu d'ió fosfat. Una vegada seleccionat el ionòfor es va procedir a optimitzar la composició de la membrana i avaluar exhaustivament les característiques de resposta dels elèctrodes construïts, donant especial importància a la determinació del grau d'interferència d'altres espècies aniòniques i el seu temps de vida. Aquests últims paràmetres són crítics per establir la seva aplicabilitat com a detector en un analitzador mediambiental. Paral·lelament, es mostra el desenvolupament i caracterització en discontinu de l'elèctrode basat en una placa metàl·lica de cobalt, que serà finalment avaluat en un sistema de flux continu. En l'estudi de la caracterització de la resposta dels diferents sensors s'utilitzaran les equacions descrites en el capítol anterior.

5.1 INTRODUCCIÓ

La complexació selectiva d'anions mitjançant ionòfors sintètics s'ha emprat per al disseny d'elèctrodes selectius d'anions que presenten el comportament anomenat anti-Hofmeister^[1-3]. El gran nombre d'anions implicats en processos químics i biològics, ha despertat un gran interès en el disseny i síntesi de molècules receptores susceptibles d'interaccionar

selectivament amb aquests anions. Tot i així, el nombre de molècules receptores per a anions és molt inferior respecte al de cations. Això és degut, principalment, a la pròpia naturalesa i estructura d'aquests compostos. A més, poden presentar una gran varietat de geometries (esfèrica, lineal, planar tetraèdrica o octaèdrica), i molts d'ells només existeixen en un estret interval de pH.

La dificultat de dissenyar un ionòfor per a ortofosfats, és conseqüència, principalment, de dos fets: el volum intrínsec d'aquest anió, que presenta una geometria tetraèdrica difícil d'acomodar en la "cavitat" d'un receptor, i l'elevada energia d'hydratació que li confereixen els quatre àtoms d'oxigen. Un bon sensor de fosfats ha de ser capaç d'interaccionar selectivament i reversiblement amb l'anió d'interès després d'haver-lo extret cap a la fase de la membrana i d'evitar les interferències provocades per altres anions més lipofílics.

Des d'un punt de vista estructural, les característiques d'aquests oxoanions que poden facilitar el disseny de receptors sintètics són: per una part, l'elevada capacitat de formar múltiples ponts d'hidrogen amb els àtoms d'oxigen i amb els mateixos H que puguin ser a l'estructura $H_nPO_4^{3-n}$, i, per altra, la capacitat d'aquests mateixos àtoms d'enllaçar-se a centres metàl·lics obre un altre camí cap a l'obtenció de receptors organometàl·lics. Respecte a la formació de ponts d'hidrogen, les molècules receptores han de presentar hidrògens prou àcids com per tenir capacitat de formar aquest tipus d'enllaç. Així, el desenvolupament de ionòfors selectius d'ió fosfat es basa en l'obtenció de receptors capaços de formar ponts d'hidrogen i/o de complexar selectivament l'anió mitjançant un centre metàl·lic.

Estudis recents mostren l'aplicabilitat dels ionòfors basats en **compostos organometàl·lics de Sn(IV)** com a sensors d'anions amb un comportament anti-Hofmeister. La selectivitat que presenten aquests receptors no tan sols depèn del centre metàl·lic sinó també dels substituents orgànics enllaçats al Sn^{4-5} . En funció d'aquests substituents podem dirigir, en cert grau, la selectivitat del ionòfor cap a un determinat anió. Estudis sobre l'estructura general d'aquests compostos mostren una elevada selectivitat envers monohidrogenfosfat quan disposem simultàniament de dos centres metàl·lics a la molècula, i aquests, a més, presenten dos substituents electronegatius (Cl o Br). És preferible que els dos centres metàl·lics estiguin separats per un o tres grups metilè i que els substituents orgànics siguin electroatracients (grups fenils). Altres treballs sobre el diclorur de dibenzilestany amb diferents substituents sobre l'anell benzènic mostren una major selectivitat en vers l'ió fosfat en augmentar la constant de Hammet del substituent^[6]. S'ha avaluat el diclorur de (bis(p-fluorobenzil)estany) i s'obté una major selectivitat per a fosfat que per a clorur, nitrat, bromur o acetat. El principal problema d'aquests derivats organometàl·lics d'estany és el seu limitat temps de vida.

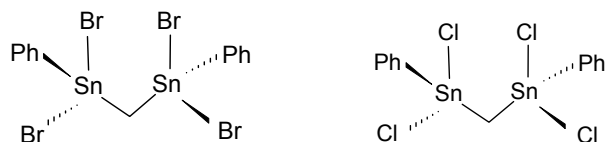


Figura 5.1: Compostos organoestànics emprats com a ionòfors selectius d'ió fosfat.

Altres estructures emprades són els òxids organometàl·lics d'estany (IV)^[7], és a dir, compostos que presenten dos centres metàl·lics separats per un àtom d'oxigen. Aquests centres metàl·lics presenten també substituents orgànics, preferentment anells aromàtics.

Les **poliamines cícliques**^[8] formen un grup particular de ionòfors de fosfat, on el receptor no presenta cap centre metàl·lic. S'ha estudiat diferents poliamines i s'ha trobat que aquestes s'enllacen fortament i selectivament a grups fosfat mitjançant enllaços per pont d'hidrogen i interaccions electrostàtiques entre els llocs catiònics del receptor i la càrrega negativa del grup fosfat (Figura 5.2). S'ha observat l'habilitat de les tetra-, penta- i hexaamines en les seves formes protonades per formar complexos amb fosfats inorgànics, AMP (adenosin monofosfat), ADP (adenosin difosfat) i ATP (adenosin trifosfat). Un aspecte fonamental d'aquests compostos és el nombre de protons que pot acomodar la poliamina a un determinat pH. L'espai entre els successius nitrògens és també important a l'hora de dissenyar receptors aniònics basats en poliamines^[2].

Recents estudis han demostrat que els H amídics (-CONH-) estan implicats en l'enllaç amb oxoanions inorgànics com el sulfat i el fosfat. Diversos articles publicats mostren la viabilitat de les poliamines cícliques amb grups oxo com a bons lligands per a oxoanions^[8-9].

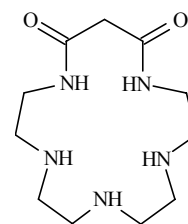
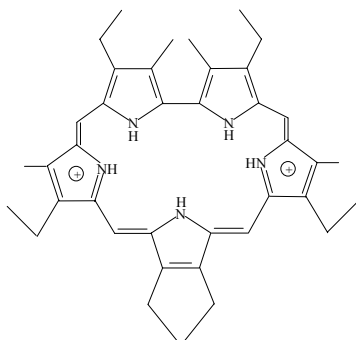


Figura 5.2: Poliamida cíclica emprada com a ionòfors selectius d'anions.

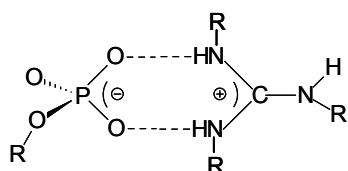
Les **porfirines**^[10-11], com per exemple la safirina (Figura 5.3), presenten també bones propietats per interaccionar selectivament amb anions. A partir d'estructures cristal·lines s'ha



pogut observar que l'anió està localitzat en el centre de l'estructura cíclica de la safirina. Aquesta macromolècula presenta tres grups -NH en el centre de l'anell, i la basicitat del macrocicle es complementa amb dos grups addicionals NH^+ ($\text{pK}_{a1}=3.5$ i $\text{pK}_{a2}=9.5$) que afavoreixen la interacció amb oxoanions.

Figura 5.3: Estructura de la safirina.

Una altra família proposada és la que presenta en la seva estructura el grup guanidini (Figura 5.4). El fet que l'arginina estès implicada en l'enllaç de diferents substàncies aniòniques, va fer pensar que les propietats d'aquest grup permetien la seva interacció amb els oxoanions més comuns. El grup **guanidini**^[3-4] presenta dos hidrògens, fortament àcids, susceptibles d'interaccionar mitjançant ponts d'hidrogen. També existeixen interaccions electrostàtiques. El problema d'aquest grup és la seva elevada hidrofília, que el fa inviable per a la seva utilització com a ionòfor en membranes lipofíliques. Així, s'ha promogut l'estudi de

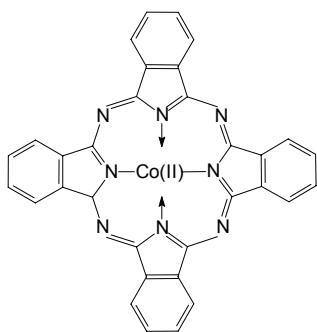


molècules que presenten grups guanidini amb substituents de gran volum. Alguns dels compostos basats en aquesta estructura són receptors macrocíclics i acíclics que tenen entre una i quatre unitats de guanidini.

Figura 5.4: Estructura del grup guanidini. Interaccions mitjançant ponts d'hidrogen amb l'anió fosfat.

Mentre que la protonació del ionòfor és un requisit per a la resposta aniònica dels ESIs basats en poliamines cícliques, els elèctrodes que utilitzen **bis-urees** o **bis-tiourees** com a element de reconeixement no necessiten d'aquesta etapa, doncs l'anió només interacciona mitjançant la formació de ponts d'hidrogen^[12-13]. S'ha demostrat que ionòfors neutres amb dos unitats de bis-urea o bis-tiourea complexen el dihidrogen fosfat en solvents no aquosos (DMSO). Estudis de RMN mostren la formació d'un complex 1:1 mitjançant quatre ponts d'hidrogen. S'ha observat però, que les bis-urees presenten una baixa solubilitat en solvents orgànics de baixa polaritat i pateixen processos de dimerització en aquests medis. Per altra banda, la bis-tiourea presenta menys associació en solvents apolars i interacciona més fortament amb els fosfats que la corresponent bis-urea degut a la major acidesa dels seus hidrògens. S'ha emprat aquest tipus de molècules per a la detecció d'oxoanions mitjançant ESI i s'ha comprovat que la utilització de grups fenils com a substituents milloren la selectivitat envers oxoanions.

