

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología



**ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO Y AGUAS POTABLES:
OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE DIFUSIÓN GASEOSA.
MONITORIZACIÓN DE BROMATO**

MARÍA DEL SOCORRO FUENTES PRIETO

2008

UNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología

**ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO Y AGUAS POTABLES:
OPTIMIZACIÓN DE LOS PROCESOS DE DIFUSIÓN GASEOSA.
MONITORIZACIÓN DE BROMATO**

Memoria que para optar al Grado de Doctor presenta la Licenciada

M^a del Socorro Fuentes Prieto

2008

D. Ángel Alonso Mateos y Dña. M.^a Jesús Almendral Parra, Profesores Titulares de la Universidad de Salamanca

AUTORIZAN

A la Licenciada Dña. María del Socorro Fuentes Prieto la presentación de la Memoria titulada: “Análisis por inyección en flujo y aguas potables: Optimización de los procesos de difusión gaseosa. Monitorización de bromato”, que se ha realizado bajo nuestra dirección en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Salamanca, para optar al grado de Doctor en Química.

Y para que así conste, firmamos la presente autorización en Salamanca, a treinta de mayo de dos mil ocho.

Fdo.: Ángel Alonso Mateos

Fdo.: M.^a Jesús Almendral Parra

Dña. Concepción García Moreno, Profesora Titular de Universidad y Directora del Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Salamanca

INFORMA

Que la Memoria titulada “Análisis por inyección en flujo y aguas potables: Optimización de los procesos de difusión gaseosa. Monitorización de bromato”, que para optar al grado de Doctor presenta la Licenciada Dña. María del Socorro Fuentes Prieto, ha sido realizada bajo la dirección de los Doctores D. Ángel Alonso Mateos y Dña. M.^a Jesús Almendral Parra en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, firmo el presente informe en Salamanca, a treinta de mayo de dos mil ocho.

Fdo.: Dña. Concepción García Moreno

Agradecimiento

A mis directores, el **Dr. D. Ángel Alonso Mateos** y la **Dra. D^a M^a Jesús Almendral Parra**, por trabajar día a día conmigo señalándome en todo momento el camino a seguir, dedicando mucho tiempo y empeño para lograr los objetivos propuestos.

A mi Institución, HH. Josefinas de la Santísima Trinidad, a su Directora M^a del Pilar Rosillo, por confiar en mi trabajo y permitirme este tiempo de formación.

A las personas del departamento de Química Analítica Nutrición y Bromatología de la Universidad de Salamanca, especialmente a su Director Dr. D. Jesús Hernández Méndez, por su acogida, su apoyo y su ayuda en estos años.

Al Dr. D. Emilio Calle Martín y Dr. D. Julio Casado Linarejos del Departamento de Química Física de la Universidad de Salamanca, por permitirme realizar las investigaciones cinéticas en su laboratorio y sus valiosos consejos.

A mi familia y mis amigos, (Amelia, Andrés, Alejo, Augusto, Fernando, María, M^a del Puerto, Milagros, Leonor), porque sin su motivación y/o colaboración nada de lo que sigue habría sido posible.

ÍNDICE

<i>ABREVIATURAS DE USO GENERAL</i>	22
I. OBJETIVO	29
II. INTRODUCCIÓN	33
1. MÉTODOS EN FLUJO CONTINUO EN LA MONITORIZACIÓN DE AGUAS	35
1.1. Análisis en flujo segmentado (Segmented flow Analysis)(SFA)	36
1.2. Análisis por inyección en flujo (Flow injection analysis) (FIA)	38
1.3. Análisis por inyección secuencial (Sequential injection analysis)	41
1.4. Análisis mediante multiconmutación de flujo (Multicommutation flow analysis) (MCFA)	45
1.5. Análisis por multiinyección en flujo (Multisyringe flow injection analysis) (MSFIA)	47
1.6. Técnicas acopladas	52
2. APLICACIONES DE LAS TÉCNICAS DE FLUJO AL ANÁLISIS DE AGUAS ...	54
2.1. Técnicas de flujo y especies inorgánicas	55
2.1.1. Nutrientes. Especies aniónicas y compuestos relacionados	55
Compuestos de nitrógeno.....	56
Amonio.....	56
Urea.....	60
Nitrito.....	61
Nitrato y N-total.....	66
Compuestos de Fósforo.....	74
Silicato.....	81
Compuestos de carbono.....	84
Carbono inorgánico disuelto.....	84
2.1.2. Parámetros generales de calidad y otros compuestos aniónicos.....	86

Oxígeno disuelto, DQO y DBO.....	86
Conductividad, concentración iónica total, pH y alcalinidad.....	90
Especies aniónicas.....	93
Especies conteniendo azufre.....	93
Sulfito.....	99
Sulfuro.....	101
Compuestos halogenados y pseudohaluros	103
Fluoruro.....	103
Cloruro.....	106
Especies de cloro.....	108
Especies de bromo y yodo.....	113
Cianuro.....	116
Especies metaloides.....	119
2.1.3. Iones metálicos.....	124
Análisis multielemental de iones metálicos.....	125
Metales alcalinos.....	131
Alcalinotérreos.....	132
Aluminio.....	137
Iones metálicos de transición.....	141
A Iones metálicos esenciales.....	141
Molibdeno.....	141
Cobalto.....	143
Hierro.....	146
Manganeso.....	151
B Iones metálicos tóxicos.....	153
Mercurio.....	153
Cromo.....	157
Niquel.....	163
Plomo.....	165
Cobre.....	170
Cadmio.....	176
Cinc.....	178
2.2. Técnicas de flujo y especies orgánicas.....	181
3. BIBLIOGRAFÍA.....	198
III . REACTIVOS Y APARATOS.....	241
1. APARATOS Y MATERIAL.....	243
Sistema de propulsión.....	243

Sistema de inyección	244
Sistema de transporte y reacción	246
Módulo de difusión gaseosa	247
Sistema de detección, registro y evaluación	248
Detección fotométrica.....	248
Detección fluorimétrica.....	248
Material adicional	249
2. REACTIVOS	249
IV. DETERMINACIÓN DE BROMATO EN AGUAS SOMETIDAS A OZONIFICACIÓN	251
1. INTRODUCCIÓN	253
1.1. Problemas derivados de la cloración de las aguas	254
En la cloración con Cl ₂ o hipoclorito.....	254
En la cloración con ClO ₂	256
En la cloración con cloraminas.....	258
1.2. Sustitución de la cloración por la ozonificación	259
Reacciones del ozono	260
Acción germicida.....	261
Ventajas de la utilización del ozono como desinfectante..	262
Inconvenientes que trae la dosificación de aguas con ozono	263
1.3. Estudio de la toxicidad del bromato y necesidad de controlarlo por debajo de una cantidad	264
Toxicocinética.....	264
Mecanismo de toxicidad.....	264
Efectos tóxicos en animales de laboratorio.....	265
Efectos tóxicos en seres humanos.....	265
1.4. Legislación Europea y americana	266
1.5. Métodos analíticos para determinar bromato en aguas ..	268
Desarrollo de métodos alternativos de laboratorio.....	269
Desarrollo de métodos de campo.....	272

2. <i>DERMINACIÓN DE BROMATO EN DISCONTINUO. REACCIÓN CON FUCSINA</i>	273
2.1. Estudio cinético de la reacción bromato - fucsina en discontinuo	273
2.1.1. Estudios previos.....	273
Comportamiento espectrofotométrico de la fucsina.....	273
Preparación y estabilidad de las disoluciones de fucsina.....	274
2.1.2. Cinética de la reacción entre fucsina decolorada y bromato a temperatura ambiente.....	275
Estudios cualitativos.....	275
2.1.3 Reacción de coloración de la fucsina decolorada. Evolución cinética del blanco.....	293
Velocidad inicial de reacción en presencia de bromato.....	302
2.1.4 Estudio de la influencia de diferentes variables sobre la cinética de la reacción. Con termostatación.....	314
Influencia de la concentración de metabisulfito.....	316
Influencia de la concentración inicial de fucsina decolorada.....	322
Influencia de la concentración de protones.....	334
Influencia de la temperatura.....	345
Influencia de la concentración de bromato.....	352
2.1.5. Selectividad de la reacción: Estudio de interferencias.....	357
Reproducibilidad del método.....	358
Interferencias.....	360
Especies catiónicas.....	360
Especies aniónicas.....	366
2.1.6. Calibrado analítico	372
Límite de detección.....	376
2.2. Determinación de bromato en flujo continuo. Reacción con fucsina	378
2.2.1. Sistema FIA propuesto.....	378
Fiagramas.....	381
2.2.2. Optimización de variables.....	386
Influencia del pH de la disolución de citrato	386
Influencia del volumen de inyección.....	388
Técnica clásica en continuo.....	389

Técnica de parada de flujo.....	391
Influencia de la longitud del reactor.....	393
Técnica clásica en continuo.....	393
Técnica de parada de flujo.....	395
Influencia de la temperatura de termostatación.....	396
Técnica clásica en continuo.....	397
Técnica de parada de flujo.....	398
2.2.3. Influencia de la concentración de bromato.....	403
Técnica clásica en continuo.....	404
Calibrados analíticos.....	405
Límite de detección.....	406
Técnica de parada de flujo.....	408
Calibrados analíticos.....	409
Límite de detección.....	411
2.2.4. Otras características analíticas de los métodos.....	413
Velocidad de determinación.....	413
Precisión de los métodos.....	413
Interferencia del ClO_2^-	415
2.2.5. Validación de los métodos.....	416
2.2.6. Aplicación al análisis de aguas ozonificadas procedentes de la potabilizadora de Zamora.....	417
3. DETERMINACIÓN DE BROMATO EN FLUJO CONTÍNUO. REACCIÓN CON O-DIANISIDINA.....	421
3.1. Estudios previos.....	422
Características espectrofotométricas de la ODA en ausencia y presencia de bromo.....	422
Aspectos cinéticos de la reacción.....	423
3.2. Esquema de flujo propuesto	424
3.3. Optimización de variables.....	426
3.3.1. Variables químicas.....	426
Concentración de ODA.....	426
Concentración de bromuro.....	427
Concentración de HNO_3	429
3.3.2. Variables geométricas e hidrodinámicas.....	430
Volumen de inyección.....	430
Caudal.....	432
A. Influencia del caudal manteniendo $F_R = F_P$	433
B. Variación de la relación F_P/F_R manteniendo constante F_t	435
Temperatura de termostatación del reactor.....	437

	Longitud del reactor y temperatura de termostatación. A velocidad de flujo prefijada.....	439
3.4.	Características analíticas.....	441
3.4.1.	Calibrados analíticos.....	441
	Límite de detección.....	444
	Precisión.....	445
	Velocidad de determinación.....	445
3.4.2.	Validación del método.....	445
3.5.	Estudios de interferencias.....	446
3.5.1.	Interferencia del Clorito. Estudio cinético en discontinuo.....	447
3.5.2.	Comportamiento del Clorito en flujo continuo, en la reacción de bromación de ODA, en función de la longitud del reactor y la temperatura de termostatación.....	449
3.5.3.	Nivel de interferencia del clorito sobre el método de determinación de bromato en continuo.....	453
3.6.	Determinación simultánea de bromato y clorito como subproductos de desinfección.....	455
3.6.1.	Calibrados analíticos.....	457
	Límite de detección.....	460
	Precisión del método.....	460
	Velocidad de determinación.....	461
3.6.2.	Validación del método.....	461
3.7.	Determinación secuencial de bromato y clorito mediante diferenciación cinética en flujo continuo.....	462
3.7.1.	Calibrados para bromato y clorito.....	464
	Límite de detección.....	466
	Precisión del método.....	466
	Velocidad de determinación.....	467
3.7.2.	Validación del método.....	467
4.	<i>DETERMINACIÓN DE BROMATO EN FLUJO CONTINUO. REACCIÓN CON CARBOSTIRIL-124.....</i>	469
4.1.	Estudios previos.....	470
	Características fluorimétricas del reactivo carbostiril-124	470

4.2.	Esquema de flujo propuesto	471
	4.2.1. Fiagramas.....	473
4.3.	Características cinéticas de la reacción	474
	4.3.1. Influencia de la temperatura sobre la velocidad de la reacción.....	475
4.4.	Optimización de variables	477
	4.4.1. Variables químicas.....	477
	Concentración de Carboestiril-124.....	478
	Concentración de KBr.....	479
	Concentración de protones.....	480
	Concentración de acetato de sodio.....	481
	4.4.2. Variables geométricas e hidrodinámicas.....	482
	A. Influencia de F_A : velocidad de flujo de la disolución de acetato sódico.....	483
	B. Influencia de la relación de velocidades de flujo F_P/F_A	485
	Influencia del volumen de inyección.....	487
4.5.	Influencia de la concentración de bromato. Calibrado analítico	490
	Límite de detección.....	490
	Precisión.....	491
	Velocidad de determinación.....	492
4.6.	Estudio de interferencias	492
4.7.	Validación del método	495

V.	TRANSFERENCIA DE GASES ACOPLADA A SISTEMAS FIA. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO EN SU APLICACIÓN A LA DETERMINACIÓN DE AMONIO EN AGUAS	497
	1. INTRODUCCIÓN	499
	2. DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE AMONIO EN UN SISTEMA GD-FIA. INDICADOR ROJO DE METILO	502
	Esquema de flujo básico	503
	2.1. Técnica FIA clásica	505
	2.1.1. Optimización de variables.....	506

Variables químicas.....	506
Influencia de la concentración de HCl.....	506
Influencia de la concentración de rojo de metilo.....	509
Influencia de la concentración de hidróxido de sodio.....	510
Influencia de la temperatura.....	512
Termostatación del reactor.....	514
Termostatación del módulo.....	521
Variables geométricas e hidrodinámicas.....	523
Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora.....	523
Comprobación de los resultados pasando en continuo la disolución de amonio.....	562
Conclusiones prácticas del estudio de la influencia de las velocidades de flujo.	
Correlaciones empíricas entre la señal analítica y las variables F_D/F_A	575
Correlación empírica entre ΔA a 521 nm, F_D/F_A , V_i y temperatura de termostatación del reactor.....	581
2.2. Influencia de la concentración de NH_4^+. Calibrados analíticos.....	588
2.2.1. Calibrados analíticos.....	592
Límite de detección.....	597
Precisión de los métodos.....	598
Velocidad de determinación.....	598
2.2.2. Validación de los métodos.....	599
3. DETERMINACIÓN ESPECTROFLUORIMÉTRICA DE AMONIO EN UN SISTEMA GD-FIA. INDICADOR: EOSINA AZULADA.....	602
3.1. Estudios previos.....	603
3.1.1. Características espectrofotométricas de la Eosina Azulada.....	603
3.1.2. Influencia de la Concentración de Eosina Azulada en la intensidad de emisión de fluorescencia.....	604
3.1.3. Influencia del pH sobre la concentración de la forma básica de la Eosina Azulada.....	606
3.2. Determinación de NH_4^+ en flujo continuo utilizando Eosina como trazador.....	607
3.2.1. Esquema de flujo.....	607
3.2.2. Optimización de variables.....	609

Influencia del pH de la disolución aceptora.....	609
Influencia de la concentración de Eosina.....	611
3.2.3. Calibrados analíticos.....	612
Límite de detección.....	614
Precisión de los métodos.....	614
Velocidad de determinación.....	615
3.2.4. Validación de los métodos analíticos.....	615
VI. ANEXOS.....	617
1. <i>ANEXO I: NORMATIVA REGULADORA EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS POTABLES: LEGISLACIÓN ESPAÑOLA.....</i>	619
2. <i>ANEXO II: NORMATIVA REGULADORA EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS POTABLES: DIRECTIVAS EUROPEAS.....</i>	621
3. <i>ANEXO III: MUESTRA PATRÓN DE AGUA.....</i>	622

Abreviaturas de uso general

AAS	<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>
AEDT	Ácido etilendiaminotetraacético
CARB	Carbostiril-124
CCA	Columna de cambio aniónica
CCC	Columna de cambio catiónica
CEC	<i>Cation Exchange Capacity</i>
CLP	<i>Chlorpromazine</i>
CRM	<i>Certified Reference Material</i>
DDTC	<i>Diethyldithiocarbamate</i>
CX	<i>Commercial carbon Acticarbon</i>
DBO	Demanda biológica de oxígeno
DCMQ	<i>1,1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene</i>
DDT	<i>1,1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene</i>
DDTP	<i>Diethyldithiophosphoric acid</i>
DIC	<i>Dissolved Inorganic Carbon</i>
DMG	<i>Dimethylglyoxime</i>
DOC	<i>Dissolved Organic Carbon</i>
DOSS	<i>Diocetyl sulfosuccinate</i>
DPC	<i>1,5-diphenylcarbazide</i>
DPD	<i>N,N-diethyl-p-phenyldiamine</i>
DQO	Demanda química de oxígeno
EA	Energía de activación
ETAAS	<i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
FAA	<i>Flame Atomic Absorption</i>

Abreviaturas de uso general

FAAS	<i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
FES	<i>Flame Emission Spectrometry</i>
FIA	<i>Flow Injection Analysis</i>
FIA-AAS	<i>Flow Injection Analysis-Atomic Absorption Spectrometry</i>
FIA-ETAAS	<i>Flow Injection Analysis -Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i>
FIA-EC	<i>Flow Injection Analysis-Chemiluminiscence</i>
FIA-FAAS	<i>Flow Injection Analysis-Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
FIA-ICP	<i>Flow Injection Analysis- Inductively Coupled Plasma</i>
FIA-ICP-MS	<i>Flow Injection Analysis- Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometry</i>
FIA-MS	<i>Flow Injection Analysis- Mass Spectrometry</i>
FI-CL	<i>Flow Injection Chemiluminescence</i>
FIIA	<i>Flow Injection Immunoassays</i>
GBR	<i>Guided Bone Regeneration</i>
GD-FIA	<i>Gas Difusión-Flow Injection Analysis</i>
GFAAS	<i>Grafite Furnance Atomic Absorption Spectrometry</i>
4-HPAA	<i>4-Hydroxyphenylacetaldehyde</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chormatography</i>
HQ	<i>Hidroxiquinolina</i>
IC	<i>Ion Chromatography</i>
IC-CD	<i>Ion Chromatography-Conductivity Detection</i>
IC-ICP-MS	<i>Ion Chromatography -Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry</i>
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry</i>
IC-MS	<i>Ion Chromatography- Mass Spectrometry</i>
ICP	<i>Inductively Coupled Plasma</i>
ICP-AES	<i>Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry</i>

Abreviaturas de uso general

IMER	<i>Immobilized Enzyme Reactor</i>
ISE	<i>Ion Selective Electrode</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
IARC	<i>Internacional Agency for Research on Cancer</i>
L _D	Límite de detección
LED	<i>Light-Emitting Diode</i>
MTB	<i>Methyl Timol Blue</i>
MCFA	<i>Monosegmented Continuous Flow Analysis</i>
MCFIA	<i>Multicommutated Flow-Injection Analysis</i>
MDG	Módulo de difusión gaseosa
MRC	Material de referencia certificado
MSFIA	<i>Multi-Syringe Flow Injection Analysis</i>
NAD ⁺	<i>Nicotinamide Adenina Dinucleotide</i>
NADH	<i>Nicotinamide Adenina Dinucleotide</i>
NADPH	<i>Nicotine-Adenine-Dinucleotide Phosphate</i>
4-MPDC	<i>4 Methylpiperidinedinedithiocarbamate</i>
MIBK	<i>Methyl Isobutyl Ketone</i>
O.D.	Oxígeno disuelto
ODA	o-Dianisidina
OMS	Organización mundial de la salud
OPA	o-Ftaldialdehido
PRD	Fósforo reactivo disuelto
POD	Fósforo orgánico disuelto
PAN	<i>Polyacrylonitrile</i>

Abreviaturas de uso general

PAR	4-(2-piridilazo)resorcinol
PTFE	<i>Polytetrafluoroethylenem</i>
PVC	<i>Poly(Vinyl Chloride)</i>
rFI	<i>Reverse Flow Injection</i>
RM	<i>Rojo de metilo</i>
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>
S_b	Desviación estándar de la pendiente
S_B	Desviación estándar del blanco
SFA	<i>Segmented Flow Analysis</i>
SIA	<i>Sequential Injection Analysis</i>
STOP-FLOW	Parada de flujo
TC	<i>Total carbon</i>
THMS	Trihalometanos
TISAB	<i>Total Ionic Strenght Adjustment Buffer</i>
TOC	<i>Total organic carbon</i>
TOX	Tóxicos
XAD-2	<i>Amberlite XAD-2</i>
XAD-4	<i>Amberlite XAD-4</i>

I.- OBJETIVO

OBJETIVO

Esta Tesis Doctoral basada en metodología de Análisis por Inyección en Flujo (FIA) se presenta cuando asistimos al 30 aniversario del nacimiento de la técnica, en la Universidad de Dinamarca, de manos de los Profesores J. Ruzicka y E. H. Hansen. Como conmemoración de esta fecha, el Profesor Hansen escribió un Editorial del volumen 600 (2007) de la revista *Analytica Chimica Acta* con el título “30 years of Flow Injection Analysis – And passing the torch”, donde, con un cierto sentimiento de despedida de su actividad académica, refleja, en un acertado resumen, la evolución de la Técnica.

Destaca en primer lugar lo que han sido importantes aplicaciones a la metodología analítica, con su inherente y reproducible medida de tiempos que permite explotar señales transitorias en condiciones de no-equilibrio. El FIA no solamente convierte los métodos ya existentes en mucho más rápidos, sino que ha abierto muchas posibilidades a métodos totalmente novedosos: así, la explotación de la bio- y quimio-luminiscencia, en base a la medida de constituyentes metaestables de corta vida; la explotación de esquemas de discriminación cinética o la realización de sofisticados ensayos enzimáticos con el fin de determinar ciertos sustratos o medir actividades enzimáticas.

A lo largo de este tiempo, más de 16500 papers han aparecido sobre FIA en la Literatura Científica Internacional en muchas lenguas y a esto hay que añadir más de 20 Monografías y cientos de Tesis Doctorales.

La Primera Conferencia Internacional sobre FIA fue organizada en 1979 en Amsterdam por Wim van der Linden. Con posterioridad se han organizado otras 30, con el importante avance de las técnicas que secundaron al FIA: Sequential Injection Analysis (SIA) y Lab-on-Valve (LOV).

La Tesis que se presenta es una contribución más a este desarrollo, que avanza en el trabajo del grupo de investigación en que se encuadra dentro de este campo, iniciado hace 25 años.

El ion bromato ha sido identificado como un importante “desinfection by-product (DBP)” en aguas sujetas a procesos de purificación. Su presencia proviene de la aplicación de procesos de oxidación a aguas conteniendo bromuro por la acción de agentes oxidantes, tales como el ozono utilizado en procesos de ozonificación. Este ion ha sido identificado como un posible carcinógeno por la U. S. Environmental Protection Agency que recomienda un nivel máximo permitido de $10 \mu\text{gL}^{-1}$ a partir de 2009.

La literatura recoge numerosos métodos para la determinación de bromato en aguas, entre los cuales la cromatografía iónica es el más ampliamente utilizado. Sin embargo, la mayoría de los métodos requieren tecnologías complejas e instrumentación costosa, lo que hace que no sean fácilmente adaptables al análisis de rutina. El trabajo que se presenta dedica atención a este objetivo, desarrollando métodos sencillos, fácilmente adaptables a procesos on-line, utilizando técnicas de flujo con detección espectrofotométrica y fluorimétrica. En los diferentes métodos propuestos se ha hecho especial hincapié en el estudio de la cinética de las reacciones, con el objetivo de proponer condiciones que mejoren la sensibilidad y permitan una eliminación de interferentes mediante métodos de diferenciación cinética.

El (FIA) es una potente técnica de flujo que permite una sencilla manipulación previa a la detección. La selectividad de la técnica mejora considerablemente si se introducen dentro del procedimiento etapas de separación on-line. Frecuentemente estas etapas de separación implican procesos tales como extracción con disolventes, adsorción, precipitación o procesos de separación a través de membranas.

Las metodologías FIA basadas en procesos de separación por difusión gaseosa (GD-FIA) han sido utilizadas para una gran variedad de analitos. El proceso, caracterizado por su elevada selectividad prometedora sensibilidad y excelente precisión y exactitud ha probado su utilidad en la determinación de especies volátiles y de aquellas que pueden ser selectiva y

cuantitativamente convertidas en gas en matrices complejas. En la modalidad líquido-líquido del sistema GD-FIA, un analito que esté presente como gas en la corriente dadora o que sufra una reacción que lo convierta en especie gaseosa, puede difundir a través de la membrana a una corriente aceptora. La membrana previene que otras especies no volátiles pasen a través de ella, por lo que las interferencias son eliminadas en una gran extensión.

El ion amonio juega un papel importante en el ciclo del nitrógeno de numerosos procesos biológicos e industriales, siendo por tanto uno de los principales componentes en muchos efluentes industriales. En general, altas concentraciones de este ion en las aguas generan un enriquecimiento en nutrientes y, por tanto, un crecimiento en la actividad biológica que puede conducir a la aparición de gran cantidad de algas y elevación de la turbidez, generando problemas de toxicidad, sabor y olor. Por tanto, teniendo en cuenta su efecto adverso sobre el balance de oxígeno en el medio acuático, está clasificado en la relación de sustancias peligrosas por la Directiva del Aguas de la Comunidad Europea, por lo que los vertidos de aguas residuales conteniendo amonio están sujetos a control legislativo. La introducción de una cada vez más restrictiva legislación sobre la calidad de las aguas ha incrementado la necesidad del desarrollo de procedimientos analíticos para la monitorización on-line.

Varios procedimientos han sido propuestos para la determinación de amonio usando la metodología FIA, siendo este un analito fácilmente adaptable a técnicas GD-FIA. En ellos, la muestra es inyectada en, o converge con, una solución alcalina y el amonio formado difunde a través de la membrana permeable al gas, dentro de una corriente receptora. El cambio en la absorbancia o fluorescencia del indicador ácido-base en esta corriente puede medirse y relacionarse con la concentración de amonio en la muestra

En la segunda parte de la Tesis abordamos la puesta a punto de procedimientos para la determinación de amonio utilizando la metodología GD-FIA. Una parte importante del trabajo se dedica a optimizar el conjunto de variables que afectan al rendimiento en el proceso de transferencia gaseosa a través de la membrana, estableciendo las condiciones experimentales óptimas para que este sea máximo. El estudio de la influencia del caudal de las

disoluciones dadora y aceptora resulta particularmente novedoso y ha sido realizado de forma exhaustiva, trabajando por primera vez en condiciones de caudales diferentes para ambas. La gran cantidad de datos obtenidos en diferentes condiciones han permitido deducir correlaciones sencillas entre la señal analítica y las diferentes variables implicadas en el proceso (relación de caudales, volumen de inyección y temperatura), que permitirán una mejor planificación de las medidas, en función del tipo de muestra a analizar. El empleo de disoluciones aceptoras que contienen indicadores ácido-base que pueden seguirse espectrofotométrica o fluorimétricamente permite adaptar la metodología propuesta a diferentes tipos de muestras.

II.- INTRODUCCIÓN

MÉTODOS EN FLUJO CONTINUO EN LA MONITORIZACIÓN DE AGUAS

La aceptación, cada vez más extendida, de una correlación entre “estatus de vida” y preservación medioambiental ha impulsado la necesidad de realizar un gran número de análisis multiparamétricos para vigilar y controlar el medio acuático, entre otros.

La manera clásica o más corriente de realizar análisis multiparamétricos en aguas requiere de la etapa de muestreo previo con los riesgos químicos que conlleva el transporte y conservación de las muestras hasta su análisis en el laboratorio. El método es tedioso, lento y no da respuesta inmediata a los problemas medioambientales.

En las últimas décadas, en el análisis de aguas, han surgido los métodos de “screening”, no excesivamente selectivos pero que son útiles para detectar situaciones de alarma y confirmar la presencia de posibles contaminantes.

Lo ideal, desde el punto de vista medioambiental es la implantación de métodos AUTOMATIZADOS de análisis para realizar medidas “in situ”, que no requieran de la presencia del analista, que es lo que se viene denominando TÉCNICAS DE CAMPO para el control de los problemas medioambientales.

Este cambio de filosofía analítica exige técnicas e instrumental robustos que permitan la MONITORIZACIÓN CONTINUA de varios parámetros, si es posible, que además operen con pequeños volúmenes de reactivo, y que éstos no sean contaminantes o peligrosos para el medioambiente.

Para el análisis de ciertas muestras ambientales, las exigencias antes mencionadas suponen serias dificultades para poder diseñar métodos completamente automatizados; no así las muestras acuosas que por sus características se adaptan perfectamente a las TÉCNICAS DE FLUJO

CONTINUO, lo que constituye un paso previo importante para la posibilidad técnica de poder diseñar aparatos absolutamente automatizados para el análisis multiparamétrico de parámetros de interés medioambiental en el medio acuático.

La importancia e interés de las técnicas de flujo continuo para el análisis de muestras acuosas se refleja en las numerosas revisiones bibliográficas existentes, tanto desde un punto de vista general o fundamental como de tipo aplicativo (1 - 30). Si bien la mayoría de estos trabajos se refieren a la aplicación del Análisis por Inyección en Flujo (FIA), que de momento se ha impuesto en las últimas décadas, en la revisión que se va a realizar se han tenido en cuenta otras técnicas de flujo que han surgido en los últimos años.

1.1. ANÁLISIS EN FLUJO SEGMENTADO (SEGMENTED FLOW ANALYSIS) (SFA)

El análisis por Flujo Segmentado (SFA) fue la primera técnica de flujo introducida en laboratorios que debían analizar periódicamente un gran número de muestras como los clínicos y oceanográficos.

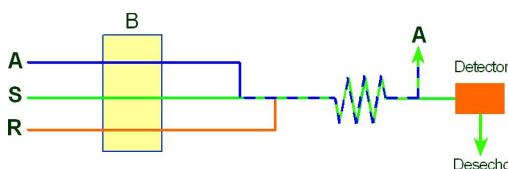


Figura 1. Esquema simplificado de flujo segmentado. B: bomba peristáltica. R: reactivo. A: aire. S: muestras.

Esta técnica fue descrita por Skeggs (31) en 1957 y fue plasmada en un aparato comercializado por la casa Technicon con el nombre de Autoanalizador.

Un esquema simplificado de la técnica, se muestra en la Figura 1. Las muestras son secuencialmente aspiradas y localizadas entre burbujas de aire

(segmentadas) en el sistema de flujo por donde fluyen también los reactivos y el disolvente adecuado para el ciclo de lavado. Las burbujas de aire tienen que ser eliminadas antes de alcanzar la célula de flujo del detector.

Un esquema de flujo segmentado real se muestra en la Figura 2 para la determinación de aluminio en aguas, previa preconcentración, utilizando una columna rellena de resina para intercambio iónico. El reactivo utilizado es violeta de pirocatecol que forma con aluminio (a pH 5.8 - 6.0) un complejo coloreado que tiene su máximo de absorción a 580 nm. El esquema de flujo es la base de un método automatizado reconocido por la EPA como método de referencia (3500-E). (32)

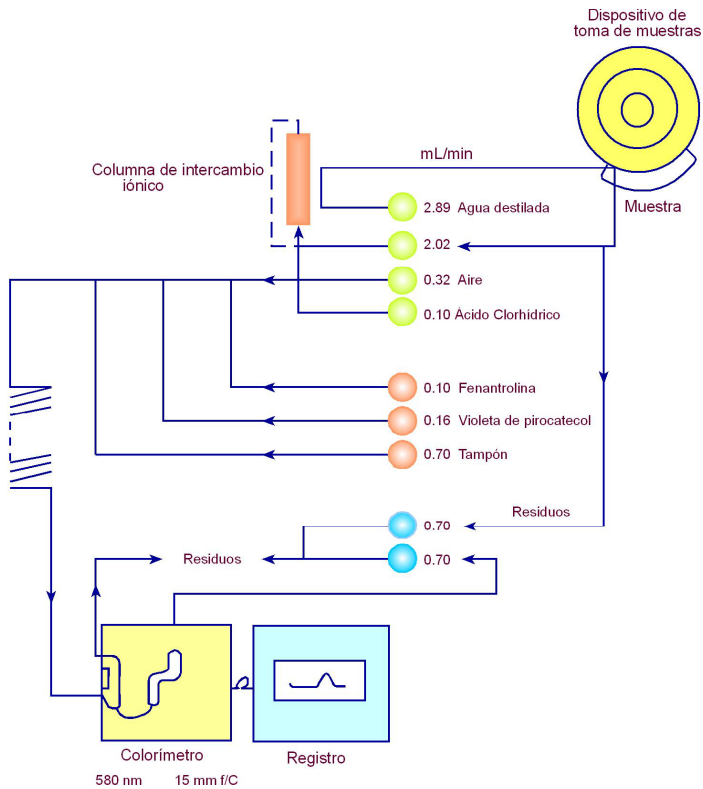


Figura 2. Esquema de flujo segmentado para la determinación fotométrica de aluminio con violeta de pirocatecol y preconcentración previa en columna de intercambio iónico. (EPA-3500-E)

El autoanalizador más versátil, pero complejo, es aquel que permite, mediante el diseño multicanal y la utilización de detectores individuales, la determinación simultánea de hasta 20 parámetros.

Algunas de las características técnicas de los esquemas de flujo segmentado son: volumen de muestra aspirada (0.2 - 2 mL); tiempo de residencia de cada muestra (2 - 30 min); diámetro interno de los tubos de teflón (2 mm); detección en condiciones de equilibrio homogéneo; frecuencia de muestreo, hasta 80 muestras h⁻¹; precisión característica 1 - 2 %; alto consumo de reactivos y ciclo de lavado de modo imprescindible.

Recientemente y para mejorar alguna de las características antes mencionadas, se han diseñado sistemas microsegmentados para el análisis de diferentes parámetros en agua. (33 - 35).

A pesar de las posibilidades, en cuanto a capacidad de trabajo se refiere, y debido a que no permiten realizar métodos cinéticos a tiempo prefijado ni métodos de parada de flujo, además de su elevado coste, los métodos de flujo segmentado han sido desplazados en la actualidad por los de análisis por inyección en flujo.

1.2. ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO (FLOW INJECTION ANALYSIS) (FIA)

La denominación de FIA fue propuesta en 1975 por Ruzicka y Hansen (36, 37). La inclusión del término "injection" (inyección) se debe más a connotaciones históricas que a una situación real actual.

En el comienzo de la técnica se utilizó una jeringuilla para introducir la muestra, a través de un "septum", en la corriente del portador. Actualmente para dicha operación se utilizan normalmente válvulas rotatorias (Figura 3); el resto de componentes de un esquema FIA es similar a los utilizados en SFA, aunque con otras características.

Si bien FIA y SFA parecen ser más semejantes esquemática y conceptualmente, nada más lejos de la realidad. La característica conceptual del FIA se basa en el hecho de que, al no existir burbujas de aire y ser el flujo laminar, la muestra se mezcla con los reactivos fundamentalmente por dispersión, dispersión absolutamente reproducible mediante el control de los parámetros geométricos e hidrodinámicos. Se trata, por tanto, de un método a tiempo prefijado en el que además es posible realizar otras modalidades cinéticas como la de parada de flujo (Stop-Flow).

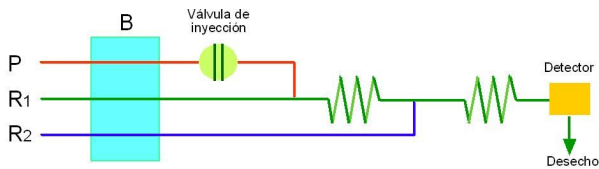


Figura 3. Esquema de flujo con tres canales. B: bomba peristáltica. P: portador. R₁ y R₂: Reactivos

Otras características diferenciadoras son: tubos de teflón de menor diámetro interno (0.5 - 0.7 mm), volúmenes inyectados claramente menores (10 - 200 μ L, normalmente), menor tiempo de residencia (3 - 60 s), mayor frecuencia de muestreo (120 muestras.h⁻¹). La precisión es similar (1 - 2 %) y el consumo de reactivo decrece drásticamente no necesitando ciclo de lavado para evitar la contaminación entre muestras.

En la Figura 4 se muestra el esquema de flujo base del método automatizado para la determinación de aluminio en aguas (38) mediante análisis por inyección en flujo.

Las numerosas ventajas del FIA explican por qué es el método de flujo continuo más revitalizado. La mayor ventaja es la gran reproducibilidad que se obtiene en los resultados en una técnica que no tiene grandes dificultades y cuyo coste de implantación y mantenimiento es bajo. Estas ventajas han impulsado un gran desarrollo en el FIA, no comparable con ninguna otra técnica.

No obstante, junto a estas ventajas, también existen desventajas que se oponen a ellas y que son evidentes cuando se usa en la monitorización de parámetros ambientales.

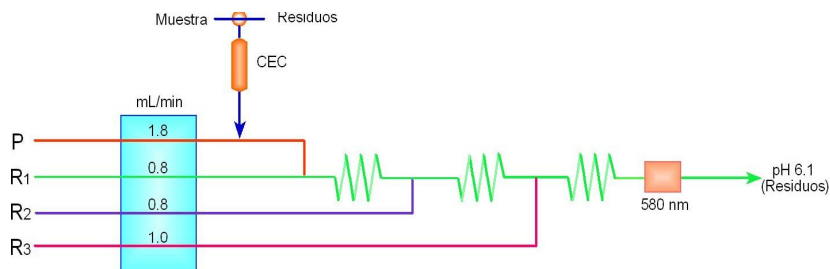


Figura 4. Esquema FIA para la determinación de aluminio con preconcentración previa en una columna de intercambio iónico. P: agua bidestilada. R₁: solución enmascarante. R₂: solución de violeta de pirocatecol. R₃: solución tampón.

Indiscutiblemente el talón de Aquiles de esta técnica es el uso de bombas peristálticas. Los tubos flexibles, que estas bombas requieren, implican un cambio en los flujos de muestra y reactivos en mayor o menor medida, debido a su dilatación, lo cual obliga cada tiempo a una recalibración del sistema.

Los tubos se vuelven vulnerables cuando se requieren reactivos agresivos, ácidos o bases concentradas ó disolventes orgánicos necesarios para solubilizar compuestos o llevar a cabo extracciones.

Por otra parte, aunque aparecen algunos métodos para la determinación simultánea de varios parámetros, la técnica FIA es básicamente *monoparamétrica* y está muy limitada cuando es necesario realizar pre-tratamiento de las muestras.

El FIA es la técnica preferida en la *determinación de un parámetro* en un gran número de muestras.

Como ya hemos comentado, el mayor inconveniente de las técnicas FIA es su limitación ante el análisis multiparamétrico, por esa razón se han diseñado esquemas de flujo con "detección multi-sitio", esto es, utilización de detectores que puedan analizar, en diferentes sitios del esquema de flujo, con una sólo inyección de muestra, más de un parámetro (39), para ello se dispone

del inyector-conmutador y válvulas rotatorias de seis vías, entre otras posibilidades. Este tipo de técnica ha sido utilizada para el análisis secuencial y el simultáneo.

Otra opción para ampliar el número de parámetros analizados, con los esquemas clásicos FIA, consiste en la introducción de métodos quimiométricos para el tratamiento de la señal analítica de diferentes maneras, distintas a la medida de la altura del diagrama. En este sentido el indiscutible talón de Aquiles de esta técnica es el USO DE BOMBAS PERISTÁLTICAS. Los tubos flexibles, que estas bombas requieren, implican un cambio en los flujos de muestra y reactivos en mayor o menor medida, debido a su dilatación, lo cual obliga cada tiempo a una recalibración del sistema.

1.3. ANÁLISIS POR INYECCIÓN SECUENCIAL (SEQUENTIAL INJECTION ANALYSIS) (SIA)

La velocidad de flujo constante es la base de la teoría y la práctica del Análisis por Inyección en Flujo. Una observación más profunda de los principios de esta técnica sugiere que el único prerrequisito para su implementación es que se alcance un perfil de flujo reproducible.

Este concepto, unido a la búsqueda de analizadores más robustos y aceptables en el mundo de la industria para su utilización en el control de procesos, llevaron a Ruzicka y Col (41) a estudiar técnicas de flujo pulsado y técnicas de flujo sinusoidal lo que condujo al desarrollo de la nueva técnica de Análisis por Inyección Secuencial (SIA), dada a conocer en 1990 (42).

Si bien algunos autores la consideran como un peldaño más en el desarrollo de las técnicas FIA, creemos que se puede considerar una técnica de flujo diferenciada.

Mientras en FIA las muestras son inyectadas en una corriente continua de portador, en SIA muestra y reactivos son aspirados secuencialmente hasta el interior de un tubo de teflón en donde mediante la inversión del flujo se mezclan y transportan hasta el detector

Durante el curso de estas operaciones, las zonas próximas de reactivo y muestra sufren dispersión y el analito es transformado en la especie medible en el detector. En la Figura 5 se muestra de modo esquematizado el proceso antes comentado, comparado con lo que ocurre en FIA, para que se comprenda la diferencia.

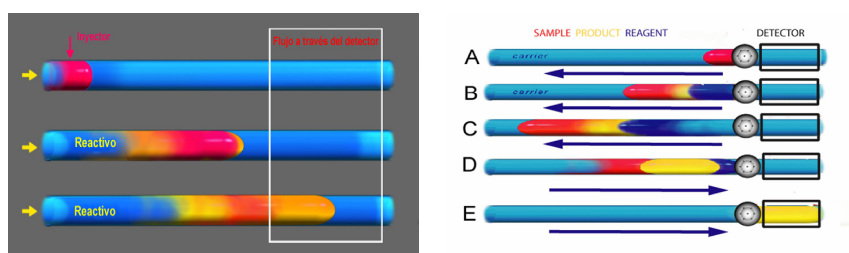


Figura 5. Proceso de mezcla entre la muestra y el reactivo. a) FIA. b) SIA

Los componentes básicos de una configuración SIA son: la VÁLVULA de selección para introducir el volumen adecuado de muestra y reactivos, un DISPENSADOR de líquidos, tubos de TEFLÓN semejantes a los de FIA y un DETECTOR apropiado para el seguimiento del producto de reacción, similar a los utilizados en FIA (Figura 6).

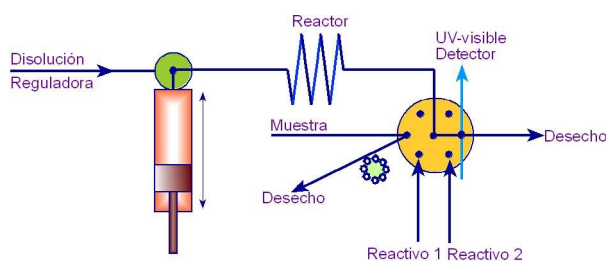


Figura 6. Esquema de flujo para SIA. Componentes básicos

Inicialmente se propusieron bombas de flujo sinusoidal pero, ante la dificultad para su programación, fueron sustituidas por las mismas bombas peristálticas usadas en FIA (43) o las buretas de pistón de los valoradores automáticos (44); éstas últimas, en un principio, estaban limitadas a trabajar en régimen de velocidades de flujo altas, $> 2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Posteriormente las modificaciones introducidas por los fabricantes han resuelto este problema.

La utilización de las buretas de pistón con jeringuillas de vidrio de diferentes capacidades, acopladas al sistema de dispensación de disoluciones, es la primera ventaja clara del SIA frente al FIA, puesto que se eliminan los tubos flexibles de silicona y así se evitan las recalibraciones y permiten bombear reactivos agresivos.

La segunda ventaja de SIA es que sus esquemas de flujo (“manifolds”) son más sencillos y utilizables para diferentes reacciones sin más que modificar el tiempo de residencia del analito con el reajuste del “timer” interno del programa del ordenador.

Los sistemas SIA permiten que los reactivos puedan circular en diferentes direcciones y, si es preciso, realizar paradas de flujo. Cualquiera de las modalidades FIA puede ser desarrollada en la tecnología SIA. A modo de ejemplo, en la Figura 7, se muestra el esquema SIA para la determinación simultánea de NO_3^- y NO_2^- mediante la modalidad denominada “sandwich” que consiste en introducir dos zonas de muestra que se colocan a ambos lados de otra de reactivo de Griess que, mediante la inversión de flujo, penetra parcialmente en la columna reductora para posteriormente, con otro cambio de dirección del flujo, medir el diazocolorante formado en el espectrofotómetro (45).

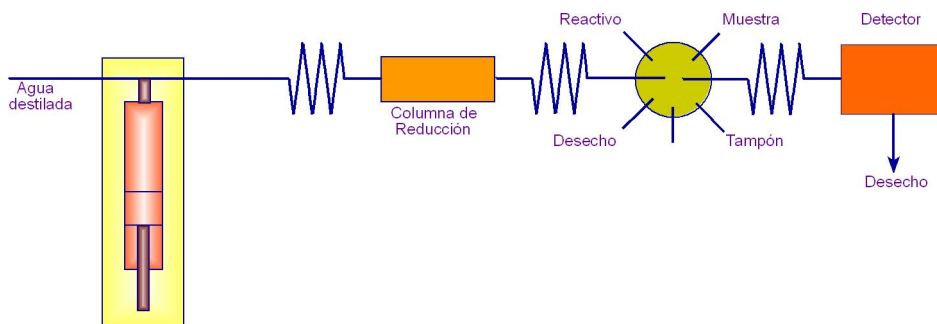


Figura 7. Esquema SIA para la determinación simultánea de nitrato y nitrito.

Indiscutiblemente el talón de Aquiles de esta técnica es el USO DE BOMBAS PERISTÁLTICAS. Los tubos flexibles, que estas bombas requieren, implican un cambio en los flujos de muestra y reactivos en mayor o menor

medida, debido a su dilatación, lo cual obliga cada tiempo a una recalibración del sistema.

En contraste con las ventajas, el SIA, como cualquier otra técnica, tiene sus inconvenientes. Frente al FIA, el SIA presenta una menor frecuencia de análisis. El SIA puede ser considerada una técnica en paralelo en la que la muestra y los reactivos se aspiran uno detrás de otro lo que introduce dos aspectos críticos a considerar: un decrecimiento, como ya se ha comentado, en la velocidad de muestreo y una mayor dificultad para controlar la mezcla entre la muestra y los reactivos.

Otro de los inconvenientes del SIA, que a nuestro juicio ha frenado su desarrollo a los niveles del FIA, es la necesidad de un ordenador que controle todo el sistema en sus diferentes pasos y operaciones para reproducir tiempos y conseguir una buena reproducibilidad en los resultados, junto con la adquisición y procesado de datos. En este sentido la escasa posibilidad de disponer de "software" comercializado y de uso general ha frenado el desarrollo del SIA, mucho más lento que el del FIA.

En descargo de estas desventajas, frente al FIA, el SIA presenta otras ventajas que hacen que sea una técnica con enorme futuro en el campo del control medioambiental. En primer lugar tiene una elevada capacidad para efectuar operaciones previas con la muestra, ésta y los reactivos pueden circular por diferentes canales, permite trabajar en flujo reverso (inversión de flujo), permite seleccionar alícuotas, etc.

Por otra parte la robustez confiere al SIA enormes ventajas para monitorizar procesos químicos industriales (46) y puede operar de manera multiparamétrica lo que es de enorme interés para el diseño de monitores medioambientales. Normalmente este tipo de monitores no requieren de una elevada frecuencia de muestreo, medidas cada 15 minutos, o algo menos, son suficientes la mayoría de las veces. En este sentido se ha diseñado un monitor SIA para aguas residuales que permite el control de parámetros como DQO, DBO, NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , N-Total, P-Total y Cl^- , entre otros (47).

Más información sobre la monitorización de parámetros medioambientales mediante SIA se puede encontrar en la revisión de Cerdá y Col (48).

Desde el descubrimiento de la técnica SIA, han aparecido en bibliografía algunas revisiones y trabajos de divulgación con el objetivo de dar a conocer las posibilidades de la técnica como método de muestreo “on-line” incluidas etapas de pretratamiento (49), posibilidades de acoplamiento de diferentes tipos de reactores sólidos (50), su acoplamiento a la detección electroquímica (51), el acoplamiento a la quimiometría para el apoyo en determinaciones simultáneas (52), así como una amplia revisión en la resolución de la especiación química (53).

Citemos, en último lugar, si bien se verán unos ejemplos, la aplicación al análisis multiparamétrico, como es entre otros la determinación simultánea en efluentes industriales provenientes del niquelado, de pH, Cl^- , Ni^{2+} (54) o la determinación simultánea de SiO_3^{2-} , Fe^{3+} , NH_4^+ y PO_4^{3-} en aguas como control de calidad en industrias farmacéuticas (55).

1.4. ANÁLISIS MEDIANTE MULTICONMUTACIÓN DE FLUJO (MULTICOMMUTATION FLOW ANALYSIS) (MCFA)

Si bien esta técnica nace con el objetivo de incorporarse a la cada vez más popular “química verde”, en el sentido de sustituir a las técnicas de flujo clásicas por consumir menores cantidades de reactivos y generar menor cantidad de desechos tóxicos, pronto ha encontrado gran utilidad en el análisis medioambiental.

Esta técnica que inicialmente nació como una ampliación del FIA clásico con la utilización de sistemas binarios de muestreo (56) tomó cuerpo de técnica de flujo con su propia personalidad cuando se introdujeron las microbombas de solenoide (57-58).

En la Figura 8 se muestra un esquema de flujo con multiconmutación sin especificar los reactivos utilizados y el analito determinado, solo para poder ser comparado con los sistemas de flujo anteriores.

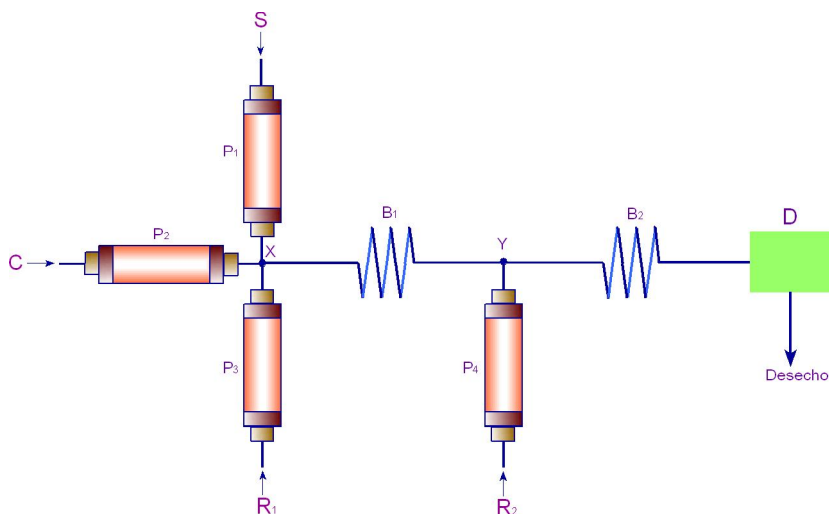


Figura 8: Sistema de flujo multiconmutado. P_1 : microválvula de solenoide. D : detector espectrofotométrico. B_1 y B_2 : reactores (100 y 50 cm.). X e Y : puntos de confluencia. S : muestra. R_1 y R_2 : reactivos. C : conducto (0.1 mol.L^{-1})

En esta técnica de flujo la muestra y los reactivos son secuencialmente insertados sobre la solución portadora; las microbombas de solenoide son capaces de dispersar de manera reproducible micro-volúmenes de reactivos lo que explica su primera ventaja de ahorro de estos.

La técnica utilizando un “manifold” de un solo canal, permite determinaciones secuenciales (59, 60), la introducción secuencial de reactivos incompatibles y ha sido utilizada ampliamente para incrementar los márgenes de determinación (61, 62) mediante diluciones secuenciales.

A nuestro entender una de sus mayores posibilidades se centra en el análisis multiparamétrico secuencial en el campo medioambiental y más concretamente en el análisis de aguas. Con la utilización de un esquema de flujo sencillo y un solo detector es posible la determinación secuencial de NO_2^- , NO_3^- , Cl^- y PO_4^{3-} en aguas (63) (Figura 9).

Al igual que ocurría en SIA, la mayor dificultad de la técnica de multiconmutación del flujo estriba en el control necesario de los ciclos de inserción de las disoluciones dispensadas por las bombas de solenoide y el control de tiempos de trabajo, lo que requiere de computadores con el correspondiente “software”.

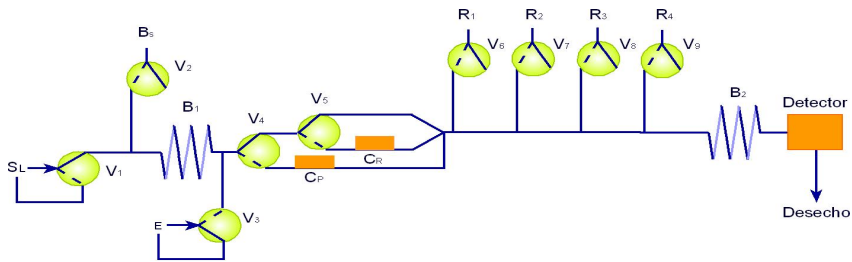


Figura 9. Sistema de flujo multiconmutado para la determinación secuencial de NO_2^- , NO_3^- , Cl^- y PO_4^{3-} en aguas:
S: muestra. E: solución de eluyente. R_i: reactivos cromogénicos. C_p: columna con resina para intercambio aniónico. C_R: columna con reductor, cadmio cuperizado. V_i: válvulas de solenoide de tres vías. B_i: reactores. D: espectrofotómetro de diodos en barrera.

1.5. ANÁLISIS POR MULTIINYECCIÓN EN FLUJO (MULTISYRINGE FLOW INJECTION ANALYSIS) (MSFIA)

Esta técnica fue presentada por primera vez por V. Cerdá y Col (21) en 1999 y su fundamento, caracterización y aplicaciones pueden ser estudiadas en el trabajo de divulgación aparecido en el 2002 (67).

El análisis por inyección en flujo con multijeringuillas (MSFIA) o análisis por multiinyección en flujo reúne todas las ventajas del SIA y del FIA.

El elemento básico de esta nueva técnica es la utilización de una bureta automática análoga a las empleadas en SIA, pero con cuatro jeringuillas que están conectadas en bloque al mismo motor (Figura 10-a). En el cabezal de cada jeringuilla hay una válvula de solenoide de tres vías que permite su conexión al sistema de flujo (ON) o al depósito del reactivo correspondiente (OFF) independientemente del emplazamiento del pistón (Figura 10-b).

Hay por lo tanto dos opciones para la dirección del flujo en el movimiento de dispensación y otras dos para el movimiento de recogida de líquido (Figura 10-c). Las válvulas de solenoide usadas en los cabezales sustituyen a las válvulas rotatorias convencionales del SIA (no requieren ni motor ni sensor óptico), los cambios de posición son mucho más rápidos (35 milisegundos) y pueden realizarse las conmutaciones sin parar el movimiento del pistón.

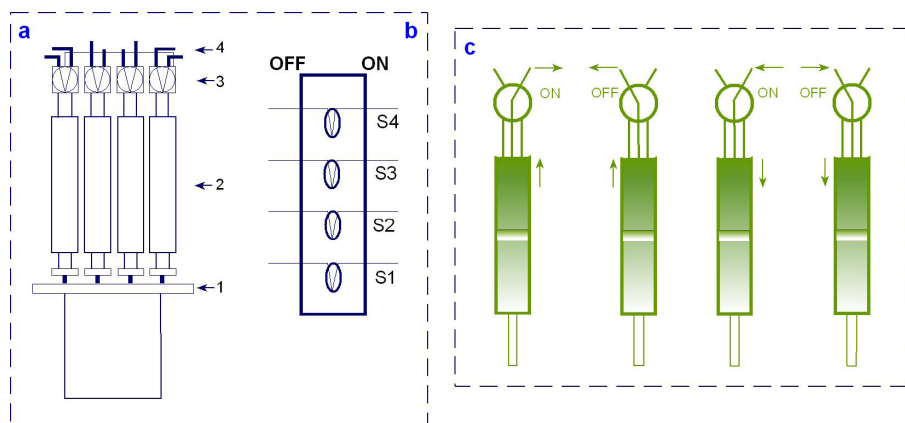


Figura 10. a) Vista frontal de la bureta automática con multijeringuillas. 1: motor. 2: jeringuillas (S_1 - S_4). 3: válvulas de solenoide. 4: conectores y tubos. b) Representación esquemática del sistema de inserción de líquidos con la bomba de pistón y las multijeringuillas. c) Direcciones del flujo. On: inserción en el "manifold". Off: conexión con los recipientes de reactivos o de desecho.

Como una de las jeringuillas del prototipo no se puede usar como contenedor de muestra, pues en el análisis de rutina es necesario analizar varias muestras seguidas y evitar la contaminación, se necesita un sistema adicional de inyección que se acopla al módulo de multijeringuillas y se usa solo para introducir las muestras. Inicialmente se adaptó una válvula de inyección similar a las utilizadas en FIA, dejando el resto de jeringuillas libres para el portador y los reactivos (Figura 11).

En la posición de llenado de las buretas, la válvula de inyección se coloca en la posición de carga y la muestra es aspirada por una de las jeringuillas (W), mientras el resto de las jeringas aspiran los reactivos que se necesitan para el método analítico. Por conmutación de la válvula a la posición de inyección y usando una de las jeringuillas del sistema para impulsar la

muestra (c) el sistema opera de la misma manera que un FIA. La diferencia estriba en que los reactivos sólo se consumen cuando se realiza una medida, es independiente del tiempo y sólo depende de la diferencia de muestreo.

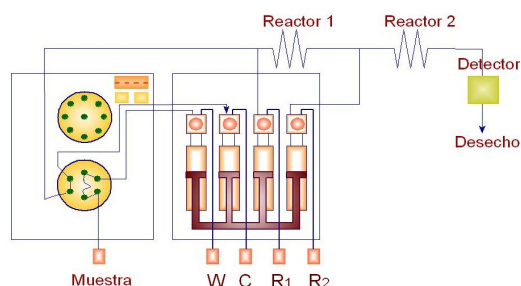


Figura 11. Esquema del primer prototipo con buretas automáticas y válvula de inyección adicional para análisis por multiinyección en flujo (MSFIA).

En comparación con las otras técnicas de flujo se puede afirmar que el MSFIA presenta la misma robustez que el SIA, pues los cabezales de los pistones están contruidos de PTFE y por lo tanto es posible manipular reactivos agresivos y disolventes orgánicos; clara ventaja frente a los tubos de silicona de las bombas peristálticas usadas en FIA.

Respecto al FIA, esta técnica consume menor cantidad de reactivos pues estos son insertados en el sistema de flujo en el momento de realizar el análisis, mediante la conmutación de las válvulas de solenoide. Cuando no se requieren, las soluciones son devueltas a sus recipientes en vez de ser eliminadas a través del desecho.

Como los segmentos de reactivo y muestra son impulsados e introducidos simultáneamente a través de un conector tipo T o Y, ocurre transferencia radial de masa entre zonas, por lo que para una misma longitud de reactor que en SIA, la reacción ocurre con mayor extensión (recuérdese que en SIA la transferencia de masa ocurre en la interfase de los segmentos). El hecho de evitarse la carga secuencial que es necesaria en SIA, hace que en MSFIA la velocidad de muestreo sea más elevada ($150-180 \text{ m.h}^{-1}$).

Mediante la instrumentación MSFIA es posible insertar en el sistema, con buena precisión, una gran variedad de volúmenes desde $0.03 \mu\text{L}$ (con

jeringuillas de 0.5 mL) pues se dispone de jeringuillas de diferente volumen, desde 0.5 hasta 25 mL. El coeficiente de variación para la inyección de un volumen igual o menor de 20 μL (con jeringuilla de 2.5 mL) es menor que el 2%. Esta versatilidad de volúmenes de inyección (ventaja frente al FIA) está acompañada, con ligeras modificaciones en la instrumentación, con la posibilidad de dispensar las disoluciones a 150 velocidades de flujo diferentes (las buretas automáticas normales proporcionan 10 velocidades de flujo diferentes).

El desarrollo de nuevos prototipos con la incorporación al sistema de dos válvulas de solenoide análogas a las empleadas en los métodos de multiconmutación, simplifica las técnicas MSFIA e incrementa el número de modalidades para insertar el bolo de muestra en el sistema de flujo. Por ejemplo: estas válvulas de solenoide pueden usarse como válvulas de inyección (Figura 12) o como inyecciones multiconmutadas.

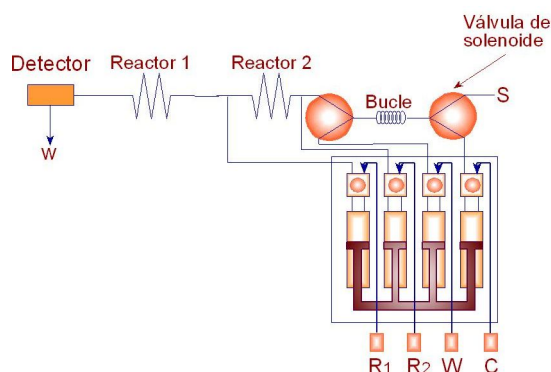


Figura 12. Esquema MSFIA con válvulas de solenoide adicionales y conmutadas. S: muestra. C: portador. R₁ y R₂: reactivos. W: desecho. D: detector.

La construcción de una bomba comercial de pistón con multijeringuillas (CRISON) con cuatro salidas digitales (12 V, 0.5 A) permite el control de hasta 12 válvulas de conmutación e incrementa considerablemente las posibilidades de la técnica MSFIA.

Al igual que ocurre en SIA, un requerimiento indispensable para la automatización de los esquemas MSFIA es el control de toda la instrumentación con ordenadores y programas adecuados. Uno de los mayores inconvenientes de los “software” comerciales (68-69) es su alta especificidad para ciertas

configuraciones. Recientemente Becerra y Col (70) han desarrollado el "Software" AUTOANALYSIS que tiene aplicaciones independientes de la propia configuración; esto sirve para numerosas aplicaciones pudiendo definir con sencillez la secuencia de operaciones a realizar, la capacidad para modificar variables, la integración de datos experimentales y el tratamiento de las señales analíticas.

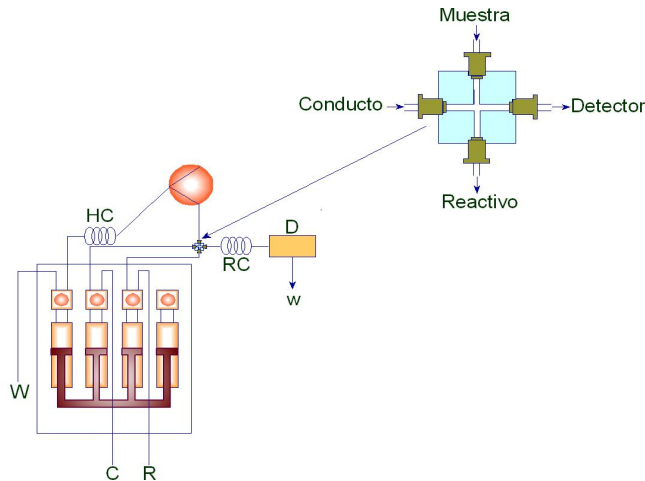


Figura 13. Esquema MSFIA para la determinación fluorimétrica de aluminio. R: derivado de la 8-hidroxiquinoleína. S: muestra. C: portador. HC: reactor de espera. HR: reactor de reacción.

Son numerosas las aplicaciones de la técnica MSFIA en el campo medioambiental, y en otros, y a título de ejemplo en la Figura 13 se muestra el esquema MSFIA para la determinación fluorimétrica de aluminio con un derivado de la 8-hidroxiquinoleína, en medio micelar (71).

Dicho esquema permite la aspiración de un segmento grande de muestra hasta un reactor de espera que se encuentra conectado a una de las jeringuillas y a una de las válvulas de solenoide del módulo. Un conector de cuatro vías permite tres inyecciones sucesivas de muestra durante un solo desplazamiento de la barra del pistón. Consiguen así velocidades de inyección de 154 inyecciones.h⁻¹ con un límite de detección de 0.5 µg.L⁻¹ de Al.

Desde su aparición, esta modalidad de flujo ha sido acoplada a sistemas quimioluminiscentes (72-73), a métodos de separación involucrando gases (74) así como a diferentes modos de introducir la muestra, habiéndose

realizado un estudio comparativo entre modalidades de control de volúmenes y control de tiempos (75).

1.6. TÉCNICAS ACOPLADAS

La combinación de las técnicas FIA, SIA y MSFIA es de gran interés y permite la resolución de numerosos problemas químicos.

Las ventajas del SIA, en relación al manejo previo de la muestra y sus transformaciones, es que puede ser acoplada a la inyección posterior en un esquema de flujo siguiendo el criterio de otras técnicas.

Se ha descrito en bibliografía (76) la determinación de hierro en aguas llevando a cabo su preconcentración por metodología SIA en una columna Chelex-100. El hierro preconcentrado es eluido con ácido HNO_3 convergiendo con otra disolución de SCN^- , según la metodología FIA, para determinar finalmente el complejo rojo formado.

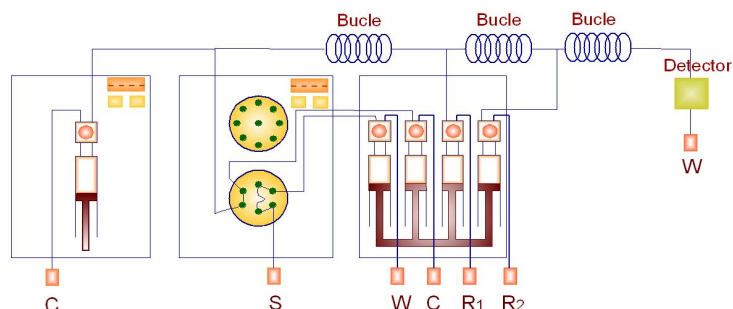


Figura 14. Sistema MSFIA con una bureta automática adicional.

Una combinación que da muy buenos resultados es aquella que acopla la técnica MSFIA a otra bureta automática adicional (Figura 14).

El proceso se inicia por el llenado del bucle de la válvula de inyección, su inserción en el sistema y mezcla con los reactivos, siguiendo la metodología MSFIA ya descrita.

La jeringuilla de la bureta adicional se usa al pasar el líquido remanente por el detector, mientras simultáneamente el módulo de multijeringuillas comienza un nuevo ciclo relleno de reactivo y carga de muestra para volver a repetir el ciclo analítico.

La jeringuilla adicional se rellena con portador mientras la multijeringuilla realiza el proceso de inserción de disoluciones; esto es, tiene lugar un balance alternativo multijeringuilla-jeringuilla adicional que permite alcanzar velocidades de hasta 180 inyecciones.h⁻¹.

Aunque las técnicas antes comentadas se han considerado como técnicas acopladas, en realidad esta terminología corrientemente se aplica a la conjunción de dos o más técnicas conceptualmente diferentes. En este sentido MSFIA ha sido adaptada a electroforesis capilar [77] o a espectrometría de masas [78].

APLICACIONES DE LAS TÉCNICAS DE FLUJO AL ANÁLISIS DE AGUAS

La existencia, cada vez más demostrada, de una correlación entre preservación del medio ambiente y calidad de vida, exige una mayor necesidad de la monitorización continua de un gran número de especies en aguas.

En este sentido la relevancia de las TÉCNICAS DE FLUJO CONTINUO para garantizar la calidad de las aguas, queda demostrada por la gran cantidad de publicaciones o las revisiones (79-82) dando a conocer los resultados alcanzados en este campo, comprendiendo incluso determinaciones multiparamétricas (83-84).

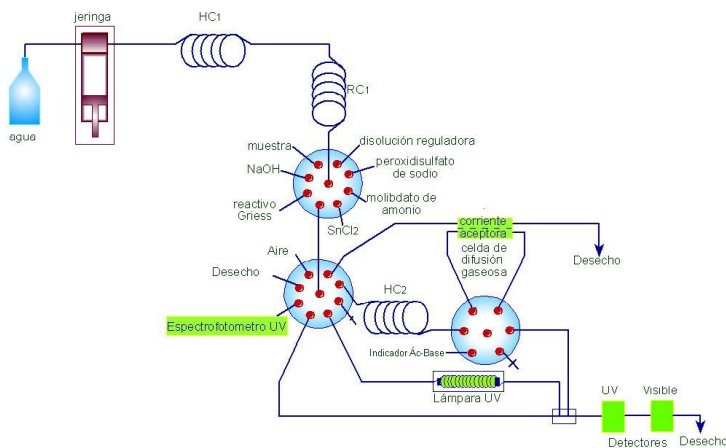


Figura 15. Sistema SIA para monitorizar parámetros de calidad de las aguas: Especies inorgánicas conteniendo N, especies inorgánicas conteniendo fósforo y carbono orgánico total. HC: reactor para mezcla, SIA. RC: reactor para reacción.

Son escasas las revisiones que aparecen en bibliografía referente a los métodos de flujo segmentado, SFA, no así con FIA, MSFIA (85) o incluso con SIA (86-88); en las dos últimas técnicas haciendo énfasis en sus posibilidades para el análisis multiparamétrico.

Aunque inicialmente las técnicas de flujo fueron diseñadas para el análisis en los laboratorios, tienen enorme capacidad para adaptarse al análisis "in situ" así como a la monitorización a tiempo real (89-90) de parámetros químicos en el agua. Algunos de los analizadores diseñados han sido ya incluidos en las directrices de la EPA como métodos de referencia.

La Figura 15 ilustra, a título de ejemplo, un sistema SIA para monitorizar "in situ" parámetros de interés medioambiental en aguas como amonio, nitrito, nitrato, nitrógeno total, ortofosfatos, fosfato total y carbono orgánico total (TOC) (91).

Hemos realizado una revisión bibliográfica sobre las aplicaciones de las técnicas de flujo al análisis de parámetros de interés medioambiental en aguas. Se ha preferido clasificar los trabajos encontrados, en vez de por técnicas, por la naturaleza de los parámetros o analitos: ESPECIES INORGÁNICAS Y ESPECIES ORGÁNICAS.

En esta revisión, no se hace hincapié en la técnica de flujo empleada ni en el tipo de matriz acuosa (agua potable, agua de río, agua de mar, agua residual...) pues en definitiva lo que interesa es dar a conocer los parámetros que pueden ser analizados y los esfuerzos realizados para el desarrollo de sistemas de monitorización.

2.1. TÉCNICAS DE FLUJO Y ESPECIES INORGÁNICAS

2.1.1. NUTRIENTES. ESPECIES ANIÓNICAS Y COMPUESTOS RELACIONADOS.

A modo de resumen se puede indicar que referente a este apartado se mencionan métodos de análisis "in situ" de nutrientes en aguas superficiales y subterráneas que han originado monitores de flujo continuo y en muchos casos basados en metodologías analíticas clásicas (92). Los sistemas monitorizados son tan robustos que han encontrado aplicabilidad en el análisis "in situ" y a tiempo real de nutrientes en agua de mar, tomando la muestra desde un fuera-borda como se comentará más adelante (92-93).

Algunos de los trabajos encontrados en bibliografía se relaciona con el ANÁLISIS MULTIPARAMÉTRICO de aniones (Br^- , Cl^- , F^- , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , S^{2-} , HCO_3^-) y especies catiónicas (H^+ , NH_4^+ , Cationes metálicos) utilizando técnicas de FIA inverso (94), FIA clásico (95) y MCFIA aplicando estrategias de muestreo binario (96). Otros emplean procedimientos clásicos como la fotometría, turbidimetría, potenciometría (95-96) o bien técnicas combinadas (97); también se mencionan en bibliografía el empleo de sensores iónicos como detectores diseñados con transistores de efecto de campo (98) o multielectrodos en barrera (94-99) sin descartar la cronopotenciometría de redisolución catódica así como métodos voltamétricos de redisolución anódica (100).

Compuestos de nitrógeno.

Amonio

El amonio es un importante micronutriente para la vida en los estuarios. En general, altas concentraciones de NH_4^+ en aguas generan un enriquecimiento en nutrientes y por lo tanto un crecimiento en la actividad biológica que puede conducir a la aparición de gran cantidad de algas y elevación de la turbidez, generando en las aguas problemas de toxicidad, sabor y olor. Esta es la razón por la que la determinación del NH_4^+ en aguas tiene interés desde el punto de vista de la contaminación.

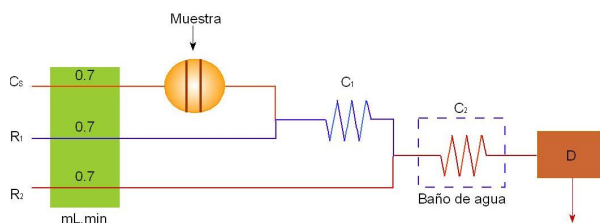


Figura 16. Sistema de flujo para la determinación espectrofotométrica de amonio mediante la reacción de Berthelot. R₁: hipoclorito de sodio, R₂: fenol, C₂: citrato, C₁ y C₂: reactores, Baño termostático a 60°C, D: Espectrofotómetro (640nm).

Los primeros métodos de flujo que aparecen en bibliografía para la determinación de NH_4^+ en todo tipo de aguas, son métodos FIA basados

inicialmente en acoplar a sistemas de flujo reacciones clásicas con detección espectrofotométrica. La primera reacción clásica utilizada fue la de Berthelot (azul de indofenol) (95) (Figura 16) por ser altamente selectiva para NH_4^+ , y por ser muy sensible, sobre todo en presencia de nitroprusiato como catalizador (101). Posteriormente, en el método antes mencionado, el fenol ha sido reemplazado por otros reactivos menos nocivos y más solubles en aguas como es el salicilato (102).

Otro de los métodos clásicos adaptados a FIA ha sido el uso del reactivo de Nessler (103) con la ventaja frente al método de Berthelot que solo se requiere un reactivo y no es necesario termostatar, pues es una reacción de cinética rápida.

No obstante el reactivo de Nessler plantea problemas de precipitación en los tubos de PTFE.

Se han descrito métodos espectrofotométricos indirectos para la determinación de amonio. Uno de ellos se basa en su oxidación a NO_2^- por hipoclorito, ClO^- , en presencia de KBr y medida espectrofotométrica del NO_2^- formado mediante la reacción de Shinn (104). Otro procedimiento descrito utiliza la nitración de indofenol, con NH_4^+ detectando niveles de mg.L^{-1} (105).

Una de las estrategias más prometedoras para la determinación selectiva de NH_4^+ consiste en incorporar unidades de difusión gaseosa a los sistemas FIA en las que sólo interfieren las aminas volátiles (106). La eliminación de surfactantes, que afectan por ser tensoactivos al proceso de difusión a través de membranas, se consigue mediante un procedimiento previo "on-line" usando cartuchos con carbón activado (107).

En la Figura 17 se muestra un esquema FIA en donde el amoníaco formado, una vez que atraviesa por permeación la membrana, es recogido por una solución aceptora (108) en fase homogénea, si bien se podría recoger sobre una fase sólida basificada (109).

La disolución aceptora puede contener un indicador ácido-base (rojo cresol, azul de bromotimol, rojo fenol o mezclas) y sirve para determinar NH_4^+

mediante el seguimiento espectrofotométrico del cambio de color de una de las formas del indicador (110).

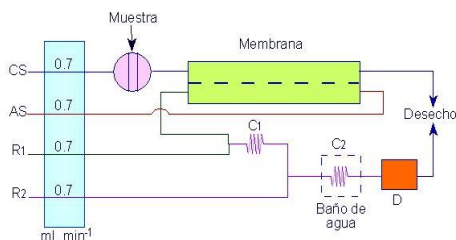


Figura 17. Sistema FIA para la determinación de amonio con difusión gaseosa mediante la reacción de Berthelot. CS: hidróxido de sodio. AS: ácido clorhídrico. R₁: hipoclorito de sodio. R₂: Fenol. C₁ y C₂: Reactores. Baño termostático a 60°C y D: espectrofotómetro (640nm).

También se han propuesto, como alternativas a los métodos espectrofotométricos, métodos potenciométricos (111) o conductimétricos (112).

Cerdá y Col (113) realizan un estudio comparativo sobre diferentes métodos para determinar amonio en aguas, métodos basados en la reacción de Berthelot y en la difusión gaseosa incorporando en este último caso la técnica de parada de flujo a la disolución aceptora como método de preconcentración para mejorar la sensibilidad (Figura 18).

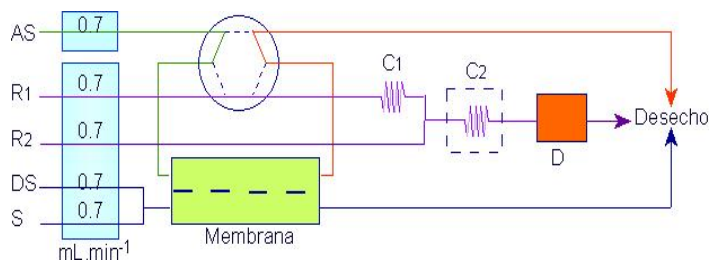


Figura 18. Sistema FIA para la determinación de amoniaco, mediante la reacción de Berthelot, con difusión gaseosa y parada de flujo. S: muestra, DS: corriente donadora, AS: corriente aceptora, R₁: hipoclorito de sodio, R₂: Fenol, C₁ y C₂: reactores, baño termostático a 60°C, D: espectrofotómetro (640nm), (---): posición de carga, (- -): posición de inyección.

El electrodo selectivo para NH_4^+ , con membrana de PVC y el ionóforo “nonactina” ha sido muy utilizado para la determinación de dicho analito en muestras medioambientales. La baja selectividad mostrada por los

electrodos de membrana frente a iones corrientes y en especial frente a K^+ , cuando se desea medir NH_4^+ , se ha intentado mejorar con el diseño de sensores amperométricos como es la electrodeposición de hexacianoferrato de cobre sobre un electrodo de carbón vítreo junto con la utilización de una membrana de difusión de gases para separar el NH_4^+ en forma de NH_3 gaseoso (114).

El problema de la selectividad se ha resuelto usando métodos diferenciales de pH (115), electrodos en barrera (116) junto con procedimientos quimiométricos para el tratamiento de las señales analíticas. La detección amperométrica se ha seguido estudiando con electrodos modificados dopados con diferentes especies (117,118).

Los métodos quimioluminiscentes con su elevada sensibilidad también han encontrado campo de aplicación en la determinación de NH_4^+ en muestras acuosas. Algunos de estos métodos son indirectos y se basan en la disminución de la intensidad de luz generada a partir del sistema $NaClO$ -luminol. En la Figura 19 se muestra el esquema FIA para la determinación indirecta y quimioluminiscente de NH_4^+ que incluye la electrogeneración de Cl_2 en electrodo de Pt a partir de HCl (119). El ClO^- obtenido en medio básico reacciona con luminol eluido de la columna, donde se encuentra inmovilizado, por una disolución de Na_3PO_4 , generando luz cuya intensidad disminuye cuando se introduce la muestra acuosa que contiene NH_4^+ . El NH_4^+ interacciona químicamente con el Cl_2 actuando como inhibidor.

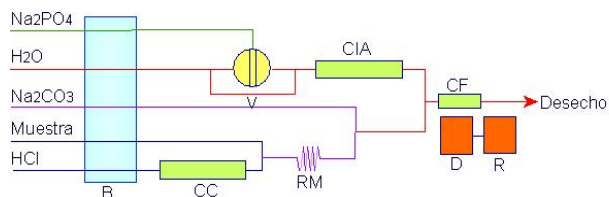


Figura 19. Sistema FIA para la determinación de amonio mediante quimioluminiscencia. B: bomba, CC: celda coulombiometrica, RM: reactor de mezcla, V: válvula, CIA: Columna de intercambio aniónico, CF: Célula de flujo, D: detector, R: registrador.

Otros métodos quimioluminiscentes indirectos se basan en la transformación de NH_4^+ en óxido de nitrógeno gas, que reacciona posteriormente con O_3 (120), o en la transformación previa en un compuesto fluorescente de amoníaco y reacción posterior con aryl-oxalato (121).

De entre los métodos quimioluminiscentes directos merece la pena mencionar la reacción entre BrO^- en medio alcalino y NH_4^+ , que constituye la base de un método FIA sencillo (122).

Otros métodos luminiscentes (fluorimétricos) descritos en bibliografía se basan en la derivatización del NH_4^+ con OPA (o-ftaldialdehído) en ausencia (123) o en presencia de especies nucleofílicas (sulfito, tioglicolato, 2-mercaptoetanol) (124). Se han introducido derivados del reactivo OPA para minimizar la interferencia de las aminas primarias (125).

La totalidad de los métodos descritos hasta ahora, son métodos FIA; la metodología SIA no ha sido explotada convenientemente por los inconvenientes enumerados al presentar dicha técnica.

No obstante, se han dado a conocer métodos SIA con detección fotométrica y amperométrica para el seguimiento diario de la variación de NH_4^+ en plantas potabilizadoras o en efluentes industriales (126).

La inyección secuencial es un método muy indicado en esquemas de flujo con difusión gaseosa utilizando una disolución aceptora parada en un bucle (127). En este contexto y con la misma metodología SIA, la preconcentración de analito antes de su determinación conductométrica genera un incremento en la sensibilidad de los métodos (128).

Citemos, en último lugar el trabajo de divulgación de Oms y Col. (129) sobre el acoplamiento de la técnica SIA a la difusión gaseosa para la determinación de NH_4^+ .

Otros trabajos dedicados a la determinación de NH_4^+ y otros parámetros, como NO_3^- o NO_2^- , serán posteriormente comentados.

Urea

La mayoría de especies animales excretan amoníaco y urea. La velocidad de excreción y sus niveles dependen de la fisiología individual así como de modificaciones medioambientales. La determinación de urea en aguas

de ríos y lagos es de gran interés pues dicha especie desempeña un papel importante en el crecimiento del fitoplacton, como fuente de nitrógeno.

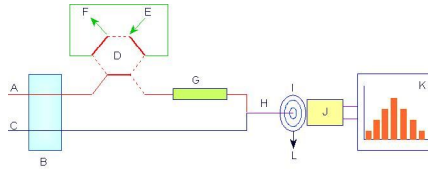


Figura 20. Sistema FIA con detección quimioluminiscente. A: agua destilada, C: disolución de NaOBr, B: Bomba peristáltica, D: válvula de inyección, E: inyección de muestra, F: desecho, G: columna de cambio catiónico, H: tubo de concentración, I: Célula para quimioluminiscencia, J: tubo fotomultiplicador y amplificador, K: registrador y L: desecho.

La urea ha sido analizada en aguas naturales mediante técnicas FIA y la reacción de hidrólisis a amoníaco catalizada por ureasa (130) acoplando sistemas de detección como optrodos de reflectancia y tubos permeables para separar los iones NH_4^+ como NH_3 gaseoso (131).

En los sistemas de flujo (FIA) se han acoplado procedimientos “on-line” con la utilización de la técnica microondas como una alternativa al método Kjeldhal para la determinación indirecta de urea (132).

La sensibilidad de la quimioluminiscencia ha sido utilizada para proponer un método FIA basado en la reacción entre urea e hipobromito, BrO^- . La interferencia del ión NH_4^+ se elimina insertando antes del punto de reacción, una columna de intercambio catiónico (133) (Figura 20).

Nitrito

El nitrito formado mediante la degradación del nitrato, nitrógeno amoniacal o nitrógeno orgánico, es un importante indicador fecal en las aguas naturales. Su determinación en aguas potables tiene importancia en relación con las N-nitrosodialquil aminas que se pueden formar por reacción entre nitrito y aminas naturales. Estos compuestos son cancerígenos para una gran cantidad de especies animales por lo que se sospecha que provoca cáncer también en humanos.

Otro efecto peligroso del NO_2^- para la especie humana es consecuencia de su interacción con los pigmentos de la sangre para provocar metahemoglobinemia.

Se han propuesto numerosos métodos FIA y algunos SIA basados en reacciones tipo Griess, con detección espectrofotométrica, para la determinación de NO_2^- a niveles de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en aguas de todo tipo (potables, subterráneas, ríos, lagos, industriales, de piscifactoría, de mar y residuales).

Todas estas reacciones involucran la diazotación de NO_2^- con una amina aromática (sulfanilamida, p-aminoacetofenona, ácido 4-amiosalicílico o 3-nitroanilina) (133-136) para producir una sal de diazonio, la cual genera un azocolorante a través de una reacción de sustitución electrofílica aromática con un compuesto fenólico o con una amina aromática (N-(1-naftil) etilenediamina, fenilendiamina, safranina-T o 8-hidroxiquinoleina) (137, 138).

En la Figura 21, como ejemplo, se muestra un esquema SIA basado en el fundamento químico antes mencionado, concretamente en este caso (134) como reactivo formador del producto final coloreado se emplea sulfanilamida y cloruro de N-(1-naftil)etilenediamonio (reacción de Shinn).

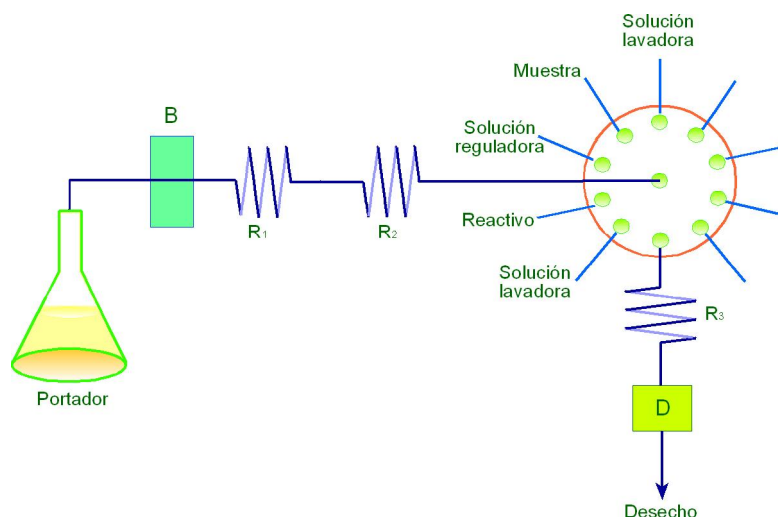


Figura 21: Sistema SIA para la determinación de nitrito. B: bomba, R_x: reactor, D: detector

Posteriormente se han investigado reactivos alternativos a los mencionados con el fin de ampliar el margen de detección (139).

La determinación de NO_2^- en aguas se puede llevar a cabo utilizando un sistema SIA como el de la Figura 22, con extracción "on-line" en fase sólida, basado en la retención del azo-colorante resultante de la reacción de Shinn en una fase estacionaria de gel de sílice modificada C_{18} . El azocolorante es posteriormente eluido de manera eficaz con metanol-agua (80:20 V/V) y medido espectrofotométricamente a 540 nm (140). El inconveniente de estos métodos SIA sigue siendo el número tan elevado de etapas a controlar, en el método comentado son 14, lo que requiere de un programa adecuado (Autoanalysis) para su control completo.

El método comentado tiene la ventaja, basada en la preconcentración en la minicolumna C_{18} , de alcanzar límites de detección muy bajos, del orden de 0.25 ng.L^{-1} en N NO_2^- .

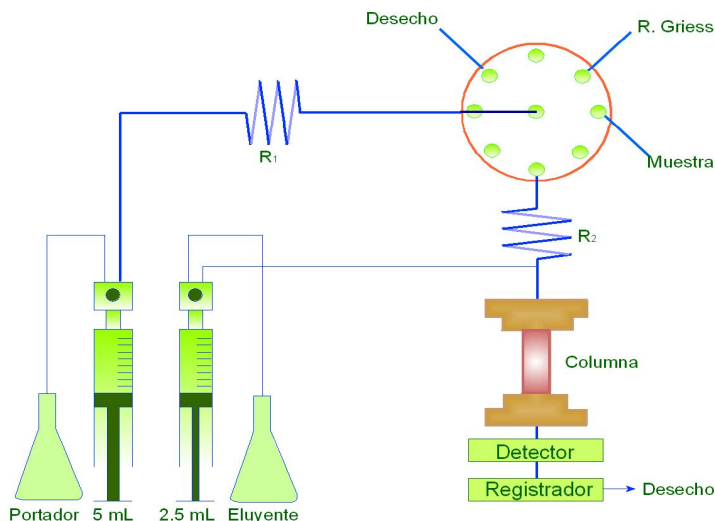


Figura 22. Sistema SIA para preconcentración y determinación de nitrito

La misma reacción de Shinn ya comentada y la preconcentración en fase sólida han sido la base de otros métodos de flujo continuo para la determinación de NO_2^- en aguas con la conjunción de optrodos basados en

espectrofotetría en fase s3lida y dise1o de optosensores de reflectancia difusa acoplados a membranas de extracci3n en fase s3lida (141) (Figura 23).

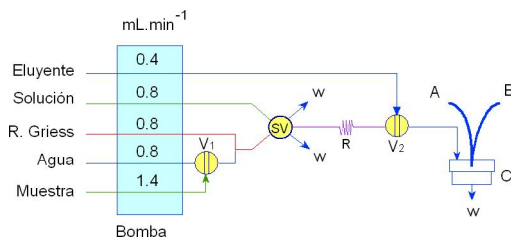


Figura 23. Sistema FIA – con optosensores y extracci3n- para la determinaci3n de nitrito. V₁: v3lvula de inyecci3n (2.5 mL), SV: v3lvula de conmutaci3n, V₂: V3lvula de inyecci3n (150 μ L), W: desecho, R: reactor (40 cm), A: fuente de luz, B: Conexi3n PC-detector, C: Flujo a trav3s de la celda.

En los 3ltimos a1os se han dado a conocer reacciones de decoloraci3n del cati3n de diazonio formado (a partir de 4-nitroanilina o safranina) (142) as3 como la oxidaci3n del complejo de azul de fosfomolibdeno por cantidades traza de NO₂⁻ (143), como base de m3todos de flujo continuo para la determinaci3n de dicho analito

El efecto catal3tico del NO₂⁻ en el acoplamiento oxidativo de fenilaminas sustituidas (144) o en la oxidaci3n por BrO₃⁻ de especies org3nicas tales como naranja de acridina (145), galocianina (146), fenosafranina (147), clorofosfanato-pN (148), verde naftol B (149) o rojo de pirogalol (150); es la base de m3todos de flujo continuo con detecci3n espectrofotom3trica y muy sensibles en cuanto a la determinaci3n del analito NO₂⁻ se refiere.

La determinaci3n espectrofotom3trica de NO₂⁻ en la zona del UV es posible por su transformaci3n en NO_x gaseoso tras mezclar la zona del analito (en un esquema de flujo continuo) con una corriente que contiene 3cido HCl concentrado. La detecci3n se lleva a cabo, por lo tanto, en fase gaseosa y el m3todo se caracteriza por su sensibilidad y su alta frecuencia de muestreo (151).

Los m3todos luminiscentes, como era de esperar, son la base de numerosos m3todos en flujo continuo para la determinaci3n de NO₂⁻ en aguas con gran sensibilidad (μ g.L⁻¹ o ng.L⁻¹). En este contexto merecen destacar los m3todos que tienen como base la inhibici3n de fluorescencia de la rodamina 6 G

cuando es oxidada en presencia de NO_2^- como catalizador (152) o bien la fluorescencia generada al enlazarse el ión NO_2^- a iones de diazonio (153). También se han descrito en bibliografía reactivos fluorogénicos, tales como 3,3', 4, 4'-bifeniltetraamina (154) y 2,3 diaminonaftaleno (155) que en medio alcalino originan con NO_2^- compuestos que emiten fluorescencia y son la base de métodos de flujo continuo para la determinación de NO_2^- en aguas con límites de detección del orden de ng.L^{-1}

No se conoce en bibliografía ningún método quimioluminiscente directo para la determinación de NO_2^- en flujo continuo. Por el contrario sí se encuentran métodos indirectos basados en el efecto “quenching” que ejerce el NO_2^- sobre la quimioluminiscencia generada en la reacción de oxidación de la acriflavina por KMnO_4 (156) o en la transformación de NO_2^- en óxido nítrico gaseoso y reacción en dicha fase con ozono, O_3 , que genera luminiscencia (157). Otro método indirecto encontrado en bibliografía se basa en la oxidación previa de NO_2^- hasta ácido peroxinitrico (con H_2O_2 en medio H_2SO_4) que en presencia de luminol genera una reacción quimioluminiscente (158). (Figura24).

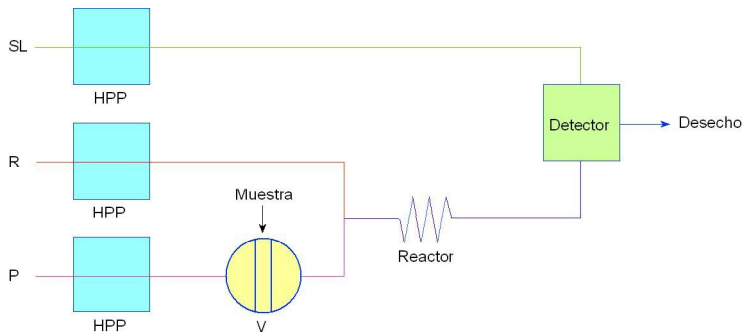


Figura 24. Sistema FIA con detección quimioluminiscente. SL: solución quimioluminiscente, R: reactivo, P: portador, HPP: bomba de alta presión V: válvula de inyección.

La reacción redox entre NO_2^- y I^- , en medio ácido, constituye el fundamento de un conjunto de métodos FIA para la determinación de NO_2^- en aguas. La primera estrategia descrita se basa en la medida espectrofotométrica del yodo generado (159) o su empleo como oxidante de la molécula

quimioluminogénica como es el luminol y como no, su detección bioamperométrica con electrodos de punta de platino (160, 161).

En este último contexto, el electroanalítico, aparece en bibliografía un método amperométrico indirecto para la determinación de NO_2^- en flujo continuo que consiste en la medida del yodo sobrante en la reacción entre dicho oxidante y ácido etilendiaminotetraacético (reacción fotoquímica) inhibida precisamente por el analito buscado, NO_2^- (162).

También se encuentran en bibliografía métodos amperométricos basados en la determinación de la forma reducida de NO_2^- utilizando electrodos modificados como uno de oro recubierto con una membrana de PTFE que no presenta interferencias electroquímicas (163). Sensores electroquímicos de pasta de carbono modificados con polímeros redox (164) (oxidación de NO_2^-) o electrodos de Pt con membranas de acetato de celulosa (165), son otras opciones de interés.

Si bien no son frecuentes los trabajos en que se utiliza la técnica SIA para la determinación de NO_2^- en aguas, recientemente han aparecido en bibliografía los de Baeza y col (166) y Zhao y col. (167).

Nitrato y N-total

El análisis de la especie de nitrógeno en mayor estado de oxidación, NO_3^- , es una de las primeras etapas en los estudios ambientales concernientes a la calidad de las aguas, basados en el hecho conocido del incremento de dicho analito para el uso de fertilizantes y su toxicidad para la infancia. En este sentido es de enorme interés también la determinación de NO_2^- y NO_3^- , individualmente o su suma (N-inorgánico total oxidado).

La mayoría de los métodos FIA y SIA para el análisis de NO_3^- y N-inorgánico total oxidado se basan en la reducción previa de NO_3^- a NO_2^- , proceso que ocurre en una minicolumna (insertada en el sistema de flujo) rellena de Cd/cuperizado y una reacción posterior del NO_2^- formado del tipo de diazoacoplamiento comentada (168 -170).

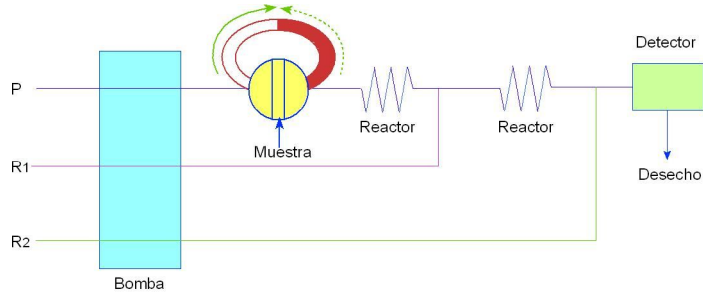


Figura 25. Sistema FIA para la determinación simultánea de nitrito y nitrato. P: portador, R₁: solución de sulfanilamida, R₂: N-(1-naftil)-etilenodiamina, (→): dirección de introducción de la muestra, (←): dirección del flujo de la corriente portadora.

En la Figura 25, a título de ejemplo, se muestra un esquema FIA sencillo para la determinación simultánea de NO_2^- y NO_3^- con la minicolumna reductora introducida en el bucle de la válvula de inyección, ocupando solo una parte del mismo. La muestra inyectada contiene una zona que ha pasado a través de la columna reductora y otra no; la señal analítica generada (reacción de Shinn) origina un fiagrama compuesto que contiene información sobre la concentración de $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ y la de NO_2^- solo. La Figura 26 muestra el diseño del esquema de flujo para llevar a cabo el mismo procedimiento químico pero mediante metodología SIA.

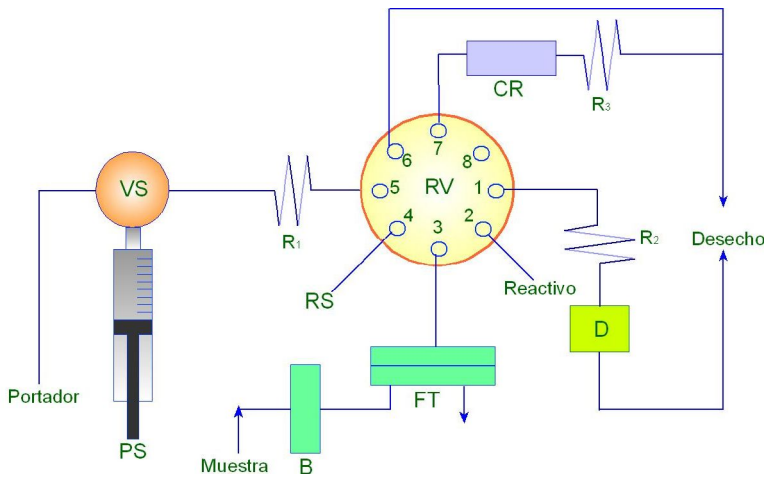


Figura 26: Sistema SIA para la determinación simultánea de NO_2^- y NO_3^- acoplado a una unidad de filtración. VS: válvula de jeringa, PS: bomba de jeringa, B: bomba peristáltica, FT: filtro tangencial, RS: solución regeneradora de columna, R_x: reactivos.

El mismo procedimiento comentado anteriormente se ha realizado en sistemas microminiaturizados sumergibles que funcionan como sensores remotos (171, 172) computerizados. En la Figura 27-a se muestra el sistema de flujo empleado y en la Figura 27-b, los componentes del esquema fotografiados en lo que constituye el sensor sumergible para el análisis remoto de $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$. Según los autores el sensor fue ensayado a 4 metros de profundidad en varias sesiones de 12 h en total de trabajo y funcionó con éxito. El tipo de matriz era agua del Mar del Norte. Las interferencias inducidas por los cambios de temperatura, presión y salinidad durante la monitorización “in situ” por parte de este tipo de sensores remotos han sido estudiadas y resueltas (173).

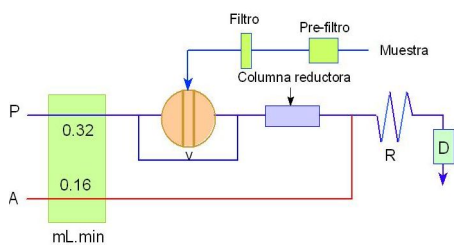


Figura 27-a: Sistema FIA para la determinación de nitrato usado en el Mar del Norte. P: portador, A: reactivo, V: válvula de inyección, R: reactor, D: detector.

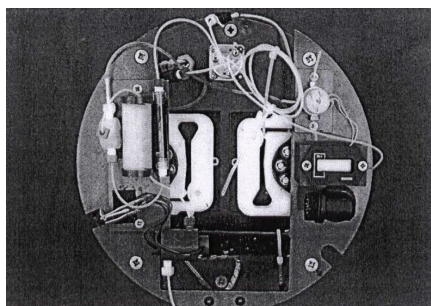


Figura 27-b: Fotografía del sistema FIA mostrando la disposición de los componentes. Anchura del contenedor: 70 cm, columna: 6cm de largo y 1cm de diámetro interno, detector: fotodiodo.(171)

Si bien en los sistemas de flujo anteriores hemos mencionado las minicolumnas reductoras de Cd/cuperizado, se comprenderá fácilmente que son numerosos los trabajos que aparecen en bibliografía sobre el estudio de variables como tamaño de grano de Cd, forma y tamaño de la minicolumna así como la velocidad de flujo a través de la misma (174). La instalación “on-line” de una minicolumna con Cu antes de la minicolumna de Cd/cuperizado, se recomienda por algunos autores no solo para garantizar que el rendimiento en la reducción sea elevado, sino también para prolongar al máximo la vida del reductor Cd/cuperizado.

Se han ensayado con éxito las ventajas que presenta la reducción electrofítica de NO_3^- en un electrodo de carbono vitrificado que contiene electrodepositado un metal. Este sistema ha sido utilizado para la determinación coulombiométrica de NO_3^- , en flujo continuo, sin que ejerzan interferencias especies como O_2 y NO_2^- (175).

Lógicamente también se han ensayado otros reductores o mezclas de reductores en sustitución del relleno de las minicolumnas de Cd/Cu como han sido Cd amalgamado, gránulos de Cd sólo (176) o placas de Cd con partículas de Zn (177); no obstante la extensión en la reducción de NO_3^- no alcanza los valores que se obtienen con el reductor Cd/Cu debido a la actividad catalítica de este último.

El mayor interferente, en aguas naturales, para el reductor Cd es el anión fosfato, PO_4^{3-} ; para evitar esta interferencia se han diseñado esquemas de flujo continuo realizando la reducción de NO_3^- en fase homogénea utilizando hidracina (178, 179) en presencia de Cu^{2+} que actúa como catalizador (180).

Desde el punto de vista de la “química verde” el mayor inconveniente que plantea la utilización de los reductores con Cd, aunque sea en minicolumnas y en sistemas de flujo, es que se generan en el proceso corrientes de desecho con especies tóxicas. Este es el motivo por el cual algunos autores han propuesto la reducción química de NO_3^- catalizada por la enzima nitrato reductasa (obtenida a partir de hojas de cereales), si bien la reacción ha sido implementada en un sistema de flujo segmentado (181).

La **fotorreducción** de NO_3^- a NO_2^- mediante irradiación UV ha sido investigada por algunos autores, quienes han comprobado que la eficacia en la conversión se incrementa al añadir activadores como AEDT y análogos (182), o bien usando una lámpara de vapor de Hg (con cubierta de Al) como fuente de luz ultravioleta, sin que su banda de emisión se solape con la banda de absorción del NO_3^- (254 nm).

La **activación fotoquímica** es un método muy indicado para ser acoplado a sistemas de detección quimioluminiscente. En la Figura 28 se muestra el esquema FIA empleado para la transformación fotoquímica de NO_3^-

a peroxinitrito que oxida al reactivo luminol generando quimioluminiscencia (183). Una minicolumna rellena de una resina intercambiadora catiónica colocada antes del reactor fotoquímico elimina las interferencias de Fe^{3+} , Cu^{2+} , Co^{2+} y Ni^{2+} .

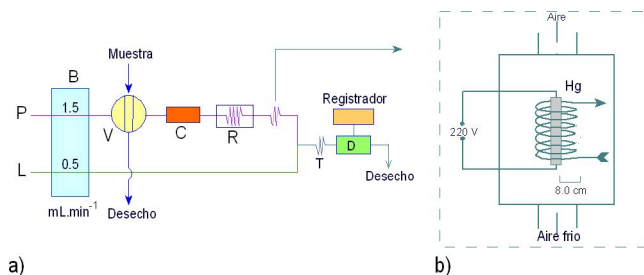


Figura 28 a: esquema del diagrama FIA. B: bomba peristáltica P: portador, L: luminol, V: válvula de inyección, C: minicolumna (resina de intercambio catiónico), R: reactor fotoquímico, D: detector, T: tubos de conexión. **Figura 28 b:** diagrama de flujo a través del reactor fotoquímico. Hg: lámpara de mercurio.

La conversión “on-line” de los compuestos oxidados de nitrógeno (NO_3^- y NO_2^-) a NH_3 se puede conseguir utilizando columnas rellenas de cloruro de Ti(III) (184) o de Zn metálico (185). Los esquemas de flujo, FIA, propuestos son útiles para la especiación de los compuestos inorgánicos de N mediante la selección adecuada de la composición de la disolución del portador. Con agua como portador, tanto nitrato como nitrito son reducidos hasta amoníaco mientras que en presencia de ácido sulfámico solo es posible reducir el nitrato (186). También es posible utilizar estrategias de enmascaramiento, para lograr la diferenciación (187).

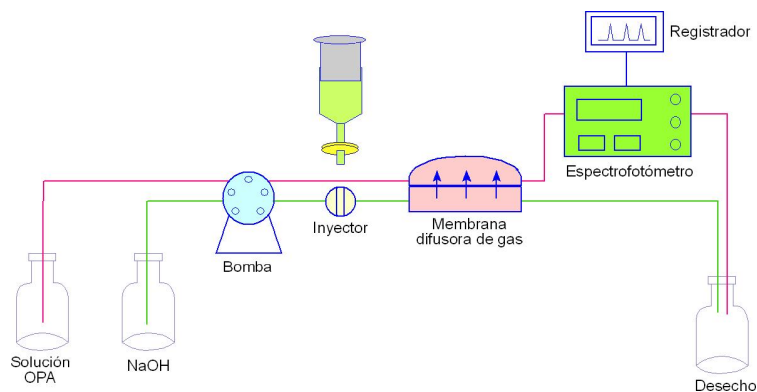


Figura 29. Sistema FIA para la determinación de nitrato

En la Figura 29 se muestra un esquema de flujo sencillo para la determinación de NO_3^- en flujo continuo mediante la introducción de la muestra a través de un cartucho relleno de TiCl_3 . El amoníaco obtenido se recoge a través de una membrana difusora de gases sobre una disolución que contiene OPA-(o-ftalaldehído) que forma con él un compuesto indólico fluorescente. El inconveniente del método es su baja sensibilidad, con un margen lineal entre 0.2 y 2.5 mg.L^{-1} .

La discriminación entre NO_3^- y NO_2^- y su consecuencia ha sido también conseguida mediante esquemas SIA utilizando la tecnología "sándwich" en la que en la columna reductora una zona de la muestra penetra y otra parte no, estando en los extremos acotada por zonas de solución tampón y de reactivo cromogénico (188) (Figura 30).

La formación de un *par iónico* entre nitrato y el complejo fenantrolina-Cu(II) permite su monitorización individual mediante absorción atómica como sistema de detección en un sistema FIA. El procedimiento es útil para determinar N-inorgánico total después de oxidar la muestra con Ce(IV) (189).

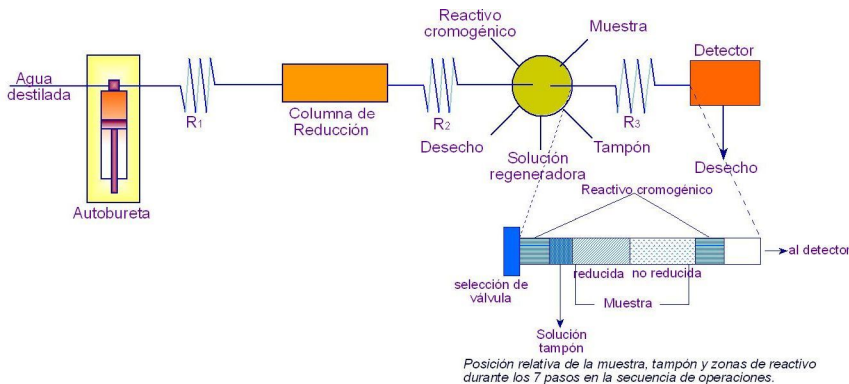


Figura 30. Sistema SIA para la determinación simultánea de nitrito y nitrato. R_x : Reactores

La metodología sencilla para la determinación de NO_3^- consiste en medir el valor de absorbancia que presenta en la zona del UV, no es un procedimiento muy deseable en la mayoría de los casos debido a las numerosas interferencias presentes en las muestras reales. No obstante aparece en bibliografía un método en flujo continuo usando la medida espectrofotométrica

en la zona del UV que consiste en la medida del decrecimiento de la coenzima NADPH por reacción con NO_3^- (reacción catalizada por nitrato reductasa) (190).

Desde el punto de vista de los métodos **electroquímicos** las estrategias escogidas para acoplar a los métodos de flujo han sido la potenciometría con electrodos selectivos tubulares diseñados como células de flujo (191) o colocados como sensores en configuración “array” tipo célula “wall-jet” (192) en los que se involucran el desarrollo de pares iónicos entre nitrato y el quelato 4,7-difenilfenantrolina-Ni(II) (193) o sales de amonio cuaternario (194).

La potenciometría diferencial en flujo continuo ha sido usada para la determinación de NO_3^- en muestras acuosas mediante el ingenioso diseño de una membrana ISE fijada en una célula simétrica con el electrodo de referencia a ambos lados de la misma (195) con lo que se consigue una gran sensibilidad.

La reacción catalítica entre nitrato e ión uranilo ha sido aplicada en flujo continuo a la determinación de dicho analito utilizando detección polarográfica (con onda cuadrada) combinada con un sistema “on-line” de desaireación (196).

La determinación de NITRÓGENO TOTAL en muestras medioambientales acuosas (ríos, lagos, aguas subterráneas y residuales) solo las consideramos de modo breve pues se puede, en principio, realizar a partir de la suma $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ obtenida a de métodos preliminares de digestión de las muestras para la transformación de los compuestos orgánicos que contienen N. El método clásico de la digestión Kjeldhal es difícil adaptarlo a un sistema de flujo continuo, pues requiere de un proceso de mineralización y destilación previa, antes de realizar el método de valoración ácido-base.

No obstante se han propuesto otros métodos alternativos para dicha transformación que sí que pueden realizarse en flujo continuo como son la fotodegradación-UV en presencia de agentes oxidantes (197-198), la oxidación térmica y la digestión química asistida por microondas, con peroxidisulfato en medio alcalino a elevada temperatura y presión (199).

En la Figura 31 se muestra un esquema de flujo diseñado para la determinación secuencial de nitrito, nitrato y nitrógeno total usando diferentes estrategias conjuntas como son: reacción de Shinn, reducción homogénea de NO_3^- con hidracina y descomposición de N-orgánico mediante irradiación ultravioleta (198).

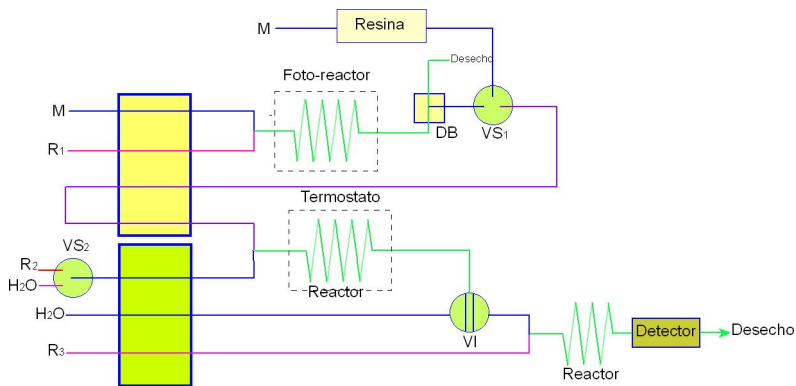


Figura 31. Esquema FIA para la determinación secuencial de nitrito, nitrato y N-total. M: muestra, R₁: solución alcalina, R₂: reactivo reductor, R₃: reactivo cromogénico, VS_x: válvulas de selección, VI: válvula de inyección, DB: desburbujador.

Si bien hemos mostrado una revisión bibliográfica de los métodos de flujo continuo para la determinación de NO_3^- en aguas agrupándolos por técnicas de detección, debemos citar también la determinación quimioluminiscente mediante un esquema FIA que incorpora fotólisis con radiación ultravioleta (200).

En cuanto a la *determinación secuencial* de NH_4^+ y NO_3^- ha sido resuelta mediante esquemas FIA sencillos por Haghgh y col. (201) y por Tovar y col. (202) o utilizando una técnica de multiconmutación como ha sido el caso de Rocha y col. (203).

La determinación simultánea de NO_3^- y NO_2^- ha sido abordada y resuelta con éxito mediante esquemas FIA utilizando detección espectrofotométrica (204, 205), quimioluminiscente (206) o amperométrica por Pérez Pavón y col. (207) insertando la columna reductora en el propio bucle de inyección.

Dicha determinación simultánea también ha sido abordada mediante la técnica SIA (208, 209) con fundamentos químicos ya aplicados en los métodos FIA.

Compuestos de Fósforo

La determinación de fosfatos es de gran importancia en el control de calidad de las aguas pues es el mejor indicador del estado de los nutrientes en las aguas naturales. El incremento en compuestos de fósforo puede conducir a la eutrofización del medio acuático con el consiguiente incremento de la biomasa, lo cual puede tener efectos sobre la salud humana.

La eutrofización de las aguas ambientales se ha convertido en un tema de preocupación de los poderes públicos, por lo que la Unión Europea ha recomendado como límite máximo aconsejable en las aguas naturales 0.1 mg.L^{-1} de fosfato; por encima de dicho valor comienza el crecimiento desmesurado de algas.

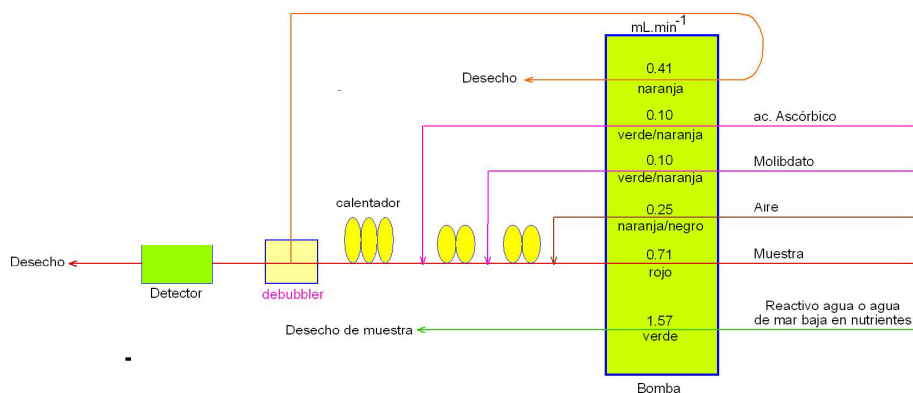


Figura 32. Diagrama de flujo segmentado para la determinación de fosfato

La base química de los métodos de flujo continuo con detección espectrofotométrica para la determinación de fósforo reactivo en todo tipo de aguas, estriba en la reacción en medio ácido entre ortofosfato y molibdato para formar el heteropoliácido 12-molibdo-fosfórico. En la mayoría de los métodos de flujo continuo este compuesto es reducido hasta azul de Mo(V) utilizando Sb

como catalizador de la reacción (210) o bien la formación del complejo amarillo molibdovanadofosfato (211). El primero de los métodos está ampliamente aceptado como método de rutina debido a su alta sensibilidad (Figura 32).

Para el método del azul de molibdeno en flujo continuo se han dado a conocer varios reductores como son ácido ascórbico (212), hidracina (213) ó cloruro de Sn (II) (214). A pesar de la inestabilidad de las disoluciones de Sn (II), éste reductor conduce a los mejores resultados en cuanto a límite de detección, rapidez y margen de determinación se refiere (215).

La metodología de multiconmutación combinada con el muestreo binario y la técnica de confluencia de zonas es muy útil con el objetivo de incrementar la sensibilidad y el margen de determinación espectrofotométrica de los métodos antes comentados (216).

El método del azul de molibdeno en conjunción con sistemas “on-line” para preconcentrar la muestra, conduce a métodos muy sensibles para la determinación de fosfatos en agua. Como sistema de separación y preconcentración se pueden usar minicolumnas rellenas con un intercambiador aniónico (217) o con un compuesto orgánico de Sn para realizar una extracción cromatográfica tanto de los aniones orto como pirofosfato (218).

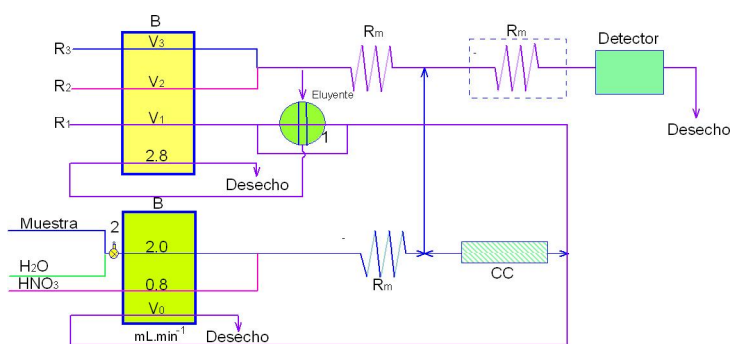


Figura 33. Sistema de flujo con extracción cromatográfica para la determinación de fosfato. 1: inyector, 2: 2 caminos stopcock, R_m : reactor de mezcla, CC: columna de extracción cromatográfica, B: bomba, R_1 : ácido nítrico, R_2 : molibdato de amonio, R_3 : agente reductor.

En la Figura 33 se muestra el esquema de flujo empleado en este segundo método. En el interior de la minicolumna se encuentra un soporte

inerte modificado con un compuesto orgánico de estaño en el que son separados y preconcentrados tanto ortofosfato como pirofosfato. Para la determinación de ortofosfato el espectrofotómetro detecta a 660 nm el azul de molibdeno formado al reaccionar con el reductor, una vez eluida la muestra con HCl/NaCl. La suma de orto y pirofosfato se puede determinar después de la hidrólisis del pirofosfato hasta la forma orto a 50°C y en presencia de pirofosfatasa inorgánica. El límite de detección del método es de 0.3 ng.mL⁻¹ de P y ha sido aplicado al análisis de aguas de río.

Otro ingenioso procedimiento para incrementar la sensibilidad en el método FIA del azul de molibdeno consiste en utilizar un laser semiconductor (GaAl/As) y una delgada y alargada célula de flujo (politetrafluoroetileno PTFE). Con el nuevo sistema de detección y la célula novedosa, se consigue incrementar la sensibilidad 10 veces frente al método clásico (219). Basado en el método de azul de molibdeno se han diseñado monitores para trabajar en continuo y "in-situ" y poder determinar variaciones temporales de fosfato en vertidos ilegales sobre ríos y lagos (93) o monitorizar la variación en aguas de mar y en muestras oligotróficas donde la salinidad ejerce un efecto interferente que ha sido resuelto con métodos de regresión robustos para la calibración (220, 221).

La determinación de FÓSFORO ORGÁNICO DISUELTO también puede realizarse mediante el método clásico del azul de molibdeno realizando previamente, y "on-line", un procedimiento de foto-oxidación, utilizando lámpara de Hg de baja presión (222) o bien usando peroxidisulfato y tubos ultravioleta (223).

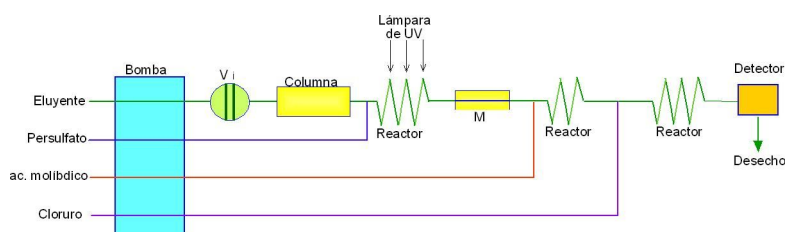


Figura 34. Sistema FIA para la determinación de PRD y POD mediante separación de la muestra por filtración en columna de gel. M: membrana de difusión de gases, Vi: válvula de inyección.

La ESPECIACIÓN de compuestos de fósforo de bajo y alto peso molecular (fósforo inorgánico reactivo disuelto y fósforo orgánico disuelto, PRD y POD respectivamente) es posible realizarla en un sistema FIA (Figura 34) (224) mediante separación de la muestra en una columna rellena con gel (filtración en gel) y situada "on-line" en el sistema de flujo. Los compuestos una vez eluidos (compuestos orgánicos) sufren un proceso de foto-oxidación y el fósforo total se determina espectrofotométricamente mediante la reacción del azul de molibdeno.

La determinación de FÓSFORO TOTAL DISUELTO usando el método clásico del azul de molibdeno requiere una hidrólisis previa, en medio ácido, de los fosfatos condensados (piro, meta, polifosfatos) hasta ortofosfato.

Como las especies antes comentadas no son sensibles a la foto-descomposición con luz UV, se han implementado, en los métodos de flujo continuo, procedimientos de descomposición térmica (225) y de digestión inducida por microondas (226).

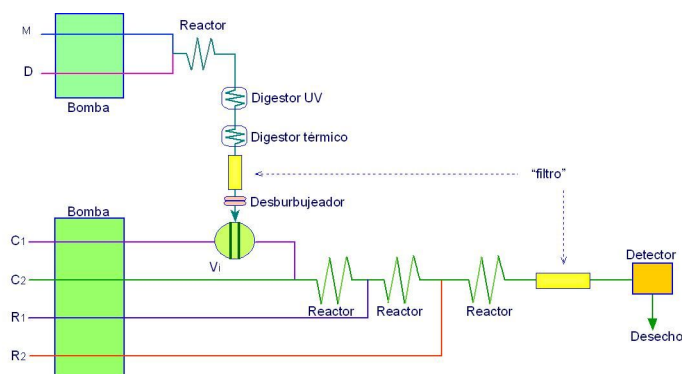


Figura 35. Sistema FIA para la determinación de P total con digestor UV y térmico. M: muestra, D: reactivo digestor, R₁: ácido molibdico, R₂: cloruro de titanio (II)/sulfato de hidracina, C₁ y C₂: disoluciones portadoras.

Las condiciones que se requieren, tan distintas, para la conversión de los fosfatos orgánicos, y los fosfatos inorgánicos condensados obliga a diseñar esquemas FIA, para la determinación de FÓSFORO TOTAL, como el mostrado en la Figura 35 (227). Se introducen en el sistema de flujo, en serie, un digestor constituido por un foto-reactor UV y otro térmico. El ortofosfato formado es

determinado espectrofotométricamente mediante el método químico del azul de molibdeno, si bien la muestra atacada antes de entrar en el sistema de determinación pasa a través de una unidad de filtración. Esta última operación permite introducir la posibilidad de cuantificar fosfatos en estado COLOIDAL y en FORMA SOLUBLE. En relación con la descomposición térmica, esta etapa de mineralización puede ser acelerada utilizando un digestor capilar conteniendo un hilo de platino que actúa como catalizador en el proceso de la oxidación de las especies orgánicas de P.

Una parte de los compuestos orgánicos de fósforo disueltos (POD) en las aguas naturales puede ser utilizada por bacterias y algas después del proceso de hidrólisis mediante fosfoestearasas extracelulares como fosfatasa alcalina; esta fracción se denomina FÓSFORO ORGÁNICO DISUELTO DISPONIBLE BIOLÓGICAMENTE.

La fracción de POD que queda sin hidrolizar se denomina por lo tanto FÓSFORO ORGÁNICO DISUELTO NO DISPONIBLE BIOLÓGICAMENTE O REFRACTARIO. Una parte importante de esta última fracción la constituye el ácido fítico (isonotol-hexaquisfosfato) que puede ser hidrolizado por 3-fitasa (enzima fosfohidrolítica que se encuentra en el medio acuático).

Mediante técnicas FIA y reactores enzimáticos adecuados es posible determinar FRACCIONES ESPECÍFICAS del fósforo orgánico disuelto. Si la enzima inmovilizada en el reactor es la fosfatasa alcalina, será posible diferenciar la fracción biológicamente disponible (228), pero si la enzima inmovilizada es 3-fitasa (229) la fracción que se determina es FÓSFORO ORGÁNICO HIDROLIZABLE POR FITASA NO DISPONIBLE BIOLÓGICAMENTE. En ambos casos, como el producto final de la hidrólisis es ortofosfato, el sistema final de detección es el espectrofotométrico del azul de molibdeno ya comentado.

En la Figura 36 se muestra el diseño de un esquema de flujo para determinar la fracción de fósforo orgánico hidrolizable por 3-fitasa (enzima inmovilizada en el reactor) y otro para la determinación diferenciada de ambas formas de fósforo (Figura 36-b) (229).

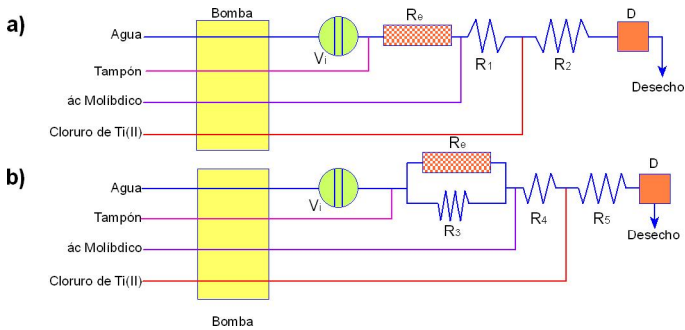


Figura 36. Sistema FIA para la determinación de a) fósforo orgánico hidrolizable y fósforo reactivo disuelto y b) determinación diferenciada de ambas especies. V_1 : válvula de inyección, R_x : reactores, R_e : reactor enzimático (3-fitasa), D: detector.

Todos los trabajos hasta ahora comentados se basan en la detección espectrofotométrica del producto de reducción del heteropoliácido de P-Mo. Existen otras alternativas espectrofotométricas para determinar FOSFATO REACTIVO DISUELTO en cantidades bajas (5 ng.mL^{-1}) que se basan en la formación de pares iónicos entre vanadomolibdofosfato con compuestos catiónicos o bases colorantes catiónicas (230) como rodamina B, violeta cristal, verde malaquita. En este último caso, la reacción de formación del producto final coloreado se puede acelerar por la presencia de grupos hidroxilo contenidos en disolventes orgánicos (231). La estabilidad del producto formado (par iónico) se incrementa en presencia de etanol y/o agentes surfactantes (alcohol polivinílico o Triton X-100) (232). El método del par iónico con verde malaquita, frente al clásico de azul de molibdeno, presenta un margen de determinación lineal más estrecho (233). La sensibilidad del método del par iónico con verde malaquita se puede incrementar mediante métodos de preconcentración como es la extracción líquido-líquido realizado en continuo (234).