Altres estratègies es basen en utilitzar metalls de transició encarregats de reconèixer selectivament l'anió d'interès^[8]. Aquests s'incorporen dins de lligands acíclics, macrocíclics i calixarens i s'obté un nou disseny de macromolècules capaces de reconèixer selectivament a



anions que es troben en posicions desfavorables en la sèrie de Hofmeister. Així, s'ha emprat com a ionòfors de fosfat estructures tipus ftalocianines de cobalt^{[1][14]} (Figura 5.5) i s'ha obtingut una bona selectivitat. Es troben descrits ESIs de membrana polimèrica amb complexes de Ni(II) que presenten una resposta a fosfats amb un pendent de -21mV/dèc., però no s'ha descrit res sobre la selectivitat d'aquests elèctrodes.

Figura 5.5: Ftalocianina de cobalt, estructura utilitzada com a ionòfor de fosfat.

Una alternativa als ESI de membrana polimèrica l'han aportada els elèctrodes de segona espècie basats en una **làmina metàl·lica de cobalt**^[15-19]. Aquests dispositius es caracteritzen per la seva simplicitat, baix cost, estabilitat electroquímica, llarg temps de vida i excel·lent selectivitat envers fosfats en presència d'anions com clorur, nitrat, acetat i anions d'estructura similar com el sulfat.

La dificultat de desenvolupar elèctrodes selectius d'anions que es troben al final de la sèrie de Hofmeister ha estat probablement la raó per la qual, el disseny d'elèctrodes selectius de fosfats roman oberta i és una de les fites més atractives dins del camp dels sensors químics.

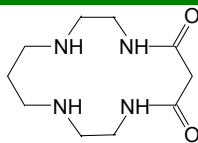
5.2 DISSENY I AVALUACIÓ D'ELÈCTRODES SELECTIUS D'IONS BASATS EN MEMBRANES DE PORTADOR MÒBIL

Després d'una exhaustiva recerca bibliogràfica es decideix avaluar com a possibles ionòfors poliamines, tiourees i porfirines susceptibles d'interaccionar de forma selectiva amb l'ió fosfat. L'elecció d'aquestes tres famílies es basa en diferents estudis previs trobats en la bibliografia, en els quals es descriu la utilització d'aquests compostos com a ionòfors selectius d'ió fosfat^[1-3]. També s'avaluarà la resposta obtinguda en utilitzar un compost organometàl·lic d'estany.

Tot i que la interacció química ha d'ésser favorable, existeixen altres fenòmens, com són la solubilitat en medis orgànics i l'estabilitat del ionòfor en la fase membrana, que determinen de forma important la viabilitat d'aquests compostos com a elements de reconeixement en sensors químics. Per tant, és necessari inicialment avaluar la solubilitat del ionòfor en el medi membrana, concretament en els plastificants emprats comunament en la preparació de còctels sensors. D'aquesta solubilitat dependrà l'obtenció de films homogenis amb bones propietats químiques i mecàniques. L'estabilitat de la molècula seleccionada en el medi orgànic és clau per a un elevat temps de vida dels dispositius.

A continuació es mostren els resultats obtinguts amb les quatre famílies de compostos assajades. A fi de no estendre massa el capítol, els resultats es presenten de forma resumida en diferents taules, una per cadascun dels compostos estudiats.

Taula 5.1: Caracterització i avaluació de l'ESI que incorpora com a ionòfor un compost poliamídic cíclic.



- ⇒ Estructura: 1,4,8,11-tetrazaciclodecà-5,7-diona. Presenta dos possibles protonacions amb pK_{a1} 5.42 i pK_{a2} 9.34 (medi aquós)^[9].
- ⇒ La grandària i la càrrega de l'anell modulen la selectivitat vers l'anió fosfat (estructura tetraèdrica).
- ⇒ Grups -oxo dins l'estructura afavoreixen la interacció ja que estableixen la càrrega positiva de l'anell i direccionen l'anió.

LIMITACIONS

Escassa solubilitat en el medi membrana.

Necessitat de protonar l'amina en la superfície sensora a fi de facilitar l'extracció aniònica.

CONDICIONS

Es prepara una membrana saturada del ionòfor que conté un 20% de poliamina (de la qual tan sols es dissol una petita fracció), 45% PVC i 35% DBS.

Les propietats mecàniques de la membrana polimèrica es modifiquen ja que es varien les proporcions estàndard dels components del còctel sensor. La membrana presenta la particularitat d'incorporar una quantitat de polímer superior a la de plastificant, fet poc usual en la preparació de membranes polimèriques per a elèctrodes selectius d'ions.

RESULTATS

En medi bàsic l'elèctrode no mostra resposta potenciomètrica vers l'ió HPO_4^{2-} , possiblement degut a la no protonació de l'amina en la superfície sensora.

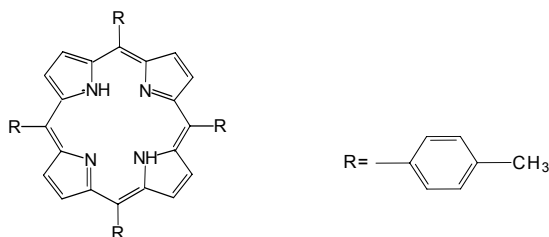
A pH àcid (medi d'hidrogenftalat de potassi a pH 4.0) s'observa que el potencial disminueix, encara que molt lleugerament, en augmentar l'activitat de l'espècie monovalent $H_2PO_4^-$.

CONCLUSIONS

Tot i que la informació bibliogràfica suggeria unes bones propietats d'aquests compostos com a ionòfor, al laboratori no s'ha pogut verificar el seu funcionament com a ionòfor de fosfat. És condició indispensable que el ionòfor estigui protonat per a què sigui factible l'extracció i posterior interacció de l'anió amb la poliamina. La interacció per formació de ponts d'hidrogen no és suficient per extreure aquest oxoanió de la dissolució aquosa. Conseqüentment, les membranes resulten ser selectives a $H_2PO_4^-$, espècie que està present majoritàriament en medis àcids.

L'escassa resposta del sensor està associada a la poca solubilitat d'aquest compost en el plastificant assajat.

Taula 5.2: Caracterització i avaluació de l'ESI que incorpora com a ionòfor un compost amínic cíclic.



- ⇒ Les safirines i les porfirines han estat àmpliament estudiades amb l'objectiu de dissenyar un sensor selectiu de l'àcid desoxirribonucleic (DNA), de l'adenosin difosfat (ADP) i del guanadinmonofosfat (GMP). El mecanisme es basa en la interacció específica entre l'oxanió dièster fosfat amb el centre de la safirina protonada^{[10-11][20]}.
- ⇒ S'estableixen interaccions electrostàtiques entre el receptor carregat en la superfície sensora i el fosfat, així com, ponts d'hidrogen, que generen la selectivitat desitjada. També és important la geometria de l'anió i el volum de la macromolècula per aconseguir una bona selectivitat.

LIMITACIONS

Escassa solubilitat en el medi membrana.

Necessitat de protonar l'amina en la superfície sensora a fi de facilitar la interacció aniònica.

CONDICIONS

Es prepara una membrana que presenta 20% ionòfor, 45% PVC i 35% del plastificant DBS. El ionòfor no es dissol en aquestes condicions en una quantitat apreciable. De manera anàloga a la porfirina assajada, això implica modificar les propietats mecàniques de la membrana polimèrica.

RESULTATS

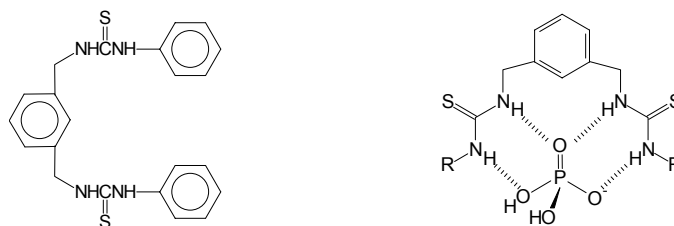
En medi bàsic l'elèctrode no mostra resposta potenciomètrica vers l'ió HPO_4^{2-} . Possiblement això és degut a la no protonació del ionòfor en la superfície sensora.

En el calibratge realitzat en medi àcid s'observa variació de potencial poc significativa: fins que l'activitat de l'espècie H_2PO_4^- és molt elevada (0.01M) no s'obté resposta.

CONCLUSIONS

No es van continuar els estudis amb aquest compost degut al poc senyal obtingut i als problemes relacionats amb la solubilitat del compost en la membrana. Així com amb les poliamines, la baixa resposta pot associar-se a l'escassa solubilitat del macrocicle en la fase membrana. La forta dependència del medi, tant pel que fa a l'activació de la membrana (protonació), com per a l'obtenció del senyal, dificultaria l'operativitat de l'elèctrode.

Taula 5.3: Caracterització i avaluació de l'ESI que incorpora com a ionòfor una tiourea.



- ⇒ Els ESIs basats en la bis-tiourea com a ionòfor presenten inicialment avantatges sobre els ionòfors de tipus cíclic com la poliamina i la porfirina. La membrana no fonamenta la resposta en un mecanisme del ionòfor carregat, per què la interacció que s'estableix amb els oxoanions inorgànics és exclusivament a través de ponts d'hidrogen. D'aquesta manera es pretén evitar els problemes que s'han observat en el cas de les poliamines cícliques i de les porfirines, que estan relacionats amb l'activació de la superfície sensora.
- ⇒ La constant de complexació augmenta quan els substituents de la bis-tiourea són fenils, degut a l'increment del caràcter àcid del H amínic que afavoreix la capacitat d'aquest grup de formar ponts d'hidrogen amb els àtoms d'oxigen de l'anió.
- ⇒ Es tria com a ionòfor la molècula de bis-tiourea mostrada en la figura, que presenta dos fenils com a substituents (R).

LIMITACIONS

Estabilitat del ionòfor en el medi membrana.

CONDICIONS

Es prepara una membrana que presenta 1% ionòfor, 66% o-NPOE, 33% PVC, i 35% en relació molar de TDABr respecte el ionòfor.

Els elèctrodes es condicionen durant 24 hores en una dissolució de fosfat a pH 4 emprant com a tampó una dissolució d'hidrogenftalat de potassi. Els calibratges es realitzen en aquest mateix medi.

RESULTATS

En el calibratge realitzat en medi àcid no s'observa variació de potencial fins que l'activitat de l'espècie H_2PO_4^- és molt elevada (0.01M).