También se encuentran en bibliografía métodos para determinar compuestos de P en aguas basados en técnicas de flujo, normalmente FIA, y detección *Fluorimétrica*. Uno de ellos se basa en la reducción del vanadomolibdofosfato por tiamina (no fluorescente) para generar tiocromo (altamente fluorescente) (235). El efecto inhibitor del ortofosfato en la foto-

oxidación de acridina (catalizada por Fe(III)) (236) o el efecto “quenching” sobre la fluorescencia de la rodamina B o 6G a través de la formación de pares iónicos con especies de fósforo (237) son reacciones químicas base de otros métodos de flujo continuo (FIA).

La sensibilidad de las reacciones *Quimioluminiscentes* ha sido aprovechada para proponer esquemas FIA para determinar compuestos de P en sus diferentes fracciones. Todos son métodos enzimáticos (con la enzima inmovilizada en el reactor) en los que el compuesto de fósforo (ortofosfato o bien otros) reacciona con un cofactor para generar en todos los casos H_2O_2 ; los biocatalizadores inmovilizados han sido: piruvatooxidasa (238), maltosa fosforilasa-mutarrotasa-glucosaoxidasa (239), fosforilasa-xantina oxidasa (240). En todos los casos el H_2O_2 generado interacciona con luminol para generar la quimioluminiscencia que es medida en el detector.

Si bien de manera escasa, se encuentran en bibliografía métodos electroquímicos en flujo continuo para la determinación de compuestos de fósforo en aguas. El fundamento electroquímico de la reacción del heteropoliácido a azul de molibdeno en un electrodo de carbón vítreo colocado en una célula de flujo en configuración “wall-jet” (241) y la potenciometría con electrodo selectivo de cobalto (procedente del fosfato de cobalto previamente precipitado) (242); son la base de los métodos de flujo propuestos.

Yao y col. (243) determinan ortofosfato y fosfatos totales (fosfatos inorgánicos más bases nucleótidas con purinas) de manera simultánea mediante un esquema FIA y detección bioamperométrica.

Teniendo como base esta técnica, Lyddy-Meaney y col. (244) diseñan un analizador compacto y sumergible basado en la reacción clásica del azul de molibdeno y lo comprueban en aguas marinas para la realización de mapas de concentración de fosfatos. El sistema realiza hasta 300 determinaciones por hora.

Una amplia revisión de los métodos FIA, con estudio comparativo, utilizados para la determinación de diferentes especies de fósforo, ha sido dada a conocer por Estela y col. (245).

La metodología de flujo SIA ha sido utilizada para diseñar un método de determinación del contenido de fósforo orgánico disuelto (POD) y fósforo reactivo disuelto (PRD), utilizando una etapa “on-line” de digestión del primero (fotooxidación con luz UV). El fundamento de determinación espectrofotométrica es el clásico del azul de molibdeno (246)

Con la misma metodología de flujo, la misma reacción, Mas-Torres y col. (247) determinan ortofosfatos en aguas residuales llevando a cabo la reducción del heteropoliácido de molibdeno de manera electroquímica.

Frank y col. (248) ponen a punto un método SIA para determinar *fósforo reactivo filtrable* en aguas de mar. El fundamento químico de la determinación se basa en la formación de un par iónico entre heteropoliácido de molibdeno y rodamina 6G; midiendo la fluorescencia de la rodamina sobrante.

La técnica MSFIA ha sido utilizada por Morais y col. (249) para proponer un método de determinación de ortofosfatos utilizando un sensor óptico de flujo para la detección quimioluminiscente. El fundamento químico estriba en hacer reaccionar el analito con molibdato amónico en presencia de vanadato y, en una primera etapa, la inmovilización del heteropoliácido formado sobre un polímero retenido en la célula de flujo (de forma espiral). Posteriormente se inyectan un bolo de luminol y tampón de pH alcalino que al llegar al oxidante inmovilizado, oxida al luminol generando luz medible.

Silicato

El silicio es un elemento esencial y un micronutriente limitante para algunos organismos acuáticos. Su incremento conduce al crecimiento desmesurado de una parte del plancton silíceo, en mar abierto y en estuarios, por lo que es un buen trazador del movimiento de masas acuáticas o de procesos de mezclas. El silicato se encuentra presente en las aguas subterráneas en concentraciones inferiores a $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, si bien en aguas muy profundas puede llegar hasta los $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En aguas oligotróficas estancadas, en todas las regiones del mundo de zonas templadas, el silicato se encuentra en concentraciones < 2

mg.L⁻¹ y en las aguas naturales, en zonas frías o muy secas, se pueden encontrar concentraciones hasta de 30 mg.L⁻¹ de silicato.

La determinación de Si disuelto (por ejemplo ortosilicatos y sus dímeros) en aguas medioambientales se realiza frecuentemente mediante técnicas de flujo continuo, normalmente FIA, con detección espectrofotométrica, basada en la formación del complejo amarillo de ácido silicomolibdico. En esta formación del complejo, se obtienen dos isómeros; la absorptividad molar del isómero β es más alta que la del α por lo que se recomienda pH entre 1 y 2 para alcanzar el mayor valor en la relación de concentraciones β/α . La sensibilidad del método puede ser incrementada por la reducción del ácido molibdosilícico hasta azul de molibdeno (silicomolibdeno azul) (250).

De entre los numerosos reductores posibles el que mejor resultados alcanza es el cloruro de estaño (II) frente a ácido ascórbico y a 1-amino-2-naftol-4-ácido sulfónico, debido a una cinética más rápida y a su falta de dependencia de la temperatura en el proceso de reducción.

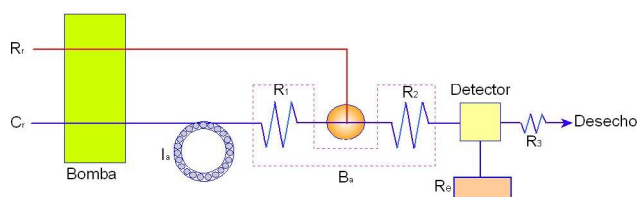


Figura 37. Esquema FIA para la determinación de silicato en aguas. R_r : reactivo reductor, C_r : reactivo complejante, I_a : inyector automático, B_a : Baño de aire, R_1 , R_2 : reactores, R_c : registrador.

En la Figura 37 se muestra un esquema FIA para la determinación de silicato en aguas utilizando molibdato como complejante y 1-amino-2-naftol ácido sulfónico como reductor. Lo interesante del método es la utilización de un laser de diodo (GaAl/As) como sistema de detección y una célula de flujo en forma tubular alargada con lo que se incrementa la sensibilidad 10 veces, respecto al mismo método con detección espectrofotométrica clásica.

Este tipo de estrategias químicas ha sido implementada en analizadores sumergibles capaces de transmitir datos a tiempo real aportando

información sobre el ciclo de nutrientes, silicato entre otros, en los ecosistemas oceánicos (251).

En la Figura 38 se muestra el esquema FIA base del autoanalyzer sumergible antes comentado para la determinación de silicato en aguas marinas. El método colorimétrico se basa en la formación del ácido silicomolíbico y la posterior reducción al compuesto de molibdeno azulado, con el reductor SnCl_2 . La disolución de ácido oxálico se utiliza para enmascarar el molibdato sobrante y que no se reduzca al mismo tiempo. Para evitar la interferencia del índice de refracción (debido a la variación de la salinidad) la medida espectrofotométrica se realiza a doble longitud de onda.

Al igual que ocurría con el fosfato, compuestos de asociación iónica entre el heteropolianión, un catión de colorante, verde malaquita (252) y rodamina B (253), en medio orgánico, son la base de métodos espectrofotométricos para la determinación de silicatos mediante FIA. La preconcentración del analito se puede conseguir introduciendo “on-line” el colorante (verde malaquita) inmovilizado en un gel de un derivado de dextrano. En este caso la detección se puede realizar directamente sobre la minicolumna por lo que actúa como optotensor (254).

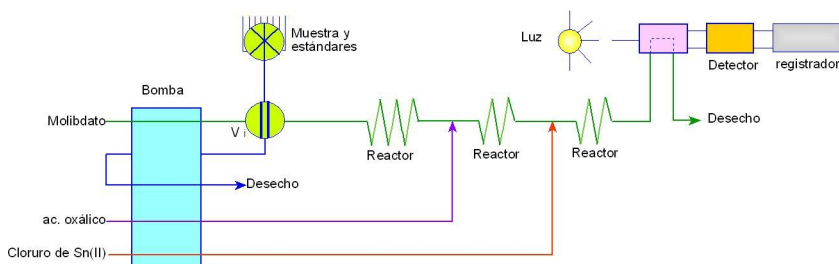


Figura 38. Esquema FIA para la determinación de silicato en agua de mar. Vi: válvula de inyección.

Como tanto el fosfato como el silicato tienen el mismo comportamiento químico y forman con molibdato heteropoliácidos que al ser reducidos generan espectros similares, para determinar uno en presencia del otro es necesario resolver un problema de interferencia.

La interferencia del fosfato en la determinación de silicato se puede resolver mediante la presencia, en los esquemas de flujo, de complejantes como ácido tartárico u oxálico (255) que descomponen selectivamente al fosfomolibdato mediante una reacción de desplazamiento (256). Además, como ya hemos comentado, el exceso de molibdato puede ser eliminado en esta misma reacción pues es transformado por el ácido oxálico a una forma no reducible. La concentración de ácido molibdico y de ácido oxálico, fundamentalmente este último, es clave para resolver el problema de las interferencias. Cuando la concentración de ácido oxálico es del orden del 10% (W/V) viene la interferencia del fosfato pero a bajas concentraciones (0.25%) se evita la formación del ácido silicomolibdico (257).

La diferente velocidad en la reacción de formación de los heteropolimolibdatos constituye la base de un método de flujo continuo aplicado a la determinación secuencial/simultánea de ambos oxoaniones (258), ya que a valores de acidez bajos se desarrolla más rápidamente el ácido silicomolibdico que el fosfomolibdico. Aparece otro método en bibliografía basado en las diferentes velocidades de reducción de los dos heteropoliácidos separados y retenidos en una microcolumna colocada "on-line" (259).

Compuestos de carbono

Carbono inorgánico disuelto

El contenido de carbono inorgánico disuelto (DIC, en anglosajón) en aguas superficiales se utiliza como un indicador de calidad de las aguas y como un grado de disolución de los carbonatos. Los carbonatos juegan un papel regulatorio muy importante en las aguas superficiales por lo que se requiere su cuantificación para prevenir sus efectos en muestras acuosas.

La medida de DIC se puede realizar antes o después del tratamiento de la muestra acuosa, oxidación química, conduciendo en el segundo de los casos a la determinación del carbono total (TC) en aguas (260); obteniéndose el valor del carbono orgánico total (TOC) conocido el valor de DIC. El parámetro TOC es la manera más rápida de estimar el grado de contaminación de las

aguas por materia orgánica, si se compara con DBO (demanda biológica de oxígeno) o DQO (demanda química de oxígeno) y su método de determinación es adecuado para propósitos de monitorización.

Son numerosos los métodos FIA propuestos para la determinación de CARBONATO en aguas de todo tipo que se basan en su separación en forma gaseosa (CO_2) a través de una membrana de difusión. En algunos esquemas la muestra es inyectada sobre un portador (261) o bien mediante la técnica de flujo inverso fluye de modo continuo y se mezcla con una corriente ácida antes de alcanzar la membrana difusora (260) de geometría plana o cilíndrica (262).

El CO_2 recogido, después del proceso de difusión, puede ser determinado por conductimetría (263, 364) a partir del decrecimiento de conductividad de la disolución aceptora (NaOH) (265) o bien a través del incremento de conductividad de la disolución aceptora en la que se incrementa la relación de formas iónica/neutra, al recoger el CO_2 gaseoso, de bases débiles como Tris (hidroximetilamino-metano) (266). Otra posibilidad de detección consiste en el seguimiento espectrofotométrico del cambio de color de una de las formas de un indicador que se utiliza como disolución aceptora del CO_2 transferido (262). Métodos de detección menos frecuentes son la técnica de infrarrojos (FT) donde se utiliza como corriente aceptora nitrógeno en una célula de gases de amplio recorrido (267) o bien la utilización de un sensor de onda acústica (260).

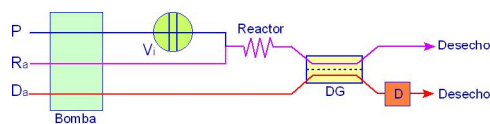


Figura 39. Esquema general FIA para la determinación directa de carbono inorgánico o indirecta de carbono total y carbono orgánico total, con separación de CO_2 por difusión gaseosa. P: portador, R_a : reactor ácido, D_a : disolución aceptada, DG: módulo de difusión gaseosa, D: detector, V_i : válvula de inyección.

En la Figura 39 se muestra un esquema de flujo, muy general, para la determinación directa de carbono inorgánico disuelto, inyectando la muestra, con separación del CO_2 en una membrana para difusión de gases, independientemente del sistema de detección utilizado; el mismo esquema de flujo es útil para la determinación indirecta de carbono total o carbono orgánico

total si la muestra acuosa antes de ser introducida en el sistema de flujo es tratada previamente en un proceso de digestión con oxidación química.

El único método encontrado en bibliografía que no separa las especies de carbono inorgánico en forma de CO_2 a través de una membrana difusora de gases, es un método FIA basado en la capacidad catalítica del ión bicarbonato, HCO_3^- , sobre la reacción de complejación entre Cr(III) y AEDT. La detección es espectrofotométrica y el margen de determinación entre 10 y 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de HCO_3^- (268).

También ha sido utilizada la tecnología SIA, aunque de momento escasamente, para la determinación de *carbono inorgánico disuelto (DIC)* y *carbono orgánico disuelto (DOC)* en aguas naturales. La medida del DIC se realiza tras transformarlo por acidificación ($\text{pH}<2$) en CO_2 , separación a través de una membrana difusora de gases y recogida en un aceptor en medio básico (rojo de cresol), midiendo la absorbancia a 570 nm (decrecimiento). La suma DIC+DOC se determina por el mismo procedimiento tras irradiar el bolo de muestra con luz UV junto con digestión química ácida en presencia de peroxodisulfato (269).

2.1.2. PARÁMETROS GENERALES DE CALIDAD Y OTROS COMPUESTOS ANIÓNICOS

Existen una serie de parámetros que se realizan de manera rutinaria para tener una idea sobre el estado de las aguas, en cuanto a su posible contaminación se refiere. De entre estos parámetros se pueden citar: pH, alcalinidad, concentración iónica total, conductividad, oxígeno disuelto, demanda biológica de oxígeno y demanda química de oxígeno, entre otros.

En esta parte se realiza una revisión sobre los métodos de flujo continuo aplicados a la determinación de dichos parámetros.

Oxígeno disuelto, DQO y DBO

El oxígeno disuelto y el producido por fotosíntesis, que es consumido en la descomposición de la materia orgánica, es un parámetro importante en la monitorización medioambiental así como un indicador de calidad, pues un descenso brusco en su concentración indica normalmente la presencia de residuos o vertidos orgánicos.

El método clásico de Winkler sigue siendo la base de algunos métodos de flujo continuo, en los que la etapa de valoración final de yodo se sustituye por su detección amperométrica mediante la técnica de adición estándar que genera un cambio gradual en la sensibilidad del detector electroquímico (270).

El yodo generado en la reacción de Winkler puede ser usado, en un esquema FIA, para oxidar al fluoróforo 2-tionaftol que puede ser extraído en continuo y medida su fluorescencia. El efecto quenchiq negativo de fluorescencia que provoca el oxígeno disuelto es un método indirecto para la medida de este parámetro (271).

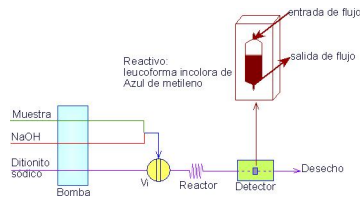


Figura 40. Sistema FIA para la determinación de oxígeno disuelto en agua

Sanz-Martínez y Col (272) describen un ingenioso método espectrofotométrico en la modalidad FIA basado en la reacción de oxidación por O_2 de la leuco forma incolora del azul de metileno que se encuentra enlazada en una resina de intercambio catiónico introducida en la célula de flujo que actúa como optrodo de flujo. En la Figura 40 se muestra el esquema de flujo empleado, en el que la muestra acuosa conteniendo O_2 se mezcla con una disolución de NaOH antes de la válvula de inyección y antes de inyectar $970 \mu\text{L}$ de la mezcla. Actúa de disolución portadora una de ditionito sódico en NaOH que es la responsable de mantener al Azul de Metileno en su leuco-forma incolora. Cuando el bolo de muestra llega a la célula de flujo, el oxígeno oxida

la leuco-forma hasta su forma azulada con un incremento en la absorbancia de 670 nm. El margen lineal de calibración es 0.9-5.5 mg.L⁻¹ de O₂.

Los sensores de oxígeno son de gran importancia en el análisis medioambiental pues por su facilidad de miniaturización y adaptación pueden ser utilizados para la monitorización "in situ" y remota de parámetros de interés.

En este campo se ha dado a conocer el desarrollo de un optrodo montado al final de una fibra óptica y está basado en el estado "quenched" del O₂ disuelto sobre la fosforescencia a temperatura ambiente del quelato Al-ferrón (ácido sulfónico-8-hidroxi-7-yodo-5-quinoleína) inmovilizado sobre un soporte de gel. El sensor óptico puede ser adaptado a un esquema FIA sencillo para la monitorización "in situ" del O₂ disuelto en aguas superficiales y subterráneas (273).

Muangkaew y col. (274) proponen la metodología FIA en su modalidad inversa para diseñar un esquema de flujo y poder determinar oxígeno disuelto en aguas dulces y saladas. El fundamento químico es el método clásico de Winkler y se determina espectrofotométricamente el I₃⁻ generado.

En 1994 se describe el primer **sensor microbiano** de fibra óptica para la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (BOD) que puede ser acoplado a sistemas de flujo continuo para la medida clásica o medidas "in situ". La parte sensible de la fibra contiene una lámina de material fluorescente, "trichosporon cutaneum" inmovilizado en alcohol polivinílico y una membrana de policarbonato permeable al sustrato; todo este conjunto va insertado en un material transparente óptimamente. La membrana fluorescente sensible a O₂ se construye en un polímero transparente que contiene perclorato de Tris (4,7-difenil,1-10-fenantrolina) rutenio (II). La fluorescencia roja del complejo de Ru es "quenched" reversiblemente por O₂ que es el proceso que aporta información analítica. Los valores de DBO obtenidos (tiempo de respuesta 5-10 minutos) no se pueden comparar con los valores de DBO_s, como es lógico, pero se pueden correlacionar obteniendo así una mezcla más rápida de dicho parámetro ambiental. El margen lineal de determinación es 0.5-110

mg.L⁻¹ de O₂ (275). Otro tipo de microorganismo empleado para la construcción de sensores microbianos para la medida de DBO ha sido el “toruplosij candida” (276).

El efecto de un agente contaminante, normalmente orgánico, sobre los niveles de O₂ en los medios acuáticos puede también ser monitorizado por la medida del parámetro Demanda Química de Oxígeno (DQO); este parámetro que representa el oxígeno teórico requerido para oxidar completamente la materia orgánica contenida en una muestra de agua, puede ser evaluado mediante métodos de flujo FIA en los que se mide el consumo (descenso) de un agente químico fuertemente oxidante (en medio sulfúrico) después de reaccionar con un determinado volumen de muestra. Se han usado como agentes oxidantes tanto KMnO₄ como K₂Cr₂O₇ en medio sulfúrico (277). Recientemente se ha recomendado la sustitución de estos oxidantes por Ce (IV) en orden a ampliar el margen de determinación: 2.5-160 mg.L⁻¹ de O₂.

En la Figura 41 se muestra un esquema FIA para la determinación de la demanda Química de Oxígeno en aguas de todo tipo, utilizando una unidad de microondas colocada “on-line” en el sistema de flujo para la etapa de digestión, que hace que la velocidad de oxidación se incremente considerablemente. El oxidante utilizado es el Cr₂O₇²⁻ que es seguido espectrofotométricamente a 445 nm tras separar las especies gaseosas presentes o generadas a través de una membrana de difusión gaseosa (277).

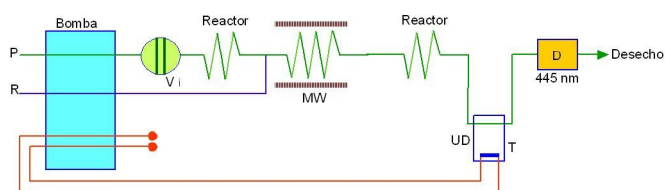


Figura 41. Sistema para la determinación de DQO. P: agua bidestilada, R: dicromato potásico-ácido sulfúrico, V_i: válvula de inyección, MW: microondas, UD: unidad de desgasificación, T: membrana de PTFE, D: espectrofotómetro.

Otros esquemas FIA diseñados para la determinación de la DQO y que resuelvan los problemas de matriz que presentan otros, combinan una

etapa de digestión usando irradiación por microondas con la retención de $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ sobrante de la reacción con la materia orgánica sobre una columna con resina aniónica que, tras posterior elución, se determina por Absorción Atómica (el Cr(VI)); lógicamente en este sistema de flujo el oxidante es inyectado en el sistema (278), no fluye constantemente.

Conductividad, concentración iónica total, pH y alcalinidad

La multideterminación de alguno de los parámetros indicados arriba, que están íntimamente relacionados con la calidad y la polución de las aguas, es posible realizarla mediante sistemas FIA automatizados. El diseño de configuraciones incluye diferentes estrategias utilizando electrodos para potenciometría, conductimetría o detectores fotométricos.

La monitorización continua del pH y la conductividad de muestras de agua se realiza normalmente en sistemas de FIA inverso (la muestra fluye continuamente) utilizando los dos primeros detectores mencionados (279). La concentración iónica total se puede determinar en flujo continuo transformando las sales disueltas en sus correspondientes ácidos, al pasar a través de una columna con resina catiónica en su forma protonada colocada "on-line" en el sistema de flujo. Después de un proceso de elución, los ácidos liberados son valorados con NaOH y fenolftaleína (280).

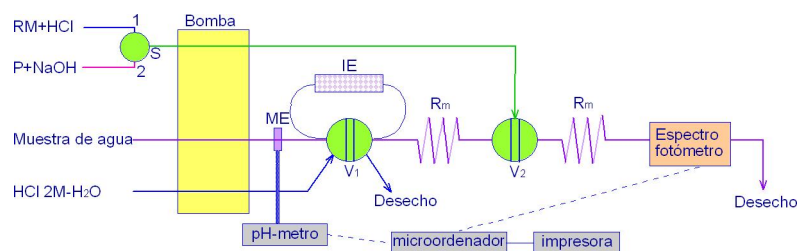


Figura 42. Sistema FIA para la determinación simultánea de pH, alcalinidad y concentración total de iones. S: válvula de selección, V_1 y V_2 : válvulas de inyección. R_m : reactor de mezcla, ME: microelectrodo de vidrio, IE: minicolumna con resina catiónica, RM: rojo de metilo, P: fenolftaleína.

En la Figura 42 se muestra un esquema FIA automatizado para la determinación simultánea del pH, alcalinidad y concentración iónica total en

aguas potables. Es una configuración inversa en la que la muestra fluye constantemente a través del sistema de flujo. Utiliza dos detectores, un microelectrodo de vidrio, localizado en la corriente de muestra y antes de que ésta llegue a la válvula S', para la monitorización continua del pH y un detector espectrofotométrico para la monitorización de las reacciones ácido-base. Se colocan dos válvulas de inyección en serie en la corriente de muestra; la primera de ellas, S', lleva en su bucle insertada una minicolumna IE rellena con una resina catiónica en su forma protonada y sirve para determinar la concentración iónica total. Esta válvula está sincronizada con la válvula de selección S. S selecciona la disolución 1 (rojo de metilo en medio ácido) que llena el bucle de la segunda válvula de inyección, que al ser girada introduce el indicador en el sistema y determina la alcalinidad de la muestra por seguimiento espectrofotométrico de la forma ácida del indicador (cuanto mayor es la alcalinidad, menor es la anchura de pico, la señal analítica es $\Delta t_B - \Delta t_M$ donde Δt es la anchura de pico, B el blanco y M la muestra). Al cambiar de posición S', incorpora la columna IE al sistema de flujo y S selecciona la disolución 2 (fenolftaleína en medio básico) y se realiza la determinación de la concentración iónica total mediante medida espectrofotométrica (280).

Se han diseñado sensores potenciométricos para la medida del pH de agua de cualquier naturaleza, de tipo tubular con membrana de cloruro de polivinilo (281) o bien electrodos combinados miniaturizados encerrados en células de flujo, diseñados para operar en flujo continuo y que realizan medidas de pH con precisiones del orden de $\pm 0,003$ unidades (282).

Lógicamente la tecnología SIA es de fácil acoplamiento a la determinación multiparamétrica de alguno de los parámetros revisados. A título de ejemplo se muestra en la Figura 43 el esquema para la determinación de pH y Cl⁻ (podría ser conductividad) mediante análisis por inyección secuencial.

Aparecen en bibliografía otras alternativas a los sensores potenciométricos clásicos utilizados en FIA, como son electrodos de punta de platino con óxido de tungsteno depositado (283) o bien una membrana conteniendo N,N, dioctadecilmetilamina situada en un electrodo fotosensible (284) con respuestas nernsianas en márgenes de pH entre 2-11 y 4-11

respectivamente. Ambos electrodos han sido insertados en sistemas de flujo para la monitorización de pH en aguas residuales y naturales.

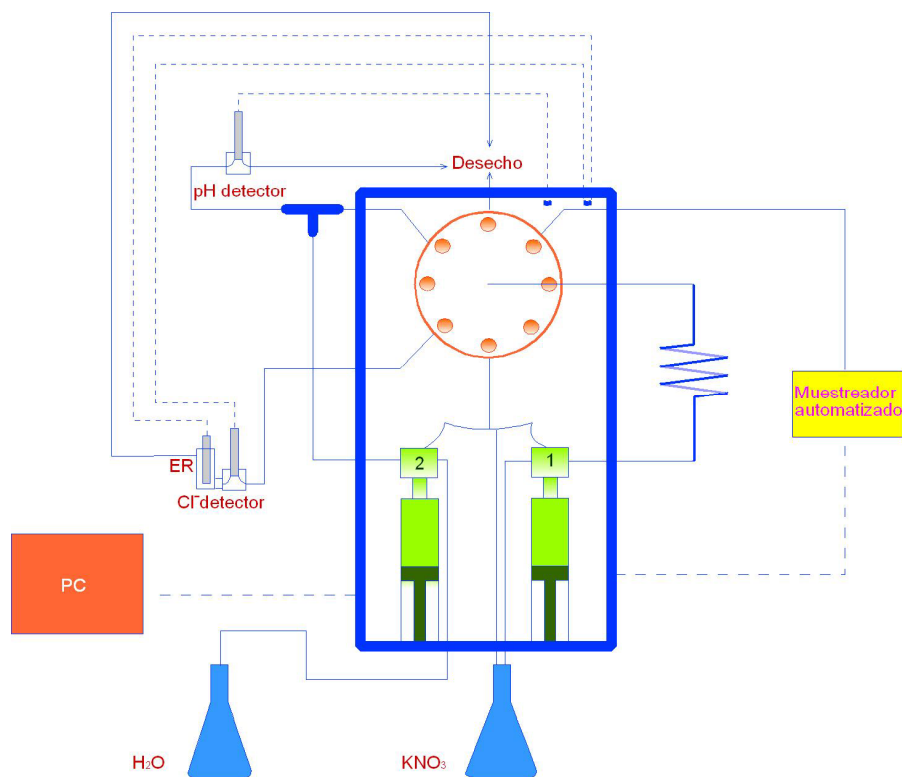


Figura 43. Sistema SIA para la determinación de pH y Cl⁻. (- - -): conexión eléctrica, (----): tubo de teflón, (■): Bloque, (●): entrada analógica, (⊥): conexión, ER: electrodo de referencia.

Ante las numerosas variables que afectan a las medidas potenciométricas, varios investigadores han aplicado la detección espectrofotométrica para la medida del pH (285). En este sentido se han dado a conocer la determinación microquímica de la acidez libre y total en gotas de agua de lluvia empleando la técnica de flujo de gradiente de mezcla (286).

La determinación espectrofotométrica en flujo continuo ha permitido poner a punto sistemas para el análisis "in situ" del pH del agua de mar utilizando como indicador rojo fenol (287) así como la implementación de un optosensor de fibra óptica que mide por reflectancia difusa las modificaciones de un indicador ácido-base covalentemente unido a un rodete de celulosa y que

ha sido aplicado a la medida del pH de aguas de río desde una estación en la orilla (288).

La alcalinidad de muestras acuosas de diferente naturaleza se ha medido, como ya indicamos, mediante valoraciones ácido-base en esquemas FIA, utilizando la anchura de pico como señal analítica. Esta posibilidad ha sido aplicada mediante la metodología SIA y la técnica “sándwich” para determinar dicho parámetro en efluentes industriales (289).

La alcalinidad total (hasta $\text{pH}=7.6$) en muestras acuosas carbonatadas se ha determinado mediante un esquema de flujo con multiinyección acoplado a un sistema de dilución secuencial (SIA) “in-line” (290).

La alcalinidad parcial (AP) (hasta $\text{pH}=5.75$) y la alcalinidad intermedia (AI) (hasta $\text{pH}=4.3$) puede ser determinada mediante un analizador automático multiconmutado en el que se realizan valoraciones potenciométricas hasta los valores de pH indicados (291). El sistema es útil para distinguir la capacidad tamponante de bicarbonatos y ácidos volátiles a partir de la relación AI/AP que es una indicación muy sensible de la estabilidad de los procesos de digestión anaeróbicos.

Especies aniónicas

Especies conteniendo azufre.

El SULFATO es uno de los componentes mayoritarios de las aguas naturales y su determinación tiene interés en relación con los problemas de lluvia ácida así como para estudios geoquímicas relacionados con su transporte desde los dominios terrestres hasta lagos y mares. Por otra parte, el excesivo uso industrial del ácido sulfúrico impulsa el control medioambiental del anión sulfato.

Aparecen en bibliografía tres métodos espectrofotométricos muy utilizados en diferentes técnicas de flujo para monitorizar sulfato en aguas: el

turbidimétrico del $\text{BaSO}_4\downarrow$, el método del dimetilsulfonazo (III) y el que emplea clorinilato de bario.

El primero de los métodos ha sido aplicado al análisis en continuo en aguas residuales salinas así como efluentes industriales tanto con esquemas FIA como SIA. Los márgenes de determinación son del orden de $5\text{-}900\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de SO_4^{2-} y el BaSO_4 coloidal formado se estabiliza en alcohol polivinílico, en gelatina o en goma arábiga (292-296).

En la Figura 44 se muestra el esquema de flujo para la determinación, mediante este método químico, utilizando SIA, de sulfato en aguas, en el que AEDT, disolución de BaCl_2 y la muestra son inyectadas secuencialmente (a diferentes tiempos) y mezclados convenientemente mediante inversión de flujo. La detección es turbidimétrica a 540 nm .

Concentraciones inferiores de SO_4^{2-} a las mencionadas anteriormente y con el mismo método y técnicas, se determinan sin más que introducir "on-line" un sistema de preconcentración como puede ser una minicolumna rellena de una resina aniónica (297). Se alcanzan límites de determinación de $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de SO_4^{2-} , si bien es necesario añadir al portador el surfactante no-iónico Triton X-100 para minimizar las fluctuaciones de la línea base.

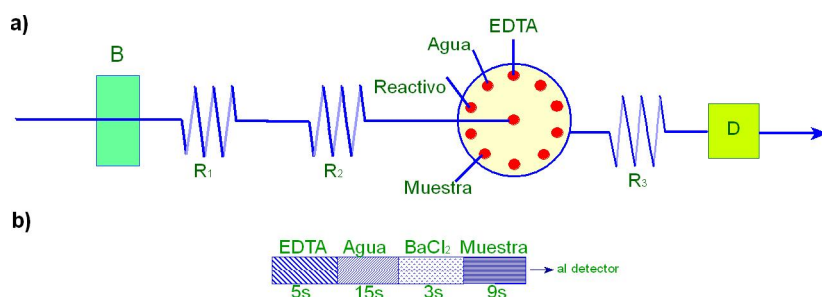


Figura 44. Sistema SIA para la determinación turbidimétrica de sulfato, a) Esquema SIA, b) Secuencia de reactivos. R_x : reactor de mezcla, D: detector, B: bomba.

Las interferencias más comunes de este método químico como son las partículas en suspensión, y las sustancias orgánicas y coloreadas presentes en las muestras acuosas, pueden ser retenidas o eliminadas sin más que colocar en

el sistema de flujo una pre-válvula automatizada con carbono activado en su bucle como sistema filtrante (298).

Uno de los mayores inconvenientes de hacer fluir una suspensión a lo largo de un sistema de flujo continuo estriba en que las partículas sólidas tienden a depositarse o formar películas en los conductos o en la propia célula de flujo; este hecho ha sido minimizado haciendo fluir entre cada muestreo una disolución de AEDT (297). Algunos investigadores se han centrado en el diseño de células de flujo novedosas para impedir que la turbidez se destruya en su interior (299). Una solución se muestra en la Figura 45, consiste en eliminar la célula clásica de cuarzo del sistema de flujo (eliminando las ventanas ópticas) y sustituirla por una sola gota de disolución coloidal (con BaSO_4) que en realidad actúa de ventana óptica y de célula a la vez, utilizando como fuente de emisión de luz una lámpara de descarga de luz azul ($\lambda=450\text{ nm}$) y fibra óptica para recoger la luz transmitida y conducirla hasta el fotodetector (300).

Analizadores de inyección secuencial, diseñados para la determinación de sulfato en efluentes industriales con contenidos altos a niveles de g.L^{-1} , incluyen sistemas "on-line" de dilución antes de los pasos normales de SIA (301).

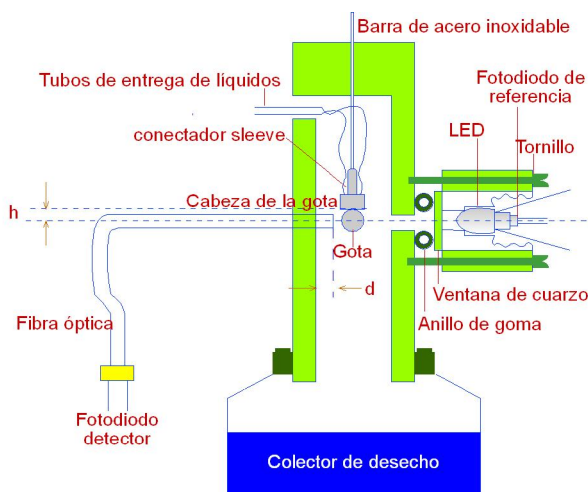


Figura 45. Esquema de un sistema FIA basado en el empleo de detección en célula-gota. h : distancia vertical entre la cabeza de la gota y la línea central de la fibra óptica, d : ancho de inserción de la fibra en la pared de la cámara.

Una alternativa al BaSO_4 coloidal en el método turbidimétrico es el PbSO_4 también coloidal en medio etanol-agua por su mayor estabilidad, límite de detección y facilidad de eliminación de las paredes de los tubos de PTFE (302).

El cambio de color provocado en la reacción de desplazamiento entre el SO_4^{2-} y el quelato de bario con dimetilsulfonazo (III) (compiten por Ba^{2+}) es la base de otro método de flujo continuo descrito para la monitorización de SO_4^{2-} en aguas de lluvia, nieve y aguas superficiales, con un margen de linealidad entre 1 y 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (303). Si la reacción transcurre en medio dimetilsulfósido-agua se incrementa el margen de determinación y se mejora el límite de detección (304).

El mayor inconveniente de este método químico es su falta de selectividad pues son numerosos los cationes divalentes que compiten con Ba^{2+} en su reacción con el reactivo cromogénico. Este problema ha sido resuelto mediante la implementación “on-line” de columnas con resinas de intercambio catiónico así como la adición de reactivos quelatantes.

Otra reacción competitiva base de métodos de flujo continuo para la determinación de sulfato en aguas es la que ocurre entre dicho anión y el complejo Ba^{2+} -azul de metileno (AM) (305). La absorbancia medida puede ser la del reactivo no complejoado o la del complejo Ba-AM (306). Esta última opción es la recomendada, por su sensibilidad, para la determinación de niveles traza de SO_4^{2-} , insertando “on-line” en el sistema FIA columnas con resinas de intercambio aniónico para efectuar la preconcentración de las muestras (307).

En la Figura 46 se muestran los esquemas FIA para la determinación de SO_4^{2-} , en aguas, con la reacción antes comentada, sin y con preconcentración. En cualquiera de los casos la metodología es muy sencilla.

Otra reacción competitiva, el efecto enmascarante del ácido ortanílico sobre la reacción Ba^{2+} - SO_4^{2-} es la base de un método FIA para determinar SO_4^{2-} en aguas (308).

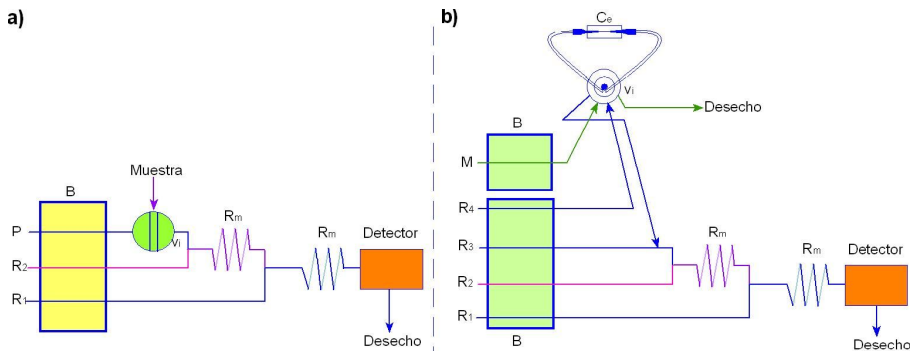


Figura 46. a) Sistema estándar para la determinación de sulfato. b) Sistema de preconcentración y determinación de concentraciones bajas de sulfato. P: agua, R_m : reactor de mezcla, B: bomba peristáltica, M: muestra, V_i : válvula de inyección, C_o : columna de preconcentración, R_1 : MTB + $BaCl_2$, R_2 : NaOH 0.05 M, R_3 y R_4 : NaCl 0.3 M.

El tercer método para determinar SO_4^{2-} más estudiado se basa en otra reacción de desplazamiento entre el sulfato y cloranilato de bario. Al retirar el sulfato una cantidad de bario del compuesto se genera una cantidad equivalente de ión cloranílico intensamente coloreado. La reacción transcurre en fase heterogénea, pues el compuesto de bario en forma sólida se encuentra almacenado en un reactor insertado en el sistema de flujo (309, 310). La eficacia de la reacción heterogénea puede ser incrementada mezclando los reactivos en una cámara, donde aumenta la dispersión. También se alcanza un considerable incremento en la sensibilidad en presencia de Fe(III) (añadido), pues libera iones cloranilato que pueden luego ser monitorizados usando métodos electroquímicos que compiten así con los espectrofotométricos (311).

Se describe en bibliografía una reacción de desplazamiento similar que involucra la utilización, en un esquema de flujo continuo, de una minicolumna rellena con $BaCrO_4$ en polvo y que ha sido aplicado a la determinación de sulfato en aguas superficiales y aguas de mar en un margen de $0.5-5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ que es más sensible y amplio que el conseguido por el método del cloranilato de bario (312).

La detección directa en la zona del ultravioleta es la idea base de la propuesta de esquemas FIA para la determinación de sulfato en aguas aplicando diferentes modalidades (Figura 47). La lectura espectrofotométrica se

realiza a 355 nm donde se monitoriza el catión FeSO_4^+ (266). La misma idea puede realizarse mediante la técnica de análisis secuencial, SIA (314).

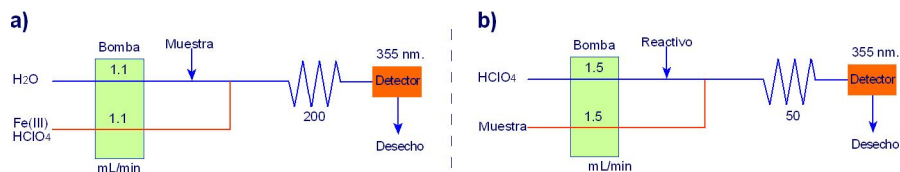


Figura 47. Esquema básico para la determinación de sulfato en aguas. a) Inyección de la muestra. b) Inyección del reactivo.

Como interfiere la materia orgánica, es necesario tratar previamente la muestra, lo cual puede realizarse en continuo insertando en el sistema de flujo una minicolumna rellena de carbón vegetal (313). La reacción con Fe(III) que estamos contemplando, ha sido utilizada como modelo químico para estudiar la estabilidad con el tiempo de todos los componentes técnicos de un esquema SIA (315).

La capacidad que tiene el SO_4^{2-} para catalizar la reacción de formación del complejo entre Zr y azul de metil timol (MBT) ha sido utilizada para proponer un método de flujo continuo (FIA) con detección espectrofotométrica (316) en el margen de los $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Los acuocomplejos de Zr son también parte importante en la formación de un complejo fluorogénico y ternario con sulfato y diferentes nicotinhidrazonas (317). Dicha reacción ha sido utilizada para proponer un método FIA aplicable a la determinación de sulfato en aguas de todo tipo. (Figura 48).

Dentro de los métodos ópticos en flujo continuo para determinar SO_4^{2-} , mencionemos por último uno muy sensible ($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$) basado en la preconcentración "in-line" del analito (columna de alúmina activada) seguido por detección con ICP (318).

Con relación a los métodos electroquímicos debemos reseñar el empleo de electrodos selectivos de iones (ISE) en forma tubular (para ser utilizados en medidas de flujo continuo). Los electrodos son sensibles al Pb

(319, 320) o al Ba^{2+} (321) y el método se fundamenta en una valoración potenciométrica del SO_4^{2-} en aguas en presencia de Pb^{2+} o Ba^{2+} por lo que se monitorizan dichos iones. Los márgenes de determinación alcanzados se encuentran entre 50 y 200 $mg.L^{-1}$. Se ha propuesto un medio metanol-formaldehido, para la valoración potenciométrica con el fin de disminuir la solubilidad de los coloides formados ($\downarrow BaSO_4$ y $\downarrow PbSO_4$) y retardar la destrucción de la membrana del electrodo (322).

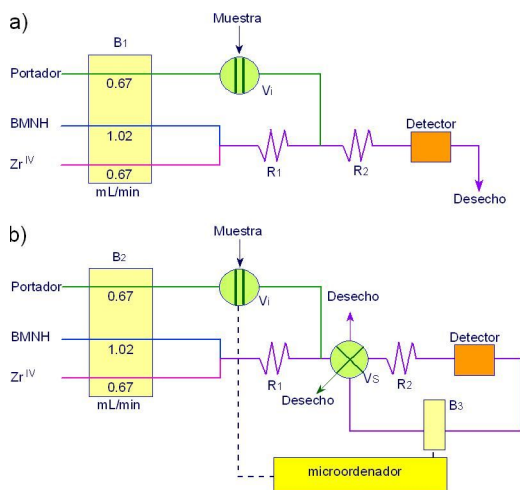


Figura 48. Sistema FIA para la determinación espectrofotométrica de sulfato. a) Configuración normal, b) Configuración cerrada. B_x : bomba peristáltica, R_x : reactor, V_i : válvula de inyección, V_s : válvula de selección, BMNH: biacetil-monooxima-nicotinil-hidrazona.

Sulfito

El sulfito, en diferentes formas, es ampliamente usado como preservante en la industria debido a su capacidad antioxidante y antibacteriana y como inhibidor ante procesos de decoloración en la producción y blanqueo de pulpa de papel y en el tratamiento de menas de sulfuro.

Libre o combinado el sulfito ha sido determinado en aguas de todo tipo (incluso en salmueras) mediante técnicas FIA con detección espectrofotométrica en márgenes de concentración entre 0.5 y 20 $mg.L^{-1}$, usando

reactivos orgánicos cromogénicos como los disulfuros 4-4'-ditiopiridina y 5-5'-ditio-bis-2, ácido nitrobenzoico (323).

La combinación entre las técnicas fotométricas y la utilización de módulos con membranas difusoras de gases conducen a métodos de flujo continuo con gran precisión y selectividad (324). Estos métodos involucran la transformación de sulfito en SO_x gaseoso que se separa a través de la membrana y puede ser recogido sobre una disolución aceptora para ser luego determinado previa reacción química. También es posible determinarlo en fase gaseosa mediante espectrofotometría UV.

En este contexto merece la pena destacar un método FIA que utiliza un sensor potenciométrico de flujo con óxido de titanio hidratado como material electroactivo (intercambio iónico) y una membrana de resina epoxídica para la medida del sulfito transformado en la disolución aceptora ácida, una vez separado en forma gaseosa como SO_3 (325).

Se han descrito métodos FIA basados en la determinación "on-line" yodométrica de sulfito, utilizando una disolución portadora ácida que contiene IO_3^- y I^- en exceso. La medida espectrofotométrica del decrecimiento de I_2 , tras la reacción química, a 352 nm conduce a un método de determinación para sulfito a niveles de 2-3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (326). Sensibilidades similares se consiguen si el decrecimiento de I_2 se sigue amperométricamente (electrodo de carbono vítreo) (327).

En la Figura 49 se muestra el esquema de flujo continuo empleado para el seguimiento de la reacción yodométrica con sulfito y la detección espectrofotométrica del decrecimiento de yodo. La singularidad de dicho esquema estriba en el empleo de la técnica FIA en su modalidad tipo "sándwich", en la que mediante la utilización de una válvula de tres vías y otra que de manera computerizada selecciona la corriente deseada, consigue que en el sistema de flujo se intercalen, en la corriente del portador, dos bolos diferentes, uno de la muestra que contiene el SO_3^{2-} a determinar y otro que contiene un estándar de SO_3^{2-} en medio ácido. La detección espectrofotométrica de la disminución de I_2 se sigue con un detector de diodos

que permite seguir la concentración de I_2 a 352 nm y corregir la absorbancia por modificación del índice de refracción a 500 nm.

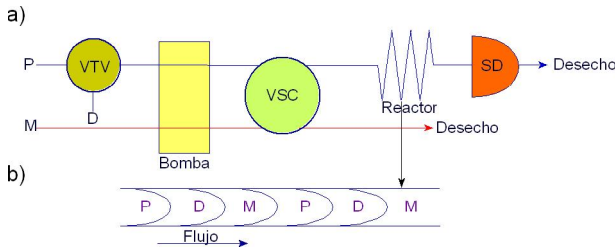


Figura 49 a) Esquema de flujo para la determinación yodométrica de sulfito, b) Situación de los bolos a lo largo del flujo. P: solución portadora, M: muestra inyectada, D: disolución estándar de sulfito en medio ácido, VTV: válvula de tres vías, VSC: válvula de selección de corriente, SD: espectrofotómetro de diodos.

La oxidación amperométrica de SO_3^{2-} utilizando un electrodo similar al anterior situado “on-line” en un esquema FIA conduce a un método de flujo sencillo para la determinación del analito (328).

La determinación de sulfito en flujo continuo a concentraciones tan bajas como 80 ng.L^{-1} es posible mediante una reacción enzimática en la que se forma H_2O_2 que es monitorizada electroquímicamente. El enzima utilizado, sulfito oxidasa, es colocado “on-line” en una minicolumna donde se encuentra covalentemente inmovilizado (329).

Paulls y Col proponen un esquema FIA para la determinación quimioluminiscente de SO_3^{2-} en aguas, basada en la reacción de su oxidación en medio ácido por $Ce(IV)$ sensibilizada por la presencia de ácido 3-ciclohexilamino propano-sulfónico o ciclooctilamina consiguiéndose con este último reactivos límites de detección de $5.4 \cdot 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (330).

Dentro de la metodología luminiscente utilizada para el análisis de trazas de sulfito en aguas ambientales destaca el método FIA basado en su reacción con N-acridinilmaleimida para formar un producto fluorescente (331).

Sulfuro

El ión sulfuro es un constituyente natural de las aguas y proviene de la oxidación de la materia orgánica y de la reducción bacteriana de sulfato. Es muy tóxico para los organismos acuáticos por lo que su concentración debe ser monitorizada tanto en aguas superficiales como en las tratadas en plantas para aguas residuales.

El mayor inconveniente de este analito es su volatilidad por lo que las técnicas de flujo son adecuadas para evitar dicha fuente de error.

El método espectrofotométrico más utilizado para la determinación de sulfuro en aguas dulces y salinas es el del azul de molibdeno formado por acoplamiento oxidativo de dos moléculas de N,N,dimetil,p-fenilendiamina con H_2S en presencia de Fe(II) (332). Aunque este método de azul de molibdeno conduce a un incremento en la sensibilidad de 30 veces sobre la que tiene el método espectrofotométrico del nitroprusiato, éste último es muy adecuado para ser implementado como método FIA pues no requiere del uso de reactivos agresivos.

Basados en la misma reacción química anterior (reacción de Fischer) Ferrer y col. (333) ponen a punto un método con metodología MSFIA para la determinación de S^{2-} en aguas residuales utilizando también como novedad un espectrofotómetro minituarizado con fibra óptica.

Otros métodos en flujo continuo con detección espectrofotométrica son la reacción entre S^{2-} y verde brillante a pH neutro (334); la reducción por el analito de Fe(III) y complejación del Fe(II) generado con 1,10 fenantrolina (335) o bien la inserción "on-line" de reactores de fase sólida ($PbCrO_4$) para realizar reacciones de desplazamiento (336).

Para eliminar o separar el ión S^{2-} de la matriz y poder determinarlo al nivel de trazas normalmente se diseñan esquemas de flujo que contienen "on-line" sistemas para extraer el analito en sorbentes (332) o bien la permeación de H_2S a través de membranas difusoras de gases, después de acidificar la muestra y recogerlo en una solución aceptora (337, 338).

En la Figura 50 se muestra el esquema FIA para la reacción de formación del azul de metileno ya comentada, que engloba la medida

espectrofotométrica en fase sólida reteniendo el producto formado en una minicolumna que contiene C_{18} enlazado a sílice.

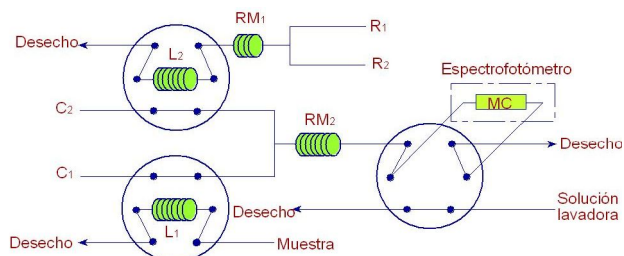


Figura 50. Esquema del sistema de flujo empleado para la determinación espectrofotométrica, en fase sólida, de sulfito en aguas. C_1 : muestra de agua ($0.75 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), C_2 : H_2SO_4 , $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.75 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), R_1 : solución de Fe (III), 20 mM , preparada en H_2SO_4 , $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.75 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), R_2 : Solución de DMPD, $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, preparada en H_2SO_4 , $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($0.75 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), RM_x : reactor de mezcla, L_x : bucle, MC: célula de flujo con fase sólida de C_{18} compactado con sílice.

También las técnicas electroquímicas como la potenciometría, utilizando electrodos tubulares basados en membranas cristalinas homogéneas conteniendo sales de plata, pueden conducir a métodos de flujo continuo para la determinación de S^{2-} en aguas de todo tipo (339, 340). La oxidación electrocatalítica del analito, S^{2-} , empleando un electrodo de carbón vítreo, modificado con indofenol, ha sido demostrada como una técnica adecuada para el desarrollo de sensores electroquímicos para la monitorización del analito estudiado a nivel de concentración milimolar en aguas con matrices complejas como las aguas urbanas (341).

Compuestos halogenados y pseudohaluros

Fluoruro

El fluoruro contenido en las aguas es beneficioso para el ser humano si se encuentra a niveles bajos ($< 1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) pero puede ser perjudicial a concentraciones moderadas o altas.

La mayoría de los métodos FIA que determinan F^- libre o total en aguas se basan en la utilización del electrodo selectivo de FLUORURO (con membrana de LaF) que presenta especificidad frente a los otros haluros.

Además de la medida potenciométrica directa, se ha utilizado la valoración por gradiente de flujo (342). Las investigaciones se han centrado también en proponer tampones adecuados (TISAB) con citrato para eliminar interferencias debidas a la fuerza iónica y desplazar al ión fluoruro de sus complejantes. Se ha dedicado especial atención a la especiación de F^- (F^- libre o F^- total) y al estudio de soluciones de diferentes ligandos para liberar el analito de sus complejos con aluminio (343).

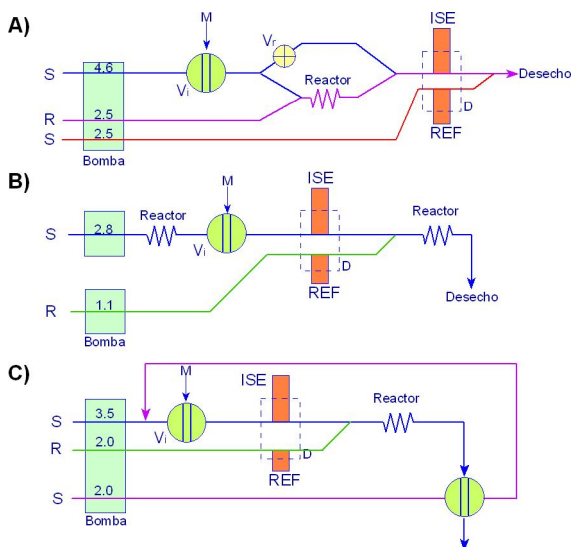


Figura 51. Esquema FIA usado para especiación potenciométrica de fluoruro. A): Confluencia de zonas, B): flujo inverso, C) remuestreo. D: detector, V_i : válvula de inyección, V_r : válvula de restricción de flujo, C: KCl, 0.1 M y tampón Ach/Ac, pH=5; R: Tirón y otros.

En la Figura 51 se muestran los esquemas de flujo empleados por Trojanowicz y Col (343) para la especiación de F^- en aguas con tres modalidades diferentes: A) Inyección de una zona de muestra y punto de confluencia; B) Inversión de flujo y C) Remuestreo (reinyección de zona de muestra). Los investigadores estudian diferentes ligandos como agentes descomplejantes encontrando que el más efectivo es el Tirón (sal sódica del ácido 1-3-

bencenodisulfónico) y dentro de las configuraciones de flujo el esquema C (remuestreo).

Por otra parte, las bajas concentraciones de F^- en muchísimas muestras de agua han impulsado el desarrollo de esquemas de flujo en los que se han estudiado a fondo las variables que pueden sensibilizar el método, como son: composición del tampón, pH, así como preconcentración del analito en una minicolumna aniónica (343).

Otra alternativa, más sofisticada, incluye la separación de F^- hacia una corriente aceptora, después de ser derivatizado como trimetil fluorosilano, y difundido a través de una membrana de polímero fluorado (345). La detección del F^- se realiza inyectando el bolo de disolución aceptora que lo contiene sobre una corriente que contiene alizarina S y una sal de Zr, y midiendo la absorbancia a 520 nm (Figura 52). También es posible preconcentrar el F^- sobre una columna aniónica en forma de complejo Zr(IV)-azul de calceína- F^- ; la columna realiza a su vez el papel de optrodo (346), la detección en este caso es fluorimétrica y el margen lineal de calibración es 1-40 ng.ml⁻¹.

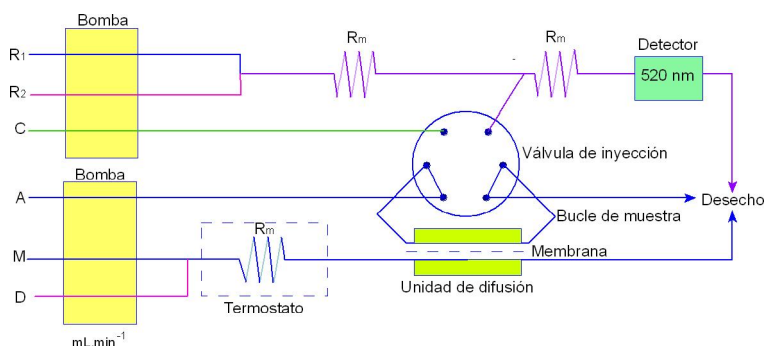


Figura 52. Sistema FIA para la determinación de F^- , con preconcentración de la muestra, en un módulo de difusión gaseosa. La corriente aceptora del módulo constituye el bucle de inyección. R₁: rojo de alizarina S (2.3×10^{-3} M), R₂: cloruro de circonilo (disuelto en 0.2 M H_2SO_4 /0.55 M HCl), C: 0.5 M NaOH, A: 0.1 M NaOH, M: muestra, D: 1.25% de hexametildisilano en 1M H_2SO_4 , R_m: reactor de mezcla.

El método espectrofotométrico clásico de la complexona Alizarina se basa en la formación de un complejo ternario con F^- y metales de transición como lantano. Dicha reacción ha sido realizada en un esquema de flujo

continuo pero sensibilizando la reacción mediante la confluencia con una disolución que contiene micelas catiónicas (347).

Se ha descrito un método indirecto para la determinación de F^- en aguas que se basa en la formación en flujo continuo del complejo ternario antes mencionado, extracción en fase orgánica e inyección del extracto orgánico en un ICP (348).

El efecto inhibitor del F^- sobre la reacción de oxidación de I^- por oxoborato (catalizada por $Zr(IV)$) (349) y sobre la reacción de formación de los complejos Arsenato(III) - $U(VI)$ y $Zr(IV)$ - 2 - (p-sulfofenilazo) 1,8 - dihidroxi-naftaleno (350) han sido aplicados en diferentes modalidades FIA para la monitorización de F^- en aguas superficiales.

Citemos por último el esquema FIA propuesto por Garrido y col. (351) que se basa en la determinación fluorimétrica indirecta de F^- basada en el hecho del incremento que experimenta la fluorescencia del complejo quercitina- $Zr(IV)$ en presencia del analito. El sistema incorpora una minicolumna con resina Dowex para eliminar la interferencia del $Al(III)$.

Cloruro

Para el estudio de la salinidad de océanos, ríos y estuarios el parámetro químico más inmediato es la determinación de la concentración del ión cloruro, Cl^- .

El método más utilizado para determinar Cl^- en aguas mediante técnicas FIA y SIA se basa en la reacción competitiva entre dicho anión y el complejo $Hg(II)$ - tiocianato en presencia de $Fe(III)$ que forma con el SCN^- liberado el clásico complejo rojo que puede ser monitorizado espectrofotométricamente (352). Se puede mejorar la sensibilidad del método aplicando la técnica "sándwich", así como los márgenes de determinación (353).

Basado en la misma reacción, pero en ausencia de $Fe(III)$, se ha propuesto un método FIA sencillo con detección espectrofotométrica en el UV del quelato ternario Hg -AEDT- Cl^- (304) o $ClHg(SCN)_2$ (355).

En el mismo contexto, también se han implementado métodos FIA basados en el intercambio de iones del complejo mercuríco de cloruro con cloranilato, que es seguido espectrofotométricamente en la zona del UV, (356).

La separación de Cl^- de otras especies, en matrices acuosas complejas, como pueden ser los efluentes industriales, se consigue en esquemas de flujo continuo mediante la incorporación “on-line” de membranas de diálisis (357). El método ha sido aplicado y automatizado para separar y diluir el ión Cl^- a partir de muestras de aguas industriales que han sido utilizadas en procesos de galvanizado (358). La viabilidad de la electrodiálisis para favorecer la transferencia de masa a través de membranas de diálisis pasiva ha sido demostrada de manera fehaciente (359).

La oxidación de Cl^- a Cl_2 , con KMnO_4 , es la base de un método FIA con la inserción “on-line” de un módulo con membrana para difusión gaseosa (360). El método ha sido aplicado a la determinación de Cl^- , a nivel de ultratrazas, en aguas muy puras obtenidas por vaporización.

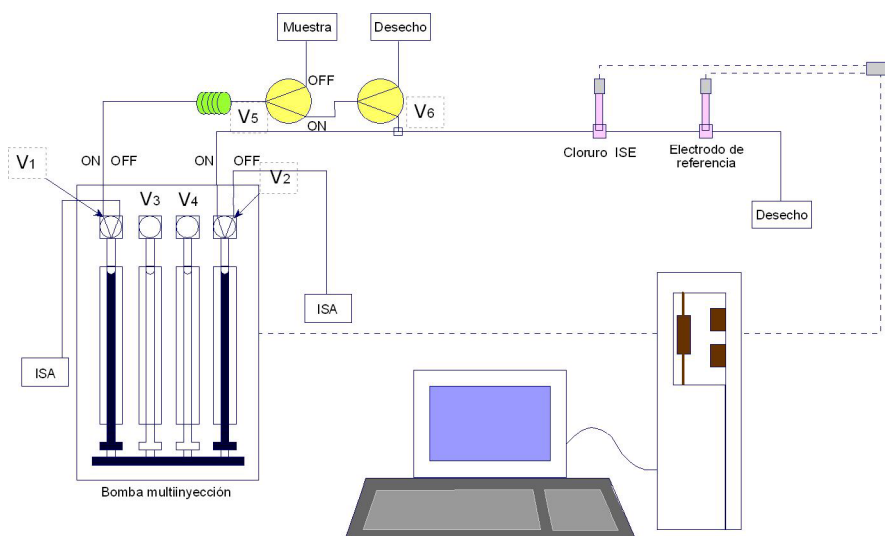


Figura 53. Sistema MSFA para la determinación de cloruro basado en electrodo selectivo de iones con membranas. ISA: Solución ajustadora de la fuerza iónica. V_x : Válvulas de solenoide

Otras estrategias para los esquemas FIA y SIA conducen a métodos turbidimétricos que involucran la precipitación de AgCl (361, 362), valoración

potenciométrica utilizando el método Gran (363, 364) o medida potenciométrica directa con electrodos selectivos (ISE) de membrana cristalina (281, 340, 365, 366, 367) (Figura 53).

Se da a conocer en bibliografía el diseño de un electrodo de polipirrol modificado para la detección electroquímica de aniones electroactivos y que obtiene su máxima sensibilidad para el ión Cl^- . (368).

Métodos de potencimetría de redisolución catódica se pueden implementar en flujo continuo utilizando un filamento de Ag como electrodo de trabajo y una solución de etanol saturada de Arsenazo con el fin de incrementar la altura del pico de desnudamiento (369).

También la absorción atómica, como método de determinación ha sido utilizada en un sistema FIA, después de precipitar el analito con AgNO_3 en un filtro de acero inoxidable (370).

Citemos un último trabajo de tipo comparativo donde se estudia la determinación de Cl^- en aguas residuales, aguas de grifo, aguas superficiales y aguas minerales, por métodos potenciométricos, fotométricos y mediante absorción atómica empleando diferentes esquemas FIA (371).

Especies de cloro

El cloro es una especie presente en diferentes tipos de aguas, de bebida, de piscinas, domésticas y de efluentes industriales.

A pesar de que en 1990 la Safe Drinking Water Amendments redujo el uso de la cantidad de cloro a añadir para la desinfección de aguas, su inherente toxicidad y su capacidad para producir trihalometanos cancerígenos ha impulsado el diseño de métodos de flujo continuo para el análisis y monitorización de especies como Cl_2 libre o ClO^- .

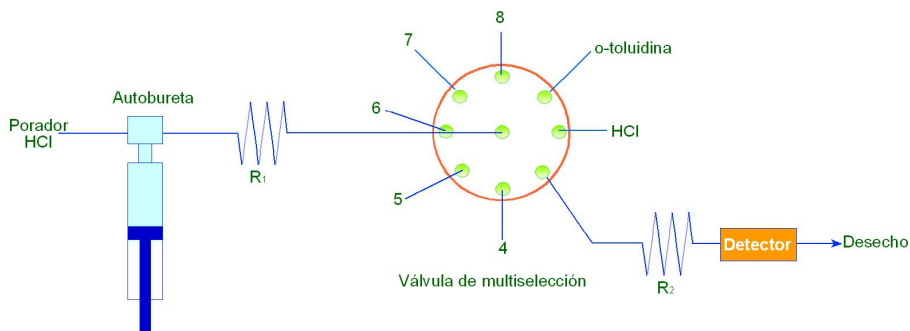


Figura 54. Esquema de inyección secuencial para la determinación de cloro.

La mayoría de los procedimientos existentes para la determinación de Cl_2 libre, a niveles de $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, se basan en métodos FIA espectrofotométricos que involucran la decoloración del naranja de metilo, la formación de una hidroquinona inestable con o-toluidina (372) (Figura 54), así como la oxidación de diferentes reactivos cromogénicos como el 3,3'-dimetil-naftidina (373), N,N-dietil-p-fenilenediamina (374), tio-cetonas (375) o bien o-dianisidina (376) (Figura 55) (377).

En el último de los métodos mencionados se utiliza la conjunción FIA y multiconmutación con válvulas de solenoide, así como la utilización de un módulo con membrana difusora de gases para separar el Cl_2 y evitar la interferencia de cloroaminas.

De entre los métodos espectrofotométricos evaluados para el análisis de cloro residual, se puede citar la oxidación de nitrofenilhidracina hasta el ión nitrofenilhidrazonio (378) o la generación de azoespecies a través de acoplamientos aromáticos electrofílicos (379).

Los métodos electroquímicos son adecuados para el análisis de cloro residual, a niveles de $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. En este contexto la respuesta específica del electrodo selectivo de Pb(II) al analito, ha permitido su determinación en aguas de grifo (380). El cambio del potencial de un electrodo redox, mediante la reducción de los oxo-compuestos de cloro (ClO_2^- , ClO_3^- , ...) en presencia de un tampón redox Fe(III)/Fe(II) , conteniendo Cl^- , ha permitido diseñar un método

de flujo continuo para determinar simultáneamente las diferentes especies de cloro (381).

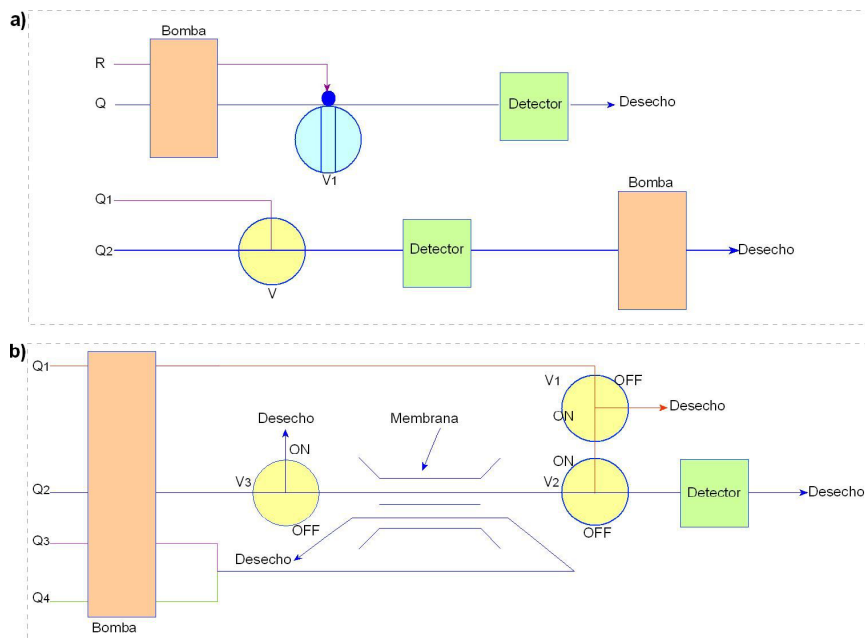


Figura 55. Sistema para la determinación espectrofotométrica de especies de cloro con *o*-dianisidina; a) V_i : válvula de inyección, R: reactivo, Q: portador; b) V: válvula de solenoide, Q_1 : *o*-dianisidina, Q_2 : NaOH, Q_3 : Muestra, Q_4 : HCl; Vx: válvulas de inyección.

Se han diseñado esquemas de flujo con detección final amperométrica, que se basan en la onda de reducción del ácido hipocloroso, HClO, sobre electrodo de oro o en la medida del I_2 generado a partir del I que es oxidado por Cl_2 utilizando electrodos de Pt polarizados (382).

La reacción de oxidación de moléculas orgánicas como xanteno o rodamina 6G, en algunos casos inmovilizadas en intercambiadores aniónicos, por cloro libre (HClO) originan métodos de flujo con detección quimioluminiscente muy sensible (383, 384). Otros sistemas de detección luminiscentes permiten la determinación de ultra-trazas de cloro libre mediante el uso de nicotinamida o agentes reductores (385).

Como el CLORO LIBRE y EL COMBINADO (monocloroaminas, dicloroaminas,...) tienen diferentes capacidades germicidas y diferentes efectos para la salud, es muy interesante diferenciar estas especies.

La metodología más ampliamente usada para la determinación de CLORO TOTAL en aguas se basa en la medida espectrofotométrica del I_2 formado cuando las especies de cloro reaccionan, en medio ácido con I^- . También se ha propuesto la reacción con Br^- para generar Br_2 que es la especie monitorizada (379).

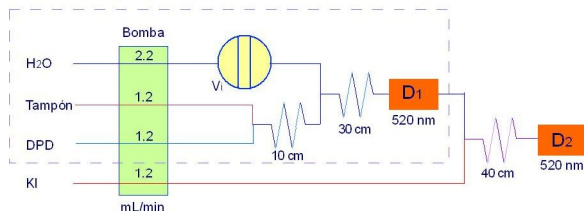


Figura 56. Sistema FIA para la determinación de cloro libre y combinado. V_i : válvula de inyección, Tampón: pH= 6.3, DPD: N,N' -dietil- p -fenilenediamina, D_x : detector. Los componentes para determinar el cloro libre aparecen en el esquema agrupados, el KI y el segundo detector son para la determinación del cloro total.

La diferenciación cinética ha sido utilizada por Gordon y Col (386) para proponer un método de flujo que permite determinar, por una parte, el CLORO LIBRE, y por otra el CLORO TOTAL, por lo que el CLORO COMBINADO se obtiene por diferencia (Figura 56). La reacción química empleada es la oxidación de la molécula orgánica, DPD (N,N' -dietil- p -fenilenediamina) por las especies de cloro, generando un compuesto semiquinonido o coloreado que es medido espectrofotométricamente a 520 nm. A pH 6.3 la reacción de las especies que constituyen el cloro libre es de cinética rápida y la de cloro combinado (cloraminas) es de cinética lenta, por lo que, controlado el tiempo de reacción, puede medirse indirectamente el primero sin que interfiera el segundo (detector D_1). La muestra, una vez que atraviesa el primer detector que contiene KI que actúa como catalizador en la reacción entre DPD y las especies de cloro combinado (cloraminas), pasa al segundo detector donde se determina el CLORO TOTAL.

La especiación entre CLORO TOTAL y CLORO LIBRE también se puede conseguir en esquemas FIA, empleando la conversión electroquímica en un electrodo de Pt (387), o aprovechando la generación de especies quimioluminiscentes en el electrodo (388). Saad y col. (389) llevan a cabo un estudio comparativo entre diferentes métodos FIA con detección espectrofotométrica para la determinación de CLORO LIBRE y CLORO TOTAL en aguas potabilizadas.

La yodometría a temperatura elevada con detección espectrofotométrica final es la base química de un método FIA para determinar ClO_3^- en aguas residuales que permite su diferenciación de ClO^- (390).

Tian y Col (391) ponen a punto un método de flujo continuo (FIA) que permite la determinación de OH^- , Cl^- , ClO^- y ClO_3^- de manera diferenciada, pudiendo especiar los oxoaniones mediante diferenciación cinética a elevada temperatura, cuando reaccionan con I^- .

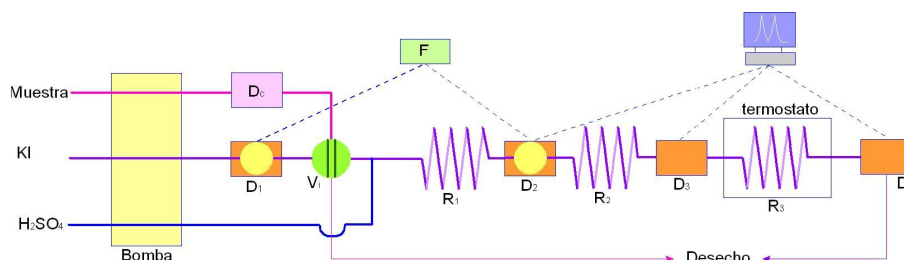


Figura 57. Sistema FIA para la determinación de mezclas de Cl^- , OH^- , OCl^- y ClO_3^- ; P: bomba peristáltica, D_1 y D_2 : detectores termométricos, D_c : detector conductimétrico, D_3 y D_4 : detectores fotométricos, R_x : reactor, F, D_c :

En la Figura 57 se muestra el esquema de flujo diseñado para la determinación multiparamétrica comentada. El NaOH es determinado por neutralización con H_2SO_4 y medida del incremento de la temperatura (reacción exotérmica) mediante detectores termométricos colocados antes y después de la mezcla. El NaCl se determina junto con NaOH por medida de la conductividad de la muestra (Conocido NaOH se obtiene por diferencia NaCl). La diferenciación y medida de ClO^- y ClO_3^- se consigue controlando la temperatura de reacción frente a I^- para generar I_2 que es monitorizado fotométricamente a 370 nm.

En el detector D_3 se mide el producto de reacción proveniente del ClO^- (reacción de cinética rápida a baja temperatura) mientras que en el D_4 se mide el incremento de señal del I_3^- después de pasar el bolo reaccionante a través del reactor R_3 , que se encuentra termostataado a 80°C . El incremento de señal se debe fundamentalmente a la concentración de ClO_3^- en la muestra. El método ha sido aplicado a la determinación de los cuatro parámetros en efluentes de la industria de lejías alcalinas.

En el mismo contexto, la diferente acidez requerida para oxidar I^- hasta I_3^- es la base química de un método FIA para diferenciar entre ClO^- y ClO_3^- en efluentes industriales y provenientes de estaciones de potabilización (392).

Especies de bromo y yodo

La determinación de Br^- y I^- tienen interés en diferentes tipos de aguas. El Br^- , que en las aguas superficiales se encuentran sólo a nivel de trazas, puede encontrarse en cantidades superiores en aguas de pozo o subterráneas en áreas de la costa como, resultado de infiltraciones de agua de mar. Por otra parte, el I^- puede jugar un papel importante en aguas intersticiales para adquirir conocimientos geoquímicos de la capacidad de los terrenos para retardar el transporte iónico y poder estimar las velocidades de filtración de las aguas.

Un método selectivo para la determinación de yoduro en aguas se consigue mediante la inserción de un módulo de transferencia de gases con membrana de difusión previa oxidación con KMnO_4 o $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (393) hasta I_2 (Figura 58). El límite de detección es de $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

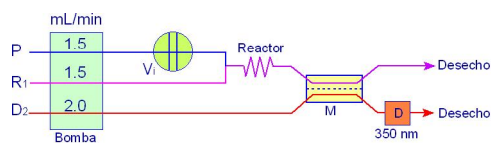


Figura 58: Sistema FIA para la determinación de yoduro. P: portador (agua), R_1 : $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en medio ácido, R_2 : KI, Vi: válvula de inyección, M: membrana

.El método en continuo propuesto por la EPA para determinar Br⁻ en aguas ha sido adaptado a un sistema FIA. Se basa en la reacción entre bromuro y cloramina-T que genera por oxidación Br₂ que, en presencia de rojo fenol, genera azul de bromofenol que se monitoriza a 583 nm (394, 395) (Figura 59-a). Freeman y Col (396) proponen un esquema de flujo para la determinación dual (con dos detectores) de Br⁻ y PO₄³⁻ en aguas oceánicas australianas. El primero se determina mediante la reacción del rojo de fenol con la incorporación “on-line” de una columna rellena de C₁₈ para eliminar la materia orgánica como interferente. La otra parte del esquema de flujo se emplea en la determinación de PO₄³⁻ con el método ya comentado del azul de molibdeno (Figura 59-b). Los límites de detección alcanzados son 4 µg.L⁻¹ de Br⁻ y 0.64 µg.L⁻¹ de P.

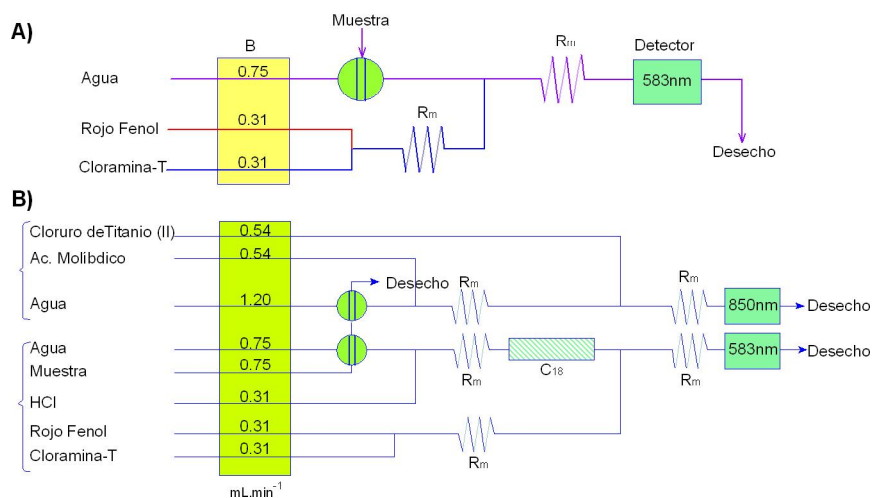


Figura 59. A): Sistema para la determinación de bromuro por el procedimiento del rojo fenol. B): Sistema dual para la determinación de bromuro y de fósforo disuelto. B: bomba peristáltica, Rm: reactor de mezcla.

El efecto catalítico del Br⁻ sobre la reacción de oxidación del violeta de pirocatecol con H₂O₂ se ha utilizado para diseñar esquemas FIA para la determinación espectrofotométrica de Br⁻ en aguas de mar (397).

Otros métodos reseñados en bibliografía para la determinación de Br⁻ incluyen esquemas de flujo en los que se realizan reacciones heterogéneas, insertando una minicolumna rellena de AgSCN (398), la reacción quimioluminiscente entre luminol y el Br₂ generado por oxidación (399) o la detección potenciométrica directa del ión en agua de mar. En este último caso la

calibración del electrodo se debe de realizar en presencia de disoluciones de NaCl para minimizar las interferencias de los efectos de matriz (398).

La determinación del ión BrO_3^- en aguas tratadas con ozono y que contienen Br se ha realizado mediante un esquema FIA en el que se desarrolla la reacción de oxidación de clorpromacina como reactivo cromogénico y que sirve también para la determinación de I⁻ (400, 401). El límite de detección para Br⁻ es de $0.8 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pero la reacción tiene numerosos interferentes (cationes y aniones).

Elwaer y Col (402) proponen un método de flujo continuo para determinar BrO_3^- y Br⁻ en aguas potabilizadas (ozonificadas) que utiliza la conjunción FIA para transportar la muestra y pasarla a través de una minicolumna con resina de intercambio aniónico para realizar el proceso de separación. Como eluyente inyectado en el sistema de flujo detrás de la muestra, emplean malonato amónico 0.5 mM . La muestra eluida alcanza el nebulizador microconcéntrico y es introducida en el ICP para ser determinado por espectrofotometría de masas (se monitoriza el Br de masa-79). El ciclo de medida dura 10 min. Para un volumen de muestra inyectada de $500 \mu\text{L}$, el límite de detección es de $0.13 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de BrO_3^- .

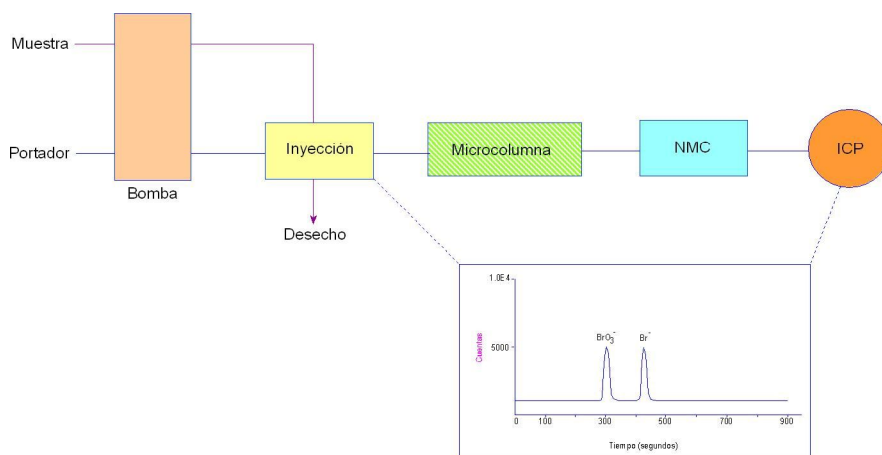


Figura 60: Sistema FI-ICPMS para la determinación de bromato y bromuro. NMC: nebulizador microconcéntrico.

Los métodos cinéticos catalíticos como la reacción de Kolthoff-Sandell (403) (reacción cerio-arsenito catalizada por I⁻), la oxidación de la tetrabase por cloramina-T (404) o el cambio de color en la reacción del indicador Fe (III)-SCN (405) son otras alternativas posibles para determinar I⁻ en aguas mediante técnicas FIA que conducen a métodos muy sensibles (ng.L⁻¹).

La determinación selectiva o total de compuestos de yodo en aguas salinas se puede realizar mediante un esquema FIA que incorpora "on-line" un sistema de microondas para la generación continua de especies volátiles antes de ser introducidas en el ICP(406).

La técnica de voltametría de onda cuadrada ha sido implementada en un sistema de flujo para el análisis de I⁻ en aguas de mar (407).

La determinación indirecta de I⁻ mediante absorción atómica se puede realizar mediante un sistema FIA basado en la reducción de Cr(VI) a Cr(III) que puede ser preconcentrado en una columna quelatante (ácido aminofosfónico) antes de ser eluido e introducido en el sistema de absorción atómica (408).

Radionucleidos (I-131) presentes en efluentes acuosos radiactivos se pueden determinar mediante técnicas FIA inversas empleando como detector un espectrofotómetro de radiación γ (409).

En cuanto a la determinación de IO₃⁻ se refiere, se encuentra en bibliografía un método FIA que se basa en la oxidación por el analito de alizarina azul produciendo un compuesto fluorescente (410).

Cianuro

La alta toxicidad del ión CN⁻ y su amplia variedad de usos en procesos industriales hace necesario el desarrollo de métodos de flujo selectivos y sensibles para su determinación en aguas naturales y en efluentes procedentes de la galvanoplastia.

Cantidades traza de CN^- pueden ser determinadas en esquemas de flujo continuo con destilación “in-line” o “on-line” y monitorización espectrofotométrica.

En la Figura 61 se muestra el esquema de flujo segmentado, con una unidad de destilación “on-line”, para la determinación de CN^- total, CN^- complejo con Fe, CN^- libre y SCN^- utilizando detección espectrofotométrica. Se realizan tres determinaciones independientes: A) La concentración total de CN^- junto con la de SCN^- se miden después de irradiación UV y destilación. La muestra en esta etapa es introducida en la posición A. B) La concentración de CN^- libre más la de SCN^- se miden sin irradiación UV y sin destilación previa. La muestra debe ser insertada en la posición B. C) La concentración de SCN^- se mide de la misma manera que en B) enmascarando el CN^- libre con formaldehído; esta operación se hace fuera del sistema con la muestra, añadiendo 50 μL del formaldehído al 3.7 % sobre 10 mL de muestra y calentando 15 minutos a 50°C.

La reacción química que conduce a la detección espectrofotométrica se inicia con la halogenación del analito con cloramina-T y posterior reacción con una mezcla de ácido 1,3-dimetilbarbitúrico y piridina para formar un colorante violeta azulado si bien la detección del color rojo metaestable intermedio incrementa la sensibilidad (411).

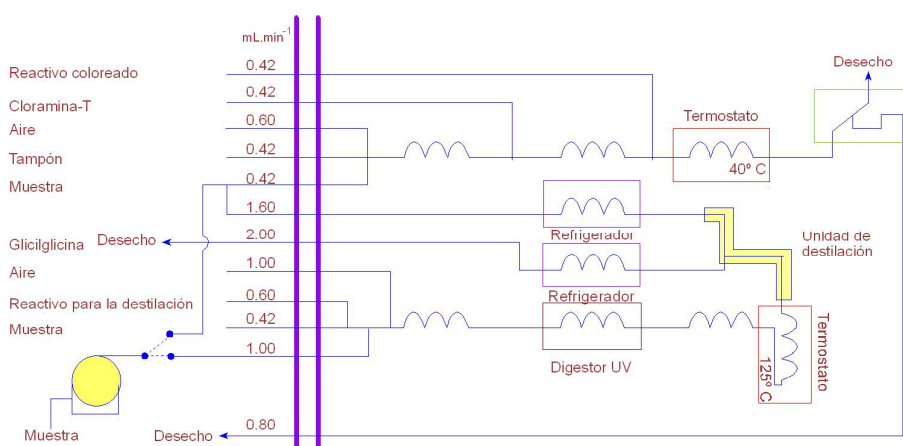


Figura 61. Esquema de flujo segmentado para la determinación de CN^- total.

La inserción “on-line” en un esquema FIA ha sido utilizada para separar por difusión gaseosa el HCN del resto de la matriz. Si la disolución aceptora permanece parada, se realiza a la vez un proceso de preconcentración. En bibliografía se reseña la utilización de una membrana no porosa de silicona para discriminar en el transporte de masas al ión SCN^- y eliminar así su interferencia (412).

Como se comentó anteriormente, el CN^- total, incluyendo la especie libre y los complejos metálicos, puede ser determinado previa destrucción de estos últimos por irradiación con luz UV y posterior análisis fotométrico o amperométrico. Utilizando este último método de detección se ha propuesto un método de flujo segmentado que incorpora además un módulo de difusión gaseosa (Figura 62) (413).

La muestra inyectada sobre el portador, confinada por burbujas de aire para evitar su dispersión, se mezcla con la disolución ácida R y en el digestor UV los complejos de CN^- son destruidos (La radiación UV facilita la disociación del CN^- de los complejos de coordinación). Después de la digestión, la muestra que contiene HCN se mezcla con un reactivo de Bi(III) para eliminar la interferencia del S^{2-} que si no se transformaría en H_2S y se difundiría también a través de la membrana. El HCN difundido a través de la membrana se recoge sobre una disolución aceptora básica y después se determina amperométricamente en la célula que contiene un electrodo de trabajo de Ag al que se le aplica un potencial de 0.0 V frente a Ag/AgCl como electrodo de referencia.

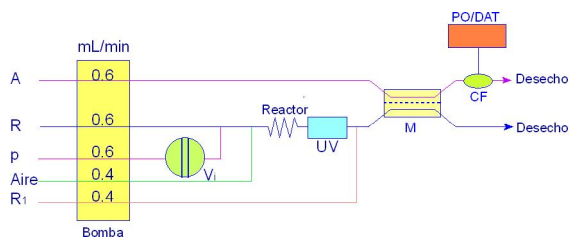


Figura 62. Sistema FIA-UV para la determinación de CN^- total. A: solución aceptora (0.10 M NaOH), R: reactivo (1.0M H_2SO_4 -0.19M H_3PO_2), P: solución portadora (agua), R₁: reactivo (1.0 M H_2SO_4 - 0.19 M H_3PO_2 - Bi(NO₃)₃), V_i: válvula de inyección, CF: flujo a través de la celda amperométrica, PO/DAT: potenciómetro, registrador de datos.

El ácido HCN generado en un esquema FIA se puede detectar mediante la formación de un derivado altamente fluorescente con ISO-indol (414). Otros métodos de flujo utilizan sensores luminicentes basados en la disminución de fluorescencia (en presencia de CN^-) del complejo Cu-calceína (415) o bien utilizan la reacción quimioluminiscente entre luminol y el complejo $\text{Cu}(\text{CN})_4^{2-}$, formado en el sistema de flujo, que tiene un potencial de oxidación alto (416). El poder oxidante de dicho complejo es aprovechado en presencia de oxígeno para generar moléculas excitadas de éste último que, al reaccionar con fluoresceína en medio micelar, generan quimioluminiscencia a baja temperatura. El método implementado en un esquema FIA es altamente sensible (417).

En cuanto a los métodos electroquímicos, utilizados como sistema de detección, además del amperométrico ya comentado, aparece en bibliografía un método potenciométrico que utiliza un electrodo de Ag en presencia de iones Ag^+ que, al ser complejados por el ión CN^- , alteran el potencial. El sistema potenciométrico se coloca detrás de un módulo de difusión de gases (418).

Especies metaloides

El ARSÉNICO es uno de los elementos de mayor interés en las investigaciones medioambientales acuáticas debido a su toxicidad para los organismos y el ser humano y a su compleja biotransformación en la biota acuática. Su presencia se monitoriza tanto en aguas marinas como en aguas dulces.

La determinación de As inorgánico en aguas de todo tipo se realiza normalmente en esquemas FIA donde se genera "in-situ" el hidruro o hidruros correspondientes. Normalmente la arsina se genera mezclando la muestra inyectada con un pre-reductor en medio ácido (tiourea, ácido ascórbico - I-, L-cisteína) y posteriormente con un agente reductor fuerte como tetrahidrobórato sódico en medio ácido.

Se ha estudiado la generación electroquímica del hidruro, usando Pb como material catódico, en un sistema de flujo continuo con el fin de minimizar

la interferencia de los metales divalentes que aparecen en el proceso químico de reducción (419).

El análisis de arsénico total (arsenito, arseniato y sus derivados metilados) requiere de la inserción “on-line” o “in-line” de un sistema de pretratamiento de la muestra o digestión con microondas y mineralización ácida (420), digestión térmica e irradiación UV en medio alcalino o en presencia de peroxidisulfato (421, 422), o extracción con ultrasonidos seguida por una mineralización en medio nítrico, sulfúrico, perclórico (423).

A título de ejemplo, en la Figura 63 se muestra el esquema FIA utilizado para la generación de arsina tras digestión de la muestra mediante irradiación UV y oxidación con peroxidisulfato en medio básico para poder determinar As total (inorgánico e orgánico). La arsina después de ser aislada en el separador gas/líquido es introducida en la cámara de grafito y determinada mediante absorción atómica (421).

También se encuentran en bibliografía métodos para determinar As(III) en aguas sin necesidad de generar su hidruro volátil y mediante técnicas de flujo. El método FIA se basa en la inyección de la muestra sobre una disolución de hexametáfosfato sódico en H_2SO_4 0.02 M y confluencia con MnO_4^- generándose una reacción quimioluminiscente con límite de detección de $0.3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (424).

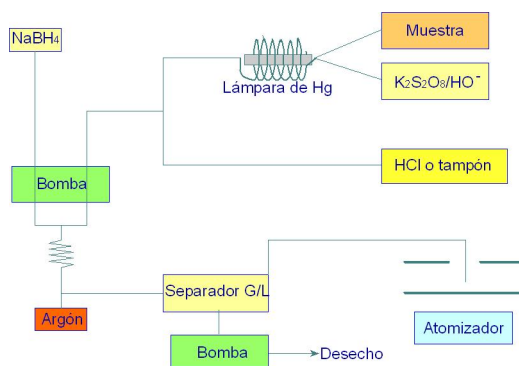


Figura 63. Sistema FIA para la determinación de As total.

La especiación de los estados de oxidación del As en muestras acuáticas ha ganado en importancia pues los efectos tóxicos del metaloide son directamente proporcionales a su estado de oxidación. La diferenciación entre As(III) y As(V) se puede realizar mediante la generación selectiva de la arsina manipulando el medio ácido o la concentración de reductor (425), complejando la especie pentavalente con citrato (426), formación del agregado entre As(V) - Mo - Malaquita o bien complejando As(III) con pirrolidinetiocarbamato o dietilditiofosfato (427).

En la Figura 64 se muestra el inyector-conmutador fundamental para la determinación de As(III) y As(V) utilizando la complejación para enmascarar una de las formas y la sorción sobre una microcolumna de sílice con C₁₈ (427).

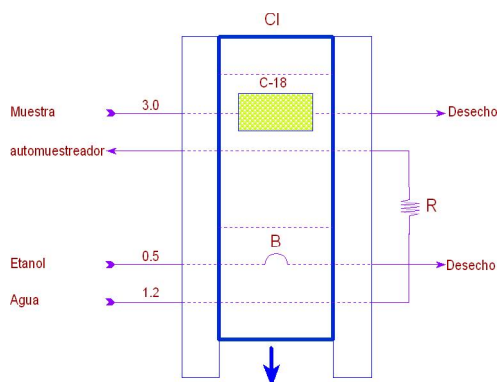


Figura 64. Esquema de flujo para la determinación de arsénico. CI: conmutador de inyección, R: reactor, B: bucle de muestreo de etanol.

El sistema operativo comprende dos etapas: etapa de preconcentración en la posición especificada en la Figura 64 y elución en la etapa siguiente. Las muestras o patrones fluyen a través de la minicolumna de C₁₈ donde se retiene el complejo As(III) - DDTP (dietil ditioposfato amónico). El As(V) y otros interferentes potenciales pasan sin retenerse a lo largo de la minicolumna y van al desecho. Cuando se cambia el inyector de posición, la minicolumna se inserta en la corriente (flujo reverso) desplazando los iones As(III). Como tarda unos 13 s en descargarse, solo se recoge la fracción entre los 14 y 21 s (contiene As(III) para su medida posterior). El volumen de etanol seleccionado por el bucle B se inserta en la corriente E₁ y se emplea para eliminar de la columna el ligando libre. Mediante reducción previa de la

muestra se repite la operación y se determina el As total. El sistema de detección es absorción atómica con atomización electrotérmica. El As(V) por lo tanto se determina por diferencia.

La especiación también es posible realizarla, con sus ventajas características, mediante la técnica MSFIA con generación de hidruros y detección por fluorescencia atómica (428).

La especiación de compuestos inorgánicos de SELENIO se puede conseguir en un esquema FIA con una etapa "on-line" de tratamiento con microondas (on-off) seguida de otra de formación de los hidruros (429).

En cuanto a la determinación de las especies de ANTIMONIO, se han descrito en bibliografía métodos de flujo, generalmente FIA, basados en la extracción selectiva de Sb (III) con ácido láctico/verde malaquita (430) o sorción, en microondas insertadas "on-line", del complejo Sb(III)-pirrolidenditiocarbamato (431).

La especiación de los estados de oxidación del antimonio en aguas, ha sido resuelta mediante la tecnología MSFIA con detección por fluorescencia atómica, previa formación de hidruros volátiles (432).

Se han dado a conocer esquemas FIA para la especiación de arsénico, selenio y antimonio mediante técnicas electroquímicas que se basan en el control estricto del potencial de electrolisis del electrodo de carbono vítreo con película de estaño o del electrodo de oro con fibras de platino (433).

Otras técnicas generales de separación/especiación muy utilizadas antes de la generación de los hidruros son la utilización de intercambiadores aniónicos fuertes (434), extracción en sorbentes con elusión secuencial de los diferentes estados de oxidación y posterior detección por fluorescencia atómica (429) o ICP (435).

Para la determinación de metaloides en numerosas muestras acuosas, su concentración es tan baja ($1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) que se necesitan etapas previas de preconcentración tales como trampas criogénicas para los hidruros (436), preconcentración en sorbentes involucrando complejación o intercambio

aniónico (437), retención en la pared interna de un reactor de PTTE después de la derivatización del analito (438) así como la coprecipitación con hidróxido de lantano (439). Todas estas etapas están integradas “on-line” o “in-line” en el sistema de flujo.

La preconcentración “in-situ” de los hidruros metálicos en tubos de grafito revestidos de Pd o Ir colocados en el sistema de flujo para la atomización electro térmica (440), es un método práctico para el análisis de ultra-trazas de As, Ge, Se y Sb. Esta última especie puede ser también retenida en la superficie de un tubo de grafito sin resistir (441).

También se encuentran en bibliografía revisiones o estudios comparativos sobre técnicas de determinación de metaloides en técnicas de flujo, fundamentalmente FIA (442).

La introducción de ICP-MS como método de determinación de metaloides, As, Se, Sb, Ge, tras la etapa de generación de sus hidruros, permite la determinación simultánea de diferentes especies así como resolver el problema de sensibilidad de otras técnicas espectroscópicas (443).

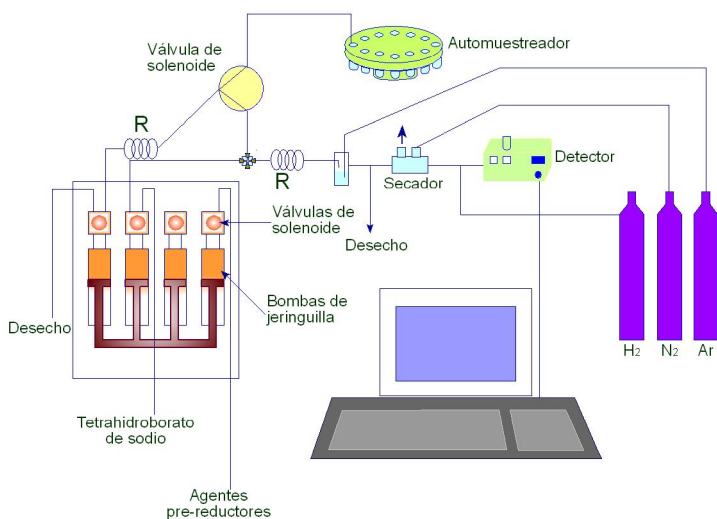


Figura 65. Sistema MSFIA para la determinación de arsénico total. R: reactor,

También se encuentran en bibliografía esquemas FIA para la determinación espectrofotométrica de As total en aguas residuales y aguas de mar (a nivel de $\mu\text{g.L}^{-1}$) que combinan la generación de arsina con una etapa de preevaporación (444) o sorción de complejos de As(III) en combinación con la química del arsenomolibdeno azul (445).

Si bien la mayoría de los esquemas de flujo propuestos para el análisis de metaloides corresponden a la tecnología FIA, recientemente se incorpora la técnica de multijeringuilla (MSFIA) (Figura 65) para la determinación de As TOTAL mediante la generación de hidruros y detección por fluorescencia atómica (446).

Al contrario que los otros metaloides, el BORO se determina normalmente a niveles de mg.L^{-1} en efluentes industriales y en aguas utilizadas en reactores nucleares. Los métodos FIA más corrientes utilizan espectrofluorimetría (ácido cromotrópico) (447, 448) y espectrofotometría (azometina-N) (449).

La reacción entre el ácido bórico y polialcoholes como el manitol con la consiguiente liberación de una cantidad equivalente de H^+ , constituye la base de un esquema FIA para la determinación de bario en aguas mediante monitorización conductimétrica (450).

Las interferencias en los métodos comentados para la determinación de especies de boro, pueden ser eliminadas mediante la utilización "on-line" de microcolumnas con resinas de intercambio iónico (450) y/o cartuchos de Ag (451).

Cuando las muestras a analizar presenten color, la conexión FIA-ICP es una alternativa que resuelve el problema (452).

2.1.3. IONES METÁLICOS

Grandes cantidades de iones metálicos, muchos de ellos tóxicos han sido y seguirán siendo descargados al medio ambiente como consecuencia de la actividad humana. La exposición a muchos de estos compuestos no sólo es

peligrosa para el hombre por su carcinogénesis, también lo es para plantas, animales y microorganismos. Por todas estas razones es necesario vigilar y controlar, para evitar la acumulación de trazas metálicas contaminantes en el medio acuático, entre otros.

La determinación segura, exacta y precisa de trazas metálicas en el medio acuático a niveles de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ está impuesta por las directivas europeas así como la necesidad de especiación para discriminar entre las diferentes formas químicas.

La conjunción entre FIA y las técnicas espectroscópicas atómicas (de absorción y emisión) se ha mostrado como una herramienta poderosa para la determinación de trazas metálicas en el medio acuático (453,454). Una capacidad adicional del ICP-MS es su facilidad para el análisis multielemental (455).

SIA, MFIA Y MSFIA se enfrentan como metodologías competitivas al FIA con sus ventajas e inconvenientes, pero dando un paso importante en la búsqueda de sistemas automatizados para la monitorización “in situ” y remota.

Una importante revisión sobre técnicas de flujo para el análisis de metales en aguas de diferente tipo ha sido aportada por Miró y Col (456).

Pobozya y col. (457) dan a conocer diferentes métodos de preconcentración de metales en aguas que pueden ser acoplados “on-line” en esquemas FIA.

Análisis multielemental de iones metálicos

El FIA puede ser considerado como una técnica analítica versátil para la determinación de cationes metálicos en diferentes matrices acuosas (estuarios, ríos, lagos, océanos, subterráneas y efluentes de todo tipo); así se ha puesto de manifiesto en algunas revisiones (458, 459)..

La conjunción de sistemas FIA con ICP-MS permite el análisis multielemental de numerosos iones metálicos, principalmente Cd, Co, Cu, Mn, Cr, Fe, Mo, Ni, Ag, Tl, V y Zr, así como de sus respectivos isótopos (460,461).

El acoplamiento del FIA a la *electroforesis capilar* permite la preparación de muestra, la separación del analito buscado así como la determinación automatizada y multielemental de cationes metálicos para su monitorización (462). La capacidad de este acoplamiento para implementar la llamada INYECCIÓN HIDRODINÁMICA (463) permite repetir inyecciones de muestra mientras se realiza el recorrido electroforético.

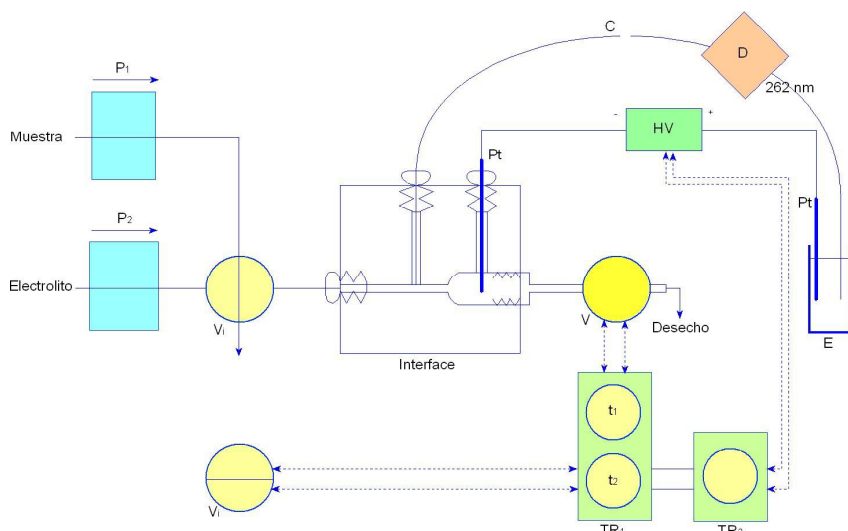


Figura 66. Sistema FIA-EC con inyección hidrodinámica

En la Figura 66 se muestra el sistema FIA-EC con inyección hidrodinámica que acabamos de comentar. Esencialmente consta de cuatro partes: La parte FIA, La parte de EC, la conexión entre FIA y EC y la válvula electromagnética. Dos bombas peristálticas, P_1 y P_2 , suministran de modo continuo disolución de electrolito E (4-aminopiridina, cetiltrimetilamonio, pH: 5.0) y disolución de muestra M. Al cambiar la válvula de FIA de la posición de llenado a la posición de inyección, se inyectan $200 \mu\text{L}$ de muestra en la corriente del electrolito que fluyen hasta la posición inicial del capilar C. De manera sincrónica con la inyección, el alto voltaje (25 KV) es interrumpido y el

temporizador TR₁ inicia una secuencia de tiempo. El tiempo de interrupción del voltaje es controlado por el temporizador TR₂. Cuando el bolo de muestra alcanza la zona del capilar que conecta FIA con EC, la válvula electromagnética (V) abre su canal de expulsión durante un tiempo variable de 0.1 a 1 s, con lo que una pequeña fracción de la muestra se inyecta hidrodinámicamente en el capilar. Acabada la inyección actúa el temporizador TR₁ conectando de nuevo el voltaje entre los electrodos de Pt y se inicia entonces la separación de los constituyentes iónicos de la muestra.

Mientras transcurre el proceso electroforéticos se pueden efectuar nuevas inyecciones de muestra, el intervalo de tiempo entre las inyecciones viene determinado por la diferencia de tiempos entre la aparición del primer pico y la desaparición del último. El número total de muestras inyectadas por unidad de tiempo se ve afectado por el pico electroosmótico que aparece en la primera inyección.

El detector controla en la zona del UV (262 nm) a la 4-aminopiridina por lo que la medida de los cationes se realiza indirectamente debido a la formación de complejos con dicho reactivo.

La preconcentración "on-line" de muestra (464, 465), etapas de limpieza "on-line" y "in-line" (466, 467), modificación de la matriz (468), dilución "on-line" mediante la técnica de muestreo de zonas (469) o la selección isotópica (470), han sido investigadas en sistemas FIA con detección por absorción atómica o por espectrometría de emisión en un intento por controlar las interferencias posibles y proponer esquemas de flujo para la determinación multielemental de cationes metálicos a niveles de ng.mL⁻¹.

Los agentes activos, más frecuentemente usados, para realizar extracciones "on-line" en fase sólida introducidas en forma de reactores empaquetados o membranas de disco (471) son la 8-hidroxiquinoleína (472) y el iminodiacetato (467) inmovilizados en una variedad de soportes como gel de sílice, vidrio de poro controlado o tubo de silicona.

A título de ejemplo, en la Figura 67 se muestra el esquema FIA empleado para la determinación multielemental de V, Mo, Mn, Co, Ni, Cu, Cd

y U empleando ICP-MS y un pretratamiento de muestra consistente en la preconcentración de 1 mL de muestra que atraviesa una resina quelatante que contiene iminodiacetato, colocada en un disco y que, a la vez, permite aislar los metales determinados de los alcalinos y alcalino-térreos. En la posición de inyección, el eluyente, HNO_3 0.1 M, penetra en la resina y conduce la fase eluída hasta el sistema FIA-MS.

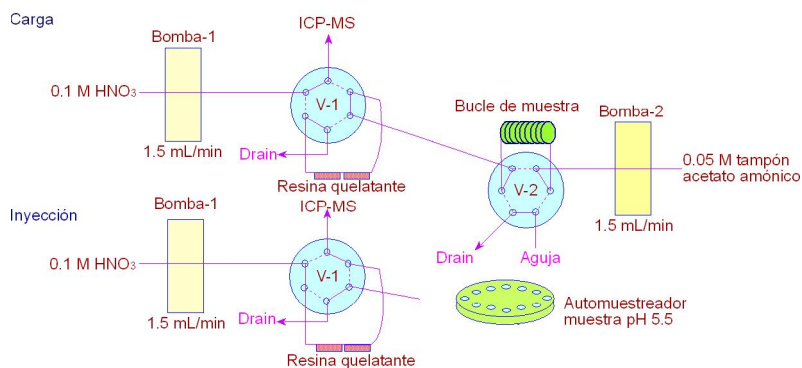


Figura 67. Sistema FIA acoplado con ICP-MS para la determinación de iones metálicos en agua de mar. Pretratamiento de la muestra con resina quelatante conteniendo iminodiacetato.

Una excepción es la utilización de sorbentes de fase reversa (473), grupos octadecil o fenil enlazados a gel de sílice, carbón activo, celulosa acetilada para recolectar “complejos metal-ditiocarbamato (474) o metal ditiolfosfato (475).

La Figura 68 muestra el acoplamiento FI-CL (análisis por inyección en flujo-cromatografía líquida) que opera en el modo de cromatografía en fase inversa. La derivatización “on-line” y la preconcentración en una microcolumna conteniendo C-18 como sorbente sólido permite la detección, mediante un colector ultravioleta, de los complejos de Ni(II), Cu(II) y Hg (II) con dietilditiocarbamato, después de su elución (473).

Se han estudiado otras opciones fáciles de insertar en los esquemas de flujo, como son la adsorción de especies metálicas en óxidos metálicos con elevada área superficial (ZrO_2) (476) o preparaciones en gel de sílice con alta capacidad enlazante (477), así como preconcentraciones usando la técnica de

extracción “con punto de nube” de quelatos metal-ditiofosfato en medio surfactante no iónico (478).

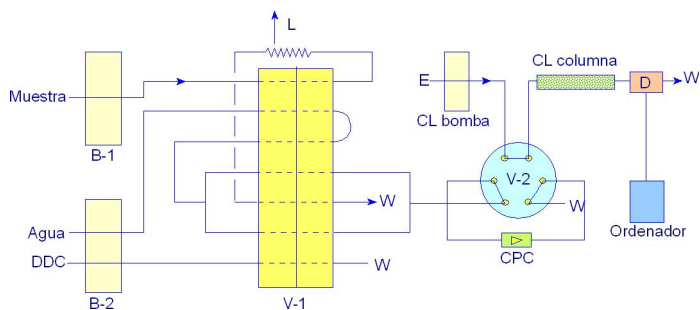


Figura 68. Diagrama de flujo FIA-CL. B-1 Y B-2: bombas peristálticas, E: eluyente, W: desecho, D: detector, PCC: columna de preconcentración C-18, L: bucle de muestra, V-1: válvula multifuncional de 8 canales, V-2: válvula cromatográfica de 6 canales.

Las propiedades que presentan el vidrio de poro controlado y la arena para la inmovilización, se han investigado desde un punto de vista comparativo, con “*penicilium notatum*”, usando técnicas clásicas y ultrasónicas para dicho proceso. Se estudia su utilidad para preconcentrar Cu, Zn, Cd, Pb y Fe (479).

Como métodos de preconcentración también se ha investigado la coprecipitación de iones metálicos con quelatos de Cu, Ni o Co como Copirrolidina-ditiocarbamato (480) y Cu (481) o Ni (482) dietilditiocarbamatos, así como la precipitación de metal-ditiocarbamatos en las paredes del reactor (483).

Una nueva aportación al análisis multielemental (Cd, Ni y Pb) consiste en la utilización de la técnica de multiconmutación alternando intercambio catiónico y elección simultánea en varias columnas situadas en paralelo (484).

La metodología SIA tipo “sándwich” basada en las velocidades diferenciales de flujo de la fase acuosa y la fase orgánica (weting film) se ha aplicado a la determinación simultánea de Cd(II) y Hg(II) basada en la formación de sus ditiozonatos a diferentes valores de pH a los que se extraen (485). Utilizando la misma metodología SIA, Ohro y col. (486) proponen un esquema de flujo para la determinación simultánea de Cu(II) y Fe (III) en aguas

procedentes de la industria, con detección espectrofotométrica tras la formación de los complejos con 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-[N,n-propil-N-(3-(3-sulfopropil) amino)anilina. Como el que forma el complejo es el Fe(II) se necesita un reductor previo.

Los métodos quimiométricos multivariantes acoplados con espectrofotometría con diodos permiten la monitorización simultánea de Cu, Zn y Mn en presencia de iones teóricamente interferentes (487).

La determinación espectrofotométrica de Cd, Cu y Pb se ha llevado a cabo usando dulfarsazona como agente cromogénico, precedida por la preconcentración "on-line" mediante extracción en cartuchos de fase sólida y elución selectiva de interferencias metálicas. El análisis de señales se realiza con un método multivariante de calibración (488). El mismo método multivariante fue seleccionado para la determinación simultánea de Fe, Co y Ni, en un esquema FIA clásico, usando como complejante un derivado de la picolinohidrazona (489).

La diferente velocidad de reacción y de retención de los complejos que forman iones de Fe, Ni y Zn con 1-(2-tiazolilazo)-2-naftol retenido en sólido (C-18) enlazado a gel de sílice, en conjunción con la calibración multivariante, son las partes claves para determinar simultáneamente dichos cationes metálicos en un esquema FIA con detección espectrofotométrica en fase sólida (490).

También los métodos de determinación electroquímica se han mostrado útiles para el análisis multielemental. Mediante el control de pre-electrólisis, la concentración de electrolito soporte, el tiempo de deposición y el espesor de la capa de Hg, es posible mediante un esquema FIA, determinar simultáneamente Cu, Zn, Hg y Cd mediante voltametría de redisolución anódica de onda cuadrada. El método se ha aplicado al análisis de dichos metales en aguas superficiales (491).

Metales alcalinos

Determinaciones directas y rápidas de metales alcalinos en agua pueden ser realizadas mediante diseños FIA acopladas a técnicas de absorción atómica con llama (FAA) o a técnicas de emisión en llama (FES). Diferentes sistemas permiten insertar cámaras de dilución “on-line” (492) o métodos de muestreo de zonas (469).

Cada vez tienen más intereses a la hora de determinar iones alcalinos, los compuestos de asociación que forman un complejo de inclusión de K^+ o Na^+ - éter corona y un azocolorante como contraión. Dicliclohexano o benzo-18-crown-6 han sido los más utilizados para la formación de éteres corona. Esta base química junto con la espectrofotometría secuencial permiten la determinación de Na^+ y K^+ en aguas superficiales mediante esquemas FIA. Si es necesario pueden acoplarse sistemas “on-line” para realizar extracciones o separaciones cromatográficas (493).

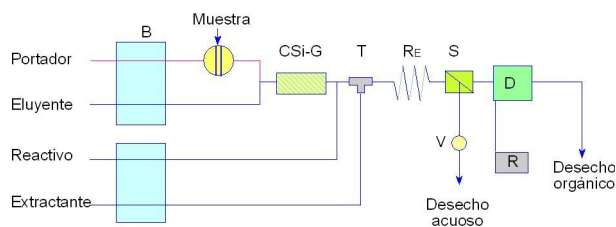


Figura 69. Esquema de flujo para la determinación simultánea de Na^+ y K^+ . Portador: agua, Eluyente: Éter corona/acetato de litio, Reactivo: EDTA/LiOH, Extractante: clorobenceno/benceno, B: bombas peristálticas, CSi-G: columna de sílice gel, T: segmentador, RE: reactor de extracción, S: separador, D: espectrofotómetro, R: registrador, V: válvula.

En la Figura 69 se muestra el esquema de flujo diseñado para la determinación simultánea de Na^+ y K^+ , previa formación de un compuesto macrocíclico con tres éteres corona (estudio comparativo), utilizando como contraión el ester tetrabromofenoltaleina de etilo (493). El método se basa en un proceso de separación en columna, extracción líquido-líquido y determinación espectrofotométrica a 620 nm. Como extractante se utiliza una solución de clorobenceno/benceno que lleva disuelto el contraión. Insertado en el sistema y en configuración “on-line” se encuentra la microcolumna con gel de sílice así

como el segmentador y separador de fases para realizar el proceso de extracción y separar las fases antes de la detección espectrofotométrica.

Sensores de flujo para Na^+ , K^+ y Rb^+ basados en electrodos selectivos (ISE) que contienen un éter corona y una membrana hidrofóbica se han mostrado tan sensibles como los métodos voltamétricos (494).

La complejación de K^+ con un éter corona es la base para la determinación turbidimétrica en flujo continuo (FIA) utilizando como contraión tetrafenilborato (495).

Electrodos selectivos colocados en barrera en sistemas de flujo permiten la determinación simultánea de Na^+ y K^+ (496, 497).

También aparecen en bibliografía esquemas FIA para la determinación de Na^+ y K^+ potenciométricamente, insertando en el sistema de flujo un conjunto de dos electrodos selectivos en paralelo y sin acoplar y un electrodo de referencia convencional (498).

Recientemente se ha investigado la selectividad del ionóforo bis(pert-butilbenceno)-21-crown-7 para Cs^+ en presencia de otros iones alcalinos. El ionóforo va incorporado en el sistema de flujo y la señal potenciométrica se genera en un electrodo de punta de plata con una membrana de PVC (499).

Por último en el campo del análisis de radioisótopos, un método costoso pero rápido para determinar radiométricamente ^{137}Cs en aguas residuales radiactivas consiste en acoplar un sistema FIA a un detector de Rayos γ constituido por un semiconductor sólido (500).

Alcalinotérreos

En esta revisión consideraremos como más importantes los cationes que contribuyen al parámetro de la dureza de un agua (Ca^{2+} y Mg^{2+}).

Las estrategias más corrientes para la determinación aislada o conjunta de estos cationes en sistemas FIA se basan en su medida

potenciométrica o espectrofotométrica con el sistema tradicional neT-AEDT (501). El empleo de soluciones tampón y los procesos de complejación para secuestrar uno de los cationes acoplados a los sistemas de detección son operaciones corrientes en FIA (502).

Procedimientos quimiométricos multivariantes, como los de regresión multilineal (503), calibración parcial por mínimos cuadrados (504), redes neuronales (505) y métodos de adición estándar (506) son herramientas frecuentes para el análisis secuencial y/o simultáneo de Ca^{2+} y Mg^{2+} mediante esquemas FIA en los que se hacen fluir reactivos selectivos cromogénicos como 4-(2-piridolazo-resorcinol) (507) o arsenazo (III) (508, 509).

En la Figura 70 se muestra un esquema FIA diseñado para la determinación simultánea de Ca^{2+} y Mg^{2+} con la inyección simultánea de dos bolos de muestra y un bolo de agente enmascarante (“tecnica sándwich”). El reactivo quelatante es etileno glicol-bis[N,N-bis(carboximetil)aminometil]-o-cresolftaleina (reactivo cromogénico para Ca^{2+} y Mg^{2+}) (510).

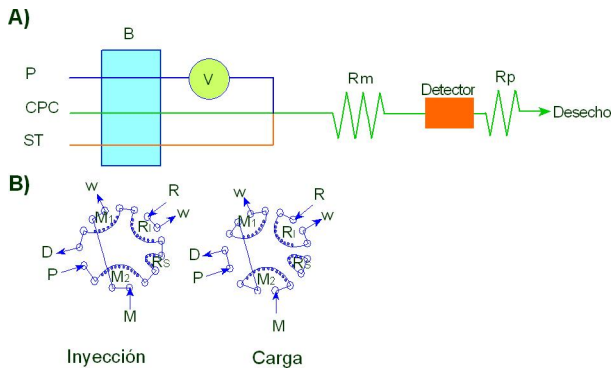


Figura 70. Sistema FIA para la determinación simultánea de calcio y magnesio. P: portador (agua), CPC: Solución de CPC, ST: solución de amonio, V: válvula, B: bomba, M_1 y M_2 : bucle de muestra, R_s : reactor de separación, R_m : reactor de mezcla, R_p : Reactor de presión, W: desecho, R: solución GEDTA.

La química básica para la determinación individual del ión Ca^{2+} en aguas de lluvia, nieve y aguas utilizadas en calderas, se basa en la complejación selectiva con ligandos cromogénicos (513) (por ejemplo o-cresolftaleina, clorofosfonazo (III) o m-cloroantipirilazo) a un pH adecuado y usando 8-hidroxiquinoleina como agente enmascarante (514).

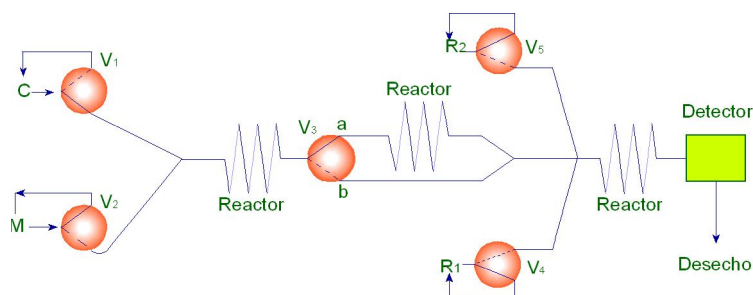


Figura 71. Sistema de flujo de multiconmutación para determinar calcio. V_1 - V_5 : Válvulas de solenoide, C: agua, M: muestra, R_1 : reactivo cromogénico, R_2 : Solución tampón, Detector: espectrofotómetro (575 nm).

Tomando como base la reacción antes comentada es posible determinar Ca^{2+} en muestras de muy diferente margen de concentración sin tener que redefinir el sistema de flujo, utilizando la técnica de multiconmutación (Figura 71) (515) o realizando valoraciones potenciométricas (516).

La capacidad que tienen los iones metálicos alcalinotérreos para desplazar los iones de Cu^{2+} del sistema ternario Cu-AEDT-PAR ha sido también aplicada de manera extensiva para la monitorización indirecta de Ca^{2+} en aguas de todo tipo (517).

Se han diseñado esquemas FIA para la determinación potenciométrica de Ca^{2+} con electrodos selectivos (518), con numerosas investigaciones sobre el efecto de la fuerza iónica en la respuesta del electrodo así como en la resolución de interferencias (519).

El concepto de “flujo pulsado” caracterizado por conducir a mezclas turbulentas y dispersión axial baja también ha sido utilizado para la determinación potenciométrica “on-line” de calcio (520).

La respuesta de un electrodo de punta de cobalto frente a los iones fosfato puede ser aplicado a esquemas FIA para la determinación indirecta de Ca^{2+} (también Mg^{2+}) basado en la disminución de la actividad del ión fosfato como consecuencia de su precipitación con los iones alcalinotérreos (521).

En cuanto a la determinación de MAGNESIO se refiere, para la monitorización incluso en presencia de macrocantidades de calcio, se han diseñado esquemas FIA con determinación espectrofotométrica utilizando reactivos quelatantes cromogénicos como violeta de xililazo en medio micelar (522) o el efecto inhibitor que presenta el analito frente a la oxidación de la dioxina succinimida, catalizada por Mn(II) y en presencia de ácido nitrilotriacético (523).

También se han descrito procedimientos para la determinación amperométrica indirecta de Mg^{2+} , basada en la formación del complejo $Mg-neT$ y medida del exceso de ligando en un electrodo de carbono vítreo (524).

La metodología SIA también ha sido aplicada a la determinación de este ión. En la Figura 72 se muestra el esquema SIA diseñado para la monitorización espectrofluorimétrica de Mg^{2+} en diferentes tipos de aguas, basada en la formación del complejo $Mg-8HQ$ (-hidroxiquinoleina) en presencia de enmascarantes (525).

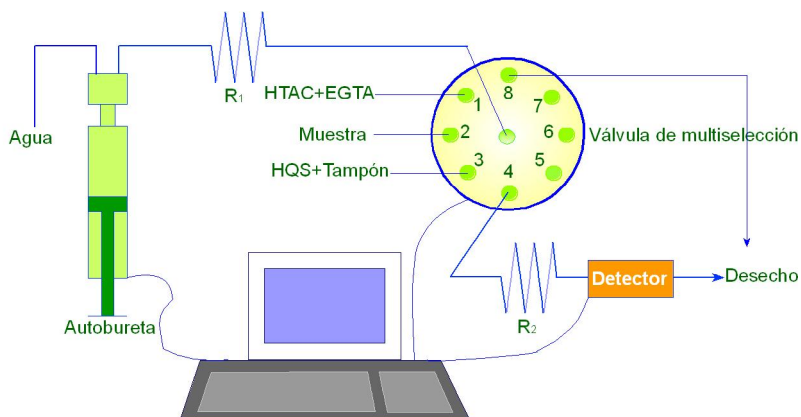


Figura 72. Sistema SIA para la determinación de magnesio. HQS: ácido 8-hidroxiquinoleina-5- sulfónico, EGTA: ácido etilenglicol-bis (β -aminoacetilero)-N,N,N',N'-tetraacético, HTAC: Cloruro de hexadeciltrimetilamonio, R_1 y R_2 : reactor de mezcla.

Un esquema SIA automatizado (Figura 73) permite el aislamiento, por separación, y la determinación radioquímica de ^{90}Sr y ^{226}Ra . El primer radioisótopo ha sido determinado en aguas residuales nucleares (Hanford) utilizando una columna con una suspensión atrapada en un soporte sólido que

retiene el Sr y luego es eluido con disolución de HNO_3 . Se inserta en el sistema aire para separar las disoluciones empleadas en la etapa de lavado y de elución, eliminándolo antes de la medida en el detector de radiación γ (526).

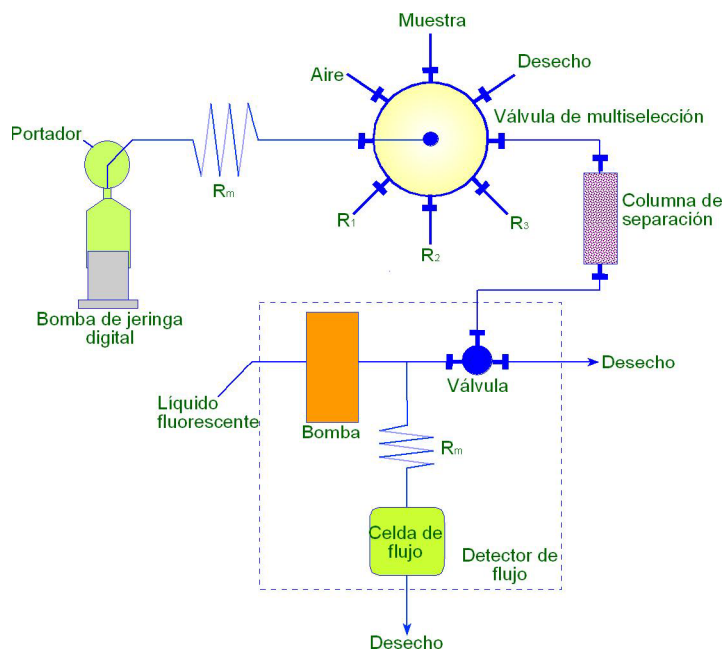


Figura 73. Sistema SIA para la determinación radioquímica de ^{90}Sr y ^{226}Ra . R_1 - R_3 : disoluciones de HNO_3 de diferente concentración para las etapas de lavado de la columna y la etapa de elución, R_m : Reactores de mezcla.

Otros investigadores emplean una columna cromatográfica que contiene un ligando macrocíclico que extrae el analito (527).

La extracción renovable (wetting film) por inmovilización del ionóforo en las paredes internas de un reactor de PTFE, permite la determinación de ^{90}Sr (mediante SIA) a niveles de actividad medioambiental (528).

Tanto ^{90}Sr como ^{226}Ra han sido, en un esquema SIA, aislados por sorción en filtros con algodón impregnado con MnO_2 y tras posterior elución con disolución de hidroxilamina, determinados en aguas residuales (529).

Fajardo y col. (530) utilizan esquemas de flujo con metodología MSFIA para el análisis de Sr estable y radiactivo en aguas naturales. Los mismos autores proponen un esquema similar para Itrio estable y radiactivo en aguas naturales (531), que aunque no es alcalinotérreo, hemos preferido mencionar en este apartado así como el trabajo de Godoy y col. (532) que utilizan acoplamientos FIA-ICP-MS Para la determinación de U(234) y Th(230) en aguas marinas.

La determinación de cantidades traza de Berilio en aguas superficiales cada vez tiene más interés para rastrear contaminantes industriales. Su determinación mediante técnicas de flujo continuo, a niveles de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, se consigue mediante técnicas de multiconmutación incluyendo la precipitación de Be^{2+} con NH_3 , recolección en tubos de Tygon y elución en medio ácido antes de entrar en el sistema de determinación ETAAS (usando Lutecio como modificador permanente) (533).

Aluminio

La posible relación entre impacto medioambiental del aluminio y enfermedad de Alzheimer ha provocado el incremento en el control de este ión, forzando el desarrollo de metodologías analíticas capaces de determinar cantidades ultratrazas del analito.

La determinación de los niveles endógenos de Al en aguas naturales ($>1\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) requiere del desarrollo de metodologías de preconcentración basadas en la extracción de sorbentes para inmovilización del metal en intercambiadores catiónicos (534), resinas con 8-hidroxiquinoleína (535) o bien la derivatización del analito después de ser retenido en microcolumnas con copolímeros (XAD-2) (536), polietileno en polvo (537) o C-18 enlazado a gel de sílice (538).

El analito preconcentrado “on-line” es posteriormente eluido y medido por espectrofotometría (539), ICP-AES (540), FAAS (534) o ETAAS (541).

Reactivos cromogénicos como violeta de pirocatecol (Figura 74) (542), cromoazurol S (543), compuestos derivados del trifenilmetano y

eriocromocianina R (544), se han utilizado como reactivos fluyendo en continuo o inmobilizados formando optrodos de reflectancia difusa (545) y son ideales como sensores para ser utilizados en sistemas de flujo continuo.

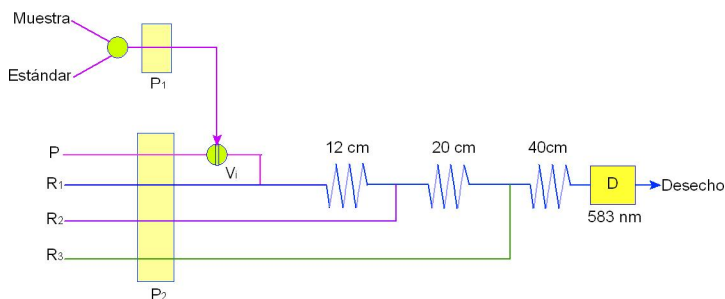


Figura 74. Sistema FIA para la determinación de aluminio disuelto con violeta de pirocatecol. R_1 : Hidroxilamina + Fenantrolina, R_2 : Violeta de Pirocatecol, R_3 : Examina, V_i : válvula de inyección, P : portador, P_1 y P_2 : bomba peristáltica.

Otra posibilidad sencilla y sensible para determinar aluminio en flujo continuo consiste en implementar métodos fluorimétricos utilizando para su selectividad agentes enmascarantes o para su sensibilidad el empleo de medios micelares. Los reactivos fluorogénicos utilizados han sido el salicilaldehído (546), lumogallion (547), 8-hidroxiquinoleína o rojo de ericromo B, sensibilizados por trazas de F^- (548). Muchos de estos reactivos han sido utilizados en esquemas FIA o en procedimientos de multiinyección con multiconmutación (549). En algunos casos los métodos fluorimétricos van acompañados de la mejora de las técnicas de extracción con el fin de conseguir aumentar la sensibilidad en la determinación o disminuir el consumo de reactivo orgánico (550) Si bien la mayoría de los esquemas de flujo son FIA, también la metodología SIA ha sido utilizada para determinar $Al(III)$ en aguas con detección fluorimétrica (551).

En la Figura 75 se muestran los esquemas de flujo propuestos (550) para la determinación fluorimétrica de aluminio con extracción por 8-hidroxiquinoleína disuelta en cloroformo. El esquema A, que es el esquema clásico de extracción líquido-líquido, es un sistema FIA con dos etapas, la segmentación y la separación de fases, es mejorado por el esquema B en el que se elimina el separador clásico de fases, consiguiendo una mejora en la sensibilidad y por último proponen un tercer esquema, C, en el que lo que se

inyecta es un volumen pequeño de extractante aumentando considerablemente la sensibilidad y el ahorro de reactivo orgánico.

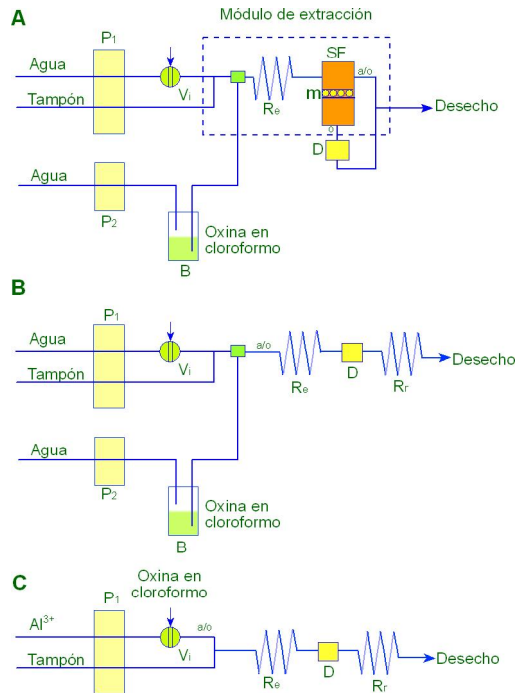


Figura 75. Determinación fluorimétrica de aluminio. **A:** con segmentación y separación, **B:** con segmentación y sin separación, **C:** únicamente con segmentación de la fase orgánica. P: bomba peristáltica, B: botella desplazadora, I: válvula de inyección, S: segmentador, E: reactor de extracción, SF: separador de fase, M: membrana de separación, D: detector, o: fase orgánica/fase acuosa, R: reactor restrictor.

La química del aluminio en el impacto de la lluvia ácida sobre los sistemas acuáticos recibe cada vez mayor atención por su efecto tóxico sobre la biota. La relación entre toxicidad del aluminio y forma en la que se encuentra ha impulsado los estudios sobre especiación basados en procesos de fraccionamiento que requiere de un control de los tiempos de reacción (552) muy preciso.

Protocolos de discriminación cinética (553) basados en la diferente velocidad de reacción de las especies de aluminio con 8-hidroxiquinoleína constituyen el fundamento químico de algunos sistemas FIA diseñados para tal fin. Se han utilizado para ello la extracción en diferentes disolventes (554) y

diferentes sorbentes (555). Un ejemplo claro es la determinación de la fracción de Al más “rápidamente reactiva” en diferentes sistemas acuáticos (556).

La aplicabilidad de los sistemas mencionados ha sido demostrada mediante la complejación de aluminio por ácido fúlvico y húmico (557).

A título de ejemplo, en la Figura 76 se muestra el esquema FIA inverso empleado para determinar el aluminio “reactivo” (a los 2-3 segundos) de muestras de aguas superficiales mediante su reacción con oxina y posterior extracción del quelato con tolueno. Un pequeño volumen de la fase orgánica separada es conducido por un segundo sistema FIA hasta el detector, GFAAS (556).

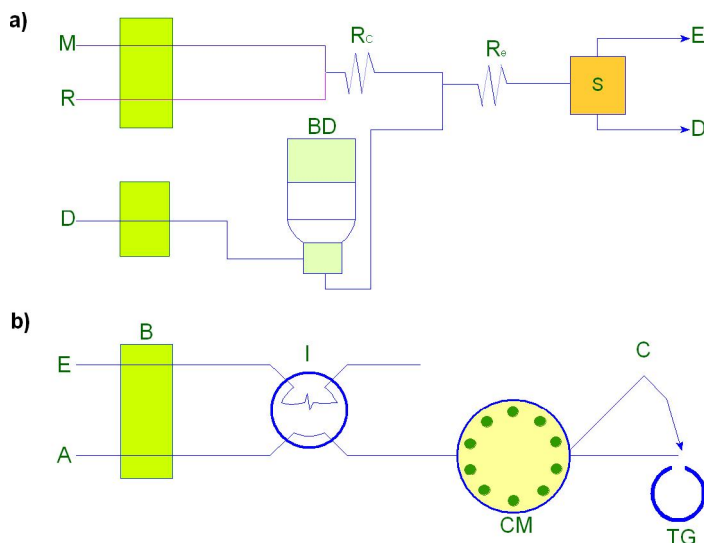


Figura 76. Sistema FIA para la determinación de aluminio reactivo, **a)** Sistema para el fraccionamiento de aluminio, **b)** Interface que transporta 20 μ L de la fase orgánica desde el sistema al tubo de grafito. M: muestra, R: reactivo, D: desecho, E: extractante, A: aire, BD: botella desplazada, B: bomba peristáltica, I: válvula de inyección, CM: cambiador de la muestra, C: capilar, TG: tubo de grafito, R_c: reactor de complejación, R_e: reactor de extracción, S: separador de fase.

La especiación del aluminio reactivo total en sus fracciones lábiles e intercambiables (por ejemplo aluminio libre, sulfato de aluminio, monomérico, fluoruro de aluminio, hidróxidos y otros complejos; la fracción monomérica no lábil (por ejemplo: complejos orgánicos con aluminio monoméricos) (558) y la fracción *ácida soluble* (por ejemplo, aluminio polimérico coloidal) han podido ser

medidas en esquemas de flujo utilizando como reactivos violeta de pirocatecol (559) u 8-hidroxiquinoleína (560) y técnicas "on-line" de quelación e intercambio iónico (561).

Iones metálicos de transición

En este apartado se han descrito los métodos de flujo diseñados para la determinación de los elementos de transición más frecuentes en las matrices acuosas. Se han dividido en dos grupos, uno de ellos incluye algunos micronutrientes o elementos traza naturales como Mo, Co, Fe, y Mn, y el otro incluye elementos antropogénicos peligrosos desde el punto de vista medioambiental como Hg, Cr, Pb, Zn, Ni, Cd y Cu.

A Iones metálicos esenciales

Molibdeno

La determinación sencilla, rápida y selectiva de molibdeno a nivel de $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ en los medios acuáticos es de gran interés para plantas y organismos pues necesitan de pequeñas cantidades de dicho elemento.

Se han propuesto numerosos métodos tanto de flujo segmentado como no segmentado para la determinación de Mo en aguas de ríos, lagos, mares y de grifo. En estos esquemas de flujo, la reacción de quimioluminiscencia entre luminol o lucigenina con Mo (III) generado en un reactor JONES, es utilizada para la determinación del analito entre 0.1 y $1000 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

La reacción de oxidación del ácido ascórbico con H_2O_2 catalizada por Mo y la posterior condensación del ácido dihidroascórbico con o-fenilendiamina para producir un derivado de quinoxalina coloreado, es la base de un método FIA con detección espectrofotométrica (562).

La mayoría de los métodos catalíticos en los que interviene el Mo sufren fuertes interferencias que requieren el uso de enmascarantes.

Para conseguir la sensibilidad adecuada es posible realizar métodos de preconcentración “on-line” como la co-precipitación de molibdeno (VI) con Fe(II)-pirrolidencarbamato sobre las paredes internas de los tubos de PTFE (563), adsorción sobre resinas poliméricas de iminodiacetato (564) o alúmina activada (565), así como la complejación con dietilditiocarbamato o oxina (566) y posterior retención en reactores empaquetados con C-18.

Se encuentra en bibliografía un método SIA basado en la técnica de “extracción en película” sobre la pared interna del tubo que utiliza tolueno para extraer el complejo Mo(VI)-SCN previa formación de un par iónico con una sal de amonio cuaternario que resuelve el problema de hasta 40 interferencias de otros métodos (567).

En la Figura 77 se muestra el esquema FIA propuesto (568) para la determinación de trazas de Mo(VI) en aguas superficiales.

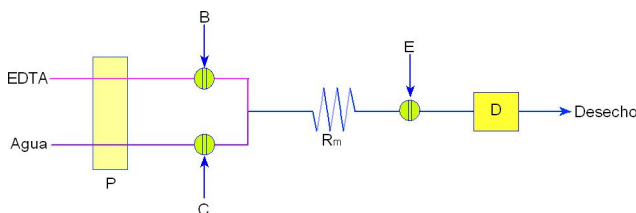


Figura 77. Sistema FIA para el análisis de Mo en aguas. P: bomba, B,C,E: válvulas de inyección, R_m: reactor, D: detector.

Utiliza una columna rellena con gel Sephadex G-25 para sorber el analito cuando se introduce la muestra (B). El Mo (VI) retenido es eluido con AEDT por formación del correspondiente complejo que al mezclarse con una solución de Tirón (C), mediante reacción de desplazamiento, da lugar a la formación del complejo Mo(VI)-Tirón de color amarillo. El último complejo formado es concentrado sobre una resina de intercambio aniónico que se encuentra inmovilizada en la célula de flujo donde se monitoriza la absorbancia a 410 nm. El límite de detección es 15 ng.L⁻¹.

Cobalto

La concentración de cobalto en el medio acuático es extremadamente baja y se ha sugerido que este elemento puede actuar como un nutriente limitante para el fitoplacton marino. También se conoce que es tóxico para plantas y animales acuáticos a niveles relativamente altos ($> 1 \text{ mg.L}^{-1}$), difícil de alcanzar en aguas naturales.

El Co se distribuye en el agua de mar de manera vertical; se ha encontrado en superficie un máximo de $10\text{-}20 \text{ ng.L}^{-1}$ que disminuye hasta 1 ng.L^{-1} a 1000 metros de profundidad.

Se ha detectado un enriquecimiento en Co en aguas hidrotermales que vierten al mar, por lo tanto este metal es interesante desde el punto de vista geoquímico como indicador químico de actividades hidrotermales.

Las técnicas de flujo más usadas para la determinación de Co en aguas, a estos niveles, son las configuraciones FIA con etapas "on-line" de preconcentración y determinación final por ETAAS. Como métodos de preconcentración se han utilizado la adsorción física del par iónico Co-nitroso R-tetrebutilamonio (569) o del complejo pirrolidina-tiocarbamato-Co sobre la pared del tubo de teflón (570); la adsorción sobre un reactor que contiene inmovilizado el reactivo complejante 1-fenil-3-metil-benzoilpirazol-5-ona (571) o dietilditiocarbamato inmovilizado sobre gel de sílice (572).

También se ha sugerido la utilización de la extracción en fase sólida como etapa anterior a la determinación mediante técnicas de absorción atómica. Para conseguir menor dispersión del analito y menor consumo de eluyente, se ha propuesto segmentar con aire este último y conducir, en estas condiciones, el analito hasta el atomizador electrotérmico (570) o hasta el detector de fluorescencia atómica excitada por láser (573).

En un esquema FIA es posible acoplar "on-line" la generación de compuestos volátiles de cobalto y dietiltiocarbamato o acetilacetona y la implementación de un modelo de "termoespray" para conducir directamente el analito o sus compuestos, hasta la superficie del tubo de grafito (574).

La capacidad de microcolumnas impregnadas conteniendo espuma de poliuretano como soporte ha sido demostrada con el desarrollo de un esquema FIA, sencillo y rápido, con detección por absorción atómica y que inmoviliza en la columna 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (575). En la Figura 78 se muestra el esquema de flujo empleado para este último caso, donde la muestra a pH 10.5 (para oxidar Co(II) a Co(III)) es bombeada a través de la columna que contiene el poliuretano tratado con 2-(2-tiazolilazo)-p-cresol (TAC) (etapa de preconcentración) y posteriormente eluido el compuesto formado con ácido HCl y trasladado hasta el detector.

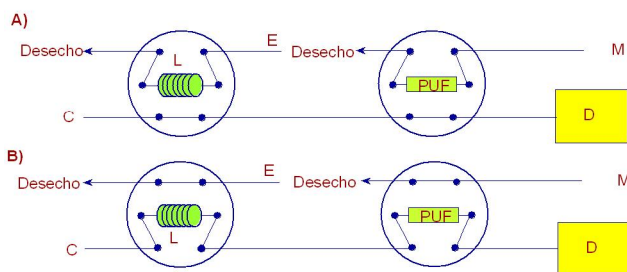


Figura 78. Sistema SIA para la preconcentración y determinación de Co en aguas. C: corriente portadora (agua), E: eluyente (HCl), M: muestra, D: detector, L: bucle eluyente, PUF: minicolumna de poliuretano.

Otras estrategias empleadas antes del análisis por absorción atómica han sido la precipitación “on-line” de cobalto con 1-nitroso-2-naftol o bien la deposición de dicho analito como cianocomplejo sobre alúmina ácida activada (576).

Recientemente se han hecho progresos en el desarrollo de procedimientos en flujo continuo, basados en métodos catalíticos con detección espectrofotométrica, fluorimétrica o mediante quimioluminiscencia, para determinar cobalto en matrices acuosas. Estos esquemas de flujo son muy adecuados para el análisis oceanográfico “in situ” (577), especialmente cuando se acoplan unidades tangenciales de filtración para eliminar la materia en suspensión (578). Tales sistemas automatizados se basan normalmente en la reacción, catalizada por Co(II), de oxidación de derivados de o-dihidroxibenceno (579) como el ácido protocatéquico o derivados de p-diaminobenceno (580) en medio alcalino fuerte.

En la Figura 79 se muestra el esquema de flujo, FIA, para la determinación de cobalto en aguas de río y mar con un límite de detección de $5 \times 10^{-3} \text{ ng mL}^{-1}$. El esquema consta de una columna rellena con sílice que contiene 8-quinolinol inmovilizado con el fin de preconcentrar el analito. Eluido el analito con disolución de tartrato sódico/ácido tartárico llega a una segunda minicolumna que contiene resina catiónica, donde se separa de los otros cationes metálicos, fundamentalmente Fe(III) y Mn(II) que son interferentes en el método espectrofotométrico. La reacción que genera la especie medida en el espectrofotómetro se realiza posteriormente cuando el Co(II) cataliza la oxidación del ácido protocatéuico por H_2O_2 .

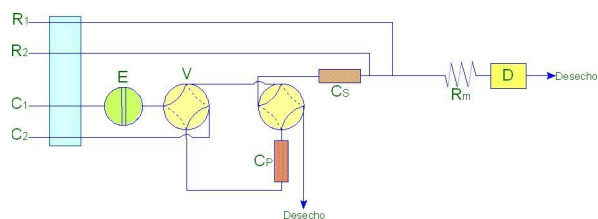


Figura 79. Sistema FIA para la determinación de Co en aguas de río y de mar. R₁: NaCO₃, R₂: indicador, C₁: eluyente, C₂: acetato de sodio, E: válvula de inyección, V: válvula doble (4 vías), C_p: columna de preconcentración, C_s: columna de separación, R_m: reactor de mezcla, D: detector.

La determinación directa de cantidades traza de cobalto en aguas de mar, sin etapas ni operaciones preliminares se basa en la reacción de oxidación de N,N'-dietil-p-fenilenediamina, catalizada por cobalto y activada por tirón (577).

Se han diseñado esquemas FIA con detección quimioluminiscente basados en el efecto catalítico del cobalto sobre la reacción de oxidación de la quercitina, luminol, ácido gálico o pirogalol: por H_2O_2 (578 - 581) (Figura 80).

La mejora de la selectividad, frente a los iones alcalinotérreos, se consigue con la implementación "on-line" de resinas quelatantes conteniendo 8-hidroxiquinoleína o bien utilizando reactivos complejantes para eliminar interferencias metálicas (582).

Otros métodos FIA con detección espectrofotométrica pueden resultar de interés para determinar cobalto en aguas. Así, tanto los complejos

Cd-porfidina (583) y 4-bencilpiperidinaditiocarbamato (584) han sido usados como reactivos para el desarrollo del color en sistemas ternarios con Co(II). La desventaja de las porfirinas, en el sentido de que absorben a la misma longitud de onda que los complejos que forman con Co(II) se resuelve con la descomposición fotoquímica del exceso de reactivo usando irradiación ultravioleta (583).

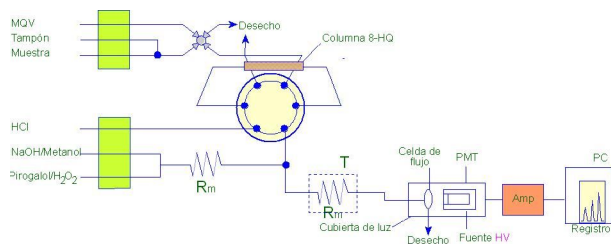


Figura 80. Sistema para la determinación de Co(II) en estuarios y aguas de costa. T: Baño termostático a 80°C.

También se han diseñado optrodos para flujo continuo conteniendo 1-(2-piridilazo)2-naftol inmovilizado en discos de celulosa fosforilada (585).

La capacidad de algunos polímeros solubles en agua (polietilenimina y otros) para modificar la cinética de reacción entre Co(II) y la sal nitroso-R, así como para incrementar el coeficiente de absorptividad molar del complejo, ha sido aprovechada para diseñar un método FIA con preconcentración “on-line” y dicha estrategia (586).

Por último comentemos que, en el campo de las **técnicas electroquímicas** ha sido diseñado un SIA miniaturizado acoplado con voltametría por redisolución catódica. Dicho sistema ha sido aplicado a las medidas “on-line” de Co(II) en aguas marinas (587).

Hierro

La hipótesis de que los límites de hierro se incrementan paulatinamente en los océanos y aguas superficiales como consecuencia de la lluvia ácida, ha estimulado su análisis en dichas muestras.

Se han desarrollado métodos de flujo segmentado, métodos FIA y SIA para la determinación de HIERRO TOTAL. Para conseguir la sensibilidad necesaria se acoplan en ellos métodos de preconcentración "on-line" como son resinas quelatantes conteniendo 8-hidroxiquinoleína (588, 589), ácido iminodiacético (590), N-hidroxietilenediamina (591) o 2-mercaptobencimidazol (592); sorbentes de fase inversa para la complejación de las especies de hierro (593 - 595). Las técnicas antes mencionadas se conectan a sistemas de detección ICP (596), FAAS (597) y espectrofotometría (598).

En este último caso se emplea una reacción clásica entre Fe(III) y SCN^- en medio ácido que por su sencillez ha sido utilizada como modelo para optimización conmutacional (599), si bien es la base de diseños de optrodos de flujo (600, 601).

Otros métodos de flujo espectrofotométricos tienen como base la formación del complejo entre Fe(II) y ferrocina (602, 603) o 1,10-fenantrolina (604). En este último caso empleando la técnica de "inyección de bolitas" (605) o bien estrategias de espectrofotometría-fotoacústica en fase sólida (604, 606, 607).

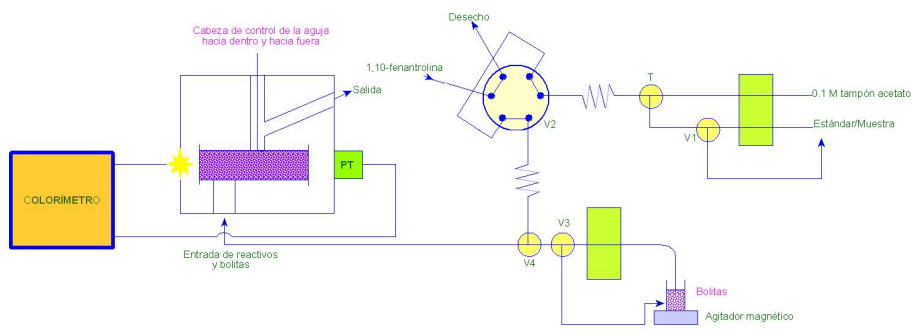


Figura 81. Sistema FIA para la determinación de trazas de hierro con la técnica de "bolitas". V_1 , V_3 , V_4 : válvulas de tres vías. V_2 : válvula de seis vías, T : conector.

En la Figura 81 se muestra el esquema FIA para la determinación de trazas de hierro en muestras acuosas utilizando la técnica de "inyección de bolitas", en este caso pequeñas esferas de resina Chelex-100, hasta la célula de flujo.

La solución de tampón fluye constantemente al igual que la de muestra pues están impulsadas por la misma bomba, no obstante con la válvula V_1 se introduce en el momento deseado un volumen de muestra o patrón que contiene Fe^{2+} .

Las bolitas con resina son introducidas en la célula a través de las válvulas V_3 y V_4 pasando la suspensión durante 20 minutos. Parada la bomba que controla este último proceso, se ponen en funcionamiento las válvulas que introducen patrón o muestra durante el tiempo deseado y luego las válvulas son intercambiadas de posición. La disolución tampón se pasa a continuación durante 1 minuto para empapar las bolitas y finalmente se introducen 210 μ L de 1,10-fenantrolina. Este reactivo reacciona con el Fe^{2+} capturado en las bolitas y aparece el típico complejo rojo que es monitorizado utilizando un colorímetro con una lámpara de descarga (LED) de luz verde. Después de cada análisis las bolitas son expulsadas de la célula con la solución tampón (incrementando el flujo). Se puede evaluar el Fe total de las muestras tratando estas con ácido ascórbico (605).

La extracción líquido-líquido en continuo también ha sido utilizada como método de separación y preconcentración. Almendral y col. (608) proponen un esquema FIA basado en este concepto donde utilizan la extracción en cloroformo del par iónico que forma el complejo de Fe(III) con SCN^- y sales de amonio cuaternario para determinar hierro en aguas residuales.

Por otra parte, nuevas modalidades de muestreo adaptadas al SIA como la monosegmentada (609) o flujo inverso (610) y diseño de células de flujo (células capilares) (611) han sido adaptadas a las reacciones químicas antes comentadas para mejorar alguna de las características analíticas de los métodos.

El efecto analítico de las dos especies de hierro sobre la oxidación de compuestos de fenilenediamina ha sido aprovechado para diseñar un esquema de flujo para la determinación de hierro total en aguas (612, 613).

En la Figura 82 se muestra el esquema FIA diseñado para esta determinación basado en el efecto catalítico del Fe (II) y Fe (III) sobre la reacción de acoplamiento entre N-fenil-p-fenilenediamina y m-fenilenediamina en

presencia de H_2O_2 como oxidante. La sensibilidad del método se incrementa por la presencia del surfactante Tween 80.

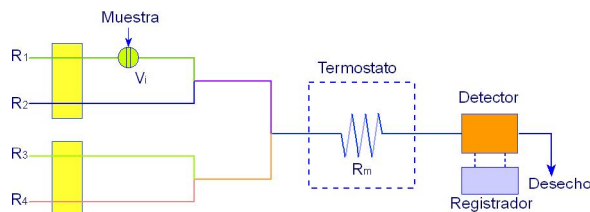


Figura 82. Esquema FIA para la determinación de Fe total. Vi: válvula de inyección, Rm: reactor de mezcla, R₁: HCl, R₂: H₂O₂, R₃: PDA + Tween 80. Detección: espectrofotométrica a 620 nm.

La quimioluminiscencia, con su sensibilidad, es la propiedad aprovechada para implementar sistemas de flujo para determinar algunas de las especies de Fe en aguas de mar a niveles de concentración de subnanomolar (614, 615). En este contexto, el efecto catalítico del Fe(II) o Fe(III) en forma de sus complejos con oxina sobre la oxidación de luminol con H_2O_2 , oxígeno disuelto (616) o KIO_4 (617) en presencia de ácido cítrico y surfactantes catiónicos (618) son la base de métodos FIA, así como el incremento en la emisión quimioluminiscente de los sistemas sulfoflavina brillante- H_2O_2 (619), ester diaril-oxalato con O_2 (620) y gallocianina- H_2O_2 con trazas de Fe (III).

La discriminación entre los estados de oxidación del Fe, especiación, en aguas naturales, tiene su importancia pues este elemento participa en procesos redox acuáticos a $pH < 6$. Muchos de los métodos de especiación están relacionados con la afinidad o reactividad de uno de los estados de oxidación frente a un complejante (621, 622). Como ejemplos citemos los esquemas FIA que se basan en la afinidad entre Fe (III) y cromo azurol; Fe (III) - naranja de xilenol y Fe (II) - fereno S (623 - 625).

La acción catalítica de los complejos de Fe (III) o Fe (II) con AEDT sobre la oxidación de la hidroxilamina (626), p-fenitidina (627) o tetrametilbencidina (628) usando 1,10-fenantrolina como activador efectivo, sienta las bases de varios esquemas FIA.

La determinación secuencial de Fe (II) y Fe (III) se puede conseguir mediante técnicas de flujo que explotan la diferente velocidad de reacción con Tirón así como el efecto catalítico del Cu (II) en la oxidación de Fe (II) en presencia del reactivo cromogénico (629).

Los métodos de redisolución anódica en conjunción con FIA permiten la especiación de ambos estados de oxidación del hierro y lo que es más interesante conocer la cantidad de dicho elemento complejo orgánicamente (630).

Reacciones redox, oxidación de Fe (II) o reducción de Fe (III) realizadas “off-line” o “on-line” en fase homogénea (631) o en fase heterogénea (632) permiten la especiación del Fe en flujo continuo.

Por último comentemos que la especiación también es posible incluso sin utilizar reactivos diferenciales. Se puede conseguir discriminando la señal analítica final mediante métodos multivariantes. Así, en la Figura 83 se muestra un esquema FIA en el que se emplea oxina como reactivo para Al (III) y Fe (III) y ortofenantrolina en combinación con yoduro como reactivo para Fe (II). Los productos de reacción son extraídos en continuo con cloroformo. El complejo Fe (II) - Fenantrolina forma con I⁻, al pH de trabajo, un par iónico extraíble en cloroformo. La fase orgánica atraviesa el detector (espectrofotómetro de diodos) y la señal analítica es procesada mediante un método multivariante (633).

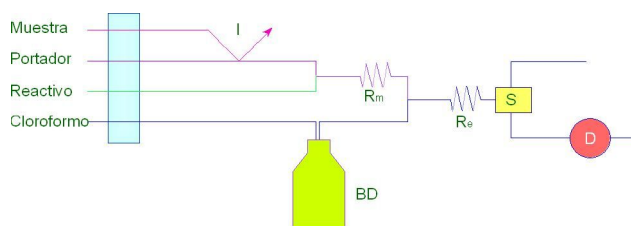


Figura 83. Esquema FIA para la especiación de Fe. Portador: agua, Reactivo: Oxina, 1^o-fenantrolina, yoduro en tampón acético/acetato. I: inyector, S: separador de fase, D: espectrofotómetro, BD: botella desplazadora conteniendo cloroformo, Rm: reactor de mezcla, Re: reactor de extracción.

Independientemente del tipo de metodología empleada, aunque la más frecuente ha sido FIA, el análisis de Fe total o bien la especiación se ha

aplicado a muestras de hielo marino (634) y de océanos para conocer su distribución y los factores que la afectan (635) o bien para la especiación entre compuestos orgánicos e inorgánicos de hierro en aguas del mar pacífico (636).

Por último comentemos que si bien FIA y SIA han sido las técnicas más utilizadas para la determinación de hierro total o su especiación, en los últimos años la metodología MSFIA ha encontrado su aplicación aportando las ventajas de dicha técnica (637- 639) así como la metodología MCFIA (640).

Manganeso

La determinación de manganeso en aguas de consumo público y de uso industrial es interesante por la capacidad que tienen sus compuestos de provocar incrustaciones en las tuberías, disminuyendo el caudal, y generar manchas en la ropa. La fuente más corriente de manganeso en aguas superficiales y subterráneas es la erosión química y lixiviación de minerales y depósitos incrustados.

En bibliografía aparecen numerosos esquemas FIA en los que se acoplan métodos catalimétricos con detección espectrofotométrica que permiten determinar manganeso en los niveles habituales encontrados en las aguas no contaminadas, 0.01 a 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Se basan en el efecto catalítico del analito en reacciones de oxidación de compuestos orgánicos como N,N-dietilanilina (641), tiron (642), derivados de benzotiazolina (643), verde malaquita (644) y derivados de fenilenediamina (645) con agentes oxidantes como KIO_4 , H_2O_2 , Cr (VI) o V (V).

Otros esquemas FIA, con detección espectrofotométrica, útiles para aguas con concentraciones en manganeso en el margen de mg.L^{-1} se basan en utilizar reacciones en fase heterogénea como atrapamiento del analito formando complejo con PAN en un optrodo de membrana (646), oxidación de Mn^{2+} hasta MnO_4^- por bismutato sódico (647) u óxido de plomo (IV) (648) contenidos en reactores sólidos o bien utilizar reacciones de sustitución sobre el sistema Cd (II)-imidazol-porfirina retenido sobre un soporte sólido (649).

Numerosos esquemas FIA, para determinar especies de manganeso, se basan en medidas quimioluminiscentes a partir de la oxidación de tetracianoquinodimetano (650) o luminol (reacciones catalizadas por Mn (II)) (651) o bien previa oxidación del analito hasta MnO_4^- (652). La eliminación de interferencias se consigue mediante el uso de agentes enmascarantes o mediante el aislamiento del analito sobre soportes sólidos con intercambiadores iónicos o quelatantes (653, 654).

A título de ejemplo, en la Figura 84 se muestra el esquema de flujo para la determinación de manganeso en aguas de mar utilizando la reacción luminol- H_2O_2 catalizada por Mn (II) y midiendo la quimioluminiscencia generada. Las únicas especies interferentes, las de hierro, son eliminadas pasando la solución que contiene la muestra a través de una columna que contiene resina en la que está inmovilizado el complejante 8-quinolinol (654).

Los últimos métodos quimioluminiscentes comentados compiten en sensibilidad y selectividad con los métodos de flujo que combinan absorción atómica (con llama o electrotérmica) con preconcentraciones "on-line" con derivados de pirrolidenditiocarbamato (655), dialquilditiofosfato (656) o neT (657) y con etapas de lavado para eliminar interferencia (espectrales o químicas) (658).

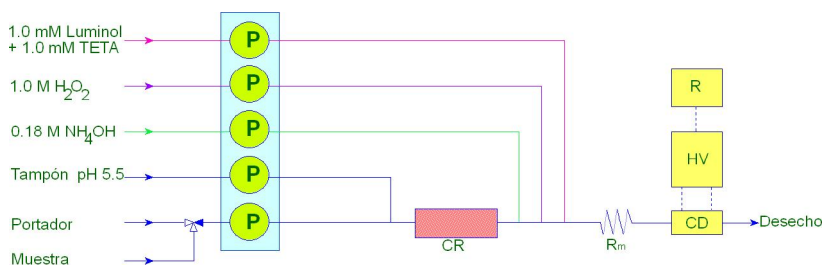


Figura 84. Sistema de flujo para la determinación de manganeso en agua de mar. P: bomba peristáltica, CR: columna de resina MAF-8HQ, Rm: reactor de mezcla, CD: celda del detector, HV: amplificador de señal, R: registrador.

B Iones metálicos tóxicos

Mercurio

El análisis de las especies de Hg en muestras acuáticas medioambientales es de enorme importancia para la calidad de las aguas debido a la toxicidad de dicho elemento y su capacidad para bioacumularse lo que constituye un peligro para el ser humano.

Los métodos más utilizados para la determinación de las especies de mercurio en aguas de mar, aguas residuales y potables, consisten en acoplar métodos de flujo FIA o SIA con la técnica de vapor frío y determinación posterior con absorción atómica. Normalmente se realiza una reducción “on-line” previa con cloruro de estaño (II) (659) o tetrahidrobórato potásico (660) en orden a generar Hg elemental a partir de Hg-inorgánico. Algunos autores han recomendado el uso de soluciones de Cr(II) por su capacidad para descomponer por reducción también los complejos yoduro-mercurio (661).

En la Figura 85 se muestra un esquema SIA característico para la determinación de las especies inorgánicas de mercurio utilizando NaBH_4 para generar Hg elemental, con separador gas-líquido y absorción atómica. Mediante esta técnica de flujo, el consumo de reductor, NaBH_4 es mucho más pequeño ($15\text{-}30\ \mu\text{L}$) que si se emplea un esquema similar FIA-cámara de vapor frío. El límite de detección es $0.1\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Hg.

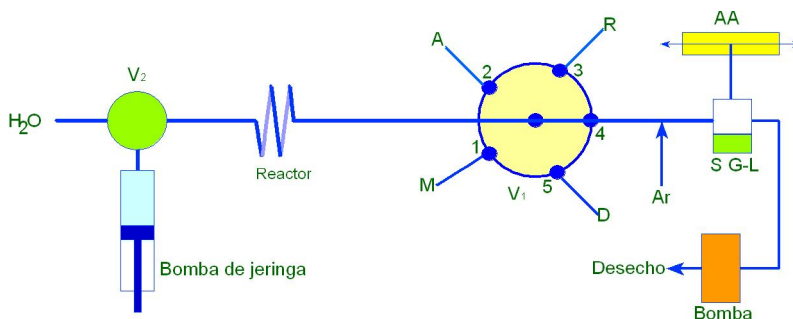


Figura 85. Sistema SIA para la determinación de las especies inorgánicas de Hg. V_1 : válvula de selección, V_2 : válvula de jeringa, A: aire, M: muestra acidificada, D: desecho, R: NaBH_4 , S G-L: separador gas-líquido, AA: Celda de cuarzo de absorción atómica.

No obstante, se consiguen límites de detección mejores usando un sistema de generación de vapor frío acoplando un sistema FIA a una lámpara de Hg, célula de cuarzo y detector de Hg (662).

Una estrategia para preconcentrar Hg consiste en utilizar una trampa de Au (lámina de Au-Pt) para amalgamarlo y un sistema de calentamiento, integrado en el sistema de flujo, antes de la detección (663). El Hg obtenido por reducción también ha sido determinado como amalgama usando un cristal piezoeléctrico con Au acoplado a un sistema automático microgravimétrico (664).

La preconcentración “on-line” del analito puede alcanzarse por diferentes procedimientos, antes de la detección mediante cámara de vapor frío y absorción atómica, con minicolumnas rellenas de diferentes materiales conteniendo 8-hidroxiquinoleína o imidoacetato (665) (Figura 86); extracción en fase sólida (666) o absorción del reactivo usado para la etapa de preconcentración [2-(5-bromo-2-piridolazo)-5-dietilaminofenol] en el interior de las paredes de un reactor (667). Todos estos sistemas han sido aplicados a la determinación de trazas de Hg inorgánico en aguas de mar y río. En el mismo contexto se ha ensayado la utilización de trampas de Hg con Ir, W y Zr en tubos de grafito antes del análisis mediante absorción atómica (668).

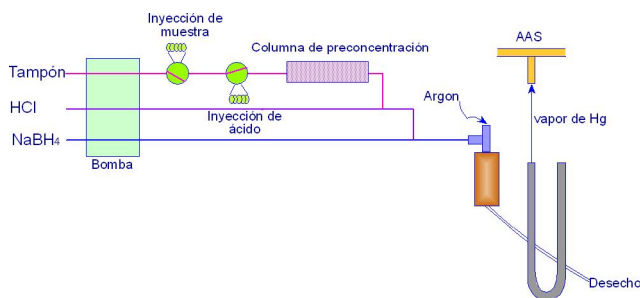


Figura 86. Sistema de preconcentración para el análisis de Hg.

Técnicas FIA y MSFIA con generación de vapor frío se han acoplado a otros sistemas de detección como la Fluorescencia Atómica (669), ICP-MS (670), o bien directamente absorción atómica (671).

Estas técnicas acopladas requieren métodos de preconcentración para poder determinar el analito a niveles de sub-ng.L⁻¹. Para ello se han utilizado la sorción de las especies de Hg en algodón empapado de H₂S (672), gel de sílice funcionalizada con grupos complejantes como 2-mercaptobencimidazol (673), metiltiosalicilato (674) o 1,5-bis (di-2-piridil) metileno tiocarbohidracida (675); sorción en fase inversa de los complejos Hg-tiofosfato (676) así como la técnica de extracción con “punto de nube” de derivados de Hg utilizando micelas de surfactantes no iónicos (670).

Otra estrategia consiste en transformar el Hg(II), en mercurio elemental y separarlo a través de una membrana difusora de gases. Amini y col (677) diseñan un esquema FIA insertando el concepto antes mencionado y determinando el Hg amperométricamente utilizando un electrodo de Au.

La determinación de compuestos ORGÁNICOS de Hg (metil-,etil-, amido- y fenil-mercurio) se puede realizar con los procedimientos antes mencionados y sólo se requiere transformar dichos compuestos en otros de naturaleza inorgánica. La reducción selectiva de Hg-inorgánico y Hg-orgánico se puede conseguir utilizando como reductor SnCl₂ en medio ácido y un agente más reductor como es el NaBH₄ (668).

Los métodos utilizados para la destrucción de compuestos orgánicos de Hg y que son fácilmente adaptables a sistemas FIA y SIA, incluyen normalmente digestión química, bajo temperatura controlada (678) usando ácidos fuertes y oxidantes químicos como Co(III) electrogenerado (679) o peroxidisulfato en medio sulfúrico (680) con la presencia de Fe(III) como catalizador (681); oxidación asistida por microondas a alta presión y temperatura (682), así como irradiación UV (683) acompañada de la utilización de Br⁻/BrO₃⁻ como mezcla de oxidación (684).

En la Figura 87 se muestra el esquema FIA para la determinación de Hg-TOTAL en aguas de mar con digestión previa utilizando la mezcla oxidante Br⁻/BrO₃⁻ y digestor UV, así como una malla de Au para la etapa de preconcentración por formación de amalgama (684).

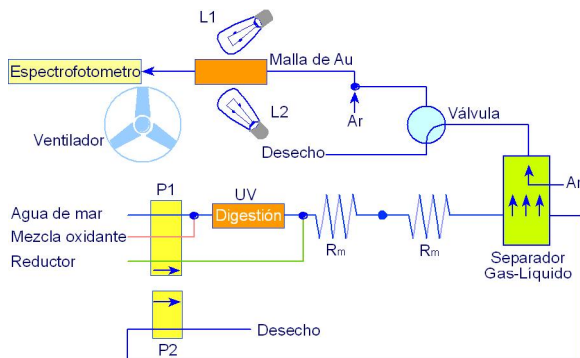


Figura 87. Sistema FIA para la determinación de Hg-total. L₁, L₂: Lámpara, P₁ y P₂: bombas peristálticas. R_m: reactor de mezcla.

Un sistema parecido, utilizando el efecto catalítico del Cu (II) sobre la descomposición química por SnCl₂ de los compuestos orgánicos de Hg, junto con una etapa de digestión UV, ha sido utilizado para la monitorización de Hg en el Río Elba (685).

La digestión de compuestos orgánicos de mercurio exige elevada temperatura y presión, lo que dificulta su uso en sistemas automatizados de análisis "in-situ". Esta dificultad ha sido eliminada utilizando irradiación ultrasónica a temperatura ambiente (686).

La ESPECIACIÓN DE COMPUESTOS o ESPECIES DE MERCURIO se puede realizar mediante butilación con un reactivo de Grignard y aislamiento posterior en un cromatógrafo de gases con una columna analítica no polar y detección con plasma inducido por microondas (687).

También se encuentra en bibliografía un esquema de flujo que combina FIA con cromatografía líquida y la técnica de vapor frío-absorción atómica (688).

Otra estrategia para la especiación utiliza la extracción líquido-líquido en continuo con especies bromuradas en xilenol, generación de vapor de Hg desde la fase orgánica y detección final con ICP (689).

De entre los métodos electroquímicos acoplados a sistemas de flujo cabe destacar los potenciométricos de redisolución usando o bien discos de Au

(690, 691) o bien láminas de Pt (692) como electrodos de trabajo o bien electrodos selectivos de membrana (693, 694) o uno con tetrayodomercuriato para la especiación de compuestos de Hg (695).

La inhibición que presenta el mercurio sobre la reacción enzimática de hidrólisis de la urea con ureasa ha sido aprovechada para determinar dicho analito en aguas. El esquema incorpora un módulo de difusión gaseosa para separar el NH_3 generado hacia una solución aceptora que luego es monitorizada con electrodo de pH (621).

También son útiles para la determinación indirecta de Hg inorgánico las reacciones de desplazamiento implementadas en sistemas FIA con detección luminiscente o espectrofotométrica. Por ejemplo la sustitución de Fe(II) en su complejo con AEDT puede ser acoplada a la reacción quimioluminiscente de luminol con oxígeno disuelto o también catalítico del analito sobre la reacción de sustitución de ligandos entre hexacianoferrato y α,α' -dipiridilo (697). El efecto catalítico del Hg(II) sobre la descomposición del hexacianoferrato es la base de un método quimioluminiscente muy sensible (698).

En algunos métodos la selectividad frente a otros cationes metálicos mejora mediante la adición en flujo continuo de diferentes enmascarantes. Esta estrategia química ha sido aplicada en la determinación espectrofotométrica con porfirinas cloradas solubles en agua (699) o la determinación fluorimétrica del complejo Hg-calceína en medio alcalino (700).

Cromo

El interés creciente por monitorizar este analito en el medio ambiente y, por lo tanto en los medios acuáticos, estriba en el conocimiento que se tiene de que su toxicidad depende del estado de oxidación. El Cr (III) es considerado como un elemento traza esencial para coordinar ligandos de aminoácidos en el organismo humano y normalmente se suministra como suplemento en la dieta. Por otra parte el Cr (VI) es tóxico para los humanos; al penetrar a través de la membrana celular puede provocar mutaciones genéticas por lo que es un cancerígeno potencial.

Ambos estados de oxidación aparecen en el medioambiente como consecuencia de la descarga de efluentes industriales provenientes de la industria del acero, electrodeposición y teñido. El cromo puede también incorporarse al medio ambiente pues se usa como inhibidor de la corrosión en conducciones y cañerías.

No son muchas las técnicas disponibles de flujo que alcancen la sensibilidad y selectividad adecuadas para determinar las especies de Cr en el medio acuático, fundamentalmente para Cr(VI). Normalmente se requieren técnicas previas de tratamiento de la muestra como es el aislamiento y preconcentración para poder determinar niveles bajos de Cr (VI) seguido con técnicas de determinación como ETAAS.

En este contexto, para la determinación de Cr (VI) en el margen de 5-500 ng.L⁻¹ es posible diseñar esquemas FIA conjuntados con ETAAS utilizando en continuo la extracción líquido-líquido con isopirrolidineditiocarbamato amónico en butilmetilcetona (701) o la adsorción del complejo antes indicado en el interior del tubo de reacción (702) así como la extracción en sorbentes después de la derivatización (703).

Estos esquemas FIA-ETAAS, que pueden tolerar elevadas concentraciones salinas en las muestras son adecuados para la determinación de Cr(VI) en aguas de mar después de las etapas de preconcentración con los métodos antes mencionados, o bien con la adsorción sobre soportes de celulosa funcionalizada o activada con grupos de amonio cuaternario (704).

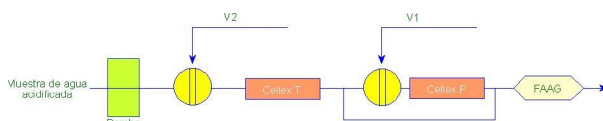


Figura 88. Diagrama esquemática para la optimización del sistema FIA-AAS con preconcentración en dos columnas para la determinación simultánea de Cr(III) y Cr(VI).

En la Figura 88 se muestra el diagrama de flujo para la determinación de Cr(III) y Cr(VI) mediante FAAS utilizando una minicolumna rellena con celulosa y ácido fosfónico (sorbente catiónico (cellex P) y otra (sorbente aniónico) (cellex T) rellena con celulosa y como grupos funcionales amonio

cuaternario; en la primera no se retiene el Cr(III) y en la segunda no se retiene Cr (VI) (704).

Las técnicas anteriormente mencionadas son también útiles para determinar tanto el cromo soluble, utilizando un filtro previo, como el cromo total de efluentes industriales mediante digestión con microondas antes de la detección (705).

Recientemente se han diseñado sistemas de flujo con ICP-AES o IC-MS acoplados con métodos de separación en microcolumna como métodos poderosos para la determinación sensible de Cr (VI) (706).

Debido a la diferente toxicidad de Cr(III) y Cr(VI) y para poder conocer los caminos de su interconversión en el medio acuático es importante monitorizar y realizar la especiación de ambos estados de oxidación así como conocer la concentración total de Cr.

El método espectrofotométrico más ampliamente utilizado para la secuenciación de Cr mediante FIA o SIA es la complejación de Cr(VI) con 1,5-difenilcarbocida (DPC) en medio ácido, el cual ha sido utilizado para la fabricación o diseño de sensores sólidos espectrofotométricos (707).

Antes de la formación del complejo se recomienda la introducción de microcolumnas con resinas de intercambio catiónico para eliminar otros cationes polivalentes (707) o la adsorción cuantitativa de Cr(VI) sobre alúmina activada (708) o gel de sílice modificada con óxido de Zr (709) así como óxido de Ti (IV) en polvo (710), para conseguir una determinación de Cr(VI) sensible y selectiva.

En la Figura 89 se muestran los esquemas FIA utilizados para la determinación espectrofotométrica de Cr (VI) por formación del complejo coloreado con difenilcarbocida en medio ácido. El esquema A es el sistema sin preconcentración, mientras que el esquema B engloba una microcolumna rellena de alúmina activada para la preconcentración del analito antes de su elusión y determinación (708).

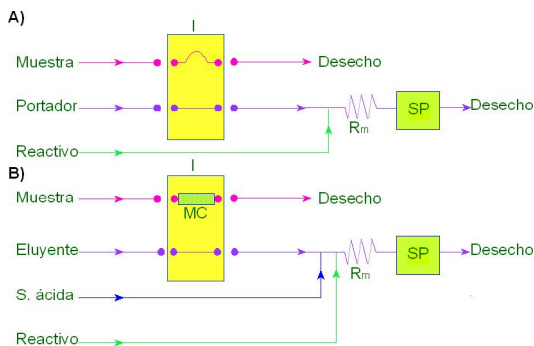


Figura 89. Sistemas FIA para la determinación espectrofotométrica de Cr. A): Sistema sin preconcentración. B): Sistema con preconcentración. Rm: reactivo de mezcla, SP: espectrofotómetro. MC: microcolumna de alúmina activada. I: inyector proporcional.

Un método también sensible se puede llevar a cabo mediante tecnología SIA con la modalidad de “película sobre el tubo”, basado en la formación de un par iónico entre el complejo Cr(VI)-DPC y perclorato, ClO_4^- , posterior extracción líquido-líquido en la película del disolvente orgánico colocada sobre la pared del reactor (PTFE) (711).

El reactivo diantipiril-(p-N,N,dimetilamino) fenilmetano ha sido utilizado como reactivo cromogénico para la determinación FIA de Cr (VI) en presencia de Mn (II) utilizando un método “on-line” de irradiación por microondas para acelerar la reacción de formación del complejo coloreado (712).

La especiación también es posible mediante la medida espectrofotométrica, en un esquema SIA, de Cr(III) y Cr(VI) en solución acuosa y en presencia de AEDT para incrementar la sensibilidad del color de Cr(III) y diferenciación matemática de la señal analítica mediante métodos multivariantes (713).

Muestras procedentes de efluentes industriales de procesos de galvanización conteniendo concentraciones de Cr (VI) en el margen 0.2 a 2,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ han sido monitorizadas midiendo el compuesto intermedio formado, aminocromo, a partir del alcaloide brucina (714).

Por otra parte, la determinación de CROMO TOTAL se consigue pretratando la muestra con agentes oxidantes (707) como peroxidisulfato, peryodato y Ce (IV) en medio ácido o usando una oxidación en fase sólida con columnas rellenas de PbO_2 y a temperatura elevada.

La especiación entre Cr(III) y Cr(VI) se puede también conseguir por formación del complejo Cr(VI)-4-(2-tiazolilazo) resorcinol a pH= 5.0 en presencia del ácido 1,2-ciclohexanodiaminotetraacético como enmascarante de Cr (III) (715).

La determinación selectiva en flujo continuo de Cr(III) utilizando absorción atómica con llama como sistema de detección se puede realizar usando "on-line" estrategias de coprecipitación basada en el aislamiento del precipitado formado con hidróxido de lantano retenido en un reactor (716).

La pobre recuperación que se alcanza reteniendo al Cr (III) en forma de complejo con ditiocarbamato puede ser incrementada por la utilización del complejo Mn(II)-ditiocarbamato como portador durante la determinación mediante FIA-FAAS (717).

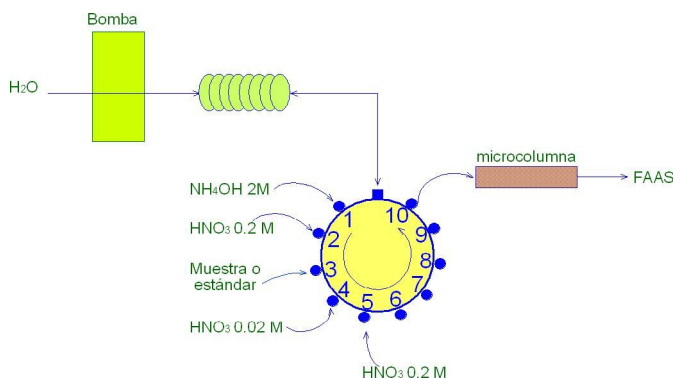


Figura 90. Sistema SIA para la determinación de Cr(VI) y Cr (III).

La sorción selectiva de Cr (III) sobre resinas conteniendo ácido polihidroxámico (718) o ácido poliaminofosfórico (704), es otro método usado como etapa de preconcentración antes de la detección por FAAS.

La concentración total de cromo puede ser determinada por reducción electroquímica de la muestra, Cr (VI) a Cr (III) en un electrodo que contiene oro depositado en carbon vítreo (719).

Otra estrategia para la especiación entre Cr (III) y Cr (VI) se puede conseguir en flujo continuo mediante sorción selectiva en columna de alúmina a pH = 7 y pH = 2 respectivamente. La elución selectiva posterior hasta el nebulizador del aparato de absorción atómica se realiza con ácido y después con solución alcalina para el Cr(III) y Cr(VI) respectivamente. Es posible así la especiación mediante FIA (720) y la determinación secuencial (721) (Figura 90).

Un procedimiento alternativo basado en la extracción con “punto de nube” del complejo Cr(III)-hidroxiquinoleína combinada con su determinación fluorimétrica permite la determinación de Cr(III) mediante esquema FIA (o Cr(VI) previa reducción con sulfito) a niveles tan bajos como $0.2 \mu\text{g.L}^{-1}$, en matrices acuosas complejas (722).

La inserción de microcolumnas en serie para la preconcentración automática y la especiación por elución seguida por su medida por absorción atómica, es otra estrategia para diferenciar Cr(III) y Cr (VI) (723).

Se han propuesto métodos FIA con detección quimioluminiscente altamente sensible y útiles para la especiación de los estados de oxidación del Cr en aguas de consumo humano y en aguas residuales (724). Tanto Cr(III) como Cr (VI) son determinados a partir de la luz emitida como resultado de la reacción catalizada de oxidación de luminol o N-etilftalihidracina con H_2O_2 en medio alcalino.

Se ha propuesto la determinación quimioluminiscente indirecta y en flujo continuo del anión CrO_4^{2-} generado “on-line” a partir de agentes oxidantes como hexacianoferrato (III), que oxida directamente al Cr (III) (725).

En la Figura 91 se muestra el esquema de flujo antes indicado para la determinación quimioluminiscente del Cr (VI) en aguas. Los reactivos involucrados en la reacción de quimioluminiscencia, luminol y hexacianoferrato (II), se encuentran inmovilizados en una minicolumna rellena de una resina aniónica. Cuando se pasa a través de dicha columna una disolución de fosfato

sódico, ambos reactivos son eluidos y mezclados con Cr (VI) en el sistema de flujo donde ocurre la oxidación del hexacianoferrato (II) hasta hexacianoferrato (III) que a su vez oxida al luminol generando luminiscencia. El sistema de flujo lleva incorporada una resina catiónica para separar los cationes interferentes. Un incremento en la sensibilidad a la hora de determinar Cr(III) se consigue introduciendo bromuro en la mezcla reaccionante a la vez que se consigue la selectividad por adición de AEDT (726) o mediante la incorporación de “bolitas” de resina catiónica en la célula de flujo (725). En este contexto un diseño novedoso de la célula de flujo para medidas quimioluminiscentes permite incrementar la sensibilidad un 50 % respecto a la célula en espiral clásica utilizada para monitorizar Cr(III) (727).

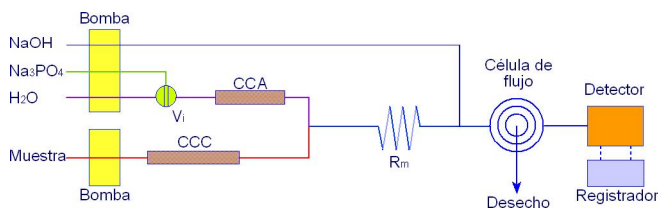


Figura 91. Sistema FIA para la determinación de cromo. *R_m*: reactor de mezcla. *V_i*: válvula de inyección. *CCA*: minicolumna rellena de una resina aniónica, *CCC*: minicolumna de cambio catiónica.

Niquel

El interés en la determinación de níquel se ha ido incrementando en los últimos años debido a nuevos conocimientos sobre la influencia de este metal en la salud humana.

Las especies inorgánicas de níquel, las formas solubles de níquel, tienen un efecto adverso al contacto con la piel produciendo dermatitis. Su inhalación puede originar irritación pulmonar y asma. Por otra parte bioensayos de carcinogénesis en animales muestran que ciertos compuestos de níquel tienen potencialidad cancerígena cuando entran a través de rutas perentales.

Por este motivo se necesitan métodos analíticos seguros, sensibles y selectivos para la determinación de este elemento en el medio acuático.

Los métodos de flujo más utilizados, tanto FIA como SIA se combinan con absorción atómica, con llama o atomización electrotrémica, y permiten la determinación de níquel a bajos niveles de concentración tanto en aguas de ríos o mares como de efluentes industriales.

Cuando sea necesario se pueden acoplar “on-line” sistemas de preconcentración como son la extracción en fase sólida con minicolumnas conteniendo dimetilglioxima o dietilditiocarbamato en gel de sílice (728) o fullereno C₆₀ (729). Otros procedimientos de preconcentración son la extracción con “punto de nube” en medio micelar (730), la coprecipitación del analito con Cu(II)-dietilditiocarbamato (731) así como la generación de compuestos volátiles (por ejemplo níquel tetracarbonilo) y su atrapamiento en el tubo de grafito (732). También se han diseñado esquemas de flujo en los que las bolitas de resina en las que se retiene el analito de diferentes maneras son eluidas y transportadas directamente al atomizador (733).

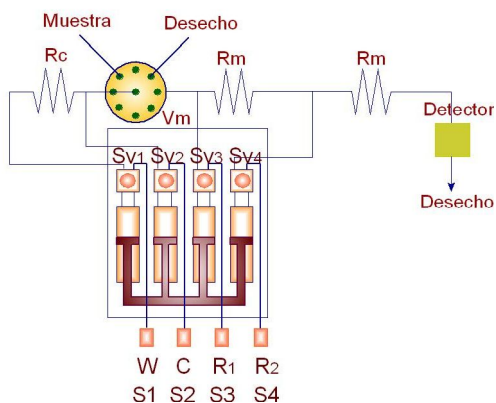


Figura 92: Sistema MSFIA para la determinación espectrofotométrica de Ni(II). R₁: reactivo oxidante, R₂: reactivo cromogénico, C: portador (citrato amónico), W: desecho, Rm: reactor de mezcla, Vm: válvula de multiposición, SV_x: válvulas de solenoide, S_x: bomba de jeringa.

De entre los métodos electroquímicos se puede citar un esquema de flujo que ha sido aplicado a la monitorización de níquel, en niveles de traza, que

se basa en una etapa de preconcentración del analito como dimetilglioximato seguida de una redisolución por reducción (734).

Se han descrito métodos espectrofotométricos en flujo continuo en los que se emplean los compuestos Ni(DMG)₂ o Ni-PAN para retener el analito; la detección se realiza en fase sólida en forma de optrodos (735).

En la Figura 92 se ilustra un método de flujo continuo con la tecnología de MSFIA para la determinación espectrofotométrica de Ni en efluentes metalúrgicos, usando un sistema multicanal en el que la muestra reacciona con el agente oxidante (I₃⁻) y el reactivo cromogénico (DMG) (736).

La velocidad controlable de la reacción de disociación del complejo Ni (II) - citrato en medio alcalino es la base química de un método SIA para determinar el analito en presencia de Co (II) (737).

Plomo

Los efectos adversos que provoca la exposición al plomo constituyen uno de los temas más conocidos del desarrollo industrial. Las aguas residuales son el mayor foco de exposición a metales pesados. El plomo entra en ellas como resultado de la corrosión de materiales que contienen el metal utilizados para los sistemas de distribución de aguas. Dada su toxicidad, su concentración está regulada en las aguas de bebida estableciéndose un nivel paramétrico de 15 µg.L⁻¹.

El modo más atractivo para la determinación de trazas de plomo en aguas con límites de detección del orden de 0.01 a 8.0 µg.L⁻¹ consiste en la conjunción FIA o SIA con FAAS y la utilización de microcolumnas para la preconcentración "on-line" (738).

De entre los métodos de concentración "on-line" más utilizados cabe destacar la extracción en fase sólida y la inmovilización de quelatos. Se ha utilizado resina Chelex-100 con grupos inmovilizados de imidoacetato (739), sorbentes conteniendo 8-hidroxiquinoleina o violeta de pirocatecol (740) así como sal nitroso/aliquat 336 (741) inmovilizados en bolitas de vidrio de poro controlado o en gel de sílice modificada.

A título de ejemplo, en la Figura 93 se muestran los esquemas de flujo (FIA) para la determinación espectrofotométrica de Pb en aguas, tras una etapa de preconcentración. El método de determinación se basa en la extracción de Pb^{2+} , en medio ácido, con el éter corona diciclohexil-18-crown-6 en cloroformo. El extracto orgánico que contiene el compuesto de plomo se mezcla posteriormente con una disolución orgánica de ditizona que contiene trietanoamina (tamponante) donde ocurre la reacción de desplazamiento, formándose el ditiozonato de plomo que absorbe a 612 nm.

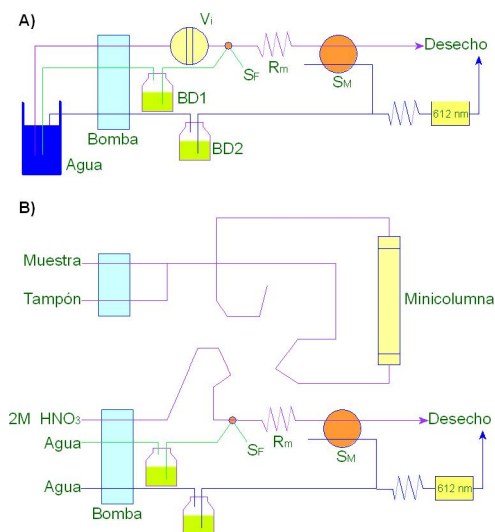


Figura 93. A): Sistema FIA para la determinación de Pb sin columna de cambio iónico para la preconcentración. B): Sistema FIA para la determinación de Pb con columna de cambio iónico para la preconcentración. V_i : válvula de inyección, S_M : separador de membrana, R_m : reactor de extracción, S_f : segmentador de fase, BD1: $CHCl_3$, BD2: ditizona y TEA en cloroformo.

Si se desea preconcentrar la muestra, se puede utilizar una minicolumna rellena de chelex-100 en su forma NH_4^+ y como eluyente tampón acético/acetato para incorporar el analito preconcentrado al sistema de determinación (740).

La selectividad de la 8-hidroxiquinoleína inmovilizada para las cantidades traza de plomo frente a metales como Fe, Cu y Zn se puede incrementar por la inclusión de diferentes agentes complejantes en el portador del sistema de flujo (742).

La preconcentración de Pb(II) en intercambiadores iónicos (por ejemplo, fibras de alúmina activada o hidroxiapatito) en esquemas de flujo también ha sido utilizada (743), antes de la determinación por absorción atómica.

En bibliografía se ha descrito un método SIA para la determinación de Pb en aguas utilizando como método de preconcentración la capacidad de sorción del co-polímero poli(vinilpirrolidona) en capas de filtro (744).

Son numerosas las investigaciones que recomiendan celulosa funcionarizada como sorbente (745), con grupos carboximetilo o ácido fosfónico, debido a sus excelentes propiedades dinámicas de retención así como su capacidad para diferenciar entre especies inorgánicas de plomo y especies orgánicas (740).

La sorción de quelatos de oxina y ditiocarbamato (746) así como los amoniacaes (747) y los que forma el Pb (II) con 1-nitroso-2-naftol (748) en solución, en resinas poliméricas no polares o en el interior de la pared de los tubos de teflón son procedimientos habituales de preconcentración "on-line" acoplados a los esquemas FIA con detección por FAAS (749).

Para dichos fines de preconcentración también se ha utilizado un proceso de coprecipitación usando dietilditiocarbamato de Zn o Copirrolidenoditiocarbamato (750).

La extracción líquido-líquido en continuo ha sido utilizada en esquemas FIA como método de preconcentración. En bibliografía se describe un sistema de flujo que utiliza una doble extracción; comienza por una en fase sólida y continua por la extracción líquido-líquido como par iónico formado entre el anión yodo-plumbato y el catión tetrabutilamonio (751).

Sistemas FIA (752) y de flujo multiconmutado (729) con extracción en sorbentes después de formar complejos con ditiocarbamato (753) o Tirón (754) conectados con métodos de detección por ETAAS son capaces de determinar Pb en aguas de mar desde 3-9 ng.L⁻¹ (752).

La retención de los quelatos de Pb (II) en la pared interna de los tubos de PTFE de los reactores se combina con la elución etanólica con segmentación por aire, para reducir el volumen del eluyente y minimizar la dispersión del analito en su transcurrir hasta el interior de la cámara del grafito (755).

Un método electroquímico de preconcentración “on-line” utiliza una célula con Pt como ánodo y el atomizador como cátodo (756).

La idea atractiva de acoplar FIA y generación de hidruros con determinación por absorción atómica es posible realizarla con una etapa de preoxidación previa de la muestra en medio ácido (757) (hexacianoferrato-ácido clorhídrico, peroxidisulfato-ácido nítrico, dicromato-ácido láctico y peróxido de hidrógeno-ácido nítrico). El Pb (IV) generado es transformado en el hidruro volátil por tetrahidroborato sódico o tetraetilborato (758).

Se han dado a conocer técnicas de flujo continuo basadas en procedimientos de extracción cromatográfica que tienen como base la formación de un complejo de inclusión utilizando éteres corona 818-crown-6) funcionalizados (759) y adsorción en tubos de PTFE (760) o preconcentración en microcolumnas (761), que al ser acopladas a ICP-MS son capaces de alcanzar límites de detección del orden de $0.2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. La incorporación de un nebulizador ultrasónico antes del ICP junto con la implementación de procesos de extracción/elución sobre sorbentes utilizando disolventes orgánicos como metanol y etanol, permite diseñar esquemas de flujo muy sensibles (762).

En el campo de las técnicas electroquímicas se han descrito esquemas FIA con modalidades de redisolución, utilizando electrodos de película de Hg modificado con triacetato de celulosa (763) o Nafion (764). En el mismo contexto, la voltametría de redisolución con onda cuadrada ha demostrado su efectividad en el análisis de Pb (II) en aguas de consumo humano. Por otra parte se han preparado membranas de cloruro de polivinilo conteniendo especies sustituidas del diazociclooctadecano y se han utilizado en esquemas FIA para la determinación potenciométrica de Pb (II) en aguas en el margen de 6 a 2 ppb (765).

Los primeros métodos que se pusieron a punto en flujo continuo para la determinación de Pb (II) en aguas, lógicamente fueron los métodos espectrofotométricos clásicos, con incremento de la selectividad mediante extracción líquido-líquido “on-line” (739) o aumentando la sensibilidad mediante etapas de preconcentración en microcolumnas (765). Como agentes cromogénicos se han usado ditizona, 4-(2-piridilazo) resorcinol o tirodina (739) (765).

Otra reacción coloreada empleada en técnicas de flujo es la que ocurre entre Pb (II) y porfidinas funcionalizadas a diferentes valores de pH, la interferencia de otros metales se puede minimizar por adición a la mezcla reaccionante de acetilacetona (766).

Se ha diseñado un esquema FIA para la determinación espectrofotométrica de Pb (II) basado en el efecto catalítico sobre la reacción de reducción de resazurina por sulfuro sin preconcentración previa y que tiene un límite de detección de $1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (767).

Otras alternativas publicadas involucran la quimioluminiscencia del sistema lucigenina-peróxido de hidrógeno-Pb (II) y la reacción de desplazamiento de Fe (II) por Pb (II) a partir del complejo Fe (III) - AEDT antes de la oxidación de luminol. En el campo novedoso de los sensores ópticos se ha publicado el diseño de un sistema óptico para la determinación de trazas de Pb ($> 0.01 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) basado en la formación del complejos sulfonato de quinoleina y posterior inmovilización en la superficie de una resina aniónica en forma de bolitas para la medida de la fosforescencia a temperatura ambiente (768).

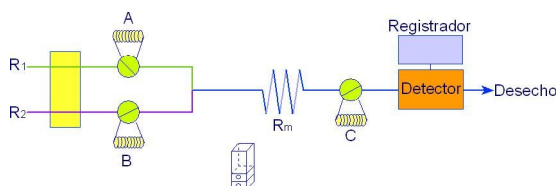


Figura 94. Sistema FIA con la técnica de confluencia de zonas. A: volumen de muestra, B: reactivo complejante (ácido 8-hidroxi-5-quinoleina sulfónico), C: válvula de inyección (HCl), R₁, R₂: Portador.

En la Figura 94 se muestra este último esquema de flujo en el que mediante la técnica de confluencia de zonas se mezcla un volumen de muestra (A) con otro de reactivo complejante (B) (ácido 8-hidroxi-5-quinoleina sulfónico). El complejo formado llega hasta la célula del detector (D) donde se retiene en las bolitas de resina que allí se encuentran (Dowex 1x2-200) midiéndose la fosforescencia ($\lambda_{exc} = 395 \text{ nm}$; $\lambda_{em} = 595 \text{ nm}$). Terminado el proceso de medida, se inyectan por la válvula C, 500 μL de HCl 6M para eliminar el complejo de la resina.

Cobre

El cobre es un elemento traza esencial, un componente de los pigmentos respiratorios de los crustáceos denominado hemocianina y está normalmente presente en el medio acuático-marino, donde puede alcanzar niveles tóxicos para animales y plantas. Su incremento en las aguas marinas se debe a la descarga de efluentes domésticos e industriales, aguas de lixiviado de minas, refineries y su uso como fungicida. Esta es la razón por la que es importante monitorizar este metal en el medio ambiente para controlar su peligrosidad para el ser humano.

Para esta monitorización, la combinación entre técnicas de flujo y determinación mediante absorción atómica (tanto llama como electrotérmica) es la metodología más aceptada para la determinación de Cu a nivel de trazas con límites de detección del orden de $0.06 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Son numerosos los métodos FIA y SIA que involucran preconcentración "on-line" o eliminación de matriz que han sido diseñados para la monitorización "in-situ" (769). Se basan en el uso de reactores empaquetados con materiales de fase inversa, sorbentes poliméricos, intercambiadores iónicos clásicos o resinas complejantes conteniendo violeta de pirocatecol (770), o azocompuestos heterocíclicos (771), como calmadita (772) o 1-(2-piridilazo)-2-naftol (771).

Ligandos tales como dietilditiocarbamato amónico o sódico (773) o 1-nitroso-2-naftol (774) pueden ser usados como reactivos en solución o bien

utilizados para procesos de sorción del complejo Cu-ligando formado sobre gel de sílice (774), carbón activado (775) o en el interior de tubos de PTFE (776) o sistemas filtrantes (773); todo ello en sistemas de flujo con los métodos de detección ya comentados.

Dentro de los esquemas FIA-AAS la extracción líquido-líquido se ha incorporado "on-line" para procesos de separación y concentración(777), así como la metodología de extracción en "película" (wetting film") (778) con agentes complejantes (8-hidroxiquinoleina; (778), o un derivado halogenado (777, 779) disuelto en isobutil-metil cetona (778) o en una mezcla de disolventes (779), o técnicas de coprecipitación usando Ni (II)-dietilditiocarbamato como agente precipitante.

La combinación de estos esquemas con un dializador en continuo permite la dilución de muestras lo que permite abordar el análisis de cobre en efluentes industriales donde existe un margen muy variable de concentraciones (780).

Los métodos espectrofotométricos para la monitorización de cobre en aguas naturales y efluentes industriales, tienen la ventaja de su sencillez frente a los de AAS. De entre los reactivos utilizados para dichos métodos se pueden citar derivados N,N-sustituídos del ácido ditiocarbámico como el dietilditiocarbamato, que genera con el analito un complejo coloreado lo que permite su determinación en fase acuosa o después de una extracción líquido-líquido (781).

Un nuevo derivado del ácido ditiocarbámico, 4-metilpiperidina ditiocarbamato (782) ha sido propuesto como reactivo cromogénico para la determinación de cobre a niveles $> 25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ introduciendo "on-line" en el sistema FIA una columna con una resina catiónica (783) (Figura 95).

El par iónico que forma el complejo $\text{SCN}\cdot\text{Cu}(\text{II})$ con tetrabutilamonio ó tetrafenilarsonio extraído en cloroformo es la base química de un método FIA para la determinación muy selectiva de Cu (II) en efluentes industriales (784). La determinación fotométrica de Cu (II) en flujo continuo también es posible

utilizando complejantes heterocíclicos como la sal nitroso-R (785) y 4-(2-piridilazo) resorcinol (PAR) (786).

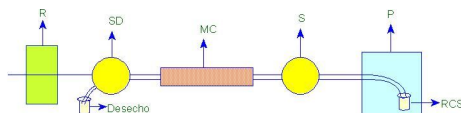


Figura 95. Sistema para la determinación espectrofotométrica de Cu(II). P: bomba de HPLC, RCS: solución (4-MPDC, 80 % etanol, 10 % cloroformo + 10 % tampón acético/acetato), S: válvula de inyección, MC: microcolumna, SD: detector espectrofotómetro, R: registrador.

Rumori y col (787) ponen a punto métodos FIA-inverso y SIA para la determinación espectrofotométrica de Cu(II) con cuprizona (hidrazida del ácido oxálico-bis-ciclohexilideno).

Por otra parte, muchos de los métodos antes mencionados, por ejemplo el sistema Cu (II) - PAR, para eliminar las interferencias de otros cationes requieren la adición en flujo continuo de reactivos enmascarantes (AEDT, citrato, tartrato, hidroxilamina o hexacianoferrato) o bien diferenciaciones cinéticas (cuando se usa el piridilazo) (620) o etapas de preconcentración en resinas selectivas, involucrando el uso de poliméricos como poli(etilenimina) (786) o bien especies complejantes inmovilizadas (788).

Se encuentra en bibliografía un método espectrofotométrico para la determinación de Cu(II) mediante la metodología FIA con extracción líquido-líquido en continuo del complejo ternario Cu-batocuproina-perclorato (789). El uso de microemulsiones como medio para realizar extracciones líquido-líquido también ha sido utilizado para el sistema Cu(II)-neocuproina (790). En la Figura 96 se muestran los esquemas FIA de este último trabajo, en el que los autores disuelven la muestra en la microemulsión (a); utilizan la microemulsión "on-line" W/O (b) o utilizan la microemulsión O/W (c). La microemulsión preparada está formada por la mezcla de heptano y dioctilsulfosuccinato (DOSS) en su forma sódica.

El efecto catalítico del Cu a nivel de trazas ha sido aprovechado para diseñar métodos de flujo basados en reacciones catalíticas. Así, por ejemplo, el acoplamiento oxidativo de N-fenil-p-fenilenediamina con m-

fenilenediamina en presencia de peróxido de hidrógeno como oxidante así como piridina y amoníaco como activadores, es la base de un método catalítico fotométrico para la determinación de Cu (II) en aguas por encima de $0.1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (791). Otra alternativa es la reacción, catalizada por Cu (II), de acoplamiento entre p-anisidina con N,N-dimetilanilina activada con diferentes compuestos heterocíclicos. Las reacciones redox entre 2,6,diclorofenolindofenol con H_2O_2 (792) o cisteina con Fe (II) en presencia de 1,10,fenantrolina (793), catalizada por trazas de Cu (II) han sido aplicadas en el desarrollo de métodos FIA con detección fotométrica para la determinación del analito entre 5.0 y $70 \mu\text{g.L}^{-1}$ y 0.1 - $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ respectivamente.

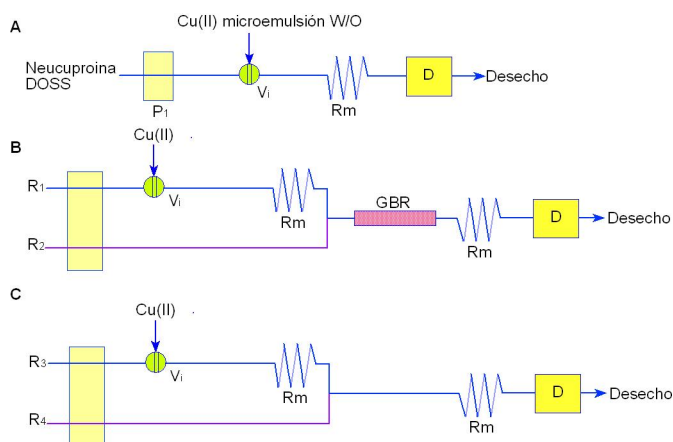


Figura 96. Sistema FIA para la complejación de Cu disuelto con neocuprina. A) Muestra disuelta en la microemulsión, B) Microemulsión "on-line" W/O, C) Microemulsión O/W. R₁: ácido ascórbico, acetato sódico, DOSS; R₂: neocuprina, DOSS en heptano; R₃: DOSS (dodecilsulfato de sodio), R₄: neocuprina, O/W microemulsión, GBR: reactor con bolitas de poro controlado.

En la Figura 97 se muestra el esquema FIA en el que se realiza esta última reacción.

La monitorización "on-line" de cobre en aguas procedentes de calderas se ha realizado mediante la reacción de oxidación de hidroquinona por agua oxigenada, catalizada por Cu(II). La quinona producida es medida a 490 nm (794).

En bibliografía aparece un método de quimioluminiscencia que se basa en el sistema ternario luminol-oxidante-Cu(II). Otros sistemas similares se

basan en la catálisis del Cu(II) sobre la reacción de oxidación quimioluminiscente entre Co (II) y 1,10-fenantrolina (795).

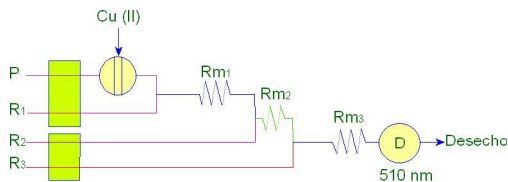


Figura 97. Sistema FIA para la determinación catalítica de cobre (II). P: HNO_3 R₁: cisteína + tampón acetato, R₂: Fe (III), R₃: 1,10, fenantrolina, R_{m1}, R_{m2} y R_{m3}: reactores.

Un esquema FIA con detección quimioluminiscente basado en la reacción entre Cu (II) y 1,10-fenantrolina y posterior oxidación del complejo formado por H_2O_2 se muestra en la Figura 98 (796), y ha sido aplicado a la determinación de cobre disuelto en agua de mar, así como para estudios de especiación y complejación (797) lo que tiene interés en los ecosistemas marinos.

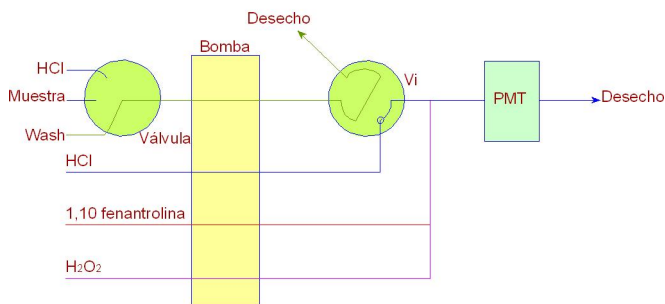


Figura 98. Sistema FIA con detección quimioluminiscente para la determinación de cobre. Vi: válvula de inyección (8-hidroxiquinoleína).

Dado que más del 95 % del cobre disuelto en agua de mar se encuentra en forma de complejos orgánicos, se requiere una etapa previa de digestión-UV, para destruir estos, antes de la determinación quimioluminiscente del Cu (II) disuelto (798).

El efecto de la fotólisis sobre la captación del Cu (II) por parte de ligandos como glicina, ácido nitrilotriacético y AEDT, ha sido investigada usando la conjunción FIA-AAS y una columna quelatante "on-line" (799).

Mediante la conjunción FIA-AAS (llama) se diseña un esquema de flujo que incorpora dos columnas de intercambio iónico para diferenciar entre las fracciones lábiles y cargadas negativamente de entre los complejos orgánicos de Cu (II) (800).

La diferenciación entre complejos inorgánicos lábiles de Cu(II) disueltos y orgánicos no lábiles disueltos se logra mediante técnicas de flujo y sistemas electroquímicos de detección como voltametría de redisolución anódica (en su modalidad de diferencial de impulsos) (801).

El SIA ha demostrado su potencialidad para realizar voltametría de redisolución anódica, en flujo continuo (802), para la determinación de Cu (II) en aguas residuales.

También es posible obtener información sobre la fracción labil de cobre mediante esquemas de flujo que utilizan como técnica de detección la potenciometría de redisolución (803).

Recientemente se han dado a conocer métodos de flujo continuo que incorporan un electrodo selectivo de iones Cu(II) y que permite determinar el cobre libre y el cobre total usando un procedimiento de extrapolación, basado en una ecuación matemática empírica (potencial frente a tiempo de respuesta del electrodo) (804). Asimismo se ha diseñado un electrodo sensible a Cu (II) libre (electrodo Cu/CuS), construido insertando un tubo de cobre tratado con $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ en un tubo de tygón que trabaja en condiciones de flujo continuo (805).

Se ha propuesto un método de flujo para la monitorización de Cu(II) en muestras acuosas, que combina una etapa de preconcentración en una resina catiónica Chelex-100 contenida en una minicolumna y la detección en una célula polarográfica de flujo con tres electrodos (de gotas de Hg, pozo de Hg y Pt como electrodos de trabajo, referencia y auxiliar respectivamente) (806).

Citemos, por último, otros métodos de flujo continuo que utilizan técnicas electroquímicas para la detección de Cu (II) método amperométrico basado en la oxidación del complejo Cu-DDTC (dietilditiocarbamato) utilizando un microelectrodo de Pt convenientemente situado en una célula de

flujo (807) y polarografía diferencial de impulsos para la medida del cobre preconcentrado sobre un electrodo de carbono modificado químicamente (808).

Cadmio

El cadmio es un elemento que a nivel de trazas juega un importante papel en los metabolismos biológicos, pero es altamente tóxico.

Si bien, como veremos, para su determinación se han desarrollado numerosos métodos de flujo continuo con detección espectrofotométrica o electroquímica, los métodos más utilizados en los laboratorios especializados prefieren acoplar AAS con llama (809) u atomización electrotérmica (810), ICP-AES (811) o generación de vapor-ICP-MS con dilución isotópica (812).

El análisis directo de cadmio en aguas de mar, casi nunca es posible por la elevada concentración salina de la muestra y el bajo contenido en analito. El último problema se resuelve mediante técnicas de preconcentración como son la coprecipitación con un quelato de Cu, la extracción líquido-líquido usando ditizona como extractante, sorción sobre reactores sólidos y extracción sólida en microcolumna (813).

La extracción en microcolumna incorporada a los sistemas de flujo ha sido muy usada debido a los altos factores de preconcentración que alcanza. Así, en sistemas FIA o SIA se han utilizado "on-line" minicolumnas rellenas de resina con 2-mercaptobenzotiazol, especies de ditiocarbamato (814) o ácido forfónico (815) inmovilizados para retener de modo directo el analito o gel de sílice-octadecil (816) y amberlita polimérica (817) como sorbentes para retener temporalmente el analito en forma de complejo para su determinación en aguas de mar, río y efluentes industriales por encima de 0.5 ng.L⁻¹.

La mayoría de las veces se utilizan agentes complejantes como dietilditiocarbamato sódico (813), ácido iminodiacético (810) (Chelex-100), 1-(2-piridilazo)-2-naftol (818) y compuestos azo-heterocíclicos como 4-(2-piridilazo) resorcinol (819) y 2-(5-bromo-2-piridilazo)-5-dietilaminofenol (817). En la última década se han sintetizado sorbentes con base de sílice con ligandos orgánicos como 1,5-bis(di-2-piridilmetileno) tiocarbohidrazida y metiltiosalicilato (811) así

como materiales poliméricos de fase inversa (809) que conducen a altos factores de enriquecimiento.

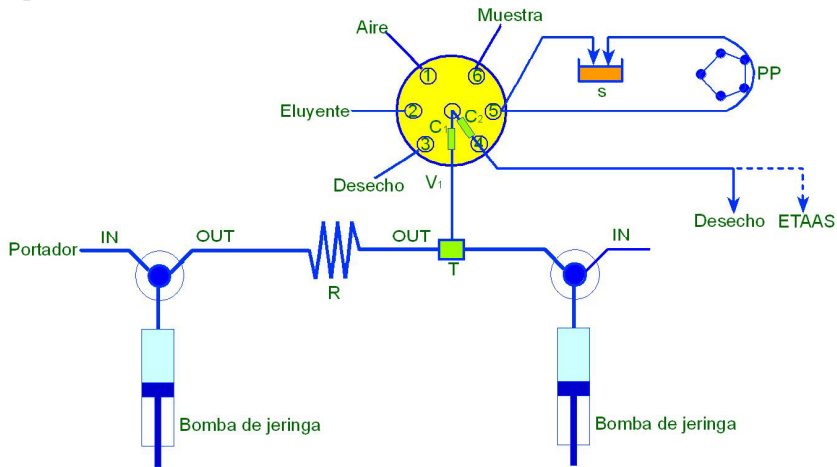


Figura 99. Sistema SIA para la determinación de cadmio usando PTFE. PP: Bomba peristáltica, T: conector, R: reactor, Vi: válvula de inyección.

La tercera generación del FIA, también llamada inyección secuencial, SI, "lab-on-valve", introduce esferas renovables para procesos de adsorción o quelación; (de PTFE o copolímeros de octadecil-modificado) para la determinación de cadmio, $> 5 \text{ ng.L}^{-1}$ (820) en aguas medioambientales (Figura 99).

Se han desarrollado esquemas de flujo para la especiación de Cd en muestras de agua incluyendo diferentes técnicas de separación y detección. Dos fracciones diferentes de importancia medioambiental (Cd disponible y no disponible para la bioacumulación por los organismos acuáticos) se pueden determinar mediante discriminación cinética usando diferentes sorbentes ya mencionados: una resina Chelex-100 para la fracción lábil, constituida por Cd^{2+} y complejos débiles de cadmio, y una resina con gel de sílice-octadecil que es útil para retener los complejos orgánicos de cadmio estables (821).

La especiación ha sido conseguida mediante un esquema de flujo que utiliza una célula especialmente diseñada para realizar voltametría de redisolución anódica. El sistema de flujo lleva también integrada una unidad de filtración, una de separación y enriquecimiento además de la unidad electroquímica. Ha sido automatizado para la determinación de Cd^{2+} , Zn^{2+} ,

Cu^{2+} y Pb^{2+} (822). La misma técnica de detección ha sido utilizada en sistemas FIA con unidades de diálisis que contienen resinas catiónicas sulfonadas (fluorocarbono) para la determinación de la concentración de cadmio libre en muestras acuosas que contienen complejos orgánicos del ión (823).

Es posible diferenciar hasta tres fracciones de cadmio por la inserción de microcolumnas rellenas con Chelex-100 y una resina catiónica fuerte y utilizando AAS como sistema de detección (824).

La generación de compuestos volátiles de cadmio en sistemas FIA acoplados a AAS permite la determinación de cadmio a niveles de trazas en aguas naturales y residuales (825, 826). La eliminación de metales interferentes como Cu, Pb, Ni y Zn se consigue fácilmente por adicción de cianuro a la solución de reductor (tetrahidrobórato) (827). En este mismo contexto se pueden usar tubos de grafito con revestimiento de Ir, W o Zr para atrapar "in situ" las especies volátiles de cadmio antes de su atomización en horno de grafito (828).

También se han incorporado a los esquemas de flujo detectores potenciométricos constituidos por electrodos tubulares con doble membrana cristalina (829). Son útiles para la determinación de cadmio libre en presencia de ligandos (830) o bien complejos halogenados de dicho analito (831). Debido a la limitada selectividad de los detectores potenciométricos se recomienda para evitar interferencias la retención cuantitativa de los cloro complejos de cadmio en una resina de intercambio aniónico (829).

En cuanto a los sensores ópticos se refiere, se ha incorporado a sistemas de flujo un optrodo de reflectancia difusa que incorpora piridolazo como reactivo cromogénico y que determina cadmio disuelto a niveles de $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ usando métodos de diferenciación cinética tanto en flujo continuo como con la modalidad de parada de flujo (832).

Cinc

El conocimiento de la concentración de cinc en las aguas ambientales tiene un doble interés, como nutriente y como tóxico. Aparece en efluentes

industriales (metalurgia, galvanoplastia, aleaciones) y en el mar su mayor aporte se debe a la deposición atmosférica, lluvia y efluentes en la costa.

Se sabe perfectamente que su concentración en el agua de mar tiene un perfil vertical, se acumula en las partes altas en el fitoplacton y desciende en profundidad asociado con partículas coloidales. Recientes estudios han demostrado que en aguas de mar la mayor parte del cinc soluble se encuentra en forma de complejos orgánicos.

Concentraciones de cinc soluble en el margen 0.1 a $500 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ han sido determinadas en aguas residuales, aguas de río y mar mediante un esquema FIA que incorpora un reactor sólido para efectuar preconcentraciones. El reactor está relleno de espuma de poliuretano para la retención de los complejos Zn-isocianato (833). Otros métodos de aislamiento y preconcentración utilizados han sido: gel de sílice funcionalizada con derivados de tiocarbohidracida (834), carboximetilcelulosa con 8-hidroxiquinoleina o grupos tiocianato (835), así como la inmovilización temporal del complejo Zn-8HQ en carbono activado (836) y adsorción del complejo Zn-piridilazoaminofenol en tubos de PTFE (837). En todos estos casos como sistema de detección se utiliza AAS con llama o horno, así como ICPMS con dilución isotópica.

La determinación espectrofluorimétrica de Zn a niveles de $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ se consigue con la complejación selectiva del metal con la tiocarbohidrazona del salicilaldehído (760) o la complejación con una quinoleina (p-tosil-8-aminoquinolina) (761) o 5,7-dicloro-2-metilquinolín-8-ol (762) en un medio micelar no iónico. En el último caso se necesita acoplar una resina catiónica para eliminar la intererencia de los iones metálicos de alcalinos y alcalinotérreos.

En la Figura 100 se muestran los esquemas de flujo para la determinación fluorimétrica de Zn, en medio micelar (Brij 35), previa formación del complejo con DCMQ. Dichos esquemas no incluyen la etapa de separación de interferencias.

Se encuentran en bibliografía esquemas FIA para determinar cinc soluble en aguas, aprovechando la diferenciación cinética basada en la

formación de complejos con metaloporfirinas catalizada por la presencia de imidazol y su determinación fotométrica (841).

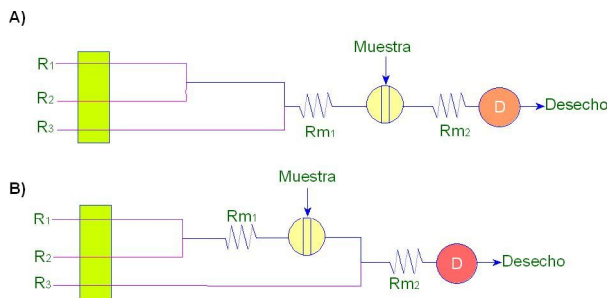


Figura 100. Sistema FIA para la determinación fluorimétrica de Zn. R₁: Solución Tampón, R₂: Brij-35, R₃: DCMQ (5,7-dicloro-2-metilquinolein-8-ol), R_{m1} y R_{m2}: reactores.

También se han utilizado como reactivos cromogénicos diazo-compuestos policíclicos sustituidos. Se describe en bibliografía un sistema FIA automatizado basado en el método clásico del cincón pero aprovechando la diferente velocidad en la reacción de desplazamiento entre los complejos cianurados metálicos y ciclohexanona. Bajo condiciones experimentales adecuadas al Zn²⁺ se libera rápidamente para formar con cincon un complejo de estequiometría 1:1 que se monitoriza espectrofotométricamente (842).

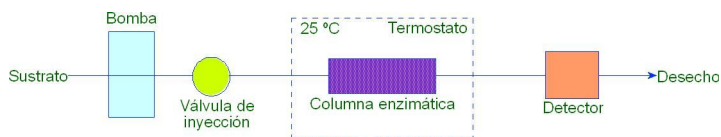


Figura 101. Sistema para la determinación enzimática de Zn²⁺. Enzima inmovilizada: anhidrasa carbónica. Sustrato: P-nitrofenil-acetato.

Una alternativa para determinar Zn²⁺ a bajos niveles consiste en un método FIA enzimático sencillo (Figura 101). La enzima, anhidrasa carbónica se encuentra inmovilizada en un reactor por el que fluye el sustrato, p-nitrofenilacetato. El Zn²⁺ bloquea los grupos activos de la enzima por lo que inhibe su actividad, que es monitorizada a 400 nm (843).

En el campo de los sensores ópticos también se encuentra en bibliografía un método FIA en el que se inmoviliza 1-(2-piridilazo)-2-naftol en una resina catiónica que se encuentra en la célula de flujo en donde ocurren la etapa de adsorción del catión metálico y su detección (844).

2.2. TÉCNICAS DE FLUJO Y ESPECIES ORGÁNICAS

En cuanto a las revisiones bibliográficas sobre determinación de especies orgánicas en aguas utilizando técnicas de flujo, son escasas, habiendo encontrado sólo una que recoge los métodos FIA aplicados al análisis de dichos compuestos en aguas de todo tipo, salvo marinas (845).

Cuando surge la metodología FIA, algunos investigadores la aplican inmediatamente a la determinación indirecta de compuestos orgánicos en aguas acoplada con técnicas de absorción atómica. Así queda reflejado en algunas monografías (846 - 848) sobre el tema donde se recogen diferentes separaciones en continuo utilizando métodos no cromatográficos. En general estos métodos se clasifican en tres categorías: extracción líquido-líquido, precipitación y utilización de reactores de fase sólida (extracción en fase sólida, reacción química en fase sólida o bien reactores que no involucran una reacción química) (849).

La determinación indirecta, en un sistema FIA acoplado a absorción atómica, de analitos orgánicos cargados, ha sido realizada mediante la formación de pares iónicos con quelatos metálicos catiónicos o aniónicos y su posterior extracción líquido-líquido. El método ha sido aplicado a la determinación de surfactantes aniónicos y catiónicos. El par iónico formado es extraído en continuo por un disolvente orgánico adecuado que lo conduce directamente al detector de absorción atómica (850,851).

Gallego y Col (850) determinan, utilizando esta metodología, surfactantes aniónicos en aguas residuales de uso doméstico. El método incluye la formación del par iónico entre el surfactante aniónico y el catión voluminoso formado entre Cu(II) y 1,10-fenantrolina. El par iónico es extraído en continuo

utilizando como disolvente orgánico metilisobutilcetona. La concentración de surfactante aniónico se determina midiendo, por absorción atómica, el cobre presente en la capa orgánica. El margen de determinación es de 0.1 a 5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y el método es altamente selectivo para surfactantes aniónicos frente a los catiónicos y los no iónicos.

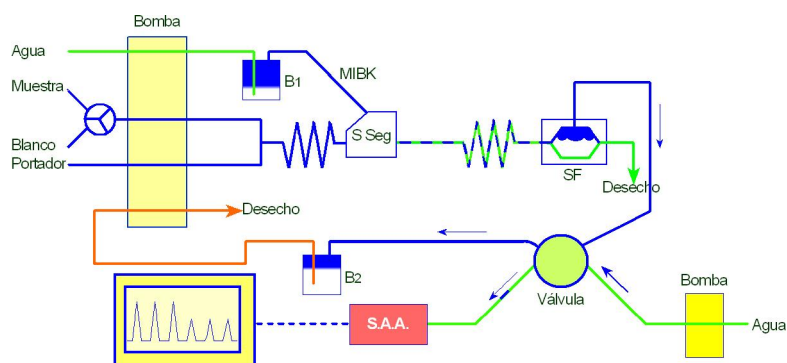


Figura 102. Sistema para la determinación de surfactantes catiónicos. SF: separador de fases, S Seg: segmentador.

En la Figura 102 se muestra el esquema de flujo propuesto por Martínez-Jiménez y col. (851) para la determinación de surfactantes catiónicos en aguas superficiales, de bebida y residuales. El método se basa en la extracción líquido-líquido en continuo del par iónico surfactante catiónico-tetratiocianatocobalto (II) en 4-metil-2-pentanona (MIBK). Como surfactante catiónico representativo se utiliza bromuro de dodeciltrimetilamonio que se hace fluir en continuo (pH: 4-11) y que se mezcla con el portador (que contiene tetratiocianatocobalto (II)). La mezcla de ambas disoluciones acuosas al enfrentarse al disolvente orgánico (MIBK) provoca la segmentación y posterior extracción del par iónico hacia los anillos de fase orgánica. La fase orgánica pura es aislada en un separador de fases (con membrana fluoropore), y mediante la válvula se inyectan 130 μL que son transportados por una disolución acuosa son llevados hasta el nebulizador del sistema de absorción atómica, donde se determina el cobalto. Se consigue una velocidad de determinación de 35 muestras. h^{-1} y en el método no interfieren otros surfactantes (catiónicos y no iónicos). El margen de determinación para el surfactante catiónico ensayado es de 0.4-9.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ por lo que es útil para analizar surfactantes aniónicos en aguas potables.

El efecto catalítico del ÁCIDO OXÁLICO en la reacción de oxidación del $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ sobre el colorante azul brillante, es la base química de un esquema FIA para la determinación espectrofotométrica de dicho analito en aguas provenientes de la industria (852).

Restos de CLOROFORMO en efluentes industriales pueden ser monitorizados en flujo continuo, a niveles de $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mediante un esquema FIA inverso en el que el complejo ternario entre salicilaldehído-etilendiamina y Be es extraído hacia el analito y medida la fluorescencia de la fase orgánica (853).

Kiba y Col (854) diseñan un esquema FIA para la determinación de FORMALDEHIDO en efluentes industriales basado en la reacción enzimática entre el analito y NAD^+ catalizada por formaldehído deshidrogenasa. La originalidad del método (Figura 103) estriba en que la enzima se encuentra inmovilizada en esferas de un derivado de alcohol vinílico. En la reacción se detecta fluorimétricamente al NADH generado.

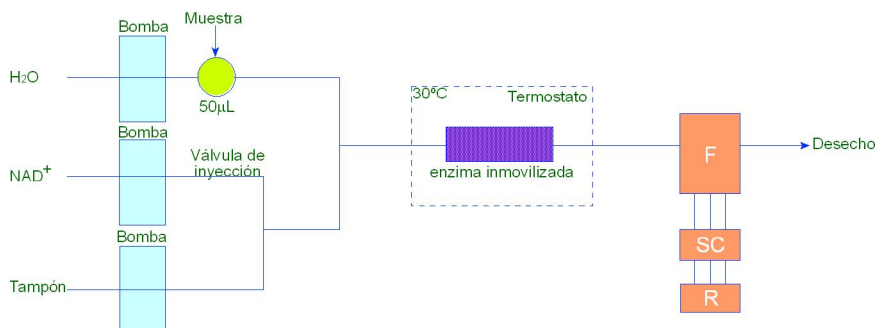


Figura 103. Sistema para determinar formaldehído con enzima formaldehído deshidrogenasa inmovilizada. Tampón: carbonato, F: espectrofluorímetro, SC: señal amplificada, R: registrador.

Los autores proponen además preconcentrar el analito sobre esferas de poli(alilamina) que después se eluye con HCl y 50 μL de la disolución final son inyectados en el sistema de flujo. El inconveniente es que la etapa de preconcentración se realiza “off-line”. El método es prácticamente específico y el margen de determinación es 0.5-10 μM .

La HIDRACINA puede ser determinada en efluentes industriales y en agua de río mediante esquemas FIA en los que se insertan electrodos diseñados como biosensores de membrana con la enzima formaldehído deshidrogenada inmovilizada en su interior (855) o sensores amperométricos como electrodos de carbono modificados con Nafion (856). La determinación del analito también es posible monitorizando espectrofotométricamente el producto de su reacción con p-dimetilaminobenzaldehído (858). En el último método, el reactor debe ser termostataado a 80°C por tratarse de una reacción de cinética lenta. El más sensible de los tres métodos es el espectrofotométrico con un límite de detección de 0.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Safavi y col. (858) ponen a punto un método quimioluminiscente para la determinación de hidrazina en efluentes residuales mediante análisis por inyección en flujo, FIA. Realizan en continuo la reacción entre hidrazina y dicloroisocianurato y la quimioluminiscencia generada es sensibilizada por diclorofluoresceína.

La CLORAMINA-T como contaminante en efluentes industriales ha sido determinada a niveles inferiores a 90 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ diseñando un esquema FIA que utiliza la propiedad oxidante del analito sobre un portador que contiene I⁻ en exceso y un sistema de detección amperométrico basado en la alteración de las concentraciones del sistema I⁻/I₂ (859)..

En las aguas superficiales y subterráneas se encuentran de modo natural numerosos COMPUESTOS FENÓLICOS provenientes de la degradación de la materia vegetal. Como consecuencia del desarrollo industrial y de la utilización de herbicidas en las aguas, pueden aparecer contaminantes fenólicos como subproductos de degradaciones químicas y/o bacterianas. La toxicidad de algunos derivados fenólicos es muy diferente dependiendo de los grupos que contenga en su anillo aromático así como de su posición en la molécula.

A la hora de determinar dichos compuestos en las aguas, existen dos posibilidades: la determinación inespecífica de COMPUESTOS FENÓLICOS o su análisis diferenciado, lo que hace que la metodología analítica sea diferente.

Los métodos FIA que se encuentran en bibliografía para la determinación inespecífica de compuestos fenólicos utilizan como sistema de detección, técnicas electroquímicas, espectrofotométricas o luminiscentes.

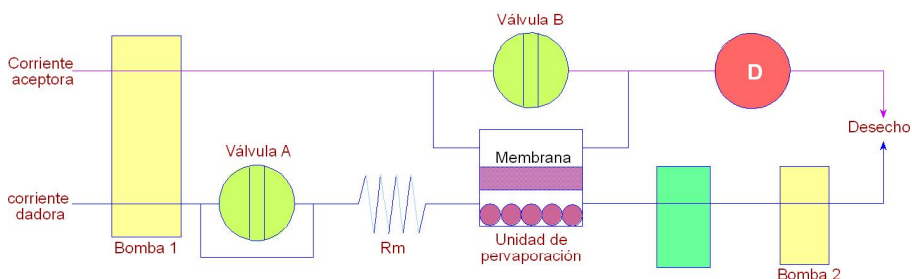


Figura 104. Determinación de compuestos fenólicos con separación por pervaporación y detección amperométrica. C. aceptora: disolución acuosa de KNO_3 ($\text{pH} = 12$), C. dadora: disolución acuosa de NaCl ($\text{pH} = 2$), Rm: reactor de mezcla.

En cuanto a los primeros, se ha utilizado la voltametría cíclica (860) diseñando una célula de flujo con tres electrodos o bien la determinación amperométrica basada en una reacción previa de bromación de los compuestos fenólicos (861), o bien utilizando un electrodo de platino o de carbón vítreo (862) (Ag/AgCl como referencia) y midiendo la intensidad de corriente al potencial impuesto, debido a la concentración de analitos (fenoles) recogidos previamente sobre una disolución aceptora después de separarlos a elevada temperatura en una cámara de pervaporación (Figura 104).

En cuanto a los métodos espectrofotométricos-FIA encontrados en bibliografía son numerosos los que tienen como base química el acoplamiento oxidativo entre los derivados fenólicos y 4-aminoantipiridina, o dihidrazona de 3-metil-2-benzotiazolina, diferenciándose ambas reacciones en la sensibilidad y en el número de compuestos fenólicos con los que reaccionan (863).

En la Figura 105 se muestra el sencillo esquema FIA utilizado para llevar a cabo las reacciones antes comentadas.

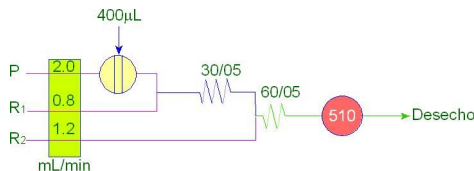


Figura 105. Sistema FIA para la determinación espectrofotométrica de fenoles por el método de 4-aminoantipirina. P: portador (agua), R₁: 4-aminoantipirina en medio básico, R₂: oxidante (Hexacianoferrato (III) a pH = 11).

Para conseguir una mayor sensibilidad es posible modificar el esquema FIA antes mostrado introduciendo “on-line” etapas de preconcentración, pero utilizando la misma reacción química. Como método de preconcentración se ha utilizado la extracción líquido-líquido en cloroformo (864 - 866) o la retención sobre una resina Amberlita XAD-4 retenida en una minicolumna (867), o bien la integración de una parte de segmentación por aire en el sistema FIA para realizar una destilación previa y solventar interferencias (868).

En la Figura 106 se muestra el esquema FIA propuesto para la determinación de fenoles totales en aguas utilizando el método clásico de la 4-aminoantipiridina y una etapa de preconcentración “on-line” basada en la extracción líquido-líquido (864).

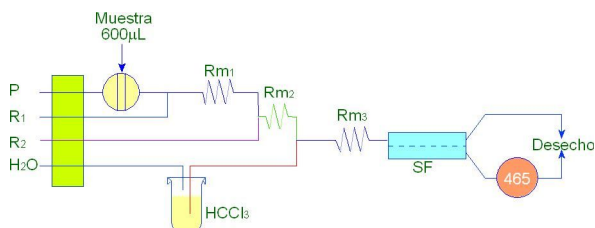


Figura 106. Sistema FIA para la determinación de fenoles totales en aguas por el método clásico de la 4-aminoantipiridina y una etapa de preconcentración “on-line”. P: portador, R₁: 4-aminoantipiridina en medio básico, R₂: hexacianoferrato (III) a pH = 11, Rm: reactor de mezcla, SF: separador de fase.

También se han propuesto métodos FIA con detección indirecta de fenoles basados en reacciones quimioluminiscentes o en la generación de productos fluorescentes con o sin etapas de preconcentración (869 - 871); son métodos muy sensibles con límites de detección < 0.05 ng.L⁻¹.

La especiación de algunos fenoles ha sido abordada por diferentes investigadores debido a la importancia que algunos derivados clorados tienen sobre las características organolépticas de las aguas potables (olor y sabor) sin olvidar la toxicidad de algunos derivados fenólicos.

Navarro-Villoslada y Col (872) proponen un método FIA para la determinación simultánea de 2-CLOROFENOL; 4-CORO-3-METIL-FENOL; 2-4-DICLOROFENOL; 2,4,6-TRICLOROFENOL y PENTACLOROFENOL. Los fenoles son preconcentrados "on-line" sobre una resina adsorbente XAD-4 y después de su elución, los pares iónicos que forman con tetrabutilamonio a pH= 9.1 son extraídos en cloroformo y detectados en un espectrofotómetro de diodos en el margen 200 - 430 nm. La determinación se apoya también en el empleo de métodos multivariantes de calibración.

Es posible determinar el PENTACLOROFENOL, en presencia de los otros fenoles, en aguas residuales. Para ello se han propuesto dos métodos FIA; uno de ellos basado en la determinación amperométrica utilizando un electrodo de carbono vitrificado (873) y el otro utilizando un biosensor (con bilirrubina oxidada inmovilizada en presencia de exceso de NADH) y la medida del NADH sobrante (874).

Cladera y Col (875) proponen un esquema SIA para la determinación del 2,3 o 4-NITROFENOL. Inicialmente los tres compuestos son extraídos (mediante la técnica de película de disolvente orgánico en la pared del tubo de PTFE) utilizando como disolvente orgánico de cloruro de butilo en 1-octanol y posterior retroextracción con NaOH, para ser trasladadas hasta el detector espectrofotométrico de diodos. Para la determinación individual de cada NITROFENOL se utiliza la técnica de derivadas (1ª) y métodos multivariantes de calibración (Figura 107).

Ya comentamos al principio de este apartado como posible la determinación indirecta de SURFACTANTES mediante técnicas de flujo y absorción atómica. Existen otras posibilidades para su determinación que comentaremos brevemente.

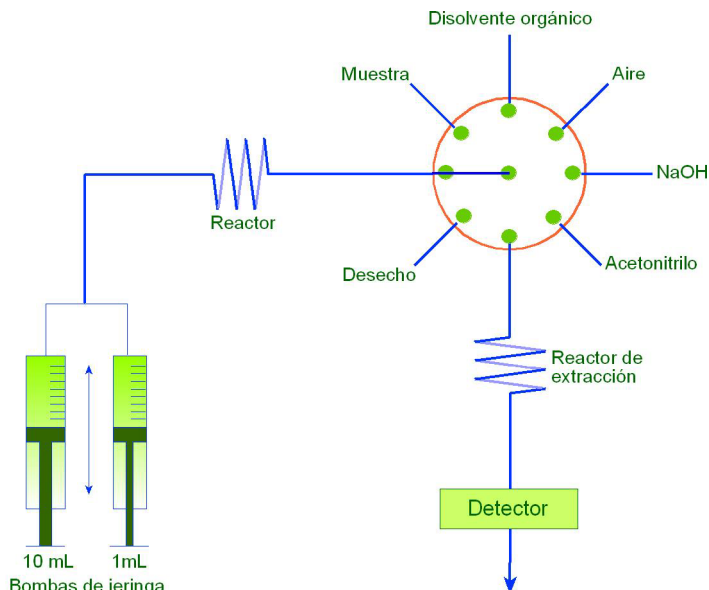


Figura 107. Sistema SIA utilizado para la extracción, extracción posterior y detección de nitrofenoles.

Miró y col. (876) ponen a punto un método MSFIA basado en un sistema de doble extracción, inicialmente con disolvente orgánico basado en las diferentes velocidades de flujo de la fase acuosa y orgánica sobre la pared de los tubos de teflón (1-clorobutano y 1-octanol) y una posterior retroextracción que conduce al analito hasta el espectrofotómetro para su determinación. Los analitos determinados en muestras acuosas han sido 2,3 y 4-nitrofenol.

La determinación inespecífica de SURFACTANTES CATIONICOS (totalidad) es posible mediante un esquema FIA en el que se realiza "on-line" la extracción líquido-líquido del par iónico que forman con el colorante naranja I (877). La determinación de cetiltrimetilamonio (surfactante catiónico) es posible con la misma metodología de extracción líquido-líquido en benceno, del complejo que forma con eosina; en este caso la detección es fluorimétrica (878).

La determinación inespecífica de SURFACTANTES ANIÓNICOS se puede llevar a cabo mediante esquemas FIA basados en la extracción líquido-líquido en continuo del par iónico que forman con el azul de metileno; utilizando cloroformo como disolvente orgánico (879) o 1,2-diclorobenceno

(880) y midiendo espectrofotométricamente el extracto orgánico azulado. El producto extraído en cloroformo también puede ser el producto de asociación que forman con 4-(4-N,N-dimetilaminofenilazo)-2-metilquinoleína (881). El último método encontrado en bibliografía se basa en la determinación potenciométrica, después de su preconcentración en una minicolumna rellena con C₁₈, con un electrodo de trabajo que contiene la sal de amonio cuaternario del dodecibenceno (882). Los métodos comentados han sido aplicadas a aguas de ríos, lagos y residuales.

Otros métodos de flujo continuo que han sido diseñados para la determinación de un surfactante aniónico concreto son las determinaciones espectrofotométricas de docecilsulfato y el anión cetilpiridinium. En el primer caso se utiliza un célula con una cromatomembrana para la extracción líquido-líquido del par iónico que forma el surfactante con azul de metileno y su posterior determinación espectrofotométrica (883) y el segundo se basa en la misma idea química pero utilizando naranja de metilo (884). En realidad ambos métodos no son específicos, pues se comportan igual todos los surfactantes aniónicos.

March y col. (885) ponen a punto métodos FIA y SIA para la determinación inespecífica de surfactantes aniónicos basados en la formación de un coloide con o-Tolidina medido espectrofotométricamente a 400 nm.

Martínez-Barrachina y col (886), proponen realizar la determinación de los mismos analitos mediante un esquema FIA y medida potenciométrica con un electrodo selectivo. La preconcentración se realiza en el propio sistema utilizando filtros de disco con octadecil-sílice.

Otros compuestos orgánicos de interés medioambiental son los PESTICIDAS, cuyo uso indiscriminado ha provocado su aparición en las aguas naturales tanto superficiales como subterráneas. El interés en este caso se concentra no sólo en analizar el pesticida, sino también los productos generados en su hidrólisis y degradación (química y microbacteriana). Los métodos propuestos para su análisis tienen que ser suficientemente sensibles como para determinar los analitos a niveles de 0.1 µg.L⁻¹ o inferiores (directiva de la Unión Europea).

El herbicida ATRAZINA ha sido analizado en aguas de bebida, aguas subterráneas y efluentes mediante esquemas FIA acoplados a métodos inmunoquímicos. En el primero de ellos se utiliza un biosensor para actuar en flujo continuo que se construye sobre un electrodo de vidrio transparente, depositando una película transparente de óxido de iridio y estaño aminosilarizado con aminodextrano covalentemente modificado con ácido caproico (887). En el segundo de ellos el analito se enlaza “in-situ” al colocar el anticuerpo inmovilizado en la propia célula de flujo. El anticuerpo se enlaza covalentemente a proteína A inmovilizada en esferitas de vidrio y actúa como fluorinmosensores (888). Un esquema FIA, similar al anterior ha sido automatizado para determinar el analito en el margen 30 ng.L^{-1} - $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ (889)..

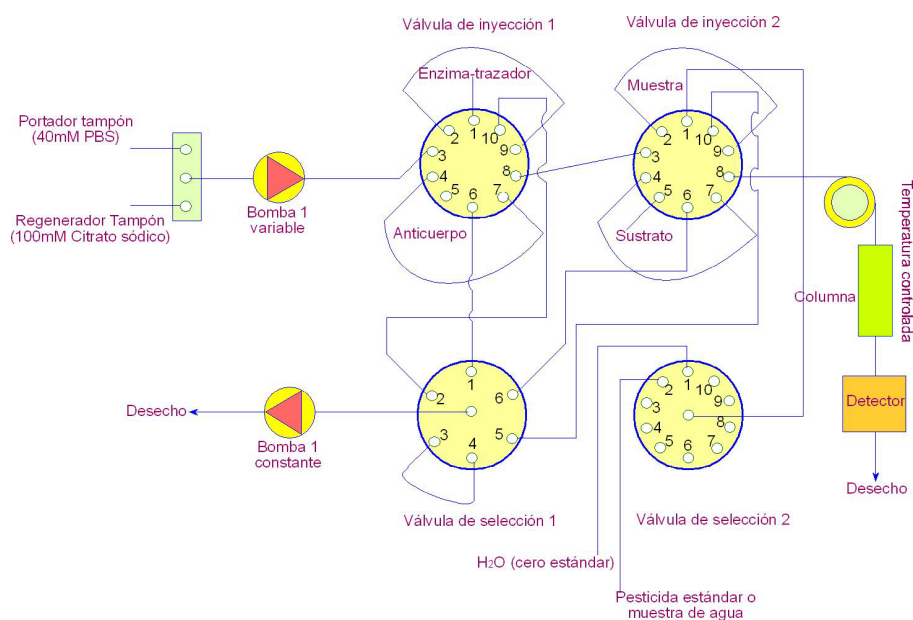


Figura 108. Sistema FIAA para la determinación inmunoquímica de pesticidas. Este sistema está automatizado y controlado por un ordenador con un software específico.

Krämer y Col (890) diseñan el primer prototipo de un aparato para la determinación inmunoquímica de pesticidas. Los autores incluso ponen nombre a lo que pretenden sea una nueva técnica FIA denominándola, FIAA, “flow injection immunoaffinity analysis” (análisis por inyección en flujo e imunoafinidad) (Figura 108). Se basa en el enlace específico de anticuerpos (desarrollados especialmente) a los pesticidas de interés. Para demostrar la

efectividad de esta nueva técnica, los investigadores escogen dos de los pesticidas que según la Comunidad Económica Europea hay que controlar en las aguas, como son los herbicidas ATRAZINA y DIURON.

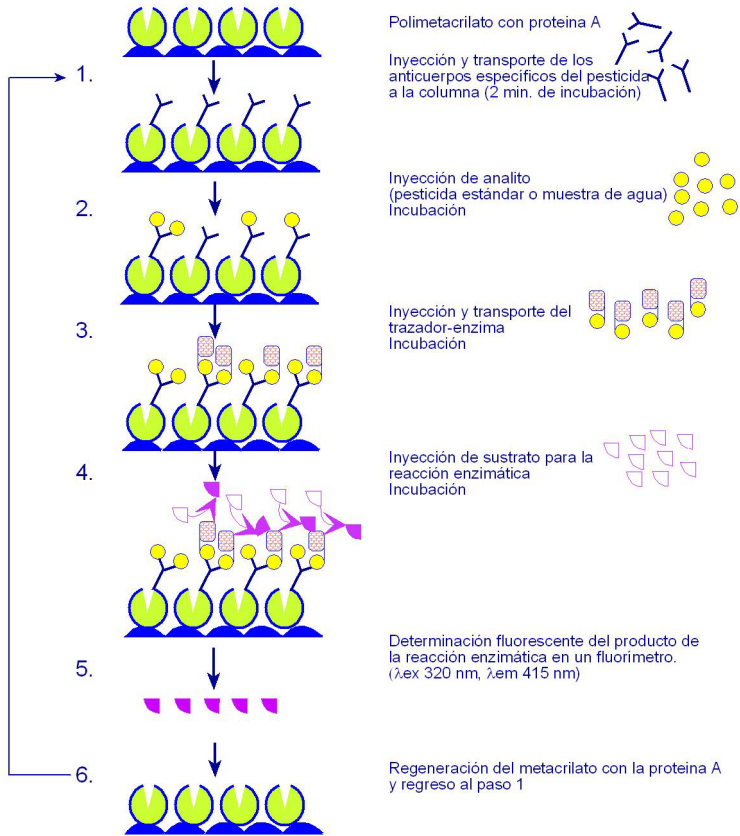


Figura 109. Esquema de inmunoenálisis secuencial con FIIAA. Este procedimiento de análisis dura 50 min. incluyendo la regeneración de la columna (paso 6). Antes de la determinación de una muestra estándar o de agua con pesticida se analiza agua destilada para controlar el cero.

Las diferentes etapas de este análisis se muestran en la Figura 109. El análisis inmunológico secuencial comienza con la inyección e incubación del anticuerpo específico del pesticida (etapa 1). El anticuerpo es incubado durante 2 minutos en una columna de afinidad rellena con proteína A inmovilizada en polimetacrilato. A continuación se inyecta el estándar de pesticida o la muestra real de agua (también disolución de agua ultrapura para obtener la línea base o cero) y se transporta hasta la columna (etapa 2). Para poder alcanzar la

sensibilidad adecuada es posible una segunda inyección de estándar o muestra, así como un periodo de incubación de unos 2 minutos (parada de flujo). A continuación se inyecta, transporta e incuba en la columna el enzima trazador (durante 2 minutos) (etapa 3)..

Después se inyecta, transporta e incuba el sustrato para la reacción enzimática (etapa 4). Aunque el tiempo de incubación de esta etapa puede ser variado, normalmente se utilizan 6 minutos. Debido a que se usa como técnica de detección la fluorimetría, se utiliza como sustrato fluorescente HPPA (ácido 3-hidroxifenil propiónico) para la enzima HRP (peroxidasa obtenida de rábano). La disolución de sustrato contiene además H_2O_2 y tampón de pH = 7.6. En la etapa 5 se mide la fluorescencia del producto ($\lambda_{exc} = 320$ nm, $\lambda_{em} = 415$ nm). En la última de afinidad se regenera con tampón citrato de pH = 2.5 (etapa 6). Todas las operaciones conjuntas consumen un tiempo de unos 50 min. Según los autores con anticuerpo específico es posible determinar Atrazina en presencia de Diuron. La determinación de Diurón es factible con otro tipo de anticuerpo (891).

Otros métodos de inmunoanálisis, en flujo continuo, con detección fluorescente han introducido la utilización de un reactor de membrana para la eliminación de los anticuerpos ya utilizados (892) o la utilización de complejos de Eu como ligandos fluorescentes (893) para la determinación de Triazinas.

El mismo analito, y en algunos casos sus productos de degradación han sido determinados en flujo continuo mediante voltametría cíclica o amperometría utilizando un electrodo de cobre y un electrodo de carbón vítreo, respectivamente (894), o bien tras preconcentración en fase sólida (C_{18}) acoplar el FIA a un detector de espectrometría de masas (895).

Carabias Martínez y Col (896) proponen un método FIA donde las TRIAZINAS son preconcentradas "on-line" mediante su extracción a través de una membrana de polipropileno de tamaño de poro adecuado insertada en un módulo colocado en un bucle de inyección (Figura 110). Como aceptor se utiliza n-hexano y como sistema de detección espectrofotometría de diodos. Con el apoyo de métodos de regresión aplicados a la señal analítica es posible la

determinación simultánea de cloro-triazinas y metiltriazinas (atrazina, propazina, ametrina y terbutrina).

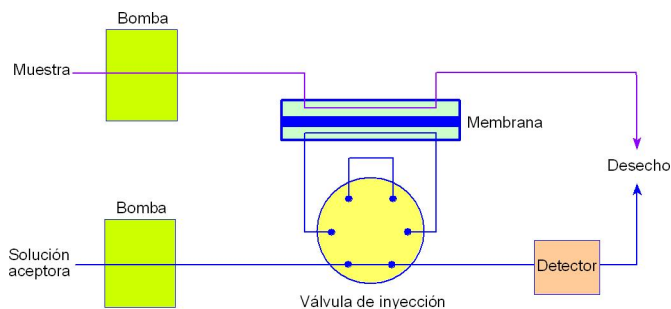


Figura 110. Esquema FIA para la determinación de triazinas.

Un esquema de flujo similar al anterior ha sido propuesto por Nikolelis y Col (897) para la determinación de Simazina, Atrazina y Propazina en aguas, mediante preconcentración a través de una membrana que soporta lípidos (membrana de doble capa) y detección electroquímica.

El herbicida, ÁCIDO 2,4-DICLORO-FENOXIACETICO y otros ÁCIDOS CLORO-FENOXIACÉTICOS pueden ser determinados mediante técnicas de flujo (FIA) en aguas naturales y residuales con sistemas inmunoquímicos o enzimáticos insertados "on-line", inmovilizados en reactores, membranas o en la propia fibra óptica. Si bien en uno de los métodos (898) se utiliza detección amperométrica, en el resto la detección es espectrofotométrica (889, 900), fluorimétrica (901) o quimioluminiscente (902).

A título de ejemplo en la Figura 111 se muestra el esquema de flujo diseñado, en el último trabajo (902) antes mencionado. Para determinar ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético (2,4-D) se inmoviliza el antígeno covalentemente en una membrana pre-activada colocada en la interfase entre la célula de flujo y la fibra óptica. El antígeno se prepara inicialmente enlazando 2,4-D a albúmina de suero bovino (conjugado 2,4-D-BSA). En el sistema de flujo se inyectan simultáneamente (confluencia de zonas) la muestra y la disolución que contiene los anticuerpos policlonales enlazados a la enzima peroxidasa (anti 2,4-D-peroxidasa), que tienen afinidad por enlazarse al antígeno en el punto específico de su molécula (CL).

El bolo de muestra con el compuesto que contiene los anticuerpos es incubado en la célula de flujo durante 20 minutos, tiempo en el que compiten el analito (2,4-D) y el complejo de anticuerpos (anti, 2,4-D-BSA) por enlazarse al antígeno. Transcurrido este tiempo, se introduce en el sistema la disolución de medida (M) que está constituida por luminol, H_2O_2 y p-iodofenol como exaltador. Al llegar a la célula los grupos peroxidasa enlazados al sistema antígeno-anticuerpo-enzima catalizan la oxidación quimioluminiscente del luminol. Cuanto mayor sea la concentración de analito competitivo, menor será la cantidad de luz generada. El inmunosensor puede ser regenerado al terminar la medida y con el mismo antígeno inmovilizado se pueden realizar hasta 30 ciclos de medida. El margen de determinación para el analito es $4 \mu g.L^{-1}$ - $160 mg.L^{-1}$.