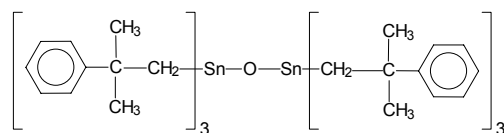
CONCLUSIONS

Igual que en el cas dels anteriors ionòfors estudiats, un dels problemes més important és la baixa solubilitat en medis orgànics. Però, a més, en aquest cas concret, el ionòfor és una estructura que presenta una elevada tendència a formar dímers (interaccions per pont d'hidrogen). Tot i que les tiourees presenten millors característiques que les bis-urees per ser utilitzades com a ionòfors, també tenen una baixa solubilitat en medis polars, així com una acusada tendència a formar

agregats. Quan s'utilitzen solvents de baixa polaritat es poden arribar a formar vuit ponts d'hidrogen entre dues molècules de bis-tiourea^[13]. Això podria ser una de les causes de la baixa resposta obtinguda amb aquests dispositius, ja que disminueix la quantitat del ionòfor lliure de la membrana capaç d'establir interacció amb l'analit. La manca de resposta de l'elèctrode envers l'espècie HPO_4^{2-} concorda amb les dades descrites per *Nishizawa et al.*^[21].

També es podria suposar que la bis-tiourea té moltes dificultats per extreure l'ió fosfat de la dissolució aquosa, degut a l'elevada hidrofília d'aquest anió. Cal recordar que aquest ocupa l'última posició en la sèrie de Hofmeister.

Taula 5.4: Caracterització i avaluació de l'ESI que incorpora com a ionòfor un òxid organometàl·lic d'estany.



- ⇒ L'elevada selectivitat d'aquest tipus de ionòfors pot ser explicada solament gràcies a la interacció directa que s'estableix entre el centre metàl·lic del ionòfor i els àtoms d'oxigen de l'anió. Diversos estudis sobre l'estructura d'aquests compostos demostren que la selectivitat envers fosfats augmenta quan hi ha dos centres metàl·lics a la mateixa molècula, ja que aleshores existeix la possibilitat de què es formin enllaços múltiples^[22]. Altres paràmetres com la disposició espacial, la possibilitat de coordinació bi-, tri-, o tetradentada i els substituents orgànics, han estat àmpliament investigats a fi d'optimitzar l'estructura del compost i fer-la accessible a la coordinació d'oxoanions. La majoria d'articles proposen un compost amb dos centres metàl·lics, separats per un grup metilè. Cada centre metàl·lic presenta, alhora, dos substituents electronegatius (Br o Cl) i dos substituents fenílics^[4-5].
- ⇒ Basant-nos en els treballs descrits a la bibliografia, es van preparar membranes polimèriques que contenen l'òxid de [bis-[tris(2-metil-2-fenil-propil)estany]](mostrat en la figura) com a ionòfor.

LIMITACIONS

La limitació d'aquests compostos a l'hora de ser utilitzats com a ionòfors és el temps de vida. Recentment s'ha descrit la utilització d'un òxid organometàl·lic d'estany com a ionòfor que és selectiu al monohidrogenfosfat^[22] i presenta un temps de vida d'aproximadament un mes.

Els compostos organoestànics es caracteritzen per la seva diversitat estructural; el seu centre metàl·lic pot presentar gran varietat de números de coordinació, que augmenta per sobre de quatre en solvents donadors. Poden presentar hidròlisi àcida, és a dir, les molècules d'aigua poden ocupar les posicions axials, o bé, en medis alcalins, poden formar els corresponents hidròxids^[23-24]. Això és

degut a què l'estany presenta una elevada afinitat per compostos que coordinen mitjançant l'oxigen. Una de les limitacions de la utilització de compostos organometàl·lics d'estany com a ionòfors en ESI de membrana polimèrica és el seu curt temps de vida. Tenint en compte el comportament químic d'aquests compostos sembla probable que en medis alcalins l'enllaç Sn-O-Sn es trenqui donant el corresponent hidròxid (-Sn-OH), fet que podria anul·lar el mecanisme de resposta original.

Basant-nos en la bibliografia, i amb l'objectiu de millorar aquest paràmetre, es decideix preparar una nova membrana que incorpora en la seva composició dimetilformamida (DMF). Diversos autors, que han estudiat compostos organometàl·lics d'estany, introdueixen aproximadament un 13% de DMF^{[6][25-26]} a la composició de la membrana. La funció principal d'aquest solvent és coordinar-se al centre metàl·lic evitant, per exemple, la coordinació de molècules d'aigua que podrien ser les responsables de la degradació del ionòfor dins de la membrana.

CONDICIONS

Es selecciona el medi de treball i s'optimitza la composició del còctel sensor, arribant a les següents conclusions:

- ⇒ Una composició òptima de la membrana presenta entre un 0.6 i un 1% del ionòfor, entre un 20% i un 30% d'additiu (en fracció molar) i, com a plastificant, és indiferent treballar amb *o*-NPOE o adipat de bis (1-butilpentil). S'escull, finalment, el *o*-NPOE, plastificant més comunament utilitzat en la preparació d'aquestes membranes.
- ⇒ Medi iònic: dissolució de tris de concentració $5 \cdot 10^{-3}$ M ajustada a pH 9.5. L'elèctrode respon a canvis en l'activitat de l'espècie HPO_4^{2-} .

RESULTATS

Membrana: 0.6% ionòfor, 66.4% *o*-NPOE, 33% PVC, 22% (mol) TOABr (additiu)

S'obté un pendent lineal de -27 mV/dèc. en un interval de concentracions de $6 \cdot 10^{-4}$ a 0.1 M, i un límit de detecció de $1 \cdot 10^{-4}$ M.

Membrana: 1% ionòfor, 51% *o*-NPOE, 16% DMF, 32% PVC, 20% (mol) TOABr

S'obté un pendent lineal de -27 mV/dèc. en un interval de concentracions de $1 \cdot 10^{-3}$ a 0.1 M, i un límit de detecció de $3 \cdot 10^{-4}$ M.

La degradació del compost organometàl·lic d'estany limita el temps de vida dels elèctrodes. Després de realitzar deu calibratges successius s'observa un augment del límit de detecció i una disminució de la sensibilitat, expressada en mV/dècada. No s'obtenen millores quan s'introdueix dimetilformamida en la composició de la membrana, ni sembla influir, en el temps de vida, el procediment de conservació dels elèctrodes (sec o dissolució).

CONCLUSIONS

En funció dels resultats obtinguts, es pot concloure que la manca d'estabilitat del compost organometàl·lic a l'entrar en contacte amb la dissolució aquosa de treball, sembla limitar la possibilitat d'aplicació d'aquests dispositius. Si els límits de detecció fossin més baixos es podria pensar en el desenvolupament de dispositius d'un sol ús. Però, els valors obtinguts d'aquest paràmetre fan difícil aquesta opció.

Actualment, en el nostre grup de recerca s'han dissenyat, amb la col·laboració del Laboratori de Medicina Computacional (LMC) de la Universitat Autònoma de Barcelona, diversos *hosts* o receptors susceptibles d'interaccionar de forma selectiva amb l'anió fosfat. Aquests receptors són derivats sulfamídics^[27-29] que permeten el reconeixement selectiu gràcies tant a la formació de ponts d'hidrogen, com a la cavitat generada per l'estructura que permet l'acoblament de l'esmentat ió. Els estudis preliminars realitzats fins al moment^[30] mostren la viabilitat d'emprar aquestes macromolècules com a elements de reconeixement d'ió fosfat. Aquests resultats obren una nova via molt prometedora per a l'obtenció d'elèctrodes selectius d'ions basats en membranes polimèriques, que presentin unes característiques òptimes, en quant a límit de detecció i temps de vida, per a la determinació de l'anió ortofosfat.

Inicialment, es realitzen les primeres aproximacions partint d'una estructura proteica natural que presenta interaccions molt selectives amb molècules d'ATP i d'ADP^[31-32]. Degut a la complexitat d'aquest *host* per a ser sintetitzat, s'escull un dels setis actius d'aquesta macromolècula i s'estudien les interaccions febles que mantindrà amb el fosfat. D'aquesta manera es seleccionen per ser avaluats com a ionòfors de fosfat, derivats amínics i sulfamídics que són capaços d'integrar dins de la seva estructura els setis actius estudiats. Els càlculs teòrics realitzats mostren que aquestes estructures macromoleculares presenten una constant de complexació més elevada amb l'anió d'interès que amb la resta d'anions, tal com sulfat, clorur, nitrat i hidrogencarbonat. Addicionalment, la seva síntesi a nivell de laboratori és factible.

S'avaluen derivats sulfamídics basats en el compost tris(2-aminoetil)amina, ja que aquests presenten una constant de complexació elevada vers l'anió fosfat i per tant, són susceptibles de reconèixer de forma selectiva aquest anió. En la Figura 5.6 es representa el complex que formen el receptor i l'anió fosfat. El receptor és un criptà de cadena oberta amb tres braços sulfamídics o amídics idèntics, (en aquest cas i per simplificar el procediment de computació s'han substituït els anells de α -naftil per grups metils). Aquest receptor és capaç de generar una cavitat tridimensional on s'encabeix l'hidrogenfosfat i provoca un senyal sensible i selectiu degut principalment a les interaccions per pont d'hidrogen que s'estableixen, encara que la interacció final és el sumatori de totes les forces presents en el procés d'extracció.

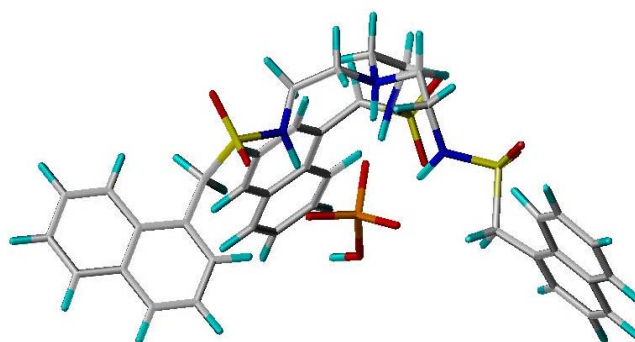


Figura 5.6: Complex entre la triamina secundària dissenyada (receptor) i l'anió fosfat.