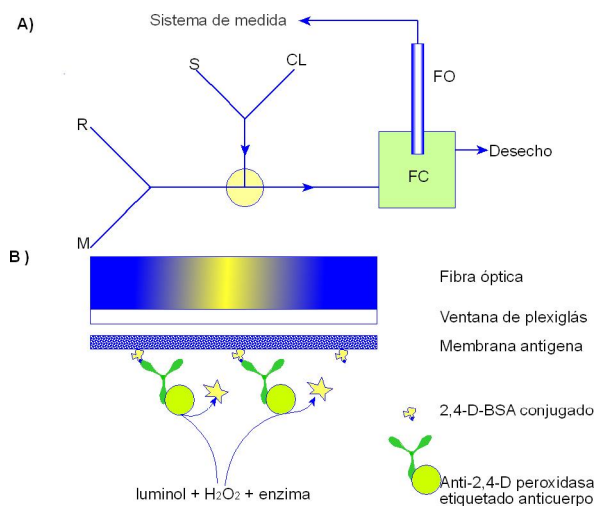


Figura 111. Esquema de la inmunoquimioluminiscencia instalada. A) Sistema de Flujo. B) Fibra óptica/ interface de la célula de flujo. CL: sustrato quimioluminiscente, FC: célula de flujo, FO: fibra óptica, M: muestra, R: solución regeneradora.

También es posible determinar otros pesticidas con esquemas FIA. Por ejemplo el ISOPROTURON ha sido determinado en aguas naturales mediante un fluorinmunosensor insertado "on-line" en el sistema de flujo. Se obtiene dicho sensor inmovilizando anticuerpos sobre esferas de vidrio de poro controlado colocadas en la célula de flujo (903)..

El pesticida DICLORVOS (organofosforado) ha sido determinado mediante un esquema FIA basado en una reacción de inhibición enzimática acoplada a una etapa de separación previa mediante preevaporación debido al bajo punto de ebullición del analito (35°C) (904). En la Figura 112 se muestra el esquema de flujo para esta determinación.

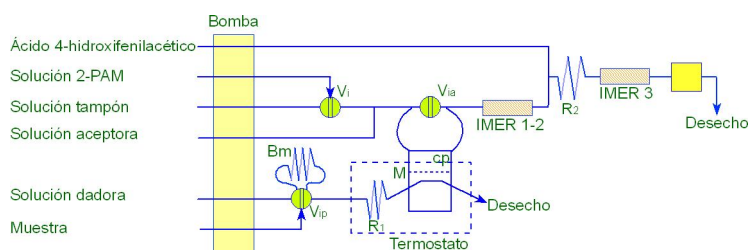


Figura 112. Sistema para la determinación de diclorvos en muestras líquidas. V_i : válvula de inyección, V_{ia} : válvula de inyección auxiliar, V_{ip} : válvula de inyección principal, cp: cámara de preevaporación, M: membrana, Bm: bucle de muestra, IMER 1-2: AcChE y Chad inmovilizadas en reactores consecutivos, IMER3: reactor de peroxidasa inmovilizada.

La muestra con el analito es inyectada sobre un portador, disolución dadora, que la conduce hasta la cámara de preevaporación que se encuentra termostatada a 90°C, donde el pesticida organofosforado se separa a través de la membrana y llega a la disolución aceptora contenida en el bucle de la válvula AIV que contiene cloruro de acetilcolina. Al llegar la mezcla al primer reactor, donde se encuentran consecutivamente inmovilizadas las enzimas acetilcolinesterasa (AcChE) y colina oxidasa (Chad) en donde ocurre la transformación de acetilcolina en colina y su oxidación hasta aldehído de botaina y H_2O_2 . Posteriormente se mezcla la disolución con ácido 4-hidroxifenilacético (4-HPAA), que al atravesar el reactor IMER-3 donde se encuentra inmovilizada la enzima peroxidasa ocurre la reacción catalizada con la formación de un producto fluorescente $(4-HPAA)_2$ que es medido a $\lambda_{exc} = 310$ nm y $\lambda_{em} = 415$ nm. El pesticida, Dochlorvos y otros, inhiben la primera reacción enzimática, por lo que el descenso de fluorescencia es directamente proporcional a la concentración del analito en la muestra.

Si bien los autores del trabajo ensayan el pesticida organofosforado comentado, en la cámara de preevaporación se pueden separar otros como Dimefox (67°C), Clormefos (81°C), Diazinón (83°C), Triclorfon (84°C) y

Mevinfos (99°C), por lo que en realidad el método es útil para la determinación de pesticidas organofosforados.

WARFARIN, FENVELERATO, DIMETILDITIOFOSFATO Y PESTICIDAS AROMÁTICOS (8 en total) han sido también determinados fluorimétricamente mediante técnicas FIA (905 - 909). En el primero de los trabajos se construye un sensor fluorimétrico inmovilizando β -ciclodextrinas en la célula de flujo. En el segundo trabajo el producto fluorescente se obtiene degradando el analito en medio micelar mediante irradiación ultravioleta. El dimetilditiofosfato se determina en flujo continuo mediante un método indirecto, por formación de quelatos metálicos, extracción líquido-líquido en continuo y transformación del metal en su hidruro (con NaBH_4) y posterior detrmnación por absorción atómica. El método inespecífico para los 8 pesticidas aromáticos también se basa en su fotoreducción hasta productos de degradación fluorescentes.

El pesticida PARAOXON puede ser determinado también con un fundamento químico muy similar al ya comentado para el DICLORVOS, pues inhibe las reacciones enzimáticas en las que interviene la acetilcolinesterasa. En este caso, en el esquema FIA se inmoviliza la enzima sobre una resina polimérica VA Epoxy y Biosynth y la reacción que se cataliza es la hidrólisis de acetiltiocolina hasta tiocolina y la formación de un producto coloreado con ácido 5,5-ditiobis(2-nitrobenzoico) que se mide espectrofotométricamente (910).

La misma enzima antes comentada, acetilcolinesterasa inmovilizada, es útil para construir biosensores de pesticidas organofosforados en general y derivados de carbamato. El detector que se utiliza en todos los casos es fototérmico (911).

Los pesticidas TIABENDAZOL y FUBERIDAZOL han sido determinados en aguas de río mediante un esquema FIA sencillo aprovechando la propiedad fluorescente de dichos compuestos a $\text{pH} = 2$. La suma de ambos analitos puede ser detectada desde 0.3 ng.mL^{-1} (912, 913).

Valentini y col. (914) ponen a punto un método electroquímico ELISA con apoyo de FIA para la determinación de DDT y compuestos relacionados en aguas residuales.

El ácido p-ARSANILICO, fungicida empleado para alimentos de origen animal, también llega a las aguas como contaminante. Roerdink y col. (915) ponen a punto un método SIA para su determinación en aguas naturales mediante espectrofotometría utilizando fibra óptica.

La determinación de N-METILCARBAMATO y DITIOCARBAMATOS en general ha sido realizada, en aguas naturales, utilizando reacciones quimioluminiscentes (916, 917).

Un sensor de reflectancia construido con una fibra óptica acoplada a un sistema de flujo permite mediante la técnica MSFIA, la preconcentración y determinación de 1-NAFTILAMINA en aguas industriales (918).

Algunos ACEITES han sido determinados en aguas residuales, a partir de $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, mediante un esquema FIA sencillo que incluye su extracción líquido-líquido en continuo con la mezcla 1,2,3,4-tetracloro y 1,1,2,3,4,9-hexafluor-butano. La determinación se lleva a cabo mediante un detector de infarrojos en célula de cuarzo (919)..

BIBLIOGRAFÍA

- [1] K. Toei *J. Flow Inject. Anal.* 1 (1984) 2.
- [2] A. R. Ríos, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Analys* 110 (1985) 277.
- [3] H. Casey, S. Smith *Anal. Chem.* 4 (1985) 256.
- [4] T. Greatorex, P.B. Smith *J. Inst. Water Eng. Sci.* 39 (1985) 81.
- [5] Y. Baba *J. Flow Inject. Anal.* 4 (1987) 36.
- [6] T. Korenaga *Bunseki Kagaku* 4 (1987) 36.
- [7] J. A. Nobrega, A. A. Mozeto, R. L. Bozelli *Cienc. Cult.* 40 (1988) 1118.
- [8] A. Mueller, J. Petrowsky, T. Kraemer, W. Kopprasch, H. Mitschick *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 19 (1991) 573.
- [9] Y. Asano, S. Itoh *Kogyo Yosui* 395 (1991) 80.
- [10] S. Kado *Shigen Kankyo Taisaku* 28 (1992) 1119.
- [11] W. Frenzel, M. Selan *GIT Fachz. Lab* 36 (1992) 1239.
- [12] J. S. Cosano, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *J. Autom. Chem.* 15 (1993) 147.
- [13] M. Agudo, A. Ríos, M. Valcárcel *TRAC Trends Anal. Chem.* 13 (1994) 409.
- [14] K. N. Andrew, N. J. Blundell, D. Price, P. J. Worsfold *Anal Chem.* 66 (1994) 916.
- [15] M. Kunimatsu, T. Kuroishi, K. Harada, Y. Setsu; K. Imai, K. Tsukada, C. Maekoya, Kokai Tokkyo Koho *Pat. No.: 95260796 (Hitachi)* 1995.
- [16] F. Oshima, Fukuoka Kyoiku Daigaku Kiyo Dai-3-bunsatsu: *Sugaku, Rika, Gijutsuka Hen* 44 (1995) 45.
- [17] P. Maccarthy, R. W. Klusman, S. W. Cowling, J. A. Rice *Anal. Chem.* 67 (1995) R525.
- [18] S. Motomizu, M. Oshima *Nippon Kaisui Gakkaishi* 50 (1996) 363.
- [19] W. Zimmermann, J. K. Reichert, W. Maurer *Mater. Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen* (1996), Volume Date 1995.
- [20] R. E. Taljaard, J. F. Van Staden *Lab. Robot. Autom.* 10 (1998) 325.

- [21] V. Cerdá, J. M. Estela, R. Forteza, A. Cladera, E. Becerra, P. Altamira, P. Sitjar *Talanta* 50 (1999) 695.
- [22] V. Cerdá, A. Cerdá, A. Cladera, M. T. Oms, F. Mas, E. Gomez, F. Bauzá, M. Miró, R. Forteza, J. M. Estela *Trends Anal. Chem.* 20 (2002) 407.
- [23] F. Lazaro-Boza, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Analisis* 13 (1985)147.
- [24] J. F. van Staden *Water SA* 15 (1987) 197.
- [25] J. F. van Staden *Water SA* (1989) 153.
- [26] J. Atienza, M. A. Herero, A. Maquieira, R. Puchades *Crit. Rev. Anal. Chem.* 22 (1991) 331.
- [27] Hirata Shizuko *J. Flow Inject. Anal.* 17 (2000) 23.
- [28] A. G. Garrido, M. C. Y. Biurrun *Tec. Lab.* 22 (2000) 17.
- [29] Nario Teshiuma *Bunseki Kagaku* 3 (2000) 156.
- [30] S. A. Richardson *Anal. Chem.* 71 (1999) 181.
- [31] L. T. Skeggs *Am. J. Clin. Pathol.* 28 (1957) 311.
- [32] Rogeberg, E. J. S. & A. Henriksen *Vatten* (1985) 41:48.
- [33] M. R. Straka *Am. Environ. Lab.*1 (1989) 60.
- [34] M. R. Straka *Int. Lab.* 20 (1990) 33.
- [35] P. Serizot *Analisis* 19 (1991) 127.
- [36] M. Valcárcel, M. D. Luque de Castro, "Flow-Injection Análisis. Principles and Applications", Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry, Ellis Horwood, Chichester, England, 1987.
- [37] J. Ruzicka, E. Hansen *Flow Injection Analysis*, J. Wiley, New York, 1988.
- [38] O. Royset *Anal. Chim. Acta* 185 (1986) 75.
- [39] V. Grassi, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima *Trends Anal. Chem* 24 (2005) 880.
- [40] J. Saurina, S. Hernández-Cassou *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 335.
- [41] J. Ruzicka, G. D. Marshall, G. D. Christian *Anal. Chem.* 62 (1990) 1861
- [42] J. Ruzicka, G. D. Marshall *Anal. Chim. Acta.* 237 (1990) 329.
- [43] A. Ivaska, J. Ruzicka *Analyst* 118 (1993) 885.

- [44] A. Cladera, C. Tomás, E. Gómez, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 302 (1995) 297.
- [45] A. Cerdá, M. T. Oms, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 371 (1998) 63.
- [46] J. F. Van Stadem *Anal. Chim. Acta* 467 (2002) 61.
- [47] D. Thomas, F. Theraulaz, V. Cerdá, D. Constant *P. Quevauviller* 16 (1997) 419.
- [48] V. Cerdá, A. Cerdá, A. Cladera, M. T. Oms, F. Mas, E. Gómez, F. Bauzá, M. Miró, R. Forteza, J. M. Estela *Trends. Anal. Chem* 20 (2001) 407.
- [49] A. Economou *Trends. Anal. Chem.* 24 (2005) 416.
- [50] M. Miró, E. H. Hansen *Trends. Anal. Chem.* 25 (2006) 267.
- [51] R. Pérez-Olmos, J. C. Soto, N. Zarate, A.N. Araujo, M. C. B. S. M. Montenegro *Anal. Chim. Acta* 554 (2005) 1.
- [52] G. de Armas, M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 471 (2002) 173.
- [53] J. F. van Staden, R. I. Stefan *Talanta* 64 (2004) 1109.
- [54] J. E. da Silva, M. F. Pimentel, V. L. da Silva, M. D. C. B. S. M. Montenegro, A. N. Araújo *Anal. Chim. Acta* 506 (2004) 197.
- [55] S. M. Sultan, M. U. Legemah, K. S. Al-Shammari, M. A. Al-Garni, M. A. Al-Zahrani *J. Flow Inject. Anal.* 22 (2005) 30.
- [56] B. F. Reis, M. F. Giné, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima, R. A. Lapa *Anal. Chim. Acta* 293(1994)129.
- [57] F. R. P. Rocha, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima, R. A. S. Lapa, J. L. M. Santos *Anal. Chim. Acta* 468 (2002) 119.
- [58] J. L. F. C. Lima, J. L. M. Santos, A. C. B. Dias, M. F. T. Ribeiro, E. A. G. Zagatto *Talanta* 64 (2004) 1091.
- [59] P. B. Martelli, B. F. Reis, E. A. M. Kronka, H. Bergamin, M. Korn, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima, A. N. Araujo *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 397.
- [60] E. A. M. Kronka, B. F. Reis, M. Korn, H. Bergamin *Anal. Chim. Acta* 334 (1996) 287.
- [61] F. R. P. Rocha, P. B. Martelli, R. M. Frizzarin, B. F. Reis, *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 45.
- [62] J. A. Vieira, B. F. Reis, E. A. M. Kronka, A. P. S. Paim, M. F. Giné *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 251.

- [63] F. R. P. Rocha, P. B. Martelli, B. F. Reis *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 11.
- [64] M. Catalá Icardo, J. V. García Mateo, J. Martínez Calatayud *Trends. Anal. Chem.* 21 (2002) 366.
- [65] V. Cerdá, C. Pons *Trends. Anal. Chem.* 25 (2006) 236.
- [66] C. Pons, R. Forteza, A. O. S. S. Rangel, V. Cerdá *Trends. Anal. Chem.* 25 (2006) 583.
- [67] M. Miró, V. Cerdá, J. M. Estela *Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 199.
- [68] G. D. Marshall, J. F. Van Staden *Process Control Qual.* 3 (1992) 251.
- [69] P. J. Baxter, G. D. Christian, J. Ruzicka *Analyst* 119 (1994) 1807.
- [70] E. Becerra, A. Cladera, V. Cerdá *Lab. Rob. Autom.* 11 (1999) 131.
- [71] G. de Armas, M. Miró, A. Cladera, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 455 (2002) 149.
- [72] N. Piza, M. Miró, G. de Armas, E. Becerra, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 467 (2002) 155.
- [73] M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 541 (2005) 57.
- [74] L. Ferrer, G. de Armas, M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Talanta* 68 (2005) 343.
- [75] M. A. Segundo, H. M. Oliveira, J. L. F. C. Lima, M. I. G. S. Almeida, A. O. S. S. Rangel *Anal. Chim. Acta* 537 (2005) 207.
- [76] E. Rubí, R. Forteza, V. Cerdá *Lab. Robot. Autom.* 8 (1996) 149.
- [77] L. Arce, A. Ríos, M. Valcárcel *J. Chromatogr. A* (1997) 791.
- [78] H. F. Schroeder *Water Sci. Technol.* (1996).
- [79] A. F. Danet, M. Cheregi, J. Martínez-Calatayud, J. V. García-Mateo, H. Y. A. Enein *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31 (2001) 191.
- [80] G. Hanrahan, S. Ussher, M. Gledhill, E. P. Achterberg, P. J. Worsfold *TRAC-Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 233.
- [81] K. N. Andrew, N. J. Blundell, D. Price, P. J. Worsfold *Anal. Chem.* 66 (1994) 916A.
- [82] M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Talanta* 60 (2003) 867.
- [83] M. Agudo, A. Ríos, M. Valcárcel *TRAC-Trends Anal. Chem.* 13 (1994) 409.
- [84] T. Dimitrakopoulos, P. W. Alexander, D. B. Hibbert *Electroanalysis* 8 (1996) 438.

- [85] M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *TRAC-Trends Anal. Chem.* 21 (2002) 199.
- [86] R. E. Taljaard, J. F. Van Staden *Lab. Rob. Autom.* 10 (1998) 325.
- [87] V. Cerdá, A. Cerdá, A. Cladera, M. T. Oms, F. Mas, E. Gómez, F. Bauza, M. Miró, R. Forteza, J.M. Estela *TRAC-Trends Anal. Chem.* 20 (2001) 407.
- [88] R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, I. V. O. S. Pinto *Analysis* 28 (2000) 295.
- [89] M. Trojanowicz, R.L. Benson, P.J. Worsfold *TRAC-Trends Anal. Chem.* 10 (1991) 11.
- [90] P. W. Alexander, L. T. Di Benedetto, T. Dimitrakopoulos, D. B. Hibbert, J. C. Ngila, M. Sequeira, D. Shiels *Talanta* 43 (1996) 915.
- [91] O. Thomas, F. Theraulaz, V. Cerdá, D. Constant, Ph. Quevauviller *TRAC-Trends Anal. Chem.* 16 (1997) 419.
- [92] L. K. Shpigun, I. Y. Kolotyrykina, Y. A. Zolotov *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 307.
- [93] N. J. Blundell, P. J. Worsfold, H. Casey, S. Smith *Environ. Int.* 21 (1995) 2005.
- [94] E. Muñoz, S. Palmero, M. A. García-García *Talanta* 57 (2002) 985.
- [95] J. S. Cosano, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *J. Autom. Chem.* 15 (1993) 147.
- [96] F. R. P. Rocha, P. B. Martelli, B. F. Reis *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 11.
- [97] K. Grudpan, J. Jakmunee, P. Sooksamiti *Talanta* 49 (1999) 215.
- [98] C. Jiménez, I. Marques, J. Bartrolí *Anal. Chem.* 68 (1996) 3801.
- [99] P. W. Alexander, T. Dimitrakopoulos, D. B. Hibbert *Electroanalysis* 10 (1998) 707.
- [100] W. Martinotti, G. Queirazza, F. Realini, G. Ciceri *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 323.
- [101] J. A. Nobrega, A. A. Mozeto, R. M. Alberici, J. L. Guimaraes, J. Braz *Chem. Soc.* 6 (1995) 327.
- [102] H. Muraki, K. Higuchi, M. Sasaki, T. Korenaga, K. Toei *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 345.
- [103] M. Menezes-Santos, B.F. Reis, H. Bergamin F^o, N. Baccan *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 339.
- [104] R. M. Liu, H. S. Wang, A. L. Sun, D. J. Liu *Talanta* 45 (1997) 405.
- [105] M. Yaqoob, A. Nabi, A. Wahab, I. Kasi *J. Chem. Soc. Pak.* 19 (1997) 313.
- [106] S. Gibb, R. F. C. Mantoura, P. S. Liss *Anal. Chim. Acta* 316 (1995) 291.

- [107] H. Shen, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall *Anal. Chim. Acta* 367 (1998) 193.
- [108] K. Andrew, P. J. Worsfold, M. Comber *Anal. Chim. Acta* 314 (1995) 33.
- [109] J. R. Akse, J. O. Thompson, R. L. Sauer, J. E. Atwater *Microchem. J.* 59 (1998) 372.
- [110] L. Wang, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, M. D. Luque de Castro, S. D. Kolev *Anal. Chim. Acta* 416 (2000) 177.
- [111] S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, M. del Valle, N. Jaffrezic-Renault, Y. Duvault-Herrera *Anal. Chim. Acta* 231 (1990) 53.
- [112] L. Cardoso De Faria, C. Pasquini *Anal. Chim. Acta.* 245 (1991) 183.
- [113] A. Cerdá, M.T. Oms, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta.* 311 (1995) 165.
- [114] R. Liu, B. Sun, D. Liu, A. Sun *Talanta* 43 (1996) 1049.
- [115] H. Shen, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall *Analyst* 122 (1997) 89.
- [116] F. J. Saez de Viteri, D. Diamond *Electroanalysis* 6 (1994) 9.
- [117] A. Walcarius, V. Vromman, J. Bessiere *Sensors Actuators B* 56 (1999) 136.
- [118] M. Trojanowicz, T. Krawczynski vel Krawczyk, M. Zmorzynska, L. Campanella *Electroanalysis* 9 (1997) 1062.
- [119] W. Qin, Z. Zhang, B. Li, Y. Peng *Talanta* 48 (1999) 225.
- [120] T. Aoki, S. Fukuda, Y. Hosoi, H. Mukai *Anal. Chim. Acta.* 349 (1997) 11.
- [121] K. Takeuchi, C. Fushimi, K. Nakamura, T. Ibusuki *Bunseki Kagaku* 42 (1993) 625.
- [122] X. C. Hu, N. Takenaka, S. Takasuna, M. Kitano, H. Bandow, Y. Maeda, M. Hattori *Anal. Chem.* 65 (1993) 3489.
- [123] M. Maruo, E. Nakayama, H. Obata, K. Kamiyama, T. Kimoto *Field Anal. Chem. Tech.* 5 (2001) 29.
- [124] H. Mana, U. Spohn *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366 (2000) 825.
- [125] A. Aminot, R. Kerouel, D. Birot *Water Res.* 35 (2001) 1777.
- [126] C. Kurzawa, W. Schumann, L. Wang, H. Orth, I. Schwendtke, H. Gerberding, H. Stadler, B. Grundig *GIT Labor-Fachzeitschrift* 45 (2001) 156.
- [127] S. Liu, P.K. Dasgupta *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 281.
- [128] M. T. Oms, A. Cerdá, V. Cerdá *Electroanalysis* 8 (1996) 387.
- [129] M. T. Oms, A. Cerdá, V. Cerdá, A. Cladera, R. Forteza *Anal. Chim. Acta* 318 (1996) 251.

- [130] A. Izquierdo, P. Linares, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Fresenius' J. Anal. Chem.* 336 (1990) 490.
- [131] H. Hara, T. Kitagawa, Y. Okabe *Analyst* 118 (1993) 1317.
- [132] A. Schmitt, L. Buttle, R. Uglow, K. Williams, S. Haswell *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 249.
- [133] X. Hu, N. Takenaka, M. Kitano, H. Bandow, Y. Maeda, M. Hattori *Analyst* 119 (1994) 1829.
- [134] J. F. Van Staden, T. A. Van der Merwe *Mikrochim. Acta.* 129 (1998) 33.
- [135] L. M. B. C. Alvares-Ribeiro, A. A. S. C. Machado, J. Alonso, J. Bartrolí, M. del Valle *Talanta* 40 (1993) 113.
- [136] M. J. Ahmed, C.D. Stalikas, S. M. Tzouwara-Karayanni, M. I. Karayannis *Talanta* 43 (1996) 1009.
- [137] Z. Legnerova, P. Solich, H. Sklenarova, D. Satinsky, R. Karlicek *Water Res.* 36 (2002) 2777.
- [138] M. Yaqoob, M. A. Siddiqui, M. Masoom *J. Chem. Soc. Pak.* 13 (1991) 248.
- [139] R. Segarra-Guerrero, C. Gómez-Benito, J. Martínez-Calatayud *Talanta* 43 (1996) 239.
- [140] M. Miró, A. Cladera, J. M. Estela, V. Cerdá *Analyst* 125 (2000) 943.
- [141] M. Miró, W. Frenzel, J.M. Estela, V. Cerdá *Analyst* 126 (2001) 1740.
- [142] A. Kazemzadeh, A. A. Ensafi *Anal. Chim. Acta* 442 (2001) 319.
- [143] L. Monser, S. Sadok, G.M. Greenway, I. Shah, R.F. Uglow *Talanta* 57 (2002) 511.
- [144] R. Kadowaki, S. Nakano, T. Kawashima *Talanta* 48 (1999) 103.
- [145] H. Chen, Y. J. Fang, T. C. An, X. L. Jin *Anal. Lett.* 32 (1999) 2887.
- [146] A. A. Ensafi, A. Kazemzadeh *Anal. Chim. Acta* 382 (1999) 15.
- [147] T. Pérez-Ruiz, C. Martínez-Lozano, V. Tomás *Anal. Chim. Acta* 265 (1992) 103.
- [148] C. Xingguo, W. Ketai, H. Zhide, Z. Zhengfeng *Anal. Lett.* 29 (1996) 2015.
- [149] Z. Zhi-Qi, G. Lou-Jun, Z. Han-Ying, L. Qian-Guang *Anal. Chim. Acta* 370 (1998) 59.
- [150] A. Kazemzadeh, A. A. Ensafi *Microchem. J.* 69 (2001) 159.
- [151] B. Haghighi, A. Tavassoli *Talanta* 56 (2002) 137.

- [152] K. Wang, X. Chen, Z. Hu *Fenxi Shiyanshi* 16 (1997) 26.
- [153] R. T. Masserini, K. A. Fanning *Marine Chem.* 68 (2000) 323.
- [154] Z. Wu, E. Teng, F. Wei *Shanghai Huanjing Kexue* 9 (1990) 23.
- [155] A. Sakuragawa, T. Taniai, T. Okutani *Kogyo Yosui* 505 (2000) 8.
- [156] M. Catalá-Icardo, J. Martínez- Calatayud, J.V. García- Mateo *Analyst* 126 (2001) 1423.
- [157] T. Aoki, M. Wakabayashi *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 308.
- [158] P. Mikuska, Z. Vecera, Z. Zdrahal *Anal. Chim. Acta* 316 (1995) 261.
- [159] Y. Miura, K. Kusakari *Anal. Sci.* 15 (1999) 923.
- [160] M. Trojanowicz, W. Matuzewski, B. Szostek, J. Michalowski *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 391.
- [161] I. Gil-Torro, J. V. García-Mateo, J. Martínez-Calatayud *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 241.
- [162] R. Liu, D. Liu *Analyst* 116 (1991) 497.
- [163] H. Kobayashi, M. Hikuma *Anal. Lett.* 33 (2000) 1013.
- [164] T. J. O'Shea, D. Leech, M. R. Smyth, J. G. Vos *Talanta* 39 (1992) 443.
- [165] M. Badea, A. Amine, G. Palleschi, D. Moscone, G. Volpe, A. Curulli *J. Electroanal. Chem.* 509 (2001) 66.
- [166] M. Baeza, J. Bartrolí, J. Alonso *Talanta* 68 (2005) 245.
- [167] Yao-qiang Zhao, You-zhao He, Wu-er Gan, Li Yang *Talanta* 56 (2002) 619.
- [168] A. Kojlo, E. Gorodkiewicz *Anal. Chim. Acta* 302 (1995) 283.
- [169] C. X. Galhardo, J. C. Masini *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 39.
- [170] D. Gabriel, J. Baeza, F. Valero, J. Lafuente *Anal. Chim. Acta* 359 (1998) 173.
- [171] A. R. J. David, T. McCormack, A.W. Morris, P.J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 361 (1998) 63.
- [172] C. H. Wu, J. Ruzicka *Analyst* 126 (2001) 1947.
- [173] A. Daniel, D. Birot, M. Lehaitre, J. Poncin *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 413.
- [174] S. C. Pai, J. P. Riley *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 57 (1994) 263.
- [175] R. Nakata, M. Terashita, A. Nitta, K. Ishikawa *Analyst* 115 (1990) 425.

- [176] E. B. Naidoo, J. F. Van Staden *Water SA* 27 (2001) 355.
- [177] L. J. Gao, Z.Q. Zhang *Huanjing Kexue* 19 (1998) 84.
- [178] M. T. Oms, A. Cerdá, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 315 (1995) 321.
- [179] B. Haghghi, A. Tavassoli *Fresenius' J. Anal. Chem.* 371 (2001) 1113.
- [180] A. Cerdá, M. T. Oms, V. Cerdá, R. Forteza *Anal. Methods Instrum.* 2 (1995) 330.
- [181] C. J. Patton, A. E. Fischer, W. H. Campbell, E. R. Campbell *Environ, Sci. Tech.* 36 (2002) 729.
- [182] S. Motomizu, M. Sanada *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 406.
- [183] R. Liu, D. Liu, A. Sun, G. Liu *Talanta* 42 (1995) 437.
- [184] S. J. Cho, S. Sasaki, K. Ikebukuro, I. Karube *Talanta* 54 (2001) 903.
- [185] L. Cardoso de Faria, C. Pasquini *Anal. Chim. Acta* 245 (1991) 183.
- [186] X. L. Su, P. Chen, X. G. Qu, W. Z. Wei, S. Z. Yao *Microchem. J.* 59 (1998) 341.
- [187] H. Chen, Y. Fang, T. An, K. Zhu, J. Lu *Inter. J. Environ, Anal. Chem.* 76 (2000) 89.
- [188] A. Cerdá, M. T. Oms, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 371 (1998) 63.
- [189] H. Qiu, Q. Shuai, Z. Tang, S. Lin *Fenxi Huaxue* 25 (1997) 72.
- [190] H. Mori *J. Health Sci.* 46 (2000) 385.
- [191] J. Alonso-Chamarro, J. Bartrolí, S. Jun, J. L. F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro *Analyst* 118 (1993) 1527.
- [192] L. T. Dimitrakopoulos. T. Dimitrakopoulos *Electroanalysis* 13 (2001) 161.
- [193] J. L. F. C. Lima, A. Rangel, M. R. S. Souto *Rev. Port. Farm.* 46 (1996) 82.
- [194] I. M. Kutas, E. M. Rakhmanko, I. Gonsales, V. N. Tarasevich, V. A. Vinarskii *J. Anal. Chem.* 46 (1991) 2196.
- [195] F. Zuther, B. Ross, K. Cammann *Anal. Chim. Acta* 313 (1995) 83.
- [196] M. Noufi, C. Yarnitzky, M. Ariel *Anal. Chim. Acta* 234 (1990) 475.
- [197] I. D. Mckelvie, M. Mitri, B. T. Hart, I. C. Hamilton, A. D. Stuart *Anal. Chim. Acta* 293 (1994) 155.
- [198] A. Cerdá, M. T. Oms, R. Forteza, V. Cerdá *Analyst* 121 (1996) 13.
- [199] A. Cerdá, M. T. Oms, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 351 (1997) 273.
- [200] P. Mikuska, Z. Vecera *Anal. Chim. Acta* 474 (2002) 99.

- [201] B. Haghighi, S. Farrokhi Kurd *Talanta* 64 (2004) 688.
- [202] A. Tovar, C. Moreno, M. P. Manuel-Vez, M. García-Vargas *Anal. Chim. Acta* 469 (2002) 235.
- [203] F. R. P. Rocha, B. F. Reis *Anal. Chim. Acta* 409 (2000) 227.
- [204] R. Burakhama, M. Oshimab, K. Grudpan, S. Motomizu *Talanta* 64 (2004) 1259.
- [205] A. Kazemzadeh, Ali A. Ensafi *Microchem. J.* 69 (2001) 159.
- [206] P. Mikuska, Z. Vecera *Anal. Chim. Acta* 495 (2003) 225.
- [207] J. L. Pérez-Pavón, C. García-Pinto, B. Moreno-Cordero, J. Hernández-Méndez, *Anal. Chem.* 62 (1990) 2405.
- [208] A. Kazemzadeha, Ali A. Ensafi *Anal. Chim. Acta* 442 (2001) 319.
- [209] M. T. Oms, A. Cerdá, V. Cerdá *Talanta* 59 (2003) 318.
- [210] J. Z. Zhang, C. J. Fischer, P. B. Ortner *Talanta* 49 (1999) 293.
- [211] J. L. Manzoori, A. Miyazaki, H. Tao *Analyst* 115 (1990) 1055.
- [212] S. Auflitsch, D. M. W. Peat, I. Mckelvie, P. J. Worsfold *Analyst* 122 (1997) 1477.
- [213] J. Z. Zhang, C. J. Fisher, P. B. Ortner *Inter. J. Environ. Anal. Chem.* 80 (2001) 61.
- [214] R. L. Benson, Y. B. Truong, I. D. Mckelvie, B. T. Hart *Water Res.* 30 (1996) 1959.
- [215] J. Van Staden, J. Van der Merwe *Water SA* 23 (1997) 169.
- [216] E. A. M. Kronka, B. F. Reis, J. A. Vieira, T. Blanco, A. P. G. Gervasio *Quim. Nova* 20 (1997) 372.
- [217] B. F. Reis, P. B. Martelli, F. G. Krug, C. A. Tumang *J. Braz. Chem. Soc.* 3 (1992) 38.
- [218] B. Y. Spivakov, T. A. Maryutina, L. K. Shpigun, V. M. Shkinev, Y.A. Zolotov, E. Ruseva, I. Khavezov *Talanta* 37 (1990) 889.
- [219] T. Korenaga, F. S. Sun *Talanta* 43 (1996) 1471.
- [220] G. Hanrahan, M. Gledhill, P. J. Fletcher, P. J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 440 (2001) 55.
- [221] M. Mecozzi *Talanta* 42 (1995) 1239.
- [222] K. Higuchi, H. Tamanouchi, S. Motomizu *Anal. Sci.* 14 (1998) 941.
- [223] D. M. W. Peat, I. D. Mckelvie, G. P. Matthews, P. M. Haygarth, P. J. Worsfold *Talanta* 45 (1997) 47.

- [224] I. D. Mckelvie, B. T. Hart, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall *Talanta* 40 (1993) 1981.
- [225] D. J. Halliwell, I. D. Mckelvie, B. T. Hart, R. H. Dunhill *Analyst* 121 (1996) 1089.
- [226] K. E. Williams, S. J. Haswell, D. A. Barclay, G. Preston *Analyst* 118 (1993) 245.
- [227] R. L. Benson, I. D. Mckelvie, B. T. Hart, Y. B. Truong, I. C. Hamilton *Anal. Chim. Acta* 326 (1996) 29.
- [228] Y. Shan, I. D. Mckelvie, B. T. Hart *Limnol. Oceanogr.* 39 (1994) 1993.
- [229] I. D. Mckelvie, B. T. Hart, T. J. Cardwell, R.W. Cattrall *Anal.Chim. Acta* 316 (1995) 277.
- [230] S. Motomizu, M. Oshima, L. Ma *Anal. Sci.* 13 (suppl. *Asianalysis IV*) (1997) 401.
- [231] S. Motomizu, Y. Yasuda, M. Oshima *Nippon Kagaku Kaishi* 13 (1991) 1624.
- [232] M. Aoyagi, Y. Yasumasa, T. Himeo *J. Flow Injection Anal.* 9 (1992) 47.
- [233] A. Muñoz, F. Mas-Torres, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 21.
- [234] J. P. Susanto, M. Oshima, S. Motomizu, H. Mikasa, Y. Horii *Analyst* 120 (1995) 187.
- [235] T. Pérez-Ruiz, C. Martínez- Lozano, V. Tomás, J. Martín *Anal. Chim. Acta* 442 (2001) 147.
- [236] T. Pérez-Ruiz, C. Martínez- Lozano, V. Tomás, A. Sanz *Analyst* 121 (1996) 477.
- [237] S. Motomizu, M. Oshima, N. Katsumura *Anal. Sci. Technol.* 8 (1995) 843.
- [238] H. Nakamura, H. Tanaka, M. Hasegawa, Y. Masuda, Y. Arikawa, Y. Nomura, K. Ikebukuro, I. Karube *Talanta* 50 (1999) 799.
- [239] H. Nakamura, M. Hasegawa, Y. Nomura, Y. Arikawa, R. Matsukawa, K. Ikebukuro, I. Karube *J. Biotech.* 75 (1999) 127.
- [240] A. Noguchi, T. Aoki, T. Oshima *J. Flow Injection Anal.* 12 (1995) 209.
- [241] T. Aoki, D. Nakano *J. Flow Injection Anal.* 18 (2001) 126.
- [242] R. De Marco, B. Pejic, Z. L. Chen *Analyst* 123 (1998) 1635.
- [243] T. Yao, K. Takashima, Y. Nanjyo *Talanta* 60 (2003) 845.
- [244] A. J. Lyddy-Meaney, P. S. Ellis, P. J. Worsfold, E. C. V. Butler, I. D. McKelvie *Talanta* 58 (2002) 1043.
- [245] J. M. Estela, V. Cerdá *Talanta* 66 (2005) 307.

- [246] O. Tue-Ngeun, P. Ellis, I.D. McKelvie, P. Worsfold, J. Jakmunee, K. Grudpan *Talanta* 66 (2005) 453.
- [247] F. Mas-Torres, J.M. Estela, M.Miró, A. Cladera, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 510 (2004) 61.
- [248] C. Frank, F. Schroeder, R. Ebinghaus, W. Ruck *Talanta* 70 (2006) 513
- [249] I. P.A. Morais, M. Miro, M. Manera, J. M. Estela, V. Cerdá, M. Renata, S. Souto, A. O. S. S. Rangel *Anal. Chim. Acta* 506 (2004) 17.
- [250] T. Korenaga, F. S. Sun *Anal. Chim. Acta* 318 (1996) 195.
- [251] J. Floch, S. Blain, D. Birot, P. Treguer *Anal. Chim. Acta* 377 (1998) 157.
- [252] J. Saurina, S. Hernández-Cassou *Analyst* 120 (1995) 2601.
- [253] F. Mas, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 239 (1990) 151.
- [254] K. Yoshimura, U. Hase, *Analyst* 116 (1991) 835.
- [255] F. Mas-Torres, A. Muñoz, J. M. Estela, V. Cerdá *Analyst* 122 (1997) 1033.
- [256] Y. S. Li, Y. Muo, H. M. Xie *Anal. Chim. Acta* 455 (2002) 315.
- [257] C. X. Galhardo, J. C. Masini *Anal. Chim. Acta* 417 (2000) 191.
- [258] F. Mas-Torres, A. Muñoz, J. M. Estela, V. Cerdá *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 77 (2000) 185.
- [259] N. Lacy, G. D. Christian, J. Ruzicka *Anal. Chem.* 62 (1990) 1482.
- [260] X. L. Su, L. H. Nie, S.Z. Yao *Anal. Chim. Acta* 349 (1997) 143.
- [261] Y. Wei, M. Oshima, T. Takayanagi, S. Motomizu *J. Flow Injection Anal.* 18 (2001) 156.
- [262] M. Oshima, Y. Wei, M. Yamamoto, H. Tanaka, T. Takayanagi, S. Motomizu *Anal. Sci.* 17 (2001) 1285.
- [263] W. F. Jardim, J. R. Guimaraes, H. E. Allen *Cienc. Cult.* 43 (1991) 454.
- [264] Z. Hohercakova, F. Opekar *Anal. Chim. Acta* 551 (2005) 132.
- [265] T. Aoki, Y. Fujimaru, Y. Oka, K. Fujie *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 167.
- [266] V. Kuban, P.K. Dasgupta *Talanta* 40 (1993) 831.
- [267] A. Pérez-Ponce, S. Garrigues, M. de la Guardia *Vib. Spectrosc.* 16 (1998) 61.
- [268] N. Maniasso, S. Sato, M.F. Gine, A.O. Jacintho *Analyst* 121 (1996) 1617.

- [269] O. Tue-Ngeun, R.C. sandford, J. Jakmune, K. Grudpan, I. D. McKelvie, P. J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 554 (2005) 17.
- [270] M. Novic, B. Pihlar, M. Dular *Fresenius' J. Anal. Chem.* 332 (1988) 750.
- [271] T. Sakai, H. Takio, N. Teshima, H. Nishikawa *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 117.
- [272] A. Sanz-Martínez, A. Ríos, M. Valcárcel *Anal. Chim. Acta* 284 (1993) 189.
- [273] J. M. Costa-Fernandez, M. E. Díaz-García, A. Sanz-Medel *Anal. Chim. Acta* 360 (1998) 17.
- [274] S. Muangkaew, I. D. McKelvie, M. R. Grace, M. Rayanakorn, K. Grudpan, J. Jakmune, D. Nacapricha *Talanta* 58 (2002) 1285.
- [275] C. Preininger, I. Klimant, O. S. Wolfbeis *Anal. Chem.* 66 (1994) 1841.
- [276] S. Sangeetha, G. Sugandhi, M. Murugesan, V. M. Madhav, S. Berchmans, R. Rajasekar, D. Jeyakumar, G. P. Rao *Electroanalysis* 8 (1996) 698.
- [277] M. L. Balconi, M. Borgarello, R. Ferraroli, F. Realini *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 295.
- [278] A. Cuesta, J. L. Todoli, A. Canals *Spectrochim. Acta. Part B* 51 (1996) 1791.
- [279] F. Cañete, A. Ríos, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Analyst* 113 (1988) 739.
- [280] F. Cañete, A. Ríos, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Analyst* 112 (1987) 263.
- [281] J. Alpizar, A. Crespi, A. Cladera, R. Forteza, V. Cerdá *Lab. Rob. Autom.* 8 (1996) 165.
- [282] D. J. Mackey, E. C. V. Butler, P. D. Nichols, H. W. Higgins *Mar Chem.* 28 (1989) 41.
- [283] L. T. Dimitrakopoulos, T. Dimitrakopoulos, P. W. Alexander, D. Logic, D. B. Hibbert *Anal. Commun.* 35 (1998) 395.
- [284] P. W. Alexander, T. Dimitrakopoulos, D.B. Hibbert *Electroanalysis* 9 (1997) 1331.
- [285] R. G. J. Bellerby, G. E. Millward, D. R. Turner, P. J. Worsfold *Trends Anal. Chem.* 12 (1993) 382.
- [286] K. Baechmann, I. Haag, U. Sprenger, K.H. Steeg, K. Steigerwald, B. Bastian, A. Roeder *Fresenius' J. Anal. Chem.* 340 (1991) 548.
- [287] R. G. J. Bellerby, D. R. Turner, G. E. Millward, P. J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 309 (1995) 259.

- [288] B. A. Woods, J. Ruzicka, G. D. Christian, N. J. Rose, R. J. Charison *Analyst* 113 (1988) 301.
- [289] H. du Plessis, J. F. Van Staden *Talanta* 52 (2000) 83.
- [290] F. Albertus, B. Horstkotte, A. Cladera, V. Cerdá *Analyst* 124 (1999) 1373.
- [291] C. M. N. V. Almeida, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 291.
- [292] R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, I. V. O. Pinto *Analisis* 28 (2000) 295.
- [293] J. F. Van Staden *Fresenius' J. Anal. Chem.* 326 (1987) 754.
- [294] J. F. Van Staden, R. E. Taljaard *Anal. Chim. Acta* 331 (1996) 271.
- [295] I. P. A. Morais, A. O. S. S. Rangel, M. R. S. Souto *J. AOAC Int.* 84 (2001) 59.
- [296] C. Morante *Anal. Chim. Acta* 249 (1991) 479.
- [297] M. Menezes Santos, B. F. Reis, F. J. Krug, C. H. Collins, N. Baccan *Talanta* 40 (1993) 1529.
- [298] J. F. Van Staden *Water SA* 12 (1986) 43.
- [299] K. Sonne, P. K. Dasgupta *Anal. Chem.* 63 (1991) 427.
- [300] H. Liu, P. K. Dasgupta *Anal. Chim. Acta* 326 (1996) 13.
- [301] J. F. Van Staden, R. E. Taljaard *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357 (1997) 577.
- [302] R. Erthal-Santelli, P. R. Salgado-Lopes, R. C. Leme-Santelli, A. L. Rebello-Wagener, *Anal. Chim. Acta* 300 (1995) 149.
- [303] S. Nakashima, M. Yagi, M. Zenki, M. Doi, K. Toei *Fresenius' Z. Anal. Chem.* 313 (1984) 29.
- [304] T. Korenaga, Y. Yang, K. Shibata, J. Motonaka, S. Ikeda *Jpn. J. Toxicol. Environ. Health* 44 (1998) 49.
- [305] A. B. Marsden, J. F. Tyson *Anal. Proc.* 26 (1989) 157.
- [306] B. Koch *Fresenius' J. Anal. Chem.* 329 (1988) 707.
- [307] M. Karlsson, A. Persson, J. Moeller *Anal. Chim. Acta* 244 (1991) 109.
- [308] I. D. Eremina, L. K. Shpigun, Y. A. Zolotov *J. Anal. Chem.* 42 (1987) 1299.
- [309] J. Toei *Analyst* 112 (1987) 1067.
- [310] P. M. Cmkovic, A. O. Jacintho *Quim. Nova* 25 (2002) 254.

- [311] K. Yakata, F. Sagara, I. Yoshida, K. Ueno *Anal. Sci.* 6 (1990) 711.
- [312] A. Sakuragawa, S. Nakayama, T. Okutani *Anal. Sci.* 10 (1994) 77.
- [313] A. Kojlo, J. Michalowski, M. Trojanowicz *Anal. Chim. Acta* 228 (1990) 287.
- [314] R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, I. V. O. S. Pinto, J. Braz *Chem. Soc.* 11 (2000) 170.
- [315] A. Rius, M. P. Callao, F.X. Rius *Analyst* 122 (1997) 737.
- [316] N. Maniasso, A. O. Jacintho, M. F. Gine *Qim. Nova* 18 (1995) 147.
- [317] B. Fernández-Band, P. Linares, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Analyst* 116 (1991) 305.
- [318] A. G. Cox, C. W. Mcleod, D. L. Miles, J.M. Cook *J. Anal. At.Spectrom.* 2 (1987) 553.
- [319] L. K. Shpigun, I. D. Eremina, Y. A. Molotov *J. Anal. Chem.* 41 (1986) 1557.
- [320] H. Hara, G. Horvai, E. Pungor *Analyst* 113 (1988) 1817.
- [321] O. Lutze, B. Ross, K. Camman *Fresenius' J. Anal. Chem* 350 (1994) 630.
- [322] J. F. Van Staden *South Afr. J. Anal. Chem.* 44 (1991) 13.
- [323] P. MacLaurin, K. S. Parker, A. Townshend, P. J. Wors Fold, N. W. Barnett, M. Crane *Anal Chim. Acta* 238 (1990) 171.
- [324] W. Frenzel, B. Hillmann *Chem. Anal.* 40 (1995) 619.
- [325] S. S. M. Hassan, S. A. Marei, I. H. Badr, H. A. Arida *Talanta* 54 (2001) 773.
- [326] A.E. Davies, A.G. Fogg *Anal. Chim. Acta* 318 (1995) 55.
- [327] A.G. Fogg, C.W. Guta, A.Y. Chamsi *Analyst* 112 (1987) 253.
- [328] A. G. Fogg, M.A. Fernandez-Arciniega, R.M. Alonso *Analyst* 110 (1985) 851.
- [329] J. Valdés, I. Gutz, D. Klockow *Ing. Cienc. Quim.* 15 (1995) 35.
- [330] D. A. Paulls, A. Townshend *Analyst* 120 (1995) 467.
- [331] P. K. Dasgupta, H. C. Yang *Anal. Chem.* 58 (1986) 2839.
- [332] R. J. Cassella, R. E. Santelli, L. S. G. Teixeira, A. C. Spinola-Costa, M. de la Guardia *Analyst* 125 (2000) 1835.
- [333] L. Ferrer, G. de Armas, M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Talanta* 64 (2004) 1119.
- [334] A. A. Ensafi *Anal. Lett.* 25 (1992) 1525.
- [335] H. Ma, J. Liu, J. Feng, Y. Gao *J. Flow Inject. Anal.* 11 (1994) 58.

- [336] J. F. Van Staden, L. G. Kluever *Anal. Chim. Acta* 369 (1998) 157.
- [337] V. Kuban, P. K. Dasgupta, J. N. Marx *Anal. Chem.* 64 (1992) 36.
- [338] G. de Armas, L. Ferrer, M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá, *Anal. Chim. Acta* 524 (2004) 89.
- [339] P. Jeroschewski, S. Braun *Fresenius' J. Anal. Chem.* 354 (1995) 169.
- [340] J. L. F. Costa Lima, L. S. M. Rocha *Int. J. Environ. Chem.* 38 (1990) 127.
- [341] A. B. Florou, M. I. Prodromidis, M. I. Karayannis, S. M. Tzouwara-Karayanni *Talanta* 52 (2000) 465.
- [342] A. C. Lopes da Conceicao, M. M. Correia dos Santos, M. L. S. Simoes-Goncalves, F. J. V. Santos *Talanta* 50 (2000) 1245.
- [343] M. Trojanowicz, P. W. Alexander, D. B. Hibbert *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 23.
- [344] H. Hara, C. C. Huang *Anal. Chim. Acta* 338 (1997) 141.
- [345] T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, M. Mitri *Talanta* 41 (1994) 115.
- [346] D. Chen, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Anal. Chim. Acta* 234 (1990) 345.
- [347] M. E. León-González, M. J. Santos-Delgado, L. M. Polo-Díez *Anal. Chim. Acta* 219 (1989) 329.
- [348] J. L. Manzoori, A. Miyazaki, *Anal. Chem.* 62 (1990) 2457.
- [349] N. Yonehara, S. Chaen, K. Matsumoto, T. Tomiyasu, H. Sakamoto *J. Flow Inject. Anal.* 13 (1996) 35.
- [350] R. M. Patel, K. S. Patel, M. L. Naik *Int. J. Environ. Stud.* 56 (1999) 745.
- [351] M. Garrido, A. G. Lista, M. Palomeque, B. S. Fernandez-Band *Talanta* 58 (2002) 849.
- [352] J. F. Van Staden, S. I. Tlowana *Fresenius' J. Anal. Chem.* 371 (2001) 396.
- [353] A. N. Araujo, J. L. F. Costa Lima, A. O. S. S. Rangel, M. T. M. Teixeira *J. Flow Inject. Anal.* 9 (1992) 69.
- [354] A. T. Haj-Hussein *Anal. Lett.* 29 (1996) 793.
- [355] J. Cirello-Egamino, I. D. Brindle *Analyst* 120 (1995) 183.
- [356] D. Kraemer, E. Rosenberg, A. Krug, R. Kellner, W. Hutter, W. Hampel *Mikrochim. Acta* 116 (1994) 183.

- [357] J. F. Van Staden, C. J. Hattingh, D. Malan *Fresenius' J. Anal. Chem.* 351 (1995) 758.
- [358] A. N. Araujo, M. B. Etxeberria, J. L. F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro, R. Perez-Olmos *Fresenius' J. Anal. Chem.* 351 (1995) 614.
- [359] J. F. Van Staden, C. J. Hattingh *Talanta* 45 (1998) 485.
- [360] S. D. Nikolic, E. B. Milosavljevic, J. L. Hendrix, J. H. Nelson *Analyst* 116 (1991) 49.
- [361] R. B. R. Mesquita, S. M. V. Fernandes, A. O. S. S. Rangel *J. Environ. Monit.* 4 (2002) 458.
- [362] M. Zenki, Y. Iwadou *Talanta* 58 (2002) 1055.
- [363] C. M. N. V. Almeida, M. C. U. Araujo, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, B. F. Reis, E.A.G. Zagatto, *Analyst* 125 (2000) 333.
- [364] A. N. Araújo, M. C. B. S. M. Montenegro, L. Kousalova, H. Sklenarova, P. Solich, R. Perez-Olmos *Anal. Chim. Acta* 505 (2004) 161.
- [365] L. M. B. C. Alvares Ribeiro, A. A. S. C. Machado *Analyst* 123 (1998) 653.
- [366] A. Andrade-Eiroa, J.A. Erustes, R. Forteza, V. Cerdá, J. L. F. C. Lima *Anal. Chim. Acta* 467 (2002) 25.
- [367] E. Santos, M. C. B. S. M. Montenegro, C. Couto, A. N. Araújo, M. F. Pimentel, V.L. da Silva *Talanta* 63 (2004) 721.
- [368] P. Ward, M.R. Smyth *Talanta* 40 (1993) 1131.
- [369] S. Wilkie, H. Franzke, H. Mueller *Anal. Chim. Acta* 268 (1992) 285.
- [370] P. Martínez-Jiménez, M. Gallego, M. Valcárcel *J. Anal. At. Spectrom.* 3 (1987) 211.
- [371] G. Schulze, O. Elsholz, R. Hielscher, A. Rauth, S. Recknagel, A. Thiele *Fresenius' J. Anal. Chem.* 334 (1989) 9.
- [372] J. G. March, M. Gual, B. M. Simonet *Talanta* 58 (2002) 995.
- [373] E. Pobozy, K. Pyrzynska, B. Szostek, M. Trojanowicz *Microchem. J.* 51 (1995) 379.
- [374] K. Carisson, L. Moberg, B. Karlberg *Water Res.* 33 (1998) 375.
- [375] M. Zenki, H. Komatsubara, K. Toei *Anal. Chim. Acta.* 208 (1988) 317.
- [376] M. Catalá-Icardo, J. V. García-Mateo, J. Martínez-Calatayud *Anal. Chim. Acta* 443 (2001) 153.

- [377] M. Catalá-Icardo, J. V. García-Mateo, J. Martínez- Calatayud *Analyst* 126 (2001) 2087.
- [378] A. Chaurasia, K. K. Verma *Fresenius' J. Anal. Chem.* 351 (1995) 335.
- [379] K. K. Verma, A. Jain, A. Townshend *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 233.
- [380] A. Sakai, A. Hemmi, H. Hachiya, F. Kobayashi, S. Ito, Y. Asano, T. Imato, Y. Fushimuki, I. Taniguchi *Talanta* 45 (1998) 575.
- [381] H. Ohura, T. Imato, S. Yamasaki *Talanta* 49 (1999) 1003.
- [382] W. Matuszewski, M. Trojanowicz *Anal. Chim. Acta* 207 (1988) 59.
- [383] W. Qin, Z. J. Zhang, S. N. Liu *Anal. Lett.* 30 (1997) 11.
- [384] T. Nakagama, M. Yamada, T. Hobo *Anal. Chim. Acta* 231 (1990) 7.
- [385] K. Aoki, T. Kato, M. Munemori *J. Flor Inject. Anal.* 4 (1987) 98.
- [386] G. Gordon, D. L. Sweetin, K. Smith, G. E. Pacey *Talanta* 38 (1991) 145.
- [387] G. P. Irons, G. M. Greenway *Analyst* 120 (1995) 477.
- [388] G. P. Irons, G. M. Greenway *Anal. Proc.* 31 (1994) 91.
- [389] B. Saad, W. Tatt Wai, Md. Sariff, W. S. Wan Ngah, M. I. Saleh, J. M. Slater *Anal. Chim. Acta* 537 (2005) 197.
- [390] K. Tian, P. K. Dasgupta, S. J. Caldwell *At. Process.* 5 (2000) 115.
- [391] K. Tian, P. K. Dasgupta *Talanta* 52 (2000) 623.
- [392] D. M. Themelis, D. W. Word, G. Gordon *Anal. Chim. Acta* 225 (1989) 437.
- [393] J. T. Hakedal, P. K. Egeberg *Analyst* 122 (1997) 1235.
- [394] P. I. Anagnostopoulou, M. A. Koupparis *Anal. Chem.* 58 (1986) 322
- [395] T. Anfalt, S. Twengstrom *Anal. Chim. Acta* 179 (1986) 453.
- [396] P. R. Freeman, B. T. Hart, L. D. Mckelvie *Anal. Chim. Acta* 282 (1993) 379.
- [397] N. Yonehara, S. I. Chaen, T. Tomiyasu, H. Sakamoto *Anal. Sci.* 15 (1999) 277.
- [398] A. M. Almuaibed, A. Townshend *Anal. Chim. Acta* 245 (1991) 115.
- [399] A. T. Pilipenko, A. V. Terletsкая, O.V. Zui *J. Anal. Chem.* 44 (1989) 1585.
- [400] G. Gordon, B. Bubnis, D. Sweetin, C. Y. Kuo *Ozone Sci. Eng.* 16 (1994) 79.
- [401] S. Kawakubo, L. Bing, M. Iwatsuki, T. Fukasawa *J. Flow Inject. Anal.* 10 (1993) 86.
- [402] A. R. Elwaer, C. W. Mcleod, K. C. Thompson *Anal. Chem.* 72 (2000) 5725.

- [403] J. A. Erustes, R. Forteza, V. Cerdá *J. AOAC Int.* 84 (2001) 337.
- [404] B. Rezaei *Anal. Lett.* 33 (2000) 2553.
- [405] C. K. Chandrawanshi, S. K. Chandrawanshi, K. S. Patel *J. Autom. Chem.* 18 (1996) 181.
- [406] T. Nakahara, S. Yamada, T. Wasa *Appl. Spectrosc.* 45 (1991) 1561.
- [407] Y. S. Fung, S.Y. Mo *Anal. Sci.* 10 (1994) 179.
- [408] M. C. Yebra, R. M. Cespon *Fresenius J. Anal. Chem.* 367 (2000) 24.
- [409] U. Myint, S. Than Than, S. Khaing, H. Ba, M. Thida Khin Mg, J. Tolgyessy *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 201(1995) 171.
- [410] A. A. Ensafi *Spectrochim. Acta Part A* 57 (2001) 1739.
- [411] J. C. L. Meeussen, E. J. M. Temminghoff, M. G. Keizer, I. Novozamsky *Analyst* 114 (1989) 959.
- [412] V. Kuban *Anal. Chim. Acta* 259 (1992) 45.
- [413] L. Solujic, E. B. Milosavljevic, M. R. Straka *Analyst* 124 (1999) 1255.
- [414] E. Miralles, D. Prat, R. Compañó, M. Granados *Analyst* 123 (1998) 217.
- [415] D. L. Recalde-Ruiz, E. Andrés-García, M. E. Díaz-García *Analyst* 125 (2000) 2010.
- [416] J. Lu, W. Qin, Z. Zhang, M. Feng, Y. Wang *Anal. Chim. Acta* 304 (1995) 369.
- [417] E. Yamada, C. Hamamura, K. Fukuda, M. Sato *J. Flow Inject. Anal.* 10 (1993) 48.
- [418] W. Frenzel, C. Liu, J. Olesksy *Anal. Chim. Acta* 233 (1990) 77.
- [419] L. F. R. Machado, A. O. Jacintho, A. A. Menegario, E. A. G. Zagatto, M. F. Gine *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1343.
- [420] J. L. Burguera, M. Burguera, A. F. Danet *Rev Roum. Chim.* 43 (1998) 301.
- [421] J. Y. Cabon, N. Cabon *Anal. Chim. Acta* 418 (2000) 19.
- [422] J. L. Capelo, I. Lavilla, C. Bendicho *Anal. Chem.* 73 (2001) 3732.
- [423] H. Sakamoto, Y. Susa, H. Ishiyama, T. Tomiyasu, K. Anazawa *Anal. Ci.* 17 (2001) 1067.
- [424] S. Satienperakul, T. J. Cardwell, S. D. Kolev, C. E. Lenehan, N. W. Barnett *Anal. Chim. Acta* 554 (2005) 25.
- [425] J. L. Burguera, M. Burguera, C. Rivas, P. Carrero *Talanta* 45 (1998) 531.

- [426] G. Samanta, T. R. Chowdhury, B. K. Mandal, B. K. Biswas, U. K. Chowdhury, G. K. Basu, C. R. Chanda, D. Lodh, D. Chakraborti, *Microchem. J.* 62 (1999) 174.
- [427] D. Pozebon, V. L. Dressler, J. A. Gomes-Neto, A. J. Curtius *Talanta* 45 (1998) 1167.
- [428] L. O. Leal, R. Forteza, V. Cerdá *Talanta* 60 (2006) 500
- [429] D. W. Brice, A. Izquierdo, M. D. Luque de Castro *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 1059.
- [430] M. B. de la Calle-Guntinas, Y. Madrid, C. Cámara *Mikrochim. Acta* 109 (1992) 149.
- [431] S. Garbos, M. Rzepecka, E. Bulska, A. Hulanicki *Spectrochim. Acta, Part B* 54 (1999) 873.
- [432] N. V. Semenova, L. O. Leal, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 530 (2005) 113.
- [433] D. W. Brice, A. Izquierdo, M. D. Luque de Castro *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 96.
- [434] E. Moreno, C. Cámara, W. T. Corns, D. W. Brice, P. B. Stockwell *J. Autom. Chem.* 22 (2000) 33.
- [435] R. A. Nickson, S. J. Hill, P. J. Worsfold *J. Flow Inject. Anal.* 16 (1999) 45.
- [436] R. Siska, J. Borszeki, E. Gegus *Can J. Appl. Spectrosc.* 40 (1995) 117.
- [437] U. Oernemark, A. Olin *Talanta* 41 (1994) 67.
- [438] X.P. Yan, X. B. Yin, X. W. He, Y. Jiang *Anal. Chem.* 74 (2002) 2162.
- [439] S. Nielsen, J. J. Sloth, E. H. Hansen *Talanta* 43 (1996) 867.
- [440] G. Tao, Z. L. Frang *J. Anal. At. Spectrom.* 8 (1993) 577.
- [441] H. W. Sinemus, J. Kleiner, H. H. Stabel, B. Radziuk *J. Anal. At. Spectrom.* 7 (1992) 433.
- [442] R. Allabashi, J. Rendl, M. Grasserbauer *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357 (1997) 1024.
- [443] C. S. Chen, S. J. Jiang *Spectrochim. Acta, Part B* 51 (1996) 1813.
- [444] T. Rupasinghe, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, M. D. Luque de Castro, S. D. Kolev, *Anal. Chim. Acta* 445 (2001) 229.
- [445] J. A. Gomes-Neto, R. Montes, A. A. Cardoso *Talanta* 50 (1999) 959.
- [446] N. V. Semenova, L. O. Leal, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 455 (2002) 277.
- [447] S. Motomizu, M. Oshima, Z. Jun *Anal. Chim. Acta* 251 (1991) 269.

- [448] A. Economou, D. G. Themelis, H. Bikou, P. D. Tzanavaras, P. G. Rigas *Anal. Chim. Acta* 510 (2004) 219.
- [449] J. F. Van Staden, T. A. Van der Merwe, *South Afr. J. Anal. Chem.* 53 (2000) 77.
- [450] S. D. Kumar, B. Maiti, P. K. Mathur *Anal. Chem.* 71 (1999) 2551.
- [451] I. Sekerka, J. F. Lechner *Anal. Chim. Acta* 234 (1990) 199.
- [452] P. L. Kempster, H. R. Van Vliet, J. F. Van Staden *Anal. Chim. Acta* 218 (1989) 69.
- [453] Z. L. Fang, *Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry*, Chichester, Wiley, 1995.
- [454] A. Sanz-Medel, *Flow Analysis with Atomic Spectrometric Detectors*, Amsterdam, Elsevier, 1999.
- [455] K. Benkhedda, H. G. Infante, F. C. Adams, E. Ivanova *TrAC-Trends anal. Chem.* 21 (2002) 332.
- [456] M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Talanta* 63 (2004) 201.
- [457] E. Pobozy, R. Halko, M. Krasowski, T. Wierzbicki *Water Research* 37 (2003) 2019.
- [458] R. A. Nickson, S. J. Hill, P. J. Worsfold *Anal. Proc.* 32 (1995) 387.
- [459] J. Atienza, M. A. Herrero, A. Maquieira, R. Puchades *Crit. Rev. Anal. Chem.* 23 (1992) 1.
- [460] S. N. Willie, R. E. Sturgeon *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1707.
- [461] K. Benkhedda, H. G. Infante, E. Ivanova, F. C. Adams *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 1349.
- [462] L. Arce, A. Ríos, M. Valcárcel *J. Chromatogr. A* 791 (1997) 279.
- [463] P. Kuban, R. Pirmohammadi, B. Karlberg *Anal. Chim. Acta* 378 (1999) 55.
- [464] Z. L. Fang, T. Guo, B. Welz *Talanta* 38 (1991) 613.
- [465] D. Pozebon, V. L. Dressler, A. J. Curtius *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 215.
- [466] R. Ma, W. van Mol, F. Adams *Anal. Chim. Acta* 293 (1994) 251.
- [467] M. S. Jiménez, R. Velarte, J. R. Castillo *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 391.
- [468] R. A. Nickson, S. J. Hill, P. J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 351 (1997) 311.
- [469] J. M. P. J. Garrido, R. A. S. Lapa, J. L. F. C. Lima, C. Delerue-Matos, J. L. M. Santos *J. Autom. Chem.* 18 (1996) 17.
- [470] N. G. Beck, R. P. Franks, K. W. Bruland *Anal. Chim. Acta* 455 (2002) 391.

- [471] K. H. Lee, M. Oshima, S. Motomizu *Analyst* 127 (2002) 769.
- [472] K. W. Warnken, G. A. Gill, L. S. Wen, L. L. Griffin, P. H. Santschi *J. Anal. At. Spectrom* 14 (1999) 247.
- [473] A. Ali, H. Shen, X. Yin *Anal. Chim. Acta* 369 (1998) 215.
- [474] A. Bortoli, M. Gerotto, M. Marchiori, F. Mariconti, M. Palonta, A. Troncon *Microchem. J.* 54 (1996) 402.
- [475] R. Ma, W. van Mol, F. Adams *At. Spectrosc.* 17 (1996) 176.
- [476] D. Beauchemin, A. A. Specht *Can J. Anal. Sci. Spectrosc.* 43 (1998) 43.
- [477] W. W. Kubiak, J. Wang, D. Darnall *Anal. Chem.* 61 (1989) 468.
- [478] M. A. Mesquita da Silva, V. L. Azzolin-Frescura, A. J. Curtius *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 803.
- [479] A. Maquieira, H. A. M. Elmahadi, R. Puchades *Analyst* 121 (1996) 1633.
- [480] Z. X. Zhuang, X. R. Wang, P. Y. Yang, C. L. Yang, B. Huang *J. Anal Spectrom.* 9 (1994) 779.
- [481] H. W. Chen, J. C. Jin, Y. F. Wang *Anal. Chim. Acta* 353 (1997) 181.
- [482] J. Liu, H. Chen, X. Mao, X. Jin *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 76 (2000) 267.
- [483] H.H. Chen, D. Beauchemin *J. Anal. At. Spectrom.* 16 (2001) 1356.
- [484] C. E. S. Miranda, B.F. Reis, N. Baccan, A.P. Packer, M.F. Gine *Anal. Chim. Acta* 453 (2002) 301.
- [485] R. E. Taljaard, J. F. van Staden *South Afr. Chem.* 52 (1999) 36.
- [486] S. Ohno, N. Teshima, T. Sakai, K. Grudpan, M. Polasek *Talanta* 68 (2006) 527.
- [487] M. Azubel, F. M. Fernandez, M. B. Tudino, O. E. Troccoli *Anal. Chim. Acta* 398 (1999) 93.
- [488] E. Castillo, J. L. Beltran, M. D. Prat, M. Granados, J. L. Cortina *Analyst* 126 (2001) 1149.
- [489] C. Moreno, M.P. Manuel-Vez, I. Gómez, M. García-Vargas *Analyst* 121 (1996) 1609.
- [490] L. S. G. Teixeira, A. C. S. Costa, S. Garrigues, M. de la Guardia *J. Braz Chem. Soc.* 13 (2002) 54.
- [491] W. Martinotti, G. Queirazza, A. Guarinoni, G. Mori *Anal. Chim. Acta* 305 (1995) 183.

- [492] M. de la Guardia, V. Carbonell, A. Morales-Rubio, A. Salvador *Fresenius' J. Anal. Chem.* 335 (1989) 975.
- [493] S. Motomizu, M. Onoda *Anal. Chim. Acta* 214 (1988) 289.
- [494] A. A. Dunaeva, S. Wilkie, N. V. Kolycheva, O. M. Petrukhim, H. Muller *J. Anal. Chem* 54 (1999) 438.
- [495] J. R. de Oliveira-Torres, M. Tubino *Anal. Lett.* 27 (1994) 1625.
- [496] R. J. Forster, D. Diamond *Anal. Chem.* 64 (1992) 1721.
- [497] R. J. Forster, D. Diamond *Anal. Chim. Acta.* 276 (1993) 75.
- [498] R. Liu, D. Liu, A. Sun *Analyst* 117 (1992) 1335.
- [499] A. S. Attiyat, G. D. Christian, J. A. McDonough, B. Strzelbicka, M. J. Goo, Z. Y. Yu, R. A. Bartsch *Anal. Lett.* 26 (1993) 75.
- [500] U. Myunt, K. K. Saw, N. M. Kham, J. Tolgyessy *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 220 (1997) 255.
- [501] F. Cañete, A. Ríos, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Analyst* 112 (1987) 267.
- [502] T. Imato, K. Ishii, N. Ishibashi *Anal. Sci.* 8 (1992) 631.
- [503] E. Gómez, C. Tomás, A. Cladera, J. M. Estela, V. Cerdá *Analyst* 120 (1995) 1181.
- [504] I. Ruisanchez, A. Rius, M. S. Larrechi, M. P. Callao, F. X. Rius *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 24 (1994) 55.
- [505] I. Ruisanchez, J. Lozano, M. S. Larrechi, F. X. Rius, J. Zupan *Anal. Chim. Acta* 348 (1997) 113.
- [506] P. Campins-Falco, F. Blasco-Gomez, F. Bosch-Reig *Talanta* 47 (1998) 193.
- [507] O. Hernández, F. Jiménez, A. I. Jiménez, J. J. Arias, J. Havel *Anal. Chim. Acta* 320 (1996) 177.
- [508] A. Rius, M. P. Callao, F. X. Rius *Anal. Chim. Acta* 316 (1995) 27.
- [509] P. Campins-Falco, F. Blasco-Gómez, F. Bosch-Reig *Talanta* 49 (1999) 155.
- [510] T. Yamane, E. Goto *Talanta* 38 (1991) 139.
- [511] P. L. Kempster, J. F. van Staden, H. R. van Vliet *Fresenius' J. Anal. Chem.* 332 (1988) 111.
- [512] A. N. Araujo, R. C. C. Costa, J. L. F. C. Lima, B. F. Reis *Anal. Chim. Acta* 358 (1998) 111.

- [513] J. F. van Staden, R. E. Taljaard *Anal. Chim. Acta* 323 (1996)75.
- [514] J. Nyman, A. Ivaska *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 286.
- [515] F. R. P. Rocha, P. B. Martelli, R. M. Frizzarin, B. F. Reis *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 45.
- [516] X. D. Wang, T. J. Cardwell, R. W. Canttrall, R. P. Dyson, G. E. Jenkins *Anal. Chim. Acta* 368 (1998) 105.
- [517] V. V. Kuznetsov, Y. V. Ermolenko *J. Anal. Chem.* 55 (2000) 474.
- [518] P. W. Alexander, T. Dimitrakopoulos, D. B. Hibbert *Talanta* 44 (1997) 1397.
- [519] J. Alonso-Chamarro, J. Bartrolí, S. Jun, J. L. F. C. Lima, M. C. B. S. M. Montenegro *Analyst* 118 (1993) 1527.
- [520] X. D. Wang, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, G. E. Jenkins *Anal. Commun.* 35 (1998) 97.
- [521] Z. Chen, M. A. Adams *Talanta* 47 (1998) 779.
- [522] Y. Gao, M. Oshima, Y. Shimoishi, S. Motomizu *J. Flow Injection Anal.* 12 (1995) 77.
- [523] R. Forteza, V. Cerdá, S. Maspoch, M. Blanco *Analisis* 15 (1987) 136.
- [524] A. J. Downard, J. B. Hart, H. K. J. Powell, S. H. Xu *Anal. Chim. Acta* 269 (1992) 41.
- [525] G. de Armas, A. Cladera, E. Becerra, J. M. Estela, V. Cerdá *Talanta* 52 (2000) 77
- [526] O. Egorov, M. O'Hara, J. W. Grate, J. Ruzicka *Anal. Chem.* 71 (1999) 345.
- [527] J. W. Grate, S. K. Fadeff, O. Egorov *Analyst* 124 (1999) 203.
- [528] M. Miró, E. Gómez, J. M. Estela, M. Casas, V. Cerdá *Anal. Chem.* 74 (2002) 826.
- [529] J. J. Mateos, E. Gómez, F. Garcias, M. Casas, V. Cerdá *Apli. Radiat. Isoto.* 53 (2000) 139.
- [530] Y. Fajardo, E. Glomeza, F. Masa, F. Garcias, V. Cerdá, M. Casas *Apli. Radiat. Isoto.* 61 (2004)273.
- [531] Y. Fajardo, E. Glomeza, F. Garcias, V. Cerdá, M. Casas *Anal. Chim. Acta* 539 (2005) 189.
- [532] M. L. D. P. Godoy, J. M. Godoy, R. Kowsmann, G. M. dos Santos, R. Petinatti da Cruz *J. Environ. Radioact.* 88 (2006) 109.

- [533] J. L. Burguera, M. Burguera, C. Rondon, P. Carrero, M. R. Brunetto, Y. Petit de Peña *Talanta* 52 (2000) 27.
- [534] H. J. Salacinski, P. G. Riby, S. J. Haswell *Anal. Chim. Acta* 269 (1992) 1.
- [535] J. A. Resing, C. I. Measures *Anal. Chem.* 66 (1994) 4105.
- [536] B. Faiman, A. Gioda, R. Binotto, P. C. do Nascimento *Anal. Chim. Acta* 355 (1996) 757.
- [537] D. Bohrer, A. Gioda, R. Binotto, P. C. Nascimento *Anal. Chim. Acta* 362 (1998) 163.
- [538] P. Cañizares, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Anal. Lett.* 27 (1994) 247.
- [539] J. Kobayashi, M. Baba, M. Miyazaki *Anal. Sci.* 10 (1994) 287.
- [540] B. Fairman, A. Sanz-Medel, P. Jones *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 281.
- [541] D. Yuan, I. L. Shuttler *Anal. Chim. Acta* 316 (1995) 313.
- [542] R. L. Benson, P. J. Worsfold, F. W. Sweeting *Anal. Chim. Acta* 238 (1990) 177.
- [543] D. Malcolm-Lawes, K. H. Wong *J. Autom. Chem.* 13 (1991) 147.
- [544] O. Royset *Anal. Chem.* 59 (1987) 899.
- [545] M. Ahmad, R. Narayanaswamy *Sci. Total Environ.* 163 (1995) 221.
- [546] F. Sánchez Rojas, E. Cristofol-Alcaraz, J. M. Cano Pavón *Analyst* 119 (1994) 1221.
- [547] S. H. Sutheimer, S. E. Cabaniss *Anal. Chim. Acta* 303 (1995) 211.
- [548] F. Carrillo, C. Pérez-Conde, C. Camara *Fresenius' J. Anal. Chem.* 354 (1996) 204.
- [549] G. de Armas, M. Miró, A. Cladera, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 455 (2002) 149.
- [550] A. Alonso, M. J. Almendral, M. J. Porras, Y. Curto, C. García de María *Anal. Chim. Acta* 447 (2002) 149.
- [551] C. Brach, B. Coulomba, J. L. Boudenne, V. Cerdá, F. Theraulaz *Anal. Chim. Acta* 457 (2002) 311.
- [552] K. Pyrzyńska, S. Gucer, E. Bulska *Water Res.* 34 (1999) 359.
- [553] N. Clarke, L. G. Danielsson, A. Sparen *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 48 (1992) 77.
- [554] L. G. Danielsson, A. Sparen *Anal. Chim. Acta* 306 (1995) 173.
- [555] S. I. Simpson, K. J. Powell, N. H. S. Nilsson *Anal. Chim. Acta* 343 (1997) 19.

- [556] D. Berggren, A. Sparen *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 62 (1996) 115.
- [557] N. Clarke, L.G. Danielsson, A. Sparen *Water, Air, Soil Pollut* 84 (1995) 103.
- [558] J. M. Henshaw, T. E. Lewis, E. M. Heithmar *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 34 (1988) 119.
- [559] M. J. Quintela, M. Gallego, M. Valcárcel *Analyst* 118 (1993) 1199.
- [560] B. Fairman, A. Sanz-Medel *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 50 (1993) 161.
- [561] S. L. Simpson, K. J. Powell, N. H. S. Nilsson, S. Sjoberg *Anal. Chim. Acta* 359 (1998) 329.
- [562] S. Kawakubo, R. Fukasawa, M. Iwatsuki *J. Flow Injection Anal.* 14 (1997) 25.
- [563] H. W. Chen, S.K. Xu, Z.L. Fang *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 533.
- [564] Y. H. Sung, Z. H. Liu, S. D. Huang *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 841.
- [565] N. Furuta, K. R. Brushwylwe, G. M. Hieftje *Spectrochim. Acta Part B* 44 (1989) 349.
- [566] C. S. P. Iyer, T. Prasada-Rao, T. Kartikeyan, A. D. Damodaran *At. Spectrosc.* 15 (1994) 234.
- [567] S. Nakano, Y. Luo, D. Holman, J. Ruzicka, G. D. Chistian *Microchem. J.* 55 (1997) 392.
- [568] K. Yoshimura, S. Matsuoka, H. Waki *Anal. Chim. Acta* 225 (1989) 313.
- [569] K. Benkhedda, H. G. Infante, E. Ivanova, F. Adams *Fresenius' J. Anal. Chem.* 368 (2000) 288.
- [570] X. P. Yan, W. van Mol, F. Adams *Lab. Rob. Autom.* 9 (1997) 191.
- [571] K. Benkhedda, H. G. Infante, E. Ivanova, F. Adams *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 429.
- [572] M. Sperling, X. Yin, B. Welz *J. Anal. At. Spectrom.* 6 (1991) 615.
- [573] A. I. Yuzefovsky, R. F. Leonardo, M. Wang, R. G. Michel *J. Anal. At. Spectrom.* 9 (1994) 1195.
- [574] M. S. Jiménez, J. R. Castillo *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 1397.
- [575] R. J. Casella, V. A. Salim, L. S. Jesuino, R. E. Santelli, S. L. C. Ferreira, M. S. de Carvalho *Talanta* 54 (2001) 61.
- [576] S. Dadfarnia, M. H. Jafarzadeh *Microchem. J.* 63 (1999) 226.

- [577] A. Malahoff, I. Y. Kolotyrykina, L. K. Shpigun *Analyst* 121 (1996) 1037.
- [578] V. Cannizzaro, A. R. Bowie, A. Sax, E. P. Achterberg, P. J. Worsfold *Analyst* 125 (2000) 51.
- [579] T. Yamane, K. Watanabe, H. A. Mottola *Anal. Chim. Acta* 207 (1988) 331.
- [580] T. Kawashima, T. Minami, M. Ata, M. Kamada, S. Nakano *J. Flow Injection Anal.* 2 (1985) 40.
- [581] S. Hirata, Y. Hashimoto, M. Aihara, G. V. Mallika *Fresenius' J. Anal. Chem.* 355 (1996) 676.
- [582] Q. Lin, A. Guiraum, R. Escobar, F. F. de la Rosa *Anal. Chim. Acta* 283 (1993) 379.
- [583] S. Igarashi, T. Aihara, T. Yotsuyanagi *Anal. Chim. Acta* 323 (1996) 63.
- [584] M. Andac, A. Asan, I. Isildak, H. Cesur *Anal. Chim. Acta* 434 (2001) 143.
- [585] L. M. trutneva, O. P. Shvoeva, S. B. Savvin *J. Anal. Chem.* 49 (1994) 473.
- [586] T. G. Dzherayan, V. M. Shkinev, L. K. Shpigun, P. M. Kamilova, K. E. Geckeler *Talanta* 57 (2002) 7.
- [587] A. Daniel, A. R. Baker, C. M. G. van Der Berg *Fresenius' J. Anal. Chem.* 358 (1997) 703.
- [588] A. R. Bowie, E. P. Achterberg, R. F. C. Mantoura, P. J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 361 (1998) 189.
- [589] D. A. Weeks, K. W. Bruland *Anal. Chim. Acta* 453 (2002) 21.
- [590] E. Rubi, R. Forteza, V. Cerdá *Lab. Rob. Autom.* 8 (1996) 149.
- [591] S. Hirata, H. Yoshihara, M. Aihara *Talanta* 49 (1999) 1059.
- [592] H. Bagheri, A. Gholami, A. Najafi *Anal. Chim. Acta* 424 (2000) 233.
- [593] S. Krekel, W. Frenzel, G. Schulze *Anal. Chim. Acta* 296 (1994) 115.
- [594] S. Blain, P. Treguer *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 425.
- [595] R. J. Cassella *J. Environ. Monit.* 4(2002) 522.
- [596] X. P. Yan, M. J. Hendry, R. Kerrich *Anal. Chem.* 72 (2000) 1879.
- [597] E. Rubi, M. S. Jiménez, F. Bauza de Mirabo, R. Corteza, V. Cerdá *Talanta* 44 (1997) 553.
- [598] M. J. Pullin, S. E. Cabaniss *Water Res.* 35(2001) 363.

- [599] J. de Gracia, M. L. M. F. S. Saravia, A. N. Araujo, J. L. F. C. Lima, M. del Valle, M. Poch *Anal. Chim. Acta* 348 (1997) 143.
- [600] A. C. Lopes da Conceicao, M. T. Tena, M. M. Correia dos Santos, M. L. S. Simoes-Goncalves, M. D. Luque de Castro *Anal. Chim. Acta* 343(1997) 191.
- [601] F. Lázaro, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Anal. Chim. Acta* 219 (1989) 231.
- [602] M. I. Pascual-Reguera, I. Ortega-Carmona, A. Molina-Díaz *Talanta* 44 (1997) 1793.
- [603] Pierre-Marie Sarradin, N. Le Bris, Ch. Le Gall, P. Rodier *Talanta* 66 (2005) 1131
- [604] U. Hase, K. Yoshimura *Analyst* 117 (1992) 1501.
- [605] K. Jitmanee, S. K. Hartwell, J. Jakmunee, S. Jayasvasti, J. Ruzicka, K. Grudpan *Talanta* 57 (2002) 187.
- [606] P. Richter, M. I. Toral *Microchem. J.* 53(1996) 413.
- [607] K. Yoshimura, S. Yamada *Talanta* 39 (1992) 1019.
- [608] M. J. Almendral, A. Alonso, M. J. Porras, M. A. García, Y. Curto *Microchim. Acta* 147 (2004) 117.
- [609] J. A. Vieira, J. M. Raimundo Jr., B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 257.
- [610] F. Mas, A. Cladera, J. M. Estela, V. Cerdá *Analyst* 123 (1998) 1541.
- [611] J. Z. Zhang, C. Kelble, F. J. Millero *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 49.
- [612] C. I. Measures, J. Yuan, J. A. Resing *Mar. Chem.* 50 (1995) 3.
- [613] S. Nakano, K. Tsujii, T. Kawashima *Talanta* 42 (1995) 1051.
- [614] D. W. O'Sullivan, A. K. Hanson Jr., D. R. Kester *Mar. Chem* 49 (1995) 65.
- [615] H. Obata, H. Karatani, E. Hakayama *Anal. Chem.* 65 (1993)1524.
- [616] W. Qin, Z. J. Zhang, F. C. Wang *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360 (1998) 130.
- [617] Y. Zhou, G. Zhu *Talanta* 44 (1997) 2041.
- [618] K. Saitoh, T. Hasebe, N. Teshima, M. Kurihara, T. Kawashima *Anal. Chim. Acta* 376 (1998) 247.
- [619] V.A. Elrod, K. S. Josen, K. H. Coale *Anal Chem.* 63 (1991) 893.
- [620] U. Quass, D. Klockow *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 60 (1995) 361.
- [621] T. Sakai, Y. Maeda, N. Ura *Talanta* 49 (1999)989.

- [622] H. Ishii, M. Aoki, T. Aita, T. Odashima *Anal. Sci.* 2 (1986) 124-
- [623] T. McCormack, J. F. van Staden *Anal. Chim. Acta* 367 (1998)111
- [624] M. Kass, A. Ivaska *Talanta* 58 (2002) 1131.
- [625] L.V. Malaudzi, J. F. van Staden , R. I. Stefan *Anal. Chim. Acta* 467 (2002) 35.
- [626] A. Cladera, E. Gómez, J. M. Estela, V. Cerdá *Analyst* 116 (1991) 913.
- [627] I. Y. Kolotyrkina, L. K. Shpigun, Y. A. Zolotov, A. Malahoff *Analyst* 120 ((1995) 201.
- [628] A. Tsuji, N. Teshima, M. Kurihara, S. Nakano, T. Kawashima *Talanta* 52 (2000) 161.
- [629] M. Endo, S. Abe *Fresenius' J. Anal. Chem.* 358 (1997) 546.
- [630] J. F. van Staden, M. C. Matoetoe *Anal. Chim. Acta* 376 (1998)325.
- [631] I. P.A. Morais, M. R. S. Souto, A. O. S. S. Rangel *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 119.
- [632] C. X. Galhardo, J. C. Masini *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 39.
- [633] N. Clarke, L-G. Danielson *Anal. Chim. Acta* 306 (1995) 5.
- [634] D. Lannuzel, J. de Jong, V. Schoemannb, A. Trevena, JL Tison, L. Choua *Anal. Chim. Acta* 556 (2006) 476.
- [635] A. Laes, R. Vuillemin, B. Leilde, G. Sarthou, C. Bournot-Marec, S. Blaind *Marine Chemistry* 97 (2005) 347.
- [636] B. M. Hopkinson, K. A. Barbeau, *Marine Chemistry* 106 (2007) 2
- [637] C. Pons, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 550 (2005) 33
- [638] C. Pons, R. Forteza , V. Cerdá *Talanta* 66 (2005) 210.
- [639] C. Pons, R.Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 528 (2005) 197.
- [640] M. A. Feres, B. F. Reis *Talanta* 68 (2005) 422.
- [641] I. Y. Kolotyrkina, L. K. Shpigun, Y.A. Molotov, G. I. Tsysin *Analyst* 116 (1991) 707.
- [642] J. Yang, C. Ma, S. Zhang, Z. Shen *Anal. Chim. Acta* 235 (1990) 323.
- [643] S. Nakano, K. Tanaka, R. Oki, T. Kawashima *Talanta* 49 (1999)1077.
- [644] J. A. Resing, M. J. Mottl *Anal Chem.* 64 (1992) 2682.

- [645] S. Nakano, M. Nozawa, M. Yanagawa, T. Kawashima *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 183.
- [646] C. Sánchez-Pedreño, M. S. García, J. A. Ortuño, M. I. Albero, E. Ballester *Fresenius' J. Anal. Chem.* 369 (2001) 680.
- [647] K. Kargosha, M. Noroozifar *Anal. Chim. Acta* 413 (2000) 57.
- [648] J. F. van Staden, L. G. Kluever *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 15.
- [649] H. Chen, D. Wei, T. An, Y. Fang *Anal. Lett.* 32(1999)787.
- [650] A. R. Bowie, P. R. Fielden, R. D. Lowe, R. D. Snook *Analyst* 120 (1995) 2119.
- [651] Y. Zhou, G. Zhu *Talanta* 44 (1997) 2041.
- [652] B. Li, Z. Zhang, W. Liu *Anal. Sci.* 17 (2001) 1347.
- [653] T. P. Chapin, K. S. Johson, K. H. Coale *Anal. Chim. Acta* 249 (1991) 469.
- [654] K. Okamura, T. Gamo, H. Obata, E. Nakayama, H. Karatani, Y. Nozaki *Anal. Chim. Acta* 377 (1998) 527.
- [655] E. Ivanova, K. Benkhedd, F. Adams *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 527.
- [656] R. Ma, F. Adams *Anal. Chim. Acta* 317 (1995) 215.
- [657] C. Sarzanini, O. Abollino, E. Mentasti *Anal. Chim. Acta* 435 (2001) 343.
- [658] J. L. Burguesa, M. Burguera, C. Rivas, P. Carrero, M. Galignani, M. R. Brunetto *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 479.
- [659] A. F. Danet, E. Georgescu, M. Cheregi, D. Hiliuta *Lab. Rob. Autom.* 10 (1998) 355.
- [660] H. B. Ma, Z. L. Fang, J. F. Wu, S. S. Liu *Talanta* 49 (1999) 125.
- [661] H. Tanaka, H. Morita, S. Shimomura, K. Okamoto *Anal. Sci.* 9 (1993) 859.
- [662] S. McIntosh, J. Baasner, Z. Grosser, C. Hanna *At. Spectrosc.* 15 (1994) 161.
- [663] E. Debrah, E. R. Denoyer, *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 127.
- [664] L. Manganiello, A. Ríos, M. Valcárcel *Anal. Chem.* 74 (2002) 921.
- [665] L. R. Bravo-Sánchez, S. San Vicente de la Riva, J. M. Costa-Fernández, R. Pereiro, A. Sanz-Medel *Talanta* 55 (2001) 1071.
- [666] J. A. Gomes-Neto, L. F. Zara, J. C. Rocha, A. Santos, C. S. Dakuzaku, J. A. Nobrega *Talanta* 51 (2000) 587.
- [667] J. C. A. de Wuilloud, R.G.Vuilloud, R. G. Gásquez, R. A. Olsina, L. D. Martínez *At. Spectrosc.* 22 (2001) 398.

- [668] P. Bermejo-Barrera, J. Moreda-Pineiro, A. Moreda-Pineiro, A. Bermejo-Barrera *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 127.
- [669] C. G. Y. Chan, R. S. Sadama *Anal. Chim. Acta* 282 (1993)109.
- [670] J. C. A. de Wuilloud, R. G. Vuilloud, M. F. Silva, R. A. Olsina, L. D. Martínez *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 365.
- [671] L.O. Leal, O. Elsholz, R. Forteza, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 573 (2006) 399
- [672] W. Jian, M. L. Mena, C. W. McLeod, J. Rollins *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 57 (1994) 99.
- [673] H. Bagheri, A. Gholami *Talanta* 55 (2001) 1141.
- [674] P. Cañada-Rudner, J. M. Cano-Pavón, F. Sánchez-Rojas, A. García de Torres *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1167.
- [675] P. Cañada-Rudner, J. M. Cano-Pavón, A. García de Torres, E. Rodríguez-Castellon *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998)243.
- [676] E. L. Seibert, V.L. Dressler, D. Pozebon, A. J. Curtius, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1963.
- [677] N. Amini, T. J. Cardwell, R. W. Catrall, S. Kolev *Anal. Chim. Acta* 539 (2005) 203.
- [678] M. J. Bloxham, S. J. Hill, P. J. Worsfold *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 511.
- [679] H. Tanaka, E. Yamamoto, H. Morita, S. Shimomura *Anal. Sci.* 8 (1992) 93.
- [680] S. Rio-Segade, C. Bendicho *Spectrochim. Acta Part B* 54 (1999)1129.
- [681] E. Munaf, T. Takeuchi, H. Haraguchi *Fresenius' J. Anal. Chem.* 342 (1992) 154.
- [682] B. Welz, D. L. Tsalev, M. Sperling *Anal. Chim. Acta* 261 (1992)91.
- [683] H. Morita, M. Sugimoto, S. Shimomura *Anal. Sci.* 6 (1990) 91.
- [684] O. Wurl, O. Elsholz, R. Ebinghaus *Talanta* 52 (2000)51.
- [685] O. Wurl, O. Elsholz, J. Baasner *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366 (2000) 191.
- [686] J. L. Capelo, I. Lavilla, C. Bendicho *Anal. Chem.* 72 (2000)4979.
- [687] H. Emteborg, D. C. Baxter, W. Frech *Analyst* 118 (1993) 1007.
- [688] J. Qvarnstrom, Q. Tu, W. Frech, C. Ludke *Analyst* 125 (2000)1193.
- [689] A. Menéndez-García, M. L. Fernández-Sánchez, J. E. Sánchez-Uria, A. Sanz-Medel *Mikrochim. Acta* 122 (1996) 157.

- [690] E. Beinrohr, J. Dzurov, J. Annus, J. A. C. Broekaert *Fresenius' J. Anal. Chem.* 362 (1998) 201.
- [691] E. M. Richter, M. A. Augelli, G. H. Kume, R. N. Mioshi, L. Angnes *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366 (2000) 444.
- [692] H. Huiliang, D. Jagner, L. Renman *Anal. Chim. Acta* 201 (1987) 1.
- [693] R. De Marco, B. Pejic, S. Cook *Lab. Rob. Autom.* 12 (2000) 194.
- [694] X. Yang, D. B. Hibbert, P. W. Alexander *Talanta* 45 (1997) 155.
- [695] I. A. Gurev, N. V. Kuleshova *J. Anal. Chem.* 53 (1998) 15.
- [696] R. B. Shi, K. Stein, G. Schwedt *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357 (1997) 752.
- [697] J. Wang, R. He *Anal. Chim. Acta* 294 (1994) 195.
- [698] Y. L. Feng, H. Narasaki, L. C. Tian, S. M. Wu, H. Y. Chen *Anal. Sci.* 15 (1999) 915.
- [699] X. Peng, Q. Mao, J. Cheng *Mikrochim. Acta* 113 (1994) 81.
- [700] A. G. Lista, M. E. Palomeque, B. S. Fernández-Band *Talanta* 50 (1999) 81.
- [701] S. C. Nielsen, S. Sturup, H. Spliid, E. H. Hansen *Talanta* 49 (1999) 881
- [702] S. C. Nielsen, E. H. Hansen *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 163.
- [703] M. Sperling, X. Yin, B. Welz *Analyst* 117 (1992) 629.
- [704] A. M. Naghmush, K. Pyrzyńska, M. Trojanowicz *Anal. Chim. Acta* 288 (1994) 247.
- [705] I. López-García, B. Merino-Merono, N. Campillo, M. Hernández-Córdoba *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 98.
- [706] Y. J. Yang, H. J. Huang *Anal. Chem.* 73 (2001) 1377.
- [707] S. Matsuoka, Y. Tennichi, K. Takehara, K. Yoshimura *Analyst* 124 (1999) 787.
- [708] M. C. Pannain, R. E. Santelli *Talanta* 42 (1995) 1609.
- [709] C. R. M. Peixoto, Y. Gushikem, N. Baccan *Analyst* 117 (1992) 1029.
- [710] W. Ma, R. Cai, D. Chen *Lab. Rob. Autom.* 11 (1999) 141.
- [711] Y. Lou, S. Nakano, D. A. Holman, J. Ruzicka, G. D. Christian *Talanta* 44 (1997) 1563.
- [712] H. Zhao, Y. Xiang, X. Chen, Z. Hu, X. Z. Hu, Y. Nagaosa *Anal. Sci.* 15 (1999) 1129.
- [713] V. Gómez, M. S. Larrechi, M. P. Callao *Anal. Chim. Acta* 571 (2006) 129.

- [714] P. C. C. Oliveira, J. C. Masini *Analyst* 123 (1998) 2085.
- [715] R. G. Wuilloud, G. M. Wuilloud, J. C. A. de Wuilloud, R. A. Olsina, L. D. Marínez *At. Spectrosc.* 23 (2002)44.
- [716] H. Zou, S. Xu, Z. Fang *At. Spectrosc.* 17 (1996)112.
- [717] T. Prasado-Rao, S. Karthikeyan, B. Vijayalekshmy, C. S. P. Iyer *Anal. Chim. Acta* 369 (1998) 69.
- [718] A. Shah, S. Devi *Anal. Chim. Acta* 236 (1990) 469.
- [719] E. Beinrohr, A. Manova, J. Dzurov *Fresenius' J. Anal. Chem.* 355 (1996) 528.
- [720] M. Sperling, S. Xu, B. Welz *Anal. Chem.* 64 (1992) 3101.
- [721] M. J. Marqués, A. Morales-Rubio, A. Salvador, M. de la Guardia *Talanta* 53 (2001) 1229.
- [722] E. K. Paleologos, C. D. Stalikas, S. M. Tzouwara-Karayanni, M. I. Karayannis *Anal. Chim. Acta* 436 (2001) 49.
- [723] M. S. Jiménez, L. Martín, J. M. Mir, J. R. Castillo *At. Spectrosc.* 17 (1996) 201.
- [724] R. Escobar, Q. Lin, A. Guiraum, F. F. de la Rosa *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 61 (1995) 169.
- [725] Z. Zhujun, Q. Wei, L. Shuna *Anal. Chim. Acta* 318 (1995) 71.
- [726] A. Economou, A. K. Clark, P. R. Fielden *Anal. Commum.* 35 (1998)389.
- [727] P. Campins-Falcó, L. A. Tortajada-Genaro, F. Bosch-Reig *Talanta* 55 (2001) 403.
- [728] A. Ali, Y. Ye, G. Xu, X. Yin, T. Zhang *Microchem. J.* 63 (1999) 365.
- [729] M. M. Silva, M. A. Z. Arruda, F. J. Krug, P.V. Oliveira, Z. F. Queiroz, M. Gallego, M. Valcárcel *Anal. Chim. Acta* 368 (1998) 255.
- [730] D. L. Giokas, E. K. Paleologos, S. M. Tzouwara-Karayanni, M. I. Karayanni *J. Anal. At. Spectrom.* 16 (2001) 521.
- [731] H. Chen, J. Jin, Y. Wang *Anal. Chim. Acta* 353 (1997) 181.
- [732] D. Erber, K. Cammann *Analyst* 120 (1995) 2699.
- [733] J. Wang, E. H. Hansen *Anal. Chim. Acta* 435 (2001) 331.
- [734] M. M. G. S. Rocha, M. M. P. M. Neto, M. O. Torres, A. De Varennes *Electroanalysis* 9 (1997) 145.

- [735] M. J. Ayora-Cañada, M. I. Pascual-Reguera, A. Molina-Díaz *Fresenius' J. Anal. Chem.* 363 (1999) 59.
- [736] F. Albertus, A. Cladera, E. Becerra, V. Cerdá *Analyst* 126(2001) 903.
- [737] R. E. Taljaard, J. F. van Staden *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 177.
- [738] C. B. Ke, K. C. Lin *Anal. Chem.* 71 (1999) 1561.
- [739] E. A. Novikov, L. K. Shpigun, Y. A. Zolotov *Anal. Chim. Acta* 230 (1990) 157.
- [740] A. M. Naghmush, K. Pyrzynska, M. Trojanowicz *Talanta* 42 (1995) 851.
- [741] D. Rodríguez, P. Fernández, C. Pérez-Conde, A. M. Gutiérrez, C. Cámara *Fresenius' J. Anal. Chem.* 349 (1994) 442.
- [742] S. R. Bysouth, J. F. Tyson, P. B. Stockwell *Analyst* 115 (1990) 571.
- [743] S. Dadfarnai, I. Green, C. W. McLeod *Anal. Proc.* 31 (1994) 61.
- [744] A. N. Araujo, R. C. C. Costa, J. L. F. C. Lima *Anal. Sci.* 15 (1999) 991.
- [745] M. C. Yebra, N. Carro, A. Moreno-Cid, L. Puig *Field. Anal. Chem. Techn.* 5 (2001) 239.
- [746] L. Elci, Z. Arslan, J. F. Tyson *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 1109.
- [747] P. Martínez-Jiménez, M. Gallego, M. Valcárcel *Analyst* 112 (1987) 1233.
- [748] M. Soylyak, L. Elci, Y. Acalla, M. Dogan *Anal. Lett.* 35 (2002) 487.
- [749] Y. Li, Y. Jiang, X. P. Yan, W. J. Peng, Y. Y. Wu *Anal. Chem.* 74 (2002) 1075.
- [750] Z. X. Zhuang, X. R. Wang, P. Y. Yang, C. L. Yang, B. Huang *Can. J. Appl. Spectrosc.* 39 (1994) 101.
- [751] G. H. Tao, Z. L. Fang *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360 (1998) 156.
- [752] Z. L. Fang, M. Sperling, B. Welz *J. Anal. At. Spectrom.* 5 (1990) 639.
- [753] Z. S. Liu, S. D. Huang *Spectrochim. Acta Part B* 50 (1995) 197.
- [754] M. Colognesi, O. Abollino, M. Aceto, C. Sarzanini, E. Mentasti *Talanta* 44 (1997) 867.
- [755] X. P. Yan, F. Adams *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 459.
- [756] F. Barbosa Jr., F. J. Krug, E. C. Lima *Spectrochim. Acta Part B* 54 (1999) 1155.
- [757] Y. Madrid, D. Chakraborti, C. Cámara *Mikrochim. Acta* 129 (1995) 63.
- [758] S. N. Willie *At. Spectrosc.* 15 (1994) 205.

- [759] T. Seki, Y. Hirano, K. Oguma *Anal. Sci.* 18 (2002) 351.
- [760] J. A. Salonia, R. G. Wuilloud, J. A. Gásquez, R. A. Olsina, L. D. Martínez *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1239.
- [761] R. G. Wuilloud, J. A. Sajonia, J. A. Gásquez, R. A. Olsina, L. D. Martínez *Anal. Sci.* 17 (2001) 457.
- [762] S. H. Ke, L. S. Huang, J. S. Huang, K. C. Lin *Appl. Spectrosc.* 55 (2001) 604.
- [763] J. Aldstadt, D. F. King, H. D. Dewald *Analyst* 119 (1994) 1813.
- [764] M. M. P. M. Neto, M. M. G. S. Rocha, I. M. N. Campos *Electrochim. Acta* 19 (2001) 57.
- [765] A. G. Lista, B. S. Fernández-Band *Anal. Sci.* 15 (1999) 847.
- [766] J. A. Schneider, J. F. Horning *Analyst* 118 (1993) 933.
- [767] M. Li, G. E. Pacey *Talanta* 42 (1995) 1857.
- [768] B. San Vicente de la Riva, J. M. Costa-Fernández, R. Pereiro, A. Sanz-Medel *Anal. Chim. Acta* 395 (1999) 1.
- [769] M. C. Yebra, N. Carro, M. F. Enríquez, A. Moreno-Cid, A. García *Analyst* 126 (2001) 933.
- [770] A. M. Naghmush, M. Trojanowicz, E. Olbrych-Sleszynska *J. Anal. At. Spectrom.* 7(1992) 323.
- [771] M. C. Yebra, N. Carro, A. Moreno-Cid *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2002) 85.
- [772] S. L. C. Ferreira, V. A. Lemos, B. C. Moreira, A. C. Spinola-Costa, R. E. Santelli *Anal. Chim. Acta* 403 (2000) 259.
- [773] H. H. Chen, D. Beauchemin *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.* 45 (2000) 84.
- [774] A. Ali, Y. Ye, G. Xu *Fresenius' J. Anal. Chem.* 365 (1999) 642.
- [775] R. E. Santelli, M. Gallego, M. Valcárcel *Talanta* 41 (1994) 167.
- [776] H. W. Chen, S. K. Xu, Z. L. Fang *Anal. Chim. Acta* 298 (1994) 167.
- [777] M. A. Memon, Z. X. Zhuang, Z. L. Fang *At. Spectrosc.* 14(1993)50.
- [778] H. Chen, J. Liu, X. Mao *Anal. Chim. Acta* 370 (1998) 151.
- [779] M. A. Memon, X. Wang, B. Huang *At. Spectrosc.* 14 (1993)99.
- [780] J. F. van Staden, C.J. Hattingh *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 727.
- [781] J. Szpunar-Lobinska, M. Trojanowicz *Anal. Sci.* 6 (1990) 415.

- [782] A. Asan, M. Andac, I. Isildak *Anal. Sci.* 6 (1990) 415.
- [783] I. Isildak, A. Asan, M. Anda *Talanta* 48 (1999) 219.
- [784] A. Alonso, M. J. Almendral, Y. Curto, M. J. Porras *Microchim. Acta* 143 (2003) 217.
- [785] B. Purachat, S. Liawruangrath, P. Sooksamiti, S. Rattanaphani, D. Buddhasukh *Anal. Sci.* 17 (2001) 443.
- [786] A. N. Araujo, R. C. C. Costa, J. Alonso-Chamarro *Talanta* 50 (1999) 337.
- [787] P. Rumori, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 486 (2003) 443
- [788] L. N. Moskvina, G. L. Grigorev, A. L. Moskvina, O. A. Pisareva, N. M. Yakimova, I. A. Ardashnikova *J. Anal. Chem.* 55 (2000) 34.
- [789] P. Richter, M. I. Toral, R. Manríquez *Anal. Lett.* 32(1999) 601.
- [790] M. H. Memon, P.J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 201 (1987) 345.
- [791] S. Nakano, K. Nakaso, K. Noguchi, T. Kawashima *Talanta* 44(1997) 765.
- [792] C. Camargo, E. A. G. Zagatto, C. C. Oliveira *Anal. Sci.* 14 (1998) 565.
- [793] N. Teshima, H. Katsumata, M. Kurihara, T. Sakai, T. Kawashima *Talanta* 50 (1999) 41.
- [794] S. Cao, J. Zhong, K. Hasebe, W. Hu *Anal. Chim. Acta* 331 (1996) 257.
- [795] M. Yamada, S. Suzuki *Anal. Chim. Acta* 193 (1987) 337.
- [796] K. H. Coale, K. S. Johnson, P. M. Stout, C. M. Sakamoto *Anal. Chim. Acta* 266 (1992) 345.
- [797] H. Zamzow, K. H. Coale, K. S. Johnson, C. M. Sakamoto *Anal. Chim. Acta* 377 (1998) 133.
- [798] E. P. Achterberg, C. B. Braungardt, R. C. Sandford, P. J. Worsfold *Anal. Chim. Acta* 440 (2001) 27.
- [799] M. H. I. Comber, G. J. Eales, P. J. D. Nicholson, S. P. Henn *J. Autom. Chem.* 14 (1992) 5.
- [800] Y. Liu, J. Ingle Jr. *Talanta* 36 (1989) 185.
- [801] J. F. van Staden, M. Matoe *Fresenius' J. Anal. Chem.* 357 (1997) 624.
- [802] A. Ivaska, W. W. Kuviak *Talanta* 44 (1997) 713.

- [803] C. W. K. Chow, S. D. Kolev, D. E. Davey, D. E. Mulcahy *Anal. Chim. Acta* 330 (1996) 79.
- [804] R. S. Eriksen, D. J. Mackey, P. Alexander, R. de Marco, X. D. Wang *J. Environ. Monitor.* 1 (1999) 483.
- [805] J. F. van Staden, C.C.P. Wagener *Anal. Chim. Acta* 197 (1987) 217.
- [806] P. Richter, M. I. Toral, P. Jaque *Electroanalysis* 12 (2000)390.
- [807] T. J. Cardwell, J. H. Santos, A. M. Bond *Anal. Chim. Acta* 340 (1997) 169.
- [808] A. Safavi, M. Pakniat, N. Maleki *Anal. Chim. Acta* 335 (1996) 275.
- [809] Y. Petit de Peña, W. López, M. Burguera, J. L. Burguera, F. López-Carasquero, M. Carrillo *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 259.
- [810] Y. Hirano, J. Nakajima, K. Oguma, Y. Terui *Anal. Sci.* 17 (2001) 1073.
- [811] M. Zougagh, A. García de Torres, J. M. Cano-Pavón *Talanta* 56 (2002)753.
- [812] T. J. Hwang, S. J. Jiang *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 579.
- [813] I. Garrido, R. M. Soto, A. Carlosena, P. López-Mahia, S. Muniategui, D. Prada *Anal. Lett.* 34 (2001) 1763.
- [814] M. Wang, A. I. Yuzefovsky, R. G. Michel *Microchem. J.* 48 (1993)326.
- [815] K. Pyrzyńska, J. Martínez-Calatayud, J. V. García-Mateo *Chem. Anal. (Warsaw)* 46 (2001) 539.
- [816] D. Colbert, K. S. Johnson, K. H. Coale *Anal. Chim. Acta* 377 (1998) 255.
- [817] H. A. Acevedo, F. A. Vázquez, R. G. Wuilloud, R. A. Olsina, L. D. Martínez, *Chem. Anal. (Warsaw)* 46 (2001) 59.
- [818] M. C. Yebra, A. García, N. Carro, A. Moreno-Cid, L. Puig *Talanta* 56 (2002) 777.
- [819] P.G. Su, S.D. Huang *Anal. Chim. Acta* 376 (1998) 305.
- [820] M.Miró, S. Jonczyk, J. Wang, E. H. Hansen *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 89.
- [821] F. M. Fernández, M. B. Tudino, O. E. Troccoli *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 687.
- [822] W. Martinotti, G. Queirazza, F. Realini, G. Ciceri *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 323.
- [823] D. Berggren *Intern. J. Environ. Anal Chem.* 41(1990) 133.
- [824] Y. Liu, J. D. Ingle Jr. *Anal. Chem.* 61 (1989) 525.
- [825] Y. Liu, S. Xu *At. Spectrosc.* 18 (1997) 195.

- [826] M. L. Garrido, R. Muñoz-Olivas, C. Cámara *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 295.
- [827] M. L. Garrido, R. Muñoz-Olivas, C. Cámara *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1145.
- [828] M. P. Bermejo-Barrera, J. Morera-Pineiro, A. Bermejo-Barrera, A. Morera-Pineiro *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 1081.
- [829] C. M. C. M. Couto, J. L. F. Costa Lima, M. C. B. S. M. Montenegro, B. F. Reis, E. A. G. Zagatto *Anal. Chim. Acta* 366 (1998) 1081.
- [830] M. Trojanowicz, P. W. Alexander, D. B. Hibbert *Anal. Chim. Acta* 370 (1998) 267.
- [831] I. A. Gurev, N. V. Kuleshova *J. Anal. Chem.* 53 (1998) 796.
- [832] C. Sánchez-Pedreño, M. S. García, J. A. Ortuño, M. I. Albero, R. Expósito *Talanta* 56 (2002) 481.
- [833] R. Jorgensen-Casella, D. Teixeira-Bitencourt, A. García-Branco, S. L. Costa-Ferreira, D. Santiago de Jesús, M. Souza de Carvalho, R. Erthal-Santelli *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 1749.
- [834] M. Zougagh, P. Cañada-Rudner, A. García de Torres, J. M. Cano-Pavón *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 1589.
- [835] T. J. Hwang, S. J. Jiang *Analyst* 122 (1997) 233.
- [836] Z. B. Gong, X. R. Wang, H. Ying, B. Huang *Anal. Lab.* 14 (1995) 50.
- [837] J. A. Salonia, R. G. Wuiloud, J. A. Gásquez, R. A. Olsina, L. D. Martínez *Fresenius' J. Anal. Chem.* 367 (2000) 653.
- [838] N. Ganan-Gutiérrez, F. Sánchez-Rojas, J. M. Cano-Pavón *Fresenius' J. Anal. Chem.* 355 (1996) 88.
- [839] J. L. Nowicki, K. S. Jonson, K. H. Coale, V. A. Elrod, S. H. Lieberman *Anal. Chem.* 66 (1994) 2732.
- [840] R. Compañó, S. Hernández-Cassou, M. D. Prat, L. Garcia-Beltran *Anal. Chim. Acta* 255 (1991) 325.
- [841] X. Peng, Q. Mao, J. Cheng *Fresenius' J. Anal. Chem.* 348 (1994) 644.
- [842] M. A. Koupparis, P. I. Anagnostopoulou *Analyst* 111 (1986) 1311.
- [843] X. Kashiwabara, T. Hobo, E. Kobayashi, S. Suzuki *Anal. Chim. Acta* 178 (1985) 209.
- [844] M. J. Ayora-Cañada, M. I. Pascual-Reguera, A. Molina-Díaz *Anal. Chim. Acta* 375 (1998) 71.

- [845] A. F. Dunec, M. Cheregi, J. M. Calatayud, J. V. García Mateo, H. Y. Aboul Enein *Crit. Rev. anal. Chem.* 33(2003) 57.
- [846] Z. L. Fang *Flow Injection Separation and Preconcentration*, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany, 1993.
- [847] M. Valcárcel, M. D. Luque de Castro, *Non Chromatographic Continuous Separation Techniques*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1991.
- [848] J. L. Burguera, *Flow Injection Atomic Spectroscopy*, Marcel Dekker, New York, Basel, 1989.
- [849] M. C. Yebra *Trends Anal. Chem.* 19 (2000) 629.
- [850] M. Gallego, M. Silva, M. Valcárcel *Anal. Chem.* 58 (1986) 2265.
- [851] P. Martínez-Jiménez, M. Gallego, M. Valcárcel *Anal. Chim. Acta* 215 (1988) 233.
- [852] A. A. Ensafi, A. Kazemzadeh *Fresenius' J. Anal. Chem.* 367 (2000) 590.
- [853] H. Nishioka, T. Kumagai, T. Nagahiro, K. Usugi *Kankyo Gijutsu* 22 (1993) 599.
- [854] N. Kiba, L. Sun, S. Yokose, M. Tachiban, K. Tani, T. Suzuki *Anal. Chim. Acta* 378 (1999) 169.
- [855] Y. Herschkovitz, I. Eshkenazi, C. E. Campbell, J. Rishpon *Electroanal. Chem.* 491 (2000) 182.
- [856] I. G. Casella, M. R. Guascito, A. M. Salvi, E. Desimoni *Anal. Chim. Acta* 354 (1997) 333.
- [857] T. Tsuboi, T. Naskamura, A. Matsukura, S. Motomizu *Bunseki Kagaku* 45 (1996) 993.
- [858] A. Safavi, M. Ali Karimil *Talanta* 58 (2002) 785.
- [859] M. Catalá-Icardo, D. Giménez-Romero, J. V. García-Mateo, J. Martínez-Calatayud *Anal. Chim. Acta* 407 (2000) 187.
- [860] F. Canete, A. Ríos, M. D. Luque de Castro, M. Valcárcel *Anal. Chim. Acta* 214 (1988) 375.
- [861] A. Kojlo, E. Wolyniec, J. Michalowski *Anal. Lett.* 33 (2000) 237.
- [862] S. Y. Sheikheldin, T. J. Cardwell, R. W. Cattrall, M. D. Luque de Castro, S. D. Kolev *Anal. Chim. Acta* 419 (2000) 9.
- [863] W. Frenzel, J. Oleksy-Frenzel *Anal. Chim. Acta* 261 (1992) 253.
- [864] W. Frenzel, S. Krekler *Anal. Chim. Acta* 310 (1995) 437.

- [865] Z. Zheng-Liang, A. Rios, M. Valcárcel *Analyst* 121 (1996) 1.
- [866] Y. Wang, C. L. Kang, R. Li, Y. G. Du, J. Li *Jilin Daxue Ziran Kexue Xuebao* 2 (2000) 97.
- [867] W. L. Song, Z. L. Zhi, L. S. Wang *Talanta* 44 (1997) 1423.
- [868] C. Kwade, R. Voigtlaender, K. Cammann *Fresenius' J. Anal. Chem.* 342 (1992) 426.
- [869] J. Michalowski, P. Halaburda, A. Kojlo *Anal. Lett.* 33 (2000) 1373.
- [870] A. L. Moskvin, L. N. Moskvin, A. V. Mozzhukhin, V. V. Fomin *Anal. Chem.* 55 (2000) 354.
- [871] B. Fuhrmann, U. Spohn *Biosens. Bioelectron.* 13 (1998) 859.
- [872] F. Navarro-Villoslada, L. V. Pérez-Arribas, M. E. León-González, L. M. Polo-Díez *Anal. Chim. Acta* 308 (1995) 238.
- [873] P. Yáñez-Sedeno, E. Chico-Guijarro, J. M. Pingarrón-Carrazón, L. M. Polo-Díez *Microchem. J.* 41 (1990) 366.
- [874] M. Labra-Espina, K. B. Male, J. H. T. Luong *Can. Environ. Sci. Technol.* 34 (2000) 3291.
- [875] A. Cladera, M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 421 (2000) 155.
- [876] M. Miró, A. Cladera, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 103.
- [877] J. Kawase *J. Anal. Chem.* 52 (1980) 2124.
- [878] J. Y. Guo, Z. M. Zhang, Y. P. Wang *Fenxi Huaxue* 28 (2000) 124.
- [879] M. del Valle, J. Alonso, J. Bartrolí *Analyst* 113 (1988) 1677.
- [880] S. Motomizu, M. Oshima, T. Kuroda *Analyst*. 113 (1988) 747.
- [881] H. Kubota, M. Katsuki, S. Motomizu *Anal. Sci.* 6 (1990) 705.
- [882] S. Martínez-Barrachina, J. Alonso, L. Matía, R. Prats, M. Del Valle *Anal. Chem.* 71 (1999) 3684.
- [883] L. N. Moskvin, J. Simon, P. Löffler, N. V. Michilova, D. N. Nicolaevna *Talanta* 43 (1996) 819.
- [884] Q. He, H. Chen *Fresenius' J. Anal. Chem.* 367 (2000) 270.
- [885] J. G. March, M. Gual, A. D. Frontera *Anal. Chim. Acta* 539 (2005) 305.
- [886] S. Martínez-Barrachina, M. del Valle *Microchem. J.* 83 (2006) 48.

- [887] R. Wilson, M. H. Barker, D. J. Schffrin, R. Abuknesha *Biosens. Bioelectron.* 12 (1997) 277.
- [888] E. Turiel, P. Fernández, C. Pérez-Conde, A. M. Gutiérrez, C. Cámara *Fresenius' J. Anal. Chem.* 365 (1999) 658.
- [889] C. Wittmann, R. D. Schmid *J. Agric. Food Chem.* 42 (1994) 1041.
- [890] P. M. Kramer, B. A. Baumann, G. Stoks *Anal. Chim. Acta* 347 (1997) 187.
- [891] P. M. Kramer *Lab. Rob. Autom.* 9 (1997) 81.
- [892] P. Kramer, R. Schmid *Fed. Rep. Ger. Vom Wasser* 75 (1990) 99.
- [893] M. Wortberg, C. Middenforf, J. Krause *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* 1885 (1993) 165.
- [894] A. Zapardiel, E. Bermejo, J. A. Pérez, M. Chicharro *Fresenius' J. Anal. Chem.* 367 (2000) 461.
- [895] R. B. Geerdink, P. G. M. Kienhuis, W. M. A. Niessen, U. A. T. Brinkman *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 64(1996) 265.
- [896] R. C. Martínez, E. R. Gonzalo, M. P. S. Toribio, J. H. Méndez *Anal. Chim. Acta* 321 (1996) 147.
- [897] D. P. Nikoletis, C. C. Siontorou *Electroanalysis* 8 (1996) 907.
- [898] D. Trau, T. Theuerl, M. Wilmer, M. Meusel, F. Spener *Biosens. Bioelectron.* 12 (1997) 499.
- [899] C. Bauer, A. V. Eremenko, E. Ehrentreich-Foerster, F. F. Bier, A. Makower, H. B. Halsall, W. R. Heineman, F. W. Scheller *Anal. Chem.* 68 (1996) 2453.
- [900] C. Wittmann, F. F. Bier, S. A. Eremin, R. D. Schmid *J. Agric. Food. Chem.* 44 (1996) 343.
- [901] L. F. García, S. Eremin, J. J. Aaron *Anal. Lett.* 29 (1996) 1447.
- [902] C. A. Marquette, L. J. Blue *Talanta* 51 (2000) 395.
- [903] P. Pulido-Tofino, J. M. Barrero-Moreno, M. C. Pérez-Conde *Anal. Chim. Acta* 417 (2000) 85.
- [904] F. Delgado-Reyes, J. M. Fernández-Romero, M. D. Luque de Castro *Anal. Chim. Acta* 408 (2000) 209.
- [905] R. Badía, M. E. Díaz-García *J. Agric. Food Chem* 47 (1999) 4256.

- [906] N. Maniasso, E. A. G. Zagatto, S. Reis, J. L. M. Santos, J. L. F. C. Lima *Lab. Autom. Inf. Manage* 34 (1999) 143.
- [907] O. Jiménez de Blas, J. L. Pereda de Paz *J. AOAC Int.* 82 (1999) 1436.
- [908] A. Coly, J. J. Aaron *Analisis* 24 (1996) 107.
- [909] G. de Armas, M. Miró, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 467 (2002) 13.
- [910] R. B. Shi, K. Stein *Anal. Chim. Acta* 324 (1996) 21.
- [911] L. Pogacnik, M. Franko *Biosens. Bioelectron.* 365 (1999) 370.
- [912] L. F. García, J. J. Aaron *Microchim. Acta* 126 (1997) 289.
- [913] G. de Armas, E. Becerra, A. Cladera, J. M. Estela, V. Cerdá *Anal. Chim. Acta* 427 (2001) 83.
- [914] F. Valentini, D. Compagnoneb, G. Giraudi, G. Palleschi *Anal. Chim. Acta* 487 (2003) 83.
- [915] A. R. Roerdink, J. H. Aldstadt III *Anal. Chim. Acta* 539 (2005) 181.
- [916] J. J. Soto-Chinchilla, L. Gamiz-Gracia, A. M. García-Campaña, L. Cuadros-Rodríguez *Anal. Chim. Acta* 541 (2005) 113.
- [917] H. Kubo, Y. Tsuda, Y. Yoshimura, H. Homma, H. Nakazawa *Anal. Chim. Acta* 494 (2003) 49.
- [418] J. L. Guzmán-Mara, L. López-Martínez, P. L. López de Alba, J. E. Castrejon-Duran, V. Cerdá-Martín *Anal. Chim. Acta* 573-574 (2006) 406.
- [919] K. Hayakawa, Y. Yoneda, Y. Okamoto, T. Kumamaru, M. Ikeda *Anal. Sci.* 15 (1999) 803.

III.- REACTIVOS Y APARATOS

APARATOS Y MATERIAL

En los sistemas de flujo presentados en esta Memoria se han utilizado los siguientes elementos:

SISTEMA DE PROPULSIÓN

Las diferentes corrientes, tanto de disoluciones acuosas como orgánicas, se impulsan utilizando bombas peristálticas Eyela MP-3 (Tokio Rikakikai, Japón) y Minipuls 2 HP4 y Minipuls 3 MP4 (Gilson, Francia), siendo sus características más destacables las siguientes:

Tabla 1. Características de diferentes bombas peristálticas.

CARACTERÍSTICA	Eyela MP-3	Minipuls 3 MP4
Canales	1 - 2	1 - 4
Rodillos	6	10
Modo de giro	continuo, variable y reversible	
Velocidad de giro (rpm)	5 - 50	0.01 - 48
Precisión (%)	2	0,5
Caudal (mL min ⁻¹)	0,1 - 24	0,3 10 ⁻³ - 40
Presión máxima (atm)	2	5
Tubos de bomba	sin calibrar	calibrados
material	silicona PVC	PVC fluoroelastómero
d.i. (mm)	1 - 6	0,2 - 4

Debido al tamaño y disposición de los rodillos, el tipo de flujo originado por las bombas Eyela presenta pulsaciones, siendo más acusadas a caudales bajos. Los modelos Minipuls, sin embargo, proporcionan un flujo uniforme, de baja pulsación y, en general, con mejores características. En

consecuencia, se han utilizado preferentemente los modelos Minipuls, destinando el modelo Eyela MP-3 a la alimentación del sistema de inyección, cuando fuera necesario. La alimentación del sistema de inyección con una bomba peristáltica diferente de aquella/s que propulsa/n las corrientes principales hace que la frecuencia de inyección no esté condicionada por los caudales de éstas.

Por otra parte, es necesario considerar que desde la puesta en marcha de la bomba hasta la estabilización del flujo correspondiente, transcurre un tiempo entre 2 y 20 minutos, dependiendo del diámetro interno y material de los tubos usados y del caudal, así como de la propia bomba. Una vez transcurrido este periodo de precalentamiento, los caudales permanecen constantes.

Las especificaciones de fabricación que acompañan a las bombas peristálticas permiten predecir de forma aproximada el caudal para cada posición del selector de velocidad de giro, según el d.i. y el material del tubo de bomba utilizado. Sin embargo, el análisis por inyección en flujo requiere un control más riguroso de los caudales de las diferentes corrientes, razón por la que se utiliza un método volumétrico para la medida directa del caudal: mediante microburetas de 10 mL con depósito lateral, que sirven ocasionalmente como recipiente del líquido que se bombea, se mide con un cronómetro digital el tiempo de vaciado de un determinado volumen.

SISTEMA DE INYECCIÓN

Para la introducción de la muestra se ha utilizado una válvula rotatoria de teflón (Rheodyne, modelo 5020), con pasos de flujo de 0,8 mm de d.i. y bucles intercambiables; las condiciones de operación son una presión máxima de 20 atm y una temperatura máxima de 50 °C. La válvula se suministra con bucles de volumen definido, pero es posible sustituirlos por otros fabricados en el laboratorio, cuyo volumen es previamente calibrado mediante un procedimiento espectrofotométrico.

El funcionamiento de estas válvulas rotatorias permite la inserción de un determinado volumen de muestra en una corriente de portador sin interrumpir su flujo (Figura 113). Inicialmente, en la posición de carga, la corriente de muestra circula a través del bucle, mientras que el portador fluye independientemente a través de las cavidades del inyector. Al girar 60° la válvula (posición de inyección), se produce un desplazamiento relativo de las cavidades, de forma que el bucle de muestra queda intercalado en el camino del portador: el volumen de muestra es arrastrado al sistema de flujo por la corriente portadora. La operación de inyección es muy reproducible, con una desviación estándar relativa del 1-2 % del volumen inyectado.