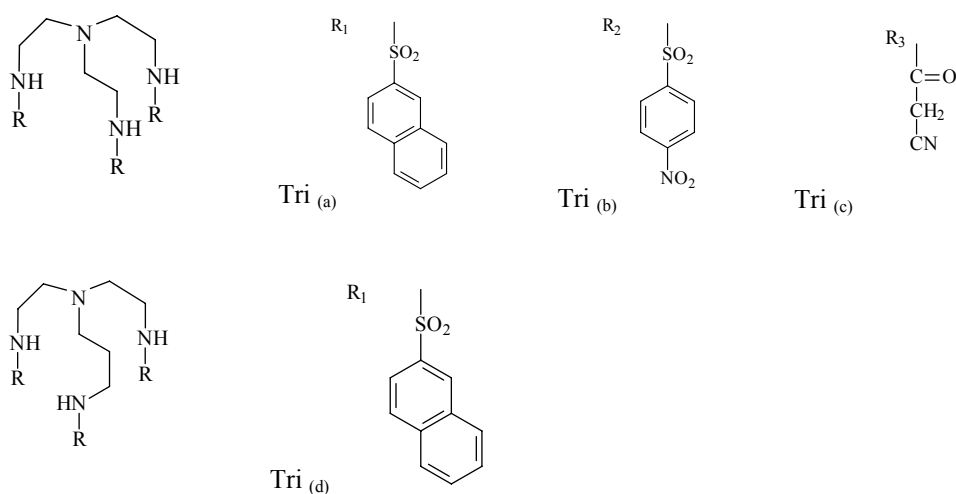


Figura 5.7: Estructures moleculars de les diferents triamines secundàries avaluades.

S'estudien diferents substituents de l'amina secundària amb la finalitat de millorar les característiques de resposta de l'elèctrode vers l'anió fosfat^[30]. En la Figura 5.7 es mostren les estructures moleculars dels diferents ionòfors dissenyats. Teòricament, i tenint en compte la seva estructura, la $\text{Tri}_{(b)}$, degut a què incorpora un grup electroatraient nitro, afavoreix les interaccions per pont d'hidrogen que manté el receptor i l'anió fosfat, ja que s'incrementa el caràcter àcid dels protons de l'amina secundària. Aquest fet hauria de millorar la interacció amb el fosfat, disminuint per tant el límit de detecció, però també podria incrementar la resposta deguda als anions interferents.

La $\text{Tri}_{(c)}$ incorpora un grup ciano, i pretén igual que en el cas anterior, augmentar l'acidesa dels protons de l'amina secundària, i per tant, afavorir la interacció de l'element de reconeixement amb l'anió fosfat. La $\text{Tri}_{(d)}$ es sintetitza amb la finalitat de disminuir l'efecte que presenta l'ió hidrogenocarbonat (interferent) sobre la resposta del sensor basat en el ionòfor $\text{Tri}_{(a)}$. Al trencar la simetria en el receptor, es minimitza l'efecte interferent de l'anió hidrogenocarbonat, degut a què la distància entre l'anió i una de les cadenes del receptor no permet la formació d'un pont d'hidrogen.

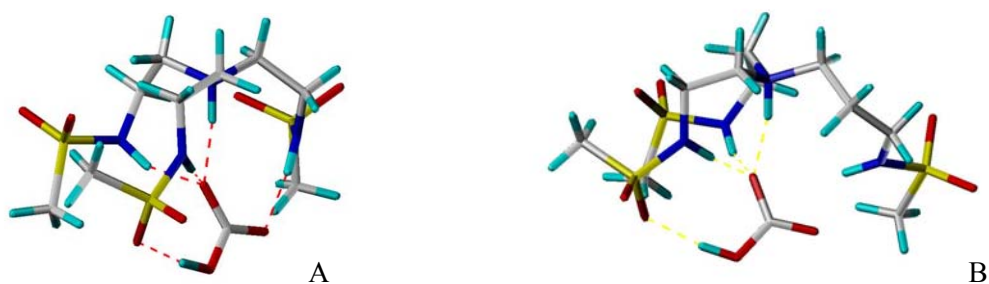


Figura 5.8: Interacció entre el receptor $\text{Tri}_{(a)}$ (sense l'anell α -naftil) i l'anió hidrogencarbonat i els 5 punts d'hidrogen que s'hi estableixen (A). Interacció entre el receptor $\text{Tri}_{(d)}$ (sense l'anell α -naftil) i l'anió hidrogencarbonat i els 4 punts d'hidrogen que s'hi estableixen (B).

En la Figura 5.8 es mostren les molècules $\text{Tri}_{(a)}$ i $\text{Tri}_{(d)}$ amb les interaccions per pont d'hidrogen que mantenen amb l'anió hidrogencarbonat. Al trencar la simetria en el receptor, teòricament, la nova cavitat generada perd la capacitat de formar un pont d'hidrogen reduint així, l'energia de formació del complex.

De l'estudi comparatiu^[30] s'obté que l'elèctrode que incorpora el ionòfor $\text{Tri}_{(b)}$ és el que mostra les millors característiques de resposta vers l'ió monohidrogenfosfat. S'obté una sensibilitat de -45 mV/dèc. en un interval lineal de concentració de 0.1 a 1000 ppm d'ió HPO_4^{2-} i un límit de detecció de 0.01 ppm (fons d'aigua bidestil·lada). També mostra una selectivitat vers l'anió d'interès respecte als anions interferents avaluats: clorur, nitrat, sulfat i hidrogencarbonat. Tot i així, la interferència causada per l'anió hidrogencarbonat és important. En estudis futurs s'intentarà l'optimització exhaustiva d'aquesta i noves estructures a fi d'assolir el límit de detecció requerit en mostres reals i minimitzar el màxim l'efecte provocat principalment pels anions hidrogencarbonat i clorur.

5.3 ELÈCTRODE BASAT EN UNA PLACA METÀL·LICA DE COBALT

Com alternativa als ESI de membrana polimèrica es desenvolupa i avalua un elèctrode basat en una placa metàl·lica de cobalt. Aquest tipus d'elèctrode ha mostrat una resposta selectiva a fosfat enfront d'altres anions com sulfat, nitrat, i clorur. Recentment, s'ha proposat la seva incorporació com a detectors potenciomètrics integrats en sistemes FIA per a l'anàlisi de mostres reals^{[17][33]}.

5.3.1 Mecanisme de resposta

El mecanisme de resposta d'aquests sensors continua en estudi i existeixen importants discrepàncies entre els diferents autors. Xiao *et al.*^[15] postulen que el mecanisme involucra la formació sobre la superfície del metall d'una capa d'òxid de cobalt no estequiomètric amb imperfeccions que li confereixen caràcter de semiconductor tipus p. Les cavitats generades

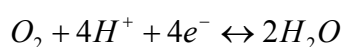
durant la formació d'aquest òxid no estequiomètric, podrien acomodar, durant la resposta, l'estructura de l'espècie dihidrogenfosfat. Els autors mostren com la superfície oxidada del cobalt metàl·lic pot ser utilitzada com a sensor potenciomètric selectiu de fosfat. La dissolució amortidora recomanada com a medi de treball és l'hidrogenftalat de potassi de concentració 0.025M a pH 4. En aquestes condicions s'obté un pendent de -55 mV/dèc. en un interval lineal de $1 \cdot 10^{-2}$ a $1 \cdot 10^{-5}$ M d'ió fosfat. Els autors suggereixen per tant, un mecanisme de *Host-Guest* per explicar la resposta del sensor.

Paral·lelament, Meruva *et al.*^[16] postulen que l'elèctrode respon a les tres espècies aniòniques de l'àcid fosfòric: H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} i PO_4^{3-} , degut a la formació d'una capa de fosfat de cobalt, $\text{Co}_3(\text{PO}_4)_2$, sobre la superfície de l'elèctrode. El potencial mesurat és el resultat d'un potencial mixt, originat per la lenta oxidació del cobalt i la simultània reducció del O_2 i Co^{2+} a la superfície. En presència de fosfats, s'accelera l'oxidació del metall i es forma una capa de fosfat de cobalt responsable de la resposta selectiva^{[16][34]}. Al contrari que en una cel·la electroquímica usual, on les reaccions anòdica i catòdica tenen lloc en dos elèctrodes diferents, en aquest cas, les dues reaccions s'originen en diferents punts d'un mateix elèctrode, donant lloc al que anomenem potencial mixt. En aquest cas, el potencial mixt o de corrosió, ocasionat per la lenta oxidació del cobalt i la simultània reducció en la superfície de l'elèctrode de l'oxigen i del Co^{2+} varia en funció del nivell d'oxigen dissolt i de la presència, o no, de fosfat en el medi. En realitat, però, el nombre de variables és més elevat i inclou velocitat d'agitació, força iònica, pH i naturalesa del tampó. Publicacions de Meruva i Meyerhoff^[34] mostren també l'aplicació de l'elèctrode de cobalt com a sensor per a la determinació de la pressió parcial d'oxigen en fluids sanguinis.

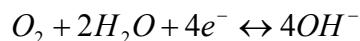
El potencial mixt del metall no és un veritable potencial d'equilibri sinó un *equilibri dinàmic*, on es compleix la condició de que la suma del corrent corresponent a les reaccions catòdiques és igual a la suma del corrent corresponent a les reaccions anòdiques, $i_a = i_c$. Si diferents substàncies són susceptibles de ser reduïdes, la reacció que origina major corrent és la que domina^[35].

Les reaccions químiques que ens descriuen el procés de corrosió de la placa de cobalt són les següents:

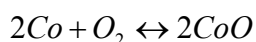
1. Dissolució del metall que ve acompanyada per la formació de l'òxid de cobalt. En molts casos la reducció de l'oxigen és la que acompanya a l'oxidació del metall. Si aquesta té lloc en medi àcid tenim que:



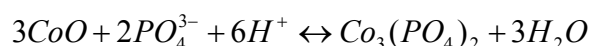
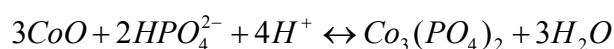
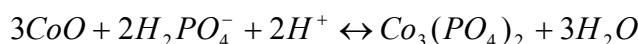
mentre que si la reacció té lloc en medi bàsic aquesta és:



En ambdós casos la reacció global és la següent:

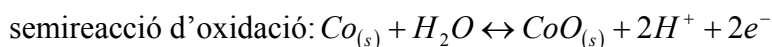


2. Quan el fosfat és present en la dissolució, sobre la superfície de l'elèctrode es forma el fosfat de cobalt. El mecanisme de reacció depèn de l'espècie de fosfat present en el medi. L'existència d'una o altra dependrà a la vegada del pH de la dissolució de treball.

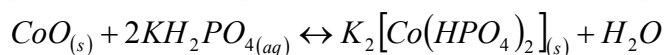


La formació del fosfat de cobalt afecta al potencial mixt de l'elèctrode. Si és la forma oxidada del cobalt la que reacciona, el potencial d'equilibri de l'oxidació E_a^{eq} es desplaçarà cap a valors més negatius. Això és degut a l'estabilització de la forma oxidada del cobalt i d'aquí l'elevada energia necessària per a la seva reducció^[36]. Desplaçant aquest potencial cap a valors més negatius mantenint les altres variables constants i, sobretot la concentració de l'oxigen, fa que el potencial mixt es desplaci cap a valors més negatius. Si el potencial d'equilibri ve governat per l'equació de Nernst, la variació de potencial és proporcional al logaritme de l'activitat de l'ió fosfat.

De Marco *et al.*^[18] postulen la formació d'una sal de fosfat $K_2(Co(HPO_4)_2)$. L'espècie hidrogenfosfat dissol la capa d'òxid de cobalt, formada sobre la superfície del sensor, facilitant el procés de corrosió que controla la resposta de l'elèctrode metàl·lic en medi aquós. En funció de les dades obtingudes, es proposa el següent mecanisme:



Aquest és el procés que s'intenta facilitar amb el condicionament inicial de l'elèctrode, i posteriorment, en presència de fosfat, la reacció que té lloc és la que es mostra a continuació:



Les sals de $Co(HPO_4)_n^{2-2n}$ es formen en medis aquosos en presència de Co^{2+} i HPO_4^{2-} . Encara que aquesta sal és moderadament soluble, és probable que s'estabilitzi degut a l'adsorció i intercalació entre el CoO amb la co-adsorció del catió K^+ . En aquest cas l'equació de Nernst pot ser expressada com:

$E = E' - \frac{2.303RT}{F} pH - \frac{2.303RT}{F} \log(a_{H_2PO_4^-})$, on a pH constant la resposta depèn de l'activat de l'ió fosfat.

Estudis posteriors realitzats per Chen *et al.*^[37], proposen com a mecanisme la formació del fosfat de cobalt, $Co_3(PO_4)_2$, sobre la superfície de l'elèctrode. En aquest cas, en el mecanisme proposat s'introdueix l'efecte de la concentració del medi iònic de treball. Concretament, l'hidrogenftalat formaria un complex amb el cobalt, el que estabilitza el potencial inicial, prèvia interacció amb el fosfat. L'equació final que descriu la resposta és la següent:

$$\Delta E = const + s \left(\frac{4}{3} \log[H^+] + \log[L^{-n}] - \frac{2}{3} \log[H_2PO_4^-] \right)$$

S'obté una resposta lineal vers l'anió fosfat al treballar sota condicions de pH i concentració d'hidrogenftalat constant.

Finalment, Engblom (1999)^[19] en la seva última publicació recolza la teoria de potencial mixt per a explicar el mecanisme de resposta del sensor, i l'aplica a la determinació de fosfat inorgànic en extractes de sòls.

De la informació bibliogràfica disponible, es pot concloure que la resposta d'aquests sensors depèn de diferents variables que caldrà controlar a fi d'obtenir mesures reproduïbles i fiables. La resposta dependrà del pH de la dissolució, de la força iònica i de la dissolució amortidora emprada, paràmetres que es caracteritzaran inicialment en un sistema en discontinu.

Amb l'objectiu de verificar el comportament i la viabilitat d'aquests elèctrodes es va procedir a la seva construcció d'acord amb el procediment descrit en el capítol de materials i mètodes (fig. 3.3). Un cop construïts van ser avaluats a fi d'establir les seves característiques de resposta.

5.3.2 Característiques de resposta de l'elèctrode de cobalt en un sistema en discontinu

Un cop construïts els dispositius, aquests són condicionats abans de la seva utilització. El procés de condicionament, tenint en compte els mecanismes proposats, passa per la formació de la capa d'òxid de cobalt. Amb aquesta finalitat, els elèctrodes es condicionen amb aigua bidestil·lada durant aproximadament 15 minuts i posteriorment s'introdueixen 20 minuts en la dissolució amortidora de treball (hidrogenftalat 0.025M a pH 4). S'observa visualment la formació d'una capa gris en la seva superfície, suposadament d'òxid de cobalt.

L'àcid fosfòric, és un àcid polipròtic amb constants d'acidesa (pKa) 2.15, 7.20 i 12.15. En la Figura 5.9 s'ha representat quines espècies predominen en dissolució en funció del pH del

medi. Podem observar com a pH 4.5 tenim pràcticament el 100% de l'espècie H_2PO_4^- , i que a pH 9.5 l'espècie majoritària és l'anió HPO_4^{2-} .

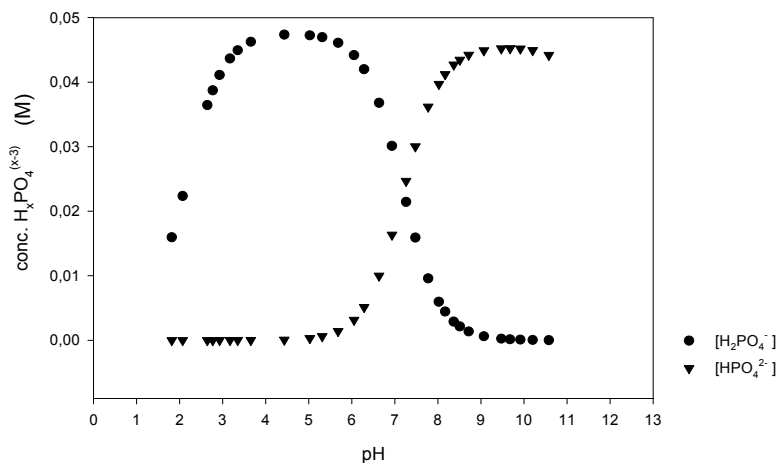


Figura 5.9: Espècies predominants de fosfat presents en dissolució aquosa en funció del pH .

Es realitzen calibratges a pH variable, és a dir, s'estudia l'evolució del potencial en funció del pH en un fons de concentració 10^{-3} M de fosfat. S'afegeix NaOH sobre 25 ml d'una dissolució d'àcid fosfòric provocant una variació de pH de 3 a 11. El resultat es mostra en la Figura 5.10.

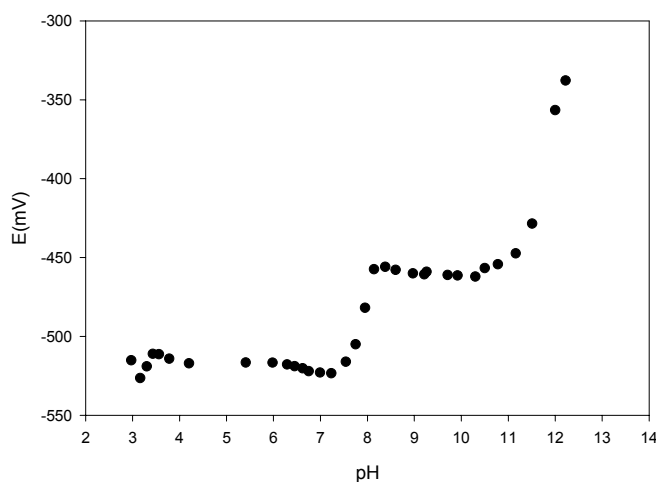


Figura 5.10: Calibratge a pH variable.

La Figura 5.10 mostra la influència del pH en la resposta potenciomètrica. S'observa que el potencial es manté pràcticament constant en un interval de pH de 3.5 a 7, on està present de forma majoritària l'espècie dihidrogenfosfat. També es manté constant el potencial en l'interval de pH de 8.2 a 10.5 unitats, on l'espècie predominant és l'ió monohidrogenfosfat. Experimentalment s'observa (Figura 5.10) que al voltant d'un pH 7.2 el potencial fa un salt de 65 mV, i entre 11 i 12.2, el potencial augmenta uns 100 mV. Això correspon a la presència en

el medi del 50% de les espècies $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$ i del 50% de $\text{HPO}_4^{2-}/\text{PO}_4^{3-}$ respectivament, coincidint en els valors de pH que corresponen als valors de la segona i tercera constant d'acidesa (pK_{a2} 7.2 i pK_{a3} 12.15).

Segons els resultats obtinguts, l'elèctrode sembla respondre a les tres espècies iòniques de l'àcid fosfòric: H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} i PO_4^{3-} , dades que es corresponen amb les obtingudes per Meruva *et al.*^[16] en els seus estudis¹. En aquest es postula la formació del fosfat de cobalt en la superfície del sensor. Caldria esperar que a pH superiors a 12, el potencial es mantingués constant com a conseqüència de la resposta sensora a l'espècie PO_4^{3-} .

En funció de la resposta obtinguda i per avaluar la resposta de l'elèctrode envers les espècies H_2PO_4^- i HPO_4^{2-} es decideix realitzar calibratges a pH 4.0 i al voltant de pH 9.5. Amb aquesta finalitat s'avaluen diferents dissolucions amortidores que permetin mantenir el pH constant en les zones de treball desitjades.

5.3.2.1 Elecció del medi amortidor

Tenint en compte els mecanismes de resposta proposats, el medi amortidor no tan sols afectarà a l'especiació de l'ortofosfat en la dissolució, sinó que pot influenciar el procés de corrosió del metall, i per tant, en la resposta sensora. Basant-nos en la bibliografia s'escull per a treballar a pH lleugerament àcid, l'hidrogenftalat de potassi. I com a medis tamponants a pH bàsic s'avaluen tres de diferents: l'amoni/amoniac, el perborat sòdic i l'EPPS.