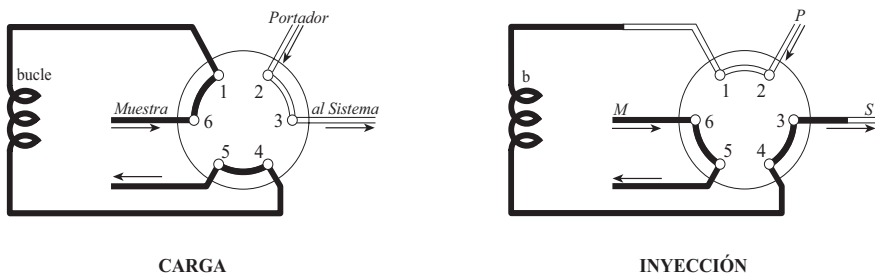


Figura 113. Esquema de funcionamiento de una válvula rotatoria en sus posiciones de carga y de inyección.

Los bucles se pueden llenar mediante una jeringa o bombeando la muestra; en casi todas las experiencias realizadas y recogidas en esta Memoria se utiliza una bomba independiente del sistema de propulsión principal.

También se ha utilizado, en la determinación de amonio, una válvula de HPLC (Modelo Rheodyne 7010): es una válvula rotatoria de seis puertos con un bucle externo. El bucle utilizado en las experiencias es de acero inoxidable, de 10 microlitros. El modelo 7010 funciona por la rotación de un rotor plano contra un estator plano. La rotación del eje 60° cambia la válvula de la posición de carga a la de inyección. El estator es de tipo 316 acero inoxidable. El diámetro de las ranuras es de 46 mm. Los agujeros en el estator son de 61 mm. Dos pernos de parada y el rotor fijan el límite de

rotación a 60°. Cuatro topes cónicos y un resorte empujan la junta del rotor contra la cara del estator con la suficiente fuerza para llevar a cabo la presión del líquido a 48 MPa. Tres tornillos de presión en el estator son ajustados de modo que, cuando se aprietan completamente, la fuerza entre el estator y el rotor es suficiente para sostener una presión de 34 MPa.

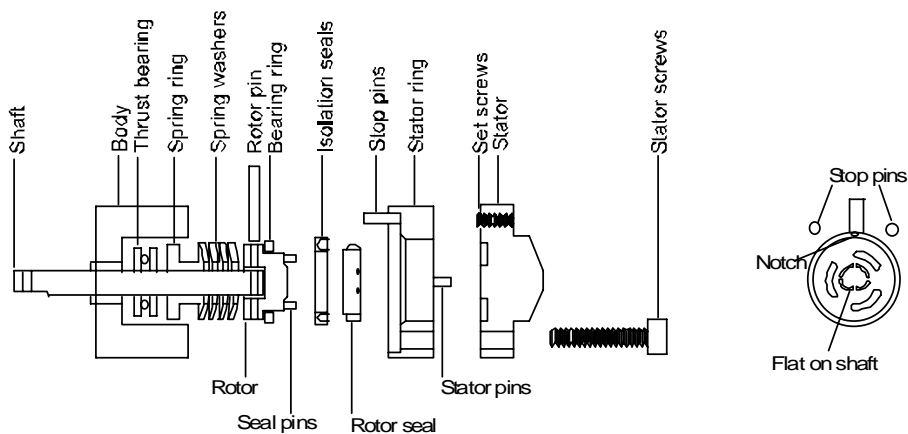


Figura 114. Esquema desarrollado de una válvula de HPLC

La temperatura de funcionamiento máximo del modelo 7010 es de 150 °C. Un esquema de la válvula se muestra en la Figura 114.

SISTEMA DE TRANSPORTE Y REACCIÓN

Se incluye aquí el conjunto de cavidades situadas entre el sistema de inyección y el detector, en los que se dispersa y reacciona la muestra inyectada.

Conducciones

Para las conducciones de los diferentes canales y reactores se utilizan tubos de teflón de 0,5 mm d.i. Este material presenta gran inercia química y puede ser fácilmente manipulado y adaptado al tipo de conexiones empleadas.

Los tubos de teflón de entrada y salida de las células de flujo son introducidos al máximo en las conducciones internas, con el fin de minimizar los volúmenes residuales y la dispersión de la muestra en la célula.

Conexiones

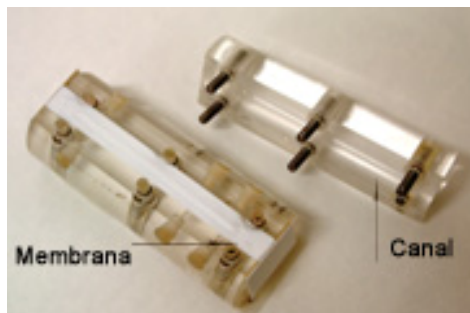
Las uniones de los canales entre sí y con las otras partes del sistema de flujo se realizan mediante conectores estándares comerciales. En los extremos de los tubos de teflón se acoplan terminales normalizados de teflón (Rheodyne).

Las conexiones lineales entre dos tubos con conectores terminales se llevan a cabo mediante conectores hembra lineales, aunque en ocasiones se puede prescindir de los conectores y unir directamente ambos tubos de teflón mediante una junta de material elástico, generalmente pequeñas porciones de tubos de silicona. Este tipo de uniones se usan con frecuencia entre los tubos de bomba y los tubos de los diferentes canales, entre cada uno de éstos y el dispositivo para medir caudales o en las conexiones de la célula de flujo con el sistema y el conducto de desecho; siempre y cuando la presión en el sistema lo permita.

Los conectores en T, de teflón, permiten la confluencia de dos corrientes para generar una sola.

MÓDULO DE DIFUSIÓN GASEOSA

El proceso de difusión se lleva a cabo en una unidad de difusión comercial, Módulo de difusión Tecator, desarrollado para este fin y que consta de dos bloques de metacrilato que presionan una membrana de teflón (Foss).



Fotografía 1. Módulo de difusión gaseosa.

módulo se muestra en la fotografía 1.

Al conectar los dos módulos queda entre ellos un canal de 10 cm de largo, 20 mm de ancho y 0,2 mm de profundidad en cada lado.

Se coloca en medio la membrana intercambiable de teflón (PTFE) con un espesor de 0,07 mm y un diámetro de poro de menos de 0,5 μ m. El

SISTEMAS DE DETECCIÓN, REGISTRO Y EVALUACIÓN

DetECCIÓN FOTOMÉTRICA

Espectrofotómetro Shimadzu UV/Vis-160, con unidad de procesado y registro, y equipado con una microcélula de flujo Hellma (modelo 178.011) de cuarzo Suprasil de 1,000 cm de paso óptico, 2 mm de diámetro de apertura y 80 μ L de capacidad.

Espectrofotómetro Shimadzu UV-2101 de doble haz con portacubetas CSP-260 con seis celdas termostataadas por sistema Peltier, controlado por un ordenador y equipado con cubetas de 80 μ L de capacidad.

DETECCIÓN FLUORIMÉTRICA

Espectrofluorímetro Shimadzu RF-5000, provisto de una unidad de procesado y registro DR-15 y una unidad de almacenamiento de datos FDU-13, al cual se puede acoplar una unidad de sensibilización (Shimadzu, 200-26841-01). Ésta es un soporte para células que incluye dos espejos que reflejan repetidamente a través del paso óptico los haces de excitación y de emisión, aumentando la eficiencia de excitación y multiplicando la

sensibilidad dos o tres veces, o incluso más. Se utiliza una microcélula de flujo Hellma (modelo 176.052) de cuarzo Suprasil de 0,150 cm de paso óptico, 11 x 1,5 mm² de apertura, 38 µL de capacidad de cámara y tres ventanas, que puede ser usada con o sin la unidad de sensibilización.

MATERIAL ADICIONAL

- pHmetro Crison 501.
- Termostato de inmersión DIGITERM 3000542 (Selecta).
- Cronómetro digital.
- Material usual de laboratorio.
- Microbureta de 10 mL de capacidad y graduaciones de 0,2 mL para la medida de caudales (Brand)

REACTIVOS

Ácido clorhídrico, HCl, 37%, (Scharlau)

Ácido nítrico, HNO₃, 68%, (Prolabo)

Bromuro potásico, KBr, (Carlo Erba)

Metabisulfito de sodio, Na₂S₂O₅, (Panreac)

Bromato de potasio, KBrO₃, (Panreac)

Clorito de sodio, NaClO₂, 80% (Acros Aorganics)

Cloruro de sodio, NaCl, (Panreac)

Fluoruro de sodio, NaF, (Panreac)

Nitrato de hierro (III), (NO₃)₃Fe. 9 H₂O, (Probus)

Sulfato de aluminio y potasio, AlK(SO₄)₂.12 H₂O, (Panreac)

Sulfato de cobre, CuSO₄. H₂O, (Panreac)

Sulfato de sódio, Na₂SO₄, (Panreac)

Fosfato de sodio, Na₃PO₄, (Probus)

Nitrato de potasio, KNO₃, (Probus)

Cloruro de amonio, NH₄Cl, (Panreac)

Hidróxido de sódio, NaOH, (Panreac)

Clorato de potasio, KClO_3 , (D'Herminio Laboratorios)
Cloruro de Calcio, $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, (Panreac)
Cloruro de magnesio, $\text{Cl}_2\text{Mg} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Probus)
Nitrato de cadmio, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Panreac)
Nitrato de hierro (III), $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (Panreac)
Cloruro de manganeso, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Merck)
Acetato de sodio, AcNa (Scharlau)
Clorhidrato de hidroxilamina, 99%, (Merck)
Citrato de sodio, $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (Scharlau)
Etanol absoluto (Scharlau)
Fucsina (Merck)
o-Dianisidina, (Sigma-Aldrich)
Carbostiril 124, (Sigma-Aldrich)
Eosina
Rojo de fenol, $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{S}$, (Panreac)
Disolución de referencia CRM 409 (Anexo III)

La preparación de las diferentes disoluciones con los reactivos anteriores se indica en las partes correspondientes de la Memoria, donde son utilizadas.

IV.- DETERMINACIÓN DE BROMATO EN AGUAS SOMETIDAS A OZONIFICACIÓN

INTRODUCCIÓN

Las aguas destinadas al consumo público deberán ser sometidas a una serie de operaciones de tratamiento para eliminar los agentes patógenos y reducir los demás contaminantes a niveles insignificantes, no perjudiciales para la salud. Deben ser limpias, transparentes, sin olores o sabores desagradables y estar libres de contaminantes.

Para lograrlo, deben ser sometidas a diversos tratamientos, ya sean mecánicos, físicos, o químicos, con el fin de adecuar las características del agua captada a las normas de calidad establecidas y garantizar su consumo sin ningún tipo de riesgo sanitario.

El tratamiento químico juega un papel importante en este proceso, y dentro de este, la **desinfección**, puesto que todas las aguas, incluso las de mejor calidad, van a necesitar, al menos, la adición de un desinfectante para potabilizarlas [1]¹. El proceso de desinfección es el último tratamiento que se aplica al agua antes de la salida de la planta y constituye una de las etapas más importantes. Su objetivo es la eliminación de los gérmenes patógenos y se puede conseguir a través de diferentes tratamientos físicos, biológicos y químicos; estos últimos pueden ser con productos clorados (cloro, cloraminas, dióxido de cloro), ozono, permanganato de potasio, sales de amonio cuaternario, plata, etc. [2]². El cloro en sus distintas formas es el producto químico más utilizado. La legislación española solo permite para el tratamiento de aguas de consumo público los siguientes desinfectantes químicos: cloro y sus compuestos, sales de plata, ozono y permanganato potásico.

¹ [1] Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants: A Review. 4 th ed.: Geo. Clifford White. John Wiley & Sons. New York, 1999.

² [2] F. Fiessinger, J. J. Rook, J. P. Duguet. Alternative methods for chlorination. *Science of The Total Environment* 47 (1985) 299.

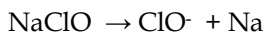
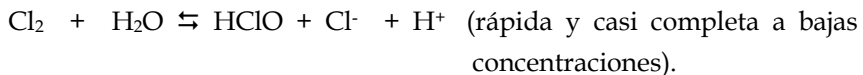
1.1. PROBLEMAS DERIVADOS DE LA CLORACIÓN DE LAS AGUAS

Una desinfección incorrecta, el uso de productos inadecuados o de tratamientos poco eficaces, puede poner en peligro la aceptabilidad del abastecimiento y en consecuencia la salud de los consumidores [3]³. En este apartado explicaremos las ventajas y principalmente los inconvenientes que pueden tener la desinfección de las aguas potables con los productos clorados tales como el cloro gas y los hipocloritos, las cloraminas y el dióxido de cloro (ClO₂).

En la cloración con Cl₂ o hipoclorito.

Es el método de desinfección más comúnmente empleado. Las primeras aplicaciones se basaron en su capacidad desodorante. En la actualidad, constituye el proceso que generalmente se aplica con el fin de conseguir la desinfección de las aguas potables y es el desinfectante final que se utiliza con mayor frecuencia. Según la OMS, la desinfección con cloro es aún la mejor garantía del agua, microbiológicamente hablando.

Su forma química influye en su acción antimicrobiana. Es el ácido hipocloroso (HClO) el verdadero germicida. Su eficacia disminuye con el pH, ya que el ClO⁻ posee una acción 80 veces menor. El cloro se puede aplicar al agua como **cloro gas** o como **hipoclorito** (sódico o cálcico). Ambos pueden producir HClO, pero el hipoclorito requiere del ajuste del pH.

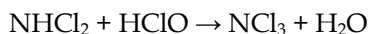
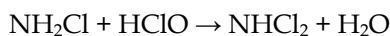
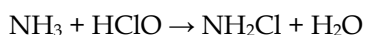


³ [3] G. Hua, D. A. Reckhow. Comparison of disinfection by product formation from chlorine and alternative disinfectants. *Water Research* 41 (2007) 1667.

Ventajas de su aplicación.

La popularidad del cloro en la desinfección del agua, además de ser un oxidante fuerte para muchas sustancias indeseables, se basa en los siguientes factores:

Elimina el NH₃. Al reaccionar con los compuestos nitrogenados de naturaleza orgánica (aminoácidos y proteínas) o inorgánica (amoníaco, nitritos y nitratos), el cloro forma una serie de compuestos denominados **cloraminas**.



Oxida otros compuestos inorgánicos: Al reaccionar con bromuro, pueden generar bromaminas, más inestables que las cloraminas. También reacciona con carbono inorgánico, cianuro (a pH superior a 8,5), sulfuro, hierro, manganeso y otros compuestos generadores de olor y sabor.

Buena estabilidad como cloro residual libre. El cloro es el desinfectante con mayor estabilidad residual. Este cloro residual libre viene a ser la suma de las especies que predominan en las reacciones del cloro en el agua (Cl₂, HClO y ClO⁻). El predominio de una u otra especie dependerá del pH y de la concentración de cloruro [4]⁴.

Buena actividad germicida. Constituye el germicida más efectivo de los productos clorados, ya que posee gran facilidad para atravesar la pared celular y actuar sobre grupos enzimáticos de los microorganismos. La potente acción germicida del cloro elimina las bacterias, virus, moho y algas de limo, algunas de las cuales pueden generar mal olor o sabor. Además, previene el recrecimiento microbiano.

⁴ [4] A. Katz, N. Narkis, F. Orshansky, E. Friedland, Y. Kott. Desinfection of effluent by combinations of equal doses of chlorine dioxide and chlorine added simultaneously over varying contact times. *Water Research* 28 (1994) 2133.

Desventajas:

La utilización del cloro como desinfectante conduce a la formación de subproductos de cloración, por lo que además de disminuir la calidad de las aguas tratadas, presenta los siguientes inconvenientes:

Formación de compuestos organoclorados. Si la concentración de materia orgánica en las aguas es elevada, el cloro puede formar compuestos organoclorados, los cuales son potencialmente peligrosos para la salud, puesto que muchos de ellos son posibles carcinógenos. Entre estos compuestos se encuentran los trihalometanos (THMs), los ácidos haloacéticos, haloaldehídos y halocetonas, haloacetnitrilos y derivados halogenados de la hidroxifuranona.

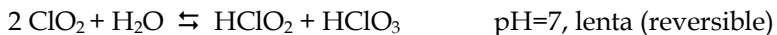
Posibles problemas de olor y sabor. Un exceso de cloración puede producir olores y sabores extraños.

Su eficacia depende del pH. Su acción germicida dependerá del pH; al aumentar éste, disminuye su poder germicida, ya que a pH altos predomina el ClO^- el cual posee una eficacia unas 80 veces menor que el HClO .

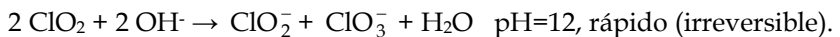
En la cloración con ClO_2

Su uso ya se encuentra relativamente difundido. La EPA lo recomendó como un desinfectante alternativo al cloro, debido a la ausencia de formación de compuestos THMs al reaccionar con la materia orgánica del agua. El dióxido de cloro se genera en las instalaciones de tratamiento de agua mediante la oxidación de NaClO_2 con Cl_2 .

Reacción con agua:



$K= 10^{-6,8}$; no se dismuta.



Dismutación.

Ventajas:

Su ventaja está en la mayor calidad química, y por tanto, sanitaria y organoléptica, que imparte al agua, puesto que:

Es un oxidante fuerte, algo más que el HClO. No forma cloraminas ni forma compuestos bromados [5]⁵. Oxida los fenoles, cianuros, nitritos, sulfuros, y metabolitos de algas, causantes de olor y sabor desagradables en las aguas. Oxida también a los iones Mn^{2+} y Fe^{2+} , precipitándolos.

No forma THMs. En comparación con el cloro, su reacción con los compuestos orgánicos es más selectiva y constituye un buen oxidante de los precursores de los THMs. Destruye hasta 30% de estos.

Buena actividad germicida. Tiene una capacidad bactericida unas 2,5 veces la del cloro. La eficacia es independiente del pH en el margen de 6 a 8,5. Actúa como una excelente sustancia virucida. Desinfecta y oxida eficazmente [6, 7]⁶.

Tiene una regular estabilidad residual y la eficacia no depende del pH. Puede aplicarse incluso a pH 10, donde el cloro ya no actúa.

Desventajas:

No reacciona con el NH_3 ni con los iones bromuro.

Se da la formación del ClO_2^- y ClO_3^- . El dióxido de cloro se descompone en clorito (ClO_2^-) y en menor grado en ion de clorato (ClO_3^-) sustancias tóxicas, según la EPA.

⁵ [5] S. D. Soller, V. P. Olivieri, K. Kawata. Mode of bacterial inactivation by chlorine dioxide. *Water Research* 14 (1980) 635.

⁶ [6] H. Junli, W. Li, R. Nenqi, L. X. Li, S. R. Fun, Y. Guante. Desinfection effect chlorine dioxide on viruses, algae and animal planktons in water. *Water Research* 31 (1997) 455.

[7] S. D. Roller, V. P. Livien, K. Kawata. Mode of bacterial inactivation by chlorine dioxide. *Water Research* 14 (1980) 635.

Formación de compuestos organoclorados. Mediante la formación de ácido hipocloroso, pues al oxidar al clorito y al clorato formado, puede originar reacciones de sustitución.

Su inestabilidad requiere la generación "in situ" (no puede comprimirse, porque explota).

Menor remanencia en la red, lo que puede generar posibles problemas de olor y sabor.

Más caro. Las instalaciones son algo más costosas, el personal debe ser más especializado, requiere equipo de generación y manejo de productos químicos en el lugar.

En la Cloración con cloraminas:

En la Comunidad de Madrid es la forma de cloración más empleada por el Canal de Isabel II. La cloración residual combinada es la técnica que se utiliza y consiste en aprovechar el amoníaco que posee el agua, o bien añadir amoníaco si no lo posee para formar las cloraminas. El cloro, que puede existir en el agua combinado químicamente con el nitrógeno de estos compuestos, se denomina cloro disponible combinado. Cuanto menor sea el pH y mayor la relación Cl_2/NH_3 , mayor es la sustitución.

Ventajas.

Mayor estabilidad y persistencia en el agua, con respecto al hipocloroso, lo que asegura una mejor desinfección durante la conducción.

No forman clorofenoles, que son de sabor desagradable y detectable a muy bajas concentraciones, **ni THMs.**

Manifiestan también una acción germicida, aunque su eficacia es notablemente inferior a la del ácido hipocloroso.

Desventajas.

Menor poder desinfectante y oxidante en comparación con el cloro (10 a 25 veces menor), lo que obliga a la utilización de una mayor concentración y un mayor tiempo de contacto.

Producen subproductos de desinfección, incluidos los compuestos basados en nitrógeno, que empeoran las características organolépticas de las aguas tratadas, como por ejemplo NCl_3 y NHCl_2 .

Su capacidad como germicidas virales y parasitarias es dudosa. Pueden promover el crecimiento de algas en reservorios y el aumento en bacterias del sistema de distribución debidas al amoníaco residual.

1.2. SUSTITUCION DE LA CLORACION POR LA OZONIFICACIÓN.

Casi desde su descubrimiento, hace más de siglo y medio, el ozono se ha aplicado para potabilizar el agua. Se aplicó por primera vez en el tratamiento de las aguas en 1893 en Holanda. En Europa, se ha utilizado durante varias décadas para el control del sabor y olor, así como para la eliminación de colores y desinfección [8 - 11]⁷. Hoy por hoy, más de 3000 ciudades, entre ellas Madrid, Los Ángeles, Moscú o París purifican sus aguas con ozono. Sin embargo, hasta hace poco no ha sufrido un impulso importante. En la actualidad es un campo de investigación de alta tecnología para el tratamiento de aguas con gran contaminación química, sobre todo por materias muy inertes y peligrosas. En España, el Canal de Isabel II lo emplea en alguna de sus estaciones de tratamiento.

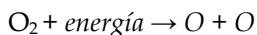
⁷ [8] W. J. Masschelein, *Ozone et Ozonation des Eaux*, 2nd edn. Technique et Documentation, Lavoisier. Paris, 1991.

[9] B. Langlais, D. A. Reckhow, D. R. Brink. *Ozone in water treatment-Applications and Engineering*, Lewis Publishers. Chelsea, 1991

[10] C. Gottschalk, J. Libra, A. Saupe. *Ozonation of Water and Wastewater. A practical Guide to Understanding Ozone and its Application*, Wiley - VCH. New York, 2000.

[11] F. Fiessinger, Y. Richard, A. Montiel, P. Musquere. Advantages and disadvantages of chemical oxidation and disinfection by ozone and chlorine dioxide. *Science of The Total Environment* 18 (1981) 245.

El ozono posee un poder oxidante elevado, y se genera “in situ” mediante la aplicación al oxígeno de un campo eléctrico de 6 a 20 Kv. El oxígeno molecular se descompone en oxígeno elemental, que posteriormente choca con una molécula de oxígeno, para formar el ozono.



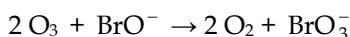
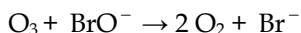
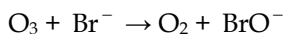
El ozono en agua es inestable. Se descompone para formar radicales libres muy reactivos [como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el hidróxido (OH^-)], que tienen una gran capacidad de oxidación y desempeñan un papel activo en el proceso de desinfección. En consecuencia, el ozono reaccionará con los compuestos presentes en el agua a través de dos posibles mecanismos: **reacción directa de la molécula de ozono o reacción indirecta mediante radicales libres.**

Reacciones del ozono.

Reacciones del Ozono con los compuestos inorgánicos:

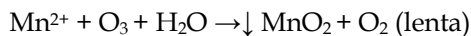
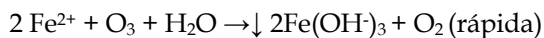
En medio neutro no reacciona con el amoníaco (únicamente en medio alcalino esta reacción es apreciable).

Oxida a los iones bromuro, originando bromo, bromato, ácido hipobromoso e hipobromito; este último capaz de formar compuestos trihalometanos y bromaminas [12]⁸.

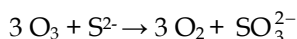
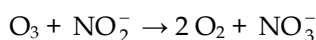
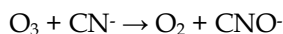


Precipita al Fe^{2+} y al Mn^{2+} , según las siguientes reacciones:

⁸ [12] V. Camel, A. Bermond. The use of ozone and associated oxidation processes in drinking water treatment. *Water Research* 32 (1998) 3208.



Reacciona con los iones cianuro, nitrito y sulfuro.



Reacción del ozono con los compuestos orgánicos:

El ozono tiene una elevada reactividad frente a los compuestos orgánicos. Con los compuestos aromáticos la velocidad de la reacción es rápida y la reactividad frente a compuestos saturados es débil. El mecanismo de las reacciones, ya sea directa o a través de radicales libres, dependerá del pH y de la presencia de sustancias promotoras y/o inhibitoras. La disminución de los precursores de THMs está favorecida por la presencia en el agua de iones HCO_3^- , ya que estos favorecen la reacción directa del ozono. Sin embargo, si la tasa de ozonización es pequeña o predomina la reacción por radicales libres, se puede favorecer la formación de precursores de THMs

Acción germicida.

El ozono es un germicida eficaz y se atribuye dicha propiedad al elevado poder oxidante, que origina la destrucción de las células bacterianas. Los mecanismos de desinfección asociados con el uso del ozono incluyen:

- La oxidación o destrucción directa de la pared de la célula.
- Las reacciones con los subproductos radicales de la descomposición del ozono.
- El daño a los componentes de los ácidos nucleicos (pirimidina y purina).
- La ruptura de las uniones carbono-nitrógeno que conduce a la despolimerización.

La capacidad desinfectante del ozono es superior a la del cloro, independientemente del pH (en el intervalo de 6 a 8,5) y la sensibilidad de los microorganismos a su acción germicida decrece de las bacterias a los virus y de estos a los quistes y esporas. Es el único germicida que no es nocivo para la vida animal.

Ventajas de la utilización del ozono como desinfectante

- Es un oxidante fuerte, potente oxidante de compuestos orgánicos. Elimina los micropolucionantes inorgánicos.

- No forma TOX ni THMs. La toxicidad de los posibles compuestos que se forman en la ozonización es menor que la inducida por la cloración. [13, 14]⁹

- Buena actividad germicida. **El ozono posee las mejores propiedades germicidas.** Es más eficaz que la utilización del cloro para la desinfección o destrucción de virus y bacterias. Después del proceso de ozonización, los microorganismos no crecen nuevamente, a excepción de aquellos que están protegidos por las partículas en las corrientes de agua residual.

- El proceso de ozonización utiliza un período corto de contacto (aproximadamente de 10 a 30 minutos).

- La sobredosificación no es perjudicial. Genera subproductos biodegradables. No existen residuos peligrosos que necesiten ser eliminados después del proceso de ozonización, porque el ozono se descompone rápidamente.

- El ozono es generado dentro de la planta, existiendo así muy pocos problemas de seguridad industrial asociados con el envío y el transporte.

- El proceso de ozonización eleva la concentración de oxígeno disuelto (O.D.) del efluente. El incremento O.D. puede eliminar la necesidad de reaireación y también puede incrementar el nivel de O.D. en la corriente de agua receptora.

- Mayor calidad organoléptica. No plantea problemas de olor y de sabor. Tiene también poder desodorizante al reaccionar con distintas sustancias

⁹ [13] R. Gatapate, A. Baes, M Okada. Transformation of dissolved organic matter during ozonation. Effects on trihalomethane formation potential. *Water Research* 35 (2001) 2201.

[14] A. Chin, P. R. Bérubé. Removal of disinfection by product precursors with ozone UV advanced oxidation process. *Water Research* 39 (2005) 2136.

orgánicas causantes del mal olor. Disminuye la turbidez, bajo ciertas condiciones.

- Ayuda a la coagulación.

Inconvenientes de la dosificación de aguas con ozono.

- La baja dosificación puede no desactivar efectivamente algunos virus, esporas o quistes, lo que promueve el crecimiento microbiano. El ozono reacciona fácilmente con la materia orgánica más compleja y puede descomponerla en compuestos más pequeños que sirven para aumentar los nutrientes en los abastecimientos de agua, generando el nuevo crecimiento microbiano en los sistemas de distribución.

- Generación “in situ”. Tecnología compleja realizada por personal cualificado. Se requiere equipos complicados, un alto nivel de mantenimiento y capacitación sustancial de operadores.

- Corrosivo. El ozono es muy reactivo y corrosivo, requiriendo así de materiales resistentes a la corrosión, tales como el acero inoxidable.

- El ozono es extremadamente irritante, posiblemente tóxico. Produce dificultad de respiración, molestia pulmonar, bronquitis crónica y edema pulmonar.

- Elevado coste. El coste del tratamiento, en comparación con otras técnicas de desinfección puede ser relativamente alto en cuanto a la inversión de capital y demanda de energía eléctrica (10 a 15 veces más caro que el tratamiento con cloro).

- El ozono en forma gaseosa es explosivo una vez que alcanza una concentración de 240 g.m⁻³.

- No reacciona con el NH₃.

- Nula estabilidad residual. No proporciona un residuo persistente. Es muy volátil y no es conveniente su utilización como desinfectante único. Se debe utilizar un tratamiento complementario de desinfección con cloro o dióxido de cloro.

- Produce subproductos de desinfección, que incluyen: aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, THM de bromo (incluido el bromoformo), ácidos acéticos de bromo, **bromato**, quininas, peróxidos.

1.3. ESTUDIO DE LA TOXICIDAD DEL BROMATO Y NECESIDAD DE CONTROLARLO POR DEBAJO DE UNA CANTIDAD.

Aunque gran parte de la atención de las investigaciones se han centrado en los subproductos de desinfección del cloro, también producen subproductos otros desinfectantes químicos cuando reaccionan con sustancias orgánicas y otros precursores en el agua sin tratar. El bromato, por ejemplo, es principalmente un subproducto de la ozonización de aguas con alto contenido de bromuro [15- 17]¹⁰. Se han detectado cantidades entre 60-90 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en el agua ozonizada. Si el ozono es usado para desinfectar el agua potable, la ingestión de bromato puede tener un margen de 120 a 180 $\mu\text{g}/\text{día}$.

Toxicocinética:

Después de la administración oral, el bromato se absorbe rápidamente del aparato gastrointestinal. En el estómago, el ácido clorhídrico convierte al bromato en ácido bromhídrico. El bromato se excreta principalmente en la orina como bromato y bromuro.

Mecanismo de toxicidad:

Se han postulado dos mecanismos toxicológicos como responsables de la intoxicación con bromato [18]¹¹:

a. La degradación a ácido bromhídrico en el estómago, que determina irritación gastrointestinal.

¹⁰ [15] W. R. Haag, J. Hoigne. Ozonation of bromide-containing waters: kinetics of formation of hypobromous acid and bromate. *Environ. Sci. Technol.* 17 (1983) 261.

[16] U. V. Gunten, Y. Oliveras. Advanced Oxidation of bromide-Containing Waters: Bromate Formation Mechanisms. *Environ. Sci. Technol.* 32 (1997) 63.

[17] J. P. Croué, B. K. Koudjonou, B. Legube. Parameters affecting the formation of bromate ion during ozonation. *Ozone Sci. Engng.* 18 (1996) 1.

¹¹ [18] K. M. Crofton. Bromate: Concern for developmental neurotoxicity. *Toxicology* 221 (2006) 212.

b. La capacidad fuertemente oxidante de los bromatos que facilita su penetración en las membranas biológicas, y contribuye a sus efectos tóxicos a nivel renal.

Efectos tóxicos en animales de laboratorio.

Estudios a largo plazo sobre toxicidad y carcinogenicidad del bromato, han revelado que a dosis elevadas provoca lesiones en los túmulos renales de las ratas expuestas [19 - 21]¹². En estudios crónicos, el bromato induce a tumores renales, mesoteliomas peritoneales y tumores foliculares de tiroides en ratas sometidas a dosis de 6 mg.Kg⁻¹ de peso corporal y superiores. Los hámsteres son menos sensibles y los ratones considerablemente menos. El bromato a dosis elevadas es también genotóxico “in vivo” y carcinógeno en ratas. La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) [22] lo ha clasificado en el grupo 2B (agente carcinógeno posible).

Efectos tóxicos en seres humanos:

Para la mayoría de las personas, la exposición al bromato puede ser significativa. En niños, la dosis tóxica estimada de bromato de potasio es de 240 a 500 mg Kg⁻¹. En adultos se ha observado graves casos de intoxicación con ingestiones de 12 a 50 g. Los signos de intoxicación aguda son:

- a. Irritación gastrointestinal, que se manifiesta por las náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea.
- b. Alteración de la funcionabilidad renal, acompañado de convulsiones y acidosis metabólica.
- c. Depresión respiratoria.

¹² [19] J. Fawell, M. Walker. Approaches to determining regulatory values for carcinogens with particular reference to bromate. *Toxicology* 221 (2006) 149.

[20] D. Delker, G. Hatch, J. Allen, B. Crissman, M. George, D. Meter, S. Kilburn, T. Moore, G. Nelson, B. Roop, R. Slade, A. Swank, W. Ward, A. De Angelo. Molecular biomarkers of oxidative stress associated with bromate carcinogenicity. *Toxicology* 221 (2006) 158.

[21] Y. Kurokawa, A. Maekawa, M. Takahashi, Y. Hayashi. Toxicity and carcinogenicity of potassium bromate-a new renal carcinogen. *Environ. Health Perspect.* 87 (1990) 309.

[22] IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Some naturally occurring and synthetic food components, furocoumarins and ultraviolet radiation. IARC Publication n° 40, World Health Organization/IARC, Lyon, (1986) 207.

d. Pérdida de la audición.

Las dosis letales en humanos varían de 5 a 500 mg.Kg⁻¹ de peso. No hay datos seguros de carcinogenicidad en humanos.

1.4. LEGISLACIÓN EUROPEA Y AMERICANA.

Los países, en su preocupación por mejorar las características y la calidad de las aguas de consumo humano, han creado leyes que regulan todo lo concerniente a obtener la mejor calidad de las aguas y el menor riesgo posible a la hora de su consumo.

Los antecedentes reglamentarios existentes en Europa, datan del año 1980, cuando a través de la **Directiva 80/7787/CEE del 15 de Julio de 1980**, se establecen las normas relativas a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano, estableciéndose los parámetros a controlar en las mismas. El Estado Español la adoptó a finales de los años 1990, con el **Real Decreto 1138/1990, del 14 de Septiembre**, por el que se aprueba la Reglamentación Técnica Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público. Ni la directiva ni el Real Decreto contemplaban un valor paramétrico para el bromato, además de otros parámetros no contemplados. Es más, hasta antes de 1998, ninguna normativa contemplaba un valor límite para éste ión; algunos autores hablan de un valor límite de 50 µg L⁻¹ hasta antes de 1998. Al demostrarse los efectos carcinógenos del bromato, la Organización Mundial de la Salud (OMS) sugiere 25 µg.L⁻¹ (1993) como valor límite de bromatos en aguas de consumo.

Estas deficiencias se repararon al crear la **Directiva 98/83/CEE de 3 de noviembre de 1998**, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano [23]¹³. En ella, no solo se adaptó al progreso científico la directiva 80/778/CEE centrándose en el cumplimiento de unos parámetros de calidad y salubridad esenciales, sino que también se les dio la posibilidad a los Estados miembros de añadir, además de los registrados, otros parámetros si lo

¹³ [23] Council Directive 98/83/Ec (Noviembre 3rd 1998), Official Journal of the European Communities Legislation, 1998.

consideran oportuno. Así, España adopta esa directiva en el **Real Decreto 140/2003 de 7 de febrero**, por el cual se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano; derogando así el Real Decreto 1138/90 de 14 de septiembre. En esta normativa, se establecen valores paramétricos para compuestos como el benceno, los trihalometanos y algunos compuestos organoclorados, y por supuesto, el bromato, a quienes se les atribuye efectos carcinógenos. Esta normativa establece que el bromato sólo se analizará en las aguas desinfectadas con ozono. También establece que a partir del 2009 se exigirá una concentración máxima admisible de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ de bromato y que para el período comprendido entre el 2004 y el 2008, este valor será de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$; dando la libertad a los Estados miembros de procurar obtener valores más bajos cuando sea posible, sin que esto afecte a la calidad de la desinfección. Además de esto, se establece también la exactitud, la precisión y el límite de detección que deben tener los métodos de análisis, establecido en el 25% del valor paramétrico. También establece que este parámetro debe ser determinado con técnicas capaces de detectar $2.5 \mu\text{g.L}^{-1}$ de bromato o menos, sea cual fuere la sensibilidad del método de análisis empleado.

La Normativa de los subproductos de desinfección (D/DBP) de la US EPA [24, 25]¹⁴, establece en diciembre de 1998 un nivel máximo de concentración (MCL) de bromatos en aguas potables de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ fijando en cero el nivel máximo de contaminantes permitido.

Normativa Española. (ANEXO I)

Normativa Europea. (ANEXO II)

¹⁴ [24] U.S. Environmental Protection Agency, Nacional Primary Drinking Water Regulations: Desinfectants and Disinfection Byproducts; Final Rule, Fed. Reg.,63, 241 (1998) 69390.

[25] D. P. Hautman, D. J. Munch, C. Frebis, H. P. Wagner, B. V. Pepich. Review of the methods of the US Environmental Protection Agency for bromate determination and validation of Method 317.0 for disinfection by-product and low-level bromate. *Journal of Chromatography A* 920 (2000) 221.

1.5. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAR BROMATO EN AGUAS.

La literatura proporciona un amplio rango de métodos para analizar bromatos en matrices con concentraciones que van desde los $\mu\text{g.L}^{-1}$ hasta los mg.L^{-1} . En los años 90, el nivel máximo de contaminante esperado estaba entre 0.1 y 1 mg.L^{-1} , según la US EPA. Los primeros métodos fueron desarrollados para encontrar este objetivo, pero al bajar el valor límite de bromato a 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$, el desarrollo de nuevos métodos se ha enfocado a mejorar la sensibilidad de éstos durante la pasada década.

El bromato se puede identificar y cuantificar por varios métodos [26]¹⁵. Entre ellos la **titulación yodométrica** y la **cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)** son adecuadas para concentraciones altas. Los límites de detección se extienden desde **0.05 a 1 mg.L^{-1}** .

Para concentraciones bajas, la **cromatografía iónica (IC) con detección de conductividad (IC-CD)** [27]¹⁶ es la mejor documentada. La determinación de bromato mediante esta técnica tiene un límite de detección entre **5 y 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$** (es la técnica aplicada por el método 300.0 de la EPA y el método estándar de la ISO). Se puede obtener un límite de detección de 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ a través de un sistema cromatográfico con preconcentración [28, 29]¹⁷. Tiene el inconveniente de las numerosas interferencias (como el cloruro), y de las etapas previas a la introducción de muestra en el sistema instrumental que retardan el tiempo de análisis. Debe ser mejorado en la identificación y eliminación de las principales interferencias y la automatización del pretratamiento de muestras.

¹⁵ [26] V. Ingrand, J. L. Guinamant, A. Bruchet, C. Brosse, T. H. M. Noij, A. Brandt, F. Sacher, C. Mcleod, A. R. Elwaer, J. P. Croué, P. Quevauviller. Determination of bromate in drinking water: development of laboratory and field methods. *Trends in analytical chemistry* 21 (2002) 1

¹⁶ [27] S. Valsecchi, A. Isernia, S. Polesello, S. Cavalli. Ion chromatography determination of trace level bromate by large volume injection with conductivity and spectrophotometric detection after post column derivatisation. *Journal of Chromatography A* 864 (1999) 263.

¹⁷ [28] H. P. Wagner, B. V. Pepich, D. P. Hautman, D. J. Munich. Performance evaluation of a method for the determination of bromate in drinking water by ion chromatography (EPA Method 317.0) and validation of EPA Method 324.0. *Journal of Chromatography A* 884 (2000) 201.

[29] H. P. Wagner, B. V. Pepich, D. P. Hautman, D. J. Munich. US Environmental Protection Agency Method 326.0, a new method for monitoring inorganic oxyhalides and optimization of the postcolumn derivatization for the selective determination of trace levels of bromate. *Journal of Chromatography A* 956 (2002) 93.

Recientemente, se ha desarrollado una nueva columna de intercambio iónico, que parece superar los problemas de interferencias sin preconcentración previa. La sensibilidad de esta técnica se ha incrementado de dos maneras: mejorando la tecnología de las columnas (bajando el límite de detección hasta $1.3 \mu\text{g.L}^{-1}$, según el método 300.1 de la EPA); y realizando un pretratamiento de la muestra para eliminar las principales interferencias (descrito en el método estándar ISO 15061, llevando a un límite de detección de $0.5 \mu\text{g.L}^{-1}$).

DESARROLLO DE MÉTODOS ALTERNATIVOS DE LABORATORIO.

Pueden obtenerse valores más bajos utilizando técnicas conjuntas, tales como **IC acoplada con espectrometría de masas (MS)**, con límites de detección en el rango de **0.03 - 0.07 $\mu\text{g.L}^{-1}$** .

IC-ICP-MS Daniel P. Hautman y col. han aplicado la cromatografía de intercambio aniónico acoplada con espectrometría de masas de inducción isotópica por ionización térmica negativa (**IC-ICP-MS**, aplicada en el método 321.8 de la EPA) [30-33]¹⁸. Antes de la determinación de bromato por el acoplamiento de un sistema de cromatografía iónica al ICP-MS, los parámetros de la ICP-MS tienen que ser optimizados con el fin de obtener una máxima sensibilidad. La detección de bromato en aguas tratadas con ozono por esta técnica no presenta interferencia de cloruro asociada a la conductividad, pero el ácido tribromoacético tiene que ser eliminado antes del análisis. Se puede alcanzar límites de detección tan bajos como $0.8 \mu\text{g.L}^{-1}$, con una inyección directa de $170 \mu\text{L}$ de muestra. Aunque estas técnicas son muy sensibles, tienen

¹⁸ [30] D. P. Hautman, D. J. Munch, Ch. Frebis, H. P. Wagner, B. V. Pepich. Review of the methods of the US Environmental Protection Agency for bromate determination and validation of Method 317.0 for disinfection by-product anions and low-level bromate. *Journal of Chromatography A* 920 (2001) 221.

[31] B. Divjack, M. Noic, W. Goessler. Determination of bromide, bromate and other anions with ion chromatography and an inductively coupled plasma mass spectrometer as element-specific detector. *Journal of Chromatography A* 862 (1999) 39.

[32] M. Yamanaka, T. Sakai, H. Kumagai, Y. Inoue. Specific determination of bromate and iodate ozonized water by ion chromatography with postcolumn derivation and inductively-coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 789 (1997) 259.

[33] L. Charles, D. Pepin, B. Casettas. Electrospray ion chromatography-tandem mass spectrometry of bromate at sub-ppb levels in water. *Anal. Chem.* 68 (1996) 2554.

el inconveniente de que son altamente sofisticadas y la instrumentación es muy costosa. Además, tampoco son aplicables en el análisis “in situ”.

Detección IC-espectrofotométrica: Este método se basa en el acoplamiento de un detector espectrofotométrico a un sistema de cromatografía iónica con reacción específica post-columna, que se usa para incrementar la sensibilidad y para evitar posibles interferencias en los métodos espectrofotométricos [34]¹⁹. La optimización del método se alcanza con una preconcentración de la muestra. El bromato se convierte en tribromuro, (usando ácido bromhídrico o clorpromazina en la reacción postcolumna), y puede ser detectado por absorción ultravioleta (268 nm) o visible (530 nm). Se obtienen límites de detección entre 0.35 y 0,5 µg.L⁻¹. En el método 317.0 de la EPA se aplica una reacción post columna de o-dianisidina dihidrocloruro (ODA). Las principales ventajas de estos métodos consisten en la ausencia de pretratamiento de muestra y una buena sensibilidad, además de la sencillez, el bajo coste y la posibilidad de realizar análisis “in situ”.

Las reacciones colorimétricas recogidas en la bibliografía son varias; entre ellas, las de bromato con Fucsina y con fenotiazina [35]²⁰. El bromato reacciona con el aducto SO₂-Fucsina en medio ácido, originando un producto coloreado que absorbe a 530 nm. La respuesta es lineal hasta los 20 µg.L⁻¹, y el límite de detección es 1 µg.L⁻¹. Los cationes que interfieren en dicha reacción deben ser eliminados antes de la adición del reactivo. Otros autores como Farrell y colaboradores [36]²¹ dan a conocer otro procedimiento colorimétrico, la reducción de bromato con fenotiazina en medio ácido con formación de un radical catiónico estable que absorbe a 504 nm, en el rango de 1-700 µg.L⁻¹ con límites de detección entre 0.7 y 2 µg.L⁻¹. Interfieren nitrito y clorito.

Métodos acoplados a inyección en flujo (FIA). El FIA fue explotado para la detección postcolumna en IC [37]²². Usando este método de análisis

¹⁹ [34] H. P. Wagner, B. V. Pepich, D. P. Hautman, D. J. Munich. Analysis of 500-ng/L levels of bromate in drinking water by direct-injection suppressed ion chromatography coupled with a single, pneumatically delivered post-column reagent. *Journal of Chromatography A* 850 (1999) 119.

²⁰ [35] M. Achilli, L. Romele. Ion chromatographic determination of bromate in drinking water by post-column reaction with fuchsin. *Journal of Chromatography A* 847 (1999) 271.

²¹ [36] S. Farrell, J. F. Joa, G.E.Pacey. Spectrophotometric determination of bromate ions using phenothiazines. *Anal. Chim. Acta* 313 (1995) 121.

²² [37] Shreekant V. Karmarkar. Analysis of waste water for anionic and cationic nutrients by ion chromatography in a single run with sequential flow injection analysis. *Journal of Chromatography A* 850(1999) 303.

pueden obtenerse límites de detección similares a los alcanzados en los métodos espectrofotométricos. Se ha registrado un valor de detección de $0,8 \mu\text{g.L}^{-1}$ utilizando FIA con clorpromazina (CLP) [38, 39]²³. También pueden determinarse pequeñas cantidades de bromato utilizando un sistema **FIA-ICP-MS** [40]²⁴, proporcionando un alto grado de la selectividad. Se alcanza una alta sensibilidad realizando una preconcentración "on line".

Métodos fluorimétricos: La fluorimetría constituye una interesante alternativa a la espectrofotometría. Se han desarrollado métodos fluorimétricos con límites de detección entre 0.2 y $2 \mu\text{g.L}^{-1}$, aunque existen muy pocos métodos desarrollados.

Uno de ellos es la **cromatografía del par iónico con detector de fluorescencia** [41]²⁵. Este método consiste en la separación del bromato usando cromatografía del par iónico con reacción post-columna y detección fluorescente. La señal registrada corresponde a un decrecimiento de la intensidad de fluorescencia. La post-columna de reacción contiene Carbostril 124 en medio ácido. Un componente que interfiere es el clorito, principal subproducto del ClO_2 . Los parámetros a controlar en la reacción para mejorar la sensibilidad del método son la temperatura a la cual la reacción post-columna debe funcionar y el tiempo de reacción. El límite de cuantificación es de $1.6 \mu\text{g.L}^{-1}$.

DESARROLLO DE MÉTODOS DE CAMPO.

Método espectrofotométrico con azul de metileno.

Este método se basa en la reacción entre el bromato y el azul de metileno en medio ácido. El primer paso consiste en optimizar las condiciones

²³ [38] G. Schminke, A. Seubert. Simultaneous determination of inorganic disinfection by products and the seven standard anions by ion chromatography. *Journal of Chromatography A* 890 (2000) 295.

[39] B. D. Walters, G. Gordon. An ion chromatographic method for measuring $< 5 \mu\text{g/L}$ bromate ion in drinking water. *Anal Chem.* 69 (1997) 4275.

²⁴ [40] A. R. Elwaer, C. W. McLeod, K. C. Thompson. On-line separation and determination of bromate in drinking water using Flow Injection ICP Mass Spectrometry. *Anal Chem.* 72 (2000) 5725.

²⁵ [41] A. Gahr, N. Huber, R. Niessner. Fluorimetric determination of bromate by ion-exchange separation and post-column derivatization. *Mikrochim. Acta* 129 (1998) 281.

de operación (concentración de los reactivos, tiempo de reacción, longitud de onda, etc.), con el fin de obtener la mejor sensibilidad. Se obtiene linealidad entre 4 y 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$, determinándose la concentración de bromato en este rango. Las diferencias entre los resultados obtenidos por este método y IC/CD están por debajo de 20%. Se ha demostrado el alto nivel de interferencia de los iones hipoclorito, pero se puede superar con el pretratamiento de las muestras con hidroxilamina. Tal pretratamiento debe ser adaptado a la matriz analizada "in situ".

Detección FIA-espectrofotometría.

Con referencia a la determinación de bromato, han sido menos los estudios publicados en FIA y SIA [42-44]²⁶. Gordon y Bubnis describieron el procedimiento espectrofotométrico basado en la oxidación de la clorpromazina. Se obtuvo un límite de cuantificación relativamente bajo (0,8 $\mu\text{g.L}^{-1}$), pero el método fue susceptible de interferencias por cationes y otros cooxidantes.

²⁶ [42] K. Uraisin, T. Takayanagi, D. Nacapricha, S. Motomizu. Novel oxidation reaction of prochlorperazine with bromate in the presence of synergistic activators and its application to trace determination by flow injection/spectrophotometric method. *Anal. Chim. Acta* 580 (2006) 68.

[43] G. Gordon, B. Bubnis. The measurement of very low level bromate ion. *Ozone. Sci. Eng.* 17 (1995) 551.

[44] J. F. van Staden, L. V. Mulaudzi, R. I. Stefan. Spectrophotometric determination of bromate by sequential injection analysis. *Talanta* 64 (2004) 1196.

DETERMINACIÓN DE BROMATO EN DISCONTINUO. REACCIÓN CON FUCSINA

2.1.1. ESTUDIOS PREVIOS

COMPORTAMIENTO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA FUCSINA

Se preparan disoluciones acuosas del colorante Fucsina en concentraciones variable entre $0.77 \cdot 10^{-6}$ M y $24.72 \cdot 10^{-6}$ M. En la Figura 115-a se muestra el espectro obtenido con una de las disoluciones antes mencionadas, donde se observa un máximo de absorbanza a 543 nm.

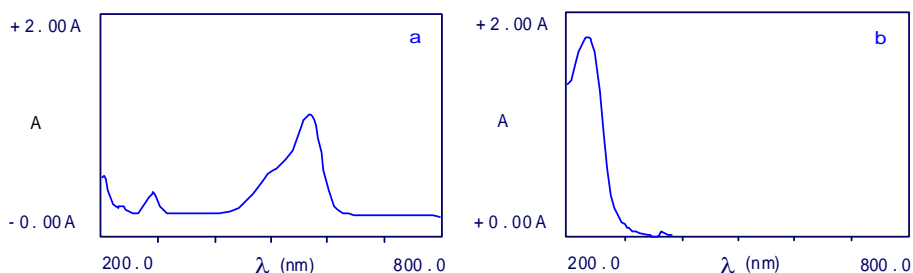


Figura 115. Espectro de absorción molecular: a: de Fucsina en medio ácido (pH=1,53) y b: disolución de Fucsina decolorada con $S_2O_5^{2-}$, en medio ácido (pH=1,53) (a las 24 horas de añadir el reductor).

El espectro de la misma disolución tratada en medio ácido con $S_2O_5^{2-}$ (pH=1.53) y decolorada durante 24 horas (Figura 115-b) presenta únicamente un máximo en la zona del ultravioleta a 233 nm, que se comprueba corresponde a $S_2O_5^{2-}$ en disolución ácida, aunque no se puede descartar que en esa zona del espectro también absorba la molécula orgánica reducida.

Los valores de absorbancia a 543 nm de las disoluciones de diferentes concentraciones de Fucsina en agua se muestran en la Tabla 2, ajustándose su representación frente a la concentración a una línea recta de ecuación:

$$A = (0,001 \pm 0,003) + (6,05 \pm 0,03) 10^{-4} x; R^2 = 1$$

siendo x la concentración de Fucsina en mol.L⁻¹ (Figura 117) y la pendiente el coeficiente de absortividad molar ($\epsilon = (6,05 \pm 0,03) 10^{-4}$ u.a.cm⁻¹mol⁻¹L).

Tabla 2. Valores de Absorbancia a 543 nm para diferentes concentraciones de Fucsina

[Fucsina] M	Absorbancia
0,77 10 ⁻⁶	0,045
1,54 10 ⁻⁶	0,093
3,09 10 ⁻⁶	0,188
6,18 10 ⁻⁶	0,375
9,27 10 ⁻⁶	0,563
12,36 10 ⁻⁶	0,751
15,45 10 ⁻⁶	0,932
18,55 10 ⁻⁶	1,118
24,72 10 ⁻⁶	1,499

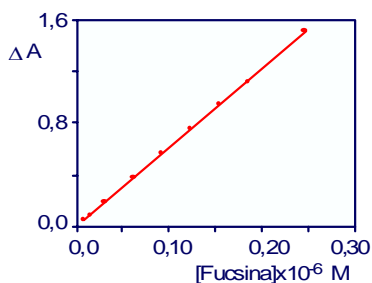


Figura 117. Representación gráfica de los valores de absorbancia en función de la concentración. Calibrado a 543 nm.

PREPARACIÓN Y ESTABILIDAD DE LAS DISOLUCIONES DE FUCSINA.

En la mayoría de las experiencias, la disolución de Fucsina de partida, disolución A, se prepara disolviendo 100 mg del producto sólido en un volumen final de agua bidestilada de 100 mL (1 mg.L⁻¹; 3,09x10⁻³ M). Esta disolución que presenta el color característico del reactivo, es estable al menos durante 6 meses.

A partir de la disolución anterior, se prepara otra de FUCSINA DECOLORADA, que denominaremos disolución B, tomando alícuotas de 10 mL, añadiendo 0,5 mL de ácido HCl 6 M y el reductor, metabisulfito S₂O₅²⁻ en diferentes cantidades, enrasando al final a 100 mL con agua bidestilada. Esta disolución se deja decolorar en ausencia de luz.

Tabla 3. Tiempo de decoloración de la disolución B en número de horas

Disolución B	Relación $S_2O_5^{2-}/Fucsina$ (R)	pH	[Fucsina] ($M \times 10^{-4}$)	$[S_2O_5^{2-}]$ ($M \times 10^{-3}$)	Tiempo de decoloración (h)
1	0,85	1,53	3,09	0,26	>>500 (no se decolora)
2	1,70	1,53	3,09	0,52	120
3	2,55	1,53	3,09	0,78	50
4	3,40	1,53	3,09	1,05	48
5	8,50	1,53	3,09	1,00	24
6	34,0	1,53	3,09	10,52	<12

A partir de la disolución B se preparan las correspondientes disoluciones C por adición de la cantidad adecuada del oxidante bromato, en diferentes concentraciones de pH. El blanco de esta disolución se prepara de la misma forma, en ausencia de BrO_3^- .

2.1.2. CINÉTICA DE LA REACCIÓN ENTRE FUCSINA DECOLORADA Y BROMATO A TEMPERATURA AMBIENTE SIN TERMOSTATAR

ESTUDIOS CUALITATIVOS

El proceso de decoloración de la Fucsina en presencia de $S_2O_5^{2-}$ a pH = 1,53 se observa en la fotografía 2-Izda y el espectro de la disolución final (disolución B, último matraz de la fotografía) se muestra en la Figura 116-a. La fotografía 2-Dcha muestra la evolución con el tiempo de la disolución B, a pH = 4,0, hacia la forma coloreada de la Fucsina. El espectro de esta disolución (Figura 116-b-1), a un tiempo de 10 minutos, muestra la aparición de un pequeño máximo de absorbancia a 543 nm, característico del reactivo coloreado, alcanzando con el tiempo una señal constante.

Si se realiza la misma operación de dilución de la disolución de partida, B, en presencia de BrO_3^- , se observa que evoluciona de la misma forma que el blanco, pero a mayor velocidad, por lo que, el valor de absorbancia a 543 nm para un mismo tiempo de reacción, es mayor (Figura 116-b-2). Si esta disolución se deja evolucionar con el tiempo, comienza de nuevo a decolorarse, mostrando finalmente un espectro de absorción como el que aparece en la Figura 116-c.

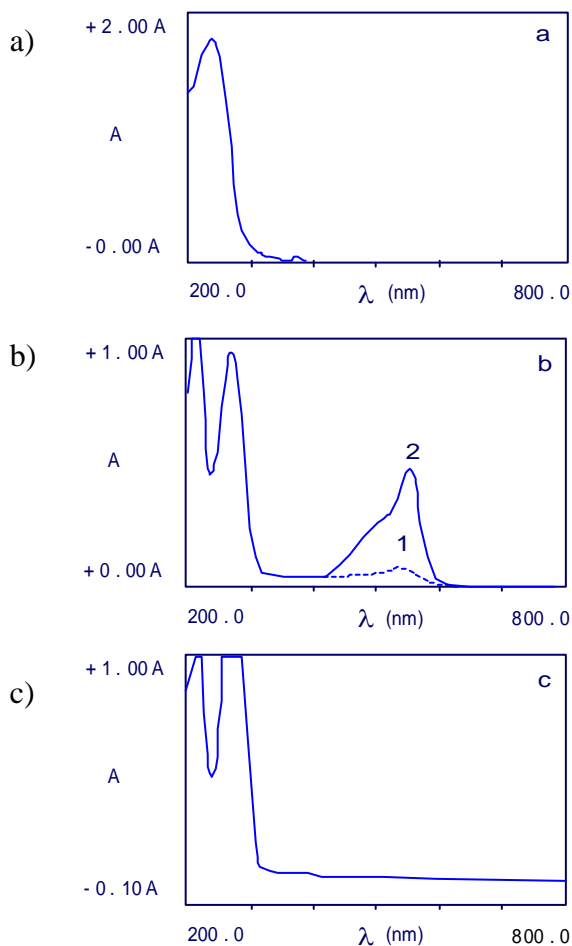


Figura 116. Seguimiento espectrofotométrico de la reacción: Fucsina decolorada-Bromato a: Espectro de la disolución inicial de Fucsina decolorada a pH = 1,5 (disolución B); b: Evolución con el tiempo del espectro de una disolución diluida C, a pH = 4,0: 1.- En ausencia de bromato; 2.- En presencia de bromato; c: Espectro anterior b-2, después de un tiempo de 2 horas.

Cuando se añade BrO_3^- a las disoluciones ácidas de Fucsina decolorada, en el espectro aparece un nuevo pico de absorbancia a 219 nm, que corresponde a esta molécula oxidante (Figura 116-b y 116-c).



Fotografía 2. a) Proceso de decoloración de una disolución de Fucsina (A) a la que se le añade $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ a pH 1,5. La disolución final es la denominada como (B).
b) Evolución con el tiempo de una disolución de Fucsina decolorada y $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, que ha sido diluida hasta pH 4,0.

En la Fotografía 3 se muestra el proceso global que ocurre cuando una disolución B conteniendo BrO_3^- (disolución C) evoluciona con el tiempo. En ella se observan simultáneamente los procesos de coloración y decoloración.



Fotografía 3 Evolución cinética de una disolución que inicialmente (matraz de la izquierda) contiene Fucsina decolorada y $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ a pH 4,0, a la que se añade BrO_3^- .

De la observación realizada en estudios cualitativos, a temperatura ambiente, se dedujo que las variables que afectaban a los procesos cinéticos antes comentados, tanto en la evolución del blanco como en la evolución de las disoluciones con bromato eran:

- pH de la disolución.
- Concentración inicial de Fucsina.
- Concentración inicial de Metabisulfito, $S_2O_5^{2-}$.

Y en el segundo de los procesos además

- Concentración de BrO_3^- .

Para obtener información sobre la influencia de cada una de estas variables se diseñan series de experiencias partiendo en todos los casos de una disolución de Fucsina coloreada, A, en agua de concentración $3,09 \cdot 10^{-3}$ M (100 mg/100 mL). A partir de ella se preparan 7 disoluciones de Fucsina decolorada tomando en todos los casos una alícuota de A de 10 mL, añadiendo 0,5 mL de HCl 6M, un volumen de disolución de $S_2O_5^{2-}$ equivalente a cantidades entre 25 mg y 400 mg, y enrasando al final con agua bidestilada hasta 100 mL.

Estas disoluciones B, a pH=1,3, que contienen todas la misma concentración de Fucsina inicial, $3,09 \cdot 10^{-3}$ M, difieren en la concentración de $S_2O_5^{2-}$, que varía entre $1,32 \cdot 10^{-3}$ M y $21,0 \cdot 10^{-3}$ M. Se dejan decolorar entre 24 y 48 horas (dependiendo de la cantidad de $S_2O_5^{2-}$) en ausencia de luz.

A partir de cada una de estas siete disoluciones B se toman alícuotas de 0,5; 1,0; 2,0 y 4,0 mL y, para cada disolución, se preparan cuatro series añadiendo disolución de BrO_3^- de modo que su concentración final sea 0,1 ppm ($0,3 \cdot 10^{-6}$ M); 0,5 ppm ($1,5 \cdot 10^{-6}$ M) y 1 ppm ($3,0 \cdot 10^{-6}$ M) y dejando una de las series sin añadir BrO_3^- , que es la que consideramos como "blanco"; al final todas se enrasan con agua bidestilada a 50 mL.

El momento en que se enrasa y homogeniza se considera el tiempo cero de la reacción; posteriormente para cada disolución se mide la absorbancia

a 543 nm y a diferentes tiempos de reacción (entre 5 y 65 minutos) frente a una disolución de referencia constituida por todos los reactivos salvo Fucsina.

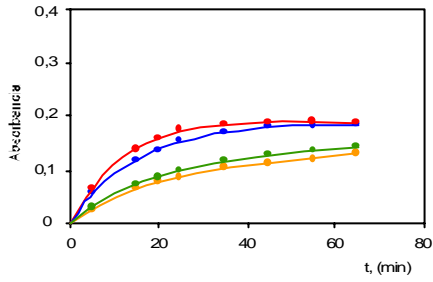
Tabla 4. Estudio cinético de la reacción BROMATO + FUCSINA para una relación $R = S_2O_5^{2-}/Fucsina = 4,3$. Valores de absorbancia a diferentes tiempos.

Nº	$S_2O_5^{2-}$ (M)	Fucsina (M)	pH	BrO_3^- (μ M)	Tiempo (min.)								$A_{m\acute{a}x.}$
					5	15	20	25	35	45	55	65	
1	$1,3,2 \times 10^{-6}$	$3,09 \times 10^{-6}$	3,52	0,0	0,024	0,066	0,077	0,087	0,103	0,112	0,120	0,129	0,188
				0,3	0,040	0,073	0,087	0,098	0,116	0,128	0,136	0,144	0,188
				1,5	0,056	0,116	0,134	0,153	0,170	0,178	0,181	0,184	0,188
				3,0	0,064	0,138	0,158	0,173	0,184	0,187	0,187	0,187	0,188
2	$2,6,4 \times 10^{-6}$	$6,18 \times 10^{-6}$	3,22	0,0	0,018	0,038	0,042	0,050	0,063	0,071	0,080	0,091	0,375
				0,3	0,045	0,087	0,104	0,119	0,141	0,161	0,176	0,187	0,375
				1,5	0,092	0,182	0,217	0,244	0,281	0,304	0,317	0,324	0,375
				3,0	0,124	0,243	0,280	0,304	0,344	0,351	0,353	0,351	0,375
3	$52,6 \times 10^{-6}$	$12,36 \times 10^{-6}$	2,92	0,0	0,014	0,028	0,037	0,042	0,048	0,052	0,059	0,066	0,751
				0,3	0,026	0,050	0,061	0,072	0,091	0,102	0,110	0,116	0,751
				1,5	0,068	0,121	0,140	0,153	0,173	0,185	0,193	0,197	0,751
				3,0	0,087	0,176	0,213	0,239	0,275	0,293	0,297	0,301	0,751
4	$105,2 \times 10^{-6}$	$24,72 \times 10^{-6}$	2,62	0,0	0,008	0,019	0,025	0,029	0,032	0,036	0,039	0,043	1,500
				0,3	0,035	0,063	0,068	0,071	0,072	0,071	0,070	0,070	1,500
				1,5	0,055	0,091	0,098	0,100	0,102	0,100	0,098	0,097	1,500
				3,0	0,169	0,263	0,274	0,280	0,276	0,267	0,258	0,247	1,500

Los resultados obtenidos se indican en las Tablas 4-10, donde cada una de ellas corresponde a una situación experimental donde la relación entre $S_2O_5^{2-}$ y Fucsina (R) es constante.

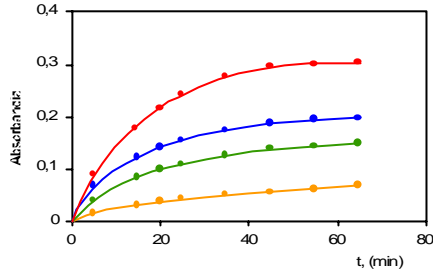
Los resultados mostrados en cada tabla se han representado gráficamente en las Figuras 118-124 para su estudio comparativo y discusión.

Análisis por inyección en flujo y aguas potables



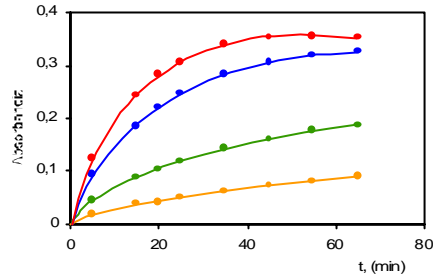
[Fucsina]: $3,09 \times 10^{-6}$ M
 $[S_2O_5^{2-}]$: $13,2 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,52 y R = 4,3.

Porcentaje de Reacción:
 a: 68.6% c: 97.8%
 b: 76.6% d: 99.46%



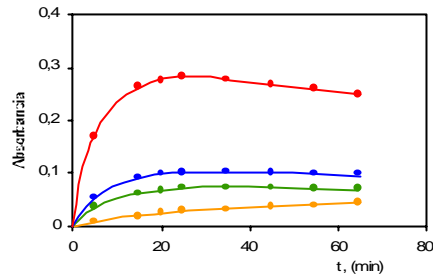
[Fucsina]: $6,18 \times 10^{-6}$ M
 $[S_2O_5^{2-}]$: $26,4 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,22 y R = 4,3.

Porcentaje de Reacción:
 a: 24.3% c: 86.4%
 b: 49.9% d: 93.6%



[Fucsina]: $12,36 \times 10^{-6}$ M
 $[S_2O_5^{2-}]$: $52,6 \times 10^{-6}$ M
 pH = 2,92 y R = 4,3.

Porcentaje de Reacción:
 a: 8.8% c: 26.2%
 b: 19.4% d: 40.07%



[Fucsina]: $24,72 \times 10^{-6}$ M
 $[S_2O_5^{2-}]$: $105,2 \times 10^{-6}$ M
 pH = 2,72 y R = 4,3.

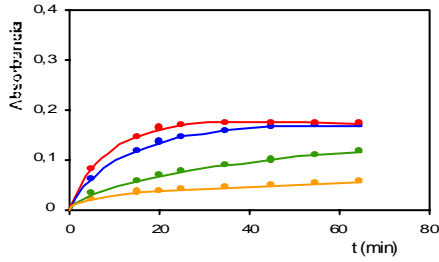
Porcentaje de Reacción:
 a: 2.9% c: 6.5%
 b: 4.7% d: 18.7%

Figura 118. Cinética de la reacción BROMATO + FUCSINA para concentraciones de BrO_3^- de: $a = 0,0 \mu M$, $b = 0,3 \mu M$, $c = 1,5 \mu M$ y $d = 3,0 \mu M$.

Tabla 5. Estudio cinético de la reacción BROMATO + FUCSINA para una relación $R = S_2O_5^{2-}/Fucsina = 8,6$. Valores de absorbancia a diferentes tiempos.

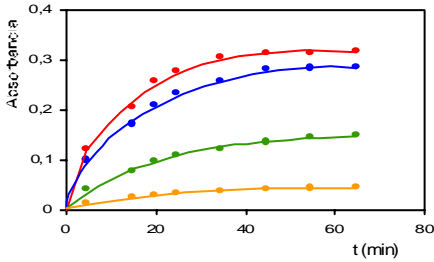
Nº	$S_2O_5^{2-}$ (M)	Fucsina (M)	pH	BrO_3^- (μ M)	Tiempo (min.)								$A_{m\acute{a}x.}$
					5	15	20	25	35	45	55	65	
5	$26,3 \times 10^{-6}$	$3,09 \times 10^{-6}$	3,52	0,0	0,020	0,034	0,037	0,040	0,044	0,047	0,052	0,056	0,188
				0,3	0,030	0,057	0,067	0,075	0,087	0,098	0,108	0,115	0,188
				1,5	0,059	0,115	0,133	0,144	0,158	0,164	0,168	0,169	0,188
				3,0	0,080	0,145	0,163	0,169	0,173	0,173	0,173	0,173	0,188
6	$52,6 \times 10^{-6}$	$6,18 \times 10^{-6}$	3,22	0,0	0,014	0,026	0,030	0,034	0,038	0,040	0,043	0,046	0,375
				0,3	0,040	0,078	0,097	0,109	0,124	0,136	0,147	0,149	0,375
				1,5	0,10	0,173	0,210	0,234	0,258	0,283	0,285	0,287	0,375
				3,0	0,120	0,208	0,258	0,278	0,305	0,316	0,316	0,317	0,375
7	$105,2 \times 10^{-6}$	$12,36 \times 10^{-6}$	2,92	0,0	0,011	0,015	0,017	0,018	0,022	0,025	0,028	0,031	0,751
				0,3	0,047	0,091	0,103	0,111	0,120	0,123	0,123	0,122	0,751
				1,5	0,107	0,200	0,224	0,241	0,257	0,262	0,261	0,257	0,751
				3,0	0,145	0,270	0,301	0,322	0,345	0,357	0,355	0,345	0,751
8	$210,4 \times 10^{-6}$	$24,72 \times 10^{-6}$	2,62	0,0	0,007	0,013	0,016	0,017	0,018	0,020	0,021	0,022	1,500
				0,3	0,035	0,048	0,056	0,055	0,052	0,049	0,045	0,043	1,500
				1,5	0,106	0,122	0,125	0,123	0,116	0,106	0,100	0,094	1,500
				3,0	0,138	0,156	0,158	0,160	0,149	0,138	0,127	0,119	1,500

Análisis por inyección en flujo y aguas potables



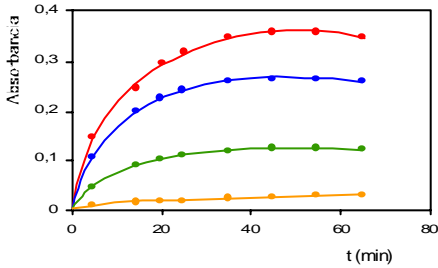
[Fucsina]: $3,09 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $26,3 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,52 y R = 8,6.

Porcentaje de Reacción:
 a: 29.8% c: 89.9%
 b: 61.2% d: 92.0%



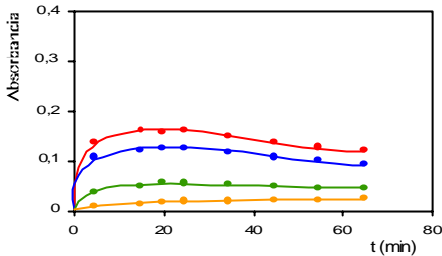
[Fucsina]: $6,18 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $52,6 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,22 y R = 8,6.

Porcentaje de Reacción:
 a: 12.3% c: 76.5%
 b: 39.7% d: 84.5%



[Fucsina]: $12,36 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $105,2 \times 10^{-6}$ M
 pH = 2,92 y R = 8,6.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo
 a 4.12%
 b 16.3% 16.3%
 c 34.2% 34.9%
 d 45.4% 48.5%



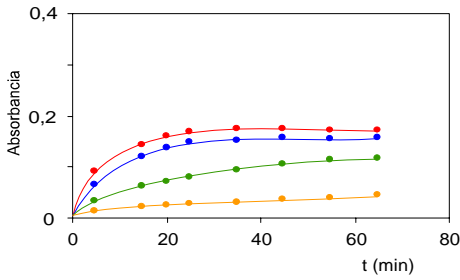
[Fucsina]: $24,72 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $210,4 \times 10^{-6}$ M
 pH = 2,62 y R = 8,6.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo
 a 1.5%
 b 2.9% 3.7%
 c 6.3% 8.3%
 d 7.9% 10.7%

Figura 119. Cinética de la reacción BROMATO + FUCSINA para concentraciones de BrO₃⁻ de: a = 0,0 μM, b = 0,3 μM, c = 1,5 μM y d = 3,0 μM.

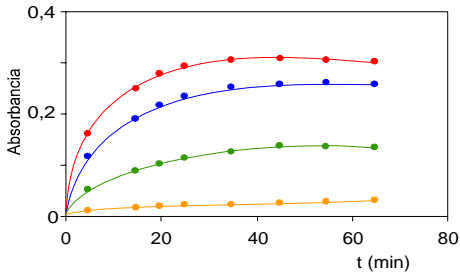
Tabla 6. Estudio cinético de la reacción BROMATO + FUCSINA para una relación $R = S_2O_5^{2-}/Fucsina = 12,8$. Valores de absorbancia a diferentes tiempos.

Nº	$S_2O_5^{2-}$ (M)	Fucsina (M)	pH	BrO_3^- (μ M)	Tiempo (min.)								$A_{m\acute{a}x.}$
					5	15	20	25	35	45	55	65	
9	$39,5 \times 10^{-6}$	$3,09 \times 10^{-6}$	3,52	0,0	0,012	0,019	0,023	0,026	0,030	0,035	0,038	0,042	0,188
				0,3	0,032	0,059	0,069	0,078	0,093	0,104	0,111	0,116	0,188
				1,5	0,063	0,118	0,138	0,147	0,151	0,154	0,155	0,156	0,188
				3,0	0,089	0,141	0,158	0,166	0,172	0,172	0,170	0,170	0,188
10	$79,0 \times 10^{-6}$	$6,18 \times 10^{-6}$	3,22	0,0	0,009	0,016	0,018	0,020	0,022	0,025	0,027	0,030	0,375
				0,3	0,049	0,082	0,099	0,112	0,124	0,134	0,131	0,133	0,375
				1,5	0,115	0,181	0,214	0,231	0,249	0,256	0,258	0,255	0,375
				3,0	0,160	0,242	0,275	0,292	0,302	0,301	0,304	0,300	0,375
11	$158,0 \times 10^{-6}$	$12,36 \times 10^{-6}$	2,92	0,0	0,006	0,010	0,012	0,014	0,015	0,017	0,019	0,022	0,751
				0,3	0,047	0,081	0,085	0,086	0,086	0,083	0,079	0,074	0,751
				1,5	0,101	0,165	0,177	0,181	0,179	0,171	0,160	0,150	0,751
				3,0	0,135	0,225	0,236	0,241	0,238	0,226	0,213	0,198	0,751
12	$316,0 \times 10^{-6}$	$24,72 \times 10^{-6}$	2,62	0,0	0,004	0,009	0,011	0,012	0,013	0,013	0,014	0,015	1,500
				0,3	0,030	0,031	0,028	0,026	0,023	0,020	0,018	0,017	1,500
				1,5	0,076	0,072	0,065	0,059	0,050	0,043	0,037	0,032	1,500
				3,0	0,098	0,100	0,091	0,085	0,074	0,064	0,057	0,050	1,500



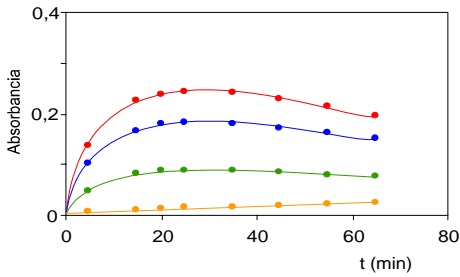
[Fucsina]: $3,09 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $39,5 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,52 y R = 12,8.

Porcentaje de Reacción:
 a: 22.3% c: 83.0%
 b: 61.7% d: 91.5%



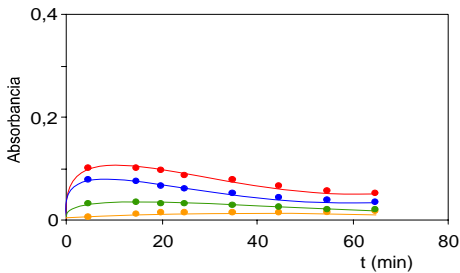
[Fucsina]: $6,18 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $79,0 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,22 y R = 12,8.

Porcentaje de Reacción:
 a: 8% c: 68.8%
 b: 35.7% d: 81.1%



[Fucsina]: $12,36 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: 158×10^{-6} M
 pH = 2,92 y R = 12,8.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo
 a 2.9%
 b 9.9% 11.5%
 c 13.5% 24.1%
 d 26.4% 32.1%



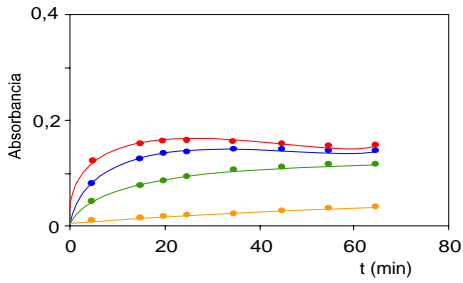
[Fucsina]: $24,72 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: 316×10^{-6} M
 pH = 2,62 y R = 12,8.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo
 a 1%
 b 1% 2.1%
 c 2.1% 5.1%
 d 3.3% 6.7%

Figura 120. Cinética de la reacción BROMATO + FUCSINA para concentraciones de BrO₃⁻ de: a = 0,0 μM, b = 0,3 μM, c = 1,5 μM y d = 3,0 μM.

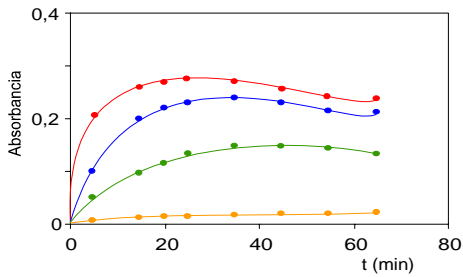
Tabla 7. Estudio cinético de la reacción BROMATO + FUCSINA para una relación $R = S_2O_5^{2-}/Fucsina = 17$. Valores de absorbancia a diferentes tiempos.

Nº	$S_2O_5^{2-}$ (M)	Fucsina (M)	pH	BrO_3^- (μ M)	Tiempo (min.)								$A_{m\acute{a}x.}$
					5	15	20	25	35	45	55	65	
13	$52,6 \times 10^{-6}$	$3,09 \times 10^{-6}$	3,52	0,0	0,008	0,013	0,015	0,018	0,022	0,027	0,030	0,033	0,188
				0,3	0,043	0,069	0,083	0,091	0,103	0,110	0,113	0,115	0,188
				1,5	0,078	0,121	0,134	0,138	0,142	0,142	0,142	0,140	0,188
				3,0	0,131	0,154	0,156	0,157	0,154	0,154	0,153	0,151	0,188
14	$105,2 \times 10^{-6}$	$6,18 \times 10^{-6}$	3,22	0,0	0,006	0,011	0,012	0,014	0,016	0,017	0,019	0,021	0,375
				0,3	0,048	0,095	0,111	0,135	0,145	0,141	0,138	0,131	0,375
				1,5	0,096	0,202	0,219	0,229	0,233	0,228	0,219	0,209	0,375
				3,0	0,205	0,253	0,266	0,268	0,262	0,255	0,246	0,235	0,375
15	$210,4 \times 10^{-6}$	$12,36 \times 10^{-6}$	2,92	0,0	0,005	0,007	0,009	0,010	0,012	0,014	0,015	0,017	0,751
				0,3	0,060	0,088	0,089	0,087	0,082	0,075	0,068	0,062	0,751
				1,5	0,133	0,175	0,175	0,169	0,152	0,137	0,120	0,106	0,751
				3,0	0,171	0,229	0,227	0,220	0,201	0,179	0,159	0,139	0,751
16	$420,8 \times 10^{-6}$	$24,72 \times 10^{-6}$	2,62	0,0	0,004	0,006	0,008	0,010	0,010	0,011	0,011	0,012	1,500
				0,3	0,040	0,032	0,030	0,028	0,023	0,020	0,017	0,015	1,500
				1,5	0,081	0,066	0,058	0,052	0,042	0,033	0,027	0,023	1,500
				3,0	0,106	0,086	0,077	0,070	0,057	0,047	0,039	0,031	1,500



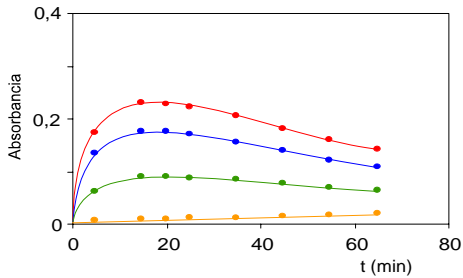
[Fucsina]: $3,09 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $52,6 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,52 y R = 17.

Porcentaje de Reacción:
 a: 17.6% c: 74.5%
 b: 61.2% d: 80.3%



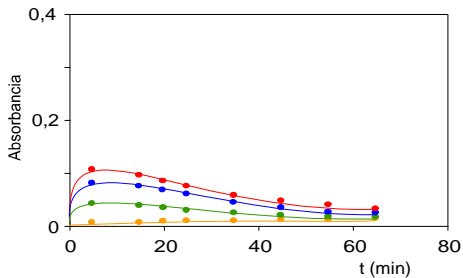
[Fucsina]: $6,18 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $105,2 \times 10^{-6}$ M
 pH = 3,22 y R = 17.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo
 a 5.6%
 b 34.9% 38.7%
 c 55.7% 62.1%
 d 62.7% 71.5%



[Fucsina]: $12,36 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $210,4 \times 10^{-6}$ M
 pH = 2,92 y R = 17.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo
 a 2.3%
 b 8.3% 11.9%
 c 14.1% 23.3%
 d 18.5% 30.5%



[Fucsina]: $24,72 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: $420,8 \times 10^{-6}$ M
 pH = 2,62 y R = 17.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo
 a 0.8%
 b 1% 2.7%
 c 1.5% 5.4%
 d 2.1% 7.1%

Figura 121. Cinética de la reacción BROMATO + FUCSINA para concentraciones de BrO₃⁻ de: a = 0,0 μM, b = 0,3 μM, c = 1,5 μM y d = 3,0 μM.

Tabla 8. Estudio cinético de la reacción BROMATO + FUCSINA para una relación $R=S_2O_5^{2-}/Fucsina=25,6$. Valores de absorbancia a diferentes tiempos.

Nº	$S_2O_5^{2-}$ (M)	Fucsina (M)	pH	BrO_3^- ($\mu g.L^{-1}$)	Tiempo (min.)								$A_{m\acute{a}x.}$
					5	15	20	25	35	45	55	65	
17	79×10^{-6}	$3,09 \times 10^{-6}$	3,52	0,0	0,003	0,005	0,006	0,008	0,011	0,015	0,019	0,022	0,188
				0,3	0,047	0,070	0,084	0,088	0,096	0,104	0,106	0,108	0,188
				1,5	0,082	0,121	0,123	0,128	0,132	0,130	0,126	0,120	0,188
				3,0	0,124	0,156	0,156	0,152	0,146	0,144	0,141	0,137	0,188
18	158×10^{-6}	$6,18 \times 10^{-6}$	3,22	0,0	0,003	0,005	0,006	0,008	0,010	0,012	0,014	0,016	0,375
				0,3	0,054	0,094	0,103	0,107	0,100	0,104	0,100	0,093	0,375
				1,5	0,108	0,179	0,191	0,196	0,194	0,184	0,172	0,158	0,375
				3,0	0,138	0,229	0,244	0,250	0,246	0,236	0,224	0,211	0,375
19	316×10^{-6}	$12,36 \times 10^{-6}$	2,92	0,0	0,002	0,005	0,006	0,007	0,009	0,010	0,010	0,011	0,751
				0,3	0,047	0,059	0,057	0,054	0,046	0,039	0,035	0,030	0,751
				1,5	0,102	0,126	0,118	0,112	0,093	0,078	0,065	0,055	0,751
				3,0	0,126	0,172	0,164	0,157	0,136	0,115	0,099	0,086	0,751
20	632×10^{-6}	$24,72 \times 10^{-6}$	2,62	0,0	-	0,004	0,006	0,006	0,007	0,007	0,008	0,008	1,500
				0,3	0,020	0,015	0,012	0,012	0,009	0,008	0,007	0,007	1,500
				1,5	0,044	0,029	0,023	0,020	0,014	0,010	0,008	0,007	1,500
				3,0	0,056	0,037	0,030	0,025	0,017	0,013	0,009	0,006	1,500

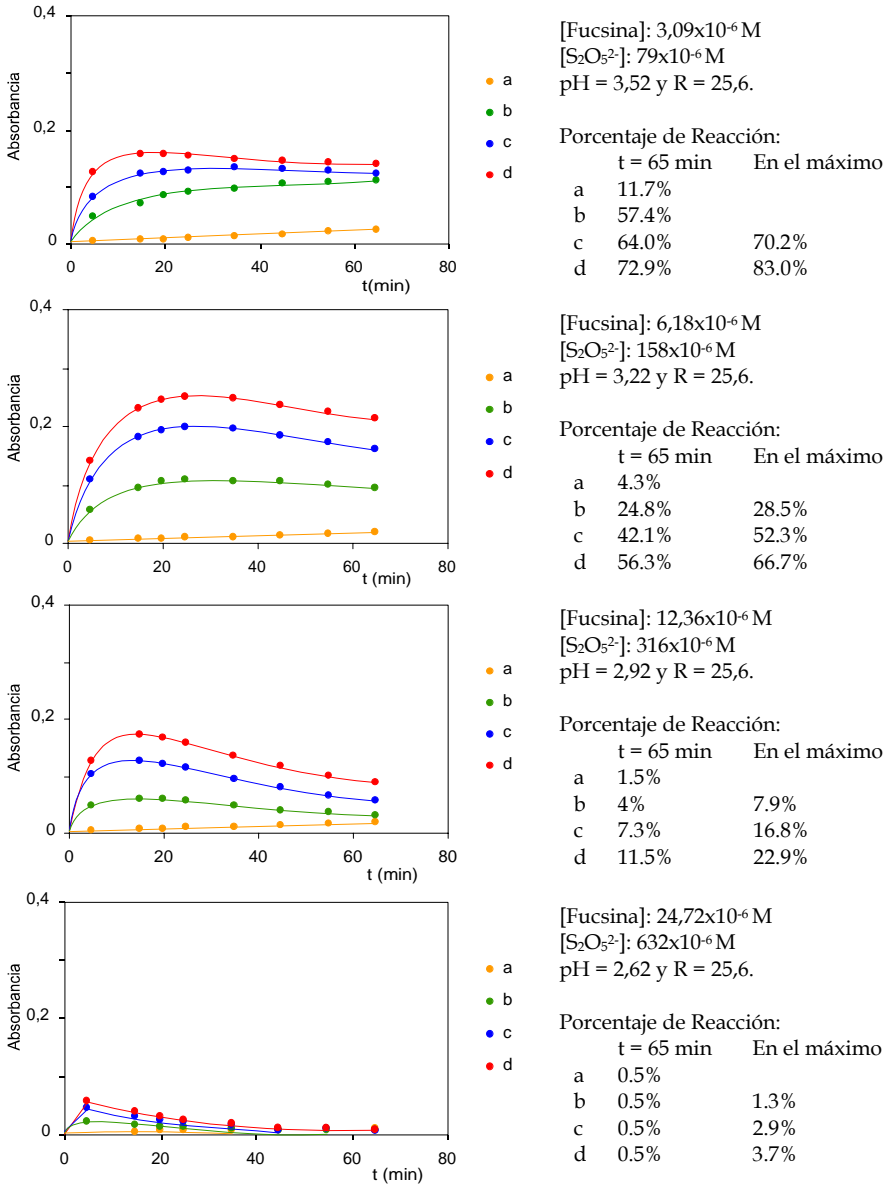
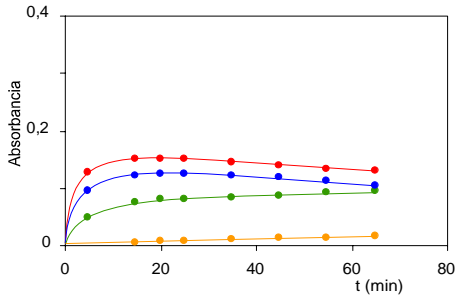


Figura 122. Cinética de la reacción BROMATO + FUCSINA para concentraciones de BrO_3^- de: a = 0,0 μM , b = 0,3 μM , c = 1,5 μM y d = 3,0 μM .

Tabla 9. Estudio cinético de la reacción BROMATO + FUCSINA para una relación $R = S_2O_5^{2-}/Fucsina=34$. Valores de absorbancia a diferentes tiempos.

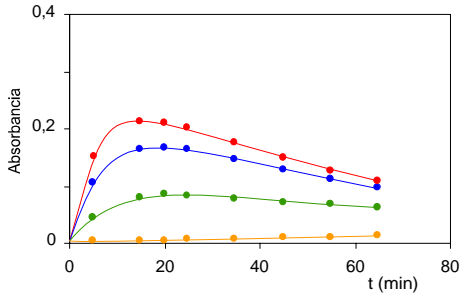
Nº	$S_2O_5^{2-}$ (M)	Fucsina (M)	pH	BrO_3^- (μ M)	Tiempo (min.)								$A_{m\acute{a}x.}$
					5	15	20	25	35	45	55	65	
21	$1,05 \times 10^{-6}$	$3,09 \times 10^{-6}$	3,52	0,0	-	0,004	0,005	0,006	0,009	0,011	0,013	0,016	0,188
				0,3	0,047	0,072	0,078	0,079	0,083	0,086	0,090	0,092	0,188
				1,5	0,092	0,120	0,122	0,124	0,121	0,118	0,110	0,103	0,188
				3,0	0,126	0,150	0,149	0,148	0,143	0,137	0,130	0,129	0,188
22	$2,10 \times 10^{-6}$	$6,18 \times 10^{-6}$	3,22	0,0	0,002	0,004	0,004	0,005	0,007	0,009	0,010	0,012	0,375
				0,3	0,043	0,078	0,084	0,080	0,074	0,070	0,066	0,060	0,375
				1,5	0,104	0,161	0,165	0,161	0,145	0,126	0,109	0,095	0,375
				3,0	0,151	0,209	0,208	0,200	0,175	0,148	0,124	0,106	0,375
23	$4,20 \times 10^{-6}$	$12,36 \times 10^{-6}$	2,92	0,0	-	0,002	0,004	0,004	0,005	0,006	0,007	0,008	0,751
				0,3	0,040	0,039	0,035	0,031	0,026	0,021	0,019	0,016	0,751
				1,5	0,085	0,076	0,068	0,059	0,047	0,037	0,031	0,025	0,751
				3,0	0,132	0,115	0,104	0,093	0,078	0,065	0,057	0,050	0,751
24	$8,40 \times 10^{-6}$	$24,72 \times 10^{-6}$	2,62	0,0	-	0,002	0,003	0,003	0,004	0,005	0,005	0,006	1,500
				0,3	0,015	0,011	0,009	0,007	0,007	0,006	0,006	0,006	1,500
				1,5	0,033	0,021	0,016	0,013	0,011	0,009	0,006	0,006	1,500
				3,0	0,049	0,038	0,033	0,030	0,028	0,026	0,026	0,026	1,500



[Fucsina]: $3,09 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: 105×10^{-6} M
 pH = 3,52 y R = 34.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo

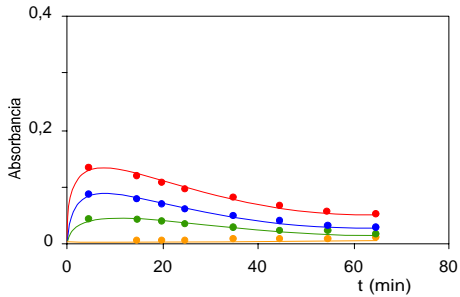
a	8.5%	
b	48.9%	
c	54.8%	65.9%
d	68.6%	79.8%



[Fucsina]: $6,18 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: 210×10^{-6} M
 pH = 3,22 y R = 34.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo

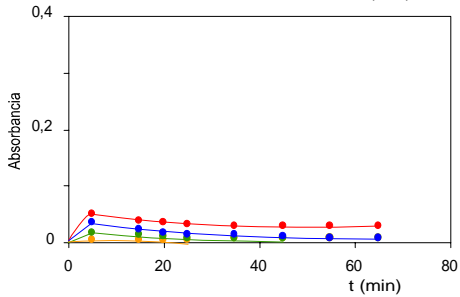
a	3.2%	
b	16%	22.4%
c	25.3%	44%
d	28.3%	55.7%



[Fucsina]: $12,36 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: 420×10^{-6} M
 pH = 2,92 y R = 34.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo

a	0.1%	
b	2.1%	5.1%
c	3.3%	11.3%
d	6.7%	17.6%



[Fucsina]: $24,72 \times 10^{-6}$ M
 [S₂O₅²⁻]: 840×10^{-6} M
 pH = 2,62 y R = 34.

Porcentaje de Reacción:
 t = 65 min En el máximo

a	0.4%	
b	0.4%	1%
c	0.4%	2.2%
d	1.7%	3.3%

Figura 123. Cinética de la reacción BROMATO + FUCSINA para concentraciones de BrO₃⁻ de: a = 0,0 μM, b = 0,3 μM, c = 1,5 μM y d = 3,0 μM.

Tabla 10. Estudio cinético de la reacción BROMATO + FUCSINA para una relación $R = S_2O_5^{2-}/\text{Fucsina} = 68$. Valores de absorbancia a diferentes tiempos.

Nº	$S_2O_5^{2-}$ (M)	Fucsina (M)	pH	BrO_3^- (μM)	Tiempo (min.)								$A_{\text{máx.}}$
					5	15	20	25	35	45	55	65	
25	210×10^{-6}	$3,09 \times 10^{-6}$	3,52	0,0	-	0,003	0,004	0,005	0,006	0,007	-	0,008	0,188
				0,3	0,044	0,070	0,069	0,069	0,066	0,059	0,054	0,047	0,188
				1,5	0,083	0,125	0,124	0,123	0,114	0,104	0,093	0,082	0,188
				3,0	0,120	0,143	0,141	0,139	0,130	0,123	0,114	0,106	0,188
26	420×10^{-6}	$6,18 \times 10^{-6}$	3,22	0,0	-	-	0,002	0,003	0,004	0,004	0,004	0,005	0,375
				0,3	0,045	0,053	0,048	0,042	0,035	0,026	0,022	0,019	0,375
				1,5	0,094	0,103	0,094	0,083	0,064	0,046	0,034	0,028	0,375
				3,0	0,119	0,123	0,114	0,099	0,074	0,050	0,039	0,027	0,375
27	840×10^{-6}	$12,36 \times 10^{-6}$	2,92	0,0	-	0,002	-	0,003	-	0,003	0,004	0,004	0,751
				0,3	0,023	0,017	0,015	0,013	0,012	0,010	0,009	0,009	0,751
				1,5	0,049	0,033	0,026	0,020	0,014	0,012	0,009	0,007	0,751
				3,0	0,062	0,042	0,032	0,025	0,017	0,013	0,011	0,010	0,751
28	1680×10^{-6}	$24,72 \times 10^{-6}$	2,62	0,0	-	0,002	-	0,002	-	0,003	-	0,003	1,500
				0,3	0,007	0,004	0,004	0,004	0,003	0,003	0,003	-	1,500
				1,5	0,012	0,007	0,005	0,005	0,004	0,004	0,004	0,004	1,500
				3,0	0,016	0,009	0,007	0,005	0,004	0,004	0,003	0,003	1,500

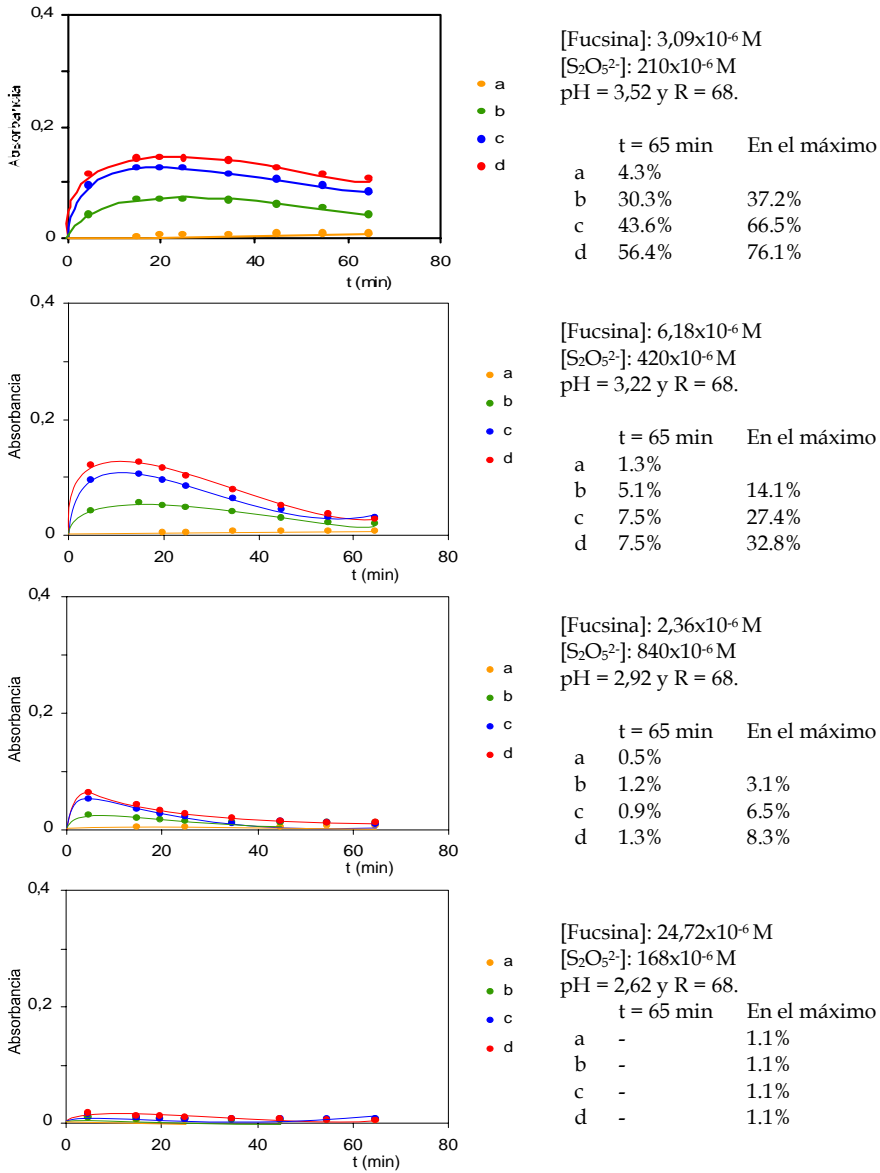
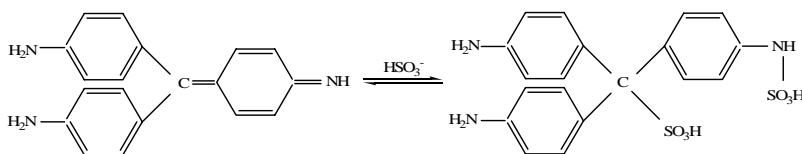


Figura 124. Cinética de la reacción BROMATO + FUCSINA para concentraciones de BrO₃⁻ de: a = 0,0 μM, b = 0,3 μM, c = 1,5 μM y d = 3,0 μM.

2.1.3. REACCIÓN DE COLORACIÓN DE LA FUCSINA DECOLORADA. EVOLUCIÓN CINÉTICA DEL BLANCO

Como puede comprobarse en las figuras anteriores, las disoluciones que no contienen BrO_3^- , el blanco, al pasar de pH ácido 1,53, por dilución, a pH menos ácidos, evolucionan con el tiempo, aumentando el valor de la absorbancia a 543 nm, incrementándose por lo tanto la concentración de Fucsina coloreada tendiendo a alcanzar un valor constante diferente para cada experiencia.



En el proceso de decoloración se alcanza por lo tanto una situación de equilibrio entre ambas formas de Fucsina que al menos depende del pH, y de las concentraciones de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ y Fucsina.

La evolución cinética del blanco en función del pH se representa en la Figura 125. Como puede comprobarse fácilmente, para cada valor de pH la evolución con el tiempo es menor cuanto mayor es la concentración de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ en la disolución inicial. Para cada serie de valores de pH, manteniendo constante la concentración de Fucsina, la evolución cinética con el tiempo es menor cuanto mayor es el valor de R, relación entre la concentración de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ y Fucsina.

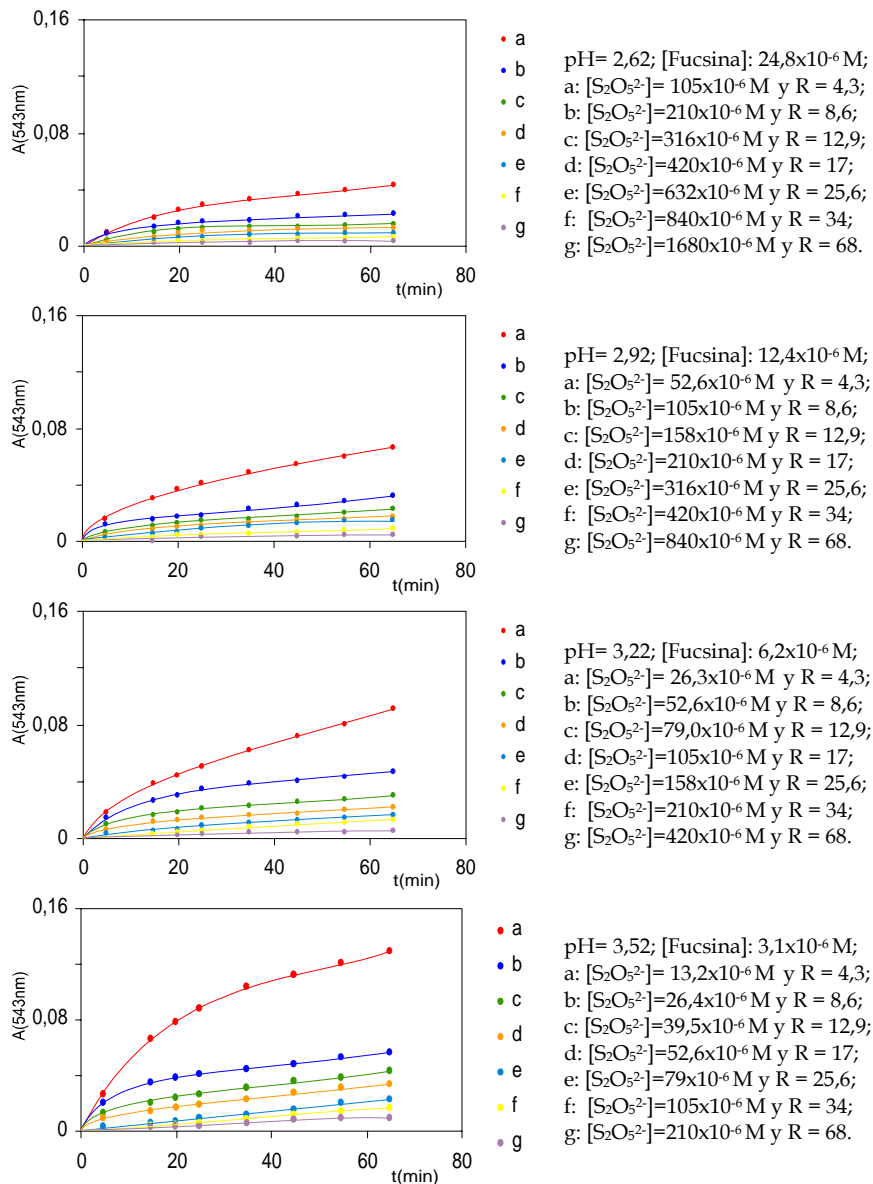


Figura 125. Curvas de evolución cinética del blanco a diferentes valores de pH

De la comparación de las cuatro figuras (Figura 125) se deduce que la evolución del blanco, independientemente del pH, es inversamente proporcional a la concentración de reductor ($S_2O_5^{2-}$) siendo menor en

magnitud cuanto mayor es su concentración. Desde un punto de vista práctico interesa trabajar en condiciones experimentales en las que la evolución del blanco sea lo menor posible.

La velocidad de la evolución del blanco en términos de incremento de absorbancia en función del tiempo está relacionada con las variables del proceso:

$$v = \frac{dA}{dt} = k \left[S_2O_5^{2-} \right]^a \left[H^+ \right]^b [Fucsina]^c \quad [1]$$

La medida experimental de la velocidad de reacción de evolución para las experiencias en las que $[H^+]$ y $[Fucsina]$ se han mantenido constantes, nos permite determinar el orden de reacción respecto a $[S_2O_5^{2-}]$:

$$v = k_a [S_2O_5^{2-}]^a \quad [2]$$

Donde

$$k_a = k [H^+]^b [Fucsina]^c$$

Tomando logaritmos en la expresión [2] se obtiene:

$$\log v = \log k_a + a \log [S_2O_5^{2-}] \quad [3]$$

Ecuación de una línea recta que permite el conocimiento de k_a así como el orden de reacción, a , respecto a $S_2O_5^{2-}$.

En la Tabla 11 se indican los valores experimentales de la velocidad medidos a partir de la absorbancia a los 65 minutos, para las experiencias que se realizan al mismo valor de pH y en las que se mantiene constante, para cada serie, la concentración de Fucsina.

Tabla 11. Evolución cinética del blanco. Orden de reacción respecto a $[S_2O_5^{2-}]$. Valores de velocidad medidos a 65 minutos.

pH	t (min)	A	Velocidad	log v	$[S_2O_5^{2-}]$ (M)	log $[S_2O_5^{2-}]$
3,52	65	0,129	$1,98 \times 10^{-3}$	-2,702	$1,32 \times 10^{-5}$	-4,878
		0,156	$8,61 \times 10^{-4}$	-3,065	$2,63 \times 10^{-5}$	-4,580
		0,042	$6,46 \times 10^{-4}$	-3,190	$3,95 \times 10^{-5}$	-4,403
		0,033	$5,07 \times 10^{-4}$	-3,294	$5,26 \times 10^{-5}$	-4,279
		0,022	$3,38 \times 10^{-4}$	-3,470	$7,90 \times 10^{-5}$	-4,102
		0,016	$2,46 \times 10^{-4}$	-3,609	$1,05 \times 10^{-4}$	-3,979
		0,008	$1,23 \times 10^{-4}$	-3,910	$2,10 \times 10^{-4}$	-3,678
3,22	65	0,091	$1,40 \times 10^{-3}$	-2,854	$2,64 \times 10^{-5}$	-4,578
		0,046	$7,08 \times 10^{-4}$	-3,150	$5,26 \times 10^{-5}$	-4,279
		0,030	$4,61 \times 10^{-4}$	-3,336	$7,90 \times 10^{-5}$	-4,102
		0,021	$3,23 \times 10^{-4}$	-3,491	$1,05 \times 10^{-4}$	-3,978
		0,016	$2,46 \times 10^{-4}$	-3,609	$1,58 \times 10^{-4}$	-3,801
		0,012	$1,85 \times 10^{-4}$	-3,734	$2,10 \times 10^{-4}$	-3,678
		0,005	$7,69 \times 10^{-5}$	-4,114	$4,20 \times 10^{-4}$	-3,377
2,92	65	0,066	$1,02 \times 10^{-3}$	-2,993	$5,26 \times 10^{-5}$	-4,279
		0,031	$4,77 \times 10^{-4}$	-3,321	$1,05 \times 10^{-4}$	-3,978
		0,022	$3,38 \times 10^{-4}$	-3,470	$1,58 \times 10^{-4}$	-3,801
		0,017	$2,62 \times 10^{-4}$	-3,582	$2,10 \times 10^{-4}$	-3,677
		0,011	$1,69 \times 10^{-4}$	-3,771	$3,16 \times 10^{-4}$	-3,500
		0,008	$1,23 \times 10^{-4}$	-3,910	$4,20 \times 10^{-4}$	-3,377
		0,004	$6,15 \times 10^{-5}$	-4,211	$8,40 \times 10^{-4}$	-3,076
2,62	65	0,043	$6,61 \times 10^{-4}$	-3,179	$1,05 \times 10^{-4}$	-3,978
		0,022	$3,38 \times 10^{-4}$	-3,470	$2,10 \times 10^{-4}$	-3,677
		0,015	$2,31 \times 10^{-4}$	-3,637	$3,16 \times 10^{-4}$	-3,500
		0,012	$1,84 \times 10^{-4}$	-3,734	$4,21 \times 10^{-4}$	-3,376
		0,008	$1,23 \times 10^{-4}$	-3,910	$6,32 \times 10^{-4}$	-3,199
		0,006	$9,23 \times 10^{-5}$	-4,035	$8,40 \times 10^{-4}$	-3,075
		0,003	$4,61 \times 10^{-5}$	-4,336	$1,68 \times 10^{-3}$	-2,775

La representación gráfica de los valores de $\log v$ (a los 65 minutos) frente a $\log[S_2O_5^{2-}]$ se muestra en la Figura 126. Se obtienen 4 líneas rectas, de pendiente (Tabla 11) próxima a 1 (para un 95% de fiabilidad).

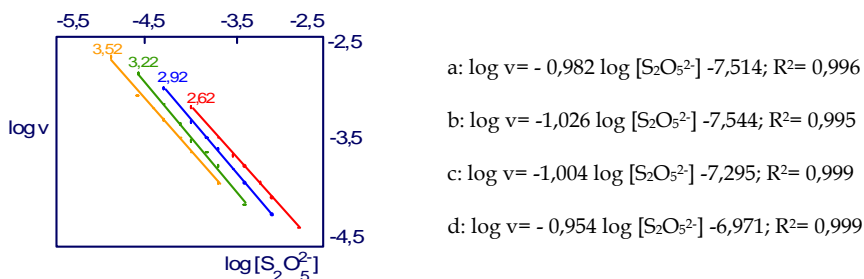


Figura 126. Evolución cinética del blanco. Representación gráfica de $\log v$ frente a $\log [S_2O_5^{2-}]$. Deducción del orden de reacción respecto a $[S_2O_5^{2-}]$. a: $pH=2,62$; b: $pH=2,92$; c: $pH=3,22$; d: $pH=3,52$.

Del valor de la ordenada se deduce k_a para cada serie de experiencias (Tabla 12) observándose que aumenta aparentemente al hacerlo a la vez las concentraciones de Fucsina y de H^+ pero no es indicativo, pues no pueden obtenerse conclusiones respecto a cada una de estas dos variables al no disponer de experiencias en las que se hayan mantenido constantes las concentraciones de Fucsina y $S_2O_5^{2-}$ variando $[H^+]$ y tampoco experiencias en las que se mantuvieran constantes $[H^+]$ y $[S_2O_5^{2-}]$ y se variara [Fucsina].

Lo que se deduce con claridad es que la cinética de la reacción es de orden -1 respecto a $S_2O_5^{2-}$:

$$v = \frac{k_a}{[S_2O_5^{2-}]} \quad [4]$$

Tabla 12. Evolución cinética del blanco. Orden de reacción respecto a $S_2O_5^{2-}$

Variables experimentales	(orden de reacción, $S_2O_5^{2-}$)	k_a
pH=3,52 [Fucs]= $3,1 \times 10^{-6}M$	$-0,98 \pm 0,07$	$(3 \pm 2) \times 10^{-8}$
pH=3,22 [Fucs]= $6,2 \times 10^{-6}M$	$-1,03 \pm 0,08$	$(3 \pm 2) \times 10^{-8}$
pH=2,92 [Fucs]= $12,4 \times 10^{-6}M$	$-1,00 \pm 0,04$	$(5 \pm 1) \times 10^{-8}$
pH=2,62 [Fucs]= $24,8 \times 10^{-6}M$	$-0,95 \pm 0,03$	$(10 \pm 2) \times 10^{-8}$

Ante la ausencia de experiencias en las que, manteniendo constantes [Fucsina] y $[S_2O_5^{2-}]$, se modifique la concentración de protones y a la observación visual de que cuanto mayor es [Fucsina] mayor es la velocidad, se ensaya la posibilidad de que el orden de reacción respecto tanto a [Fucsina] como a $[S_2O_5^{2-}]$ sea idéntico aunque cambiado de signo.

En este caso, si esto fuera cierto, la expresión [1] se transforma en:

$$v = k [S_2O_5^{2-}]^{-1} [Fucsina]^1 [H^+]^b \quad [5]$$

Tabla 13. Evolución cinética del blanco. Orden de reacción respecto a $[H^+]$. Valores de velocidad medidos a 65 minutos.

R	t (min)	A	Velocidad	log v	log $[H^+]$
4,3	65	0,129	$1,98 \times 10^{-3}$	-2,702	-3,52
		0,091	$1,40 \times 10^{-3}$	-2,854	-3,22
		0,066	$1,02 \times 10^{-3}$	-2,993	-2,92
		0,043	$6,61 \times 10^{-4}$	-3,179	-2,62
8,6	65	0,056	$8,62 \times 10^{-4}$	-3,065	-3,52
		0,046	$7,08 \times 10^{-4}$	-3,150	-3,22
		0,031	$4,77 \times 10^{-4}$	-3,322	-2,92
		0,022	$3,38 \times 10^{-4}$	-3,470	-2,62
12,8	65	0,042	$6,46 \times 10^{-4}$	-3,190	-3,52
		0,030	$4,62 \times 10^{-4}$	-3,336	-3,22
		0,022	$3,38 \times 10^{-4}$	-3,470	-2,92
		0,015	$2,31 \times 10^{-4}$	-3,637	-2,62
17	65	0,033	$5,08 \times 10^{-4}$	-3,294	-3,52
		0,021	$3,23 \times 10^{-4}$	-3,491	-3,22
		0,017	$2,61 \times 10^{-4}$	-3,582	-2,92
		0,012	$1,85 \times 10^{-4}$	-3,734	-2,62
25,6	65	0,022	$3,38 \times 10^{-4}$	-3,470	-3,52
		0,016	$2,46 \times 10^{-4}$	-3,609	-3,22
		0,011	$1,69 \times 10^{-4}$	-3,772	-2,92
		0,008	$1,23 \times 10^{-4}$	-3,910	-2,62
34	65	0,016	$2,46 \times 10^{-4}$	-3,609	-3,52
		0,012	$1,85 \times 10^{-4}$	-3,734	-3,22
		0,008	$1,23 \times 10^{-4}$	-3,910	-2,92
		0,006	$9,23 \times 10^{-5}$	-4,035	-2,62
68	65	0,008	$1,23 \times 10^{-4}$	-3,910	-3,52
		0,005	$7,69 \times 10^{-5}$	-4,114	-3,22
		0,004	$6,15 \times 10^{-5}$	-4,211	-2,92
		0,003	$4,62 \times 10^{-5}$	-4,336	-2,62

Como en las experiencias programadas se tienen cuatro series a cuatro valores de pH: 3.52; 3.22; 2.92 y 2.62, en las que se modifica tanto [Fucsina] como $[S_2O_5^{2-}]$, manteniendo constante $R = [S_2O_5^{2-}] / [Fucsina]$ desde 4,3 hasta 68, se ensaya:

$$v = k \frac{1}{R} [H^+]^b \quad [6]$$

Tomando logaritmos en la expresión [6]:

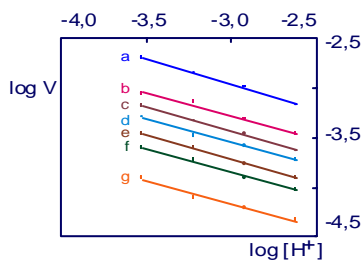
$$\log v = \log \left(k \frac{1}{R} \right) + b \log [H^+] \quad [7]$$

Por lo que si la suposición realizada es correcta, la representación de $\log v$, a los 65 minutos, valor ensayado, frente a $\log [H^+]$ debe conducir a líneas rectas con ordenada $\log(k \frac{1}{R})$ y pendiente el valor del orden de reacción respecto a $[H^+]$: b.

En la Tabla 13 se indican, a partir de los valores de absorbancia a los 65 minutos, los valores de la velocidad de la reacción así como su logaritmo. Las experiencias se dividen en siete series, con valores de R desde 4.3 hasta 68. En cada serie para los cuatro valores de las concentraciones de $[H^+]$ de que se dispone, cada valor corresponde a una disolución que contiene diferentes concentraciones de Fucsina y $S_2O_5^{2-}$, aunque manteniendo en el valor de R constante.

Al representar los valores de $\log v$ (a los 65 minutos) frente a $\log [H^+]$ se obtiene una relación que se ajusta en todos los casos a ecuaciones de líneas rectas con coeficientes de regresión (a pesar de tener únicamente 4 puntos cada una) $R^2 > 0.97$ (Figura 127).

Para un nivel de confianza del 95 %, los valores de las pendientes de las siete rectas (Figura 127) no difieren significativamente de -0.5; por lo que se confirma que el orden de reacción respecto a [Fucsina] es idéntico al de $[S_2O_5^{2-}]$ si bien de signo diferente. Por otra parte, con una probabilidad al menos del 95 %, se deduce que el orden de reacción respecto de la concentración de protones es de -1/2.



$\text{Log } v = -0,524 \log [H^+] - 4,540 ; R^2 = 0,996$
 $\text{Log } v = -0,463 \log [H^+] - 4,673 ; R^2 = 0,984$
 $\text{Log } v = -0,492 \log [H^+] - 4,912 ; R^2 = 0,998$
 $\text{Log } v = -0,494 \log [H^+] - 5,205 ; R^2 = 0,999$
 $\text{Log } v = -0,485 \log [H^+] - 5,310 ; R^2 = 0,995$
 $\text{Log } v = -0,458 \log [H^+] - 5,549 ; R^2 = 0,974$

Figura 127. Evolución cinética del blanco. Representación gráfica de $\log v$ (a los 65 min) frente a $\log [H^+]$. Deducción del orden de reacción respecto a $[H^+]$. a: $R=4,3$; b: $R=8,6$; c: $R=12,8$; d: $R=17$; e: $R=25,6$; f: $R=34$; g: $R=68$.

En la Tabla 14 se indican los valores de $k \frac{1}{R}$ obtenidos a partir de la ordenada de las líneas rectas, con su fluctuación para el 95% de probabilidad). La imprecisión es alta debido a que sólo se dispone de 4 experiencias para cada serie.

Tabla 14. Evolución cinética del blanco. Orden de reacción respecto a $[H^+]$ y valores de $k \frac{1}{R}$

R	Valor c Orden $[H^+]$	K ($1/R$)
4,3	$-0,5 \pm 0,1$	$(3 \pm 2) \times 10^{-5}$
8,6	$-0,5 \pm 0,2$	$(2 \pm 2) \times 10^{-5}$
12,8	$-0,5 \pm 0,1$	$(1 \pm 1) \times 10^{-5}$
17	$-0,49 \pm 0,05$	$(7 \pm 3) \times 10^{-6}$
25,6	$-0,5 \pm 0,2$	$(11 \pm 7) \times 10^{-6}$
34	$-0,5 \pm 0,1$	$(5 \pm 4) \times 10^{-6}$
68	$-0,5 \pm 0,2$	$(3 \pm 3) \times 10^{-6}$

De los estudios realizados se deduce que la velocidad de la reacción se relaciona con las variables estudiadas según la expresión:

$$v = \frac{\Delta A}{\Delta t} = k [S_2O_5^{2-}]^{-1} [Fucsina] [H^+]^{-1/2} \quad [8]$$

De los valores de k_a y de $k \frac{1}{R}$, obtenidos a partir de las experiencias, se deduce el valor de k para la velocidad a los 65 minutos, que como puede comprobarse en la Tabla 15, para un nivel de confianza del 95%, en todos los

casos, debido a la pobre precisión de los resultados, oscila alrededor de $(3\pm 2)\times 10^{-4}$.

Tabla 15. Evolución cinética del blanco. Valores deducidos para la constante de velocidad a los 65 minutos.

Valores experimentales de k a los 65 min.	
A partir de k_a	A partir de $k(1/R)$
$(2\pm 1) 10^{-4}$	$(1,3\pm 0,9) 10^{-4}$
$(1,2\pm 0,8) 10^{-4}$	$(2\pm 2) 10^{-4}$
$(1,4\pm 0,5) 10^{-4}$	$(1\pm 1) 10^{-4}$
$(2,0\pm 0,4) 10^{-4}$	$(1,2\pm 0,5) 10^{-4}$
	$(3\pm 2) 10^{-4}$
	$(2\pm 1) 10^{-4}$
	$(2\pm 2) 10^{-4}$

VELOCIDAD INICIAL DE REACCIÓN EN PRESENCIA DE BROMATO.

Observando las Figuras (118 a 124) correspondientes a las experiencias numeradas desde 1 hasta 28, se deduce que, en todos los casos, la presencia de BrO_3^- incrementa la velocidad del proceso de transformación de la Fucsina decolorada (reducida) a Fucsina coloreada (oxidada) si se compara con la evolución de la disolución del blanco (ausencia de BrO_3^-). Por otra parte, cuanto mayor es la concentración de BrO_3^- presente en la disolución, mayor es esta evolución cinética.

Podría pensarse que la reacción que ocurre es la oxidación de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ (en realidad HSO_3^-) por lo que al disminuir éste, se incrementa la velocidad del proceso de evolución espontánea de Fucsina decolorada hasta la forma coloreada.

Recordemos que el proceso de evolución del blanco ocurre con una velocidad:

$$v = R \frac{[\text{Fucsina}]}{[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}][\text{H}^+]^{1/2}}$$

dependiente de la concentración de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ para las experiencias en las que se mantienen constantes las otras variables. Pues bien, si la reacción que ocurre en presencia de BrO_3^- es la disminución de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, es fácil demostrar que la velocidad de la reacción espontánea de coloración aumentaría hasta valores muy inferiores a los comprobados experimentalmente.

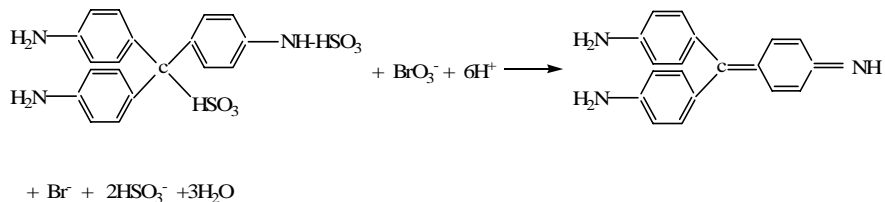
Si tomamos como ejemplo la experiencia nº 2 en la que $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$ inicial es $26.4 \times 10^{-6} \text{M}$ y suponemos que la estequiometría de la reacción es de 3 moles de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ por cada mol de BrO_3^- (por poner un ejemplo desfavorable), es fácil demostrar que la nueva velocidad v' se relaciona con v según

$$v' = v \frac{[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]_0}{[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]_0 - 3[\text{BrO}_3^-]_0}$$

por lo que en dicha experiencia la velocidad a los 65 min, que para el blanco es $1,40 \times 10^{-7} \text{ uA} \cdot \text{min}^{-1}$ se transformaría en presencia de BrO_3^- $0,3 \times 10^{-6} \text{ M}$ en $1,45 \times 10^{-3} \text{ M uA} \cdot \text{min}^{-1}$, en presencia de BrO_3^- $1,5 \times 10^{-6} \text{ M}$ en $1,69 \times 10^{-3} \text{ uA} \cdot \text{min}^{-1}$ y en presencia de BrO_3^- $3,0 \times 10^{-6} \text{ M}$ en $1,45 \times 10^{-3} \text{ M uA} \cdot \text{min}^{-1}$. Estos valores de velocidad harían que los valores de absorbancia a los 65 min calculados teóricamente fueran 0.094, 0.109 y 0.138 respectivamente, a medida que aumenta BrO_3^- , encontrándose alejados de los valores experimentales.

Esta comprobación se puede realizar en todas las experiencias en las que el valor de absorbancia se incrementa con el tiempo sin presentar un punto de inflexión (disminución de absorbancia), donde ya ocurre otro proceso que comentaremos posteriormente.

Parece por lo tanto deducirse que la reacción que ocurre en presencia de BrO_3^- es la oxidación de Fucsina decolorada hasta la forma cromófora coloreada:



La Fucsina coloreada así obtenida, es inestable en presencia de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ (en realidad HSO_3^-) por lo que se reduce hasta la forma incolora con una velocidad tal que tiende a alcanzar el equilibrio que ocurre en el proceso espontáneo (coloración del blanco).

El proceso de reducción de la Fucsina coloreada es más visible cuanto mayor es la concentración generada de esta especie, mayor la concentración de metabisulfito inicial y menor la concentración de $[\text{H}^+]$.

El efecto del $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ en el proceso de decoloración de la Fucsina coloreada generada en la reacción con BrO_3^- es perfectamente visible en aquellas experiencias en la que la concentración de metabisulfito es elevada (valores de R iguales o superiores a 17) (experiencias 13 a 18, Figuras 121 y 122).

En estas experiencias también se comprueba que, manteniendo el valor de R constante, el proceso de evolución de la Fucsina coloreada generada hacia la forma decolorada se incrementa en magnitud a medida que el pH es más ácido (obsérvese la Figura de las experiencias 13 a 16, Figura 121).

Cuando la concentración de metabisulfito es más elevada, el proceso de decoloración llega a predominar de modo que la extensión de la oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- solo alcanza valores del 8,3% para la mayor concentración de oxidante (experiencia 27, Figura 124) o incluso inferiores (experiencia 28).

Si se representan las curvas de evolución cinética de aquellas experiencias en las que se mantienen constantes todas las variables menos una, se pueden corroborar las deducciones expuestas y sacar otras conclusiones.

En la Figura 128 se ha representado la evolución de la A a 543 nm (generación y evolución de la forma coloreada) en función del tiempo cuando se mantiene en cada serie constantes, pH, [Fucsina]_D y [BrO₃⁻] y se varia la concentración de S₂O₅²⁻ presente en la disolución.