Amb la finalitat d'avaluar la influència del fons salí en la resposta potenciomètrica de l'elèctrode, i de determinar a quina o quines espècies és selectiu el sensor dissenyat, s'estudien les característiques de resposta de l'elèctrode en els següents medis amortidors:

Taula 5.5: Dissolucions amortidores i condicions de treball emprades en l'avaluació de la resposta sensora.

Dissolució amortidora	Concentració (M)	pH de treball ajustat	pKa
Hidrogenftalat de potassi	$2.5 \cdot 10^{-2}$	4.0	2.95, 5.41
Amoni-amoniac	$5.0 \cdot 10^{-2}$	9.3	9.24
Perborat sòdic	$1.0 \cdot 10^{-2}$	9.5	9.24, 12.74, 13.80
EPPS	$1.0 \cdot 10^{-2}$	8.5	8.0

En la Figura 5.11 es mostren les corbes de calibratge obtingudes en els medis de treball descrits.

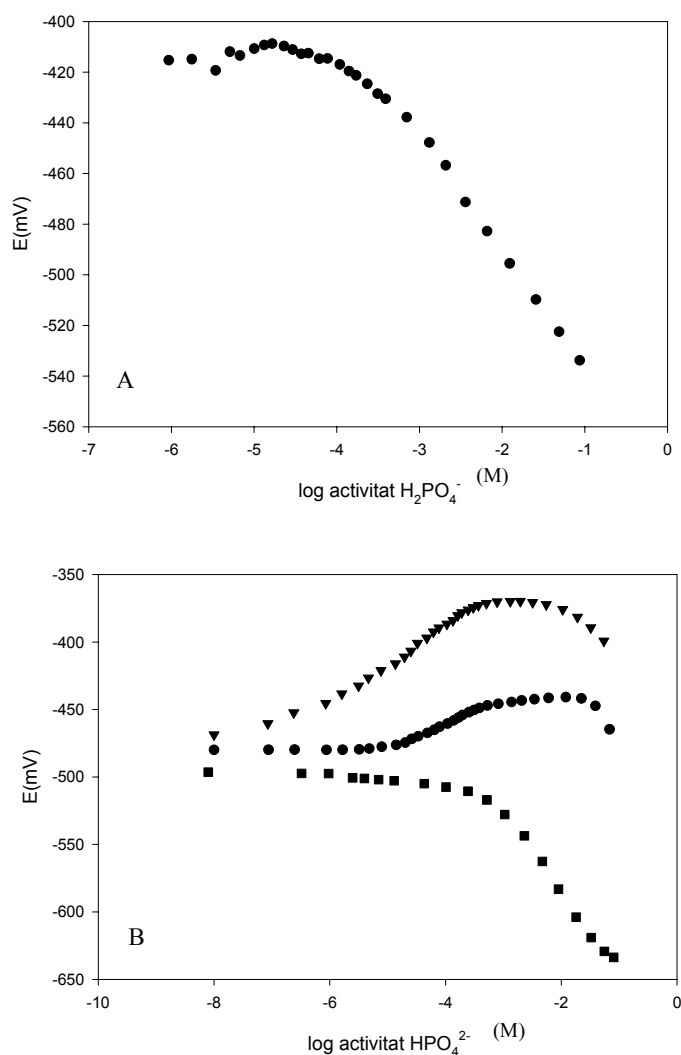


Figura 5.11: Corbes de calibratge obtingudes al treballar en diferents medis: (A) hidrogenftalat de potassi a pH 4.0 (B) perborat sòdic a pH 9.5 (\blacktriangledown), amoníac a pH 9.3 (\bullet) i EPPS a pH 8.5 (\blacksquare).

S'observa en els gràfics de forma global, una forta dependència de la resposta del sensor en funció del medi amortidor i del pH de la dissolució de treball. Treballant a pH bàsic amb amoníac i perborat sòdic com a dissolucions amortidores no existeix resposta aniónica. Contràriament, quan es calibra en un fons d'EPPS, el pendent que s'obté és d'aproximadament -50 mV/dèc. , és a dir, pendent supernernstiana tenint en compte que, al pH de treball, la resposta potenciomètrica seria deguda a canvis en l'activitat de l'anió HPO_4^{2-} (anió divalent) i segons l'equació de Nernst, amb un pendent teòric de -29.5 mV/dèc.

La corba de calibratge obtinguda a pH lleugerament àcid, emprant hidrogenftalat de potassi com a dissolució de fons (Figura 5.11 A), mostra un pendent lineal d'aproximadament -40

mV/dèc., dades que es corresponen amb les trobades en la bibliografia, on la sensibilitat presenta un valor inferior al predit per l'equació de Nernst (-59.2 mV/dèc.). Això seria conseqüència del complex mecanisme de resposta de l'elèctrode.

En funció dels resultats obtinguts es selecciona l'hidrogenftalat de potassi, de concentració 0.025 M com a medi iònic òptim. Per tant, l'elèctrode respondrà a canvis en l'activitat de l'espècie monovalent H_2PO_4^- , espècie present a aquest pH. L'alternativa d'emprar com a dissolució amortidora l'EPPS la descartem ja que, el límit de detecció obtingut en aquestes condicions experimentals és superior a l'obtingut al treballar en el medi d'hidrogenftalat. A la vegada, i pensant en l'aplicació prevista, el cost de l'hidrogenftalat és molt menor.

5.3.2.2 Determinació dels paràmetres de resposta

Per caracteritzar els paràmetres de resposta s'utilitzen les equacions 4.8, 4.9 i 4.10, descrites en el capítol de metodologia d'avaluació. Es realitzen successius calibratges mitjançant l'addició de petits volums de diferents dissolucions patró de KH_2PO_4 sobre un fons d'hidrogenftalat de potassi. Els valors obtinguts de sensibilitat, c , LD (eq. 4.12) i LIRL es mostren en la Taula 5.6 i en la Figura 5.12 es presenta un exemple d'una corba de calibratge obtinguda en un medi d'hidrogenftalat de potassi 0.025 M a pH 4.0 amb aquest elèctrode.

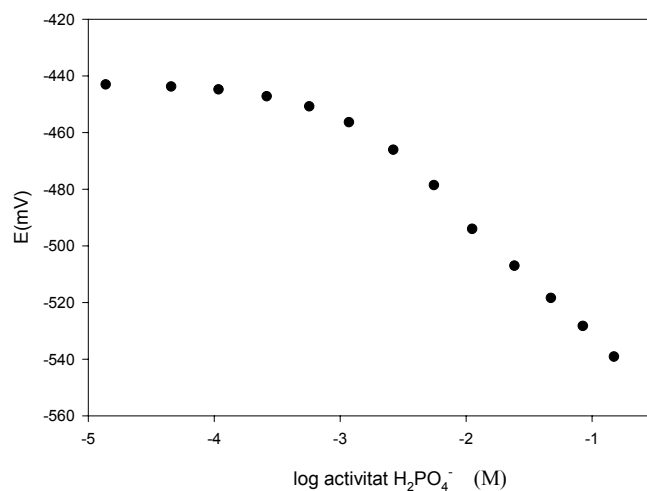


Figura 5.12: Exemple de calibratge realitzat en un medi d'hidrogenftalat de potassi 0.025 M a pH 4.0.

Taula 5.6: Paràmetres de resposta en un medi d'hidrogenftalat potàssic a pH 4.

Ajust no lineal (nombre de calibratges: n=10)		Ajust lineal (nombre de calibratges: n=10)		
$B_3 \pm E_b$	$c \pm E_c$	$B_1 \pm E_b$	LIRL (M)	LD (M)
-50.1 ± 2.0	5.4e-4 ± 1.0e-4	-42.7 ± 0.8	4.4e-4 ± 6e-5	2.5e-4 ± 6e-5

Es pot observar que l'elèctrode dona valors repetitius. Respecte la sensibilitat lineal (B_1) que mostren els dispositius, obtenim un valor màxim de -45 mV/dèc. en el primer calibratge i un valor mínim de -38 mV/dèc. en el segon, la resta de valors de B_1 oscil·len entre 40-43 mV/dèc., obtenint-se un valor mig de -42.7 mV/dèc. i una desviació estàndard relativa del 2% (per $n=10$).

Tot i el gran nombre de variables que poden influenciar en la resposta d'aquest tipus d'elèctrodes: pH, força iònica, pressió parcial de l'oxigen, etc., s'obtenen molt bons resultats tenint en compte que no es treballa sota condicions estrictament controlades. Aquest fet ens indica que el sistema de mesura, sota les condicions de treball prèviament optimitzades, és robust i repetitiu.

Una important avantatge d'aquest tipus de dispositius, que els faria especialment útils per a la seva aplicació en analitzadors de camp, seria la regeneració de la superfície sensora mitjançant un simple procés de poliment. Això permetria reduir costos en la producció de sensors basats en la placa de cobalt.

A fi d'avaluar la possibilitat de reutilitzar els elèctrodes es decideix polir de nou la superfície sensora i tornar a condicionar els elèctrodes, després d'un període d'inactivitat d'aproximadament dos mesos.

Per avaluar la repetitivitat dels dispositius es realitzen cinc calibratges successius, emprant com a dissolució de fons un medi d'hidrogenftalat de potassi a pH 4.0 i es comparen els resultats obtinguts amb els obtinguts anteriorment al procés de poliment.

Els paràmetres de calibratge obtinguts és mostren a la Taula 5.7:

Taula 5.7: Paràmetres de calibratge.

Ajust no lineal		Ajust lineal		
$B_3 \pm E_b$	$c \pm E_c$	$B_1 \pm E_b$	LIRL (M)	LD (M)
-46.7 ± 3.7	$7.5e-4 \pm 2.7e-4$	-38.7 ± 2.3	$3.7e-4 \pm 1.4e-4$	$3.5e-4 \pm 1.4e-4$

Si es comparen els valors de les dues sèries de calibratges realitzats (Taula 5.6 i Taula 5.7) es pot observar una bona concordança entre els paràmetres calculats abans i després de polir la superfície sensora. Per comprovar si els resultats difereixen significativament, es realitza una prova estadística de comparació de mitjanes^[38] on es compara el valor mig de B_1 i el valor mig del LD que s'obtenen en les dues etapes de calibratge. Aquest test s'aplica després de comprovar que les desviacions estàndard dels dos valors mig no difereixen significativament. El resultat obtingut mostra que no existeixen diferències significatives entre ambdós elèctrodes. Tot i que és visible un increment en la desviació estàndard, com a conseqüència

d'una major dispersió en els resultats. Aquesta podria associar-se al recobriment (condicionament) de la superfície del sensor després del procés de poliment.

Els resultats ens permeten concloure que el sistema de mesura és reproducible, no tan sols entre els calibratges successius, sinó inclús després de polir la superfície de l'elèctrode i regenerar així de nou la superfície sensora. Així doncs, aquests resultats corroboren que, tot i que en el mecanisme de resposta de l'elèctrode semblen influir diversos paràmetres, sota les condicions de mesura establertes, les característiques de resposta són reproduïbles.

5.3.2.3 Temps de resposta

Com s'ha descrit en el capítol de metodologia d'avaluació, es realitzen mesures de potencial a 1 i 3 minuts després de cada variació d'activitat d'analit provocada per les addicions de dissolucions patró. Aquests potencials són registrats i es representen en funció de l'activitat de l'ió dihidrogenfosfat.

A continuació, es mostra un exemple d'una corba de calibratge on es representen els dos potencials obtinguts en funció de l'activitat de l'analit i del temps de mesura (Figura 5.13).

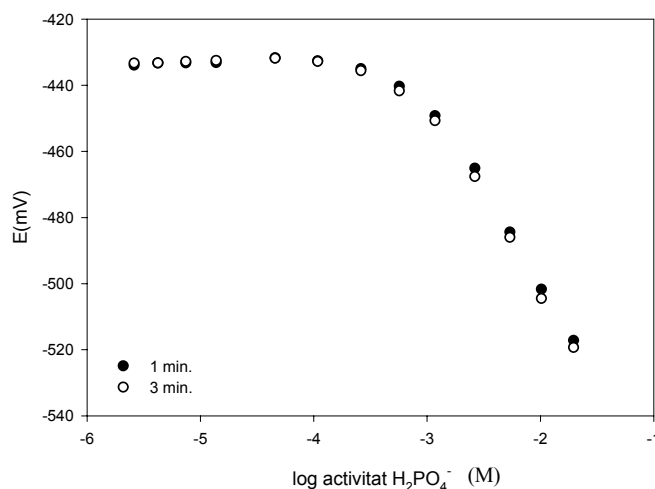


Figura 5.13: Representació del potencial mesurat un minut després de cada addició (●). Representació del potencial mesurat tres minuts després de cada addició (○).

La Figura 5.13 mostra com no existeixen pràcticament diferències entre els potencials registrats a 1 i 3 minuts. L'elèctrode respon a canvis d'activitat de dihidrogenfosfat en un temps inferior a un minut, temps suficient per obtenir una lectura de potencial estable a qualsevol activitat de l'ió dihidrogenfosfat. Encara que, de forma anàloga a les membranes polimèriques, a concentracions baixes d'analit caldria esperar que el temps de resposta fos superior degut a què l'equilibri que s'estableix entre les dues fases és més lent, però no és així.

Es pot concloure que la resposta potenciomètrica del sensor és ràpida, el que permet escurçar de forma important el temps necessari per realitzar un calibratge. En mesures realitzades en condicions dinàmiques de flux continu, aquesta característica permetrà incrementar la freqüència d'anàlisi, així com reduir el consum de reactius.

5.3.2.4 Estudi d'interferències

L'estudi d'interferències és clau si es pensa en l'aplicació del sensor per a l'anàlisi de mostres mediambientals on la matriu acostuma a ser complexa. Pensant en la possible aplicació d'aquests sensors en la detecció de fosfats en aigües superficials, es decideix realitzar un estudi de l'efecte interferent dels anions habitualment presents en aquest tipus de mostres. Concretament, s'avaluen la resposta potenciomètrica a l'ió clorur, l'ió sulfat i l'ió nitrat. S'utilitza el mètode de les dissolucions mesclades i es realitzen els càlculs dels coeficients de selectivitat potenciomètrica tenint en compte l'equació de Nickolskii-Eisenman (eq. 4.9). Com s'ha descrit anteriorment i en cas que l'ió interferent i l'ió principal presentin diferent càrrega, es calcularà el coeficient obviant l'exponent.

Es preparen dissolucions de concentració 0.1 M de clorur i nitrat de potassi, així com dissolucions 0.1 M i 0.01 M de sulfat de potassi. Totes aquestes dissolucions han estat preparades en una dissolució amortidora d'hidrogenftalat de potassi a pH 4.

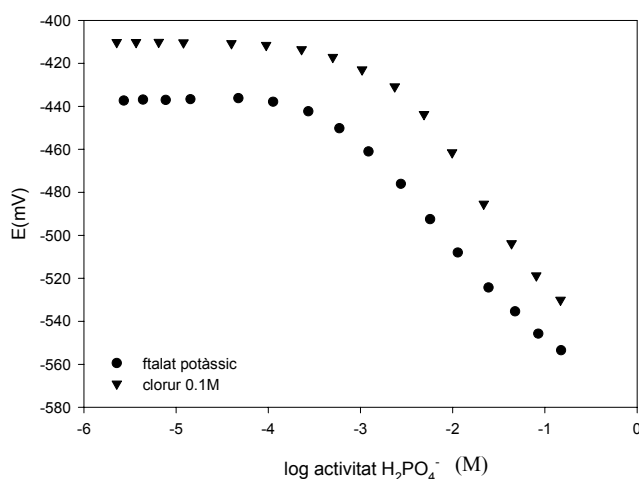


Figura 5.14: Calibratges realitzats en un medi amortidor d'hidrogenftalat de potassi a pH 4 en absència (●) i presència d'ió clorur 0.1 M (▼).

Els valors de $K_{x,y}^{pot}$ obtinguts es mostren en la Taula 5.8. Les corbes de calibratge obtingudes experimentalment en presència dels diferents anions interferents es mostren en la Figura 5.14, Figura 5.15 i Figura 5.16.

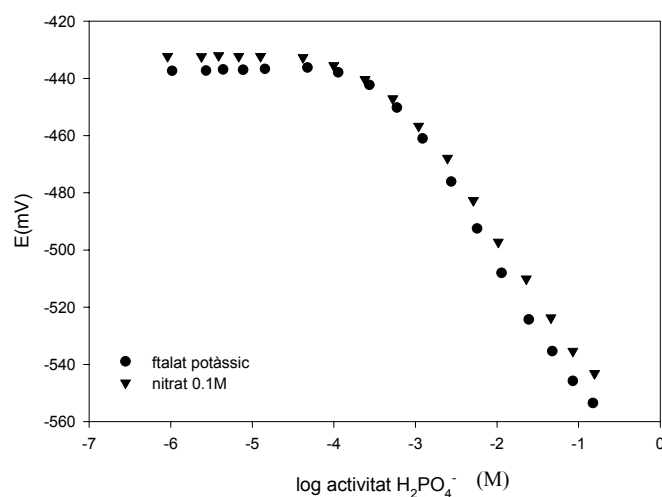


Figura 5.15: Calibratges realitzats en un medi amortidor d'hidrogenftalat de potassi a pH 4 en absència (●) i en presència d'ió nitrat 0.1 M (▼).

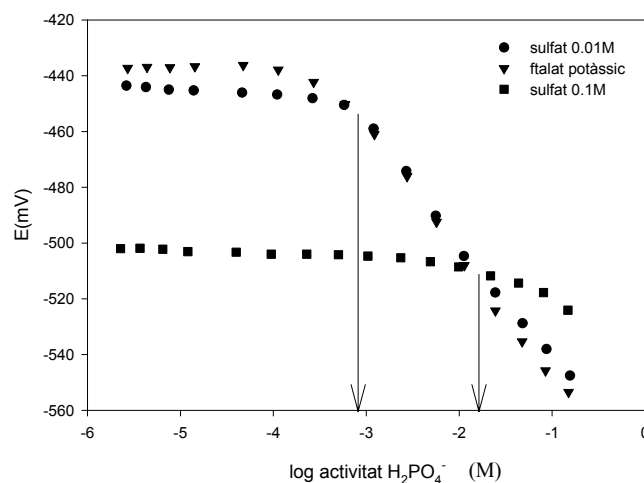


Figura 5.16: Calibratges realitzats en un medi amortidor d'hidrogenftalat de potassi a pH 4 en absència (▼) i en presència d'ió sulfat 0.01 M (●) i 0.1 M (■).

Taula 5.8: Paràmetres de resposta en els diferents medis.

Medi iònic	Ajust no lineal		Ajust lineal		
	$B_3 \pm E_b$	$c \pm E_c$	$B_1 \pm E_c$	LIRL (M)	K^{pot}
Cl ⁻ 0.1 M	-63.6±10.4	2.6e-3±1.3e-3	-51.4±9.9	1.4e-3±7e-4	3.3e-2±1.6e-2
NO ₃ ⁻ 0.1 M	-40.1±6.3	4.0e-4±1.7e-4	-35.9±2.0	3.6e-4±1.0e-4	5.0e-3±2.2e-3
SO ₄ ²⁻ 0.01 M	-40.9±1.3	3.6e-4±2e-5	-33.5±0.9	1.9e-4±1.1e-4	4.4e-2±5.9e-2
SO ₄ ²⁻ 0.1 M	No ha estat possible realitzar l'ajust de la corba de calibratge obtinguda				

A partir de la Figura 5.16, on es troben representades les corbes de calibratge en presència de sulfat en el medi, es pot concloure que aquest anió interfereix de forma apreciable en aquest interval de concentració. Quan es treballa en un fons de sulfat 0.01 M s'obté un coeficient de selectivitat de $4.4 \cdot 10^{-2}$, valor calculat a partir de l'equació de Nickolskii-Eisenman en la qual s'ha obviat l'exponent. Aquest valor de $K_{X,Y}^{pot}$ es correspon amb el comportament experimental observat. En la Figura 5.16 s'observa que, quan la concentració de sulfat és 0.1 M, el sensor comença a respondre a un valor de logaritme d'activitat d'ió principal d'aproximadament -2. Com que, el coeficient de selectivitat pren un valor de 0.044, i l'activitat de l'ió interferent és de 0.1 M, tenim que $a_i = K^{pot} \cdot a_j = 0.044 \cdot 0.1 = 0.0044$, i, per tant, el logaritme d' a_i és -2.36, valor que es correspon aproximadament amb el trobat experimentalment (-2) a partir de la Figura 5.16. Aquest resultat mostra la concordança entre el valor del coeficient calculat i el comportament experimental de l'elèctrode.