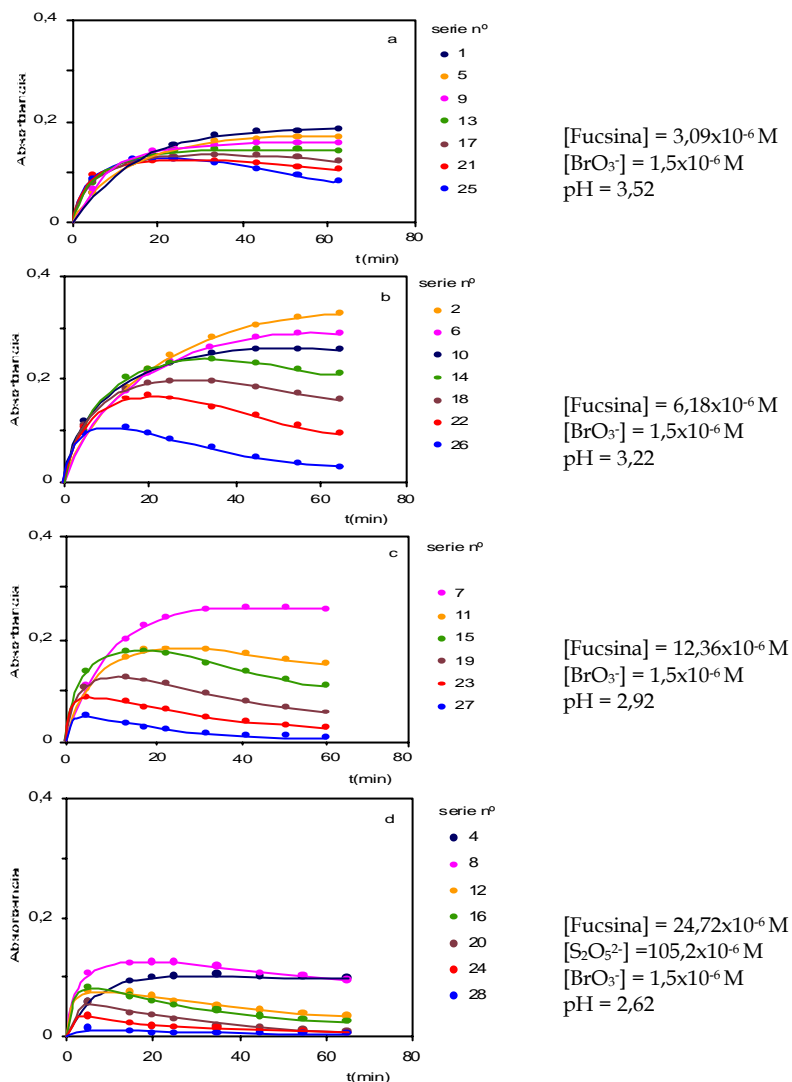


Figura 128. Curvas de evolución cinética de la Fucsina coloreada en función del tiempo para diferentes valores de pH

En cada figura, que corresponde a una serie, puede comprobarse como a medida que aumenta la concentración de $S_2O_5^{2-}$, aumenta en magnitud el proceso de decoloración inflexionando la curva de evolución ascendente, antes con el tiempo cuanto mayor es la concentración de esta variable.

Con todas las precauciones posibles, teniendo en cuenta los errores experimentales debidos a que las disoluciones no están termostatadas y a que el tiempo inicial de las reacciones, a pesar de estar cronometrado, no es muy reproducible, parece deducirse de la evolución de la señal analítica en los momentos iniciales que la velocidad inicial es independiente de la concentración de $S_2O_5^{2-}$. Este hecho es muy visible en las experiencias de las Figuras 128 b y 128 c.

En la experiencia de la Figura 128 c a pH=2.62, es más difícil de comprobar pues solo se dispone del valor de A a los 5 minutos, como más próximo al comienzo de la reacción, y para este pH tan ácido el proceso de decoloración con $S_2O_5^{2-}$ afecta a la reacción inicial de oxidación a tiempos más próximos a t=0. Sería necesario disponer de medidas de absorbancia a tiempos más próximos al comienzo de la reacción.

Tabla 16 a . Estudio de la velocidad inicial de la reacción BROMATO + FUCSINA para un tiempo $t = 5 \text{ min.}$ Influencia de $[S_2O_5^{2-}]$

Nº de Exp.	R	pH	Fucsina (M)	$S_2O_5^{2-}$ (M)	A (a los 5 min)	BrO_3^- (M)	v_o ($\mu A \cdot \text{min}^{-1}$)
1	4,3	3,52	$3,1 \times 10^{-6}$	$13,2 \times 10^{-6}$	0,024	-	$4,8 \times 10^{-3}$
					0,040	$0,30 \times 10^{-6}$	$5,68 \times 10^{-3}$
					0,056	$1,50 \times 10^{-6}$	$11,28 \times 10^{-3}$
					0,064	$3,00 \times 10^{-6}$	$12,88 \times 10^{-3}$
5	8,6	3,52	$3,1 \times 10^{-6}$	$26,3 \times 10^{-6}$	0,020	-	$4,08 \times 10^{-3}$
					0,030	$0,30 \times 10^{-6}$	$6,08 \times 10^{-3}$
					0,059	$1,50 \times 10^{-6}$	$11,88 \times 10^{-3}$
					0,080	$3,00 \times 10^{-6}$	$16,08 \times 10^{-3}$
9	12,8	3,52	$3,1 \times 10^{-6}$	$39,5 \times 10^{-6}$	0,012	-	$2,48 \times 10^{-3}$
					0,032	$0,30 \times 10^{-6}$	$6,48 \times 10^{-3}$
					0,063	$1,50 \times 10^{-6}$	$12,68 \times 10^{-3}$
					0,089	$3,00 \times 10^{-6}$	$17,88 \times 10^{-3}$
13	17	3,52	$3,1 \times 10^{-6}$	$52,6 \times 10^{-6}$	0,008	-	$1,68 \times 10^{-3}$
					0,043	$0,30 \times 10^{-6}$	$8,68 \times 10^{-3}$
					0,078	$1,50 \times 10^{-6}$	$13,68 \times 10^{-3}$
					0,131	$3,00 \times 10^{-6}$	$26,28 \times 10^{-3}$
17	25,6	3,52	$3,1 \times 10^{-6}$	79×10^{-6}	0,003	-	$4,8 \times 10^{-3}$
					0,047	$0,30 \times 10^{-6}$	$5,68 \times 10^{-3}$
					0,082	$1,50 \times 10^{-6}$	$11,28 \times 10^{-3}$
					0,124	$3,00 \times 10^{-6}$	$12,88 \times 10^{-3}$
21	34	3,52	$3,1 \times 10^{-6}$	105×10^{-6}	-	-	$4,08 \times 10^{-3}$
					0,047	$0,30 \times 10^{-6}$	$6,08 \times 10^{-3}$
					0,092	$1,50 \times 10^{-6}$	$11,88 \times 10^{-3}$
					0,126	$3,00 \times 10^{-6}$	$16,08 \times 10^{-3}$
25	68	3,52	$3,1 \times 10^{-6}$	210×10^{-6}	-	-	$2,48 \times 10^{-3}$
					0,044	$0,30 \times 10^{-6}$	$6,48 \times 10^{-3}$
					0,093	$1,50 \times 10^{-6}$	$12,68 \times 10^{-3}$
					0,120	$3,00 \times 10^{-6}$	$17,88 \times 10^{-3}$

Tabla 16 b. Estudio de la velocidad inicial de la reacción BROMATO +FUCSINA para un tiempo de cinco minutos. influencia de $[S_2O_5^{2-}]$

Nº de Exp.	R	pH	Fucsina (M)	$S_2O_5^{2-}$ (M)	A (a los 5 min)	BrO_3^- (M)	v_o ($\mu A \cdot min^{-1}$)
2	4,3	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	$13,2 \times 10^{-6}$	0,018	-	$3,6 \times 10^{-3}$
					0,045	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,0 \times 10^{-3}$
					0,092	$1,50 \times 10^{-6}$	$18,4 \times 10^{-3}$
					0,124	$3,00 \times 10^{-6}$	$24,8 \times 10^{-3}$
6	8,6	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	$26,3 \times 10^{-6}$	0,014	-	$2,8 \times 10^{-3}$
					0,040	$0,30 \times 10^{-6}$	$8,0 \times 10^{-3}$
					0,100	$1,50 \times 10^{-6}$	20×10^{-3}
					0,120	$3,00 \times 10^{-6}$	24×10^{-3}
10	12,8	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	$39,5 \times 10^{-6}$	0,009	-	$1,8 \times 10^{-3}$
					0,049	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,8 \times 10^{-3}$
					0,115	$1,50 \times 10^{-6}$	23×10^{-3}
					0,160	$3,00 \times 10^{-6}$	32×10^{-3}
14	17	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	$52,6 \times 10^{-6}$	0,006	-	$1,2 \times 10^{-3}$
					0,048	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,6 \times 10^{-3}$
					0,096	$1,50 \times 10^{-6}$	$19,2 \times 10^{-3}$
					0,205	$3,00 \times 10^{-6}$	41×10^{-3}
18	25,6	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	79×10^{-6}	0,003	-	$0,6 \times 10^{-3}$
					0,054	$0,30 \times 10^{-6}$	$10,8 \times 10^{-3}$
					0,108	$1,50 \times 10^{-6}$	$21,6 \times 10^{-3}$
					0,138	$3,00 \times 10^{-6}$	$27,8 \times 10^{-3}$
22	34	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	105×10^{-6}	0,002	-	$0,4 \times 10^{-3}$
					0,043	$0,30 \times 10^{-6}$	$8,6 \times 10^{-3}$
					0,104	$1,50 \times 10^{-6}$	$20,8 \times 10^{-3}$
					0,151	$3,00 \times 10^{-6}$	$30,2 \times 10^{-3}$
26	68	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	210×10^{-6}	-	-	$<0,4 \times 10^{-3}$
					0,045	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,0 \times 10^{-3}$
					0,094	$1,50 \times 10^{-6}$	$18,8 \times 10^{-3}$
					0,119	$3,00 \times 10^{-6}$	$23,8 \times 10^{-3}$

Tabla 16 c . Estudio de la velocidad inicial de la reacción BROMATO + FUCSINA para un tiempo de cinco minutos. Influencia de $[S_2O_5^{2-}]$

Nº de Exp.	R	pH	Fucsina (M)	$S_2O_5^{2-}$ (M)	A (a los 5 min)	BrO_3^- (M)	v_o ($\mu A \cdot min^{-1}$)
3	4,3	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	$52,6 \times 10^{-6}$	0,014	-	$2,8 \times 10^{-3}$
					0,038	$0,30 \times 10^{-6}$	$7,6 \times 10^{-3}$
					0,068	$1,50 \times 10^{-6}$	$13,6 \times 10^{-3}$
					0,087	$3,00 \times 10^{-6}$	$17,4 \times 10^{-3}$
7	8,6	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	$105,2 \times 10^{-6}$	0,011	-	$2,2 \times 10^{-3}$
					0,047	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,4 \times 10^{-3}$
					0,107	$1,50 \times 10^{-6}$	$21,4 \times 10^{-3}$
					0,145	$3,00 \times 10^{-6}$	29×10^{-3}
11	12,8	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	158×10^{-6}	0,006	-	$1,2 \times 10^{-3}$
					0,047	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,4 \times 10^{-3}$
					0,101	$1,50 \times 10^{-6}$	$20,2 \times 10^{-3}$
					0,135	$3,00 \times 10^{-6}$	27×10^{-3}
15	17	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	$210,4 \times 10^{-6}$	0,005	-	$1,0 \times 10^{-3}$
					0,060	$0,30 \times 10^{-6}$	12×10^{-3}
					0,133	$1,50 \times 10^{-6}$	$26,6 \times 10^{-3}$
					0,171	$3,00 \times 10^{-6}$	34×10^{-3}
19	25,6	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	316×10^{-6}	0,002	-	$0,4 \times 10^{-3}$
					0,047	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,4 \times 10^{-3}$
					0,102	$1,50 \times 10^{-6}$	$20,4 \times 10^{-3}$
					0,126	$3,00 \times 10^{-6}$	$25,2 \times 10^{-3}$
23	34	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	420×10^{-6}	-	-	$<0,4 \times 10^{-3}$
					0,040	$0,30 \times 10^{-6}$	$8,0 \times 10^{-3}$
					0,085	$1,50 \times 10^{-6}$	17×10^{-3}
					0,132	$3,00 \times 10^{-6}$	$26,4 \times 10^{-3}$
27	68	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	840×10^{-6}	-	-	$<0,4 \times 10^{-3}$
					0,023	$0,30 \times 10^{-6}$	$4,6 \times 10^{-3}$
					0,049	$1,50 \times 10^{-6}$	$9,8 \times 10^{-3}$
					0,062	$3,00 \times 10^{-6}$	12×10^{-3}

Tabla 16 d . Estudio de la velocidad inicial de la reacción BROMATO + FUCSINA para un tiempo de cinco minutos. Influencia de [S₂O₅²⁻]

Nº de Exp.	R	pH	Fucsina (M)	S ₂ O ₅ ²⁻ (M)	A (a los 5 min)	BrO ₃ ⁻ (M)	v _o (uA.min ⁻¹)
4	4,3	2,62	24,72x10 ⁻⁶	105,2x10 ⁻⁶	0,008	-	1,6x10 ⁻³
					0,035	0,30x10 ⁻⁶	7,0x10 ⁻³
					0,55	1,50x10 ⁻⁶	11x10 ⁻³
					0,169	3,00x10 ⁻⁶	33,8x10 ⁻³
8	8,6	2,62	24,72x10 ⁻⁶	210,4x10 ⁻⁶	0,007	-	1,4x10 ⁻³
					0,035	0,30x10 ⁻⁶	7,0x10 ⁻³
					0,106	1,50x10 ⁻⁶	21,2x10 ⁻³
					0,138	3,00x10 ⁻⁶	27,6x10 ⁻³
12	12,8	2,62	24,72x10 ⁻⁶	316x10 ⁻⁶	0,004	-	0,8x10 ⁻³
					0,030	0,30x10 ⁻⁶	6,0x10 ⁻³
					0,076	1,50x10 ⁻⁶	15,2x10 ⁻³
					0,098	3,00x10 ⁻⁶	19,6x10 ⁻³
16	17	2,62	24,72x10 ⁻⁶	420,8x10 ⁻⁶	0,004	-	0,8x10 ⁻³
					0,040	0,30x10 ⁻⁶	8,0x10 ⁻³
					0,081	1,50x10 ⁻⁶	16,2x10 ⁻³
					0,106	3,00x10 ⁻⁶	21,2x10 ⁻³
20	25,6	2,62	24,72x10 ⁻⁶	632x10 ⁻⁶	-	-	-
					0,020	0,30x10 ⁻⁶	0,4x10 ⁻³
					0,044	1,50x10 ⁻⁶	8,8x10 ⁻³
					0,056	3,00x10 ⁻⁶	11,2x10 ⁻³
24	34	2,62	24,72x10 ⁻⁶	840x10 ⁻⁶	-	-	-
					0,015	0,30x10 ⁻⁶	0,3x10 ⁻³
					0,033	1,50x10 ⁻⁶	6,6x10 ⁻³
					0,049	3,00x10 ⁻⁶	9,8x10 ⁻³
28	68	2,62	24,72x10 ⁻⁶	1680x10 ⁻⁶	-	-	-
					0,007	0,30x10 ⁻⁶	1,4x10 ⁻³
					0,012	1,50x10 ⁻⁶	2,4x10 ⁻³
					0,016	3,00x10 ⁻⁶	3,2x10 ⁻³

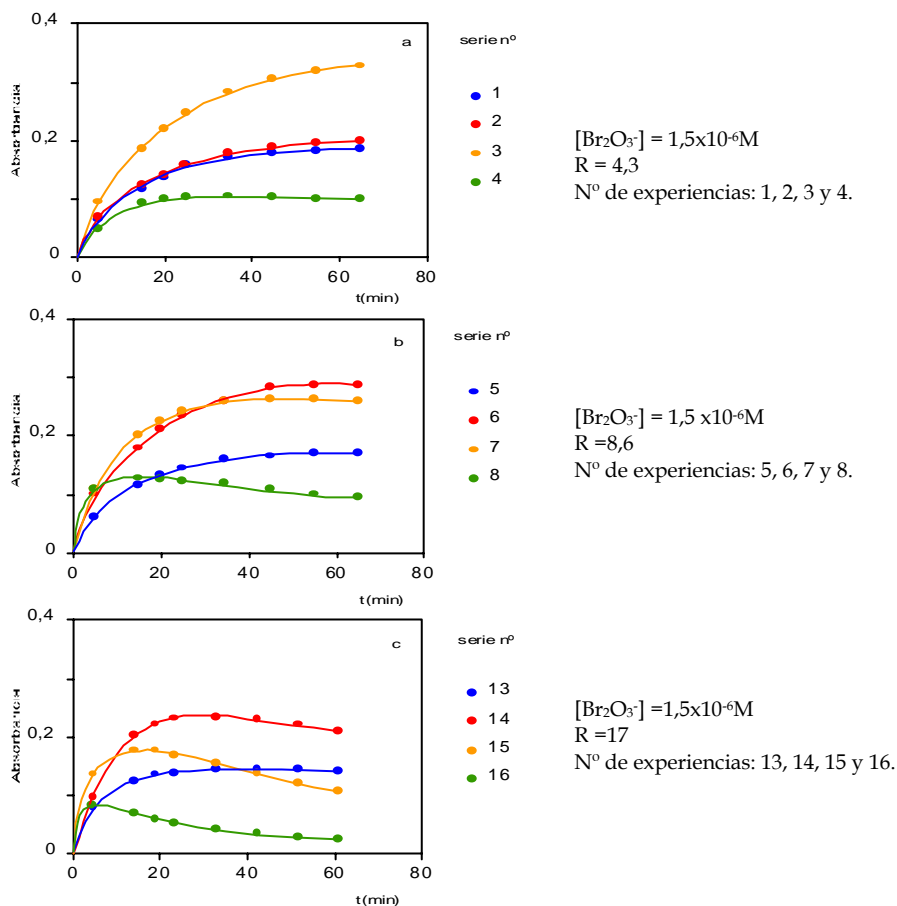


Figura 129. Curvas de evolución cinética de la Fucsina coloreada en función del tiempo para diferentes valores de R

Los valores de las velocidades iniciales de las cuatro series de experiencias antes comentadas se muestran en las Tablas 16, donde puede numéricamente comprobarse que lo intuitivo para la no dependencia de la velocidad inicial con la concentración de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ parece ser cierto teniendo en cuenta el error experimental y que en muchas experiencias sería necesario medir las velocidades iniciales a tiempos inferiores a 5 minutos.

Como la velocidad inicial parece ser independiente de la concentración de metabisulfito, de las experiencias en las que se modifica el pH manteniendo constante R, aunque varíen individualmente las concentraciones

de Fucsina y de $S_2O_5^{2-}$ puede obtenerse información adicional sobre la influencia de alguna de estas variables.

En la Figura 129 se representan las curvas de evolución cinética para tres series de experiencias en las que en cada una de ellas se mantiene constante la cantidad de BrO_3^- en $1.5 \times 10^{-6} M$ y el valor de R (4,3 en serie a, 8,6 en serie b y 17 en serie c), modificando el pH entre 2,62 y 3,52.

Tabla 17 a . Estudio de la velocidad inicial de la reacción BROMATO + FUCSINA para un tiempo de cinco minutos. Influencia de $[BrO_3^-]$

Nº de Exp.	R	pH	Fucsina (M)	$S_2O_5^{2-}$ (M)	A (a los 5 min)	BrO_3^- (M)	v_o ($\mu A \cdot min^{-1}$)
1	4,3	3,52	$3,09 \times 10^{-6}$	$13,2 \times 10^{-6}$	0,024	-	$5,6 \times 10^{-3}$
					0,040	$0,30 \times 10^{-6}$	$8,01 \times 10^{-3}$
					0,056	$1,50 \times 10^{-6}$	$11,2 \times 10^{-3}$
					0,064	$3,00 \times 10^{-6}$	$12,8 \times 10^{-3}$
2	4,3	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	$26,4 \times 10^{-6}$	0,018	-	$3,6 \times 10^{-3}$
					0,045	$0,30 \times 10^{-6}$	9×10^{-3}
					0,092	$1,50 \times 10^{-6}$	$18,4 \times 10^{-3}$
					0,124	$3,00 \times 10^{-6}$	$24,8 \times 10^{-3}$
3	4,3	3,92	$12,36 \times 10^{-6}$	$52,6 \times 10^{-6}$	0,014	-	$2,8 \times 10^{-3}$
					0,038	$0,30 \times 10^{-6}$	$7,6 \times 10^{-3}$
					0,068	$1,50 \times 10^{-6}$	$13,6 \times 10^{-3}$
					0,087	$3,00 \times 10^{-6}$	$17,4 \times 10^{-3}$
4	4,3	2,62	$24,72 \times 10^{-6}$	$105,2 \times 10^{-6}$	0,008	-	$1,6 \times 10^{-3}$
					0,035	$0,30 \times 10^{-6}$	7×10^{-3}
					0,055	$1,50 \times 10^{-6}$	11×10^{-3}
					0,169	$3,00 \times 10^{-6}$	$33,8 \times 10^{-3}$

Tabla 17 b . Estudio de la velocidad inicial de la reacción BROMATO + FUCSINA para un tiempo de 5 minutos. Influencia de [BrO₃⁻]

Nº de Exp.	R	pH	Fucsina (M)	S ₂ O ₅ ²⁻ (M)	A (a los 5 min)	BrO ₃ ⁻ (M)	v _o (uA.min ⁻¹)
5	8,6	3,52	3,09x10 ⁻⁶	26,3 x10 ⁻⁶	0,020	-	4x10 ⁻³
					0,030	0,30x10 ⁻⁶	6 x10 ⁻³
					0,059	1,50x10 ⁻⁶	11,8 x10 ⁻³
					0,080	3,00x10 ⁻⁶	16 x10 ⁻³
6	8,6	3,22	6,18 x10 ⁻⁶	52,6 x10 ⁻⁶	0,014	-	2,8 x10 ⁻³
					0,040	0,30x10 ⁻⁶	8 x10 ⁻³
					0,010	1,50x10 ⁻⁶	20 x10 ⁻³
					0,120	3,00x10 ⁻⁶	24 x10 ⁻³
7	8,6	2,92	12,36 x10 ⁻⁶	105,2 x10 ⁻⁶	0,011	-	2,2 x10 ⁻³
					0,047	0,30x10 ⁻⁶	9,4 x10 ⁻³
					0,107	1,50x10 ⁻⁶	21,4 x10 ⁻³
					0,145	3,00x10 ⁻⁶	29 x10 ⁻³
8	8,6	2,62	24,72 x10 ⁻⁶	210,4 x10 ⁻⁶	0,007	-	1,4 x10 ⁻³
					0,035	0,30x10 ⁻⁶	7 x10 ⁻³
					0 107	1,50x10 ⁻⁶	21,2 x10 ⁻³
					0,138	3,00x10 ⁻⁶	27,6 x10 ⁻³

Tabla 17c . Estudio de la velocidad inicial de la reacción BROMATO + FUCSINA para un tiempo de cinco minutos. Influencia de $[BrO_3^-]$

Nº de Exp.	R	pH	Fucsina (M)	$S_2O_5^{2-}$ (M)	A (a los 5 min)	BrO_3^- (M)	v_o ($\mu A \cdot min^{-1}$)
13	17	3,52	$3,09 \times 10^{-6}$	$52,6 \times 10^{-6}$	0,008	-	$1,6 \times 10^{-3}$
					0,043	$0,30 \times 10^{-6}$	$8,6 \times 10^{-3}$
					0,078	$1,50 \times 10^{-6}$	$15,6 \times 10^{-3}$
					0,131	$3,00 \times 10^{-6}$	$26,2 \times 10^{-3}$
14	17	3,22	$6,18 \times 10^{-6}$	$105,2 \times 10^{-6}$	0,096	-	$1,2 \times 10^{-3}$
					0,205	$0,30 \times 10^{-6}$	$9,6 \times 10^{-3}$
					0,005	$1,50 \times 10^{-6}$	$19,2 \times 10^{-3}$
					0,060	$3,00 \times 10^{-6}$	41×10^{-3}
15	17	2,92	$12,36 \times 10^{-6}$	$210,4 \times 10^{-6}$	0,004	-	1×10^{-3}
					0,040	$0,30 \times 10^{-6}$	12×10^{-3}
					0,081	$1,50 \times 10^{-6}$	$26,6 \times 10^{-3}$
					0,106	$3,00 \times 10^{-6}$	$34,2 \times 10^{-3}$
16	17	2,62	$24,72 \times 10^{-6}$	$420,8 \times 10^{-6}$	0,008	-	$0,8 \times 10^{-3}$
					0,043	$0,30 \times 10^{-6}$	8×10^{-3}
					0,078	$1,50 \times 10^{-6}$	$16,2 \times 10^{-3}$
					0,131	$3,00 \times 10^{-6}$	$21,2 \times 10^{-3}$

2.1.4. ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE DIFERENTES VARIABLES SOBRE LA CINÉTICA DE LA REACCIÓN. CON TERMOSTATACIÓN.

Las deducciones experimentales obtenidas en los estudios previos, sobre la cinética de la reacción de oxidación, no nos han permitido obtener conclusiones claras y contundentes sobre la influencia de las variables que afectan al proceso y si es posible obtener relaciones cuantitativas a partir de valores de velocidad de reacción.

La falta de reproducibilidad de los estudios anteriores está motivada por la medida en discontinuo de la absorbancia a 543 nm para diferentes tiempos de reacción así como por el hecho de no estar termostatadas las disoluciones.

Con el fin de corregir estos efectos se estudia la influencia de las variables que afectan a la cinética de las tres reacciones que ocurren simultáneamente:

- a) Transformación de Fucsina decolorada en coloreada al modificar las condiciones de la disolución de partida que se encuentra a un pH de 1,3. Este proceso es el que sufre el BLANCO.
- b) Oxidación de Fucsina decolorada por bromato hasta Fucsina coloreada.
- c) Proceso de decoloración.

Para obtener información de las tres reacciones, se trabaja con un espectrofotómetro en el que las células se encuentran termostatadas mediante sistemas Peltier y en todas las experiencias se registran las evoluciones cinéticas de las disoluciones sin BrO_3^- (BLANCO) y las que en las mismas condiciones contienen el oxidante, por separado. En las disoluciones que no contienen BrO_3^- obtenemos la evolución cinética del proceso espontáneo de coloración de la Fucsina incolora mientras que en las disoluciones que contienen oxidante obtenemos la evolución cinética de los tres procesos ya comentados.

En todos los casos las disoluciones se preparan en el acto a partir de las madres decoloradas y una vez homogeneizadas se introducen en la célula del espectrofotómetro que se encuentra ya programado a la temperatura de trabajo. Desde que se añade el oxidante hasta que se introduce la célula en el espectrofotómetro transcurren 20-30 segundos, por lo que teniendo en cuenta que se tardan otros 30 segundos en alcanzar la temperatura, cuando ésta es superior a los 40°C, la medida de absorbancia en todas las experiencias comienza al minuto de iniciada la reacción, por lo que el valor de tiempo, $t=0$, en realidad es variable y próximo a 1 minuto. Este hecho puede introducir

errores en la medida de la velocidad inicial en aquellas experiencias en las que la cinética sea más rápida.

Salvo cuando se estudia la temperatura como variable, en todos los casos las disoluciones se termostatan a 20°C por lo que los errores cometidos debido a la diferencia de tiempos, $t=0$ y t_{real} , son muy pequeños.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE METABISULFITO

Para el estudio de esta variable se realizan dos series de experiencias en las que, manteniendo constante el pH en 3,22 y la temperatura en 20°C se modifica $[S_2O_5^{2-}]$ entre $52,6 \times 10^{-6}$ M y $420,8 \times 10^{-6}$ M para la primera serie y entre $14,1 \times 10^{-6}$ M y $105,2 \times 10^{-6}$ M para la segunda.

La concentración de Fucsina para la primera de las series se fija en $46,4 \times 10^{-6}$ M, por lo que las disoluciones de trabajo presentan valores de R comprendidos entre 1,13 y 9,1. En la segunda de las series la concentración de Fucsina se fija en $6,2 \times 10^{-6}$ M por lo que los valores de R en este caso varían desde 2,27 hasta 17.

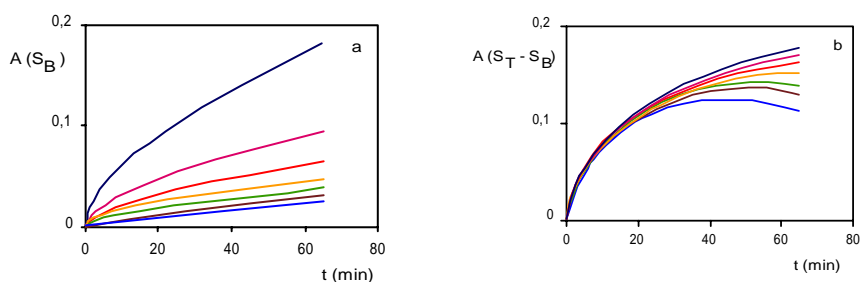


Figura 130. Evolución cinética de las disoluciones que no contienen BrO_3^- (gráfica a) y de las disoluciones que lo contienen (gráfica b). pH = 3,22; [Fucsina] = $6,18 \times 10^{-6}$ M; T = 20°C; $[BrO_3^-]$ = $100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[S_2O_5^{2-}]$ = (— $14,1 \times 10^{-6}$ M, — $26,3 \times 10^{-6}$ M, — $39,5 \times 10^{-6}$ M, — $52,6 \times 10^{-6}$ M, — $65,8 \times 10^{-6}$ M, — $78,9 \times 10^{-6}$ M, — $105,2 \times 10^{-6}$ M)

Lógicamente las disoluciones se preparan por duplicado, unas *no* contienen bromato, BLANCOS mientras que a otras se les añade en todos los

casos 25 mL de BrO_3^- en concentración de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ (obsérvese que al trabajar con matraces de 50 mL la concentración final de BrO_3^- es de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Las disoluciones se preparan a partir de una madre, A, que contiene una concentración de Fucsina de $3,09 \times 10^{-3} \text{ M}$. A partir de ella, como ya describimos, se preparan las disoluciones, B, que se dejan decolorar 48 horas (conteniendo diferentes concentraciones de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$). Transcurrido este tiempo, tomando alícuotas de 1 mL a las que se añade o no BrO_3^- y enrasando a 50 mL, se preparan las disoluciones de trabajo

Con el fin de no introducir numerosas gráficas, sólo hemos representado la evolución cinética de la reacción total menos la del blanco, ($S_T - S_B$).

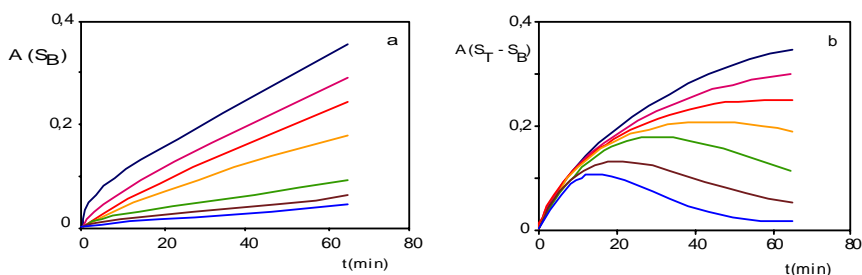


Figura 131. Influencia de la concentración de $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$ a $\text{pH} = 3,22$. a) Evolución cinética de las disoluciones que no contienen BrO_3^- ; b) Evolución cinética de las disoluciones que lo contienen. $\text{pH} = 3,22$; $[\text{Fucsina}] = 46,4 \times 10^{-6} \text{ M}$; $T = 20^\circ\text{C}$; $[\text{BrO}_3^-] = 100 \mu\text{g.L}^{-1}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = (\text{—}52,6 \times 10^{-6} \text{ M}, \text{—}65 \times 10^{-6} \text{ M}, \text{—}78,9 \times 10^{-6} \text{ M}, \text{—}105,2 \times 10^{-6} \text{ M}, \text{—}210,4 \times 10^{-6} \text{ M}, \text{—}315,5 \times 10^{-6} \text{ M}, \text{—}1420,8 \times 10^{-6} \text{ M})$

En las Tablas 18 y 19 se muestran algunos de los valores de absorbancia de dichos desarrollos cinéticos, indicando a diferentes tiempos los valores obtenidos para el blanco (S_B), para la disolución con BrO_3^- (S_T) así como la diferencia de señales ($S_T - S_B$).

Tabla 18. Valores de absorbancia para diferentes valores de $S_2O_3^{2-}$, $pH=3,22$; $[Fucina] = 6,2 \times 10^{-6} M$; $T=20^\circ C$; $[BrO_3^-] = 100 \mu g \cdot L^{-1}$; $A = 543 \text{ mm}$

$S_2O_3^{2-}$ $\times 10^{-6} M$	Tiempo (min.)																
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
S_B	0,010	0,019	0,026	0,032	0,041	0,060	0,075	0,089	0,100	0,111	0,122	0,133	0,144	0,153	0,163	0,175	0,181
S_T	0,019	0,046	0,058	0,072	0,090	0,131	0,165	0,196	0,221	0,244	0,264	0,283	0,302	0,317	0,331	0,348	0,358
S_T-S_B	0,009	0,027	0,032	0,040	0,049	0,071	0,090	0,107	0,121	0,133	0,142	0,150	0,158	0,164	0,168	0,173	0,177
S_B	0,007	0,012	0,014	0,019	0,022	0,033	0,040	0,048	0,054	0,060	0,064	0,071	0,076	0,080	0,085	0,090	0,095
S_T	0,017	0,040	0,046	0,059	0,072	0,105	0,130	0,154	0,174	0,190	0,202	0,216	0,228	0,239	0,248	0,256	0,264
S_T-S_B	0,010	0,028	0,032	0,040	0,050	0,072	0,090	0,106	0,120	0,130	0,138	0,145	0,152	0,159	0,163	0,166	0,169
S_B	-	-	0,006	0,010	0,013	0,020	0,026	0,031	0,035	0,040	0,044	0,048	0,051	0,055	0,059	0,062	0,065
S_T	0,009	0,026	0,037	0,050	0,062	0,091	0,115	0,137	0,153	0,169	0,179	0,190	0,199	0,208	0,216	0,223	0,228
S_T-S_B	0,009	0,026	0,031	0,040	0,049	0,071	0,089	0,106	0,118	0,129	0,135	0,142	0,148	0,153	0,157	0,161	0,163
S_B	-	-	-	0,008	0,012	0,014	0,019	0,022	0,027	0,030	0,032	0,035	0,037	0,039	0,042	0,044	0,046
S_T	0,010	0,027	0,030	0,049	0,062	0,087	0,109	0,125	0,142	0,157	0,165	0,175	0,182	0,187	0,192	0,195	0,196
S_T-S_B	0,010	0,027	0,030	0,041	0,050	0,073	0,090	0,105	0,115	0,127	0,133	0,140	0,145	0,148	0,150	0,151	0,150
S_B	-	-	-	0,004	0,009	0,012	0,014	0,018	0,020	0,023	0,025	0,027	0,029	0,030	0,032	0,036	0,039
S_T	0,011	0,027	0,031	0,040	0,057	0,084	0,104	0,121	0,134	0,149	0,156	0,164	0,170	0,173	0,174	0,176	0,177
S_T-S_B	0,011	0,027	0,031	0,040	0,048	0,072	0,090	0,103	0,114	0,126	0,131	0,137	0,141	0,143	0,142	0,140	0,138
S_B	-	-	-	-	0,003	0,008	0,010	0,012	0,014	0,015	0,018	0,019	0,021	0,023	0,026	0,028	0,030
S_T	0,008	0,026	0,029	0,038	0,052	0,078	0,099	0,114	0,126	0,135	0,145	0,152	0,158	0,159	0,161	0,161	0,160
S_T-S_B	0,008	0,026	0,029	0,038	0,049	0,070	0,089	0,102	0,112	0,120	0,127	0,133	0,137	0,136	0,135	0,133	0,130
S_B	-	-	-	-	0,003	0,005	0,007	0,009	0,011	0,013	0,015	0,016	0,018	0,019	0,020	0,022	0,025
S_T	0,008	0,026	0,030	0,039	0,050	0,074	0,095	0,111	0,121	0,131	0,138	0,142	0,144	0,143	0,142	0,139	0,137
S_T-S_B	0,008	0,026	0,030	0,039	0,047	0,069	0,088	0,102	0,110	0,118	0,123	0,126	0,126	0,124	0,122	0,117	0,112

Tabla 19. Valores de absorbancia para diferentes valores de $S_2O_8^{2-}$, $pH = 3,22$; $[Fucsina] = 46,4 \times 10^{-6} M$; $T = 20^\circ C$; $[BrO_3^-] = 100 \mu g \cdot L^{-1}$; $A = 543 \text{ nm}$

$S_2O_8^{2-}$ $\times 10^{-6} M$	Tiempo (min.)																
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65
S_B	0,011	0,023	0,042	0,060	0,078	0,093	0,118	0,145	0,173	0,199	0,222	0,245	0,267	0,288	0,307	0,330	0,355
S_T	0,021	0,049	0,074	0,121	0,150	0,211	0,273	0,344	0,396	0,446	0,489	0,532	0,572	0,607	0,636	0,666	0,699
S_T-S_B	0,010	0,026	0,032	0,061	0,072	0,118	0,155	0,189	0,223	0,247	0,267	0,287	0,305	0,319	0,329	0,336	0,344
S_B	-	0,005	0,011	0,019	0,041	0,067	0,090	0,113	0,136	0,143	0,175	0,199	0,218	0,236	0,256	0,351	0,289
S_T	0,011	0,031	0,044	0,069	0,112	0,193	0,244	0,296	0,342	0,368	0,417	0,455	0,486	0,515	0,543	0,644	0,587
S_T-S_B	0,011	0,026	0,033	0,050	0,071	0,126	0,154	0,183	0,206	0,225	0,242	0,256	0,268	0,279	0,287	0,293	0,298
S_B	-	-	0,003	0,009	0,027	0,050	0,071	0,089	0,106	0,126	0,143	0,160	0,172	0,194	0,206	0,223	0,240
S_T	0,010	0,027	0,065	0,060	0,099	0,164	0,221	0,266	0,304	0,339	0,367	0,394	0,413	0,438	0,453	0,470	0,487
S_T-S_B	0,010	0,027	0,032	0,051	0,072	0,114	0,150	0,177	0,198	0,213	0,224	0,234	0,241	0,244	0,247	0,247	0,247
S_B	-	-	-	0,003	0,022	0,039	0,054	0,065	0,084	0,097	0,109	0,124	0,135	0,146	0,159	0,171	0,180
S_T	0,011	0,026	0,031	0,052	0,092	0,149	0,200	0,233	0,268	0,294	0,314	0,332	0,342	0,349	0,359	0,365	0,368
S_T-S_B	0,011	0,026	0,031	0,049	0,070	0,110	0,146	0,168	0,184	0,197	0,205	0,208	0,207	0,203	0,200	0,194	0,188
S_B	-	-	-	-	0,016	0,026	0,032	0,038	0,043	0,048	0,054	0,060	0,064	0,070	0,077	0,083	0,092
S_T	0,010	0,027	0,030	0,046	0,083	0,133	0,169	0,197	0,219	0,230	0,233	0,229	0,222	0,216	0,211	0,207	0,207
S_T-S_B	0,010	0,027	0,030	0,046	0,067	0,107	0,137	0,159	0,176	0,182	0,179	0,169	0,158	0,146	0,134	0,124	0,115
S_B	-	-	-	-	0,010	0,017	0,020	0,024	0,027	0,032	0,035	0,039	0,042	0,044	0,047	0,053	0,061
S_T	0,009	0,026	0,029	0,044	0,072	0,123	0,147	0,159	0,156	0,150	0,143	0,136	0,129	0,118	0,113	0,111	0,113
S_T-S_B	0,009	0,026	0,029	0,044	0,062	0,106	0,127	0,135	0,129	0,118	0,108	0,097	0,087	0,074	0,066	0,058	0,052
S_B	-	-	-	-	0,008	0,012	0,014	0,016	0,019	0,021	0,023	0,026	0,029	0,033	0,036	0,039	0,043
S_T	0,009	0,023	0,027	0,043	0,068	0,118	0,121	0,112	0,102	0,090	0,078	0,070	0,064	0,061	0,058	0,057	0,058
S_T-S_B	0,009	0,023	0,027	0,043	0,060	0,106	0,107	0,096	0,083	0,069	0,055	0,044	0,035	0,028	0,022	0,018	0,015

Información obtenida a partir de la señal del blanco: Reacción de coloración espontánea.

Al observar la evolución cinética del blanco, Figuras 130 b y 131 b, para las dos experiencias, se deduce, como era de esperar, que el proceso de decoloración ocurre con mayor extensión cuanto menor es la concentración de reductor. Comparando las dos experiencias, se observa que los valores de A a 543 nm son más altos, para un mismo tiempo, en la experiencia con mayor concentración de Fucsina.

Tabla 19. Valores de la velocidad de reacción a los 65 minutos para las dos experiencias.

[S ₂ O ₅ ²⁻] (M)	log[S ₂ O ₅ ²⁻]	[Fucsina] = 6,2x10 ⁻⁶ M			[Fucsina] = 46,4x10 ⁻⁶ M		
		A	v	Log v	A	v	Log v
14,1x10 ⁻⁶	-4,851	0,181	2,785x10 ⁻³	-2,555	0,355	54,6x10 ⁻⁴	-2,263
26,3 x10 ⁻⁶	-4,580	0,095	1,462 x10 ⁻³	-2,835	0,289	44,5 x10 ⁻⁴	-2,352
39,5 x10 ⁻⁶	-4,403	0,065	1,0 x10 ⁻³	-3,000	0,24	36,9 x10 ⁻⁴	-2,433
52,6 x10 ⁻⁶	-4,279	0,046	0,708 x10 ⁻³	-3,150	0,18	27,7 x10 ⁻⁴	-2,558
65,8 x10 ⁻⁶	-4,182	0,039	0,6 x10 ⁻³	-3,222	0,092	14,2 x10 ⁻⁴	-2,849
78,9 x10 ⁻⁶	-4,103	0,03	0,462 x10 ⁻³	-3,336	0,061	9,38 x10 ⁻⁴	-3,028
105,2 x10 ⁻⁶	-3,978	0,025	0,385 x10 ⁻³	-3,415	0,043	6,62 x10 ⁻⁴	-3,179

Los valores de la velocidad de reacción medidos a los 65 min ($\Delta A/\Delta t$), para las dos experiencias, se muestran en la Tabla 19. La representación de log v₆₅ frente a log [S₂O₅²⁻], Figura 132 a y b, conduce a líneas rectas con coeficientes de regresión próximos a la unidad y con valores para las pendientes de 0,99 ± 0,03 y 0,99 ± 0,06 (valores negativos) para un nivel de confianza del 95%.

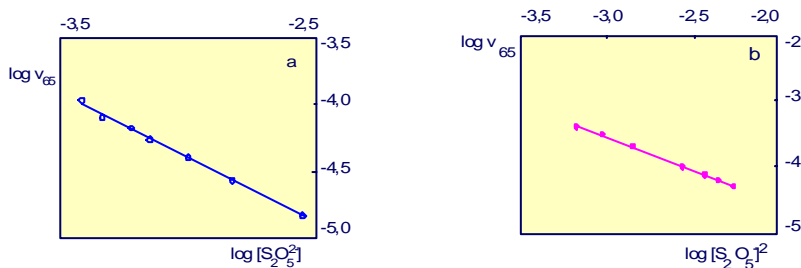
Este hecho indica, para el mismo nivel de confianza, que el proceso de coloración espontánea es de orden -1 respecto a la concentración del reductor metabisulfito:

$$v_c = k_c[S_2O_5^{2-}]^{-1}$$

Lo que confirma los resultados obtenidos en los estudios previos sin termostatar.

El valor de la constante de proporcionalidad, k_c , lógicamente es distinto para las dos experiencias, por serlo la concentración de Fucsina decolorada.

Para $[Fucsina]_D = 46.4 \times 10^{-6} \text{ M}$ resulta un valor de $(2.9 \pm 0.5) \times 10^{-7} \text{ M}$ y para $[Fucsina]_D = 6.2 \times 10^{-6} \text{ M}$ de $(4 \pm 2) \times 10^{-8} \text{ M}$



Figuras 132 a y b Representación gráfica de $\text{Log } v_{65}$ frente a $\text{log } [S_2O_5^{2-}]$ para $[Fucsina] = 6,2 \times 10^{-6} \text{ M}$ (a) y $46,4 \times 10^{-6} \text{ M}$ (b)

Información obtenida a partir de la señal total menos la señal del blanco

La representación gráfica de $(S_T - S_B)$ nos da información sobre la evolución con el tiempo de los procesos de oxidación de la Fucsina decolorada con BrO_3^- , así como del proceso de decoloración.

De la observación cualitativa de las Figuras 130 a y 131 a se deduce que en ambas experiencias el desarrollo de la reacción de oxidación (valores crecientes de absorbancia) es mayor cuanto menor es la concentración de $S_2O_5^{2-}$ inicial. Los mayores valores de absorbancia se alcanzan para los valores más bajos de $R ([S_2O_5^{2-}] / [Fucsina])$.

No obstante en la experiencia de $[Fucsina] = 46.4 \times 10^{-6} \text{ M}$, se observa como a medida que aumenta la concentración de $S_2O_5^{2-}$ es más apreciable en magnitud la reacción de decoloración de la Fucsina coloreada por lo que la absorbancia disminuye en mayor magnitud y antes en el tiempo.

La reacción de decoloración, como ya habíamos indicado, es mayor en extensión cuanto mayor es la concentración de $S_2O_5^{2-}$.

El hecho de que en la experiencia en la que $[Fucsina] = 6.2 \times 10^{-6} M$, el proceso de decoloración, aunque apreciable, es de menor magnitud, a pesar de que los valores de R, en esta experiencia, superan el máximo, 9.2, de la experiencia con Fucsina más concentrada, indica que la reacción de decoloración depende proporcionalmente de $[S_2O_5^{2-}]$ inicial, esto es depende más del $[S_2O_5^{2-}]$ sobrante que de la relación R.

De los valores de absorbancia iniciales, de la experiencia con $[Fucsina] = 6.2 \times 10^{-6} M$ (ver Tabla 19 y Figura 132) se deduce que, en estas condiciones, la velocidad inicial de la reacción es constante e independiente de la concentración de $[S_2O_5^{2-}]$ libre en solución.

El proceso de oxidación de la Fucsina decolorada, por BrO_3^- parece ser independiente de la $[S_2O_5^{2-}]$ para aquellas condiciones experimentales en las que el proceso de decoloración sea despreciable.

Este hecho se confirma con los valores iniciales de absorbancia (velocidad inicial) para la experiencia de $[Fucsina] = 46.4 \times 10^{-6} M$, donde al haber mayor concentración de $S_2O_5^{2-}$ libre en disolución, se desvían del comportamiento antes indicado por influir en mayor medida el proceso de decoloración sobre el de oxidación.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL DE FUCSINA DECOLORADA

Para estudiar la influencia de $[Fucsina]$ decolorada sobre la evolución cinética del proceso total con el tiempo, se realizan dos series de experiencias termostatando en todos los casos las disoluciones a 20°C.

En la primera de las series, el pH final se fija en 3,22, la $[S_2O_5^{2-}]$ en $52,6 \times 10^{-6}$ M y la [Fucsina] entre $3,1 \times 10^{-6}$ M y $46,4 \times 10^{-6}$ M, lo que corresponde a valores de R comprendidos entre 17 y 11. Las disoluciones obtenidas, como ya se ha comentado, a partir de madres más concentradas se preparan por duplicado, unas con ausencia de BrO_3^- (blanco) y otras con BrO_3^- , en una concentración final de $50 \mu g.L^{-1}$. La evolución cinética del blanco, así como la evolución cinética teniendo en cuenta los procesos de oxidación de Fucsina decolorada y el proceso de decoloración, (S_T-S_B) se representa en la Figura 133 a y b, y los valores de absorbancia a 543 nm con el tiempo en la Tabla 20.

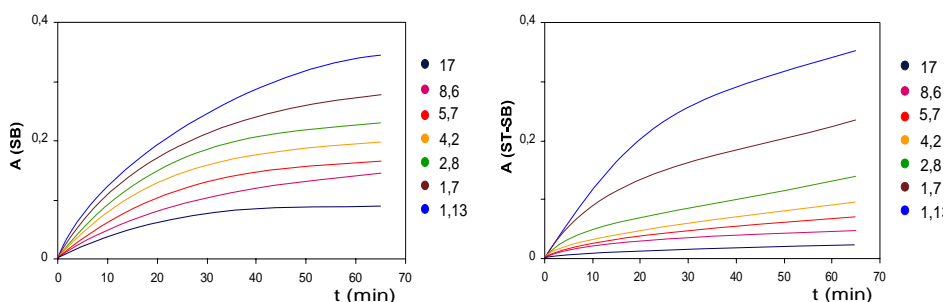


Figura 133. Influencia de la concentración de Fucsina decolorada sobre la evolución cinética.
 $pH = 3,22$, $[S_2O_5^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6}$ M, $[Fucsina] = 3,1 \times 10^{-6}$ M - $46,4 \times 10^{-6}$ M, $[BrO_3^-] = 50 \mu g.L^{-1}$, $T = 20^\circ C$.

En la segunda serie el pH se mantiene constante en 3,05 (ligeramente más ácido que en las otras dos series), la concentración de $[S_2O_5^{2-}]$ en $78,9 \times 10^{-6}$ M, ligeramente mayor que en las dos series anteriores, y la [Fucsina] se varía desde $4,64 \times 10^{-6}$ M hasta $69,8 \times 10^{-6}$ M lo que corresponde a valores de R comprendidos entre 17 y 1,1. Las gráficas de evolución cinética del blanco y los procesos de oxidación y decoloración se representan en la Figura 134. Los valores de absorbancia, a 543 nm para diferentes tiempos se encuentran en la Tabla 21.

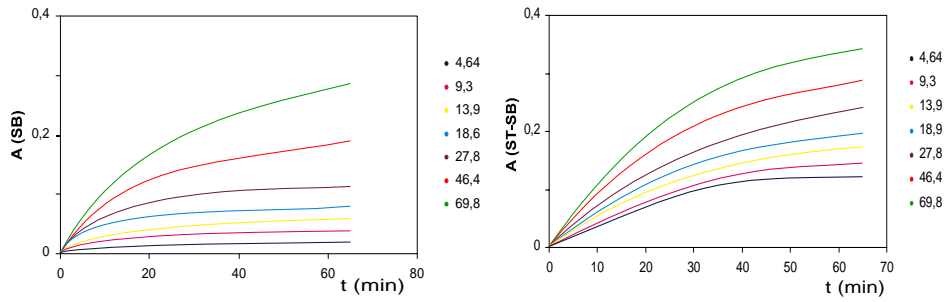


Figura 134. Influencia de la concentración de Fucsina decolorada sobre la evolución cinética. $pH= 3,05$, $[S_2O_5^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} M$, $[Fucsina] = 3,1 \times 10^{-6} M - 46,4 \times 10^{-6} M$, $[BrO_3^-] = 50 \mu g \cdot L^{-1}$, $T = 20^\circ C$.

Tabla 20. Valores de absorbancia para diferentes valores de [Fucsina], $pH = 3,22$; $[S_2O_3^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} M$; $T = 20^\circ C$; $[BrO_3^-] = 100 \mu g \cdot L^{-1}$; $A = 543 \text{ nm}$

R	[Fucsina] $\times 10^{-6} M$	Tiempo (min.)											
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	10	
17	S _B	-	-	-	-	-	0,002	0,003	0,003	0,003	0,004	0,005	0,008
	S _T	-	0,003	0,005	0,007	0,009	0,013	0,016	0,018	0,021	0,024	0,024	0,045
	S _T -S _B	-	0,003	0,005	0,007	0,009	0,011	0,013	0,015	0,017	0,019	0,019	0,037
8,6	S _B	-	-	-	0,003	0,004	0,005	0,008	0,010	0,012	0,014	0,020	
	S _T	-	0,005	0,008	0,013	0,017	0,021	0,026	0,031	0,035	0,040	0,071	
	S _T -S _B	-	0,005	0,008	0,010	0,013	0,016	0,018	0,021	0,023	0,026	0,051	
5,7	S _B	-	-	0,003	0,004	0,006	0,007	0,009	0,012	0,016	0,019	0,023	
	S _T	0,003	0,006	0,013	0,017	0,022	0,026	0,031	0,037	0,045	0,052	0,086	
	S _T -S _B	0,003	0,006	0,010	0,013	0,016	0,019	0,022	0,025	0,029	0,032	0,063	
4,2	S _B	0,003	0,005	0,007	0,009	0,012	0,016	0,016	0,016	0,020	0,023	0,027	
	S _T	0,007	0,012	0,018	0,024	0,031	0,037	0,043	0,048	0,054	0,061	0,108	
	S _T -S _B	0,004	0,007	0,021	0,015	0,019	0,023	0,027	0,030	0,034	0,038	0,081	
2,8	S _B	0,005	0,007	0,010	0,016	0,020	0,022	0,025	0,027	0,030	0,033	0,044	
	S _T	0,010	0,016	0,024	0,034	0,043	0,049	0,057	0,064	0,071	0,079	0,137	
	S _T -S _B	0,005	0,009	0,014	0,018	0,023	0,027	0,032	0,037	0,041	0,046	0,093	
1,7	S _B	0,007	0,009	0,014	0,020	0,026	0,031	0,036	0,041	0,048	0,052	0,087	
	S _T	0,013	0,021	0,032	0,043	0,056	0,069	0,077	0,089	0,101	0,112	0,191	
	S _T -S _B	0,006	0,012	0,018	0,023	0,030	0,035	0,041	0,047	0,053	0,060	0,104	
1,13	S _B	0,010	0,014	0,019	0,026	0,031	0,037	0,044	0,049	0,054	0,058	0,112	
	S _T	0,018	0,028	0,030	0,054	0,066	0,080	0,094	0,106	0,118	0,130	0,228	
	S _T -S _B	0,008	0,014	0,021	0,028	0,035	0,043	0,050	0,057	0,064	0,072	0,116	

Tabla 20 (cont.). Valores de absorbancia para diferentes valores de [Fucsina], pH = 3,22; $[S_2O_8^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} M$; T = 20°C; $[BrO_3^-] = 100 \mu g \cdot L^{-1}$; A = 543 nm

R	[Fucsina] $\times 10^{-6} M$	Tiempo (min.)													
		15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65			
17	S _B	0,010	0,012	0,013	0,015	0,016	0,017	0,018	0,020	0,021	0,022	0,023			
	S _T	0,059	0,072	0,082	0,089	0,096	0,101	0,104	0,108	0,109	0,110	0,111			
	S _T -S _B	0,049	0,060	0,069	0,074	0,080	0,084	0,086	0,088	0,088	0,088	0,088			
8,6	S _B	0,026	0,030	0,034	0,036	0,038	0,039	0,040	0,042	0,043	0,044	0,046			
	S _T	0,093	0,111	0,127	0,137	0,149	0,157	0,165	0,176	0,179	0,183	0,190			
	S _T -S _B	0,067	0,081	0,093	0,101	0,111	0,118	0,125	0,136	0,132	0,139	0,144			
5,7	S _B	0,030	0,036	0,041	0,045	0,050	0,054	0,057	0,060	0,062	0,066	0,069			
	S _T	0,114	0,136	0,154	0,169	0,184	0,197	0,206	0,214	0,222	0,228	0,234			
	S _T -S _B	0,084	0,100	0,113	0,124	0,134	0,143	0,149	0,154	0,160	0,162	0,165			
4,2	S _B	0,037	0,045	0,051	0,058	0,064	0,071	0,076	0,080	0,085	0,089	0,093			
	S _T	0,146	0,175	0,196	0,218	0,232	0,248	0,259	0,267	0,277	0,283	0,290			
	S _T -S _B	0,109	0,130	0,145	0,160	0,168	0,177	0,183	0,187	0,192	0,194	0,197			
2,8	S _B	0,053	0,063	0,072	0,081	0,092	0,099	0,107	0,115	0,123	0,130	0,138			
	S _T	0,175	0,208	0,238	0,263	0,287	0,305	0,320	0,333	0,345	0,355	0,366			
	S _T -S _B	0,122	0,145	0,166	0,182	0,195	0,206	0,213	0,218	0,222	0,225	0,228			
1,7	S _B	0,116	0,133	0,146	0,158	0,172	0,183	0,194	0,203	0,214	0,223	0,233			
	S _T	0,254	0,300	0,342	0,370	0,398	0,423	0,444	0,462	0,479	0,494	0,509			
	S _T -S _B	0,138	0,167	0,196	0,212	0,226	0,240	0,250	0,259	0,265	0,271	0,276			
1,13	S _B	0,163	0,200	0,232	0,254	0,274	0,289	0,304	0,315	0,325	0,336	0,350			
	S _T	0,318	0,389	0,455	0,501	0,541	0,576	0,609	0,634	0,654	0,672	0,694			
	S _T -S _B	0,155	0,189	0,223	0,247	0,267	0,287	0,305	0,319	0,329	0,336	0,344			

Tabla 21. Valores de absorbancia para diferentes valores de [Fucsina], $pH = 3.05$; $[S_2O_3^{2-}] = 78,9 \times 10^{-6} M$; $T = 20^\circ C$; $[BrO_3^-] = 100 \mu g \cdot L^{-1}$; $A = 543 \text{ nm}$

R	[Fucsina] $\times 10^{-6} M$	Tiempo (min.)										
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	10
17	S_B	-	-	-	-	-	-	-	0,003	0,006	0,008	0,009
	S_T	-	0,003	0,005	0,006	0,008	0,010	0,011	0,015	0,019	0,022	0,031
	S_T-S_B	-	0,003	0,005	0,006	0,008	0,010	0,011	0,012	0,013	0,014	0,022
8,6	S_B	-	-	-	-	0,003	0,005	0,007	0,010	0,012	0,014	0,021
	S_T	0,003	0,005	0,007	0,010	0,015	0,020	0,024	0,028	0,031	0,034	0,061
	S_T-S_B	0,003	0,005	0,007	0,010	0,012	0,015	0,017	0,018	0,019	0,020	0,040
5,7	S_B	-	0,003	0,006	0,008	0,010	0,012	0,014	0,015	0,017	0,021	0,030
	S_T	0,004	0,009	0,015	0,020	0,025	0,030	0,034	0,038	0,041	0,044	0,079
	S_T-S_B	0,004	0,006	0,009	0,012	0,015	0,018	0,020	0,023	0,024	0,025	0,049
4,2	S_B	0,006	0,010	0,014	0,018	0,020	0,024	0,026	0,028	0,030	0,031	0,049
	S_T	0,011	0,018	0,025	0,032	0,037	0,045	0,050	0,054	0,060	0,063	0,106
	S_T-S_B	0,005	0,008	0,011	0,014	0,017	0,021	0,024	0,026	0,030	0,032	0,057
2,8	S_B	0,012	0,015	0,019	0,023	0,026	0,029	0,032	0,035	0,038	0,040	0,064
	S_T	0,017	0,024	0,032	0,040	0,048	0,055	0,061	0,068	0,073	0,078	0,134
	S_T-S_B	0,006	0,009	0,013	0,017	0,022	0,026	0,029	0,033	0,035	0,038	0,070
1,7	S_B	0,015	0,017	0,021	0,025	0,030	0,033	0,037	0,041	0,044	0,049	0,083
	S_T	0,021	0,028	0,037	0,047	0,057	0,065	0,074	0,082	0,089	0,099	0,175
	S_T-S_B	0,006	0,011	0,016	0,022	0,027	0,032	0,037	0,041	0,045	0,050	0,092
1,13	S_B	0,018	0,020	0,024	0,028	0,033	0,037	0,044	0,053	0,059	0,062	0,104
	S_T	0,025	0,034	0,044	0,054	0,066	0,077	0,089	0,103	0,114	0,122	0,212
	S_T-S_B	0,007	0,014	0,020	0,026	0,033	0,040	0,045	0,050	0,055	0,060	0,108

Tabla 21. (cont.) Valores de absorbancia para diferentes valores de [Fucsina], $pH = 3,05$; $[S_2O_5^{2-}] = 78,9 \times 10^{-6} M$; $T = 20^\circ C$; $BrO_3^- = 100 \mu g.L^{-1}$; $A = 543 \text{ nm}$

R	[Fucsina] $\times 10^{-6} M$	Tiempo (min.)													
		15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65			
17	S _B	0,010	0,011	0,012	0,013	0,014	0,015	0,016	0,017	0,018	0,019	0,020			
	S _T	0,063	0,081	0,096	0,106	0,118	0,125	0,130	0,135	0,139	0,141	0,143			
	S _T -S _B	0,053	0,070	0,084	0,093	0,104	0,110	0,114	0,118	0,121	0,122	0,123			
8,6	S _B	0,024	0,026	0,028	0,030	0,031	0,033	0,034	0,035	0,036	0,037	0,038			
	S _T	0,083	0,105	0,121	0,135	0,147	0,159	0,167	0,172	0,177	0,180	0,183			
	S _T -S _B	0,059	0,079	0,093	0,105	0,116	0,126	0,133	0,137	0,141	0,143	0,145			
5,7	S _B	0,038	0,042	0,045	0,047	0,049	0,050	0,052	0,053	0,055	0,056	0,057			
	S _T	0,112	0,135	0,155	0,170	0,185	0,195	0,205	0,213	0,221	0,226	0,229			
	S _T -S _B	0,074	0,093	0,110	0,123	0,136	0,145	0,153	0,160	0,166	0,170	0,172			
4,2	S _B	0,058	0,063	0,065	0,067	0,068	0,070	0,072	0,074	0,075	0,077	0,078			
	S _T	0,141	0,169	0,193	0,211	0,226	0,238	0,247	0,256	0,262	0,270	0,275			
	S _T -S _B	0,083	0,106	0,128	0,144	0,158	0,168	0,175	0,182	0,187	0,193	0,197			
2,8	S _B	0,075	0,084	0,093	0,098	0,103	0,105	0,107	0,109	0,110	0,112	0,114			
	S _T	0,173	0,205	0,236	0,259	0,281	0,296	0,310	0,323	0,335	0,346	0,355			
	S _T -S _B	0,098	0,121	0,143	0,161	0,178	0,191	0,203	0,214	0,225	0,234	0,241			
1,7	S _B	0,107	0,123	0,135	0,144	0,152	0,159	0,165	0,172	0,178	0,184	0,190			
	S _T	0,236	0,282	0,318	0,350	0,377	0,401	0,420	0,437	0,452	0,466	0,478			
	S _T -S _B	0,129	0,159	0,183	0,206	0,225	0,242	0,255	0,265	0,274	0,282	0,288			
1,13	S _B	0,136	0,164	0,188	0,206	0,222	0,236	0,246	0,258	0,267	0,277	0,285			
	S _T	0,286	0,350	0,410	0,455	0,493	0,523	0,550	0,576	0,594	0,612	0,626			
	S _T -S _B	0,150	0,186	0,226	0,249	0,271	0,287	0,304	0,318	0,327	0,335	0,341			

Información obtenida a partir de la señal del blanco: Reacción de coloración.

Al observar la evolución cinética del blanco, reacción espontánea de coloración de Fucsina decolorada, para las dos experiencias, Figuras 133-b y 134-b, se comprueba, como se dedujo en los estudios previos, que dicho proceso es de mayor magnitud cuanto mayor es la concentración del colorante Fucsina, previamente decolorado.

La absorbancia a 543 nm, para cualquier tiempo de reacción es mayor cuanto mayor es la concentración de Fucsina decolorada.

El proceso espontáneo es ligeramente mayor en magnitud en la experiencia realizada a pH = 3,22, para los mismos valores de concentración de Fucsina decolorada, no solo por la influencia de esta variable, sino que también es necesario tener en cuenta que en la segunda de las experiencias la concentración de $S_2O_5^{2-}$ es ligeramente mayor por lo que afecta al proceso de la manera anteriormente comentada.

Tabla 22. Valores de la velocidad de reacción a los 65 minutos para las dos experiencias.

[Fucsina] M)	log[Fucsina] (M)	[S ₂ O ₅ ²⁻] = 52,6x10 ⁻⁶ M			[S ₂ O ₅ ²⁻] = 78,9x10 ⁻⁶ M		
		A	v	Log v	A	v	Log v
3,1x10 ⁻⁶	-5,509	0,023	3,5x10 ⁻⁴	-3,451	0,020	3,07 x10 ⁻⁴	-3,512
6,2 x10 ⁻⁶	-5,208	0,046	7,1 x10 ⁻⁴	-3,150	0,038	5,85 x10 ⁻⁴	-3,233
9,3 x10 ⁻⁶	-5,032	0,069	10,6 x10 ⁻⁴	-2,973	0,057	8,77 x10 ⁻⁴	-3,056
12,4 x10 ⁻⁶	-4,907	0,093	14,3 x10 ⁻⁴	-2,843	0,078	12 x10 ⁻⁴	-2,920
18,5 x10 ⁻⁶	-4,733	0,138	21,2 x10 ⁻⁴	-2,671	0,114	17,5 x10 ⁻⁴	-2,754
31 x10 ⁻⁶	-4,509	0,233	35,8 x10 ⁻⁴	-2,442	0,190	29,2 x10 ⁻⁴	-2,531
46,4 x10 ⁻⁶	-4,333	0,350	53,8 x10 ⁻⁴	-2,263	0,285	43,8 x10 ⁻⁴	-2,354

En la Tabla 22 se indican los valores de absorbancia a 543 nm medidos a los 65 min a partir de los cuales se deduce el valor de la velocidad del proceso a dicho tiempo. La representación gráfica de log v₆₅ frente a log[Fucsina]_D, Figura 135 a y b, conduce a líneas rectas con coeficientes de

regresión próximos o igual a 1 para el 95% de fiabilidad y con valores para las pendientes de $0,989 \pm 0,005$ y $1,01 \pm 0,02$ (valores positivos) para la primera y segunda experiencias respectivamente y para un nivel de confianza del 95%.

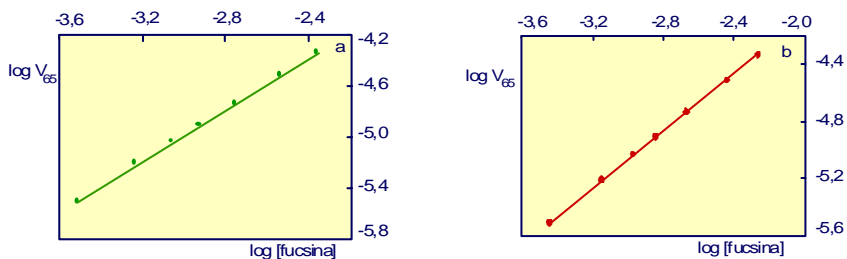


Figura 135. Representación de $\log v_{65}$ frente a $\log [Fucsina]$. a: $[S_2O_5^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} M$ y b: $[S_2O_5^{2-}] = 78,9 \times 10^{-6} M$

Con este nivel de confianza, por lo tanto, se puede afirmar que el proceso de *coloración espontánea* es de orden 1 respecto a la [Fucsina] decolorada: $v_c = k'_c [Fucsina]^{-1}$ Lo que confirma los resultados obtenidos en los estudios previos.

El valor de la constante k'_c , lógicamente es diferente para las dos experiencias $(8 \pm 1) \times 10^{-3}$ y $(12 \pm 2) \times 10^{-3}$, respectivamente, así como con respecto al valor obtenido al estudiar la concentración de $S_2O_5^{2-}$: $(4 \pm 2) \times 10^{-8} M$; la razón estriba en que en dicho proceso afectan las tres variables ahora mencionadas, pH, $[S_2O_5^{2-}]$ y $[Fucsina]_D$, que en ningún momento se han mantenido constantes.

Información obtenida a partir de la señal total menos la señal del blanco

Como hemos comentado, la variación con el tiempo de esta señal nos muestra la evolución conjunta del proceso de oxidación por bromato de la Fucsina decolorada y del proceso de decoloración (de signo contrario al anterior).

Al estudiar la $[Fucsina]_D$ se han programado las experiencias de modo que el valor más alto de R en las dos experiencias es 17, esto es el exceso

de $[S_2O_5^{2-}]$ no es muy elevado. Este hecho explica que en las experiencias realizadas, Figuras 133 a y 134 a, el valor de absorbancia a 543 nm crece con el tiempo alcanzando valores que en ningún momento decrecen claramente, lo que indica que la magnitud del proceso de decoloración, aunque existe, es menos apreciable que en otras condiciones experimentales. Este proceso de decoloración es de mayor magnitud cuanto mayor es el valor de R y mayor es la concentración de $S_2O_5^{2-}$ en exceso.

De la observación cualitativa de las figuras antes comentadas, se deduce que en ambas experiencias el proceso de oxidación de la Fucsina decolorada transcurre con mayor magnitud cuanto mayor es la concentración de este compuesto, lo que en este caso se suma al menor exceso de $[S_2O_5^{2-}]$.

Si se comparan los valores de la absorbancia a 543 nm para las dos series de experiencias, se observa que son ligeramente menos altos en la primera de ellas en la que la concentración de $S_2O_5^{2-}$ en exceso es menor y el pH es menos ácido (pH = 3,22). Si además se recuerda que la señal del blanco es mayor en esta experiencia (menor concentración relativa de Fucsina para ser oxidada), se puede deducir que la $[Fucsina]_D$ puede afectar positivamente a la velocidad de la reacción de oxidación por BrO_3^- , compensando la influencia de la $[H^+]$.

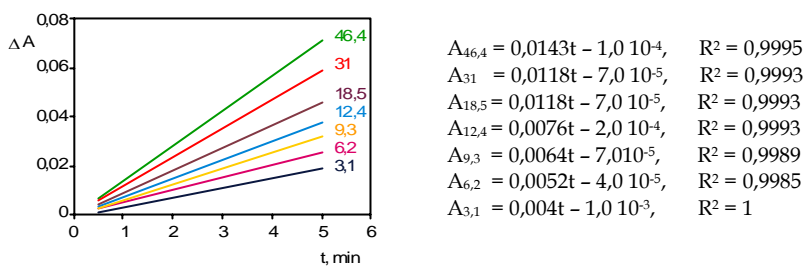


Figura 136. Evolución cinética del blanco. Representación gráfica de absorbancia frente a tiempo, para valores iniciales. Los diferentes valores de R se indican en la gráfica correspondiente.

Para confirmar cuantitativamente esta relación, en cada experiencia, donde variando la $[Fucsina]_D$, se mantienen constantes las otras variables, se mide la velocidad inicial, v_o , a partir de los valores de la absorbancia a tiempo

iniciales, zona en donde el proceso de decoloración es prácticamente inexistente.

En la Figura 136 se han representado los valores de absorbancia a 543 nm para los tiempos iniciales de reacción, en las condiciones experimentales de la primera experiencia (pH=3,22).

Tabla 23. Valores de la velocidad inicial, v_o , $[S_2O_5^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} \text{ M}$

[Fucsina] (M)	log[Fucsina] (M)	t = 5 min			t = 3 min		
		A	v	log v	A	v	log v
3,1x10 ⁻⁶	-5,509	0,019	0,0039	-2,409	0,011	0,0037	-2,4357
6,2 x10 ⁻⁶	-5,208	0,026	0,0052	-2,284	0,016	0,0053	-2,2730
9,3 x10 ⁻⁶	-5,032	0,032	0,0064	-2,194	0,019	0,0063	-2,1984
12,4 x10 ⁻⁶	-4,907	0,038	0,0076	-2,119	0,023	0,0077	-2,1154
18,5 x10 ⁻⁶	-4,733	0,046	0,0091	-2,041	0,027	0,0090	-2,0461
31 x10 ⁻⁶	-4,509	0,060	0,0118	-1,928	0,035	0,0117	-1,9331
46,4 x10 ⁻⁶	-4,333	0,072	0,0143	-1,845	0,043	0,0143	-1,8437

Puede observarse como al menos hasta los 5 minutos todos los valores se ajustan a líneas rectas con coeficientes de regresión próximos a la unidad en todos los casos (para un nivel de confianza del 95%) a partir de cuya pendiente se obtienen los valores de la velocidad inicial, v_o , (Tabla 23).

La representación de $\log v_o$ frente a $\log [Fucsina]_D$, Figura 137 a, se ajusta, a una línea recta a partir de la cual se obtiene como pendiente, $0,49 \pm 0,02$, para una fiabilidad del 95%, lo que indica que la relación entre la velocidad inicial y la concentración de [Fucsina] es:

$$v_{o(ox)} = k'_{ox} [Fucsina]^{1/2}$$

Estos valores no están afectados por el proceso de decoloración, como lo demuestra el hecho de que las velocidades experimentales medidas a los 3 y 5 minutos, (v_3 y v_5), se ajustan razonablemente a esta deducción. Representando los valores de $\log v_3$ y $\log v_5$ frente a $\log [Fucsina]_D$ se obtienen líneas rectas de ecuación:

$$\log v_3 = 0,5012 \log[\text{Fucsina}] + 0,3335$$

$$\log v_5 = 0,5006 \log[\text{Fucsina}] + 0,3263$$

con valores de pendientes, para un 95% de fiabilidad de :

$$3 \text{ min} \rightarrow 0,50 \pm 0,02$$

$$5 \text{ min} \rightarrow 0,05 \pm 0,03$$

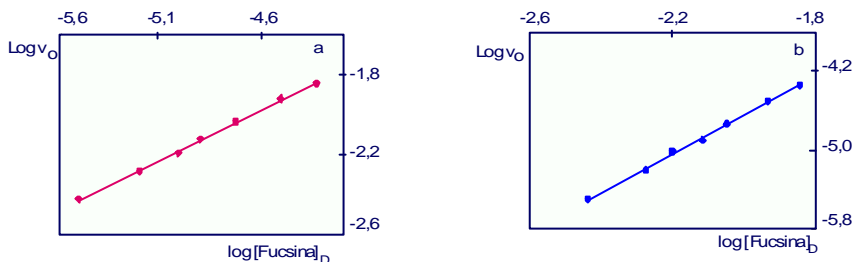


Figura 137. Representación gráfica de $\log v_0$ frente a $[\text{Fucsina}]_D$ a los 5 minutos (gráfica a) y a los 3 minutos (gráfica b).

Este hecho indica de manera inequívoca que, en las condiciones experimentales de la primera serie, el proceso de decoloración es prácticamente inexistente en los 5 primeros minutos de la reacción.

Para realizar un estudio similar con los resultados de la segunda serie de experiencias (pH=3,05), se representan en la Figura 138 los valores de absorbancia de 543 nm hasta los 5 minutos, donde se observa que en este caso los valores obtenidos ya a partir de los 4 min, aproximadamente, se desvían de la linealidad.

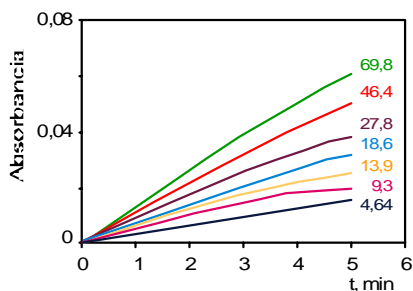


Figura 138. Valores de Absorbancia para tiempos iniciales (5 minutos) para diferentes concentraciones de Fucsina.

Los valores de la velocidad de reacción calculados a los 3 minutos se muestran en la Tabla 24 y se representan en la Figura 139 en forma logarítmica frente a $\log[\text{Fucsina}]_D$. En este caso no se han obtenido los valores de v_o , por disponer de menos datos experimentales.

Tabla 24. Valores de la velocidad inicial, v_o , para un tiempo de 3 minutos.

[Fucsina] log[Fucsina] (M)		t = 3 minutos		
		A	v	Log v
$3,1 \times 10^{-6}$	-5,509	0,01	-2,4771	-5,5086
$6,2 \times 10^{-6}$	-5,208	0,015	-2,3010	-5,2076
$9,3 \times 10^{-6}$	-5,032	0,018	-2,2218	-5,0178
$12,4 \times 10^{-6}$	-4,907	0,021	-2,1549	-4,9066
$18,5 \times 10^{-6}$	-4,733	0,026	-2,0621	-4,7328
$31,0 \times 10^{-6}$	-4,509	0,032	-1,9720	-4,5086
$46,4 \times 10^{-6}$	-4,333	0,04	-1,8751	-4,3335

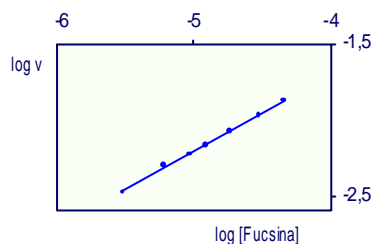


Figura 139. Velocidad de reacción para $t=3\text{min}$.

De la pendiente de la recta se deduce que el orden de reacción respecto de $[\text{Fucsina}]_D$ es $0,50 \pm 0,03$ (95%).

Para las condiciones experimentales de la segunda serie de experiencias se deduce, a ese pH (3,05), que el proceso de decoloración afecta al proceso de oxidación aproximadamente a partir de los 4 minutos.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE PROTONES

Para el estudio de la influencia de esta variable se diseñan dos series de experiencias en las que se fija la temperatura de termostatación en 20°C y la concentración final de BrO_3^- en $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para las disoluciones en las que se añade oxidante.

En la primera serie experimental se fija la concentración de Fucsina en $46,4 \times 10^{-6}$ M y la de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ en $52,6 \times 10^{-6}$ M, de modo que $R=1,13$; la concentración de H^+ se modifica de forma que el pH está comprendido entre

2,23 y 4,01. Las disoluciones se preparan por duplicado para estudiar la evolución cinética de la coloración, en ausencia de BrO_3^- y para estudiar la evolución cinética del proceso total, coloración, oxidación y decoloración, en presencia de BrO_3^- .

En la segunda de las series se modifica el pH en el mismo margen que en la primera, pero manteniendo la [Fucsina] en $6,18 \times 10^{-6}$ M y la $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$ en $26,4 \times 10^{-6}$ M de modo que en este caso $R = 4,3$.

Los valores de absorbancia a 543 nm, hasta los 65 min, tanto para la evolución del blanco como para la evolución del proceso total se muestran en las Tablas 25 y 26 para la primera y segunda serie, respectivamente. En dichas tablas se encuentran también los valores de $(S_T - S_B)$ y los de S_B , de las dos series de experiencias que se representan en las Figuras 140 y 141 a y b.

Tabla 25. Valores de absorbancia para diferentes valores de pH. $T = 20^{\circ}\text{C}$; $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Fucisina}] = 46,4 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{BrO}_3^-] = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $\lambda = 543 \text{ nm}$.

R	pH	Tiempo (min.)										
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	10
1,13	S _B	0,096	0,141	0,166	0,214	0,251	0,262	0,283	0,292	0,308	0,323	0,456
	S _T	0,100	0,149	0,178	0,230	0,271	0,286	0,311	0,324	0,345	0,363	0,533
	S _T -S _B	0,004	0,008	0,012	0,016	0,020	0,024	0,028	0,032	0,037	0,040	0,077
1,13	S _B	0,043	0,095	0,112	0,158	0,200	0,212	0,225	0,238	0,254	0,273	0,394
	S _T	0,050	0,107	0,129	0,181	0,229	0,245	0,265	0,284	0,306	0,331	0,489
	S _T -S _B	0,007	0,012	0,017	0,023	0,029	0,033	0,040	0,046	0,052	0,058	0,095
1,13	S _B	0,021	0,060	0,083	0,095	0,110	0,130	0,161	0,190	0,213	0,222	0,312
	S _T	0,027	0,072	0,101	0,120	0,141	0,168	0,205	0,239	0,270	0,286	0,416
	S _T -S _B	0,006	0,012	0,018	0,025	0,031	0,038	0,044	0,049	0,057	0,064	0,104
1,13	S _B	0,039	0,054	0,063	0,071	0,080	0,088	0,097	0,105	0,157	0,181	0,242
	S _T	0,046	0,068	0,084	0,099	0,115	0,131	0,147	0,162	0,221	0,253	0,358
	S _T -S _B	0,007	0,014	0,021	0,028	0,035	0,043	0,050	0,057	0,064	0,072	0,116
1,13	S _B	0,038	0,048	0,056	0,063	0,070	0,077	0,085	0,093	0,110	0,141	0,196
	S _T	0,044	0,061	0,075	0,089	0,103	0,117	0,135	0,146	0,169	0,206	0,276
	S _T -S _B	0,006	0,013	0,019	0,026	0,033	0,040	0,046	0,053	0,059	0,065	0,080
1,13	S _B	0,037	0,043	0,048	0,054	0,063	0,072	0,079	0,085	0,106	0,137	0,150
	S _T	0,042	0,053	0,063	0,074	0,088	0,091	0,115	0,125	0,151	0,188	0,228
	S _T -S _B	0,005	0,010	0,015	0,020	0,025	0,029	0,036	0,040	0,045	0,051	0,078
1,13	S _B	0,009	0,014	0,022	0,030	0,039	0,047	0,055	0,063	0,079	0,087	0,124
	S _T	0,013	0,021	0,032	0,044	0,057	0,069	0,080	0,093	0,112	0,124	0,197
	S _T -S _B	0,004	0,007	0,010	0,014	0,018	0,022	0,025	0,030	0,033	0,037	0,073
1,13	S _B	-	-	0,005	0,009	0,014	0,019	0,025	0,031	0,036	0,043	0,060
	S _T	0,003	0,006	0,013	0,021	0,029	0,036	0,045	0,054	0,062	0,073	0,128
	S _T -S _B	0,003	0,006	0,008	0,012	0,015	0,017	0,020	0,023	0,026	0,030	0,068

Tabla 25. (cont.) Valores de absorbancia para diferentes valores de pH. T = 20°C; [S₂O₈²⁻] = 52,6x10⁻⁶ M; [Fucsina] = 46,4x10⁻⁶ M; [BrO₃⁻] = 100 μg.L⁻¹; A = 543 nm.

R	pH	Tiempo (min.)													
		15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65			
1,13	4,01	S _B	0,544	0,595	0,627	0,665	0,692	0,710	0,745	0,775	0,800	0,830	0,870		
		S _T	0,670	0,755	0,819	0,884	0,934	0,967	1,013	1,042	1,082	1,115	1,158		
		S _T -S _B	0,126	0,160	0,192	0,219	0,242	0,257	0,268	0,277	0,282	0,285	0,288		
1,13	3,83	S _B	0,452	0,490	0,523	0,551	0,568	0,590	0,615	0,628	0,654	0,671	0,697		
		S _T	0,576	0,662	0,726	0,782	0,821	0,862	0,902	0,926	0,959	0,980	1,010		
		S _T -S _B	0,124	0,172	0,203	0,231	0,253	0,272	0,287	0,298	0,305	0,309	0,313		
1,13	3,52	S _B	0,350	0,367	0,386	0,398	0,412	0,429	0,441	0,452	0,460	0,469	0,490		
		S _T	0,495	0,550	0,600	0,637	0,672	0,708	0,735	0,758	0,777	0,793	0,822		
		S _T -S _B	0,145	0,183	0,214	0,239	0,260	0,279	0,294	0,306	0,317	0,324	0,332		
1,13	3,22	S _B	0,265	0,280	0,291	0,300	0,308	0,313	0,330	0,342	0,348	0,351	0,354		
		S _T	0,420	0,469	0,514	0,547	0,575	0,600	0,635	0,661	0,677	0,687	0,698		
		S _T -S _B	0,155	0,189	0,223	0,247	0,267	0,287	0,305	0,319	0,329	0,336	0,344		
1,13	3,04	S _B	0,220	0,235	0,239	0,244	0,250	0,254	0,260	0,264	0,270	0,279	0,283		
		S _T	0,344	0,386	0,420	0,450	0,479	0,496	0,513	0,525	0,537	0,550	0,559		
		S _T -S _B	0,124	0,151	0,181	0,206	0,229	0,242	0,253	0,261	0,267	0,271	0,276		
1,13	2,82	S _B	0,165	0,181	0,190	0,193	0,196	0,200	0,204	0,208	0,211	0,215	0,220		
		S _T	0,287	0,323	0,367	0,393	0,417	0,436	0,449	0,458	0,465	0,473	0,481		
		S _T -S _B	0,122	0,144	0,177	0,200	0,221	0,236	0,245	0,250	0,254	0,258	0,261		
1,13	2,68	S _B	0,133	0,146	0,152	0,156	0,160	0,164	0,170	0,176	0,181	0,184	0,188		
		S _T	0,239	0,286	0,319	0,347	0,368	0,385	0,400	0,413	0,423	0,430	0,437		
		S _T -S _B	0,106	0,140	0,167	0,191	0,208	0,221	0,230	0,237	0,242	0,246	0,249		
1,13	2,23	S _B	0,066	0,073	0,082	0,091	0,095	0,099	0,102	0,104	0,107	0,109	0,113		
		S _T	0,167	0,205	0,241	0,274	0,293	0,308	0,319	0,327	0,335	0,340	0,345		
		S _T -S _B	0,101	0,132	0,159	0,183	0,198	0,209	0,217	0,223	0,228	0,231	0,232		

Tabla 26. Valores de absorbancia para diferentes valores de pH. $T = 20^{\circ}\text{C}$; $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] = 2,6,4 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Fucisina}] = 6,18 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{BrO}_3^-] = 100 \mu\text{g.L}^{-1}$; $\lambda = 543 \text{ nm}$;

R	pH	Tiempo (min.)										
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	10
4,3	S _B	-	-	-	0,018	0,020	0,022	0,025	0,028	0,032	0,036	0,071
	S _T	-	-	-	0,024	0,028	0,031	0,036	0,040	0,045	0,051	0,083
	S _T -S _B	-	-	-	0,006	0,008	0,009	0,011	0,012	0,013	0,015	0,012
4,3	S _B	-	-	-	0,014	0,017	0,019	0,021	0,024	0,027	0,030	0,054
	S _T	-	-	-	0,022	0,027	0,031	0,035	0,040	0,045	0,050	0,082
	S _T -S _B	-	-	-	0,008	0,010	0,012	0,014	0,016	0,018	0,020	0,028
4,3	S _B	-	-	-	0,012	0,014	0,016	0,018	0,019	0,022	0,024	0,042
	S _T	-	-	-	0,021	0,026	0,030	0,034	0,038	0,043	0,047	0,077
	S _T -S _B	-	-	-	0,009	0,012	0,014	0,016	0,019	0,021	0,023	0,035
4,3	S _B	-	0,003	0,006	0,008	0,010	0,011	0,013	0,014	0,016	0,018	0,027
	S _T	0,003	0,008	0,014	0,018	0,023	0,027	0,032	0,035	0,041	0,045	0,067
	S _T -S _B	0,003	0,005	0,008	0,010	0,013	0,016	0,019	0,021	0,026	0,027	0,040
4,3	S _B	-	-	-	0,005	0,006	0,007	0,008	0,009	0,010	0,012	0,020
	S _T	-	-	-	0,012	0,015	0,017	0,020	0,023	0,026	0,029	0,042
	S _T -S _B	-	-	-	0,007	0,009	0,010	0,012	0,014	0,016	0,017	0,022
4,3	S _B	-	-	-	0,004	0,005	0,006	0,006	0,007	0,007	0,008	0,015
	S _T	-	-	-	0,010	0,012	0,014	0,015	0,018	0,019	0,021	0,030
	S _T -S _B	-	-	-	0,006	0,007	0,008	0,009	0,011	0,012	0,013	0,015
4,3	S _B	-	-	-	0,003	0,004	0,005	0,005	0,006	0,006	0,007	0,012
	S _T	-	-	-	0,008	0,010	0,012	0,013	0,015	0,016	0,018	0,025
	S _T -S _B	-	-	-	0,005	0,006	0,007	0,008	0,009	0,010	0,011	0,013
4,3	S _B	-	-	-	-	-	-	-	0,003	0,003	0,004	0,008
	S _T	-	-	-	-	-	0,005	0,006	0,011	0,011	0,013	0,019
	S _T -S _B	-	-	-	-	-	0,005	0,006	0,008	0,008	0,009	0,011

Tabla 26 (cont.). Valores de absorbancia para diferentes valores de pH. $T = 20^{\circ}\text{C}$; $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] = 2.6, 4 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{Fucsina}] = 6, 18 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{BrO}_3^-] = 100 \mu\text{g.L}^{-1}$; $\lambda = 543 \text{ nm}$;

R	pH	Tiempo (min.)													
		15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65			
1,13	S _B	0,096	0,127	0,136	0,152	0,165	0,179	0,188	0,199	0,208	0,217	0,224			
	S _T	0,121	0,157	0,172	0,193	0,210	0,228	0,240	0,254	0,266	0,277	0,286			
	S _T -S _B	0,025	0,030	0,036	0,041	0,045	0,049	0,052	0,055	0,058	0,060	0,062			
1,13	S _B	0,079	0,098	0,112	0,125	0,134	0,145	0,154	0,163	0,172	0,180	0,186			
	S _T	0,117	0,144	0,165	0,184	0,198	0,214	0,227	0,239	0,252	0,262	0,269			
	S _T -S _B	0,038	0,046	0,053	0,059	0,064	0,069	0,073	0,076	0,080	0,082	0,083			
1,13	S _B	0,058	0,071	0,083	0,092	0,101	0,106	0,111	0,116	0,121	0,126	0,130			
	S _T	0,103	0,124	0,143	0,158	0,172	0,182	0,191	0,199	0,206	0,213	0,218			
	S _T -S _B	0,045	0,053	0,060	0,066	0,071	0,076	0,080	0,083	0,085	0,087	0,088			
1,13	S _B	0,038	0,046	0,054	0,060	0,067	0,072	0,076	0,080	0,085	0,089	0,092			
	S _T	0,087	0,104	0,119	0,131	0,141	0,152	0,161	0,167	0,176	0,182	0,187			
	S _T -S _B	0,049	0,058	0,065	0,071	0,074	0,080	0,085	0,087	0,091	0,093	0,095			
1,13	S _B	0,028	0,034	0,040	0,047	0,053	0,059	0,064	0,067	0,070	0,072	0,074			
	S _T	0,058	0,070	0,082	0,095	0,106	0,116	0,126	0,132	0,138	0,143	0,148			
	S _T -S _B	0,030	0,036	0,042	0,048	0,053	0,057	0,062	0,065	0,068	0,071	0,074			
1,13	S _B	0,021	0,027	0,032	0,037	0,042	0,046	0,050	0,052	0,054	0,056	0,058			
	S _T	0,042	0,054	0,065	0,074	0,082	0,090	0,097	0,101	0,104	0,107	0,108			
	S _T -S _B	0,021	0,027	0,033	0,037	0,040	0,044	0,047	0,049	0,050	0,051	0,050			
1,13	S _B	0,017	0,022	0,027	0,030	0,034	0,037	0,039	0,043	0,045	0,047	0,048			
	S _T	0,033	0,042	0,051	0,057	0,064	0,069	0,072	0,077	0,080	0,081	0,080			
	S _T -S _B	0,016	0,020	0,024	0,027	0,030	0,032	0,033	0,034	0,035	0,034	0,032			
1,13	S _B	0,012	0,016	0,018	0,020	0,022	0,023	0,024	0,025	0,026	0,027	0,028			
	S _T	0,025	0,032	0,036	0,041	0,046	0,048	0,049	0,049	0,048	0,047	0,045			
	S _T -S _B	0,013	0,016	0,018	0,021	0,024	0,025	0,025	0,024	0,022	0,020	0,017			

Información obtenida a partir de la señal del blanco: Reacción de coloración.

La evolución cinética del proceso de coloración espontáneo, Figuras 140 a y 141 b muestra como la magnitud de este proceso aumenta cuanto mayor es el pH (menor es la $[H^+]$), tal y como se había deducido de los procesos previos sin termostatar.

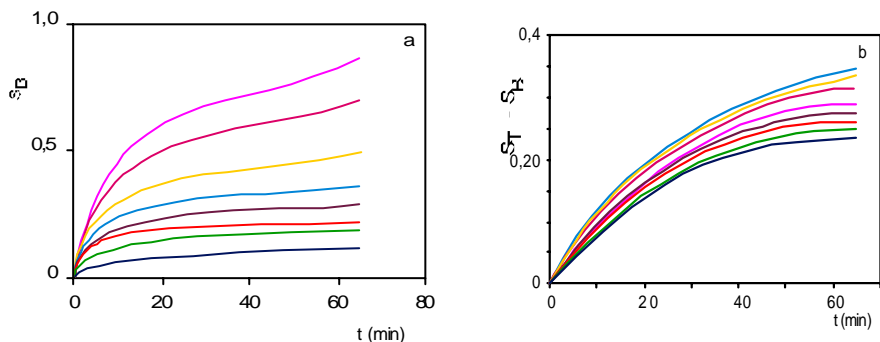


Figura 140-a Influencia de la concentración de protones. Evolución de la señal del blanco S_B (Figura 140-a) y de $S_T - S_B$ (Figura 140-b) en función del tiempo para diferentes valores de pH. [Fucsina] = $46,4 \times 10^{-6}$ M; $[S_2O_5^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6}$ M; R = 1,13; T = 20°C, Amax = 2,8; $[BrO_3^-] = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; pH = (—4,01; —3,83; —3,52; —3,22; —3,04; —2,82; —2,68; —2,23).

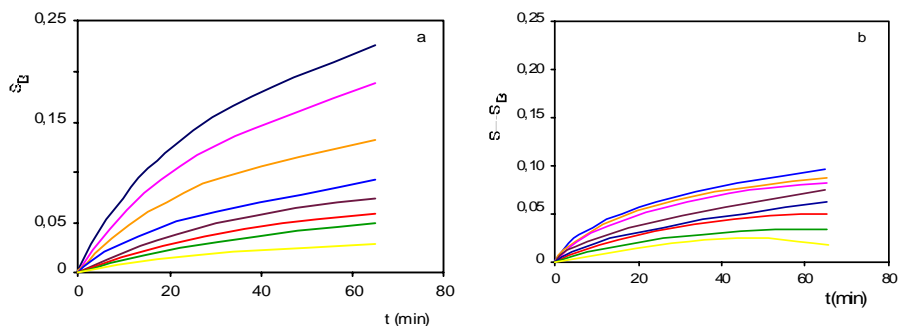


Figura 141-a Influencia de la concentración de protones. Evolución de la señal del blanco S_B (Figura 140-a) y de $S_T - S_B$ (Figura 140-b) en función del tiempo para diferentes valores de pH a [Fucsina] = $6,18 \times 10^{-6}$ M; $[S_2O_5^{2-}] = 26,4 \times 10^{-6}$ M; R = 4,3; T = 20°C, Amax = 2,8; $[BrO_3^-] = 100 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; pH = (—4,01; —3,83; —3,52; —3,22; —3,04; —2,82; —2,68; —2,23).

El ΔA , para 543 nm, con el tiempo es mayor, para cada pH, en la experiencia en la que R=1,13 que en la experiencia de R=4,3. La explicación es sencilla si se tiene en cuenta la relación ya deducida entre la velocidad de coloración y dichas variables. En la primera experiencia la [Fucsina] es 7,5 veces

mayor que en la segunda experiencia y aunque la $[S_2O_5^{2-}]$ en el primer caso es el doble que en segundo, al ser los pseudoordenes de reacción iguales; afecta en mayor medida la concentración de [Fucsina].

Tabla 27. Velocidades de reacción a los 65 minutos y sus logaritmos para los diferentes valores de pH.

pH	log [H ⁺]	S _T -S _B			S _B		
		A ₆₅	v ₆₅	log v	A ₆₅	v ₆₅	log v
4,01	-4,01	0,870	13,38 10 ⁻³	-1,873	0,224	3,45 10 ⁻³	-2,462
3,83	-3,83	0,697	10,72 10 ⁻³	-1,970	0,186	2,86 10 ⁻³	-2,543
3,52	-3,52	0,490	7,54 10 ⁻³	-2,123	0,130	2,00 10 ⁻³	-2,699
3,22	-3,22	0,350	5,38 10 ⁻³	-2,269	0,092	1,42 10 ⁻³	-2,849
3,04	-3,04	0,283	4,35 10 ⁻³	-2,361	0,074	1,14 10 ⁻³	-2,944
2,82	-2,82	0,220	3,38 10 ⁻³	-2,470	0,058	0,89 10 ⁻³	-3,049
2,68	-2,68	0,188	2,89 10 ⁻³	-2,539	0,048	0,74 10 ⁻³	-3,135

Para obtener el pseudo-orden de reacción respecto a la [H⁺], se calcula la velocidad de la reacción a los 65 min. (v₆₅) para ambas series de experiencias. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla 27, así como sus logaritmos.

La representación gráfica de log v₆₅ frente a log [H⁺], Figura 142 conduce en ambos casos a líneas rectas con coeficientes de regresión próximos a la unidad. De las correspondientes ecuaciones y a partir de las pendientes se deduce que el orden de reacción respecto a [H⁺] es $-0,497 \pm 0,004$, para la primera serie y $-0,51 \pm 0,01$ para la segunda. Estos valores indican, con una fiabilidad del 95% que la relación entre la velocidad y la concentración de [H⁺] es: $v_c = k_c [H^+]^{-1/2}$.

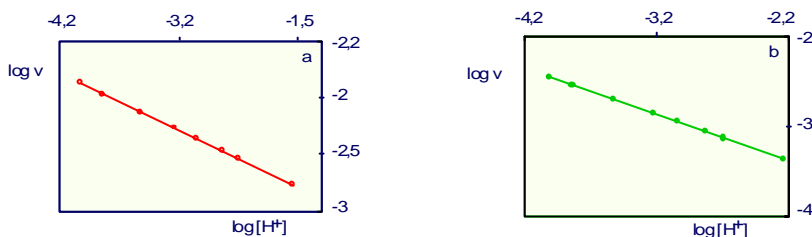


Figura 142. Representación gráfica de $\log v_{65}$ frente a $\log [H^+]$. a: $\log v = -0,497 \log [H^+] - 3,870$; $R^2 = 0,9999$. b: $\log v = -4,491 - 0,509 \log [H^+]$; $R^2 = 0,9996$

Los valores de la constante de proporcionalidad k_c'' son lógicamente diferentes para las dos series de experiencias, por ser diferentes entre ellas la [Fucsina] y la $[S_2O_5^{2-}]$.

Los valores deducidos para k_c'' han sido de $(1,35 \pm 0,04) \times 10^{-4}$ para la serie en la que $R=1,13$ y $(3,3 \pm 0,3) \times 10^{-5}$ para la segunda serie de experiencias en las que $R = 4,3$.

Información obtenida a partir de la señal total menos la señal del blanco.

En las dos series de experiencias programadas para el estudio de la influencia de la concentración de $[H^+]$, se han escogido concentraciones de [Fucsina] y $[S_2O_5^{2-}]$ de forma que el valor de su relación sea 1,3 y 4,3 respectivamente. En el primer caso al ser elevada la concentración de Fucsina: $46,4 \times 10^{-6}$ y el valor de R bajo, 1,13, la reacción de coloración espontánea será de gran magnitud y la de decoloración de baja magnitud.

En la segunda de las series, la $[Fucsina]=6,18 \times 10^{-6}$, es mucho menor que en la primera y además el valor de R, 4,3, al ser el más alto, nos garantiza que el proceso de decoloración es de mayor magnitud que en la primera serie, siendo el de coloración en esta mayor. No nos pareció adecuado planificar experiencias con los valores de R superiores pues el proceso de decoloración enmascararía parcial o completamente a los procesos de coloración y oxidación.

Los valores de $(S_T - S_B)$ para 543 nm representados en las Figuras 140-a y 141-a indican que en ninguna de las dos experiencias se obtiene una secuencia de valores de absorbancia directa o inversamente proporcionales a la $[H^+]$. En ambas experiencias los valores mayores de absorbancia a 543 nm se obtienen para $pH=3,22$, siendo este valor un máximo si se representa la absorbancia, a un tiempo dado, frente a la concentración de $[H^+]$.

Para obtener información cuantitativa sobre la influencia de la concentración de $[H^+]$ sobre la velocidad de los procesos de oxidación y decoloración, se miden velocidades iniciales en ambas experiencias.

En la Figura 143 a y b, se encuentran representados los valores del $(S_T - S_B)$ para los cinco primeros minutos del proceso, si bien en la experiencia donde $[S_2O_5^{2-}]$ es mayor, $R = 4,3$, solo se han representado los valores obtenidos para tiempos superiores a los dos minutos, pues los valores medidos de absorbancia son tan pequeños, que los errores experimentales de las diferencias son muy altos para tiempos inferiores a los 2 minutos.

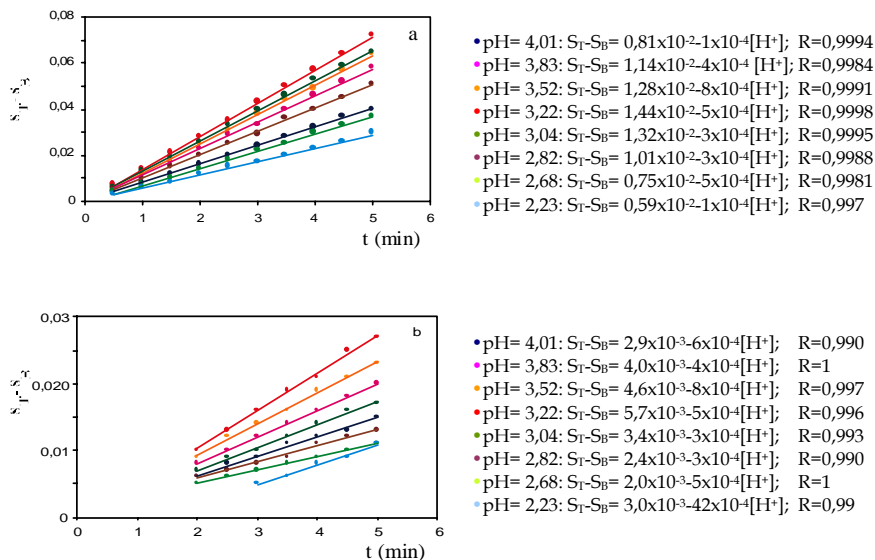


Figura 143. Influencia de la concentración de $[H^+]$ sobre la velocidad de los procesos de oxidación y decoloración. Medida de las velocidades iniciales. a: $R = 1,13$; b: $R = 4,3$.

En la Tabla 28 se indican los valores para la velocidad inicial, v_o , obtenidos para ambas experiencias a partir de las pendientes de las líneas rectas. A pesar de obtener la señal analítica, $(S_T - S_B)$, por diferencia y con valores de absorbancia muy pequeños, los coeficientes de correlación obtenidos son muy favorables.

Tabla 28. Velocidades iniciales para las dos experiencias: $R = 1,13$ y $R = 4,3$.

$[H^+]$	$v_o(uA.min^{-1})$ $R= 1,13$	$v_o(uA.min^{-1})$ $R= 4,3$
4,01	$0,81 \times 10^{-2}$	$2,9 \times 10^{-3}$
3,83	$1,14 \times 10^{-2}$	$4,0 \times 10^{-3}$
3,52	$1,28 \times 10^{-2}$	$4,6 \times 10^{-3}$
3,22	$1,44 \times 10^{-2}$	$5,7 \times 10^{-3}$
3,04	$1,32 \times 10^{-2}$	$3,4 \times 10^{-3}$
2,82	$1,01 \times 10^{-2}$	$2,4 \times 10^{-3}$
2,68	$0,75 \times 10^{-2}$	$2,0 \times 10^{-3}$
2,23	$0,59 \times 10^{-2}$	$3,0 \times 10^{-3}$

Los valores de v_o frente al pH, Figura 144-a y b, muestran la relación ya observada en las curvas de evolución cinética.

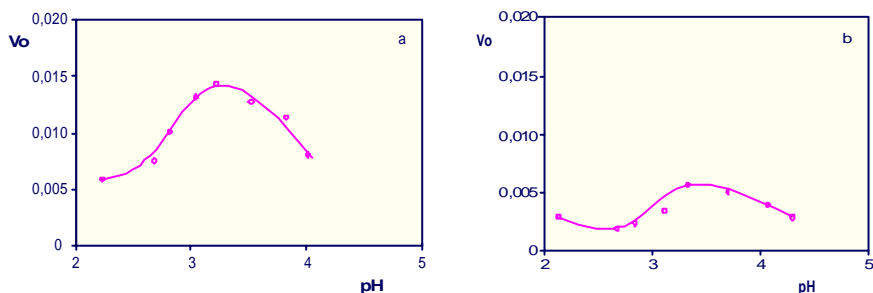


Figura 144. Representación de la variación de v_o con el pH. a: $R = 1,13$; b: $R = 4,3$.

Desde pH 4,01 hasta pH 3,22, la velocidad inicial de la reacción se incrementa al hacerlo la concentración de $[H^+]$; mientras que desde pH 3,22 hasta 2,23, desciende en mayor medida en el mismo sentido, cuanto mayor es la concentración de $[H^+]$. El valor máximo para v_o y por lo tanto para la absorbancia a 543 nm, hasta los 5 minutos, se obtiene para $pH=3,22$.

Este comportamiento de ambos procesos, el de oxidación y decoloración, frente a la concentración de $[H^+]$, sugiere, como ya sabemos, reacciones competitivas (en sentido contrario a la obtención de Fucsina coloreada) y dependientes de manera directa de la concentración de protones,

esto es, cuanto mayor es $[H^+]$ mayor es la velocidad de la reacción de oxidación y también del proceso de decoloración. Al ser competitivos y de diferente signo ambos procesos, es lógico que se alcance el máximo a un valor de $[H^+]$ dado, que dependerá de $[Fucsina]$, $[S_2O_5^{2-}]$ y temperatura. Para las condiciones experimentales estudiadas, el máximo se obtiene a $pH=3,22$.

La representación logarítmica de los valores de la velocidad inicial frente a $\log[H^+]$, Figura 145, conduce a líneas rectas pobremente definidas y con órdenes de reacción no significativos.

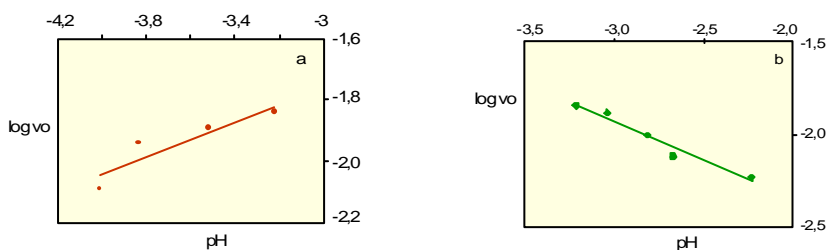


Figura 145. Representación de la variación de $\log v_0$ para diferentes valores de pH . a: $R=1,3$; $y = 0,2848x - 0,9042$, $R^2 = 0,8465$; b: $R = 4,3$, $y = -0,4201x - 3,1896$, $R^2 = 0,9484$.

El estudio de la influencia de la concentración de $[H^+]$ sobre la velocidad sugiere la presencia de dos términos en la ecuación cinética.

$$v = k_{ox}'''[H^+]^x - k_D'''[H^+]^y$$

de forma que la combinación de los valores de x , y , k_{ox} y k_D explica el comportamiento experimental.

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Hasta ahora todas las experiencias han sido realizadas termostatando la célula de flujo a $20^\circ C$. Con el fin de comprobar como afecta la temperatura a los tres procesos descritos, *coloración espontánea*, *oxidación* y *decoloración*, se

prepara una disolución de partida (B) conteniendo [Fucsina]: $3,09 \times 10^{-4}$ M, $[S_2O_5^{2-}]$: $5,26 \times 10^{-3}$ M y HCl: 0,03 M que se decolora durante 24 horas.

A partir de dicha disolución se prepara por dilución otra que contiene [Fucsina]: $3,09 \times 10^{-6}$ M, $[S_2O_5^{2-}]$: $52,6 \times 10^{-6}$ M, $[BrO_3^-]$: $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a pH 3,22 y, en el acto, se introduce en la célula del espectrofotómetro que se encuentra termostatada a una temperatura dada.

El margen de temperatura estudiado ha sido entre 20°C y 60°C . Para cada temperatura se prepara una disolución reciente, así como para el estudio del blanco.

Obsérvese que la relación entre $[S_2O_5^{2-}]$ y [Fucsina] es alta, 17, para poder comprobar como afecta la temperatura al proceso de decoloración.

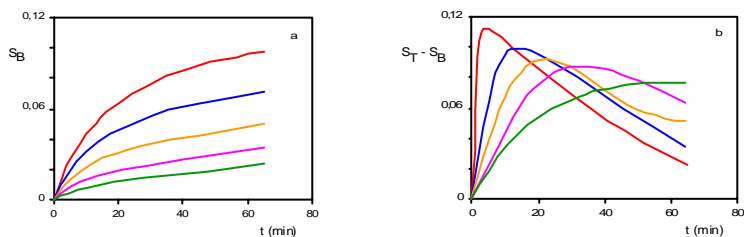


Figura 146 Evolución cinética de la S_B (gráfica a) y de $S_T - S_B$ (gráfica b). pH = 3,22; [Fucsina] = $3,09 \times 10^{-6}$ M; $[BrO_3^-]$ = $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[S_2O_5^{2-}]$ = $52,6 \times 10^{-6}$ M; R = 17; T = (— 20°C , — 30°C , — 40°C , — 50°C , — 60°C).

Los valores de absorbancia a 543 nm obtenidos para el blanco (S_B), la señal total (S_T) y la diferencia de señales ($S_T - S_B$), hasta un tiempo de 65 minutos se encuentran en la Tabla 29 y se representan frente al tiempo en la Figura 146 a y b.

Tabla 29. Valores de absorbancia para diferentes valores de la temperatura. $pH= 3,22$; $[S_2O_8^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} M$; $[Fucsina] = 3,09 \times 10^{-6} M$; $[BrO_3^-] = 100 \mu g.L^{-1}$; $A = 543 \text{ nm}$;

R	T (°C)	Tiempo (min.)												
		0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	10		
17	20	S _B	-	-	-	-	-	0,002	0,003	0,003	0,004	0,005	0,006	0,008
		S _T	0,002	0,004	0,005	0,007	0,009	0,013	0,016	0,018	0,021	0,024	0,024	0,045
		S _{T-S_B}	0,002	0,004	0,005	0,007	0,009	0,011	0,013	0,015	0,017	0,019	0,019	0,037
17	30	S _B	-	-	-	-	0,003	0,003	0,003	0,004	0,005	0,006	0,008	0,014
		S _T	0,004	0,006	0,009	0,012	0,018	0,022	0,025	0,030	0,033	0,037	0,064	
		S _{T-S_B}	0,004	0,006	0,009	0,012	0,015	0,019	0,021	0,025	0,027	0,029	0,050	
17	40	S _B	-	-	0,003	0,004	0,005	0,006	0,007	0,008	0,010	0,012	0,022	
		S _T	0,007	0,012	0,020	0,027	0,033	0,040	0,046	0,053	0,059	0,065	0,094	
		S _{T-S_B}	0,007	0,012	0,017	0,023	0,028	0,034	0,039	0,045	0,049	0,053	0,072	
17	50	S _B	-	0,003	0,005	0,008	0,010	0,012	0,014	0,016	0,018	0,019	0,030	
		S _T	0,010	0,022	0,033	0,045	0,056	0,068	0,079	0,088	0,096	0,101	0,136	
		S _{T-S_B}	0,010	0,019	0,028	0,037	0,046	0,056	0,065	0,072	0,078	0,082	0,106	
17	60	S _B	0,003	0,006	0,008	0,010	0,013	0,015	0,017	0,020	0,022	0,025	0,033	
		S _T	0,018	0,036	0,053	0,070	0,088	0,106	0,131	0,140	0,146	0,152	0,153	
		S _{T-S_B}	0,015	0,030	0,045	0,060	0,075	0,091	0,114	0,120	0,124	0,127	0,120	

Tabla 29.(cont.) Valores de absorbancia para diferentes valores de la temperatura. $pH= 3,22$; $[S_2O_3^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} M$; $[Fucina] = 3,09 \times 10^{-6} M$; $[BrO_3^-] = 100 \mu g.L^{-1}$; $A = 543 \text{ nm}$.

R	T (°C)	Tiempo (min.)													
		15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65			
17	20	S _B	0,010	0,012	0,013	0,015	0,016	0,017	0,018	0,020	0,021	0,022	0,023		
		S _T	0,059	0,072	0,082	0,089	0,096	0,101	0,104	0,108	0,109	0,110	0,111		
		S _T -S _B	0,049	0,060	0,069	0,074	0,080	0,084	0,086	0,088	0,088	0,088	0,088		
17	30	S _B	0,017	0,020	0,022	0,024	0,025	0,026	0,028	0,029	0,030	0,032	0,034		
		S _T	0,085	0,104	0,117	0,125	0,125	0,124	0,122	0,119	0,115	0,112	0,108		
		S _T -S _B	0,068	0,084	0,095	0,101	0,100	0,098	0,094	0,090	0,085	0,080	0,074		
17	40	S _B	0,029	0,032	0,034	0,036	0,038	0,040	0,042	0,045	0,046	0,048	0,050		
		S _T	0,123	0,139	0,139	0,134	0,129	0,125	0,120	0,119	0,119	0,112	0,109		
		S _T -S _B	0,094	0,107	0,105	0,098	0,091	0,085	0,078	0,074	0,068	0,064	0,059		
17	50	S _B	0,039	0,046	0,051	0,056	0,059	0,061	0,064	0,066	0,067	0,069	0,071		
		S _T	0,153	0,159	0,156	0,149	0,141	0,135	0,130	0,125	0,119	0,115	0,112		
		S _T -S _B	0,114	0,113	0,105	0,093	0,082	0,074	0,066	0,059	0,052	0,046	0,041		
17	60	S _B	0,057	0,065	0,072	0,077	0,081	0,084	0,087	0,090	0,093	0,095	0,097		
		S _T	0,166	0,160	0,158	0,153	0,150	0,145	0,140	0,135	0,130	0,126	0,123		
		S _T -S _B	0,109	0,095	0,086	0,076	0,069	0,061	0,053	0,045	0,037	0,031	0,026		

Información obtenida a partir de la señal del blanco: Reacción de coloración.

Al observar la evolución cinética del proceso de coloración con la temperatura (Figura 146 b) se puede comprobar que aumenta claramente al aumentar esta. Así, mientras que a 20 °C a 65 minutos ha evolucionado el 12% de la Fucsina decolorada inicialmente ($A_{65}=0,023$, $A_{\max}=0,188$), a 60 °C ha evolucionado en el mismo tiempo el 52%.

De los valores de absorbancia a 65 minutos y teniendo en cuenta la relación obtenida entre la velocidad y las distintas variables estudiadas:

$$v_{65} = k_{\text{obs}} \frac{[\text{Fucsina}]}{[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}][\text{H}^+]^{1/2}}$$

en la que el cociente de variables tiene un valor de 2,41, para el caso estudiado, se deducen los valores de k_{obs} para cada temperatura (Tabla 30). La representación logarítmica de dicha constante frente a $1/T$ (temperatura absoluta) (Ecuación de Arrhenius) (Figura 147), conduce a la ecuación de una línea recta a partir de cuya pendiente, 3483.4, (E_a/R), se deduce para la ENERGÍA DE ACTIVACIÓN, E_a , un valor de 29 ± 1 KJ, ($R= 8,314$ KJ.mol⁻¹).

Tabla 30. Proceso de coloración espontánea. Valores de K_{obs} en función de la temperatura.

T (°C)	T (K)	A_{65}	v_{65} (uA.min ⁻¹)	k_{obs}	Ln k_{obs}	T^{-1}
20	293	0,023	0,35x10 ⁻³	0,15 x10 ⁻³	-8,805	3,41 x10 ⁻³
30	303	0,034	0,53 x10 ⁻³	0,22 x10 ⁻³	-8,422	3,30 x10 ⁻³
40	313	0,050	0,77 x10 ⁻³	0,32 x10 ⁻³	-8,047	3,19 x10 ⁻³
50	323	0,071	1,08 x10 ⁻³	0,45 x10 ⁻³	-7,706	3,10 x10 ⁻³
60	333	0,097	1,49 x10 ⁻³	0,62 x10 ⁻³	-7,386	3,00 x10 ⁻³

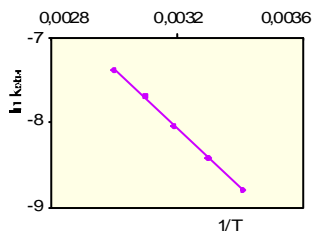


Figura 147. Variación de $\ln k_{obs}$ en función de $1/T$. Cálculo de la Energía de activación (E_a) para el proceso de coloración.

$$y = -3483,4 x + 3,074; R^2 = 0,9996$$

Información obtenida a partir de la diferencia entre la señal total y la señal del blanco.

La evolución con el tiempo de dicha señal, obtenida por diferencia, nos aporta información sobre el proceso de oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- , así como del proceso de decoloración.

La observación de la Figura 146-a muestra claramente como la reacción de oxidación incrementa su velocidad al aumentar la temperatura por lo que, a tiempos iniciales, los valores de absorbancia a 543 nm se incrementan considerablemente desde 20 °C hasta 60 °C.

También el proceso de decoloración se activa con la temperatura lo que se observa, por una parte, en que la ruptura en el incremento del valor de la absorbancia ocurre a tiempos de reacción más cortos, cuanto mayor es la temperatura y, por otra parte, la pendiente de caída, para la zona en la que ya predomina el proceso de decoloración, es mayor y más acusada cuanto mayor es esta variable.

Obsérvese que a 20 °C y en estas condiciones experimentales la señal analítica alcanza un valor constante entre 50 y 65 min.

Para comparar el efecto de la temperatura sobre los procesos de oxidación y coloración espontánea, aunque por los ΔA parece que es mayor en el primer caso, se calcula el valor de la E_a para el proceso de oxidación.

Como aún no se ha obtenido la relación entre velocidad de dicho proceso y concentración de BrO_3^- , no es posible trabajar con los valores de k_{obs}

por lo que se opera con los valores de velocidad inicial que serán proporcionales a k_{obs} .

En la Figura 148 se han representado los valores de $S_T - S_B$, para las diferentes temperaturas, hasta los 5 primeros minutos de la evolución cinética. Puede observarse como la relación entre ambas variables es lineal, en todos los casos, hasta los 3,5 minutos aproximadamente. La desviación de la linealidad, a partir de dicho tiempo, es mayor cuanto más alta es la temperatura, por incrementarse en el mismo sentido la reacción de decoloración.

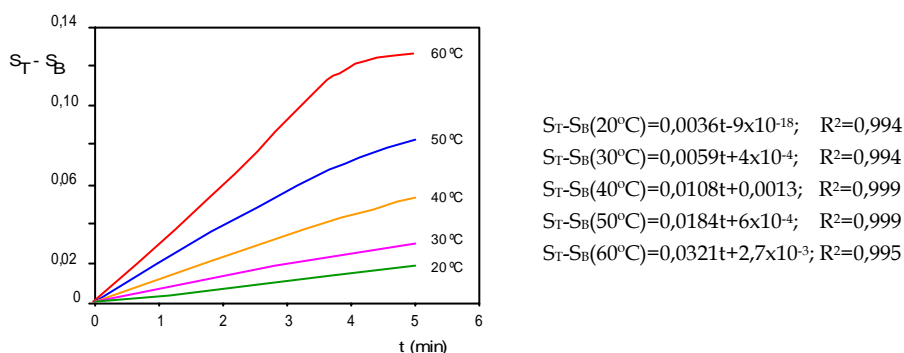


Figura 148. Representación gráfica de $A(S_T - S_B)$ frente a tiempos iniciales para diferentes temperaturas. $\text{pH} = 3,22$; $[\text{Fucsina}] = 3,09 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{BrO}_3^-] = 100 \mu\text{g.L}^{-1}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 52,6 \times 10^{-6} \text{ M}$.

De las ecuaciones de las líneas rectas experimentales, se obtiene a partir de la pendiente el valor de la velocidad inicial, v_o , (Tabla 31).

Como v_o es directamente proporcional a k_{obs} , la representación logarítmica de dicha variable frente a $1/T$, nos permite calcular el valor de la E_a , energía de activación, para dicha reacción.

La pendiente de la representación logarítmica, Figura 149 tiene un valor de $5373,3 \text{ K}$ lo que conduce a $E_a = 46 \pm 2 \text{ KJ.mol}^{-1}$, mayor que la obtenida para el proceso de coloración del blanco.

Tabla 31. Proceso de oxidación con bromato. Valores de la velocidad inicial en función de la temperatura.

T(°C)	T(K)	1/T	v ₀	Ln v ₀
20	293	3,41 X10 ⁻³	3,6 X10 ⁻³	-5,6268
30	303	3,30 X10 ⁻³	5,9 X10 ⁻³	-5,1323
40	313	3,19 X10 ⁻³	10,8 X10 ⁻³	-4,5282
50	323	3,10 X10 ⁻³	18,4 X10 ⁻³	-3,9951
60	333	3,00 X10 ⁻³	32,1 X10 ⁻³	-3,4389

Este hecho experimentalmente demostrado para un 95% de fiabilidad, es positivo desde el punto de vista de que el aumento de la temperatura de las disoluciones favorece en mayor medida el proceso de oxidación por BrO₃⁻ que el de coloración del blanco, lo que incrementa la sensibilidad a la hora de proponer un procedimiento espectrofotométrico para la determinación de dicho analito.

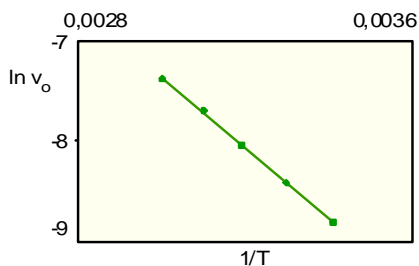


Figura 149 Representación de Ln v₀ frente a 1/T para el cálculo de la E_a en el proceso de S_T-S_B

$$y = -5513,2x + 13,098$$

$$R^2 = 9993$$

Otro aspecto positivo del estudio es el hecho de que a tiempos iniciales de reacción (hasta 3,5 minutos en esta experiencia), la señal analítica, S_T-S_B, es lineal con el tiempo, lo que indica que los valores de absorbancia no están contaminados por el proceso de decoloración y sólo se deben al proceso de oxidación.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE BROMATO

Conocido el comportamiento cinético de los tres procesos estudiados frente a pH, concentración de [Fucsina], concentración de reductor [S₂O₅²⁻] y

temperatura, el paso siguiente consiste en estudiar la influencia del oxidante, $[\text{BrO}_3^-]$, sobre el proceso de oxidación de la Fucsina decolorada.

Para estudiar esta influencia se escogen, en primer lugar, unas condiciones experimentales en las que el proceso de decoloración por $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ no sea muy apreciable; para ello se trabaja con concentraciones finales de $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 10,5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $R=3,4$; $\text{pH}= 3,22$ y $T=20^\circ\text{C}$. La concentración de $[\text{BrO}_3^-]$ final se modifica desde $3,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ hasta $75 \mu\text{g.L}^{-1}$. Se desarrollan las curvas cinéticas y se obtienen los valores de absorbancia a 543 nm y 65 minutos .

Tabla 32. Influencia de la concentración de Bromato sobre la cinética de la reacción. Valores de absorbancia (543 nm) a 65 minutos .

$[\text{BrO}_3^-]$ $\mu\text{g.L}^{-1}$	Absorbancia (543 nm)
3,0	0,023
4,0	0,027
5,0	0,033
10,0	0,049
15,0	0,072
20,0	0,084
25,0	0,098
30,0	0,116
35,0	0,132
45,0	0,150
55,0	0,161
65,0	0,168
75,0	0,172

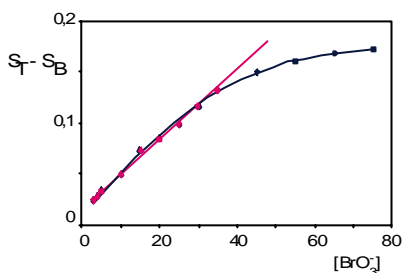


Figura 150. Influencia de la concentración de Bromato sobre la cinética de la reacción. $S_T - S_B$: valores de absorbancia para la señal total menos la señal del blanco. $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 10,5 \times 10^{-6} \text{ M}$; $\text{pH}=3,22$; $R=3,4$; $T=20^\circ\text{C}$.

Los resultados se muestran en la Tabla 32 y se representan en la Figura 150, donde puede comprobarse como hasta aproximadamente una concentración de $[\text{BrO}_3^-]$ de $35 \mu\text{g.L}^{-1}$ existe proporcionalidad directa entre el valor de la absorbancia a dicha longitud de onda y la concentración de

oxidante. Este hecho indica proporcionalidad directa entre la velocidad de la reacción y la concentración de $[\text{BrO}_3^-]$ en este margen.

Para concentraciones de oxidante superiores, en estas condiciones experimentales, a partir de $35 \mu\text{g.L}^{-1}$ la dependencia con la concentración de $[\text{BrO}_3^-]$ deja de ser lineal. Esto es debido muy probablemente a que se genera una alta concentración de [Fucsina] coloreada por lo que el proceso de decoloración con $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ afecta en mayor medida al proceso cinético total.

Los valores de ΔA , hasta concentraciones de $[\text{BrO}_3^-]$ de $35 \mu\text{g.L}^{-1}$ se ajustan a una línea recta de ecuación:

$\Delta A = (0,015 \pm 0,004) + (3,40 \pm 0,2) \times 10^{-3} [\text{BrO}_3^-]$, $\mu\text{g.L}^{-1}$ con un coeficiente de regresión lineal de 0,994 (para un 95% de fiabilidad).

La ordenada en el origen difiere de cero, para un nivel de confianza del 95%, debido a que el tiempo inicial cero no coincide con el de la mezcla de reactivos sino con el momento en que se introducen estos en el espectrofotómetro y comienza a registrarse la evolución cinética.