Respecte a l'ió clorur i a l'ió nitrat, s'obtenen valors de $K_{X,Y}^{pot}$ de $3.3 \cdot 10^{-2}$ i $5.0 \cdot 10^{-3}$ respectivament (Taula 5.8). A la Figura 5.14, on s'ha representat els calibratges realitzats en un fons d'ió clorur, es pot observar un lleuger desplaçament del paràmetre c , doncs presenta valors superiors que quan es calibra en un fons d'hidrogenftalat de potassi. Això mostra l'efecte d'aquest anió sobre la resposta potenciomètrica del sensor. Tot i així, aquesta influència no és tan elevada com l'observada en el cas del sulfat 0.1 M (Figura 5.16) i s'obtenen valors de K^{pot} del mateix ordre. Això ens indica la manca de concordança dels valors del coeficient de selectivitat calculats, que no s'ajusten a les observacions experimentals. En el cas concret de l'ió nitrat (Figura 5.15) no s'observen diferències significatives en les corbes de calibratge realitzades utilitzant o no un fons constant d'aquest anió de concentració 0.1 M. Per tant, el valor del coeficient de selectivitat hauria de ser menor que l'obtingut. Aquesta manca de concordança entre les dades experimentals i el valor del coeficient de selectivitat és degut a la suposició realitzada a l'hora de fer els càlculs del coeficient d'activitat (veure §3.3.2). Assumim que $LD_{ap} \leq K_{X,Y}^{pot} \cdot (a_Y)$, és a dir, que la interferència que causa l'anió és notablement superior al LD_{ap} que s'obté en calibrar amb un fons sense interferències. En el cas de treballar amb un fons d'ió clorur i d'ió nitrat, el valor de c és del mateix ordre que l'obtingut quan no tenim ió interferent i per tant, estem suposant que la manca inherent de sensibilitat del sensor, a baixes concentracions, és totalment deguda a la l'efecte de l'ió interferent.

En treballar en un medi que conté clorur en una concentració 0.1 M, obtenim pendents superiors que quan es treballa en un medi d'hidrogenftalat de potassi sol (Taula 5.7 i Taula 5.8). Per interpretar l'increment de sensibilitat observat podríem associar aquest fet amb l'increment de la conductivitat/força iònica de la dissolució. En general, per qualsevol sistema potenciomètric, quan la força iònica és més elevada, la conductivitat del medi és superior i la

resposta que s'obté és més estable. No obstant això, caldria esperar el mateix resultat al treballar amb una dissolució de nitrat potàssic d'igual concentració, fet que no succeeix experimentalment. La conductivitat/força iònica aportada per ambdues dissolucions és comparable, i inclús es podria pensar que una solució electrolítica de nitrat potàssic ha de proporcionar resultats més estables amb una sensibilitat major. Per tant, no podem associar els resultats experimentals obtinguts amb la conductivitat del medi de treball.

D'aquest estudi es podria concloure, doncs, que els anions clorur i sulfat són més interferents que el nitrat en la resposta potenciomètrica del sensor. Tot i així, es pot afirmar que l'elèctrode és més selectiu a l'ió ortofosfat i que, a la concentració en la qual es troben en aigües de riu, els anions més habitualment presents no mostren una interferència important en la resposta potenciomètrica.

5.3.3 Conclusions

L'alternativa d'utilitzar un elèctrode metàl·lic basat en una placa de cobalt aporta millors resultats pel que fa a l'estabilitat de la resposta i el temps de vida. S'obtenen resultats reproduïbles, tot i que cal tenir en compte que hi ha molts paràmetres externs que influencien la resposta. La formació d'òxid de cobalt en la placa metàl·lica es veu modulada per moltes variables externes com són el pH, l'oxigen dissolt i la força iònica, però sembla possible, a nivell de laboratori, l'obtenció de valors repetitius, tal com mostren els resultats experimentals. Encara que aquest sensor és molt més robust que els de membrana polimèrica, té com a inconvenient el seu elevat límit de detecció, $3 \cdot 10^{-4}$ M, molt superior al desitjable per a aplicacions mediambientals. Una possible solució seria introduir una etapa de preconcentració en continu que permetés millorar la sensibilitat del sistema. Com a avantatge, cal assenyalar la selectivitat mostrada per l'elèctrode vers l'anió H_2PO_4^- en presència d'ions com clorur, nitrat i sulfat, anions presents en quantitat elevada en aigües de riu.

Tenint en compte els resultats obtinguts i amb la intenció de validar la viabilitat de la preconcentració dels fosfats, s'ha dissenyat un sensor de configuració tubular amb una placa de cobalt que pugui ser integrat en un sistema automàtic de flux continu. D'aquesta manera es pretén conjugar la potencialitat que suposa el pretractament de la mostra en els sistemes de flux (preconcentració/separació) amb la selectivitat mostrada pel sensor.

V. BIBLIOGRAFIA

- [1] P. Bühlmann, E. Pretsch, E. Bakker, *Chem. Rev.*, **98** (1998): 1593.
- [2] A. Bianchi, K. Bowman, J.E. García, *Supramolecular Chemistry of Anions*, Wiley-VCH (1997).
- [3] F.P. Schmidtchen, M. Berger, *Chem. Rev.*, **97** (1997): 1609.
- [4] J.K. Tsagatakis, N.A. Chaniotakis, K. Jurkschat, *Quím. Anal.*, **16** (1997): 105.
- [5] J.K. Tsagatakis, N.A. Chaniotakis, K. Jurkschat, *Helv. Chim. Acta*, **77** (1994): 2191.
- [6] R.L. De Meulanere, P. Onsrud, M.A. Arnold, *Electroanalysis*, **5** (1993): 833.
- [7] B. Dietrich, *Pure Appl. Chem.*, **65** (1993): 1457.
- [8] C.M. Carey, W.B. Riggan Jr., *Anal. Chem.*, **66** (1994) : 3587.
- [9] R. Naganawa, H. Radecka, M. Kataoka, K. Tohda, K. Odashima, Y. Umezawa, E. Kimura, T. Koike, *Electroanalysis*, **5** (1993): 731.
- [10] B.L. Iverson, K. Shreder, V. Král, P. Sansom, V. Lynch, J.L. Sessler, *J. Am. Chem. Soc.*, **118** (1996): 1608.
- [11] B.L. Iverson, K. Shreder, V. Král, J.L. Sessler, *J. Am. Chem. Soc.*, **115** (1993): 11022.
- [12] S. Nishizawa, P. Bühlmann, M. Iwao, Y. Umezawa, *Tetrahedron Lett.*, **36** (1995): 6483.
- [13] P. Bühlmann, S. Nishizawa, K.P. Xiao, Y. Umezawa, *Tetrahedron*, **53** (1997): 1647.
- [14] P.D. Beer, *Acc. Chem. Res.*, **31** (1998): 71.
- [15] D. Xiao, H. Yuan, J. Li, R. Yu, *Anal. Chem.*, **67** (1995): 288.
- [16] R.K. Meruva, M.E. Meyerhoff, *Anal. Chem.*, **66** (1996): 2022.
- [17] Z. Chen, R. De Marco, P.W. Alexander, *Anal. Comm.*, **34** (1997): 93.
- [18] R. De Marco, B. Pejcic, Z. Chen, *Analyst*, **123** (1998): 1635.
- [19] S.O. Engblom, *Plant and Soil*, **206** (1999): 173.
- [20] H. Furuta, M.J. Cyr, J.L. Sessler, *J. Am. Chem. Soc.*, **113** (1991): 6677.
- [21] S. Nishizawa, P. Bühlmann, K.P. Xiao, Y. Umezawa, *Anal. Chim. Acta*, **358** (1998): 35.
- [22] D. Liu, W. Chen, R. Yung, G. Sher, R. Yu, *Anal. Chim. Acta*, **338** (1997): 209.
- [23] C. Elschenbroich, A. Salzer, *Organometallics*, Ed. VCH Publisher Inc., New York USA (1992).
- [24] F.A. Cotton, G. Wilkinson, *Química Inorgánica Avanzada*, Ed. Limusa, México D.F., (1986).
- [25] S.A. Glazier, M.A. Arnold, *Anal. Chem.*, **60** (1988): 2542.
- [26] S.A. Glazier, M.A. Arnold, *Anal. Chem.*, **63** (1991): 754.

- [27] M.M.G. Antonisse, D.N. Reinhoudt, *Chem. Comm.*, **4** (1998): 443.
- [28] C. Raposo, M. Almaraz, M. Martín, V. Weinrich, L. Mussóns, V. Alcázar, M.C. Caballero, R. Morán, *Chem. Lett.* **9** (1995): 759.
- [29] S. Valiyaveetil, J.F.J. Engbersen, W. Verboom, D.N. Reinhoudt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **32** (1993): 900.
- [30] A. Parra. *Desenvolupament i caracterització d'un sensor potenciomètric selectiu d'ió fosfat. Treball de recerca*, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (2002).
- [31] H. Luecke, F.A. Quioco, *Nature*, **347** (1990): 402.
- [32] Z. Wang, A. Choudhary, P.S. Ledvina, F.A. Quioco, *The Journal of Biological Chemistry*, **269** (1994): 25091.
- [33] R. De Marco, C. Pham, *Talanta*, **60** (2003): 1215.
- [34] R.K. Meruva, M.E. Meyerhoff, *Anal. Chim. Acta*, **341** (1997): 187.
- [35] J.O.M. Bockris, A.K.N. Reedy, *Modern Electrochemistry*, Vol. 2, Plenum Press, New York, (1970). Cap.11.
- [36] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, John Wiley & Sons, New York, (1980). Cap. 5.
- [37] Z. Chen, M.A. Adams, *Talanta*, **47** (1998): 779.
- [38] J.C. Miller, J.N. Miller, *Statistics for Analytical Chemistry*, 2nd Edition, Chichester: Ellis Horwood Limited (1988).