Lógicamente, el margen de linealidad, relación directa entre ΔA y $[\text{BrO}_3^-]$, dependerá de las variables que afectan a los procesos de oxidación y decoloración. A mayor concentración de $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$, manteniendo constantes las demás variables, en mayor extensión ocurrirá el proceso de decoloración y menor será el margen lineal.

El hecho de disminución del margen de linealidad será más acusado con el aumento de la temperatura, pues si bien se incrementa en magnitud el proceso de oxidación, también lo hace el de decoloración.

Para comprobar este hecho, se preparan disoluciones semejantes a las inicialmente indicadas, pero se termostatan a 40°C y se modifica la concentración de $[\text{BrO}_3^-]$ entre $0,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ y $80 \mu\text{g.L}^{-1}$, comprobando que el margen de linealidad se acorta a esta temperatura hasta los $25 \mu\text{g.L}^{-1}$.

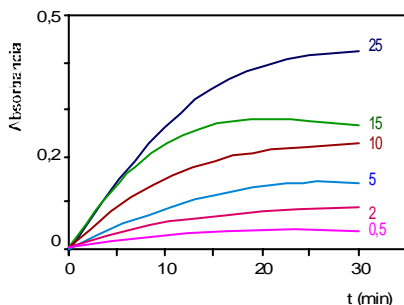


Figura 151 Evolución cinética de las disoluciones de Bromato. [Fucsina]= $30,9 \times 10^{-6} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} M$; $R = 3,4$; $pH = 3,22$; $T = 40^\circ C$.

En la Figura 151 se muestra la evolución cinética de las disoluciones cuya concentración varía desde $0,5 \mu g.L^{-1}$ hasta $25 \mu g.L^{-1}$ durante los 30 primeros minutos de la reacción.

Los valores de ΔA frente a la concentración de $[BrO_3^-]$, para diferentes tiempos de reacción: 5, 10 y 15 min, a $40^\circ C$ y para diferentes concentraciones de BrO_3^- se indican en la Tabla 33 y se representa gráficamente en la Figura 152.

Puede comprobarse como, para los tres tiempos de reacción, la absorbancia frente a la concentración de $[BrO_3^-]$, en el margen indicado, se ajusta a líneas rectas de ecuación:

$$A = 0,0195 + 0,0027 [BrO_3^-]; \quad R^2 = 0,990; \quad 5 \text{ minutos}$$

$$A = 0,0409 + 0,0047 [BrO_3^-]; \quad R^2 = 0,988; \quad 10 \text{ minutos}$$

$$A = 0,054 + 0,0056 [BrO_3^-]; \quad R^2 = 0,978 \quad 15 \text{ minutos}$$

con coeficientes de regresión ligeramente inferiores al valor obtenido en la experiencia a $20^\circ C$.

Este hecho, junto con el comprobado de que la ordenada en el origen difiere en mayor medida de cero cuanto mayor es el tiempo de reacción, se explica por el tiempo que tarda el sistema Peltier en alcanzar la temperatura programada.

Tabla 33. Influencia de la concentración de Bromato sobre la cinética de la reacción a 40 °C. Valores de absorbancia (543 nm) a 5, 10 y 15 minutos.

[BrO ₃ ⁻] µg.L ⁻¹	Absorbancia		
	5 min	10min	15min
1	0,0142	0,0292	0,0371
4	0,0294	0,0602	0,0797
6	0,0370	0,0714	0,0967
10	0,0443	0,0926	0,1181
20	0,0842	0,1518	0,1879
30	0,1042	0,1813	0,2098
40	0,1331	0,2261	0,2629
50	0,1437	0,2697	0,3437

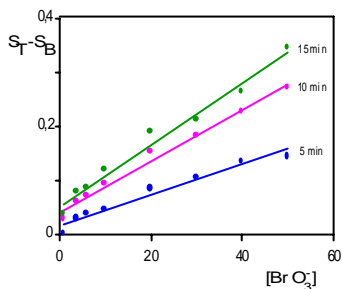


Figura 152. Influencia de la concentración de Bromato. Valores de absorbancia para la señal total menos la señal del blanco. [Fucsina] = 30,9x10⁻⁶M; [S₂O₅²⁻] =105x10⁻⁶ M; pH = 3,22; R = 3,4; T = 40 °C; tiempos de reacción: — 5 min, — 10 min, — 15 min.

Para las experiencias a 40 °C se comprueba que los valores de absorbancia obtenidos para los tiempos iniciales de reacción son más altos que los de 20 °C, pero el margen de linealidad entre ΔA y $[BrO_3^-]$ es más corto cuanto mayor es la temperatura, debido a que la reacción de decoloración se incrementa con dicha variable. Este hecho se comprueba al observar que el margen de linealidad, en la experiencia a 40 °C, se acorta, desviándose de la misma por encima de los 15 min de reacción.

Del estudio de la influencia de la concentración de $[BrO_3^-]$ se deduce que en determinadas condiciones experimentales, y a tiempos iniciales de reacción, existe proporcionalidad directa entre la velocidad de reacción de la $[Fucsina]_D$ y la concentración de oxidante, siendo la reacción de oxidación de orden 1 respecto a dicha variable. Esto nos permite proponer una ecuación con tres términos para la velocidad de reacción:

$$v_T = k_C \frac{[Fucsina]}{[H^+]^{1/2}[S_2O_5^{2-}]} + K_{OX}[H^+]^X [BrO_3^-][Fucsina]^{1/2} + k_D[H^+]^Y [S_2O_5^{2-}]^Z$$

de forma que al obtener, S_T-S_B , y trabajar en condiciones experimentales en las que el proceso de decoloración no interviene prácticamente: $v = k'_{ox}[BrO_3^-]$ siempre y cuando la concentración de $[H^+]$ se mantenga constante.

SELECTIVIDAD DE LA REACCIÓN: ESTUDIO DE INTERFERENCIAS.

Conocido el comportamiento de las diferentes variables que afectan a la cinética de oxidación de la FUCSINA DECOLORADA por BrO_3^- , el paso siguiente, con vistas a proponer un método analítico para la determinación de BrO_3^- en aguas potabilizadas mediante el empleo de O_3 , consiste en estudiar el comportamiento, frente a dicha reacción, de las especies más frecuentes que se encuentran en las aguas superficiales que entran en las estaciones de potabilización.

El estudio de las posibles interferencias se pretende realizar comparando la evolución cinética de las disoluciones conteniendo una concentración de BrO_3^- dada y diferentes concentraciones del interferente estudiado, menos una de ellas que sólo contendrá BrO_3^- .

Para no atribuir las diferencias en la señal analítica a interferencia en la reacción de oxidación de Fucsina decolorada por BrO_3^- es necesario conocer, en primer lugar, la reproducibilidad y repetitividad del método discontinuo de medida de la absorbancia a 543 nm, desde que se preparan las disoluciones de partida, pasando por los procesos de dilución, enrase e introducción en la cubeta del espectrofotómetro hasta el registro de la curva cinética durante un tiempo determinado

REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO

Se preparan 6 disoluciones, a partir de otras tantas disoluciones A, (más concentradas en Fucsina), que contienen todas ellas [Fucsina]_D: $30,2 \times 10^{-6}$ M; $[S_2O_5^{2-}]$: 105×10^{-6} M; R: 3,4 ; pH: 3,22; $[BrO_3^-]$: $10 \mu\text{g.L}^{-1}$. Se controla el tiempo transcurrido desde la homogeneización hasta la introducción en la cubeta del espectrofotómetro (1 min), que se encuentra termostatada a 40°C.

No se ha considerado conveniente seguir la evolución cinética de “un blanco”, pues sería como un caso más del estudio.

Las curvas cinéticas de las 6 disoluciones se muestran en la Figura 153 y los valores de absorbancia a 543 nm, en función del tiempo, se indican en la Tabla 34.

De la observación de la figura se deduce que la falta de reproducibilidad es más acusada cuanto mayor es el tiempo de medida.

A pesar de la problemática del proceso de coloración por dilución y cambio de pH, controlando el tiempo que transcurre desde la preparación hasta el comienzo del registro cinético, la reproducibilidad es aceptable pues se obtienen variaciones en la señal analítica a los 30 minutos, que no superan el 9% (entre el valor más alto y el más bajo).

Tabla 34. Reproducibilidad del procedimiento de preparación de disoluciones y del método de medida

t (min)	Absorbancia (543 nm)					
	Serie 1	Serie 2	Serie 3	Serie 4	Serie 5	Serie 6
0	0,0001	0,0003	0,0001	0,0001	0,0001	0,0000
1	0,0149	0,0119	0,0119	0,0134	0,0121	0,0107
2	0,0346	0,0281	0,0292	0,0312	0,0291	0,0258
3	0,0593	0,0494	0,0515	0,0534	0,0509	0,0472
4	0,0860	0,0747	0,0764	0,0791	0,0762	0,0714
5	0,1140	0,1017	0,1024	0,106	0,1023	0,0961
6	0,1424	0,1277	0,1283	0,1329	0,1293	0,1210
7	0,1688	0,1533	0,1533	0,1587	0,1548	0,1465
8	0,1942	0,1783	0,1769	0,1839	0,1799	0,1705
9	0,2171	0,2018	0,1999	0,2077	0,203	0,1934
10	0,2380	0,2241	0,2208	0,2304	0,225	0,2150
11	0,2588	0,2446	0,2404	0,2517	0,2453	0,2349
12	0,2780	0,2637	0,259	0,2717	0,2644	0,2543
13	0,2956	0,2825	0,2754	0,2905	0,2822	0,2721
14	0,3120	0,2988	0,2912	0,3077	0,2992	0,2885
15	0,3280	0,3150	0,3059	0,3244	0,3149	0,3040
16	0,3430	0,3300	0,3206	0,3400	0,3299	0,3186
17	0,3575	0,3443	0,3331	0,3548	0,3440	0,3322
18	0,3703	0,3573	0,3455	0,3694	0,3575	0,3460
19	0,3827	0,3707	0,3572	0,3828	0,3700	0,3586
20	0,3949	0,3827	0,3685	0,3956	0,3818	0,3704
21	0,4061	0,3944	0,3789	0,4079	0,3934	0,3819
22	0,417	0,4050	0,3889	0,4202	0,4044	0,3929
23	0,4276	0,4160	0,3989	0,4310	0,4151	0,4030
24	0,4374	0,4260	0,4083	0,4418	0,4245	0,4134
25	0,4476	0,4357	0,4171	0,4524	0,4343	0,4227
26	0,4564	0,4450	0,4260	0,4622	0,4437	0,4321
27	0,4653	0,4540	0,4339	0,4712	0,4529	0,4409
28	0,4734	0,4627	0,4425	0,4806	0,4606	0,4489
29	0,4821	0,4715	0,4503	0,4901	0,4693	0,4572
30	0,4902	0,4792	0,4574	0,4982	0,4770	0,4654

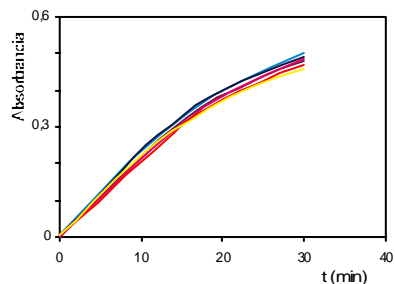


Figura 153. Evolución cinética de las disoluciones preparadas para el estudio de la reproducibilidad. $[Fucsina] = 30,9 \times 10^{-6} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} M$; $R = 3,4$; $[BrO_3^-] = 10 \mu g \cdot L^{-1}$; $T = 40^\circ C$

INTERFERENCIAS

Para el estudio de interferencias se tienen en cuenta los parámetros que exige controlar la legislación actual para un agua potable (B.O.E. n° 45, 2003). En todos los casos, cationes y aniones, las concentraciones ensayadas se varían incluso por encima del llamado valor paramétrico (nivel máximo permitido).

El estudio se realiza preparando en cada serie, catión o anión estudiado, disoluciones conteniendo en todos los casos:

[Fucsina] = $30,9 \times 10^{-6}$ M; $[S_2O_3^{2-}] = 105 \times 10^{-6}$ M; R = 3,4; $[BrO_3^-] = 10$ $\mu\text{g.L}^{-1}$; pH = 3,22.

A una de las disoluciones no se le añade el catión o anión interferente (disolución testigo) y a las otras se le añade en cantidades crecientes. Para la preparación de las disoluciones y su dilución se utiliza agua bidestilada y se emplearon iones inorgánicos, partiendo siempre de sus sales solubles en agua.

A la vista del estudio sobre la reproducibilidad, se considera que una especie constituye interferencia, cuando la variación de señal analítica, respecto a la disolución testigo, a los 30 minutos, supere el 9%.

Especies catiónicas

Como ejemplo de los cationes ensayados se muestran los resultados obtenidos para el Al^{3+} (Tabla 35 y Figura 154) donde se puede comprobar como no interfiere en la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- , incluso para concentraciones de $350 \mu\text{g.L}^{-1}$, superiores claramente al “valor paramétrico” ($200 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Tabla 35. Estudio de interferencias. Valores de absorbancia a 543 nm para disoluciones en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de ALUMINIO.

t (min)	Absorbancia (543 nm)					
	[Al ³⁺], µg.L ⁻¹					
	0	57	91	171	228	350
0	0,0002	-0,0001	0,0003	0,0001	0,0002	0,0001
1	0,0150	0,0139	0,0147	0,0136	0,0157	0,0149
2	0,0339	0,0328	0,0321	0,0345	0,0336	0,0335
3	0,0589	0,0583	0,0577	0,0592	0,0584	0,0596
4	0,0861	0,0859	0,0846	0,0851	0,0859	0,0853
5	0,1125	0,1102	0,0107	0,1136	0,1114	0,0109
7	0,1701	0,1697	0,1648	0,1753	0,1706	0,1688
8	0,1913	0,1868	0,1823	0,1943	0,1818	0,1911
10	0,2401	0,2397	0,2346	0,2420	0,2406	0,2389
12	0,2743	0,2730	0,2760	0,2803	0,2794	0,2695
14	0,3098	0,3060	0,3105	0,3046	0,3075	0,3100
16	0,3427	0,3406	0,3480	0,3511	0,3409	0,3508
18	0,3711	0,3708	0,3820	0,3765	0,3811	0,3708
20	0,3960	0,3930	0,4060	0,4088	0,3990	0,4001
22	0,4183	0,4146	0,4188	0,4230	0,4215	0,4190
24	0,4401	0,4398	0,4376	0,4450	0,4344	0,4378
26	0,4573	0,4516	0,4590	0,4630	0,4566	0,4588
28	0,4788	0,4748	0,4860	0,4821	0,4753	0,4711
30	0,5001	0,4957	0,5213	0,5215	0,4996	0,4973

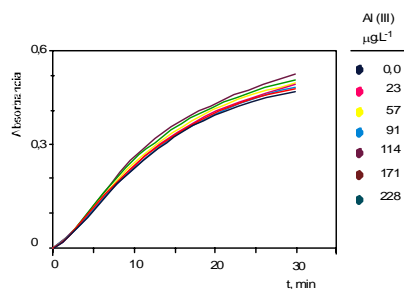


Figura 154. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones sin y con Al³⁺ en diferentes concentraciones. [Fucsina] = 30,9x10⁻⁶M; [S₂O₅²⁻] = 105x10⁻⁶ M; R = 3,4; [BrO₃⁻] = 20 µg.L⁻¹; T= 40°C.

A una conclusión similar se llega al estudiar Mg²⁺ y Zn²⁺, hasta concentraciones máximas de 300 mg.L⁻¹ y 8 mg.L⁻¹, respectivamente. Las curvas cinéticas de las diferentes experiencias se muestran en la Figura 155, a y b; no se muestran los valores de absorbancia por haber explicado ya con el Al³⁺ el método experimental.

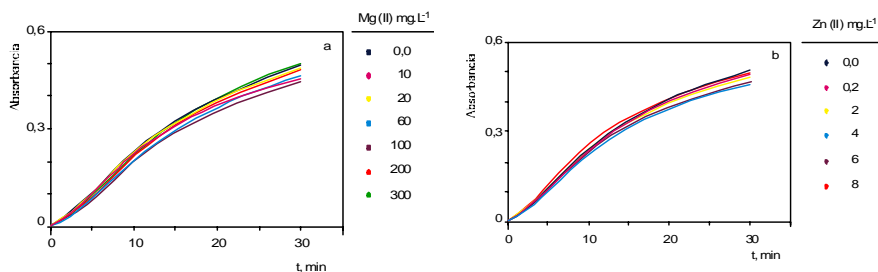


Figura 155 a y b. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones sin y con Mg^{2+} (a) y sin y con Zn^{2+} (b) en diferentes concentraciones. $[Fucsina] = 30,9 \times 10^{-6} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} M$; $R = 3,4$; $[BrO_3^-] = 20 \mu g.L^{-1}$; $T = 40^\circ C$.

Por esa misma razón, los resultados obtenidos para el resto de cationes estudiados, salvo para el Fe^{3+} , se muestran en la Tabla 36, donde se indica la concentración máxima estudiada para la cual cada catión no afecta al proceso de oxidación estudiado. Esto no indica que por encima de este valor ya interfieran los cationes estudiados, solo confirmamos que para valores muy superiores a los denominados paramétricos no interfieren.

Tabla 36. Interferentes catiónicos en la reacción de oxidación de Fucsina decolorada por BrO_3^-

Interferente	No interfiere hasta concentración \leq	Valor paramétrico
NH_4^+	5 mg.L ⁻¹	0,5 mg.L ⁻¹
Na^+	400 mg.L ⁻¹	200 mg.L ⁻¹
Cu^{2+}	5 mg.L ⁻¹	2 mg.L ⁻¹
Ca^{2+}	400 mg.L ⁻¹	-
Mg^{2+}	300 mg.L ⁻¹	-
Zn^{2+}	8 mg.L ⁻¹	-
Al^{3+}	350 $\mu g.L^{-1}$	200 $\mu g.L^{-1}$
Mn^{2+}	230 $\mu g.L^{-1}$	50 $\mu g.L^{-1}$
Cd^{2+}	250 $\mu g.L^{-1}$	5 $\mu g.L^{-1}$

El caso del Fe^{3+} , al ser distinto, va a ser comentado con mayor extensión. En la Figura 156 se muestra el desarrollo cinético hasta los 30

minutos, de la disolución que no contiene Fe^{3+} (recordemos que sí BrO_3^-) y de las que sí lo contienen en concentraciones crecientes desde $28 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ hasta $168 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

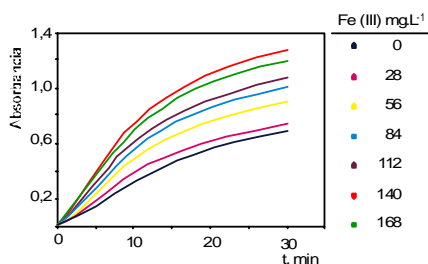


Figura 156. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones sin y con Fe^{3+} en diferentes concentraciones. $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} \text{ M}$; $R = 3,4$; $[\text{BrO}_3^-] = 20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $T = 40^\circ\text{C}$

La interferencia positiva no puede atribuirse a que el Fe^{3+} (en forma de complejo clorurado de color amarillo) absorba a 543 nm , como se comprueba experimentalmente, pues los valores de absorbancia a tiempos iniciales de hasta 1 minuto, no difieren de manera proporcional a la concentración de catión metálico.

La interferencia puede estar motivada por el hecho de que el Fe^{3+} sea capaz de oxidar a la Fucsina decolorada o bien reaccionar con $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ (en realidad con SO_3^{2-}), pues la concentración de Fe^{3+} en las experiencias es mayor que la de reductor, por lo que el proceso de coloración espontánea se incrementa al desaparecer el exceso de reductor. En este último caso, el Fe^{2+} no tendría suficiente poder reductor para mantener la concentración de Fucsina decolorada en sus valores iniciales. Nos inclinamos por la segunda reacción. El comportamiento del Fe^{3+} es independiente de la concentración de BrO_3^- como se demuestra al preparar disoluciones iguales pero sin contener BrO_3^- , y desarrollar la evolución cinética (Figura 157). A medida que aumenta la concentración de Fe^{3+} , se incrementa con el tiempo la concentración de la forma coloreada de la Fucsina llegando a completarse el proceso de coloración a partir de los $540 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe^{3+} antes de los 30 minutos. Este tiempo se hace más pequeño cuanto mayor es la concentración del catión.

Puede comprobarse fácilmente como, a medida que aumenta la concentración de Fe^{3+} , se incrementa la cantidad de Fucsina coloreada, para un tiempo dado, interfiriendo muy claramente en la reacción de oxidación de Fucsina decolorada por BrO_3^- .

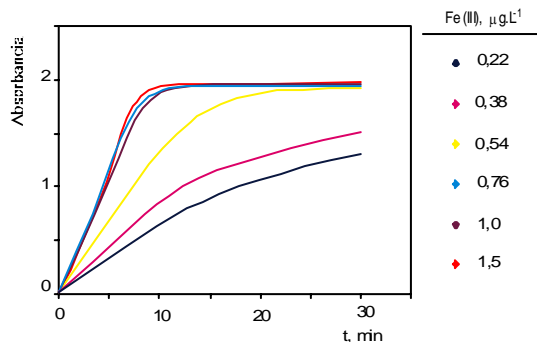


Figura 157. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones conteniendo diferentes concentraciones de Fe^{3+} y en ausencia de BrO_3^- . $[Fucsina] = 30,9 \times 10^{-6} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} M$; $R = 3,4$; $pH = 3,22$; $T = 40^\circ C$.

Sea cual sea la curva de la interferencia positiva del Fe^{3+} es necesario enmascararla pues todas las aguas de consumo contienen dicha especie.

Para comprobar la eficacia de la complejación se preparan, a partir de citrato y de HCl, disoluciones ajustadas a pH 3,22 ($pK_1=3,2$) cuya misión no es tamponar (capacidad tamponante pequeña), sino complejar el Fe^{3+} , pero que es necesario ajustarlas al mismo pH considerado como óptimo para la cinética de oxidación de Fucsina decolorada, por BrO_3^- .

Para rebajar el potencial redox del sistema Fe^{3+}/Fe^{2+} se ensayaron como complejantes fluoruro, hidroxilamina y citrato. Los mejores resultados se obtuvieron con el último complejante y son los que se van a comentar

En la Figura 158 se muestra la evolución cinética de las 5 disoluciones que contienen todas ellas $[Fucsina] = 30,9 \times 10^{-6} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} M$ y $[BrO_3^-] = 20 \mu g.L^{-1}$ a $pH = 3,22$. Una de las disoluciones considerada como testigo no contiene Fe^{3+} , las otras cuatro contienen todas ellas $380 \mu g.L^{-1}$ de Fe^{3+} y concentraciones de citrato (predomina a este pH, ácido cítrico y bicitrato) crecientes desde 0,04 M hasta 0,4 M

Tabla 37. Estudio de interferencias. Valores de absorbancia a 543 nm para disoluciones en ausencia y presencia de $380 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe^{3+} y diferentes concentraciones de citrato.

t (min)	Absorbancia (543 nm)				
	Citrato (M)				
	0	0,04	0,10	0,16	0,40
0	0,0001	0,0000	-0,0004	-0,0001	0,0014
1	0,0149	0,0122	0,0090	0,0083	0,0058
2	0,0346	0,0302	0,0243	0,0233	0,0173
3	0,0593	0,0518	0,0436	0,0415	0,0325
4	0,0860	0,0750	0,0667	0,0630	0,0496
5	0,1140	0,0995	0,0922	0,0856	0,0692
6	0,1424	0,1254	0,1163	0,1090	0,0904
7	0,1688	0,1504	0,1417	0,1334	0,1126
8	0,1942	0,1749	0,1666	0,1575	0,1351
9	0,2171	0,1980	0,1908	0,1813	0,1576
10	0,2380	0,2199	0,2139	0,2052	0,1796
11	0,2588	0,2408	0,2364	0,2276	0,2016
12	0,2780	0,2606	0,2572	0,2490	0,2221
13	0,2956	0,2792	0,2768	0,2695	0,2420
14	0,3120	0,2971	0,2954	0,2889	0,2617
15	0,3280	0,3139	0,3136	0,3080	0,2806
16	0,3430	0,3290	0,3303	0,3260	0,2986
17	0,3575	0,3439	0,3471	0,3428	0,3157
18	0,3703	0,3584	0,3624	0,3598	0,3327
19	0,3827	0,3720	0,3780	0,3756	0,3483
20	0,3949	0,3852	0,3921	0,3915	0,3649
21	0,4061	0,3977	0,4057	0,4062	0,3787
22	0,4170	0,4100	0,4189	0,4203	0,3927
23	0,4276	0,4207	0,4317	0,4342	0,4075
24	0,4374	0,4317	0,4430	0,4469	0,4206
25	0,4476	0,4423	0,4550	0,4597	0,4341
26	0,4564	0,4528	0,4660	0,4709	0,4469
27	0,4653	0,4625	0,4766	0,4834	0,4594
28	0,4734	0,4721	0,4868	0,4945	0,4715
29	0,4821	0,4811	0,4958	0,5054	0,4834
30	0,4902	0,4901	0,5057	0,5153	0,4943

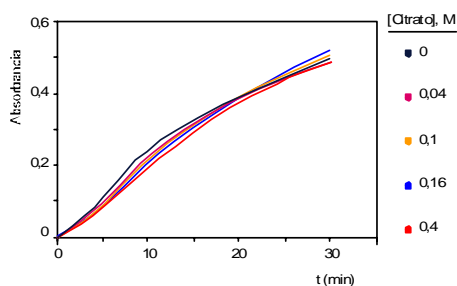


Figura 158. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones en ausencia y presencia de $380 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe^{3+} y diferentes concentraciones de citrato. $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} \text{ M}$; $R = 3,4$; $[\text{BrO}_3^-] = 20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $T = 40^\circ\text{C}$.

De los valores de absorbancia, Tabla 37, con el tiempo o de la observación de la Figura 158, desarrollo cinético, se deduce que la presencia de especies de citrato elimina la interferencia de Fe^{3+} .

Para confirmar este extremo, se preparan 7 disoluciones conteniendo además de $[\text{Fucsina}]_D$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$ y $[\text{BrO}_3^-]$ en las concentraciones ya indicadas,

diferentes concentraciones de hierro desde 40 hasta 600 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (el valor paramétrico es 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$) y una sin catión estudiado. Todas las disoluciones contienen especies de citrato en concentración analítica total 0,4 M

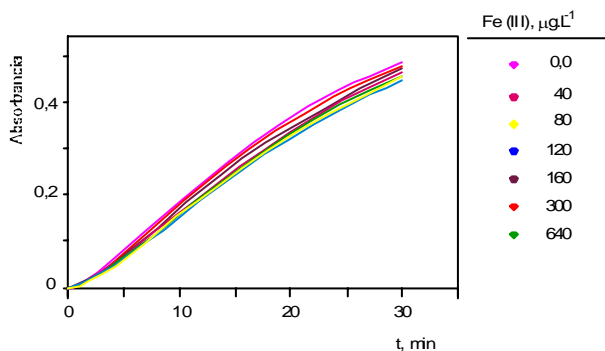


Figura 159. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de Fe^{3+} . $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} \text{ M}$; $R = 3,4$; $[\text{BrO}_3^-] = 20 \mu\text{g.L}^{-1}$; $T = 40^\circ\text{C}$ y $[\text{Citrato}] = 0,4 \text{ M}$.

Introducidas en la celda del espectrofotómetro, termostatada a 40 °C, se registran las curvas cinéticas durante 30 minutos (Figura 159) siendo coincidentes y no superando variaciones en los valores de absorbanza superiores al 9%.

Especies aniónicas

El estudio de interferencia de los ANIONES se realiza en las mismas condiciones experimentales indicadas para los cationes.

Todas las disoluciones contienen $[\text{Fucsina}]$: $30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$: $105 \times 10^{-6} \text{ M}$, $R = 3,4$ y $\text{pH} = 3,22$ y además $[\text{BrO}_3^-] = 20 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Se preparan series de disoluciones conteniendo diferentes concentraciones del ANIÓN estudiado, salvo una, la denominada “testigo” que no lo contiene.

Al igual que en el estudio de los CATIONES, se considera interferencia cuando la señal analítica difiere en un 9% o más, a los 30 minutos de evolución cinética.

A título de ejemplo del estudio, en la Tabla 38 se muestran los valores de absorbancia a 543 nm obtenidos para disoluciones conteniendo F^- desde 0 hasta 2,6 $mg.L^{-1}$ (el nivel paramétrico es 1,5 $mg.L^{-1}$) y termostatando a 40 °C. Puede observarse a partir de los valores a 30 minutos, como la diferencia es atribuible a la imprecisión del método y en ningún caso es superior al 9%.

En la Figura 160 se han representado las curvas de evolución cinética.

Tabla 38. Estudio de interferencias. Valores de absorbancia a 543 nm para disoluciones en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de F^- .

t (min)	Absorbancia (543 nm)				
	[F^-] ($mg.L^{-1}$)				
	0	0,4	0,8	1,2	2,6
0	0,0003	0,0002	0,0003	0,0001	0,0001
1	0,0178	0,0149	0,0119	0,0181	0,0119
2	0,0389	0,0324	0,0282	0,0398	0,0293
3	0,0649	0,0562	0,0479	0,0664	0,0513
4	0,0948	0,0842	0,0710	0,0967	0,0788
5	0,1265	0,1149	0,0985	0,1295	0,1080
6	0,1563	0,1435	0,1281	0,1627	0,1381
7	0,1851	0,1721	0,1567	0,1946	0,1676
8	0,2133	0,2001	0,1844	0,2233	0,1963
9	0,2377	0,2260	0,2096	0,2494	0,2234
10	0,2611	0,2498	0,2331	0,2741	0,2490
11	0,2831	0,2722	0,2553	0,2972	0,2732
12	0,3036	0,2932	0,2764	0,3194	0,2955
13	0,3240	0,3119	0,2963	0,3403	0,3170
14	0,3408	0,3297	0,3143	0,3588	0,3366
15	0,3572	0,3459	0,3315	0,3764	0,3549
16	0,3721	0,3616	0,3481	0,3920	0,3722
17	0,3856	0,3758	0,3628	0,4070	0,3881
18	0,3983	0,3889	0,3773	0,4203	0,4034
19	0,4101	0,4012	0,3909	0,4331	0,4171
20	0,4211	0,4125	0,4030	0,4450	0,4299
21	0,4316	0,4231	0,4147	0,4556	0,4421
22	0,4414	0,4330	0,4254	0,4659	0,4538
23	0,4504	0,4427	0,4359	0,4759	0,4645
24	0,4593	0,4515	0,4455	0,4848	0,4748
25	0,4674	0,4598	0,4549	0,4936	0,4842
26	0,4750	0,4674	0,4634	0,5009	0,4938
27	0,4827	0,4748	0,4717	0,5090	0,5024
28	0,4893	0,4820	0,4802	0,5161	0,5110
29	0,4961	0,4887	0,4871	0,5232	0,5189
30	0,5033	0,4957	0,4950	0,5303	0,5273

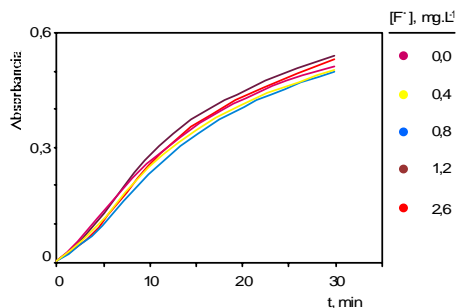


Figura 160. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones en ausencia y presencia de F^- a diferentes concentraciones. [$Fucsina$] = $30,9 \times 10^{-6} M$; [$S_2O_5^{2-}$] = $105 \times 10^{-6} M$; $R = 3,4$; [BrO_3^-] = $20 \mu g.L^{-1}$; $T = 40^\circ C$

En la Figura 161 se muestra la evolución cinética, a 40°C, de disoluciones conteniendo diferentes concentraciones de NITRATO y CLORATO, concentraciones a las cuales no interfieren en la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- .

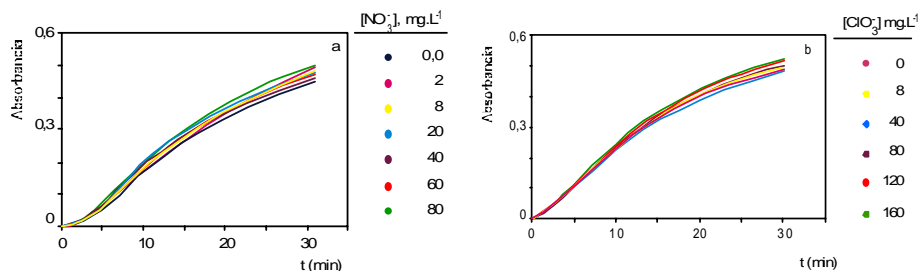


Figura 161. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones en ausencia y presencia de Nitrato (a) y de Clorato (b) a diferentes concentraciones. $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} \text{M}$; $R = 3,4$; $[\text{BrO}_3^-] = 20 \mu\text{g.L}^{-1}$; $T = 40^\circ\text{C}$

El segundo de los aniones, ClO_3^- , para concentraciones superiores a 2 mg.L^{-1} interfiere de manera positiva en la reacción (Figura 162), por oxidar directamente a la Fucsina decolorada o reaccionar, a pH 3,22 con $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ acelerando el proceso de coloración espontánea. No obstante, es discutible o poco probable la presencia de este anión en aguas potabilizadas a concentraciones superiores a 2,0 mg.L^{-1}

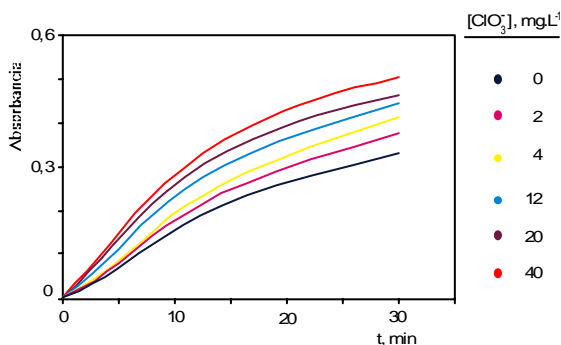


Figura 162. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones en ausencia y presencia de clorato para concentraciones elevadas del ión. $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 105 \times 10^{-6} \text{M}$; $R = 3,4$; $[\text{BrO}_3^-] = 20 \mu\text{g.L}^{-1}$; $T = 40^\circ\text{C}$

Con el objetivo de no ser reiterativos, el estudio de las interferencias de los otros aniones se refleja en la Tabla 39, indicando los aniones estudiados y el nivel máximo de concentración ensayado para el cual no interfieren.

Tabla 39. Interferencias aniónicas.

ANIÓN	No interfiere hasta concentraciones \leq	Valor paramétrico
F ⁻	2,6 mg.L ⁻¹	1,5 mg.L ⁻¹
Cl ⁻	350 mg.L ⁻¹	250 mg.L ⁻¹
Br ⁻	80 mg.L ⁻¹	-
NO ₃ ⁻	100 mg.L ⁻¹	50 mg.L ⁻¹
*ClO ₃ ⁻	2 mg.L ⁻¹	-
SO ₄ ²⁻	400 mg.L ⁻¹	250 mg.L ⁻¹
PO ₄ ³⁻	16 mg.L ⁻¹	-

* Para cantidades superiores, interfiere.

Interferencia del ión ClO₂⁻

El caso del ClO₂⁻ hemos preferido comentarlo por separado pues tiene un comportamiento químico particular cuando se añade sobre una disolución que contiene a pH: 3,22, Fucsina decolorada, Metabisulfito y Bromato.

Es bien conocido el hecho químico de que las disoluciones de BrO₃⁻ más ClO₂⁻ son inestables por reaccionar entre sí, razón por la cual en los métodos experimentales en los que se determinan, los patrones se preparan por separado.

En la Tabla 40 se muestran los valores de absorbancia de diferentes disoluciones conteniendo cantidades crecientes de ClO₂⁻ desde 0 hasta 160 µg.L⁻¹ y 20 µg.L⁻¹ de BrO₃⁻, cuando evolucionan con el tiempo a 25°C. Se muestra en dicha tabla también la evolución del “blanco” (sin ClO₂⁻ ni BrO₃⁻) (proceso espontáneo decoloración). La evolución cinética se representa en la Figura 163.

Tabla 40. Estudio de interferencias. Valores de absorbancia a 543 nm para disoluciones en ausencia y presencia de diferentes concentraciones de ClO_2^- .

t (min)	Absorbancia (543 nm)						Sin BrO_3^-
	$[\text{ClO}_2^-]$ ($\mu\text{g.L}^{-1}$)						
	0	8	40	80	120	160	
0	0,0006	0,0001	-	0,0007	0,0003	0,0001	0,0001
1	0,0115	0,0091	0,006	0,0049	0,0049	0,0053	0,0056
2	0,0205	0,016	0,0119	0,0102	0,0095	0,0103	0,0088
3	0,0294	0,0233	0,0177	0,0148	0,0134	0,0143	0,0127
4	0,0381	0,0303	0,0236	0,0187	0,0176	0,0178	0,0156
5	0,0456	0,0372	0,0285	0,0230	0,0216	0,0222	0,0186
6	0,0528	0,0434	0,0339	0,0288	0,0252	0,0254	0,0220
7	0,0596	0,0497	0,0390	0,0318	0,0294	0,0294	0,0247
8	0,0666	0,0556	0,0440	0,0361	0,0320	0,0322	0,0280
9	0,0733	0,0618	0,0489	0,0403	0,0360	0,0364	0,0310
10	0,0812	0,0672	0,0536	0,0443	0,0391	0,0393	0,0335
11	0,0871	0,0723	0,0578	0,0482	0,0432	0,0423	0,0364
12	0,0936	0,0771	0,0625	0,0524	0,0463	0,0461	0,0393
13	0,0987	0,0833	0,0674	0,0560	0,0496	0,0491	0,0416
14	0,1048	0,0879	0,0715	0,0594	0,0529	0,0524	0,0445
15	0,1100	0,0923	0,0758	0,0634	0,0551	0,0554	0,0467
16	0,1154	0,0970	0,0790	0,0668	0,0594	0,0585	0,0490
17	0,1198	0,1009	0,0829	0,0705	0,0618	0,0608	0,0517
18	0,1243	0,1056	0,0869	0,0737	0,0654	0,0637	0,0543
19	0,1298	0,1095	0,0900	0,0767	0,0681	0,0665	0,0572
20	0,1337	0,1127	0,0942	0,0810	0,0711	0,0701	0,0605
21	0,1383	0,1174	0,0974	0,0839	0,0742	0,0724	0,0625
22	0,1418	0,1203	0,1006	0,0874	0,0778	0,0756	0,0645
23	0,1457	0,1242	0,1040	0,0912	0,0795	0,0782	0,0678
24	0,1497	0,1273	0,1063	0,0938	0,0822	0,0811	0,0698
25	0,1526	0,1303	0,1095	0,0972	0,0855	0,0833	0,0724
26	0,1572	0,1330	0,1123	0,0997	0,0876	0,0851	0,0748
27	0,1599	0,1367	0,1155	0,1026	0,0902	0,0885	0,0771
28	0,1631	0,1397	0,1178	0,1059	0,0930	0,0902	0,0795
29	0,1658	0,1427	0,1198	0,1009	0,0961	0,0927	0,0813
30	0,1694	0,1452	0,1227	0,1114	0,0986	0,0945	0,0833

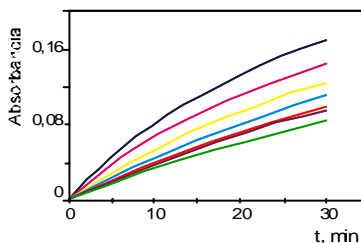


Figura 163. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones en ausencia y presencia de ClO_2^- a diferentes concentraciones. $[\text{Fucsina}] = 30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_3^{2-}] = 105 \times 10^{-6} \text{ M}$; $R = 3,4$; $[\text{BrO}_3^-] = 20 \mu\text{g.L}^{-1}$; $T = 25^\circ\text{C}$. $[\text{ClO}_2^-] = (\bullet \text{ } 0,0; \bullet \text{ } 8; \bullet \text{ } 40; \bullet \text{ } 80; \bullet \text{ } 120; \bullet \text{ } 160) \mu\text{g.L}^{-1}$

Puede comprobarse como, efectivamente, cuanto mayor es la concentración de ClO_2^- más afecta negativamente a la señal que se obtiene en ausencia de dicho analito, lo que de alguna manera muestra que el ClO_2^- reacciona con BrO_3^- y se acerca a la señal que se obtiene para el “blanco” (disolución sin ClO_2^- ni BrO_3^-).

Las mismas disoluciones, aunque algunas de ellas con mayor concentración de ClO_2^- , termostatadas a 40°C (temperatura a la que se han estudiado todas las interferencias) evolucionan con el tiempo prácticamente de la misma manera que lo hace la disolución que no contiene ClO_2^- . Esto es, el ClO_2^- no constituye interferencia en la reacción entre Fucsina decolorada y BrO_3^- , a 40°C , al menos hasta $2000 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Figura 164)

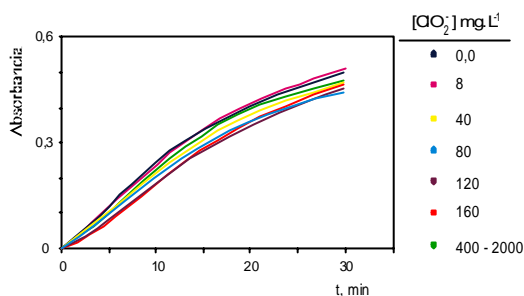


Figura 164. Estudio de interferencias. Evolución cinética de disoluciones en ausencia y presencia de ClO_2^- a diferentes concentraciones.

Este hecho puede ser explicado si se tiene en cuenta que existen varias reacciones competitivas y que parece ser que la temperatura aumenta mucho más la oxidación de Fucsina decolorada por BrO_3^- que la reacción entre éste y ClO_2^- .

Un comportamiento similar será expuesto más adelante cuando se trate la reacción entre o-dianisidina y BrO_3^- (en medio ácido y en presencia de Br^- en exceso), donde se demostrará la diferente influencia de la temperatura sobre la misma reacción pero con ClO_2^- en vez de con BrO_3^- .

En definitiva, de los oxihaluros que aparecen en las aguas potabilizadas como subproductos de la desinfección biológica (DBPs), ClO_3^- y ClO_2^- (tanto si se tratan con ClO_2 como con NaClO), en la reacción entre BrO_3^- y Fucsina decolorada, a pH: 3,22 y 40°C , solo interfieren si $[\text{ClO}_3^-] > 2\text{mg.L}^{-1}$ y si

$[\text{ClO}_2^-] > 2\text{mg.L}^{-1}$ (valor comprobado experimentalmente). Este último analito según la legislación vigente es obligatorio analizarlo en aguas potables que han sido sometidas a tratamiento con dióxido de cloro, sorprendentemente no se exige un valor paramétrico.

Una revisión bibliográfica sobre valores habituales, de ClO_3^- y ClO_2^- , en aguas potabilizada, con dióxido de cloro o hipoclorito sódico muestra que estos nunca superan los $100 \mu\text{g.L}^{-1}$.

CALIBRADO ANALÍTICO

El objetivo del estudio de la cinética de la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- , era conocer en la mayor medida posible las variables que afectan a las tres reacciones implicadas en el proceso final.

El proceso de coloración, al diluir una disolución madre de Fucsina decolorada plantea serios problemas para realizar las medidas experimentales de absorbancia a 543 nm , lo que solamente se resolvería con un método cinético a tiempo prefijado. De ahí que la determinación de BrO_3^- en aguas potabilizadas sea abordada en apartados posteriores mediante metodología de Análisis por Inyección en Flujo.

La obtención de calibrados analíticos en discontinuo está condicionada no solo por el riguroso control de tiempos de reacción, sino también por trabajar en condiciones experimentales en las que el valor de la señal analítica medida sea proporcional a la concentración del analito medida, BrO_3^- . Este último requisito no es sencillo para reacciones de cinética compleja donde el reactivo que va a ser oxidado interviene en otras dos reacciones parásitas y además de signo contrario.

La dificultad de la medida a tiempo prefijado puede ser obviada si se trabaja en condiciones experimentales tales que se alcance constancia en la señal

analítica a partir de los 30 minutos, a pH 3,22 o a partir de 60 minutos a pH ligeramente superior (como se ha demostrado en algunas experiencias).

El inconveniente de trabajar en dichas condiciones experimentales, además de la lentitud, estriba en la baja sensibilidad obtenida, pues en esas condiciones la reacción de oxidación es de escasa magnitud.

Por estas razones se ha preferido buscar las condiciones experimentales de máxima sensibilidad, que además permiten obtener medidas del producto de la reacción de oxidación a tiempos inferiores a los 30 minutos, a expensas de incrementar la falta de reproducibilidad de la medida final por ser mayor el error de tiempos cometido.

Se preparan disoluciones conteniendo todas ellas $[Fucsina]_D = 30,9 \times 10^{-6} \text{ M}$, $[S_2O_3^{2-}] = 105 \times 10^{-6} \text{ M}$, por tanto un valor de $R = 3,4$; $pH = 3,22$; $[Citrato]' = 0,4 \text{ M}$ y $[BrO_3^-]$ desde 3 hasta $60 \mu\text{g.L}^{-1}$. La adición de BrO_3^- se realiza en último lugar antes de homogeneizar, momento en que se introduce una porción en la célula del espectrofotómetro que se encuentra termostatada a 40°C .

De modo paralelo se prepara una disolución que conteniendo los mismos reactivos, en las mismas concentraciones, no contenga BrO_3^- , disolución "blanco".

La disolución del blanco y del patrón de BrO_3^- se introducen a la vez, al minuto justo de la homogeneización, en dos células termostatadas a 40°C y se registra la evolución cinética de ambas, recabando valores de absorbancia a 543 nm hasta los 30 minutos.

Por razones obvias, cada patrón de BrO_3^- se prepara por separado antes de registrar su evolución cinética.

En la Tabla 41 se indican los valores de absorbancia de la disolución patrón menos los del blanco ($S_T - S_B$). En la Figura 165 aparecen representadas las evoluciones de $(S_T - S_B)$ frente al tiempo.

Tabla 41. Calibrado analítico. Valores de absorbancia (S_T-S_B) a 543 nm, con el tiempo para disoluciones patrón de BrO_3^- de 3 $\mu g.L^{-1}$, 5 $\mu g.L^{-1}$, 10 $\mu g.L^{-1}$, 15 $\mu g.L^{-1}$, 20 $\mu g.L^{-1}$.

Absorbancia (S_T-S_B) (543 nm)					
t (min)	$[BrO_3^-]$ ($\mu g.L^{-1}$)				
	3	5	10	15	20
0	-0,0005	-0,0006	-0,0006	-0,0003	-0,0004
1	-0,0045	-0,0069	-0,0039	-0,0024	-0,0005
2	-0,0059	-0,0075	0,0005	0,0041	0,0093
3	-0,0026	-0,0029	0,0107	0,0174	0,0274
4	0,0040	0,0060	0,0251	0,0357	0,0510
5	0,0122	0,0174	0,0421	0,0558	0,0750
6	0,0204	0,0282	0,0576	0,0754	0,0990
7	0,0286	0,0383	0,0730	0,0928	0,1216
8	0,0367	0,0490	0,0877	0,1099	0,1420
9	0,0444	0,0592	0,1011	0,1259	0,1611
10	0,0519	0,0682	0,1134	0,1404	0,1785
11	0,0584	0,0771	0,1243	0,1523	0,1924
12	0,0643	0,0845	0,1343	0,1638	0,2061
13	0,0695	0,0908	0,1414	0,1722	0,2167
14	0,0746	0,0967	0,1496	0,1809	0,2277
15	0,0799	0,1021	0,1564	0,1890	0,2371
16	0,0839	0,1075	0,1622	0,1955	0,2455
17	0,0871	0,1111	0,1675	0,2007	0,2523
18	0,0910	0,1155	0,1722	0,2065	0,2587
19	0,0941	0,1188	0,1772	0,2114	0,2639
20	0,0970	0,1223	0,1804	0,2149	0,2685
21	0,0999	0,1257	0,1834	0,2184	0,2725
22	0,1021	0,1281	0,1870	0,2211	0,2752
23	0,1047	0,1299	0,1894	0,2234	0,2784
24	0,1064	0,1321	0,1907	0,2252	0,2802
25	0,1088	0,1347	0,1933	0,2268	0,2818
26	0,1102	0,1366	0,1947	0,2282	0,2840
27	0,1126	0,1382	0,1959	0,2291	0,2842
28	0,1147	0,1398	0,1970	0,2299	0,2852
29	0,1166	0,1414	0,1984	0,2308	0,2859
30	0,1181	0,1431	0,1991	0,2314	0,2858

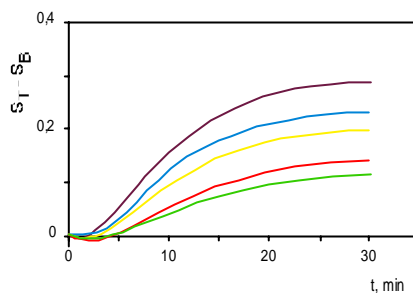


Figura 165. Calibrado analítico. Evolución cinética de patrones de BrO_3^- : 3 $\mu g.L^{-1}$, 5 $\mu g.L^{-1}$, 10 $\mu g.L^{-1}$, 15 $\mu g.L^{-1}$, 20 $\mu g.L^{-1}$. $[BrO_3^-]$ = (● 3; ● 5; ● 10; ● 15; ● 20) $\mu g.L^{-1}$

Los valores de $A(S_T-S_B)$, a diferentes tiempos de reacción, Tabla 42, representados frente a la concentración de BrO_3^- , se ajustan a líneas rectas, Figura 166, hasta 20 $\mu g.L^{-1}$; desviándose de la linealidad a concentraciones superiores.

Tabla 42. Calibrado analítico. Valores de S_T-S_B a diferentes tiempos de reacción y diferentes concentraciones de BrO_3^- .

BrO_3^- $\mu g.L^{-1}$	Absorbancia (S_T-S_B)					
	Tiempo (minutos)					
	5	10	15	20	25	30
3	0,0122	0,0519	0,0799	0,0970	0,1088	0,1181
5	0,0174	0,0682	0,1021	0,1223	0,1347	0,1431
10	0,0421	0,1134	0,1564	0,1804	0,1933	0,1991
15	0,0558	0,1404	0,1890	0,2149	0,2268	0,2314
20	0,0750	0,1785	0,2371	0,2685	0,2818	0,2858

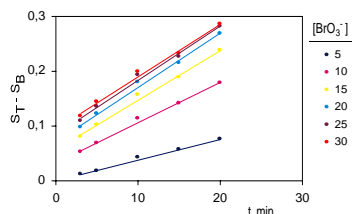


Figura 166. Calibrados analíticos a diferentes tiempos de reacción y diferentes concentraciones de BrO_3^-

Las ecuaciones para los calibrados a diferentes tiempos se indican a continuación:

t (min)	Ecuación	R ²	Ordenada	Pendiente
5	$S_T-S_B = 0,001 + 0,0037 [BrO_3^-]$	0,992	$0,001 \pm 0,007$	$0,0037 \pm 0,0006$
10	$S_T-S_B = 0,03 + 0,007 [BrO_3^-]$	0,994	$0,03 \pm 0,01$	$0,007 \pm 0,001$
15	$S_T-S_B = 0,06 + 0,009 [BrO_3^-]$	0,993	$0,06 \pm 0,02$	$0,009 \pm 0,001$
20	$S_T-S_B = 0,07 + 0,010 [BrO_3^-]$	0,993	$0,07 \pm 0,02$	$0,010 \pm 0,002$
25	$S_T-S_B = 0,08 + 0,010 [BrO_3^-]$	0,992	$0,08 \pm 0,02$	$0,010 \pm 0,002$
30	$S_T-S_B = 0,09 + 0,010 [BrO_3^-]$	0,992	$0,09 \pm 0,02$	$0,010 \pm 0,002$

S_T-S_B = Absorbancia (señal total - señal del blanco)
 $[BrO_3^-]$: $\mu g.L^{-1}$

Los coeficientes de regresión lineal son muy favorables (para un 95% de fiabilidad) pero la ordenada en el origen difiere del cero (para tiempos iguales o superiores a los 10 minutos y misma probabilidad).

A esta ordenada en el origen contribuye el periodo inicial de la reacción, observable en la Figura 165, periodo que tarda la disolución en alcanzar los 40 °C; el tiempo desde que se preparan las disoluciones hasta que se comienza a medir (1 min) pues las disoluciones evolucionan en ese periodo de manera diferente según sea la concentración de BrO_3^- , y por último la

complejidad de la cinética que hace que cuanto mayor sea la concentración de BrO_3^- mayor sea la de Fucsina coloreada que aparece incrementándose a la vez que la reacción de decoloración por $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$ lo que hace que los valores de A ($S_T - S_B$) se desvíen de la linealidad.

LÍMITE DE DETECCIÓN

La IUPAC propone para el cálculo de la concentración límite de detección en calibrados lineales, la siguiente expresión:

$$C_L = \frac{3 \cdot [S_B^2 + S_a^2 + (a/b)^2 \cdot S_b^2]^{1/2}}{b} \quad [1]$$

donde S_B es la desviación estándar del blanco, S_b es la desviación estándar de la pendiente, a es la ordenada en el origen y b la pendiente. El valor así calculado tiene una probabilidad de diferenciarse del blanco superior al 99.8% ($k=3$).

Para calibrados en los que S_a y S_b sean muy pequeños (calibrados bien definidos), la expresión anterior se transforma en:

$$C_L = \frac{3S_B}{b} \quad [2]$$

En el presente caso, como en todos los calibrados, excepto el primero a los 5 minutos, en los que la ordenada en el origen difiere de cero, es obligatorio aplicar la expresión [1] para el cálculo correcto del valor de la C_L .

Los valores así calculados han sido:

A los 5 min: $C_L = 1,6 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

A los 10 min: $C_L = 6,3 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

A los 15 min: $C_L = 7,5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

A los 20 min: $C_L = 7,5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$

Para todos los casos el valor de $S_B = 0,002$

Los estudios cinéticos realizados han permitido conocer bien la complejidad de la reacción entre Fucsina y Bromato, en presencia del reductor $S_2O_5^{2-}$. En condiciones experimentales adecuadas, la reacción en discontinuo puede ser la base para la determinación de BrO_3^- en aguas potabilizadas, con límites de detección que se adaptan a los requerimientos de la EPA, y que puede utilizarse como reacción postcolumna, en un proceso de cromatografía iónica.

DETERMINACIÓN DE BROMATO EN FLUJO CONTINUO. REACCIÓN CON FUCSINA

Como ya se ha comentado, el estudio cinético de la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- en medio ácido, a pesar de su complejidad, nos ha permitido conocer la existencia de otros procesos colaterales y simultáneos que ocurren junto con la reacción de interés.

La comprobación experimental del efecto de las diferentes variables sobre los tres procesos implicados, permite establecer que el pH óptimo al cual la reacción de oxidación transcurre en mayor extensión es 3,22, incrementándose el proceso de coloración espontánea a pH más alcalinos y por el contrario haciéndolo el proceso de decoloración a pH más ácidos.

Las concentraciones de $[\text{Fucsina}]_D$ y $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$ son críticas, obteniéndose las mejores condiciones de sensibilidad para la reacción de oxidación cuando la relación $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]/[\text{Fucsina}]_D$ no supera el valor de 3,5 aproximadamente, siendo en estas condiciones donde menos apreciable es el proceso de decoloración, al menos a tiempos iniciales de reacción.

Manteniendo la relación R en valores inferiores a 3,5; cuanto mayor es la concentración de $[\text{Fucsina}]_D$ mayor es la señal analítica generada.

2.2.1 SISTEMA DE FLUJO PROPUESTO

Teniendo en cuenta las consideraciones antes realizadas, se propone el sistema de flujo de la Figura 167, para el seguimiento en continuo de la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- , en medio ácido.

Consta de tres canales, por el canal del portador, P, fluye constantemente una disolución de agua bidestilada, con una velocidad de flujo, F_P , de $0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Sobre dicha disolución se inyecta, cuando así se desee, un volumen, V_i , de disolución patrón o muestra conteniendo BrO_3^- .

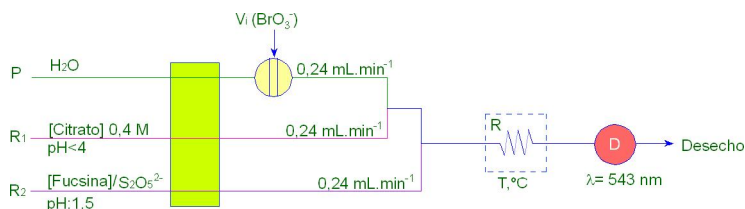


Figura 167. Esquema de flujo propuesto para la determinación de BrO_3^- mediante la técnica clásica y parando el bolo de muestra en el reactor.

Por el segundo de los canales, R_1 , fluye con una velocidad de $0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ una disolución a pH ácido, formada por especies de citrato, [citrato], en concentración $0,4 \text{ M}$.

Las disoluciones antes descritas confluyen en una conexión en T, donde se mezclan, y el posible Fe^{3+} que contengan las muestras, es complejado y así eliminada su interferencia. En este punto de confluencia, $F_P + F_{R_1} = 0,48 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Un tercer canal, R_2 , transporta los reactivos que intervienen en la reacción. Con una velocidad de flujo de $0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, fluye una disolución previamente preparada conteniendo [Fucsina]_D y exceso de $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ a $\text{pH}: 1,5$.

Tal y como se dedujo de los estudios cinéticos, la relación óptima entre las concentraciones iniciales de Fucsina y $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ debe estar comprendida entre 1,1 y 3,5 aproximadamente.

La disolución que fluye por R_2 tiene una estabilidad comprobada de al menos una semana, sin ser necesario guardarla a baja temperatura ni en ausencia de luz.

La disolución de reactivos confluye en una segunda conexión en T donde se mezcla con la disolución que contiene el complejo Fe(III)-Citrato y BrO_3^- si se inyectó un patrón o muestra. Es en este punto de mezcla, donde empieza la reacción de oxidación junto con las otras dos reacciones ya comentadas. El pH de la disolución que fluye por R₁ debe ser tal que al mezclarse con la disolución R₂, que se encuentra a pH: 1,5, se alcance el pH óptimo de la reacción (pH≈3,22).

A partir de la segunda confluencia, la mezcla fluye con una velocidad de 0,72 mL.min⁻¹, hasta la célula de flujo del espectrofotómetro, 80 μL, que se encuentra programado para medir constantemente a 543 nm.

Como la reacción es de cinética lenta, el tiempo de reacción se controla con un reactor, R, cuya longitud óptima debe ser estudiada. Para acelerar la reacción, el reactor R va introducido en un baño termostatado, cuya temperatura puede ser variada. Antes de insertar un patrón o una muestra en el sistema, se enciende el termostato a la temperatura de trabajo hasta que se estabilice en el valor programado. En la superficie del agua se coloca material aislante (poliuretano) para evitar la pérdida del líquido de termostatación por evaporación.

En un esquema de flujo clásico, la velocidad de flujo de las disoluciones de los diferentes canales, además de ser responsable de las diluciones de reactivos y muestras, es la variable que controla junto con la longitud del reactor, el tiempo de reacción.

En el presente caso se ha fijado desde un principio la velocidad de flujo en 0,24 mL.min⁻¹ para cada canal. Este valor permite que el tiempo necesario de reacción pueda alcanzarse en el sistema con reactores de longitud adecuada.

Con velocidades de flujo superiores a 0,24 mL.min⁻¹ habría que aumentar considerablemente la longitud del reactor y si se fijaran velocidades de flujo inferiores a esta la longitud de los reactores no sería lo suficientemente larga como para poder parar el bolo de muestra en el reactor y que el volumen inyectado quede todo él en su interior, para ser uniformemente termostatado.

En el esquema de flujo así diseñado, es posible realizar la TÉCNICA CLÁSICA en la que el bolo inyectado viaja continuamente desde la válvula de inyección hasta el detector y la TÉCNICA DE PARADA DE FLUJO en la que el bolo inyectado, bolo reaccionante, es parado en el interior del reactor termostatado, el tiempo adecuado, antes de ser enviado de nuevo hacia el detector.

Cada técnica tiene sus ventajas y sus inconvenientes, como será discutido posteriormente.

Independientemente del volumen inyectado y de la longitud del reactor, el tiempo al cual es necesario parar la bomba peristáltica para que el bolo reaccionante quede todo él en el reactor, se obtiene previamente inyectando, en las mismas condiciones, el mismo volumen de colorante CARMOISINA concentrado, lo que permite visualmente (junto con el cronómetro) su determinación.

FIAGRAMAS

En la Figura 168 se muestran, a modo de ejemplo, los fiagramas obtenidos, con las dos técnicas de flujo utilizadas, al inyectar 147 μL de una disolución de BrO_3^- en el esquema de flujo de la Figura 167 en la que R tiene una longitud de 400 cm y se encuentra termostatado a 50°C (ambos fiagramas no corresponden a la misma concentración).

El fiagrama de la Figura 168-a corresponde a la técnica clásica, en continuo, midiendo la absorbancia a 543 nm Después de atravesar el reactor termostatado a 50°C se obtiene una línea perfectamente estable y sin fluctuaciones.

El fiagrama obtenido corresponde a la Fucsina coloreada debido a la reacción de oxidación siendo el ΔA proporcional a la concentración de BrO_3^- .

La evolución de un bolo reaccionante generado al inyectar 114 μL de una disolución patrón de BrO_3^- , se esquematiza en la Figura 169. Debido a la

dilución en los dos puntos de confluencia del sistema, éste volumen a la entrada del reactor es de 441 μL (factor de dilución 3), pero es prácticamente homogéneo. Desde la segunda confluencia hasta la entrada en el reactor, prácticamente no reacciona, pues la temperatura de los tubos de teflón es la ambiental y el tiempo de reacción es del orden de unos segundos por ser muy corta la conexión.

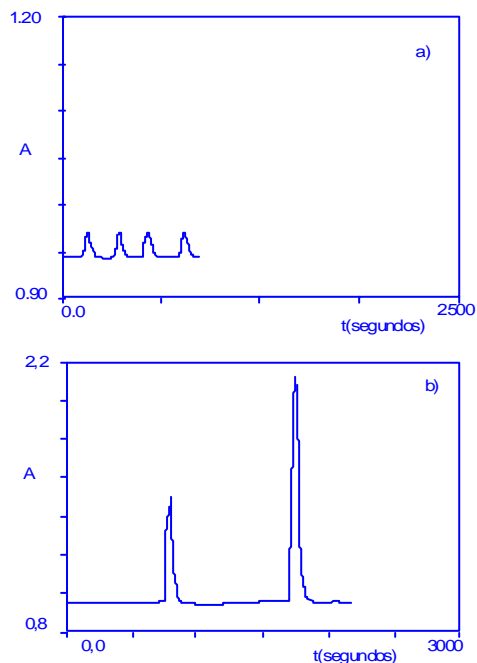


Figura 168. Diagramas típicos obtenidos para $V_i=167\mu\text{L}$ y $\lambda=543\text{nm}$:

a. Con la técnica clásica en continuo.

b. Parando el bolo de muestra reaccionante en el reactor termostatado. El primer diagrama corresponde a la señal del blanco y el segundo a un patrón de BrO_3^-

El reactor termostatado que se ha utilizado es de 400 cm de longitud y su volumen interno es de 786 μL ($\phi=0,5$ mm).

Al entrar el bolo reaccionante en el reactor que se encuentra termostatado por encima de la temperatura ambiente (40-60 $^\circ\text{C}$) se acelera la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada mientras que la reacción de coloración espontánea lo hace en menor medida.

El tiempo de paso por el reactor de 400 cm, teniendo en cuenta la velocidad de flujo de $0,78 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, es de 67 segundos, tiempo suficiente para que a esa temperatura (aunque el bolo reaccionante no alcance la temperatura de termostatación, sí eleve su temperatura) se genere una cantidad de Fucsina coloreada perfectamente medible a 543 nm.

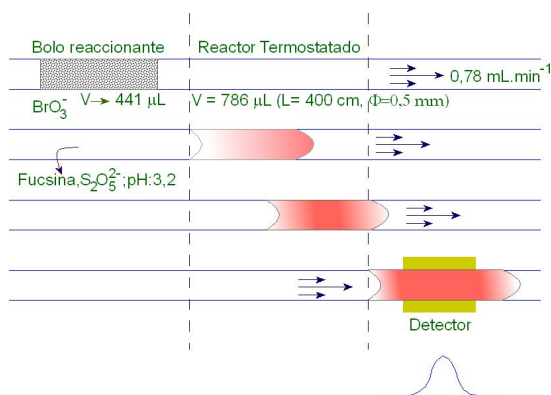


Figura 169. Procesos que sufre el bolo reaccionante al atravesar el reactor termostático.

Como la línea base, Fucsina coloreada generada en ausencia de BrO_3^- es constante, por serlo este proceso, el ΔA entre el valor de absorbancia de la línea base y el máximo del fiagrama es proporcional a la concentración de BrO_3^- .

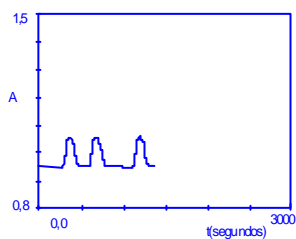


Figura 170. Fiagrama obtenido al inyectar 340 μL de disolución de BrO_3^- y realizar la técnica clásica.

Como el bolo reaccionante es grande en volumen, la dispersión que experimenta por convección es muy pequeña y predomina la dispersión por difusión, razón por la cual el fiagrama tiene una forma gaussiana simétrica, perfectamente visible en la Figura 168-a y más perceptible cuanto mayor es el volumen inyectado (Figura 170).

En estas condiciones experimentales, el tiempo de aparición del fiagrama, t_a , es de 82 s y la anchura en la base, Δt , de 130 s.

Con la técnica de parada de flujo en el reactor, Figura 171, la situación es diferente. El bolo reaccionante se para justo cuando llega al extremo del reactor y se mantiene parado desde 1 min hasta 10 min. Al ser el tiempo de reacción siempre mayor que en la técnica clásica, la señal analítica, fiagrama, obtenida es mayor, no sólo por serlo la evolución cinética de la reacción de oxidación, sino también la reacción espontánea de coloración por lo que la disolución de Fucsina decolorada y $S_2O_5^{2-}$ que queda en el interior del reactor evoluciona con el tiempo contribuyendo al incremento de la señal.

Como la evolución cinética del blanco es menor que la del bolo que contiene BrO_3^- , se obtiene en el interior del reactor una zona donde la concentración de Fucsina coloreada es mayor en la cabeza que en la cola.

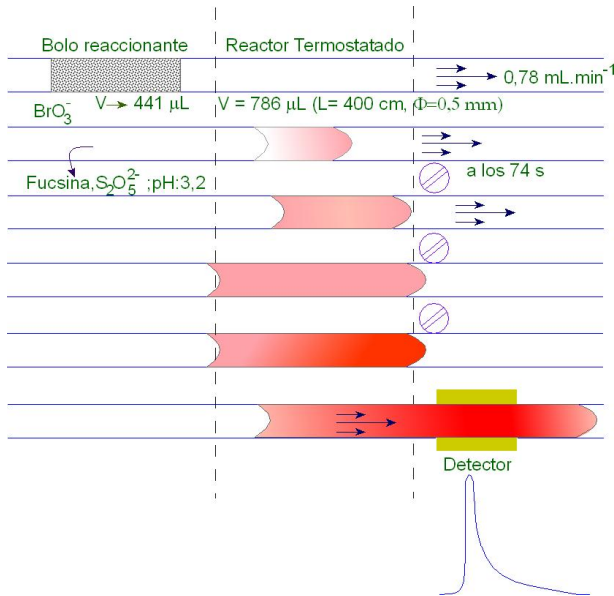


Figura 171. Técnica de parada de flujo en el reactor. Procesos que sufre el bolo reaccionante al ser parado, durante un tiempo, en el reactor termostataado.

Por esta razón, al iniciar de nuevo el flujo, terminada la parada en el reactor, el fiagrama que se obtiene presenta una forma parecida a cuando en la

técnica de flujo continuo predomina el proceso de convección (aunque aquí prácticamente no exista) con una subida inicial muy vertical y una segunda parte con más cola.

Es importante recordar que, a la altura del fiagrama contribuyen dos procesos químicos, por lo que para obtener la señal analítica proporcional a la concentración de BrO_3^- es preciso obtener el fiagrama del blanco (en las mismas condiciones experimentales) y restarla: $\Delta A_T - \Delta A_B$. A pesar de este inconveniente, como la temperatura alcanzada en la disolución del interior del reactor es mucho más alta, la señal obtenida por diferencia es más sensible.

Para conseguir las mismas condiciones cinéticas (temperatura y tiempo de reacción) en la técnica clásica sería preciso trabajar con un reactor mucho mayor de 400 cm, con el inconveniente de que aumentaría tanto la dispersión que la señal analítica sería claramente inferior.

La línea base sufre en los extremos del reactor (conexiones no termostatadas) una pequeña subida debido a la evolución cinética del blanco a temperatura ambiente. Esta alteración no es perceptible en la cabeza del bolo, pero sí en la cola (Figura 172), y afecta en la misma medida al blanco y a la señal total por lo que no interfiere en el proceso de medida. Por otra parte, será mayor cuanto mayor sea el tiempo que permanezca parado el bolo en el reactor.

El hecho de que la forma del fiagrama del blanco sea similar a la que se obtiene cuando hay BrO_3^- parece indicar que los procesos difusionales son distintos en el interior del reactor en la técnica de parada de flujo. De hecho el bolo, cuando se para el flujo, lleva 66 s más calentándose en la cabeza que en la cola, lo que permite una ligera difusión hacia atrás con un suave desplazamiento de la zona más concentrada. Experimentalmente se observa que cuanto menor es la temperatura, o menor es el tiempo de permanencia en el reactor, más simétrico es el fiagrama del blanco.

En esta técnica el tiempo de aparición del fiagrama, t_a , se incrementa respecto a la técnica clásica en un valor igual al tiempo que permanece el flujo parado. La anchura del fiagrama, es mayor que en la técnica clásica, siempre y

cuando el volumen inyectado una vez diluido sea menor que el volumen del reactor.

En las condiciones experimentales de la Figura 168 y para un tiempo de permanencia en el reactor de 10 min, $\Delta t = 250$ s.

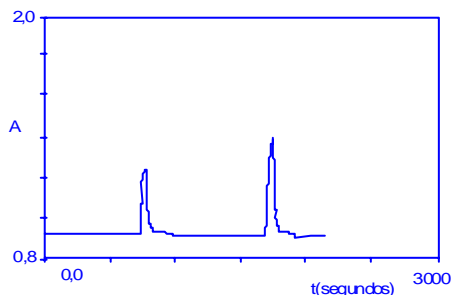


Figura 172. Técnica de parada de flujo (parada del bolo reaccionante en el reactor). Diagramas obtenidos con el blanco y un patrón con BrO_3^- , a temperatura de termostatación de 60°C y parando durante 10 minutos.

OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES

INFLUENCIA DEL pH DE LA DISOLUCIÓN DE CITRATO.

Como ya se ha comentado, el pH de la disolución de especies de citrato es clave para conseguir que en el punto donde confluyen las tres disoluciones el valor sea el óptimo para el seguimiento de la reacción de oxidación (próximo a 3,22).

Para conseguir este objetivo, en el esquema de flujo de la Figura 167 se hacen confluir en continuo una disolución conteniendo $[\text{Fucsina}]_D = 9,4 \times 10^{-5}$ M; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5}$ M ($R = 3,4$) a $\text{pH} = 1,5$ (obtenido por decoloración durante 48 horas) y otra de especies de citrato en concentración analítica total 0,4 M a pH variables entre 3,00 y 4,00. Esta última disolución se prepara o bien

partiendo de citrato sódico ajustando el pH con HCl o bien a partir de ácido cítrico ajustando el pH con NaOH.

Obsérvese que a partir de la confluencia de todas las disoluciones, como el flujo se mantiene constante en todos los canales en $0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, éstas se diluyen según un factor de 3 con lo que las concentraciones reales que intervienen en la reacción son:

$$[\text{Fucsina}] = 31,3 \times 10^{-6} \text{ M}; [\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 107 \times 10^{-6} \text{ M}; (R = 3,4); [\text{Citrato}]' = 0,13$$

y prácticamente coinciden con las condiciones consideradas como óptimas al realizar los calibrados analíticos en discontinuo.

Para conseguir un desarrollo cinético adecuado de la reacción se inserta un reactor R de 400 cm y se termostata a 50°C .

En todos los casos se inyectan $147 \mu\text{L}$ de disolución patrón de BrO_3^- con una concentración de $50 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Se obtienen los valores de ΔA (tabla 43) mediante las técnicas en continuo y parando 10 minutos ($t_p=10 \text{ min}$) cuando el bolo reaccionante ha llegado al reactor ($t_1= 74 \text{ s}$). En este segundo caso $\Delta A = \Delta A_{\text{ST}} - \Delta A_{\text{B}}$, y ΔA_{B} no es constante, varía también con el pH.

La representación gráfica, Figura 173, de los valores de ΔA frente a pH nos muestran una situación similar a la obtenida en los estudios cinéticos en discontinuo al comprobar la influencia de la $[\text{H}^+]$.

Los resultados son similares cuando el ajuste se hace a partir de citrato que cuando se utiliza ácido cítrico (Tabla 43)

Los mejores resultados se obtienen cuando el pH de la disolución de [citrato]' se encuentra ajustado entre 3,35 y 3,6 aproximadamente. Para el resto de estudios se escoge el valor de 3,4. Recogiendo la disolución mezcla que sale de la segunda conexión del esquema de flujo cuando fluyen $[\text{Fucsina}]/[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}]$ a pH: 1,53; [citrato]' 0,4 M a pH: 3,40 y H_2O como portador y midiendo su pH se comprueba que tiene un valor de 3,28 muy próximo al 3,22 considerando como óptimo de los estudios cinéticos.

Tabla 43. Influencia del pH de la disolución de [Citrato]⁻ 0,4 M. Valores de ΔA a 543 nm .

	pH	ΔA Continuo	ΔA Parando 10min
A partir de Citrato	3,15	0,089	0,118
	3,20	0,091	0,132
	3,40	0,101	0,147
	3,60	0,099	0,146
	3,80	0,070	0,114
	4,00	0,039	0,063
A partir de ácido Cítrico	3,00	0,056	0,062
	3,08	0,081	0,103
	3,28	0,095	0,139
	3,50	0,100	0,145
	3,66	0,084	0,139
	3,90	0,055	0,091

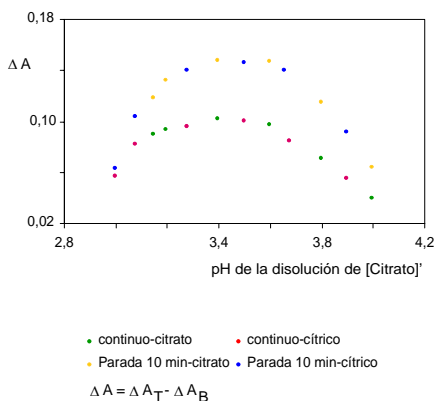


Figura 173. Influencia del pH de la disolución de [Citrato]⁻ 0,4 M. Valores de Absorbancia a 543 nm.

[Fucsina] = $9,3 \times 10^{-5}$ M ; [S₂O₅²⁻] = 3×10^{-5} M; (R = 3,4); R = 400 cm; T= 50°C, V_i = 147 μL; [BrO₃⁻] = 50 μg.L⁻¹.

Si la disolución de reactivo tiene un pH menor a 3,35 el valor de ΔA disminuye debido a que a pesar de aumentar la velocidad de la reacción de oxidación de [Fucsina] decolorada también lo hace en mayor medida el proceso de reducción a la forma coloreada, por [S₂O₅²⁻]. Para valores superiores a 3,6, disminuye la velocidad de la reacción de oxidación y además se incrementa la de coloración espontánea de la Fucsina decolorada.

INFLUENCIA DEL VOLUMEN DE INYECCIÓN

Manteniendo constantes las demás variables en un sistema de flujo continuo, el volumen inyectado de patrón o muestra que contiene el analito está íntimamente relacionado con la dispersión de la muestra y por lo tanto con la sensibilidad analítica.

Para llevar a cabo el estudio de la influencia de esta variable utilizando el esquema de flujo ya indicado y para las dos técnicas enunciadas, se fijan las siguientes condiciones de trabajo: [Fucsina]: $9,3 \times 10^{-5}$ M, $[S_2O_5^{2-}]$: $32,0 \times 10^{-5}$ M y pH de la disolución en 1,53 ($[Citrato]'$ = 0,4 M y pH= 3,4). Para ambas técnicas el reactor insertado es de 450 cm y la temperatura de termostatación 50°C.

Técnica clásica en continuo

En la Tabla 44 se muestran los valores de ΔA a 543 nm, que se obtienen cuando se inyectan desde 45 μL (volumen muerto de la válvula de inyección) hasta 500 μL , así como el valor obtenido cuando por el canal del portador se hace fluir constantemente la disolución conteniendo BrO_3^- en concentración de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ (este valor de analito es precisamente el nivel paramétrico exigido en aguas potables a partir de 200 g).

Tabla 44. Técnica clásica en continuo. Influencia del volumen de inyección, V_i .

$V_i, \mu\text{L}$	ΔA 543 nm	$\Delta t, \text{s}$
45	0,012	68
71	0,014	76
89	0,016	91
127	0,019	116
147	0,021	135
178	0,023	148
239	0,025	167
273	0,026	190
338	0,027	226
500	0,028	288
∞	0,029	-

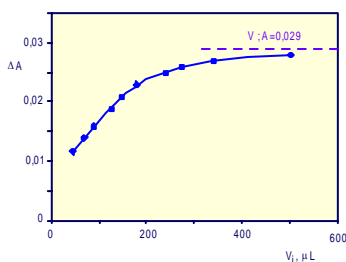


Figura 175. Técnica clásica en continuo. Influencia del volumen de inyección. [Fucsina] = $9,3 \times 10^{-5}$ M; $[S_2O_5^{2-}]$ = $32,0 \times 10^{-5}$ M; pH= 1,53; [cittrato]'= 0,4 M; pH= 3,4; R = 450 cm; T = 50°C; $[\text{BrO}_3^-]$ = $10 \mu\text{g.L}^{-1}$.

La representación gráfica de los valores de ΔA frente a V_i (Figura 175) nos permite comprender de manera más intuitiva la influencia de esta variable. Como puede observarse, al aumentar el volumen de inyección, aumenta la señal analítica, ΔA , muy pronunciadamente hasta aproximadamente unos 280 μL , siendo posteriormente menor el incremento y tendiendo exponencialmente al valor que se obtiene cuando fluye en continuo por el canal del portador una disolución de BrO_3^- de $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (sin dispersión, después de la segunda confluencia).

Para todos los casos estudiados, la temperatura que alcanza el bolo reaccionante es la misma pues el tiempo de contacto con la parte termostataada es constante, 74 segundos y el tiempo de reacción también lo es por mantenerse constantes las variables hidrodinámicas ($t_R \approx 82 \text{ s}$).

La explicación a este comportamiento está relacionada con la dispersión del “bolo reaccionante” que es mayor cuanto menor es V_i .

Desde el punto de vista de la sensibilidad analítica parece que es mejor inyectar en el sistema volúmenes altos, $V_i > 340 \mu\text{L}$. No obstante hay que tener en cuenta que al aumentar el valor de V_i aumenta también el valor de la anchura del fiagrama en la línea base, Δt , con lo que disminuye la velocidad de determinación (Tabla 44). Puede llamar la atención el valor de Δt tan alto incluso para valores de V_i pequeños, pero debe tenerse en cuenta que el volumen inyectado se diluye, debido a las dos confluencias, tres veces por lo que en realidad el volumen del bolo que entra en el reactor para 45 μL es 135 μL .

Para llegar a un compromiso entre sensibilidad y velocidad de determinación se escoge un valor de 147 μL para seguir estudiando el resto de variables si bien a la hora de obtener los calibrados analíticos se tendrá en cuenta esta circunstancia.

El volumen de inyección no influye sobre el tiempo de aparición, siendo en todos los casos del orden de 90 s.

Técnica de parada de flujo

Para el estudio de la influencia de V_i en la técnica de parada de la muestra en el reactor termostataado, manteniendo las variables del sistema en los valores: $[Fucsina] = 9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $R = 3,4$; $pH = 1,53$; $[Citrato]' = 0,4 \text{ M}$; $pH = 3,4$; $R = 450 \text{ cm}$; $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$, se varía el V_i desde 45 hasta 500 μL , siempre inyectando una disolución patrón de BrO_3^- de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Para que el estudio sea válido, en todos los casos el tiempo de parada en el reactor termostataado es de 10 minutos.

A los 82 s (t_p) de inyectado el patrón de BrO_3^- , se detiene el flujo, momento en que la parte delantera del "bolo reaccionante" llega al extremo del reactor. Durante el tiempo que este permanece parado, la temperatura de la disolución del interior del reactor sube paulatinamente y es más posible que alcance los 50°C (diferencia con la técnica clásica)

En las condiciones programadas en la experiencia, teniendo en cuenta que el volumen del reactor es de 884 μL , todos los V_i inyectados, salvo el de 500 μL generan, por dilución, "zonas de muestra" con volúmenes entre 135 y 829 μL de modo que entran completamente en el reactor. A partir de $V_i = 295 \mu\text{L}$, el "bolo diluido" ocupa un volumen mayor que el interno del reactor.

Si bien la señal que genera el blanco, ΔA_B , es constante, se mide para cada volumen inyectado, después de obtener el valor de ΔA_T . Los valores obtenidos aparecen en la Tabla 45 y se han representado en la Figura 176.

Al igual que ocurría en la técnica clásica, al aumentar el volumen de inyección se incrementa la señal analítica por disminuir la dispersión de forma que al inyectar un volumen de 273 μL que ya casi ocupa el reactor, la señal prácticamente alcanza la que se obtiene al introducir por el portador la disolución de BrO_3^- .

Si se profundiza en el incremento de la señal analítica obtenida al aumentar el volumen de inyección, en las dos técnicas estudiadas, se observa que en la técnica clásica desde $V_i = 45 \mu\text{L}$ hasta $V_i = 273 \mu\text{L}$ el incremento es del

117% (de $\Delta A = 0,012$ hasta $\Delta A = 0,026$), en la técnica con parada de flujo el incremento es sólo del 42% (de $\Delta A = 0,105$ hasta $\Delta A = 0,149$). Esta diferencia es debida al proceso de difusión en el interior del reactor termostataado debido a la diferencia en los tiempos de reacción que minimiza las debidas a la dispersión por convección.

Tabla 45. Técnica de parada de flujo. Influencia del volumen de inyección, V_i .

$V_i, \mu\text{L}$	$\Delta A = \Delta A_T - \Delta A_B$
	543 nm
45	0,105
63	0,112
89	0,127
127	0,136
147	0,143
168	0,148
273	0,149
500	0,150
∞	0,150

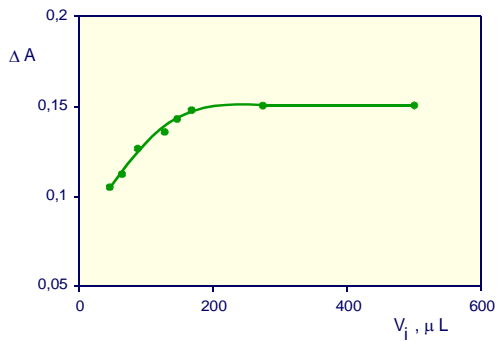


Figura 176. Técnica de parada de flujo. Influencia del volumen de inyección V_i . $[Fucsina] = 9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[S_2O_3^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $\text{pH} = 1,53$; $R = 3,4$; $[\text{Citrate}]' = 0,4 \text{ M}$; $\text{pH} = 3,4$; $R = 400 \text{ cm}$; $T = 50^\circ\text{C}$; $[\text{BrO}_3^-] = 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; $t_1 = 10 \text{ min}$. En todos los casos $\Delta t = 250$

A diferencia de lo que ocurre en la técnica clásica, en esta técnica el valor de Δt , 250 s, es prácticamente constante y es independiente del volumen de inyección, pues en realidad depende exclusivamente del volumen de disolución contenido entre la segunda conexión del sistema de flujo y el detector.

El tiempo de aparición, t_a , en todas las experiencias, es constante y muy alto, 11 min 30 s, lo que es un inconveniente de la técnica.

En cuanto a la forma del diagrama se refiere, en todos los casos es similar a la de los mostrados en la Figura 172, siendo el valor de absorbancia del "hombro" que sale en la cola mayor cuando el volumen inyectado es superior a 273 μL , pues queda BrO_3^- fuera del reactor que incrementa la señal respecto a cuando sólo hay Fucsina y metabisulfito.

Como conclusión más importante de este estudio de la influencia de V_i , en la técnica de parada en el reactor termostataado, cuando la longitud de este se mantiene constante en 400 cm, se puede reseñar que la máxima señal analítica se obtiene cuando V_i es aproximadamente $V_R/3$ ($\approx 295 \mu\text{L}$).

INFLUENCIA DE LA LONGITUD DEL REACTOR.

Técnica clásica en continuo

Una reacción de cinética lenta, como la que está siendo estudiada en el esquema de flujo de la Figura 167, cuando se mantiene constante el caudal tiene controlada su velocidad por la temperatura de termostatación del reactor y la longitud de éste.

Si la temperatura de termostatación se mantiene constante, la longitud del reactor, L_R , afecta de dos maneras. Por una parte controla el tiempo de reacción, pero por otra es la responsable de que la "zona de muestra" alcance un mayor o menor incremento de temperatura afectando así a la velocidad de la reacción.

Estos dos efectos, positivos al aumentar la longitud del reactor, se ven contrarrestados por uno negativo, el aumento de la dispersión.

Para comprobar estos tres efectos y deducir la longitud óptima del reactor, en el sistema de flujo de la Figura 167 se hace fluir por el canal R_1 una disolución de [Citrato]'= 0,4 M a pH= 3,4, mientras que por el canal R_2 lo hace otra constituida por Fucsina $9,3 \times 10^{-5}$ M y $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ $32,0 \times 10^{-5}$ M a pH=1,3 . El estudio se hace para tres temperaturas: 40 °C, 50 °C y 60 °C y se inyectan en todas las experiencias 147 μL de disolución patrón de BrO_3^- conteniendo una concentración de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$. En estas condiciones se modifica la longitud del reactor desde 100 cm hasta 600 cm.

Los valores de ΔA (altura del fiagrama) obtenidos para las diferentes longitudes ensayadas así como los valores del tiempo de aparición, t_a , y de Δt ,

se muestran en la Tabla 46 y los primeros se representan gráficamente en la Figura 177.

Tabla 46. Técnica clásica en continuo. Influencia de la longitud del reactor termostataado, L_R .

L_R , cm	ΔA 543 nm	t_a , s	Δt , s
100	0,020	33	64
200	0,051	49	76
300	0,079	66	88
400	0,092	82	118
450	0,102	90	135
500	0,101	98	150
600	0,093	111	172

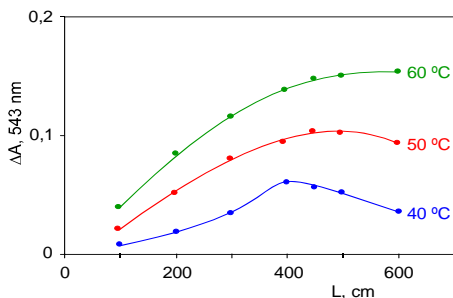


Figura 177. Influencia de la longitud del reactor termostataado, L_R . Técnica clásica en continuo. Valores de ΔA obtenidos para diferentes longitudes del reactor y tres temperaturas de termostatación. $[Fucsina] = 9,3 \times 10^{-5} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} M$; $pH = 1,53$; $R = 3,4$; $[Citrato]' = 0,4 M$; $pH = 3,4$; $V_i = 147 \mu L$; $T = 50 \text{ }^\circ C$; $[BrO_3^-] = 50 \mu g \cdot L^{-1}$.

Al aumentar la longitud del reactor aumenta el tiempo de reacción desde 25 hasta 103 s, aproximadamente, de los cuales el tiempo que permanece el “bolo reaccionante” en contacto con el reactor termostataado está comprendido entre 17 s cuando $L_R = 100$ cm hasta 95 s cuando $L_R = 600$ cm.

Este aumento en el tiempo de reacción y en el incremento de temperatura con la longitud del reactor, hace que en el mismo sentido aumente la señal analítica que indica una mayor generación de la Fucsina coloreada, debido a la oxidación por BrO_3^- de la forma decolorada.

Para la experiencia en la que la temperatura de termostatación es de $50^\circ C$, Figura 177, el valor de ΔA crece con la longitud del reactor, alcanzando un valor máximo entre 450 y 500 cm. Para longitudes superiores, el efecto de la dispersión afecta negativamente al teórico incremento debido al aumento de temperatura lo que afecta en menor medida a la cinética de la reacción.

Una situación contraria se da a 60°C, el incremento cinético es tan acusado que predomina sobre el efecto negativo de la dispersión, incluso para el reactor de 600 cm de longitud, a expensas claro de un mayor valor en Δt y en t_a .

Del estudio se deduce como conclusión práctica que en la técnica clásica, la longitud óptima del reactor termostatado difiere ligeramente según la temperatura de termostatación consiguiéndose la máxima sensibilidad a 50°C con un valor de L_R de 450 cm y para 60°C un reactor entre 550-600 cm.

Técnica de parada de flujo

Como acabamos de discutir, la longitud del reactor termostatado controla el tiempo de reacción y el tiempo de calentamiento del “bolo reaccionante”. Para obtener los máximos valores de ambas variables, teóricamente se debería trabajar con reactores de una longitud muy elevada, pero tendríamos el efecto negativo de la dispersión.

Con la técnica clásica es por lo tanto imposible alcanzar tiempos de reacción superiores a los 100 s, sin que la señal analítica decaiga por la dispersión.

Con la técnica de parada en el reactor, trabajando con reactores de menor longitud, sí es posible alcanzar tiempos de reacción elevados, sin aumentar la dispersión, sin más que parar el flujo el tiempo adecuado.

En este sentido la longitud del reactor no está relacionada con el tiempo de reacción, pues el tiempo de parada es muy superior al tiempo de contacto con la disolución termostatada.

En esta técnica, la longitud del reactor condiciona el VOLUMEN INTERNO del reactor y éste el volumen máximo del “bolo reaccionante” que puede contener.

Por todas estas razones, el estudio de la influencia de la longitud del reactor, en la técnica de parada de flujo, manteniendo constante el resto de las variables, no tiene mucho sentido.

Desde un punto de vista práctico, el esquema de flujo de la Figura 167, ha sido diseñado para estudiar las dos técnicas ya mencionadas sin tener que cambiar de reactor, por esa razón se considera como óptimo para la técnica de parada de flujo el de 450 cm para temperaturas de termostatación de 50°C o superiores.

Esta longitud de reactor sí impone el volumen máximo inyectado en el sistema para que el “bolo reaccionante” ocupe todo el reactor que, como ya vimos, era:

$$V_i^{\max} = \frac{V_R}{3}$$

lo que en este caso ($V_R=884$) resulta 295 μL .

INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA DE TERMOSTATACIÓN

Como se demostró al estudiar la cinética de la reacción, la temperatura es una variable clave sobre los tres procesos químicos que ocurren cuando se añade BrO_3^- sobre una disolución que contiene [Fucsina] decolorada y el reductor metabisulfito. El incremento de la temperatura a la que transcurre la reacción favorece, aunque con diferente magnitud, el proceso de coloración espontánea, el proceso de oxidación de la Fucsina decolorada y el proceso de reducción de esta por $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$.

La complejidad de la cinética hace por lo tanto que la señal analítica de incremento de la absorbancia además de depender de las variables químicas, dependa de la temperatura y del tiempo de reacción al que se mida.

Por estas razones, el estudio de la influencia de la temperatura sobre el ΔA a 543 nm será diferente dependiendo de la técnica de flujo desarrollada.

Técnica clásica en continuo

En esta técnica, fijadas las velocidades de flujo de las disoluciones y escogida la longitud óptima de reactor, 450 cm, queda fijado el tiempo de reacción en aproximadamente 82 segundos, de los cuales el “bolo reaccionante” está en contacto con el reactor termostatado unos 74 segundos.

Para estudiar la influencia de la temperatura se fijan las siguientes condiciones: [Fucsina] = $9,3 \times 10^{-5}$ M; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5}$ M a pH=1,53; [Citrato]' = 0,4 M; pH= 3,4 y se inyectan en todos los casos 147 μ L de disolución patrón de BrO_3^- de concentración 50 μ g.L⁻¹.

El margen de temperaturas de termostatación estudiado ha sido desde 30°C hasta 60°C. Temperaturas superiores no sólo no generan señales analíticas con valores superiores de ΔA que las generadas a 60°C, sino que generan en el interior de la pared del tubo de teflón del reactor pequeñas burbujas de gas que esporádicamente se sueltan y distorsionan la señal.

Al ser el tiempo de contacto con el reactor termostatado tan corto (74 s) no se llega a alcanzar nunca en el “bolo reaccionante” la temperatura programada, pero si se consigue incrementar su temperatura tanto más cuanto mayor es el gradiente de temperaturas.

Los valores de ΔA a 543 nm medidos desde el máximo de los diagramas se indican en la Tabla 47 y se representan en la Figura 178. Puede observarse como cuanto mayor es la temperatura de termostatación, para el margen estudiado, y para la concentración de BrO_3^- inyectada, mayor es la velocidad de la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada, por lo que el ΔA a 543 nm aumenta con dicha variable.

Tabla 47. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor, T. Técnica de clásica en continuo.

T, °C	$\Delta A; 543 \text{ nm}$
30	0,009
35	0,031
40	0,059
45	0,082
50	0,101
55	0,119
60	0,124

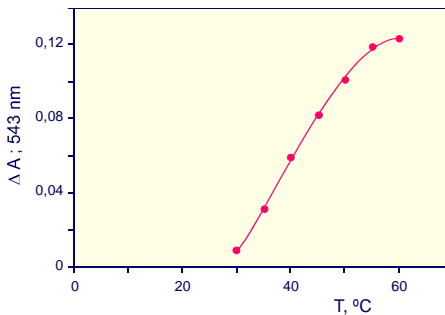


Figura 178. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor; T. Técnica clásica en continuo. $[Fucsina] = 9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $pH = 1,53$; $R = 3,4$; $[citrato]' = 0,4 \text{ M}$; $pH = 3,4$; $V_i = 147 \mu\text{L}$; $L_R = 450 \text{ cm}$; $[BrO_3^-] = 50 \mu\text{g.L}^{-1}$

La reacción de reducción puede verse afectada, cuanto mayor es la temperatura, por la inyección de concentraciones superiores de BrO_3^- ya que se genera una mayor concentración de Fucsina coloreada. Este hecho será necesario comprobarlo al estudiar la influencia de la concentración de BrO_3^- .

Técnica de parada de flujo

A la vista de la complejidad cinética de los procesos químicos implicados, el estudio de la influencia de la temperatura del reactor termostatado sobre la señal analítica, en la técnica de parada de flujo en el reactor, debe contemplar no solo el valor absoluto de la temperatura sino también el tiempo que permanece el "bolo" parado en el reactor.

En las condiciones químicas, geométricas e hidrodinámicas ya enumeradas al estudiar esta variable con la técnica clásica en continuo, se inyecta una disolución patrón de BrO_3^- , en concentración de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ y se varía la temperatura de termostatación del reactor desde 30°C hasta 60°C . La experiencia se completa, para cada temperatura, parando a los 82 s el "bolo" de

BrO_3^- , cuando su cabeza se encuentra en el extremo del reactor, diferentes tiempos, desde 1 hasta 15 min.

Nótese que los tiempos de reacción en realidad son los tiempos de parada de flujo, t_1 , más el tiempo que tarda la muestra en alcanzar el extremo del reactor desde el segundo punto de confluencia (≈ 78 s).

En cada experiencia se mide la altura del fiagrama que generan los 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- así como la que genera el blanco (sin inyectar el patrón de BrO_3^-). El valor de ΔA a 543 nm obtenido por diferencia de las dos señales anteriores se indica en la Tabla 48 y se representa gráficamente en la Figura 179, donde el valor de la ordenada ($t_1=0$) debe de ser la señal analítica obtenida cuando no hay parada de flujo.

De los valores de ΔA se deduce que a cualquier valor de t_1 (tiempo de parada), la señal analítica obtenida es en todos los casos mayor cuanto más alta es la temperatura, incluso a 60°C, lo que indica que durante el tiempo de parada en el reactor el ΔT alcanzado por el "bolo reaccionante" acelera de manera más apreciable la reacción de oxidación de la Fucsina decolorada por BrO_3^- .

Para cada temperatura estudiada, al aumentar el tiempo de parada, el ΔT generado es mayor por lo que la señal analítica crece con esta variable, salvo a los 60°C cuando t_1 es superior a 10 minutos, la señal analítica decrece por acelerarse de manera apreciable el proceso de decoloración de la Fucsina coloreada por la reacción con $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$.

En definitiva, la Figura 179 es casi una representación de la evolución cinética de la reacción total que ocurre al añadir BrO_3^- (50 $\mu\text{g.L}^{-1}$) sobre una disolución en las concentraciones de reactivos indicados y a $\text{pH}=3,22$, anteriormente estudiado y que podemos ver en la Figura 180, con una diferencia y es que en dicha evolución cinética, en discontinuo, la temperatura programada es constante desde el principio al final, mientras que en la evolución cinética de la Figura 179 sólo se alcanza la temperatura de termostatación para tiempos de parada flujos altos. No obstante la comparación de las dos Figuras (179 y 180) es útil para comprender como en estas

condiciones experimentales a 60°C y a partir de 15 min, aproximadamente, la reacción de reducción de la Fucsina coloreada con $S_2O_5^{2-}$ es tan intensa que el valor de ΔA comienza a disminuir. Esta reacción colateral también ocurre a otras temperaturas, pero con menor extensión, así como a otros tiempos de reacción.

Tabla 48. Técnica de parada de flujo. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor, T , a diferentes tiempos de parada.

t_1 min	$\Delta A = \Delta A_I - \Delta A_B$; 543 nm			
	30°C	40°C	50°C	60°C
1	0,020	0,070	0,104	0,161
2	0,026	0,076	0,110	0,172
4	0,028	0,081	0,119	0,186
6	0,029	0,087	0,129	0,204
8	0,030	0,091	0,138	0,215
10	0,031	0,094	0,144	0,221
12	0,032	0,096	0,150	0,216
15	0,034	0,099	0,154	0,188

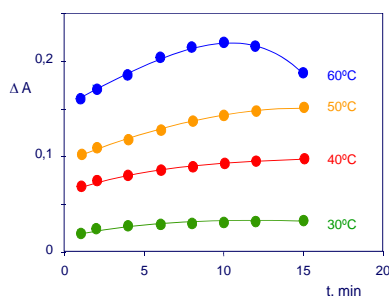


Figura 179. Técnica de parada de flujo. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor, T , a diferentes tiempos de parada de flujo. $[Fucsina] = 9,3 \times 10^{-5} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} M$; $pH = 1,53$; $R = 3,4$; $[citrato] = 0,4 M$; $pH = 3,4$; $V_i = 147 \mu L$; $L_R = 450 cm$; $[BrO_3^-] = 50 \mu g.L^{-1}$

Como la reacción de reducción antes comentada depende de la concentración de Fucsina coloreada, generada en la reacción de oxidación, es lógico pensar que hasta $50 \mu g.L^{-1}$ de BrO_3^- las condiciones en las que se obtiene la señal analítica más sensible sería termostatando el reactor a 60°C y con el tiempo de parada de 10 minutos. No obstante habrá que comprobar al estudiar los calibrados si en estas condiciones existe proporcionalidad directa entre $[BrO_3^-]$ y ΔA o debido a la reacción de reducción los valores para las disoluciones más concentradas se desvían de la linealidad (línea recta).

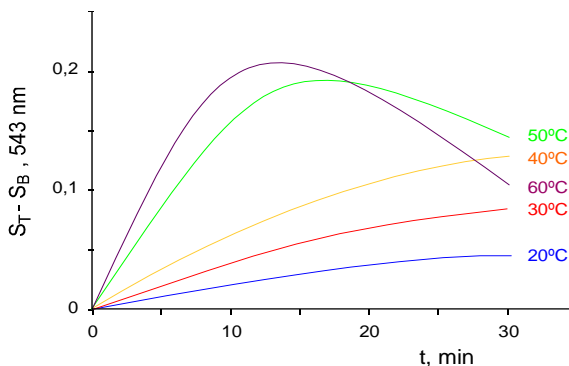


Figura 180. Evolución cinética a diferentes temperaturas de una disolución conteniendo $[Fucsina] = 9,3 \times 10^{-5} M$; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} M$; $R = 3,4$; $pH = 3,22$ y $[BrO_3^-] = 50 \mu g.L^{-1}$. Valores de $S_T - S_B$ obtenidos en el espectrofotómetro con las células termostataadas (sistema Peltier).

Puede ocurrir, que a $50^\circ C$ y $t_1 = 10$ min, se pierda en sensibilidad pero se gana en proporcionalidad, por ser a esta temperatura menor en extensión la reacción de reducción.

Para confirmar las conclusiones obtenidas en el apartado anterior y que se comprenda la interrelación existente entre T de termostatación, t_1 tiempo de parada y concentración de BrO_3^- , se realiza la misma experiencia pero con una concentración más elevada de BrO_3^- , $350 \mu g.L^{-1}$ cuya determinación no tiene interés en sistemas de potabilización por ser muy poco probable, pero que lo tiene para comprender la complejidad del proceso químico.

Los valores de ΔA , obtenidos para este patrón de BrO_3^- , $350 \mu g.L^{-1}$, para cuatro temperaturas y tiempos de parada desde $t_1 = 20$ min se han plasmado en la Tabla 49 y representado gráficamente en la Figura 181. (La evolución cinética en discontinuo de esta disolución se muestra en la Figura 182).

Las diferencias, respecto a la experiencia con $50 \mu g.L^{-1}$, son obvias; si bien para $30^\circ C$, $40^\circ C$ y $50^\circ C$ se obtienen valores de ΔA mayores, para un mismo valor de t_1 , que las obtenidas con $50 \mu g.L^{-1}$ de BrO_3^- ; la reacción de reducción en la que interviene el $S_2O_5^{2-}$ es más acusada, obteniéndose valores constantes de ΔA desde $t_1 = 15$ min y para $T = 40^\circ C$ y disminuyendo ΔA a partir de 15 min

(antes de cuando lo hacía hacia la disolución de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^-) para $T=50^\circ\text{C}$.

Tabla 49. Técnica de parada de flujo. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor; T a diferentes tiempos de parada.

t_1 min	$\Delta A = \Delta A_T - \Delta A_B$; 543 nm			
	30°C	40°C	50°C	60°C
2	0,033	0,114	0,166	0,226
3	0,044	0,132	0,265	0,242
4	0,057	0,150	0,341	0,244
5	0,068	0,165	0,402	0,236
10	0,121	0,249	0,568	0,162
15	0,163	0,272	0,573	0,104
20	0,187	0,273	0,548	0,064

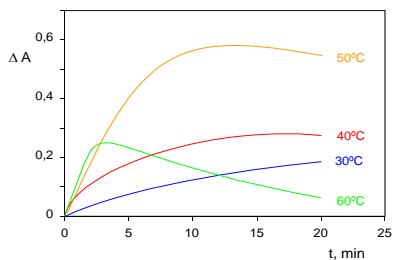


Figura 181. Técnica de parada de flujo. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor, T , a diferentes tiempos de parada. $[\text{Fucsina}] = 9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $\text{pH} = 1,53$; $R = 3,4$; $[\text{citrato}]^{\text{t}} = 0,4 \text{ M}$; $\text{pH} = 3,4$; $V_i = 147 \mu\text{L}$; $L_R = 450 \text{ cm}$; $[\text{BrO}_3^-] = 350 \mu\text{g.L}^{-1}$

A los 60°C los valores de ΔA en las experiencias de $\text{BrO}_3^- = 350 \mu\text{g.L}^{-1}$ son más altos que en la experiencia de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$, hasta aproximadamente $t_1=5$, después son claramente inferiores, por influir más la reacción de reducción.

A 60°C la reacción de reducción por $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$ es tan intensa que a partir prácticamente de $t_1=2$ min los valores de ΔA que se obtienen son menores que los de $T=50^\circ\text{C}$ para el mismo tiempo de parada.

Para concentraciones altas de BrO_3^- las condiciones de máxima sensibilidad se obtendrán para $T=50^\circ\text{C}$ y $t_1=10$ min.

Debido a la reacción de reducción por $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$, los valores de ΔA a los diferentes tiempos de parada están más afectados por dicho proceso y reflejan menos que se deban solo al proceso de oxidación. Observese que los valores de ΔA obtenidos para una misma T y un mismo valor de t_1 para $\text{BrO}_3^- = 50 \mu\text{g.L}^{-1}$ y $\text{BrO}_3^- = 350 \mu\text{g.L}^{-1}$ no guardan proporcionalidad directa.

Esta experiencia confirma que las mejores condiciones de sensibilidad no tienen por qué ser las óptimas para un calibrado lineal, ni para su margen de concentraciones.

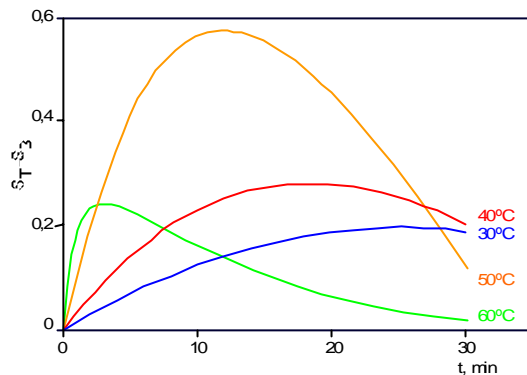


Figura 182. Evolución cinética a diferentes temperaturas de una disolución conteniendo [Fucsina] = $9,3 \times 10^{-5}$ M; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5}$ M; R = 3,4; pH = 3,22 y $[BrO_3^-] = 350 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Valores de $S_T - S_B$ obtenidos en el espectrofotómetro con las células termostataadas.

INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE BROMATO.

Como se comentó en los objetivos del trabajo experimental, se estudia la cinética de la reacción entre Fucsina decolorada y Bromato con el fin de poner a punto un método de flujo continuo para la determinación de Bromato en aguas potabilizadas mediante el uso de ozono como desinfectante. Se pretendía que este método fuera de implementación sencilla, como es el FIA con detección *espectrofotométrica*, y capaz de determinar valores de analito en la zona del *valor paramétrico* fijado por el legislador (hasta 1 de Enero de 2009: $25 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, después de esta fecha: $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Por esta razón escoger las condiciones de máxima sensibilidad que permita la determinación de BrO_3^- alrededor de los valores mencionados es condición prioritaria frente a la velocidad de determinación, o mejor aún buscar un compromiso entre ambas.

Técnica clásica en continuo

El estudio de la relación entre concentración de BrO_3^- y señal analítica ΔA , se realiza en las siguientes condiciones químicas, geométricas e hidrodinámicas, consideradas como óptimas a partir de los estudios anteriores.

Canal portador: H_2O bidestilada, F_P : 0,24 mL.min⁻¹; Canal R₁: [Citrato] = 0,4 M; pH = 3,4; F_{R_1} = 0,24 mL.min⁻¹; Canal R₂: [Fucsina]_D = 9,3×10⁻⁵ M; [$\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$] = 32,0×10⁻⁵ M; R = 3,4; pH = 1,53; L_R = 450 cm (ϕ = 0,5 mm); T = 60 °C.

Se inyectan 147 μL de disoluciones patrón de BrO_3^- con concentraciones entre 10 y 500 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y se mide ΔA a 543 nm (Tabla 50). Los valores de ΔA se encuentran representados gráficamente, frente a la concentración de analito, en la Figura 183.

Puede comprobarse como Los valores experimentales se ajustan a una línea recta hasta una concentración de 140 $\mu\text{g.L}^{-1}$. A partir de este valor se tienen desviaciones de la linealidad con buen ajuste a una función de segundo grado.

A una situación similar se llega cuando el volumen inyectado de disoluciones patrón de BrO_3^- es de 340 μL , si bien las señales analíticas, son ligeramente superiores en el valor de la absorbancia.

La desviación de la línea recta se debe a la influencia, ya apreciable para las concentraciones de Fucsina coloreada generadas por oxidación, que tiene la reacción de reducción mediante $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$.

Tabla 50. Técnica de clásica en continuo. Influencia de la $[BrO_3^-]$.

$[BrO_3^-]$ $\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔA ; 543 nm
10	0,018
20	0,050
40	0,112
80	0,210
120	0,292
160	0,352
200	0,418
300	0,508
400	0,586
500	0,640

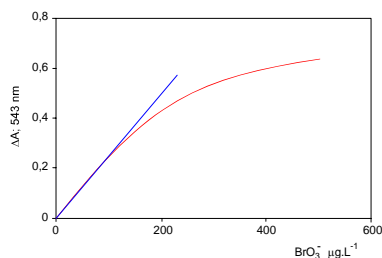


Figura 183. Técnica clásica en continuo. Influencia de la concentración de $[BrO_3^-]$. $[Fucsina] = 9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[S_2O_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $pH = 1,53$; $R = 3,4$; $[Citrato] = 0,4 \text{ M}$; $pH = 3,4$; $V_i = 147 \mu\text{L}$; $L_R = 450 \text{ cm}$; $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$

Calibrados analíticos

A la vista del estudio anterior y para obtener las ecuaciones de los calibrados analíticos en la zona de linealidad, se inyectan 146 μL y 340 μL de disoluciones patrón de BrO_3^- en concentración comprendida entre 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y 120 $\mu\text{g.L}^{-1}$. En la Tabla 51 se indican los valores de ΔA a 543 nm al inyectar por triplicado cada disolución patrón, siendo por lo tanto cada valor media de los tres obtenidos.

Los valores de ΔA se representan en la Figura 184, para ambos volúmenes de inyección, frente a la concentración del analito, ajustándose a rectas de ecuación:

$$V_i = 147 \mu\text{L}; \Delta A = (-3 \pm 3) \times 10^{-3} + (2,50 \pm 0,04) \times 10^{-3} \cdot [BrO_3^-], \mu\text{g.L}^{-1}$$

$$V_i = 340 \mu\text{L}; \Delta A = (-3 \pm 2) \times 10^{-3} + (2,90 \pm 0,03) \times 10^{-3} \cdot [BrO_3^-], \mu\text{g.L}^{-1}$$

para un nivel de confianza del 95% y con coeficientes de regresión lineal próximos a la unidad ($R^2 = 0,999$ y $R^2 = 0,998$, respectivamente)

Tabla 51. Técnica de clásica en continuo. Influencia de la concentración de BrO_3^- Calibrados analíticos para $[\text{BrO}_3^-]$ entre 4 y 120 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $V_i=147\ \mu\text{L}$ y $340\ \mu\text{L}$

$[\text{BrO}_3^-]$ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\Delta A; 543\ \text{nm}$	
	$V_i = 147\ \mu\text{L}$	$V_i = 340\ \mu\text{L}$
4	0,005	0,009
8	0,015	0,020
12	0,027	0,034
16	0,037	0,042
20	0,049	0,057
30	0,070	0,087
40	0,096	0,114
50	0,121	0,147
70	0,167	0,204
80	0,199	0,236
100	0,240	0,290
120	0,292	0,351

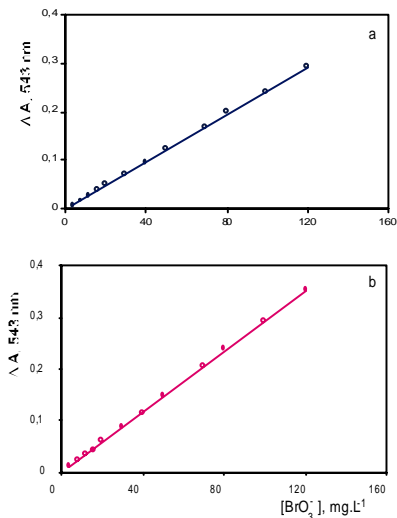


Figura 184. Técnica clásica en continuo. Calibrados analíticos; $V_i = 147\ \mu\text{L}$ (a) y $340\ \mu\text{L}$ (b).

Límite de detección

La concentración límite de detección ha sido calculada por las expresiones propuestas por la IUPAC con una ligera modificación que vamos a comentar.

En técnicas de flujo continuo, teóricamente la señal del blanco corresponde a la línea base que se obtiene mientras no se inyecta analito, pero al ser una señal continua no tiene sentido hacer un tratamiento estadístico para obtener el valor de S_B ; por este motivo se sustituye este parámetro por *el valor máximo de fluctuación* de la línea base, X_B^{max} , a lo largo de un periodo de tiempo (10 min).

Es fácil entender que $X_B^{\text{max}} > S_B$, por lo que el valor de C_L así obtenido tiene una probabilidad superior al 99,8% de diferenciarse del blanco (línea base).

En técnicas de flujo continuo, la expresión [1] de la IUPAC se transforma en:

$$C_L = \frac{3 \left[(X_B^{\max})^2 + S_a^2 + \left(\frac{a}{b}\right)^2 S_b^2 \right]^{\frac{1}{2}}}{b} \quad [3]$$

Para calibrados bien definidos en los que el valor de a es muy próximo al origen y S_a y S_b son valores muy pequeños frente a X_B^{\max} , la expresión [3] se transforma en:

$$C_L = \frac{3(X_B^{\max})^2}{b} \quad [4]$$

En los calibrados obtenidos al inyectar 147 y 340 μL , el valor de X_B^{\max} ha sido de 0,003 unidades de absorbancia a 543 nm.

En este caso, sustituyendo los valores de a , S_a y S_b ($V_i = 147 \mu\text{L}$; $a = 0,003$, $S_a = 0,001$ y $S_b = 0,0001$; $V_i = 340 \mu\text{L}$; $a = 0,003$, $S_a = 0,008$ y $S_b = 0,0001$) el valor calculado para C_L tanto por la expresión [3] como por la [4] es el mismo:

$$V_i = 147 \mu\text{L}; \quad C_L = 3,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$V_i = 340 \mu\text{L}; \quad C_L = 3,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

En la Figura 185 se muestran los fiagramas obtenidos al inyectar 147 μL de disolución patrón de BrO_3^- de concentración creciente, 2, 4, 5 y 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ que demuestran que el cálculo matemático para los valores de C_L es correcto y se ajusta a la realidad experimental. La señal correspondiente a 4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ se diferencia claramente de la señal de la línea base.

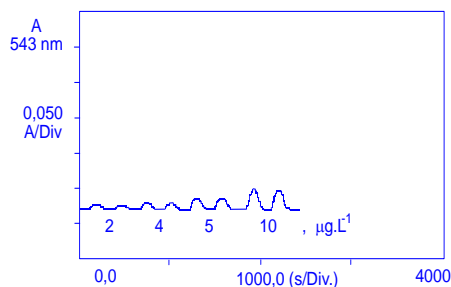


Figura 185. Técnica clásica en continuo. Diagramas obtenidos al inyectar por duplicado disoluciones patrón BrO_3^- de concentraciones 2, 4, 5 y 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$; $[\text{Fucsina}] = 9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $\text{pH} = 1,53$; $R = 3,4$; $[\text{Citrato}]' = 0,4 \text{ M}$; $\text{pH} = 3,4$; $V_i = 147 \mu\text{L}$; $L_R = 450 \text{ cm}$; $T = 60^\circ \text{C}$.

Técnica de parada de flujo

En la técnica de parada de flujo cuando el “bolo reaccionante” se encuentra en el reactor termostataado, la influencia de V_i sobre la señal analítica a partir de 147 μL aproximadamente, es mínima. Esta es la razón por la que solo se estudia la relación entre la señal analítica $\Delta A = (\Delta A_T - \Delta A_B)$, y la concentración de BrO_3^- para el volumen de inyección mencionado de 147 μL .

El resto de las variables químicas, geométricas e hidrodinámicas se mantienen en los valores enunciados al estudiar la técnica clásica en continuo.

En parada de flujo, la señal analítica se desvía del ajuste a una línea recta, para concentraciones inferiores a 120 $\mu\text{g.L}^{-1}$ (margen superior de ajuste a una línea recta, en la técnica clásica en continuo) y tanto más inferiores cuanto mayor es el tiempo, t_1 , durante el cual se para la muestra en el reactor termostataado a 60°C (Tabla 52 y Figura 186).

Puede comprobarse como cuando el tiempo es de 2 min (en realidad el tiempo de permanencia es de 2 min 82 s) la señal analítica frente a la concentración de BrO_3^- se ajusta a una línea recta hasta aproximadamente los 70 $\mu\text{g.L}^{-1}$; mientras que cuando el tiempo de permanencia es mayor, $t_1 = 10 \text{ min}$

(en realidad 10 min 82 s) el margen de ajuste a una línea recta es ligeramente menor, hasta aproximadamente 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, pero la señal analítica es mayor.

Tabla 52. Técnica de parda de flujo. Influencia de la concentración de BrO_3^- para dos tiempos de permanencia en el reactor termostataado: $t_1 = 2 \text{ min}$ y $t_2 = 10 \text{ min}$.

[BrO_3^-] $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$\Delta\Delta = \Delta\Delta_T - \Delta\Delta_B, 543 \text{ nm}$	
	$t_1 = 2 \text{ min}$	$t_1 = 10 \text{ min}$
10	0,034	0,052
20	0,074	0,108
30	0,104	0,155
40	0,149	0,205
60	0,210	0,291
80	0,271	0,328
100	0,298	0,340
120	0,306	0,345
140	0,315	0,350
160	0,322	0,353

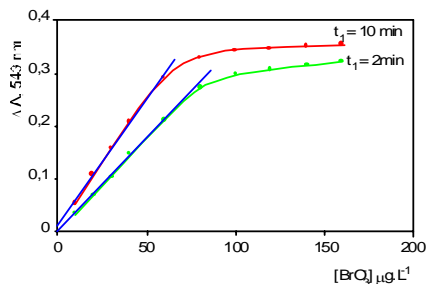


Figura 186. Técnica de parda de flujo. Influencia de la concentración de BrO_3^- para dos tiempos de permanencia en el reactor termostataado, $t_1 = 2 \text{ min}$ y $t_1 = 10 \text{ min}$. [*Fucsina*] = $9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; [$\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$] = $32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $\text{pH} = 1,53$; $R = 3,4$; [*Citrato*]' = $0,4 \text{ M}$; $\text{pH} = 3,4$; $V_i = 147 \mu\text{L}$; $L_R = 450 \text{ cm}$; $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$; $t_1 = 82 \text{ s}$

La desviación de la linealidad se debe a la influencia que tiene sobre la reacción de oxidación de la *Fucsina decolorada* la reacción de decoloración por $\text{S}_2\text{O}_5^{2-}$; mayor cuanto más alto es el valor de t_1 (tiempo de reacción) y más alta es la concentración de *Fucsina coloreada* generada en la primera reacción.

Calibrados analíticos

A la vista del resultado experimental anterior y para obtener las ecuaciones de los calibrados analíticos con ajuste lineal y comprobar los márgenes de determinación, se inyectan por triplicado 147 μL de disoluciones patrón de BrO_3^- en concentraciones comprendidas entre 2 y 70 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, parando el reactor a los tiempos ya indicados: $t_1 = 2 \text{ min}$ y $t_1 = 10 \text{ min}$.

Antes de inyectar cada una de las disoluciones, se para el flujo durante el tiempo t_1 estudiado y se registra el valor de ΔA_B . Los valores de $\Delta A = \Delta A_T - \Delta A_B$ se muestran en la Tabla 53.

Tabla 53. Técnica de parada de flujo. Calibrados analíticos entre 2 y 70 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para $t_1 = 2$ min y entre 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para $t_1 = 10$ min.

[BrO ₃ ⁻] $\mu\text{g.L}^{-1}$	$\Delta A = \Delta A_T - \Delta A_B$, 543 nm	
	$t_1 = 2$ min	$t_1 = 10$ min
2	0,005	0,009
4	0,018	0,022
8	0,024	0,030
12	0,043	0,062
16	0,057	0,086
20	0,074	0,108
24	0,079	0,121
30	0,104	0,155
35	0,123	0,180
40	0,149	0,205
50	0,175	0,256
60	0,210	-
70	0,244	-

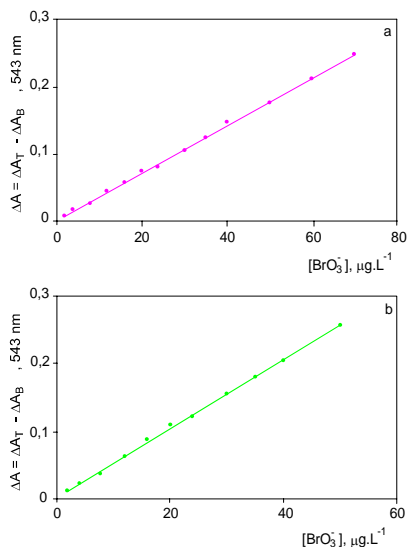


Figura 187. Técnica de parada de flujo. Calibrados analíticos: a) $t_1 = 2$ min; b) $t_1 = 10$ min, [Fucsina] = $9,3 \times 10^{-5}$ M; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5}$ M; $\text{pH} = 1,53$; $R = 3,4$; $[\text{Citrato}] = 0,4$ M; $\text{pH} = 3,4$; $V_i = 147$ μL ; $L_R = 450$ cm; $T = 60$ °C; $t_1 = 82$ s

Los valores de absorbancia, ΔA , para $t_1 = 2$ min y para $t_1 = 10$ min, frente a $[\text{BrO}_3^-]$ entre 2 y 70 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para el primer caso y $[\text{BrO}_3^-]$ entre 2 y 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para el segundo; se ajustan a líneas rectas (Figura 187) de ecuaciones:

$$t_1 = 2 \text{ min}; \quad \Delta A = (-0,002 \pm 0,004) + (3,5 \pm 0,1) \times 10^{-3} [\text{BrO}_3^-] \mu\text{g.L}^{-1}$$

$$t_1 = 10 \text{ min}; \quad \Delta A = (-0,002 \pm 0,008) + (5,2 \pm 0,3) \times 10^{-3} [\text{BrO}_3^-] \mu\text{g.L}^{-1}$$

Para un nivel de confianza del 95% y con coeficientes de regresión lineal próximos a la unidad ($R^2 = 0,9978$ y $R^2 = 0,9949$, respectivamente), pero ligeramente inferiores a los obtenidos mediante la técnica clásica en continuo, debido a que en este caso la señal analítica se obtiene a partir de la diferencia de dos valores obtenidos mediante parada de flujo. Esto hace que las medidas

obtenidas para los calibrados con la técnica de parada de flujo sean ligeramente menos precisas (S_x para $t_1 = 2$ min tiene un valor de 1,2 ($n = 9$); para $t_1 = 10$ min el valor es de 0,6 ($n = 12$), mientras que para los calibrados obtenidos en continuo S_x tiene un valor de 0,4 ($n = 12$) para $V_i = 147 \mu\text{L}$ y 0,3 ($n = 12$) para $V_i = 340 \mu\text{L}$; todo ello para el valor medio de $[\text{BrO}_3^-]$ en el margen del calibrado correspondiente.

Límite de detección

Para la técnica de parada de flujo, cuando el “bolo reaccionante” se encuentra en el reactor termostataado, el cálculo de la concentración límite de detección se lleva a cabo a partir de la expresión [3] modificada de la de la IUPAC [1].

En esta técnica la señal analítica final, ΔA , se obtiene por diferencia entre la altura del fiagrama obtenido al inyectar una disolución patrón de BrO_3^- y parar el flujo un tiempo t_1 (2 o 10 min), cuando el analito se encuentra en el extremo del reactor, ΔA_T , y la altura del fiagrama obtenido al inyectar la disolución sin bromato, parando el flujo el mismo tiempo t_1 : ΔA_B .

El valor de ΔA_B es constante para cada tiempo de parada de flujo, pero lógicamente tiene su fluctuación experimental que puede ser procesada estadísticamente para así conocer, S_B , la desviación estándar del blanco.

No obstante, si en vez de la desviación estándar de la señal del blanco se obtiene la fluctuación máxima (positiva) del blanco, respecto de la media, x_B^{max} , se obtienen valores de C_L que se ajustan más a la realidad experimental.

Para el cálculo de x_B^{max} (fluctuación máxima respecto del valor medio) se efectúa la parada de flujo 12 veces durante $t_2 = 10$ min y obtenido el valor medio se mide la fluctuación máxima obtenida que para ambos casos resultó ser de $x_B^{\text{max}} = 0,003$.

Al igual que ocurriría en los calibrados analíticos para la técnica clásica en continuo, los valores de a , S_a y S_b son tan bajos que permiten aplicar la expresión reducida, [4], para el cálculo de C_L .

Los valores así calculados han resultado ser:

$$t_1 (2 \text{ min}): \quad C_L = 2,6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$t_1 (10 \text{ min}): \quad C_L = 1,7 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

estos valores son ligeramente más favorables que los obtenidos mediante la técnica clásica sin parada de flujo.

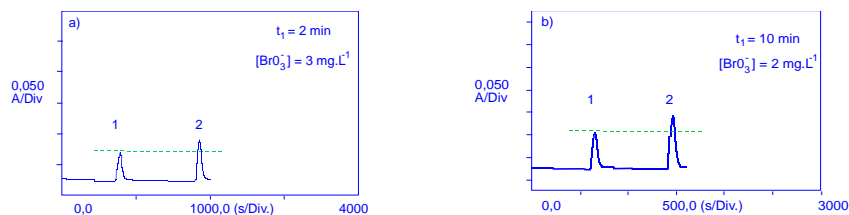


Figura 188. Técnica de parada de flujo. Fiagramas obtenidos al inyectar 147 μL de disoluciones patrón de BrO_3^- en concentración próxima al valor calculado de C_L y sus correspondientes blancos.

a) $[\text{BrO}_3^-]$: 3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $t_1 = 2 \text{ min}$.

b) $[\text{BrO}_3^-]$: 2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $t_1 = 10 \text{ min}$.

1. Señal del blanco.

2. Señal con el analito.

$[\text{Fucsina}] = 9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $\text{pH} = 1,53$; $R = 3,4$; $[\text{citrato}]' = 0,4 \text{ M}$; $\text{pH} = 3,4$; $t_D = 82 \text{ S}$; $L_R = 450 \text{ cm}$; $T = 60^\circ\text{C}$.

En la Figura 188-a se muestran los fiagramas obtenidos al inyectar 147 μL de disolución patrón de BrO_3^- de concentración 3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y parar a los 82 segundos el flujo durante 2 min, así como el fiagrama correspondiente a su blanco. La diferencia entre las señales analíticas, ΔA , es claramente superior a 0,003 y por lo tanto perfectamente medible y diferenciable del blanco con una probabilidad superior al 99,8%.

En la Figura 188-b se muestran los fiagramas del blanco y de $[\text{BrO}_3^-]$: 2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ($V_i = 147 \mu\text{L}$) al parar el flujo 82 a los segundos durante 10 minutos. La señal es perfectamente diferenciable de la generada por el blanco.

OTRAS CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS MÉTODOS

Velocidad de determinación

Si bien esta no ha sido una de las características buscadas en la puesta a punto de métodos en flujo continuo para la determinación espectrofotométrica de BrO_3^- en aguas potabilizadas, se consiguen velocidades de determinación adecuadas y suficientes para el control de dicho analito.

Con el *método clásico en continuo* e independientemente del volumen inyectado (147 μL o 340 μL) el tiempo de aparición es, en las condiciones expuestas en los calibrados analíticos, de 90 s y el valor de Δt para ambos valores de V_i varía desde 135 hasta 230 s, por lo que es posible determinar entre 15 y 12 muestras por hora, respectivamente.

Lógicamente, con la *técnica de parada de flujo* se consiguen menores velocidades de determinación debido a que la parada en el reactor termostatado, ralentiza los métodos.

Cuando t_1 es 2 minutos se pueden alcanzar velocidades de 10 muestras por hora, pasando hasta 4-5 muestras por hora cuando t_1 sea de 10 minutos.

Precisión de los métodos

Para el estudio de la precisión de los métodos se preparan disoluciones patrón de BrO_3^- conteniendo 25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en una serie y 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en otra (valores paramétricos hasta 2009 y a partir de dicho año, respectivamente). En las condiciones experimentales en las que se dedujeron las ecuaciones de los calibrados las disoluciones así preparadas se introducen en el sistema de flujo.

En la *técnica clásica en continuo* se inyectan por triplicado 147 y 340 μL de doce disoluciones patrón ($n=12$) de BrO_3^- en las concentraciones antes indicadas, se obtiene el valor de incremento de absorbancia a 543 nm del

máximo del fiagrama, el valor se introduce en la ecuación del calibrado correspondiente y se obtiene el valor de la concentración de BrO_3^- . Tras el tratamiento estadístico adecuado se obtienen los siguientes resultados:

$$V_i = 147 \mu\text{l}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 25 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 2,4\%$$

$$V_i = 147 \mu\text{l}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 10 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 3,1\%$$

$$V_i = 340 \mu\text{l}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 25 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 2,2\%$$

$$V_i = 340 \mu\text{l}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 10 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 3,0\%$$

Para la técnica de parada de flujo se inyectan por triplicado 147 μL de doce disoluciones patrón, $n = 12$, de BrO_3^- en las concentraciones ya indicadas y se paran en el reactor termostatado durante 2 o 10 minutos. Transcurrido el tiempo de parada se vuelve a poner en funcionamiento la bomba peristáltica y se mide a 543 nm el ΔA_{ST} del máximo de los fiagramas. Una vez realizada la medida de cada concentración de $[\text{BrO}_3^-]$, se efectúa la parada del blanco durante el mismo tiempo y posteriormente se obtiene el valor de ΔA_B . Por diferencia de ambas señales se obtiene el valor de ΔA que se introduce en la ecuación del calibrado para obtener el valor de la concentración de BrO_3^- . Tras el tratamiento estadístico adecuado se obtuvieron los siguientes resultados:

$$t_1 = 2 \text{ min}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 25 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 3,9\%$$

$$t_1 = 2 \text{ min}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 10 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 5,6\%$$

$$t_1 = 10 \text{ min}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 25 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 3,8\%$$

$$t_1 = 10 \text{ min}; \quad [\text{BrO}_3^-] : 10 \mu\text{g.L}^{-1}; \quad S_R = 5,6\%$$

La precisión obtenida con la parada de flujo es ligeramente inferior por basarse en un método que obtiene la concentración de analito a partir de la diferencia de dos señales analíticas. No obstante es adecuada para la medida de concentraciones de BrO_3^- por debajo del valor paramétrico exigible a partir de 2009 ($10 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Interferencia de ClO_2^-

En el estudio cinético de la reacción en discontinuo se comprobó que el mayor interferente para la determinación de BrO_3^- era el ión ClO_2^- . Esta interferencia era de mayor grado cuantitativo cuando menor era la temperatura.

Por las propias características de las técnicas de flujo, una misma reacción puede tener un comportamiento cinético diferente al que experimenta en discontinuo. Esta es la razón por la que se estudia de nuevo el nivel de interferencia de ClO_2^- en el esquema de flujo propuesto y en las condiciones en las que se obtuvieron los calibrados.

Para el estudio de valores de interferencia se preparan en el momento de su estudio, disoluciones patrón conteniendo en todos los casos una concentración de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- y todas menos una que se emplea de referencia, cantidades de ClO_2^- crecientes desde $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ hasta 3mg.L^{-1} . Las disoluciones así preparadas son introducidas en el sistema de flujo inyectando siempre por triplicado $147 \mu\text{L}$.

Se considera interferencia en el momento que la señal analítica de la disolución que contiene BrO_3^- y ClO_2^- , difiere un 5% (positivamente o negativamente) de la señal que en las mismas condiciones experimentales genera la disolución que sólo contiene $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- .

Para la *técnica clásica en continuo*, en la que el tiempo de contacto del "bolo reaccionante" con el reactor es del orden de 74 s, insuficiente para subir claramente su temperatura, el ClO_2^- comienza a interferir desde $750 \mu\text{g.L}^{-1}$, es decir desde una relación $[\text{ClO}_2^-]/[\text{BrO}_3^-] = 30$.

En la *técnica de parada de flujo*, la transferencia de calor desde el reactor termostatado hasta el "bolo reaccionante" es mayor, por serlo el tiempo de contacto. Esta es la razón por la que al parar 2 min (tiempo de contacto 2 min 74

s) el nivel de interferencia es menor, mostrándose solo cuando $[\text{ClO}_2^-]/[\text{BrO}_3^-] > 100$.

Este comportamiento del ClO_2^- parece indicar que a mayor temperatura se acelera en mayor medida la reacción Fucsina decolorada - BrO_3^- , que la reacción $\text{BrO}_3^- - \text{ClO}_2^-$, siendo esta última de cinética muy lenta.

2.2.5. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS

Al no haber encontrado patrones acuosos medioambientales conteniendo BrO_3^- en concentración certificada, la validación de los métodos se ha realizado dopando agua de grifo de la ciudad de Salamanca con cantidades conocidas de BrO_3^- , entre 5,0 y 40,0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Este agua en el sistema de potabilización ha sido clorada por lo que antes de llevar a cabo su dopaje con BrO_3^- se deja durante la noche que pierda el Cl_2 libre que contenga (este proceso también podría realizarse por arrastre con un gas inerte).

En la Tabla 54 se muestran los valores encontrados para las concentraciones de BrO_3^- inicialmente puestas, expresando los resultados correctamente con su precisión para un nivel de confianza del 95%.

Tabla 54. Validación de los métodos. Análisis de agua de grifo dopada con BrO_3^- : Fucsina = $9,3 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{S}_2\text{O}_5^{2-}] = 32,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; pH = 1,53; R = 3,4; [citrato]' = 0,4 M; pH = 3,4; $V_f = 147 \mu\text{L}$; $L_R = 450 \text{ cm}$; $T = 60^\circ\text{C}$

[BrO_3^-] Añadido $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	[BrO_3^-], Determinado, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$		
	Técnica clásica en continuo	Técnica de parada de flujo	
		2 min	10 min
5,0	4±2	4±2	5±2
10,0	11±2	11±2	11±2
20,0	20±2	20±2	21±2
40,0	39±2	40±2	41±2

Los valores han sido calculados a partir de las ecuaciones de calibrados obtenidos el mismo día de su utilización con $n = 6$, seis patrones de BrO_3^- (las ecuaciones de los nuevos calibrados se encuentran al pie de la Tabla 54).

Ecuaciones de los calibrados con $n = 6$, (patrones)

Continuo: $(-6 \pm 4) \times 10^{-3} + (2,4 \pm 0,1) \times 10^{-3} [\text{BrO}_3^-]$; $R^2 = 0,997$

$t_1 = 2 \text{ min}$: $(-3 \pm 3) \times 10^{-3} + (3,6 \pm 0,3) \times 10^{-3} [\text{BrO}_3^-]$; $R^2 = 0,998$

$t_1 = 10 \text{ min}$: $(-2 \pm 3) \times 10^{-3} + (5,0 \pm 0,3) \times 10^{-3} [\text{BrO}_3^-]$; $R^2 = 0,996$

Puede comprobarse como los valores obtenidos para la concentración de BrO_3^- , con un 95% de fiabilidad, no difieren significativamente de los valores de concentración puestos.

Salvo para el caso de menor concentración de BrO_3^- ($5,0 \mu\text{g.L}^{-1}$) la precisión obtenida con las dos técnicas de flujo cumple el requisito exigido por el legislador (B.O.E. 21-02-2003) de que su valor expresado como S_R en %, no sea peor que el 25% del valor paramétrico (25% de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ corresponde a ± 6).

Para cantidades de BrO_3^- inferiores a $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ para conseguir la precisión adecuada sería preciso realizar calibrados al menos con $n = 10$ patrones.

APLICACIÓN AL ANÁLISIS DE AGUAS OZONIFICADAS PROCEDENTES DE LA POTABILIZADORA DE ZAMORA

La ciudad de Zamora, es una de las capitales de provincia españolas, que desde 1998 está subvencionada por la Comunidad Económica Europea para aplicar como sistema de desinfección en potabilización, la utilización de O_3 , si

bien se clora posteriormente el agua a la salida de la estación potabilizadora (incluso en la red).

Desde el día 1 de Mayo de 2005 hasta el día 8 del mismo mes, se toman muestras de agua en recipientes de polietileno que se conservan en la cámara fría (4°C) hasta el momento de su análisis. Todas las muestras son tomadas a la salida del depósito después de la ozonificación y se dejan abiertas en la cámara fría para garantizar la eliminación del O₃, si bien esta es prácticamente inmediata.

Ante la ausencia de normativa de la EPA para el análisis de BrO₃⁻ en aguas, respecto al tiempo en que es obligatorio realizarlo, las muestras tomadas cada día son analizadas en diferentes periodos de tiempo para comprobar si existe alguna diferencia en los resultados.

En la Tabla 55 se muestran los valores obtenidos para las diferentes muestras de la potabilizadora de Zamora utilizando la técnica clásica de inyectar 147 µL de muestra en el esquema de flujo ya indicado y midiendo la altura de los fiagramas, ΔA, para determinar a partir de la ecuación del calibrado la concentración de BrO₃⁻ con su precisión.

Como se puede comprobar en la Tabla 55, cada día de trabajo se introducen previamente 6 disoluciones patrón de BrO₃⁻ entre 5 y 50 µg.L⁻¹ para obtener la ecuación del calibrado correspondiente.

Comparando las ecuaciones de los calibrados obtenidos puede comprobarse que no hay diferencia significativa entre ellos a pesar de preparar disoluciones nuevas de Fucsina decolorada.

Para asegurar la no existencia de problemas de matriz o interferencias, cada muestra se determina además mediante “adición estándar” después de ser diluida para que la señal analítica quede dentro del calibrado.

De los resultados obtenidos para cada muestra se deduce que los valores obtenidos mediante la técnica en flujo continuo sin y con adición

estándar, no difieren significativamente para un nivel de confianza del 95%, de lo que parece deducirse que la señal analítica medida se debe a BrO_3^- .

Tabla 55. Análisis de muestras de agua procedentes de la potabilizadora de Zamora. Resultados obtenidos mediante la técnica clásica en continuo, sin y con adición estándar.

		Fecha de calibrado y análisis									
		05.05.05		06.05.05		09.05.05		10.05.05		10.05.05	
		$-5 \times 10^{-3} + 2,3 \times 10^{-3}$		$-3 \times 10^{-3} + 2,4 \times 10^{-3}$		$x 10^{-3} + x 10^{-3}$		$-4 \times 10^{-3} + 2,5 \times 10^{-3}$		$-2 \times 10^{-3} + 2,4 \times 10^{-3}$	
		Dilución: 50%		Dilución: 50%		Dilución: 50%		Dilución: 50%		Dilución: 75%	
		Dopando: 16, 20, 30 $\mu\text{g.L}^{-1}$		Dopando: 8, 20, 32 $\mu\text{g.L}^{-1}$		Dopando: 8, 20, 32 $\mu\text{g.L}^{-1}$		Dopando: 8, 12, 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$		Dopando: 8, 12, 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$	
		Continuo	Parando	Continuo	Parando	Continuo	Parando	Continuo	Parando	Continuo	Parando
Fecha toma de muestra	01.05.05	31 ± 2	30 ± 5	28 ± 2	30 ± 5						
	02.05.05	32 ± 2	30 ± 5	31 ± 2	29 ± 5						
	03.05.05	46 ± 2	45 ± 5	45 ± 2	43 ± 5						
	04.05.05					35 ± 2	37 ± 5				
	05.05.05					38 ± 2	39 ± 5				
	06.05.05					36 ± 2	36 ± 5				
	07.05.05							68 ± 3	66 ± 7		67 ± 8
	08.05.05							83 ± 3	84 ± 7		83 ± 8

La interferencia negativa de ClO_2^- debe descartarse pues el agua analizada aún no ha sido clorada en el sistema de potabilización y su existencia en el agua de entrada del río Duero es poco probable.

Desde un punto de vista práctico parece deducirse que las muestras pueden analizarse al menos después de 5 días de ser tomadas, sin que se altere la concentración de BrO_3^- .

Se han puesto a punto métodos de flujo continuo para la determinación de BrO_3^- en aguas potabilizadas con ozono desde concentraciones del orden de $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ (por debajo del nivel paramétrico establecido para el año 2009: $10 \mu\text{g.L}^{-1}$) independientemente de la modalidad utilizada, técnica clásica en continuo o parada de flujo en un reactor termostataado.

La única interferencia encontrada ha sido la del anión ClO_2^- por encima de $750 \mu\text{g.L}^{-1}$ (para BrO_3^- $25 \mu\text{g.L}^{-1}$) en la técnica clásica y $2,5 \text{mg.L}^{-1}$ en la técnica de parada de flujo. Los valores de ClO_2^- comentados son anormalmente altos en sistemas de potabilización en los que, además de usar ozono, se utiliza ClO^- como reforzante para la desinfección.

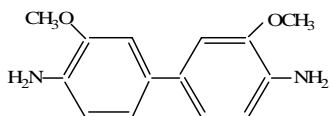
Los métodos han sido validados dopando el agua de grifo de la ciudad de Salamanca. En todos los casos, los valores encontrados no difieren significativamente (para un nivel de confianza del 95 %) de los puestos.

La precisión obtenida se adecúa a los valores establecidos en la legislación para el valor paramétrico de $10 \mu\text{g.L}^{-1}$. Para valores inferiores a éste ($5,0 \mu\text{g.L}^{-1}$) sería necesario operar con calibrados obtenidos para $n = 10$ patrones.

DETERMINACIÓN DE BROMATO EN FLUJO CONTINUO.

REACCIÓN CON O-DIANISIDINA

O-DIANISIDINA (ODA), 3-3'-DIMETOXI-BENCIDINA:



La o-Dianisidina es un reactivo poco soluble en agua y soluble en medio ácido H^+ , que ha sido utilizado como reactivo post-columna para la determinación de BrO_3^- , tras su separación mediante cromatografía iónica.

La reacción química tiene su fundamento en la formación de Br_2 en presencia de Br^- en exceso y la bromación de la ODA, generando un producto de color pardo que absorbe en la zona del visible.

Al tratarse de un método espectrofotométrico aparentemente sencillo parece interesante ponerlo a punto en flujo continuo para la determinación rutinaria de BrO_3^- en aguas potabilizadas en las que se utiliza O_3 como desinfectante.

Como lo que se pretende es que dicho método en flujo continuo pueda sustituir a los métodos separativos, el estudio de interferencias será de gran importancia.

3.1. ESTUDIOS PREVIOS

CARACTERÍSTICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS DE LA ODA EN AUSENCIA Y PRESENCIA DE BROMO

En la Figura 189 se muestra el espectro de una disolución de ODA, $9,8 \times 10^{-4}$ M, en medio ácido HNO_3 (0,58 M) y en presencia de KBr ($1,95 \times 10^{-2}$ M). Puede comprobarse como presenta una banda ancha de absorción entre 200 y 325 nm como corresponde a una molécula orgánica con esa estructura.

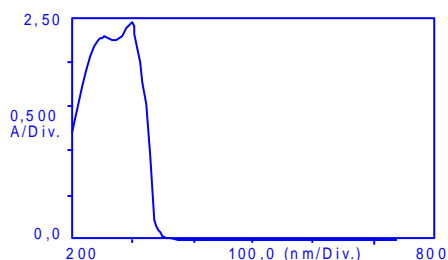


Figura 189. Espectro de una disolución conteniendo ODA, $9,8 \times 10^{-4}$ M, en medio HNO_3 0,58 M y KBr 5 g.L^{-1} ; $1,95 \times 10^{-2}$ M.

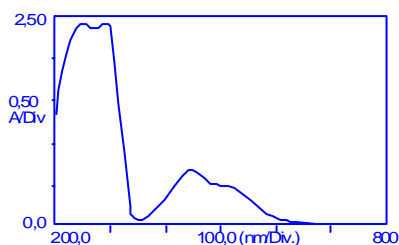


Figura 190. Espectro de la disolución de ODA, $9,8 \times 10^{-4}$ M, en medio HNO_3 (0,58 M) y KBr (5 g.L^{-1}) a la que se le añadió BrO_3^- (5 mg.L^{-1}). Espectro registrado 6 min después de la adición de BrO_3^- .

Cuando a la disolución anterior se le añade BrO_3^- (5 mg.L^{-1} , en este caso), el espectro registrado 6 min después de la adición, se muestra en la Figura 190.

Puede observarse como aparece una banda de absorción ancha en la zona del visible, que corresponde a la formación del compuesto bromado de color pardo con máximo a 450 nm.

ASPECTOS CINÉTICOS DE LA REACCIÓN

La reacción anteriormente comentada no es instantánea, evoluciona de manera positiva, inicialmente con el tiempo, Figura 191, y a partir de los 6 minutos, para esta disolución y a temperatura ambiente, la absorbancia a 450 nm comienza a disminuir por descomponerse el producto bromado.

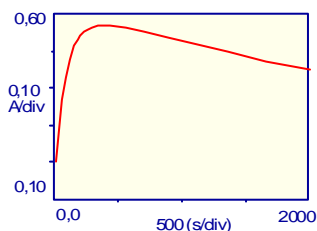


Figura 191. Evolución cinética a los 22 °C de una disolución de ODA, en medio ácido conteniendo KBr en exceso, a la que se añadió $[\text{BrO}_3^-]$: 5 mg.L⁻¹, $[\text{ODA}]$: $9,8 \times 10^{-4}$ M, $[\text{HNO}_3]$: 0,58 M, $[\text{KBr}]$: $1,95 \times 10^{-2}$ M.

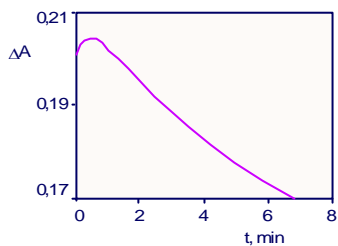


Figura 192. Evolución cinética a 35°C de una disolución de ODA, en medio ácido conteniendo KBr en exceso, a la que se añadió $[\text{BrO}_3^-]$: 5 mg.L⁻¹, $[\text{ODA}]$: $9,8 \times 10^{-4}$ M, $[\text{HNO}_3]$: 0,58 M, $[\text{KBr}]$: $1,95 \times 10^{-2}$ M.

No obstante, la evolución cinética de la reacción depende de la temperatura, como puede comprobarse en la Figura 192 donde se muestra la evolución cinética a 35 °C de una disolución de ODA en medio ácido, en presencia de KBr a la que se añadió BrO_3^- . A esta temperatura la subida inicial de absorbancia a 35 °C es más brusca, lo que indica que la reacción de formación del producto con ODA es más rápida cuanto mayor sea la temperatura, llegándose a alcanzar un valor máximo, en este caso antes de los 30 s de comenzada la reacción.

Por otra parte, cuanto mayor es la temperatura de la disolución más se favorece el proceso de descomposición del producto bromado.

Desde un punto de vista práctico, se comprueba que el valor máximo de absorbancia, fijadas constantes las demás variables químicas y la temperatura, es independiente de la concentración de BrO_3^- .

En la Figura 193 se muestra la evolución cinética para diferentes concentraciones de BrO_3^- , a temperatura ambiente, 22 °C, donde se alcanza el valor máximo de absorbancia en todos los casos, prácticamente a los 600 s.

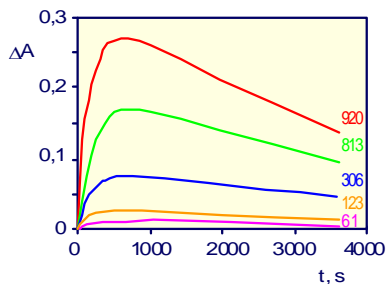


Figura 193. Evolución cinética de de las disoluciones ácidas de ODA, en presencia de KBr en exceso, conteniendo diferentes concentraciones de BrO_3^- : 61, 123, 306, 813 y 920 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; $[\text{ODA}] = 6,82 \times 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 1,37 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 0,427 \text{ M}$, $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$.

3.2. ESQUEMA DE FLUJO

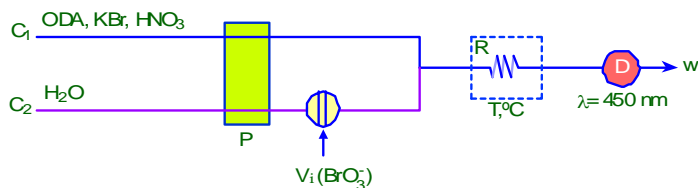


Figura 194. Esquema de flujo propuesto para la determinación de BrO_3^- en continuo mediante la reacción de bromación de ODA, C_1 y C_2 : canales, V_i : válvula de inyección, R : reactor helicoidal, D : detector,.

Para el estudio de las variables químicas, geométricas e hidrodinámicas que afectan a la reacción de bromación de la ODA se diseña el esquema de flujo que se expone en la Figura 194. Por el canal C_1 fluye la disolución de reactivo, R , formada por o-dianisidina, ODA, en medio HNO_3 y KBr en exceso. Por el canal C_2 fluye el portador, P , agua bidestilada, donde se inyecta cuando así se desee un volumen, V_i de disolución patrón o muestra conteniendo BrO_3^- . Las velocidades de flujo de ambas disoluciones, F_R y F_P , se controlan mediante la bomba peristáltica y el diámetro de los tubos de silicona. Ambas disoluciones confluyen en una conexión en T de metacrilato donde se mezclan y diluyen, y a partir de ese punto, cuando se inyecta BrO_3^- , comienzan las reacciones con Br^- para generar Br_2 y la bromación de la ODA.

El tiempo y cinética de la reacción se controlan junto con el caudal total, $F_R + F_P$, con un reactor R de longitud adecuada, a estudiar, que se encuentra introducido en un baño termostataado a la temperatura deseada.

El producto de reacción, es monitorizado a través de la medida de absorbancia a 450 nm.

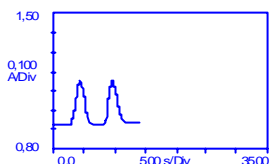


Figura 195. *Diagrama típico obtenido al inyectar 228 μL de BrO_3^- ($3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. C_2 : H_2O . $V_i = 228 \mu\text{L}$; $F_P = 0,124 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $R = 300 \text{ cm}$; $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$; $A = 0,219$.*

La señal analítica obtenida, diagrama, es en este caso una señal positiva, Figura 195, cuya altura es proporcional a la concentración de BrO_3^- inyectada. En el caso concreto de la Figura 195 el diagrama corresponde a la inyección de 228 μL de una disolución de BrO_3^- de $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ siendo $R = 300 \text{ cm}$ y $T = 22^\circ\text{C}$

Con los caudales prefijados en la presente experiencia, $F_R = F_P = 0,124 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (Flujo total $F_t = 0,248 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), el tiempo de aparición es de 184 segundos (para $R = 300 \text{ cm}$), siendo el valor de Δt , anchura de la línea base, de unos 320 s.

La línea base es muy estable y prácticamente no tiene fluctuaciones, siempre y cuando la disolución de ODA sea previamente filtrada (es muy insoluble y genera una película de tipo polimérico). La filtración puede realizarse también en continuo colocando un filtro a la entrada del tubo de aspiración de la disolución.

3.3. OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES

3.3.1. VARIABLES QUÍMICAS

Concentración de ODA

Utilizando el esquema de flujo de la Figura 194, fijando la longitud del reactor en 300 cm y la temperatura de termostatación en 22°C, se inyectan 228 µL de una disolución patrón de BrO_3^- de 3 mg.L^{-1} ($9,0 \times 10^{-6} \text{ M}$) de concentración. F_R y F_P se mantienen constantes en $0,124 \text{ mL.min}^{-1}$, por lo que desde el punto de confluencia $F_T = 0,248 \text{ mL.min}^{-1}$.

En estas condiciones se preparan disoluciones de reactivo que en todos los casos contienen $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$ y concentraciones de o-dianisidina, ODA, entre $0,20 \times 10^{-3}$ y $1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$ (esta última es la máxima concentración que se puede preparar de dicho reactivo debido a su baja solubilidad).

En la Tabla 56 se indican los valores de absorbancia a 540 nm., obtenidos para cada concentración de ODA y en la Figura 196 se muestra su representación gráfica.

Puede observarse como, a medida que aumenta la concentración de ODA se incrementa el valor de absorbancia a 540 nm, alcanzándose un valor prácticamente constante desde una concentración de $1,20 \times 10^{-3} \text{ M}$. Como el análisis por inyección en flujo es un método cinético a tiempo prefijado, todas las medidas están realizadas al mismo tiempo de reacción (170 s en el presente caso). Por este motivo el valor de absorbancia a 540 nm, medida del producto de reacción formado, es indicativo de la velocidad de la reacción total. Cuanto mayor es la concentración de ODA, mayor es la velocidad de bromación de dicho producto.

El estudio se ha realizado con una concentración de BrO_3^- alta, 3 mg.L^{-1} , por lo que es lógico pensar que las conclusiones obtenidas sean válidas para concentraciones inferiores.

Tabla 56. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la concentración de ODA.

[ODA] $\times 10^{-3}$, M	ΔA , 450 nm
0,20	0,087
0,38	0,130
0,54	0,161
0,75	0,182
1,00	0,197
1,20	0,208
1,59	0,216
1,95	0,216

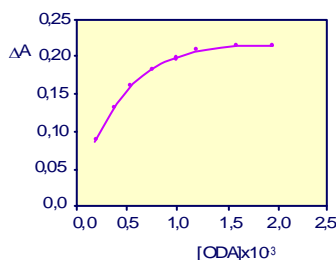


Figura 196. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la concentración de ODA. C_1 : $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL.min}^{-1}$. C_2 : H_2O ; $V_i = 228 \mu\text{L}$; $F_P = 0,124 \text{ mL.min}^{-1}$; $R = 300 \text{ cm}$; $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\text{BrO}_3^-] = 300 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Desde un punto de vista práctico interesa conocer que la concentración de $1,20 \times 10^{-3} \text{ M}$ para la cual prácticamente se alcanza ya el valor máximo de absorbancia, corresponde a una concentración de ODA desde el punto de confluencia de $0,60 \times 10^{-3} \text{ M}$, teniendo en cuenta la dilución debido a los valores de F_R y F_P .

Para el resto de experiencias en las que se mantenga $F_R = F_P$, se trabajará con la cantidad máxima de $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$.

Concentración de bromuro

El KBr interviene en la reacción con BrO_3^- para generar Br_2 que posteriormente reaccionará con ODA.

Para el conocimiento de la concentración de KBr , para la cual se consigue la máxima formación de producto bromado, se emplean las mismas

condiciones experimentales que en el estudio de la influencia del reactivo ODA, manteniendo constante la concentración de ODA en $1,95 \times 10^{-3}$ M y $[\text{HNO}_3] = 1,22$ M. La concentración de KBr se modifica desde $5,0 \times 10^{-3}$ hasta $39,0 \times 10^{-3}$ M.

Los valores de absorbancia a 450 nm, obtenidos en las diferentes experiencias se muestran en la Tabla 57 y se representan en la Figura 197.

Tabla 57. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA.

[KBr] $\times 10^{-3}$, M	ΔA , 450 nm
5,0	0,180
10,0	0,195
15,0	0,204
20,0	0,212
25,0	0,216
34,0	0,217
39,0	0,216

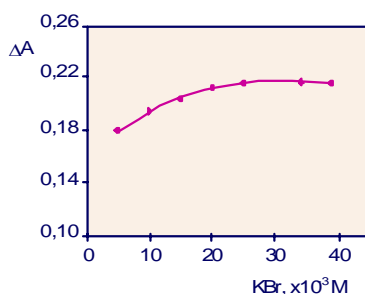


Figura 197. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la concentración de KBr. Influencia de la concentración de KBr sobre la señal analítica. C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3}$ M; $[\text{HNO}_3] = 1,22$ M; $F_R = 0,124$ mL.min $^{-1}$. C_2 : H_2O . $V_i = 228$ μL ; $F_p = 0,124$ mL.min $^{-1}$; $R = 300$ cm; $T = 22$ °C; $[\text{BrO}_3^-] = 300$ $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Puede observarse como se alcanza una señal prácticamente constante desde una concentración de KBr de $20,0 \times 10^{-3}$ M (que corresponde a $10,0 \times 10^{-3}$ M desde el punto de confluencia). Para concentraciones inferiores, a pesar de ser valores claramente en exceso respecto a la concentración de BrO_3^- inyectada ($9,0 \times 10^{-6}$ M), la señal es ligeramente inferior, lo que indica claramente la dependencia cinética de la reacción con la concentración de Br $^-$.

Como para la concentración de BrO_3^- inyectada, 300 mg.L $^{-1}$, relativamente alta, las concentraciones de KBr para las que se alcanza la máxima señal analítica son superiores a $20,0 \times 10^{-3}$ M, es lógico pensar que con estas cantidades se alcanzarán los máximos valores para la velocidad de

reacción cuando las concentraciones de BrO_3^- inyectadas sean inferiores a 300 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Desde un punto de vista práctico, para el resto de estudios se escoge como concentración “óptima” de KBr, la de máxima solubilidad, $3,9 \times 10^{-2}$ M, para garantizar en el punto de confluencia, cuando se modifiquen las velocidades de flujo, que la concentración después de la dilución es superior a $1,0 \times 10^{-2}$ M.

Concentración de HNO_3

La reacción entre BrO_3^- y Br^- para generar Br_2 es dependiente de $[\text{H}^+]$, por este motivo se estudia la influencia de la concentración de HNO_3 sobre la señal analítica.

Se fijan las condiciones geométricas e hidrodinámicas utilizadas en el estudio de la influencia de las concentraciones de ODA y KBr y se mantienen constantes las concentraciones de ODA en $1,95 \times 10^{-3}$ M, de KBr en $3,9 \times 10^{-2}$ M, modificando la de HNO_3 entre 0,10 M y 1,22 M. En el punto de confluencia, los valores se reducen a la mitad por trabajar con caudales de $F_R = F_P = 0,124$ $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 58 y se representan en la Figura 198.

Puede comprobarse como la señal analítica aumenta al hacerlo la $[\text{H}^+]$ alcanzándose un valor constante a partir de una concentración de 0,60 M en la disolución de reactivo lo que corresponde a una concentración de ácido HNO_3 de 0,30 M en el punto de confluencia.

Desde un punto de vista práctico se escoge como concentración de trabajo para HNO_3 un valor de 1,22 M para garantizar en el punto de confluencia la concentración óptima, aunque se modifiquen los valores de F_R y F_P (siempre con la limitación del valor mínimo de 0,30 M en la confluencia).

Tabla 58. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la concentración de ácido HNO_3 .

$[\text{HNO}_3], \text{M}$	$\Delta A, 450 \text{ nm}$
0,10	0,025
0,20	0,089
0,30	0,137
0,42	0,180
0,60	0,215
0,79	0,216
1,04	0,216
1,22	0,216

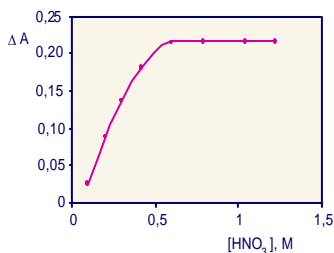


Figura 198. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la concentración de ácido HNO_3 . C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. C_2 : H_2O . $V_i = 228 \mu\text{L}$; $F_p = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $R = 300 \text{ cm}$; $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\text{BrO}_3^-] = 300 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

3.3.2. VARIABLES GEOMÉTRICAS E HIDRODINÁMICAS

Volumen de inyección

En un sistema de flujo continuo, el valor del volumen de inyección, V_i , es una variable a controlar, pues afecta a la señal analítica en dos sentidos, altura del fiagrama (sensibilidad) y anchura en la base del fiagrama (velocidad de determinación).

Para escoger el valor más adecuado de V_i en un esquema de flujo como el de la Figura 194, fijando las variables químicas, geométricas e hidrodinámicas, en los valores: C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. C_2 : H_2O como portador; $F_P = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. $R = 300 \text{ cm}$; $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\text{BrO}_3^-] = 300 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, se modifica el volumen de inyección (incluido el volumen muerto) desde 45 hasta 640 μL . También se obtiene la señal analítica que genera la disolución patrón de BrO_3^- pasándola en continuo por el canal portador. En la Figura 199 se muestran, a título de

ejemplo, los fiagramas obtenidos al inyectar volúmenes bajos, altos y en continuo.

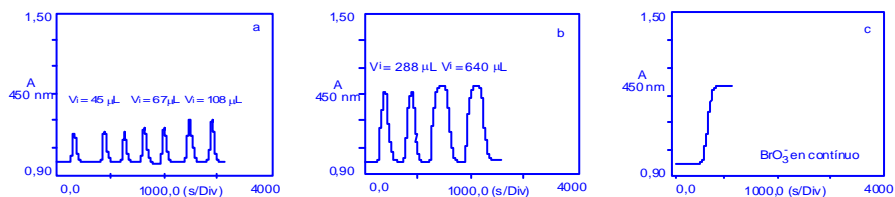


Figura 199. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de V_i sobre la señal analítica. a) fiagramas para V_i bajos. b) fiagramas para V_i altos. C) fiagrama de BrO_3^- en continuo por el canal del portador. $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. C_2 : $F_P = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $R = 300 \text{ cm}$; $T = 50 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\text{BrO}_3^-] = 300 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

En la Tabla 59 se indican los valores de ΔA a 450 nm para cada V_i ensayado, así como el valor de Δt para cada fiagrama. Los valores obtenidos se han representado en la Figura 200.

Tabla 59. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de V_i sobre la altura del fiagrama, ΔA , y anchura de la línea base, Δt .

V_i , μL	ΔA , 450 nm	Δt , s
45	0,111	255
67	0,124	270
108	0,169	285
179	0,233	310
239	0,257	326
274	0,259	360
288	0,260	385
640	0,265	500
continuo	0,280	-

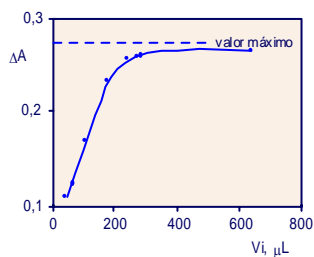


Figura 200. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de V_i . C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. C_2 : H_2O . $F_P = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $R = 300 \text{ cm}$; $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\text{BrO}_3^-] = 300 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Al aumentar el volumen de inyección, V_i , aumenta la señal analítica, ΔA , por aumentar la concentración relativa de BrO_3^- en el centro del bolo reaccionante, al disminuir la dispersión. Este incremento es muy acusado hasta

240-250 μL , tendiendo exponencialmente luego al valor de 0,280 que muestra la disolución de BrO_3^- sin dispersar (en continuo).

Los valores del coeficiente de dispersión de Ruzicka, D , calculados como cociente de ΔA entre la señal en continuo y el valor alcanzado para cada V_i , oscilan entre 2,5 y 1,1 (para 45 y 640 μL , respectivamente).

Cuando el volumen inyectado es muy alto, 640 μL , el centro de la muestra no llega a sufrir dispersión, de ahí que la señal presente una zona constante en su máximo valor.

Por otra parte el incremento de V_i tiene un efecto contrario sobre el valor de Δt . A medida que aumenta V_i , aumenta el valor de Δt por lo que disminuye la velocidad de determinación.

Desde un punto de vista práctico se concluye que *un volumen de 288 μL es el adecuado* para conseguir prácticamente la máxima sensibilidad manteniendo constante la velocidad de determinación en un valor razonable de unas 10 determinaciones por hora.

Caudal

En un sistema en flujo continuo, la velocidad de flujo total, si se mantiene el resto de variables constantes, desde el punto donde confluyen la disolución de reactivos y el "bolo" de analito inyectado, controla el tiempo de reacción. Cuanto mayor es la velocidad de flujo menor es el tiempo de reacción y menor es la dispersión, dos efectos de signo contrario que afectan a la señal analítica en reacciones de cinética lenta.

Por otra parte cuanto menor es a velocidad de flujo, mayor es el tiempo de reacción, lo cual en reacciones de cinética lenta es favorable para la sensibilidad pero también mayor es el valor de Δt en la base del fiagrama lo que disminuye la velocidad de determinación.

En un esquema de flujo con dos canales como el presente, se puede operar experimentalmente de dos maneras:

a) Modificando la velocidad de flujo total pero *manteniendo siempre* $F_R = F_P$, con lo que en todos los casos la dilución por mezcla que experimenta el “bolo inyectado” es constante (factor de dilución 2). El efecto de la variación de la velocidad de flujo total afecta a la señal analítica por motivos cinéticos y debido a la variación de la dispersión del “bolo de muestra”.

b) Modificando la velocidad de flujo total, *variando a la vez de manera diferente* $F_R = F_P$. En este caso además de los efectos cinéticos al no ser iguales F_R y F_P hay que tener en cuenta los factores de dilución tanto para los reactivos como para el “analito” inyectado. La dilución de reactivos (ODA, KBr, $[H^+]$) puede afectar a la cinética de la reacción si se baja de los valores adecuados y la dilución de la “muestra inyectada” afecta a la sensibilidad de la determinación.

Por otra parte, como ya comentamos, la cinética de la reacción de bromación está afectada por la temperatura por lo que si el reactor R se termostata a una temperatura distinta a la ambiental, interviene sobre la señal analítica una nueva variable: el incremento de temperatura.

Por las razones antes expuestas, el estudio de la influencia del flujo total sobre la señal analítica final se ha realizado mediante dos series de experiencias en las que el reactor R se mantiene a la misma temperatura de los reactivos, 22 °C, para eliminar su influencia.

A. Influencia del caudal *manteniendo* $F_R = F_P$

En el esquema de flujo de la Figura 194 y fijando las condiciones experimentales: C_1 : $[ODA] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[KBr] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[HNO_3] = 1,22 \text{ M}$; C_2 : H_2O como portador; $V_i = 288 \mu\text{L}$ de disolución patrón de BrO_3^- de 3 mg.L^{-1} de concentración. $R = 300 \text{ cm}$; $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$, se modifica el flujo total, F_t desde $0,176$ hasta $0,822 \text{ mL.min}^{-1}$. El tiempo de aparición, t_a , varía desde 260 s hasta 58 s , respectivamente, correspondiendo a tiempos de reacción desde la confluencia desde 248 s hasta 56 s respectivamente. En todos los casos se mantiene $F_R = F_P = F_t/2$.

En la Figura 201 se muestran a los diagramas obtenidos a valores de caudal, de $0,166$, $0,498$ y $0,822 \text{ mL.min}^{-1}$. Se pretende con ello mostrar como a

medida que se incrementa la velocidad de flujo se modifica la forma de los diagramas, pasando de la típica forma simétrica a bajos caudales por predominar los procesos de difusión a una forma mixta en la que disminuyendo la dispersión aumenta la forma debida a procesos de convección (presencia de más colas cuando se trabaja a altas velocidades de flujo).

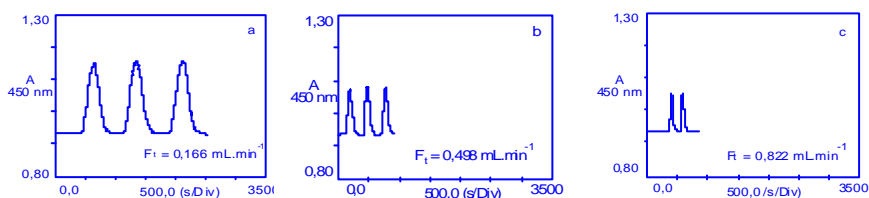


Figura 201. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de F_t sobre la señal analítica ($F_R = F_P$). Diagramas obtenidos a a) $F_t = 0,166 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; b) $F_t = 0,498 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; c) $F_t = 0,822 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; C_2 : $R = 300 \text{ cm}$; $T = 22 \text{ }^\circ\text{C}$; $V_i = 288 \text{ }\mu\text{L}$.

En la Tabla 60 se indican los valores de ΔA obtenidos para cada valor de F_t estudiado así como los de tiempos de reacción, t_R , y anchura del diagrama en la línea base, Δt .

La representación gráfica de ΔA frente a F_t (Figura 202 a) muestra claramente como la señal disminuye de valor a medida que aumenta la velocidad de flujo total. No obstante aunque el resultado es claro, la forma de la relación no es intuitiva.

Por esta razón se representa en la Figura 202 b el valor de ΔA en función del tiempo de reacción. El resultado obtenido muestra una curva de evolución cinética: a mayor tiempo de reacción (menor valor de F_t) mayor señal analítica, tendiendo a valores altos a alcanzar un valor máximo. Esta curva cinética es similar al primer tramo de la curva de la Figura 191 obtenida en discontinuo a temperatura ambiente.

En ningún momento, para los tiempos de reacción estudiados (hasta 248 s), a temperatura de $22 \text{ }^\circ\text{C}$ se ha podido observar el descenso de la señal analítica debida al proceso de descomposición del producto bromado.

Tabla 60. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de F_t sobre la señal analítica ($F_R = F_P$)

F_t $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	t_R , s	t_a , s	ΔA 450 nm	Δt , s
0,166	248	260	0,223	470
0,248	174	184	0,215	320
0,330	124	132	0,192	280
0,498	86	92	0,149	210
0,658	64	68	0,132	175
0,822	56	58	0,115	140

$$F_R = F_P = F_t/2$$

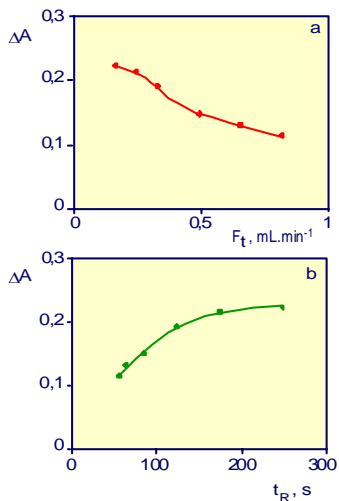


Figura 202. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA: Influencia de F_t ($F_R = F_P$) sobre ΔA . b: Valores de ΔA en función del tiempo de reacción, t_R . C_1 : [ODA] = $1,95 \times 10^{-3}$ M; [KBr] = $3,9 \times 10^{-2}$ M; [HNO₃] = 1,22 M. C_2 : H₂O como portador; R = 300 cm; T = 22 °C; V_i = 288 μL ; [BrO₃⁻] = 300 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Desde un punto de vista de sensibilidad, interesa por lo tanto trabajar con bajas velocidades de flujo (tiempos de reacción próximos a los 300 s). Por el contrario, las mejores condiciones para la sensibilidad son las peores para la velocidad de determinación. A bajas velocidades de flujo total los valores de Δt son altos, 470 s para $F_t = 0,166 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

B. Variación de la relación F_P/F_R manteniendo constante F_t

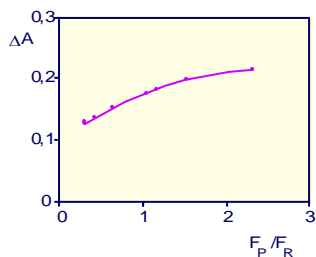
En el esquema de flujo de la Figura 194, se fijan las mismas condiciones que en el estudio anterior salvo que la velocidad de flujo F_R se modifica desde 0,124 hasta 0,312 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_P desde 0,288 hasta 0,100 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, de forma que en todas las experiencias se mantiene constante F_t en 0,412 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y por tanto el tiempo de reacción también lo es: 102 segundos.

En la Tabla 61, se muestran los resultados obtenidos. Cuanto mayor es la relación F_P/F_R mayor es la velocidad de flujo de la disolución del portador respecto de la disolución de reactivo por lo que el bolo de muestra se diluye debido a la mezcla, en menor medida. En dicha Tabla 61 también se indica el

valor de F_t/F_R que en realidad indica el factor de dilución que experimenta la disolución de reactivos.

Tabla 61. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de F_P/F_R sobre la señal analítica. $F_t = 0,412 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

F_R $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	F_P $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	F_P/F_R	F_t/F_R	ΔA 450 nm
0,124	0,288	2,32	3,32	0,214
0,163	0,249	1,53	2,53	0,198
0,189	0,223	1,18	2,18	0,181
0,200	0,212	1,06	2,06	0,176
0,249	0,163	0,65	1,65	0,152
0,288	0,124	0,43	1,43	0,137
0,312	0,100	0,32	1,32	0,128



$F_t = 0,412 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$

Figura 203. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de F_P/F_R ($F_t = 0,412 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) sobre ΔA . Las condiciones experimentales se indican en la Figura 202.

Recordemos que en el estudio de influencia de la concentración de ODA, KBr y HNO_3 se había llegado a la conclusión de que las concentraciones a partir de las cuales la señal analítica era constante eran: $[ODA] = 0,60 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[KBr] = 1,0 \times 10^{-2} \text{ M}$ y $[HNO_3] = 0,30 \text{ M}$. Como el único reactivo que plantea problemas de solubilidad es la ODA, y teniendo en cuenta que la máxima concentración que se puede preparar es $1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, no se debe superar un factor de dilución de 3,25 que prácticamente es el mayor valor con el que se trabaja en la experiencia (3,32). Por este motivo no ha sido posible manteniendo el F_t en $0,412 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, bajar más de $0,124 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ el valor de F_R .

Los valores de ΔA obtenidos en cada experiencia, que se muestran en la Tabla 61, se han representado gráficamente en la Figura 203 frente al valor de F_P/F_R .

Puede comprobarse como el máximo valor de absorbancia, ΔA , se obtiene para la máxima relación F_P/F_R posible que es de 2,32. Cuanto mayor es

el valor de F_p sobre el de F_R menor dilución experimenta la muestra inyectada que contiene el analito, por tanto mayor concentración de BrO_3^- en el punto de confluencia.

Desde el punto de vista práctico para conseguir una mayor sensibilidad, escogido el valor de F_t adecuado, interesa trabajar con valores superiores de F_p que de F_R siempre manteniendo un factor de dilución, para los reactivos, máximo de 3,3.

No se ha comentado nada del valor de t_a porque no tiene interés para el objetivo del estudio, pero se puede comentar que varía unos segundos entre las diferentes experiencias según sea el valor de F_p , oscilando entre 112 para $F_p = 0,288 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y 123 para $F_p = 0,100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Temperatura de termostatación del reactor

Como se pudo comprobar en los estudios previos la reacción total que conduce a la bromación de la ODA es de cinética lenta y además el producto final de la reacción se descompone con el tiempo (Figura 191).

El proceso de formación (velocidad de formación) y el de descomposición se aceleran con la temperatura (Figura 192) de ahí que el control de esta variable sea fundamental para conseguir la máxima señal analítica.

Para el estudio de la influencia de la temperatura, en el esquema de flujo de la Figura 194 se fijan las siguientes condiciones experimentales: C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. C_2 : H_2O como portador; $V_i = 228 \mu\text{L}$ de disolución patrón de BrO_3^- de $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración. $F_p = 0,124 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $R = 300 \text{ cm}$, variando la temperatura de termostatación entre $22 \text{ }^\circ\text{C}$ y $70 \text{ }^\circ\text{C}$. En estas condiciones el tiempo de aparición, t_a , es de 184 s; el tiempo de reacción, t_R , 174 s y el tiempo de contacto entre el "bolo reaccionante" y el reactor termostatado sumergido en el baño es de 145 s (300 cm , $F_t = 0,248 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

Los valores de ΔA obtenidos se muestran en la Tabla 62 y se representan en la Figura 204.

Tabla 62. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor R.

T (°C)	ΔA
22	0,219
30	0,247
40	0,262
50	0,271
60	0,264
70	0,225

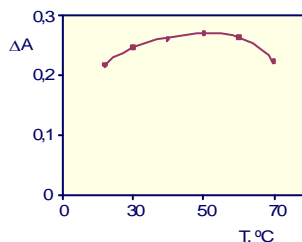


Figura 204. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor R sobre ΔA . C₁: $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$. C₂: H_2O como portador; R = 300 cm; T = 22 °C; $V_i = 288 \mu\text{L}$; $[\text{BrO}_3^-] = 300 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Puede comprobarse como para los tiempos de contacto y reacción estudiados, a medida que se incrementa la temperatura de termostatación, entre 22 y 50 °C, se acelera la reacción de bromación, obteniéndose valores de ΔA cada vez más altos. Para temperaturas superiores se mide ya en el proceso de descomposición del producto bromado, razón por la cual el valor de ΔA disminuye cuanto mayor es la temperatura.

Para los tiempos de contacto y reacción estudiados al máximo valor de ΔA se obtiene termostatando el reactor a 50 °C. Para otros tiempos de contacto y reacción diferentes (R , F_P y F_R , diferentes) se conseguirían gráficas con relaciones similares si bien el máximo de ΔA se obtendría para diferentes temperaturas.

Desde el punto de vista práctico parece deducirse que para conseguir el mayor valor de ΔA en el menor tiempo de reacción posible interesa trabajar a temperaturas superiores a 40 °C, teniendo en cuenta, que a temperaturas elevadas 60 °C ó 70 °C se generan pequeñas burbujas de gas en la pared interna del reactor que alteran la forma de los fiagramas afectando a su reproducibilidad, como puede comprobarse en la Figura 205 en donde se muestra la reproducibilidad de fiagramas obtenidos a 40 °C y 70 °C.

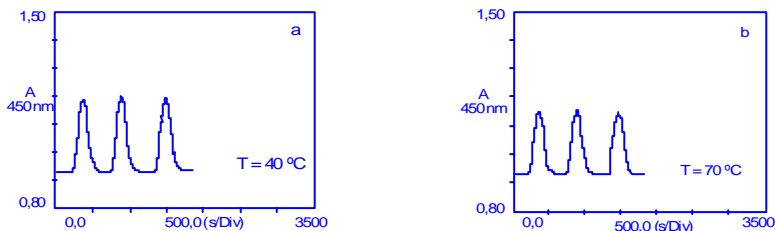


Figura 205. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la temperatura de termostatación del reactor sobre la reproducibilidad de los diagramas. a: Diagrama a $40\text{ }^\circ\text{C}$; b: Diagrama a $70\text{ }^\circ\text{C}$.

Longitud del reactor y temperatura de termostatación. A velocidad de flujo prefijada.

Como acabamos de comprobar en los estudios anteriores, la sensibilidad en el método de determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA depende de la temperatura y del tiempo de reacción al que se realice la medida.

A flujo constante, F_t previamente prefijado, el tiempo de reacción se puede controlar con la longitud del reactor R. Por otra parte a una temperatura prefijada de termostatación y a F_t constante la longitud del reactor afecta al tiempo de contacto, t_c , entre el “bolo reaccionante” y el reactor termostatado por lo que el incremento de temperatura alcanzado será mayor cuanto mayor sea la longitud del reactor R.

Existe por lo tanto una interrelación entre señal analítica, ΔA , longitud de R y temperatura de termostatación, T, una vez prefijado un valor de F_t .

Con el fin de estudiar la influencia conjunta de la longitud del reactor y de la temperatura de termostatación, en el esquema de flujo de la Figura 194 se fijan las siguientes condiciones: C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3}\text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2}\text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22\text{ M}$; $F_R = 0,124\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. C_2 : H_2O como portador; $V_i = 288\text{ }\mu\text{L}$ de disolución patrón de BrO_3^- de $300\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración. $F_P = 0,288\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. En estas condiciones en las que $F_t = 0,412\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y se respeta el máximo de

dilución de los reactivos, se modifica la longitud del reactor R desde 100 hasta 900 cm y la temperatura de termostatación entre 23 y 65 °C.

Tabla 63. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la longitud del reactor y temperatura de termostatación a velocidad de flujo prefijada. C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$. C_2 : $F_p = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; H_2O como portador; $F_p = 0,88 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $V_i = 288 \mu\text{L}$; $[\text{BrO}_3^-] = 300 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$.

R, cm	t_a , s	t_c , s	t_R , s	ΔA , 450 nm				
				23 °C	35 °C	45 °C	55 °C	65 °C
100	45	29	39	0,0030	0,0120	0,0195	0,0465	0,0680
200	74	57	68	0,0065	0,0190	0,0300	0,0550	0,0675
300	102	86	96	0,0120	0,0260	0,0420	0,0610	0,0650
400	131	114	125	0,0145	0,0295	0,0450	0,0580	0,0580
500	160	143	154	0,0170	0,0315	0,0455	0,0550	0,0525
700	217	200	211	0,0200	0,0350	0,0460	0,0475	0,0440
800	247	229	240	0,0205	0,0360	0,0470	0,0429	0,0405
900	274	257	268	0,0220	0,0380	0,0475	0,0375	0,0375

Los valores de ΔA obtenidos para cada experiencia, después de inyectar por triplicado la disolución patrón, se muestran en la Tabla 63 junto con los valores de tiempo de aparición, t_a , (dato experimental) así como el tiempo de contacto, t_c , y el tiempo de reacción (calculados teóricamente). La representación gráfica de ΔA frente al tiempo se muestra en la figura 206.

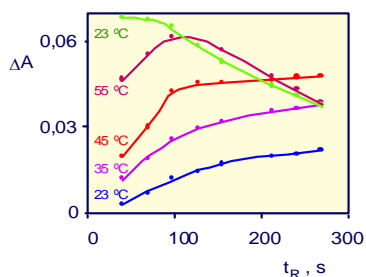


Figura 206. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia conjunta de la longitud del reactor y de la temperatura de termostatación. Las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 63.

Puede comprobarse como para temperaturas de 23, 35 y 45 °C la cinética de formación del producto bromado se acelera, pero no considerablemente al aumentar la longitud del reactor, alcanzándose un valor prácticamente constante, mayor para 45 °C.

Cuando los reactores se termostatan a 50 °C la velocidad de formación del producto se acelera considerablemente de modo que se alcanza el máximo valor de ΔA para un t_R de 96 s ($R = 300$ cm). Para longitudes de reactor superiores comienza a predominar el proceso de descomposición del producto bromado, razón por la que comienza a disminuir la señal.

Si la temperatura de termostatación se eleva a 65 °C, ya con el reactor más pequeño de 100 cm, $t_R = 39$, se consigue el valor máximo de ΔA lo que indica que la velocidad de formación del producto bromado se acelera considerablemente, al igual que la reacción de descomposición, razón por la cual para t_R más altos y t_c más elevados la señal analítica desciende.

Desde un punto de vista práctico de cara a la sensibilidad analítica para la determinación de BrO_3^- , interesa trabajar con reactores cortos termostatados a temperatura de 65 °C.

Ante la duda de si con un reactor inferior a 100 cm, a 65 °C, se obtendrían señales analíticas superiores, se realiza la experiencia con reactores de 50 cm, obteniendo valores de absorbancia de 0,0680 y 0,0620 respectivamente.

Se obtiene por lo tanto valores de ΔA semejantes a 65 °C sea el reactor de 50 cm ó de 100 cm.

3.4. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS

3.4.1. CALIBRADOS ANALÍTICOS

Estudiadas las variables químicas, geométricas e hidrodinámicas y escogidos los valores “óptimos” se comprueba la relación entre el analito, BrO_3^- , y la señal analítica a un tiempo prefijado.

Las condiciones prefijadas han sido las siguientes: C₁: [ODA] = 1,95x10⁻³ M; [KBr] = 3,9x10⁻² M; [HNO₃] = 1,22 M; F_R= 0,124 mL.min⁻¹. C₂: H₂O como portador; V_i = 288 μL de disolución patrón de BrO₃⁻ de diferentes concentraciones, F_P = 0,288 mL.min⁻¹. R = 100 cm y T = 60 °C.

Aún perdiendo algo de sensibilidad, se prefirió trabajar con una temperatura de termostatación de 60 °C para ganar en reproducibilidad en la señal analítica.

En las condiciones indicadas, se inyectan por triplicado disoluciones patrón de BrO₃⁻ en concentración variable desde 0,1 mg.L⁻¹ hasta 3,3 mg.L⁻¹. Los valores medios de los ΔA, obtenidos a partir de la altura máxima de los fiagramas, se indican en la Tabla 64 y se representan frente a la concentración de BrO₃⁻ en la Figura 207.

Tabla 64. Determinación de BrO₃⁻ en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la concentración de bromato. C₁: [ODA] = 1,95x10⁻³ M; [KBr] = 3,9x10⁻² M; [HNO₃] = 1,22 M; F_R= 0,124 mL.min⁻¹. C₂: H₂O como portador; V_i = 288 μL, F_P = 0,288 mL.min⁻¹. R = 100 cm y T = 60 °C.

BrO ₃ ⁻ , mg.L ⁻¹	ΔA, 450 nm
0,1	0,021
0,3	0,059
0,6	0,118
0,8	0,164
1,2	0,237
1,6	0,322
2,1	0,418
2,7	0,545
3,0	0,601
3,3	0,657

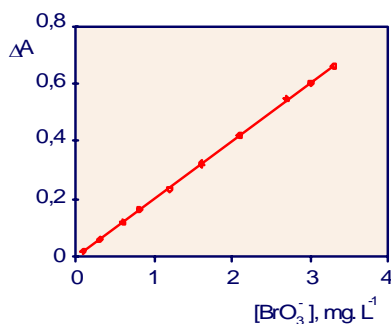


Figura 207. Determinación de BrO₃⁻ en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de la concentración de bromato sobre la señal analítica. Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 64.

Puede comprobarse como la señal analítica en el margen de concentraciones estudiado se ajusta frente a la concentración de analito a una línea recta de ecuación:

$$\Delta A_{450 \text{ nm}} = (0,000 \pm 0,004) + (0,200 \pm 0,002) [\text{BrO}_3^-] \text{ mg.L}^{-1}; R^2 = 0,9998$$

para un nivel de confianza del 95% .

Hemos de comentar que para este método de determinación de BrO_3^- el margen de linealidad es considerablemente más amplio que en el método de la fucsina, pero ligeramente menos sensible.

Desde el punto de vista analítico de determinación de BrO_3^- en aguas potabilizadas y desinfectadas con O_3 , no tiene interés trabajar con concentraciones de BrO_3^- tan altas, por esa razón se comprueba el calibrado analítico para concentraciones de BrO_3^- más probables en estos tipos de muestras.

Tabla 65. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Calibrado analítico para bajas concentraciones de BrO_3^- . C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL.min}^{-1}$. C_2 : H_2O como portador; $V_i = 288 \mu\text{L}$, $F_p = 0,288 \text{ mL.min}^{-1}$. $R = 100 \text{ cm}$ y $T = 60^\circ\text{C}$.

BrO_3^- , $\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔA , 450 nm
8	0,0020
10	0,0024
16	0,0038
20	0,0047
24	0,0056
28	0,0066
32	0,0073
40	0,0094
50	0,0117
60	0,0140

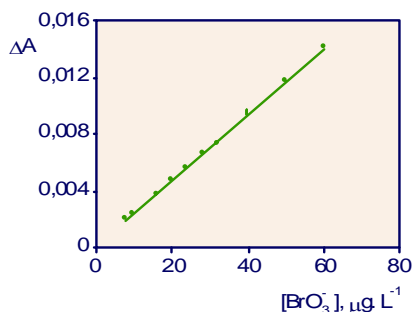


Figura 208. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Calibrado analítico para bajas concentraciones de BrO_3^- . Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 65.

En la Tabla 65 se muestran los valores medidos de ΔA obtenidos al inyectar por triplicado disoluciones patrón de BrO_3^- en concentración

comprendida entre 8 y 60 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Dichos valores de ΔA se encuentran representados en la Figura 208 frente a la concentración de analito.

Como era de esperar ambas variables se relacionan linealmente con una ecuación:

$$\Delta A_{450 \text{ nm}} = (0,0001 \pm 0,0001) + (20,0 \pm 0,4) \times 10^{-5} [\text{BrO}_3^-], \mu\text{g. L}^{-1}; R^2 = 0,9996$$

Para un nivel de confianza del 95%.

Los valores de ΔA han sido obtenidos trabajando con el mismo detector pero con un factor de ganancia ($\times 10$) lo que incrementa su sensibilidad pero también el ruido de fondo, lo que afecta a la fluctuación de la línea base.

Límite de detección

La concentración del límite de detección calculada mediante la expresión simplificada

$$C_L = \frac{3X_B^{\max}}{b}$$

en la que $X_B^{\max} = 0,0004$ (Figura 209) ha sido de 6,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$. El cálculo resulta razonable si se tiene en cuenta la señal analítica generada por 10,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en comparación con la fluctuación de la línea base.

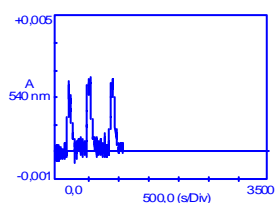


Figura 209. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Fiagrama obtenido al inyectar por triplicado un patrón de 10,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$, así como la línea base con su fluctuación.
 C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL.min}^{-1}$;
 $C_2 = \text{H}_2\text{O}$ como portador; $V_i = 288 \mu\text{L}$, $F_P = 0,288 \text{ mL.min}^{-1}$; $R = 100 \text{ cm}$ y $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Precisión

La precisión del método se ha determinado utilizando la ecuación del calibrado anterior, preparando $n = 12$ disoluciones patrón de BrO_3^- de $8,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $n = 12$ disoluciones patrón de BrO_3^- de $30,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración e inyectándolas en el esquema de flujo en las condiciones óptimas. Tras el tratamiento matemático correspondiente se obtienen valores de desviación estándar relativa de $S_R = 4,8\%$ y $S_R = 2,9\%$ respectivamente.

Velocidad de determinación

En las condiciones geométricas e hidrodinámicas “óptimas”, el tiempo de aparición es de 102 s, y la anchura de la línea base, $\Delta A = 240$ s; por lo que se pueden alcanzar entre 10 y 11 determinaciones por hora.

3.4.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Con el fin de comprobar la aplicabilidad del método se dopan con BrO_3^- tres tipos diferentes de aguas:

Agua de referencia: CRM 409

Agua mineral: Aquabona®

Agua de grifo: Salamanca

El dopaje se realiza con disoluciones patrón de BrO_3^- de forma que la concentración final esté comprendida entre $10,0$ y $50,0 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Preparadas las disoluciones, se determina el analito BrO_3^- en las condiciones “óptimas” y a partir de un calibrado con 6 patrones de BrO_3^- . Los resultados obtenidos, media de tres determinaciones, se indican en la Tabla 66.

Puede comprobarse como los valores encontrados para el agua de referencia y el agua mineral no difieren significativamente de la cantidad de bromato puesta. Por el contrario al analizar el agua de grifo de la ciudad de

Salamanca, dopada con BrO_3^- , sí se encuentran diferencias significativas (para un 95% de fiabilidad), obteniéndose valores por exceso en todos los casos.

Tabla 66. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Validación del método. Análisis de muestras de diferentes aguas dopadas con BrO_3^- . C_1 : $[\text{ODA}] = 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$; $[\text{KBr}] = 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$; $[\text{HNO}_3] = 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $C_2 = \text{H}_2\text{O}$ como portador; $V_i = 288 \mu\text{L}$, $F_p = 0,288 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $R = 100 \text{ cm}$ y $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.

TIPO DE AGUA	BrO_3^- , $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	
	PUESTO	ENCONTRADO
Agua de referencia (CRM 409)	10	10 ± 4
	20	19 ± 4
	30	27 ± 3
	40	37 ± 3
	50	48 ± 3
Agua mineral (Aquabona) [®]	10	12 ± 4
	20	18 ± 4
	30	29 ± 3
	40	38 ± 3
	50	49 ± 3
Agua de grifo (Salamanca)	10	17 ± 4
	20	28 ± 4
	30	34 ± 3
	40	45 ± 3
	50	55 ± 3

* Valores para un 95% de fiabilidad

Recordemos que el agua de la ciudad de Salamanca no está tratada con O_3 por lo que la posibilidad de existencia de BrO_3^- es remota. La diferencia puede atribuirse a la presencia de algún interferente relacionado con subproductos de la cloración, motivo por el cual se procede al estudio de interferencias.

3.5. ESTUDIO DE INTERFERENCIAS

Se ensayaron los interferentes catiónicos y aniónicos estudiados en la reacción de fucsina decolorada con BrO_3^- , comprobándose que la única especie

que actúa como interferente es el ión ClO_2^- que genera con KBr , Br_2 , que reacciona con ODA.

Con el fin de conocer su nivel de interferencia e intentar resolverla se procede a un estudio más profundo de la reacción en presencia de ClO_2^- .

3.5.1. INTERFERENCIA DEL CLORITO. ESTUDIO CINÉTICO EN DISCONTINUO

Al igual que se hizo en el caso del BrO_3^- , se preparan disoluciones conteniendo, $[\text{ODA}]$: $1,95 \times 10^{-3}$ M, $[\text{KBr}]$: $3,2 \times 10^{-2}$ M, $[\text{HNO}_3]$: 1,22 M y cantidades de ClO_2^- variables entre 60 y 900 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y se registra su evolución cinética a temperatura ambiente.

En la Figura 210 se muestran dichas cinéticas conjuntamente con las de BrO_3^- para cantidades similares y ambas a temperatura ambiente.

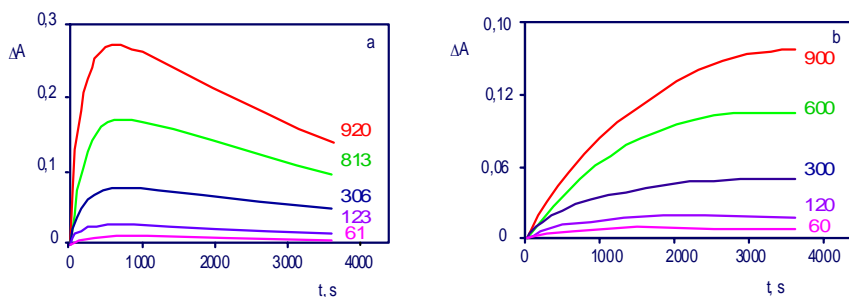


Figura 210. Estudio cinético en discontinuo a temperatura ambiente de disoluciones conteniendo BrO_3^- (figura a) entre 61 y 920 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y ClO_2^- (Figura b) entre 60 y 900 $\mu\text{g.L}^{-1}$. $[\text{ODA}]$: $1,95 \times 10^{-3}$ M, $[\text{KBr}]$: $3,2 \times 10^{-2}$ M, $[\text{HNO}_3]$: 1,22 M.

Se confirma que el ClO_2^- en presencia de KBr , en medio ácido, genera el mismo producto de bromación de la ODA que el BrO_3^- , absorbiendo a 450 nm.

De la observación de las curvas cinéticas se deduce que la cinética de la reacción $\text{ClO}_2^- - \text{Br}^-$ es más lenta que la de $\text{BrO}_3^- - \text{Br}^-$ y, por lo tanto, la reacción de bromación de la ODA es más lenta en el primer caso.

El producto de bromación en el caso del BrO_3^- comienza a descomponerse, a temperatura ambiente, prácticamente a los 500 segundos; en el caso del ClO_2^- no se aprecia en ningún caso la descomposición del producto bromado hasta los 3500 s de iniciarse la reacción. Realcanza en este tiempo la máxima formación de producto para la mayoría de las concentraciones de ClO_2^- permaneciendo estable hasta al menos los 3500 s.

En la Figura 211 se muestra el desarrollo cinético de las disoluciones conteniendo ClO_2^- y BrO_3^- , para concentraciones de analito similares.

Puede comprobarse como en todos los casos a tiempos iniciales, las disoluciones que contienen BrO_3^- evolucionan con el tiempo a mayor velocidad que las de ClO_2^- generando mayor producto bromado y por lo tanto valor de absorbancia a 450 nm.

Para tiempos intermedios la señal correspondiente a la disolución de BrO_3^- comienza a disminuir por descomponerse el producto bromado, mientras que las disoluciones que contienen ClO_2^- siguen evolucionando. A partir de un determinado tiempo incluso la señal generada en las disoluciones de BrO_3^- puede llegar a ser menor que la que generan las disoluciones de ClO_2^- .

Para cada concentración estudiada hay un tiempo de reacción en el que ambas disoluciones muestran la misma señal (punto de cruce) o valores muy parecidos en sus proximidades. La interferencia del ClO_2^- , en cuanto a sus niveles se refiere, dependerá por tanto no solo de su concentración sino también del tiempo al que se realice la medida.

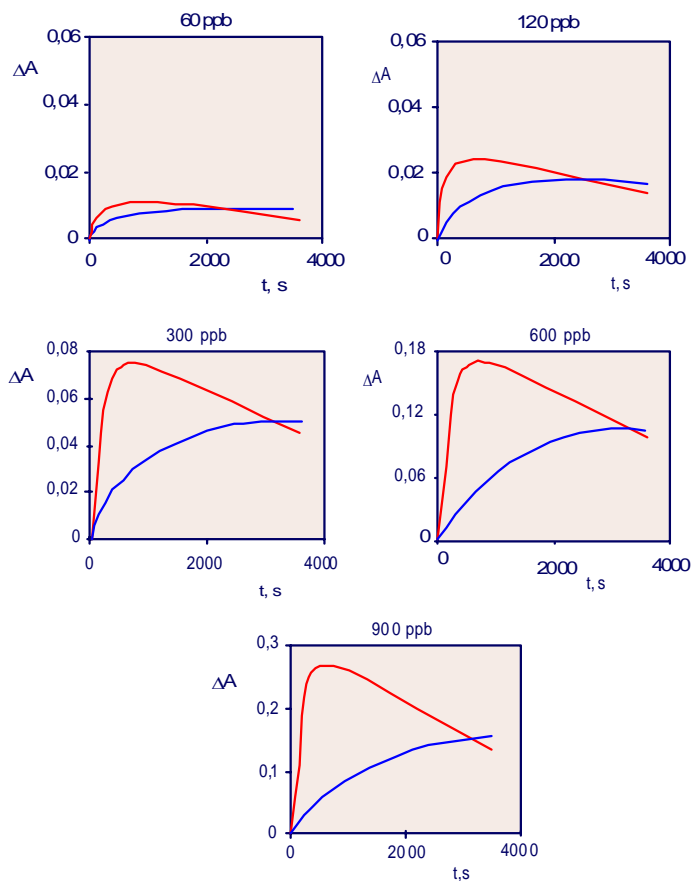


Figura 211. Desarrollo cinético de las disoluciones conteniendo ClO_2^- (—) y BrO_3^- (—) agrupadas por concentraciones similares. $[\text{ODA}] : 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{KBr}] : 3,2 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HNO}_3] : 1,22 \text{ M}$

3.5.2. COMPORTAMIENTO DEL ClO_2^- EN FLUJO CONTINUO EN LA REACCIÓN DE BROMACIÓN DE LA ODA EN FUNCIÓN DE LA LONGITUD DEL REACTOR Y LA TEMPERATURA DE TERMOSTATACIÓN.

Se acaban de exponer las diferencias cinéticas entre BrO_3^- y ClO_2^- ante la reacción de bromación de la ODA en medio ácido, a temperatura ambiente.

Para conocer los niveles de interferencia del ClO_2^- en la determinación de BrO_3^- en aguas potabilizadas, será necesario conocer el comportamiento cinético del analito interferente en las condiciones de tiempo de reacción y temperatura de termostatación del método propuesto para la determinación de BrO_3^- .

En el esquema de flujo de la Figura 194 se fijan las siguientes condiciones: Canal C₁: [ODA]: $1,95 \times 10^{-3}$ M, [KBr] : $3,9 \times 10^{-2}$ M, [HNO₃]: 1,22 M; $F_R = 0,124$ mL.min⁻¹. Canal C₂: H₂O como portador, $V_i = 288$ µL de disolución patrón de ClO_2^- de 300 µg.L⁻¹ de concentración; $F_P = 0,288$ mL.min⁻¹. La longitud del reactor se modifica desde 100 hasta 900 cm, por lo que el tiempo de reacción varía desde 39 hasta 268 s. Para cada longitud estudiada se varía la temperatura de termostatación del reactor desde 23 hasta 65 °C.

Los valores medios de ΔA obtenidos al inyectar por triplicado la disolución patrón de ClO_2^- de 300 µg.L⁻¹ en las diferentes condiciones experimentales, se indican en la Tabla 67. En dicha tabla además se muestran los valores experimentales de t_a y los teóricos de tiempo de contacto, t_c , y tiempo de reacción, t_R .

Tabla 67. Estudio de la interferencia de ClO_2^- en la determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la longitud del reactor y de la temperatura de termostatación sobre la señal analítica que genera el ClO_2^- . [ODA]: $1,95 \times 10^{-3}$ M, [KBr] : $3,9 \times 10^{-2}$ M, [HNO₃]: 1,22 M; $F_R = 0,124$ mL.min⁻¹; $V_i = 288$ µL; $F_P = 0,288$ mL.min⁻¹

R, cm	t_a , s	t_c , s	t_R , s	ΔA , 450 nm				
				23 °C	35 °C	45 °C	55 °C	65 °C
100	45	29	39	0,0010	0,0030	0,0055	0,0120	0,0190
200	74	57	68	0,0020	0,0050	0,0085	0,0170	0,0275
300	102	86	96	0,0030	0,0070	0,0115	0,0220	0,0395
400	131	114	125	0,0040	0,0080	0,0140	0,0260	0,0430
500	160	143	154	0,0045	0,0090	0,0165	0,0285	0,0460
700	217	200	211	0,0050	0,0110	0,0190	0,0325	0,0440
800	247	229	240	0,0050	0,0120	0,0200	0,0335	0,0408
900	274	257	268	0,0050	0,0120	0,0210	0,0335	0,0380

Los valores de ΔA a 450 nm, frente al tiempo de reacción, se han representado en la Figura 212. En dicha figura se observa que la evolución cinética se incrementa claramente con la temperatura de termostatación y con la longitud del reactor. Para un mismo tiempo de reacción, la señal analítica generada por el ClO_2^- es mayor cuanto mayor es la temperatura de termostatación.

En las experiencias realizadas solo se observa la descomposición del producto bromado para tiempos de reacción superiores a 154 s (longitud del reactor 500 cm) y temperatura de termostatación 65 °C.

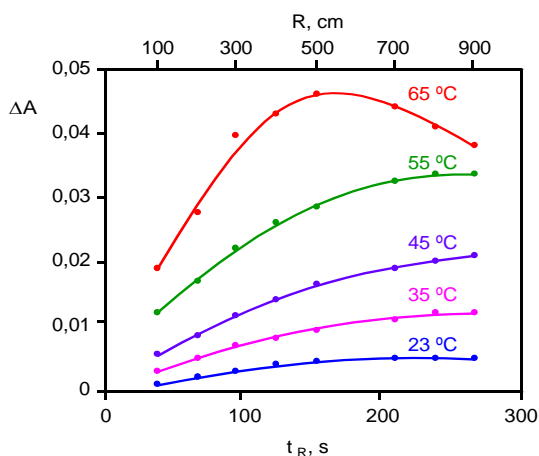


Figura 212. Estudio de la interferencia de ClO_2^- en la determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la longitud del reactor y de la temperatura de termostatación sobre la señal analítica que genera ClO_2^- . $[\text{ODA}]$: $1,95 \times 10^{-3}$ M, $[\text{KBr}]$: $3,9 \times 10^{-2}$ M, $[\text{HNO}_3]$: 1,22 M; $F_R = 0,124 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $V_i = 288 \mu\text{L}$; $F_p = 0,288 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$

Como existen claras diferencias entre el comportamiento del BrO_3^- y del ClO_2^- ante la reacción de bromación de la ODA en función del tiempo de reacción y de la temperatura de termostatación del reactor, se representan los valores de ΔA obtenidos para $300 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ de BrO_3^- y de ClO_2^- en las mismas condiciones experimentales (Figura 213).

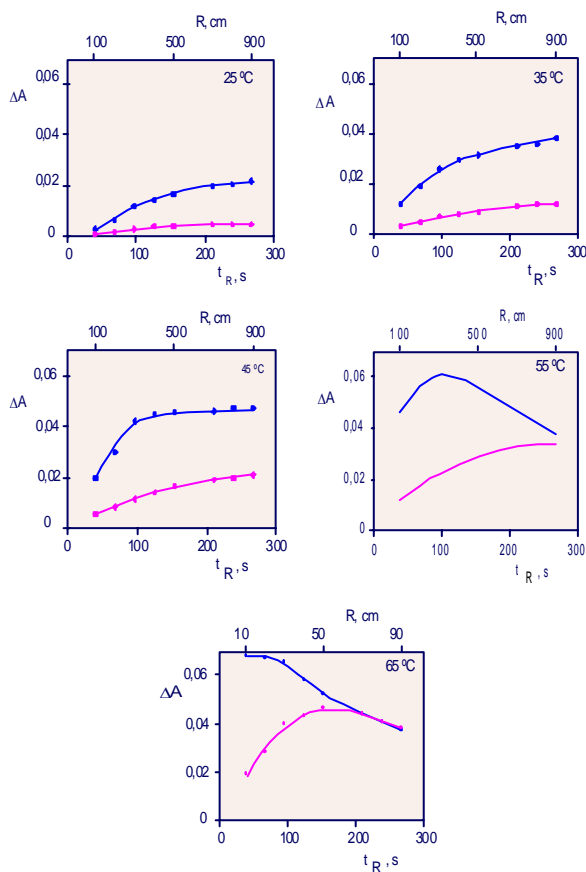


Figura 213. Reacción de bromación de ODA en continuo. Señales analíticas comparativas generadas por la misma concentración de ClO_2^- (—) y BrO_3^- (—) para diferentes longitudes de reactor y diferentes temperaturas. $[\text{ODA}] : 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{KBr}] : 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HNO}_3] : 1,22 \text{ M}$;

Puede comprobarse en dicha figura como el BrO_3^- genera en todos los casos una señal analítica mayor evolucionando cinéticamente a mayor velocidad su reacción de bromación que lo hace la correspondiente al ClO_2^- .

Para temperaturas altas, 55 °C y 65 °C, la reacción generada por BrO_3^- alcanza la máxima producción de compuesto bromado para tiempos de reacción de 96 y 39 s, respectivamente, comenzando para tiempos superiores, la destrucción de dicho compuesto.

La reacción en presencia de ClO_2^- solo a $65\text{ }^\circ\text{C}$ alcanza la máxima generación de producto bromado para tiempos de reacción del orden de 154 s, descomponiéndose dicho producto para tiempos de reacción superiores.

De este estudio cinético comparativo se obtiene información suficiente para estudiar la interferencia de ClO_2^- sobre el método de determinación del BrO_3^- en flujo continuo y nos permite proponer métodos en continuo para la determinación conjunta de BrO_3^- y ClO_2^- , inespecíficamente, e incluso determinarlos individualmente, uno en presencia de otro, mediante diferenciación cinética.

3.5.3 NIVEL DE INTERFERENCIA DEL ClO_2^- SOBRE EL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE BrO_3^- EN CONTINUO.

Después del estudio de variables, se puso a punto un método en flujo continuo para la determinación de BrO_3^- en aguas potabilizadas utilizando O_3 como desinfectante. El método, como ya hemos comentado, requiere de un reactor corto de 100 cm termostataado a $60\text{ }^\circ\text{C}$ que permite obtener señales analíticas a los 39 s del comienzo de la reacción. Se optó por escoger la temperatura de termostatación de $60\text{ }^\circ\text{C}$ en vez de $65\text{ }^\circ\text{C}$, donde la señal analítica generada era ligeramente superior, para evitar la formación de pequeñas burbujas de vapor que afectaban a la reproducibilidad.

Como puede observarse en la Figura 213, a temperaturas elevadas, en este caso $65\text{ }^\circ\text{C}$, y a tiempos de reacción cortos, es cuando la diferencia entre las señales analíticas generadas por BrO_3^- en la reacción de bromación de la ODA, y ClO_2^- son mayores. Es en estas condiciones cuando el ClO_2^- interfiere en menor medida en la determinación de BrO_3^- .

En el esquema de flujo de la Figura 194, y en las condiciones consideradas como óptimas para la determinación de BrO_3^- en flujo continuo ($R = 100\text{ cm}$, $T = 60\text{ }^\circ\text{C}$) se inyectan por triplicado 288 μL de disoluciones de

BrO_3^- en concentración de 10 y 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ sin contener y conteniendo ClO_2^- en concentración variable desde 5,0 hasta 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Los valores medios de ΔA de los máximos de los fiagramas se muestran en la Tabla 68.

Tabla 68. Interferencia de ClO_2^- sobre la determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. $R = 100 \text{ cm}$, $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_i = 288 \mu\text{L}$

		$[\text{ClO}_2^-], \mu\text{g.L}^{-1}$	$\Delta A, 450 \text{ nm}$
$[\text{BrO}_3^-], 10 \mu\text{g.L}^{-1}$	-	-	0,0020
	5,0	5,0	0,0021
	10,0	10,0	0,0024
	20,0	20,0	0,0029
	50,0	50,0	0,0042
$[\text{BrO}_3^-], 25 \mu\text{g.L}^{-1}$	-	-	0,0051
	5,0	5,0	0,0053
	10,0	10,0	0,0055
	20,0	20,0	0,0060
	50,0	50,0	0,0075

Puede comprobarse como la presencia de 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de ClO_2^- genera en la disolución de 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ y 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- fluctuaciones en el valor de la absorbancia, que pueden atribuirse a la imprecisión del método de medida. Pero cuando la concentración de ClO_2^- es ya de 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ las variaciones que genera en el valor de absorbancia suponen el 72% para 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- y el 15% para 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- .

Puede asegurarse, por tanto, que el ClO_2^- constituye interferencia en la determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA, en las condiciones de alta sensibilidad para el BrO_3^- , desde concentraciones tan bajas como 8-10 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

El método de bromación de la ODA, para determinar BrO_3^- en flujo continuo únicamente será útil en sistemas de potabilización de aguas donde solo se utilice O_3 , ClO^- ó ClO_2 como sistemas de desinfección; el ClO_2^- generado interfiere a partir de 8-10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

3.6. DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE BrO_3^- Y ClO_2^- COMO SUBPRODUCTOS DE DESINFECCIÓN.

En los sistemas en los que se emplee O_3 como desinfectante y posteriormente se refuerce la desinfección con ClO^- y fundamentalmente con ClO_2 , existe la posibilidad de encontrar BrO_3^- y ClO_2^- , oxoaniones generados como subproductos en los procesos de desinfección.

En el estudio cinético comparativo entre BrO_3^- y ClO_2^- en la reacción de bromación de la ODA en medio ácido (Figura 213) se comprobó que a temperatura elevada de 65 °C y para tiempos de reacción del orden de 211 s ($R = 700 \text{ cm}$), las señales analíticas generadas por ambos oxoaniones, eran prácticamente iguales.

Este hecho cinético nos permite plantear la posibilidad de proponer un método en flujo continuo, basado en la reacción de bromación de la ODA en medio ácido, para determinar conjuntamente, eso sí, sin diferenciar BrO_3^- y ClO_2^- . Se trataría de un método de determinación SIMULTÁNEA DE OXOANIONES de halogenuro como subproductos de la desinfección.

El cruce de las curvas cinéticas de BrO_3^- y ClO_2^- a elevadas temperaturas depende, no sólo de la temperatura de termostatación, también de la concentración de oxoanión.

Para estudiar como afectan las concentraciones de BrO_3^- y ClO_2^- sobre el tiempo de corte de las curvas cinéticas (tiempo de reacción al cual generan la misma señal analítica), se realiza un estudio similar al ya efectuado

para BrO_3^- y ClO_2^- en concentraciones iguales de $300 \mu\text{g.L}^{-1}$ pero para concentraciones iguales y de valores 180, 90 y $50 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Tabla 69. Determinación simultánea de ClO_2^- y BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de concentraciones de ClO_2^- y BrO_3^- inferiores a $300 \mu\text{g.L}^{-1}$ sobre la señal analítica. $[\text{ODA}] : 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{KBr}] : 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HNO}_3] : 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL.min}^{-1}$; $V_i = 288 \mu\text{L}$; $F_p = 0,288 \text{ mL.min}^{-1}$, $R = 100 \text{ cm}$; $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$.

R, cm	t_a , s	t_c , s	t_R , s	ΔA , 450 nm, (65 °C)					
				180 $\mu\text{g.L}^{-1}$		90 $\mu\text{g.L}^{-1}$		50 $\mu\text{g.L}^{-1}$	
				BrO_3^-	ClO_2^-	BrO_3^-	ClO_2^-	BrO_3^-	ClO_2^-
100	45	29	39	0,0407	0,0105	0,0202	0,0058	0,0105	0,0003
200	74	57	68	0,0399	0,0164	0,0198	0,0064	0,0103	0,0029
300	102	86	96	0,0389	0,0226	0,0188	0,0111	0,0101	0,0039
400	131	114	125	0,0360	0,0260	0,0176	0,0123	0,0096	0,0050
500	160	143	154	0,0331	0,0278	0,0159	0,0128	0,0090	0,0061
700	217	200	211	0,0290	0,0276	0,0140	0,0136	0,0085	0,0082
800	246	229	240	0,0272	0,0270	0,0132	0,0134	0,0080	0,0082
900	274	257	268	0,0258	0,0264	0,0126	0,0130	0,0076	0,0081

Los valores de ΔA obtenidos al inyectar por triplicado $288 \mu\text{L}$ de las disoluciones de BrO_3^- y ClO_2^- se muestran en la Tabla 69 y se representan frente al tiempo de reacción en la Figura 214.

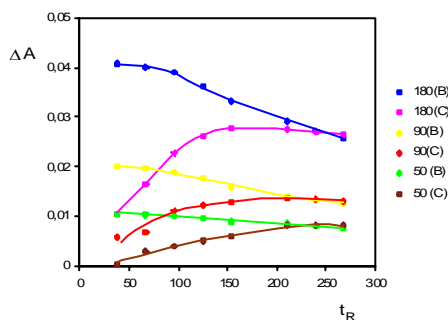


Figura 214. Determinación simultánea de ClO_2^- y BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Influencia de concentraciones de ClO_2^- y BrO_3^- inferiores a $300 \mu\text{g.L}^{-1}$ sobre la señal analítica. Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 69.

De los valores de la Tabla 69 y de la representación gráfica de la Figura 214, se observa que para tiempos de reacción entre 211 y 240 s, las señales analíticas que genera la reacción de bromación de la ODA, sea el oxidante el BrO_3^- o el ClO_2^- , son muy parecidas, con diferencias inferiores al 3%.

Se escoge como tiempo de reacción óptimo el de 211 s, lo que corresponde a utilizar un reactor de 700 cm de longitud.

3.6.1. CALIBRADOS ANALÍTICOS

Para comprobar el margen de concentración a los tiempos de reacción de 211 s, en el que el comportamiento de BrO_3^- y ClO_2^- es similar, se comprueban los calibrados analíticos hasta concentraciones de $336 \mu\text{g.L}^{-1}$ de ambos analitos en las condiciones químicas, geométricas e hidrodinámicas del calibrado para el método de BrO_3^- pero utilizando un reactor de 700 cm y termostatándolo a 65°C .

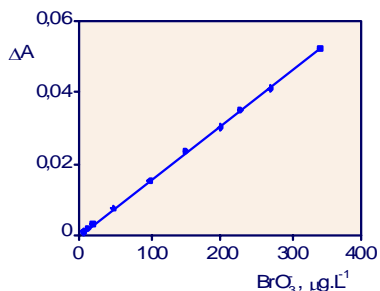
Los valores medios de ΔA obtenidos al inyectar $288 \mu\text{L}$ de las diferentes disoluciones patrón se muestran en la Tabla 70 y se representan en la Figura 215.

Se comprueba por separado, que tanto el BrO_3^- como el ClO_2^- , en la reacción de bromación de la ODA hasta $340 \mu\text{g.L}^{-1}$ generan señales analíticas idénticas en valor para cada concentración. Las pendientes de los calibrados ($1,53 \pm 0,08$) y ($1,51 \pm 0,02$) no difieren para un 95% de fiabilidad.

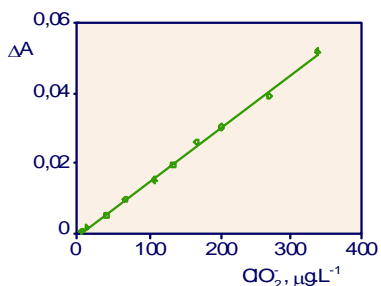
Para comprobar que disoluciones que contienen a la vez ambos oxoaniones generan el mismo calibrado, esto es, no existe interacción química entre ellos, se inyectan por triplicado disoluciones patrón conteniendo concentraciones de oxoanión, recién preparadas, entre 14 y $300 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Tabla 70. Determinación simultánea de ClO_2^- y BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la concentración de ClO_2^- y BrO_3^- sobre el valor de ΔA [ODA]: $1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{KBr}]$: $3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HNO}_3]$: $1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL.min}^{-1}$; $V_i = 288 \mu\text{L}$; $F_P = 0,288 \text{ mL.min}^{-1}$, $R = 700 \text{ cm}$; $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$.

ClO_2^-		BrO_3^-	
$\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔA 450 nm	$\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔA 450 nm
6	0,0010	8	0,0013
13	0,0019	12	0,0019
40	0,0054	20	0,0031
67	0,0099	50	0,0075
107	0,0155	100	0,0154
134	0,0198	150	0,0236
168	0,0260	200	0,0303
202	0,0304	226	0,0350
269	0,0390	270	0,0411
336	0,0515	340	0,0522



$$\Delta A = 6,31 \times 10^{-5} + 1,53 \times 10^{-4} [\text{BrO}_3^-]; R^2 = 1$$



$$\Delta A = -2,71 \times 10^{-4} + 1,51 \times 10^{-4} [\text{ClO}_2^-]; R^2 = 0,998$$

Figura 215. Determinación simultánea de ClO_2^- y BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la concentración de ClO_2^- y BrO_3^- sobre el valor de ΔA . Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 70.

Los valores medios de ΔA obtenidos para la altura de los diferentes diagramas se muestran en la Tabla 71 y se representan en la Figura 216.

Puede comprobarse como la relación entre ΔA a 450 nm frente a concentración de oxoanión en $\mu\text{g.L}^{-1}$, se ajusta a una línea recta de ecuación:

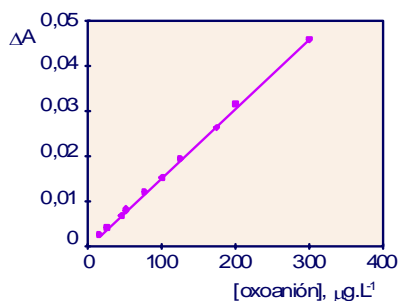
$$\Delta A = (1 \pm 1) \times 10^{-4} + (1,53 \pm 0,01) \times 10^{-4} [\text{oxoanión}], \mu\text{g.L}^{-1}$$

Con un coeficiente de regresión lineal de $R^2 = 0,999$

La pendiente del calibrado para oxoaniones no difiere significativamente de las pendientes de los calibrados individuales, para un 95% de fiabilidad.

Tabla 71. Determinación simultánea de ClO_2^- y BrO_3^- , como oxoaniones, en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la concentración de oxoanión sobre el valor de ΔA a 450 nm. $[\text{ODA}]: 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{KBr}]: 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HNO}_3]: 1,22 \text{ M}$; $F_R = 0,124 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $V_i = 288 \mu\text{L}$; $F_p = 0,288 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $R = 700 \text{ cm}$; $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$.

$[\text{BrO}_3^-]$, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$[\text{ClO}_2^-]$ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	[Oxoanión] $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	ΔA , 450 nm
6	8	14	0,0022
15	10	25	0,0039
20	25	45	0,0067
25	25	50	0,0079
50	25	75	0,0118
50	50	100	0,0151
100	25	125	0,0194
75	100	175	0,0265
100	100	200	0,0314
100	200	300	0,0460



$$\Delta A = (1 \pm 1) \times 10^{-4} + (1,54 \pm 0,01) \times 10^{-4} [\text{oxoanión}],$$

$$\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}; R^2 = 1$$

Figura 216. Determinación simultánea de ClO_2^- y BrO_3^- , como oxoaniones, en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Influencia de la concentración de oxoanión sobre el valor de ΔA a 450 nm. Calibrado analítico. Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 71.

En las horas que se ha tardado en preparar las disoluciones patrón, hasta que se han determinado en flujo continuo, no existe interacción química apreciable entre BrO_3^- y ClO_2^- .

Las mismas disoluciones patrón, guardadas en cámara fría generan a las 72 horas un calibrado de ecuación

$$\Delta A_{450 \text{ nm}} = (-0,003 \pm 0,005) + (1,2 \pm 0,1) \times 10^{-4} [\text{oxoanión}], \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}; R^2 = 0,992$$

lo que indica, para un 95% de fiabilidad, que al cabo de ese periodo de tiempo existe interacción química entre BrO_3^- y ClO_2^- . Los patrones es necesario prepararlos en cada sesión de trabajo.

Límite de detección

La concentración límite de detección calculada a partir de la expresión

$$C_L = \frac{3X_{\max}^B}{b}$$

Conduce a un valor de $9,8 \mu\text{g.L}^{-1}$, si se tiene en cuenta el valor de la pendiente del calibrado y la fluctuación máxima de la línea base (0,0005) ligeramente mayor debido a las pequeñas burbujas generadas en el reactor por la elevada temperatura de termostatación, 65°C .

Precisión del método

El estudio de la precisión del método se realiza preparando, $n = 12$, doce disoluciones patrón conteniendo una concentración de oxoanión de $14 \mu\text{g.L}^{-1}$ ($6 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- y $8 \mu\text{g.L}^{-1}$ de ClO_2^-) e inyectándolas en el sistema de flujo ($V_i = 288 \mu\text{L}$), en las condiciones del calibrado. Tras el tratamiento matemático oportuno se obtiene un valor de desviación estándar de $S_r = 8,5\%$. Este valor si bien es peor que el obtenido para la determinación de BrO_3^- en flujo continuo para valores similares, nos parece satisfactorio para los niveles de oxoanión analizados.

Un estudio similar con una disolución más concentrada, $75 \mu\text{g.L}^{-1}$ de oxoanión, $n = 12$, ($50 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- y $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ de ClO_2^-) conduce a un valor de $S_R = 6,2\%$.

La mayor imprecisión en el método de determinación de oxoaniones es debida al proceso de generación de pequeñas burbujas de vapor generadas en la pared interna del reactor cuando se encuentra termostatado a 65°C . Estas pequeñas burbujas cuando se incorporan al flujo afectan a la reproducibilidad de la señal analítica.

Velocidad de determinación

En las condiciones geométricas e hidrodinámicas óptimas, el tiempo de aparición es de 217 s y la anchura del fiagrama $\Delta t = 240$ s; por lo que se puede alcanzar una velocidad de determinación de 8 muestras por hora.

3.6.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Con el fin de comprobar la aplicabilidad del método se dopan con BrO_3^- y ClO_2^- 25 mL de agua mineral Aquabona® y se diluyen hasta 50 mL. Las cantidades de patrón añadidas oscilan entre 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de oxoanión (5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- y 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de ClO_2^-) y 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de oxoanión (25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- y 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de ClO_2^-).

En las condiciones experimentales en las que se realiza el calibrado para oxoaniones ya mencionado, y después de repetir el calibrado analítico con $n = 6$, patrones entre 8 y 60 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de oxoanión, se determinaron las disoluciones dopadas, una vez inyectadas por triplicado. Los resultados encontrados se indican en la Tabla 72.

Tabla 72. Determinación simultánea de BrO_3^- y ClO_2^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Validación del método de determinación. [ODA]: $1,95 \times 10^{-3}$ M, [KBr]: $3,9 \times 10^{-2}$ M, [HNO_3]: 1,22 M; $F_R = 0,124$ mL.min⁻¹; $V_i = 288$ μL ; $F_P = 0,288$ mL.min⁻¹, $R = 700$ cm; $T = 65$ °C.

[Oxoanión] puesto $\mu\text{g.L}^{-1}$	[Oxoanión]* encontrado $\mu\text{g.L}^{-1}$
10	11 ± 3
22	19 ± 3
35	36 ± 2
40	38 ± 2
50	52 ± 2

*Valores para un 95% de fiabilidad

Puede comprobarse, a partir de los resultados obtenidos, que los valores encontrados para la concentración de oxoanión, no difieren

significativamente de los inicialmente puestos para un nivel de confianza del 95%.

Es necesario comentar que aquellos sistemas donde se utilice ClO_2 como desinfectante, lo normal es que no exista BrO_3^- , en cuyo caso el método sería útil para determinar sólo ClO_2^- . El legislador exige que se analice este parámetro (B.O.E. n° 45, 21-02-2003, nota (3) pág. 7240) cuando se utiliza ClO_2 como desinfectante, pero sin fijar el nivel paramétrico. La EPA americana tiene fijado para este parámetro un nivel paramétrico de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$.

3.7. DETERMINACIÓN SECUENCIAL DE BrO_3^- Y ClO_2^- MEDIANTE DIFERENCIACIÓN CINÉTICA EN FLUJO CONTINUO.

El comportamiento cinético diferente en la reacción de bromación de la ODA generado por BrO_3^- y por ClO_2^- nos permite estudiar la posibilidad de la determinación de ambos analitos, en flujo continuo, mediante *diferenciación cinética*.

Observando la Figura 213 se comprende que la temperatura óptima para conseguir el objetivo indicado con la mayor sensibilidad posible para ambos analitos, es la de 65°C .

Se utiliza un esquema de flujo semejante al de la Figura 194 con la diferencia de que se necesitan dos reactores, R_1 y R_2 , termostatados a 65°C (Figura 217). Las variables químicas e hidrodinámicas son las consideradas como óptimas: Canal C_1 : [ODA]: $1,95 \times 10^{-3}$ M, [KBr]: $3,9 \times 10^{-2}$ M, [HNO_3]: 1,22 M; $F_R = 0,124 \text{ mL.min}^{-1}$. Canal C_2 : H_2O como portador, $V_i = 288 \mu\text{L}$; $F_p = 0,288 \text{ mL.min}^{-1}$. De las diferentes posibilidades para R_1 y R_2 , se escogen aquellas longitudes que conducen a tiempos de reacción que generen señales analíticas lo suficientemente diferentes pero a la vez suficientemente sensibles como para poder determinar BrO_3^- y ClO_2^- a valores por debajo de los niveles paramétricos.

Por esta razón se escogió para $R_1 = 200$ cm y para $R_2 = 500$ cm, lo que corresponde a tiempos de reacción de 68 y 154 s, prácticamente.

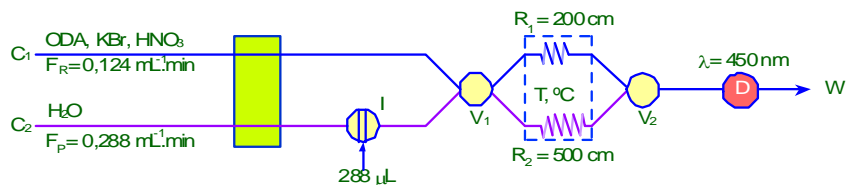


Figura 217. Determinación secuencial de BrO_3^- y ClO_2^- en flujo continuo mediante diferenciación cinética. Esquema de flujo. C_1 y C_2 : canales, I: válvula de inyección, V_1 y V_2 : válvulas de doble vía, R: reactor helicoidal, D: detector. $[\text{ODA}]$: $1,95 \times 10^{-3}$ M, $[\text{KBr}]$: $3,9 \times 10^{-2}$ M, $[\text{HNO}_3]$: 1,22 M.

Para la realización práctica del método secuencial se necesitan dos válvulas de doble vía que nos permiten seleccionar la dirección del flujo hacia el reactor R_1 o hacia el reactor R_2 , girando las válvulas.

Antes de inyectar patrones de BrO_3^- o ClO_2^- se rellenan ambos canales de los reactores con disolución de reactivo diluida con el portador.

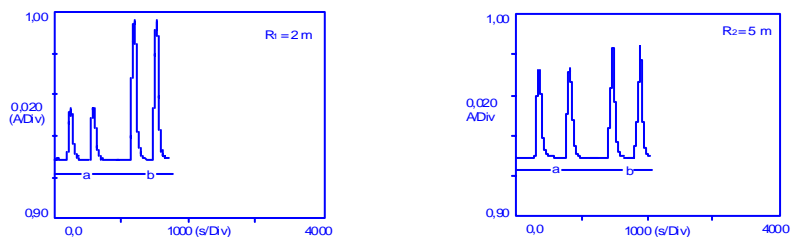


Figura 218. Determinación secuencial de BrO_3^- y de ClO_2^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Diagramas típicos. a y b representan dos mezclas de $\text{BrO}_3^- + \text{ClO}_2^-$ de diferente concentración. $[\text{ODA}]$: $1,95 \times 10^{-3}$ M, $[\text{KBr}]$: $3,9 \times 10^{-2}$ M, $[\text{HNO}_3]$: 1,22 M.

La forma de los diagramas es semejante a la de los obtenidos en la determinación de BrO_3^- y en la determinación simultánea de $\text{BrO}_3^- + \text{ClO}_2^-$; la diferencia estriba en que para el análisis de cada muestra se necesita la inyección de dos volúmenes de 288 μL , uno que fluye por el reactor R_1 (posición 1 de las válvulas) y otro por R_2 (posición 2 de las válvulas), Figura 218.

3.7.1. CALIBRADOS PARA BrO_3^- Y ClO_2^- UTILIZANDO CADA UNO DE LOS REACTORES.

$R_1 = 200 \text{ cm}$

Tabla 73. Determinación secuencial de ClO_2^- y BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Relación entre $[\text{BrO}_3^-]$ y $[\text{ClO}_2^-]$, por separado y ΔA a 450 nm. Reactor corto. [

$[\text{BrO}_3^-]$, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	ΔA , 450 nm	$[\text{ClO}_2^-]$ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	ΔA , 450 nm
6	0,0013	6	0,0006
8	0,0016	8	0,0008
14	0,0030	14	0,0014
20	0,0043	20	0,0020
40	0,0085	40	0,0037
50	0,0099	60	0,0055
70	0,0148	80	0,0073
90	0,0194	110	0,0105
120	0,0247	130	0,0118
160	0,0331	160	0,0150

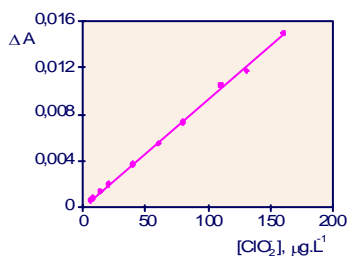
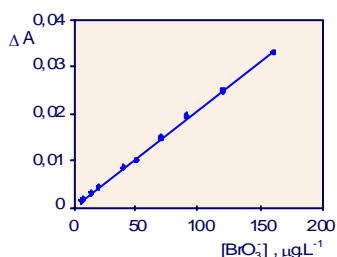


Figura 219. Determinación secuencial de ClO_2^- y BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Calibrados analíticos para el reactor corto, $R = 200 \text{ cm}$. $[\text{ODA}] : 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{KBr}] : 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HNO}_3] : 1,22 \text{ M}$; $R_1 = 200 \text{ cm}$; $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$.

En las condiciones químicas e hidrodinámicas antes enumeradas se inyectan 288 μL de disoluciones patrón de BrO_3^- y ClO_2^- por separado, en concentraciones desde 6 hasta 160 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Los valores medios de ΔA del máximo de los fiagramas al inyectar por triplicado cada disolución se muestran en la Tabla 43 y se representan en la Figura 219.

La relación entre ΔA y concentración de cada uno de los analitos conduce a líneas rectas de ecuaciones:

$$\text{BrO}_3^- : \Delta A = (8 \pm 16) \times 10^{-5} + (2,07 \pm 0,002) \times 10^{-4} [\text{BrO}_3^-], \mu\text{g.L}^{-1}. \quad R^2 = 0,999$$

$$\text{ClO}_2^- : \Delta A = (7 \pm 8) \times 10^{-5} + (9,3 \pm 0,01) \times 10^{-5} [\text{ClO}_2^-], \mu\text{g.L}^{-1}. \quad R^2 = 0,999$$

R₂ = 500 cm

Tabla 74. Determinación secuencial de ClO_2^- y BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación de ODA. Relación entre $[\text{BrO}_3^-]$ y $[\text{ClO}_2^-]$, por separado y ΔA a 450 nm. Reactor largo. $[\text{ODA}] : 1,95 \times 10^{-3} \text{ M}$, $[\text{KBr}] : 3,9 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HNO}_3] : 1,22 \text{ M}$; $R_l = 500 \text{ cm}$; $T = 65^\circ \text{ C}$.

$[\text{BrO}_3^-]$, $\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔA , 450 nm	$[\text{ClO}_2^-]$ $\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔA , 450 nm
6	0,0011	6	0,0008
8	0,0014	8	0,0012
14	0,0027	14	0,0020
20	0,0034	20	0,0029
40	0,0070	40	0,0057
50	0,0088	60	0,0084
70	0,0123	80	0,0116
90	0,0157	110	0,0150
120	0,0215	130	0,0186
160	0,0286	160	0,0220

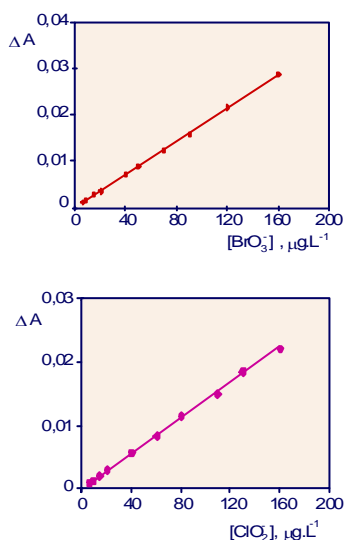


Figura 220. Determinación secuencial de ClO_2^- y BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Calibrados analíticos para el reactor largo, $R = 500 \text{ cm}$. Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 74.

En las mismas condiciones químicas e hidrodinámicas se obtienen los calibrados analíticos para BrO_3^- y ClO_2^- y para el mismo margen de concentraciones, pero utilizando el reactor largo, R_2 , de 500 cm. Los valores medios de ΔA de los máximos de los diagramas obtenidos al inyectar por triplicado cada disolución patrón, se indican en la Tabla 74 y se representan frente a la concentración en la Figura 220.

Se obtienen las siguientes ecuaciones para los calibrados:

$$\text{BrO}_3^- : \Delta A = (-6 \pm 8) \times 10^{-5} + (1,78 \pm 0,01) \times 10^{-4} [\text{BrO}_3^-], \mu\text{g.L}^{-1} \quad R^2 = 1,0$$

$$\text{ClO}_2^- : \Delta A = (1 \pm 1) \times 10^{-4} + (1,38 \pm 0,2) \times 10^{-4} [\text{ClO}_2^-], \mu\text{g.L}^{-1} \quad R^2 = 0,999$$

A la vista de las ecuaciones de los calibrados obtenidos para el reactor de 200 cm y el de 500 cm, y teniendo en cuenta que las ordenadas en el origen con su fluctuación engloban el origen de coordenadas, se propone para la resolución de un problema que contenga BrO_3^- y ClO_2^- , el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\Delta A_{200 \text{ cm}} = 2,07 \times 10^{-4} [\text{BrO}_3^-] + 0,93 \times 10^{-4} [\text{ClO}_2^-], \mu\text{g.L}^{-1}$$

$$\Delta A_{500} = 1,78 \times 10^{-4} [\text{BrO}_3^-] + 1,38 \times 10^{-4} [\text{ClO}_2^-], \mu\text{g.L}^{-1}$$

Límite de detección

Para el cálculo del límite de detección se utiliza la expresión:

$$C_L = \frac{3X_{\text{max}}^B}{b}$$

Donde X_{max}^B es 0,0005; por lo que para las condiciones de menor sensibilidad

BrO_3^- (500 cm) y ClO_2^- (200 cm), resultan unos valores de:

$$[\text{BrO}_3^-]: \quad C_L = 8,4 \mu\text{g.L}^{-1}$$

$$[\text{ClO}_2^-]: \quad C_L = 16 \mu\text{g.L}^{-1}$$

Precisión del método

Para determinar la precisión del método se preparan doce disoluciones, $n = 12$, patrón conteniendo $[\text{BrO}_3^-] = 10 \mu\text{g.L}^{-1}$ y $[\text{ClO}_2^-] = 20 \mu\text{g.L}^{-1}$ que se inyectan en el sistema de flujo en las condiciones experimentales expuestas en los calibrados. Utilizando las condiciones de los mismos se obtiene, tras un tratamiento matemático adecuado, desviaciones estándar del 8,5% para BrO_3^- y 8,8% para ClO_2^- .

Velocidad de determinación

Lógicamente al tratarse de dos inyecciones para obtener señales analíticas, la velocidad de determinación será menor que en los métodos anteriores.

Teniendo en cuenta que al utilizar el reactor de 200 cm, $t_a = 74$ s e $\Delta t = 240$ s (en total 314 s) y al cambiar al de 500 cm, $t_a = 160$ s y Δt prácticamente 240 s (en total 400 s), el tiempo total invertido en obtener las dos señales analíticas es de 714 s por lo que la velocidad de determinación que se alcanza es de 5 muestras por hora.

3.7.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Utilizando como matriz, agua mineral Aquabona® se preparan disoluciones dopadas con patrones de BrO_3^- y ClO_2^- y se determinan por el método propuesto después de obtener las señales analíticas con los reactores de 200 cm y de 500 cm y resolver matemáticamente el sistema de dos ecuaciones con dos incógnitas.

Tabla 75. Determinación simultánea de BrO_3^- y ClO_2^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación de la ODA. Validación del método. ODA: $1,95 \times 10^{-3}$ M, $[\text{KBr}] : 3,9 \times 10^{-2}$ M, $[\text{HNO}_3] : 1,22$; $V_i = 288 \mu\text{L}$; $T = 65$ °C; $R = 200$ y 500 cm.

[BrO ₃ ⁻] + [ClO ₂ ⁻], µg.L ⁻¹		
PUESTO	ENCONTRADO	
10 + 20	8 ± 5	17 ± 6
25 + 25	26 ± 5	21 ± 5
25 + 40	23 ± 5	40 ± 4
40 + 25	43 ± 4	28 ± 5
40 + 40	38 ± 4	42 ± 4
50 + 50	54 ± 4	47 ± 4

* Para un 95% de fiabilidad

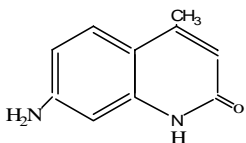
En la Tabla 75 se muestran los resultados obtenidos expresando los valores con un nivel de confianza del 95%, teniendo en cuenta el valor de S_x de los dos calibrados individuales para cada longitud de reactor, que conforman cada una de las ecuaciones, y que los valores se obtienen por diferencia.

Los resultados encontrados no difieren de los valores puestos, para un nivel de confianza del 95% si bien la imprecisión de cada valor es relativamente alta por obtener los valores por diferencia.

Se propone un nuevo procedimiento espectrofotométrico para la determinación de BrO_3^- en flujo continuo en base a la reacción de bromación de la o-Dianisidina en presencia de Br_2 , que genera un producto de reacción de color pardo que absorbe en la zona del visible. El método es robusto, simple, selectivo y barato, por lo que puede ser utilizado como método screening para detectar la presencia de bromato en muestras de agua. Permite la determinación del analito para concentraciones de hasta $6 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, ligeramente superior al obtenido mediante la reacción con Fucsina, pero que cumple los requerimientos de la EPA en cuanto a valor paramétrico a partir de 2009. El método ha sido validado para diferentes tipos de muestras de agua dopadas con bromato con buenos resultados. La única interferencia observada, el ClO_2^- , puede ser eliminada mediante diferenciación cinética, proponiéndose para ello un nuevo método que permite la determinación simultánea y secuencial de BrO_3^- y ClO_3^- generados como productos de desinfección en sistemas en los que se utiliza ozono como desinfectante y la desinfección se complementa posteriormente con ClO^- ó ClO_2 . El comportamiento de ambos analitos en la reacción de bromación de ODA, que difiere en tiempo y temperatura, ha permitido la puesta a punto de un sistema de flujo que permite la diferenciación cinética de ambos. El método puede ser fácilmente adaptable al análisis de rutina y no requiere etapas de preconcentración ni de eliminación de interferencias.

DETERMINACIÓN DE BROMATO EN FLUJO CONTINUO. REACCIÓN CON CARBOSTIRIL-124

LA 7-AMINO-4-METIL-2-HIDROXIQUINOLEINA: C₁₀H₂₀N₂O



Se comercializa con diferentes denominaciones, una de ellas la usada en el presente trabajo es CARBOSTIRIL-124, (CARB) Es un compuesto insoluble en medio HCl, entre otros.

Esta molécula orgánica presenta fluorescencia fundamentalmente a pH superior a 4 y al ser bromada genera un producto no fluorescente por lo que dicha reacción ha sido utilizada como método indirecto para determinar BrO_3^- después de ser separado por cromatografía de pares iónicos. El descenso de fluorescencia es proporcional a la concentración de BrO_3^- [45]²⁷ Utilizando dicha reacción de bromación se pretende poner a punto un método en flujo continuo para la determinación de BrO_3^- en aguas desinfectadas con O_3 , buscando, una mayor sensibilidad que en los anteriormente estudiados, mediante detección fluorimétrica.

Se espera no sólo incrementar la sensibilidad del método, sino también tener la suficiente selectividad como para que pueda ser utilizado

²⁷ [45] V. Ingrand, J.L. Guinamant, A. Bruchet, C. Brosse, Th.H.M. Noij, A. Brandt, F. Sacher, C. Mcleod, A.R. Elwaer, J. P. Croué, Ph. Quevauviller. Determination of bromate in drinking water: development of laboratory and field methods. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 21 (2002) 1.

como método específico para BrO_3^- y competir así con los métodos cromatográficos.

4.1. ESTUDIOS PREVIOS

CARACTERÍSTICAS FLUORIMÉTRICAS DEL REACTIVO CARBOSTIRIL-124.

En la Figura 221 se muestran los espectros de excitación de Carbostiril-124 a pH 4,8 a la λ_{em} óptima (430 nm) y el espectro de emisión, al mismo valor de pH obtenido con la λ_{ex} óptima (339nm). Dichos valores de λ óptimas fueron deducidos tras el registro *multiespectro* correspondiente.

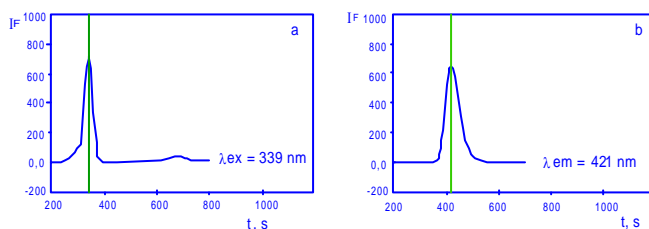


Figura 221. Espectros a: de excitación, b: de emisión, de carbostiril-124 a pH 4,8. Deducción de la λ_{exc} y λ_{em} óptimas.

La misma disolución de Carbostiril-124 pero a pH más ácidos muestra los mismos espectros pero con intensidades de fluorescencia más bajas, desapareciendo a pH inferior a 2. Las formas protonadas no emiten fluorescencia. Por encima de pH 4,3, la fluorescencia permanece constante, por predominar la forma básica de la molécula orgánica.

Si sobre una disolución ácida que contiene Carbostiril-124 se añade KBr y KBrO_3 en exceso (bromación en exceso) y posteriormente, después de un tiempo de reacción, se ajusta el pH a 4,8, la disolución final no muestra fluorescencia por lo que el producto de bromación formado no es fluorescente (bromación sobre carbonos con dobles enlaces).

Las condiciones de pH para la reacción de bromación (medio fuertemente ácido) y la zona de pH de medida de la fluorescencia de reactivo sobrante, pH superior a 4,3, deben ser tenidas en cuenta a la hora de diseñar el esquema de flujo.

Las disoluciones de CARB en medio HCl son estables al menos durante 8 días desde su preparación. Este extremo ha sido comprobado midiendo la fluorescencia durante este periodo de tiempo y conservándolas en cámara fría.

4.2. ESQUEMA DE FLUJO PROPUESTO

En la Figura 222 se muestra el esquema de flujo propuesto para la determinación de BrO_3^- mediante la reacción de bromación de Carbostiril-124, CARB, y medida fluorimétrica del reactivo sobrante tras la reacción.

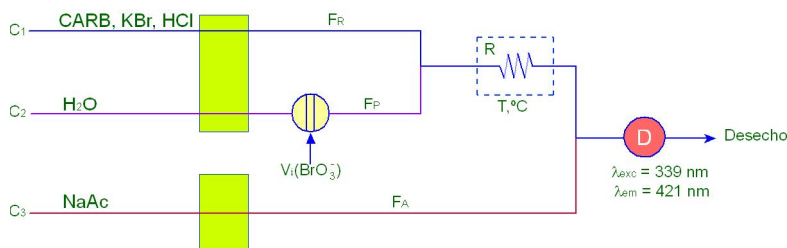


Figura 222. Esquema de flujo propuesto para la determinación de BrO_3^- en continuo mediante la reacción de bromación de CARB. Medida fluorimétrica del reactivo sobrante. [CARB]: Carbostiril-124; [NaAc]: Acetato de sodio, F_R , F_P y F_A : velocidades de flujo de las disoluciones que fluyen por C_1 , C_2 y C_3 ; V_i : válvula de inyección, R : reactor; D : fluorímetro.

Consta de tres canales y dos bombas peristálticas para un mejor control de las velocidades de flujo. Por el canal C_1 fluye el reactivo CARB disuelto en medio HCl, a pH fuertemente ácido y en presencia de KBr en exceso.

Por el canal C_2 fluye constantemente H_2O bidestilada que actúa como portador sobre el cual se inyecta en el momento adecuado un volumen de

disolución patrón o muestra que contiene BrO_3^- . Ambas disoluciones, las que fluyen por C_1 y C_2 , se unen en un punto de confluencia (conexión en T) desde donde comienza la reacción de bromación del reactivo CARB (consta de dos etapas: reacción BrO_3^- con Br^- para generar bromo y bromación del reactivo Carbostiril-124).

Desde el primer punto de confluencia hasta el segundo, el tiempo de reacción se controla, junto con las velocidades de flujo F_R y F_P , con un reactor de teflón de 0,5 mm de diámetro interno y de longitud variable. Dicho reactor va introducido en un baño de agua termostatado para el control de la temperatura de la reacción.

Por el canal C_3 fluye constantemente una disolución de NaAc de concentración adecuada para que al confluir con los canales C_1 y C_2 , el pH resultante sea el adecuado para la medida de la fluorescencia generada por el CARB sobrante de la reacción de bromación.

El fluorímetro se encuentra programado a $\lambda_{\text{exc}} = 339 \text{ nm}$ y $\lambda_{\text{em}} = 430 \text{ nm}$ para la medida en continuo de la fluorescencia emitida por el CARB.

Las rendijas de excitación y emisión se mantienen en todo momento en 10 nm ($R_{\text{exc}} = 10 \text{ nm}$; $R_{\text{em}} = 10 \text{ nm}$). Recordemos que a mayor anchura de las rendijas mayor señal de fluorescencia emitida, pero también mayor ruido de fondo.

La velocidad de flujo de la disolución que fluye por C_3 , se denominará F_A , para diferenciarla de las otras dos.

Se utilizan dos bombas peristálticas para, en un principio, controlar mejor las velocidades de flujo utilizando tubos de silicona del mismo diámetro interno. Pero si fuera preciso, después del estudio de variables, se podría cambiar la disposición de los canales.

Para todo el estudio se utiliza una célula de flujo de 38 μL que va introducida en el fluorímetro en una *unidad de sensibilización* para una mayor eficacia óptica (con espejos cóncavos).

4.2.1. FIAGRAMAS

En la Figura 223 se muestran los fiagramas obtenidos al inyectar por duplicado, en condiciones experimentales adecuadas, una disolución patrón de BrO_3^- .

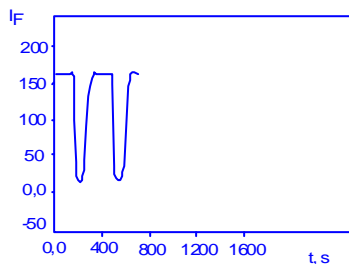


Figura 206. *Fiagramas típicos obtenidos al inyectar por duplicado 243 μl de una disolución patrón de bromato. ($\lambda_{\text{exc}} = 339 \text{ nm}$; $\lambda_{\text{em}} = 421 \text{ nm}$)*

La línea base corresponde a la emisión de fluorescencia por parte del reactivo CARB al pH del segundo punto de confluencia ($> 4,3$).

Cuando se inyecta un volumen de disolución patrón de BrO_3^- , reacciona con Br^- que contiene la disolución de reactivo a pH ácido generando el Br_2 que reacciona con $[\text{CARB}]$ para formar un compuesto bromado no fluorescente. La señal analítica generada, fiagrama, es negativa pues mide la disminución de intensidad de fluorescencia debido al decrecimiento de la $[\text{CARB}]$.

La altura del fiagrama, ΔI_F , es directamente proporcional a la concentración de oxidante, BrO_3^- .

Si la disolución de reactivo utilizada está formada por CARB en medio ácido, sin KBr, al inyectar un volumen de disolución patrón de BrO_3^- , la línea base no experimenta ninguna modificación por lo que no existe reacción química entre CARB y BrO_3^- .

El tiempo de aparición del fiagrama, t_a , así como la anchura en la base, Δt , dependerán de las condiciones geométricas e hidrodinámicas del sistema así como del volumen de inyección, en el segundo caso.

4.3. CARACTERÍSTICAS CINÉTICAS DE LA REACCIÓN

Ante la dificultad de realizar un estudio cinético de la reacción en discontinuo, por el problema de la diferencia de pH óptimo para la reacción química y para la emisión de fluorescencia, se obtienen datos cinéticos de la reacción química operando en discontinuo, pues en definitiva se trata de un método a tiempo prefijado con la comodidad de poder controlar simultáneamente los dos pH comentados.

Para obtener conclusiones sobre la cinética de la reacción, conocer si es lenta o no, en el esquema de flujo de la Figura 222 se fijan las siguientes condiciones: Canal C₁: [CARB] = 10⁻⁴ M, [KBr] = 6,7x10⁻² M, [HCl] = 0,8 M, F_R = 0,24 mL.min⁻¹. Canal C₂: Agua como portador, V_i = 243 µL de disolución patrón de BrO₃⁻ en concentración de 200 µg.L⁻¹, F_P = 0,24 mL.min⁻¹. Canal C₃: [NaAc] = 2,5 M, F_A = 0,24 mL.min⁻¹. Sin ser las condiciones óptimas, se garantiza un pH suficientemente ácido en el canal C₁ como para que transcurra la reacción BrO₃⁻ - Br⁻, y la concentración elevada de NaAc garantiza que el pH de la segunda confluencia sea superior a 4,3 para conseguir la máxima emisión de fluorescencia.

En estas condiciones, se modifica la longitud del reactor desde 300 hasta 1350 cm, sin termostatar, esto es, trabajando a temperatura ambiente, 23 °C.

En la Tabla 76 se indican los valores de ΔI_F obtenidos, media de tres inyecciones, para cada longitud estudiada, así como los tiempos de aparición medidos experimentalmente y los tiempos de reacción calculados teóricamente.

Los valores de ΔI_F se han representado en la Figura 224 frente a la longitud del reactor, en la parte inferior, y frente al tiempo de reacción, en la parte superior.

Puede comprobarse como la reacción, en estas condiciones experimentales, es de cinética lenta, incrementándose la señal analítica a

medida que aumenta el tiempo de reacción, tendiendo hacia un valor constante para tiempos superiores a 344 s. En ningún momento, ni siquiera para reactores muy largos, predomina la dispersión sobre el incremento en la señal analítica.

Tabla 76. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carboستيرil-124. Evolución cinética de la reacción a temperatura ambiente. Señales analíticas obtenidas con diferentes reactores a diferentes tiempos de reacción.

R cm	ΔI_F		
	$\lambda_{em} =$ 430 nm	t_a s	t_R s
300	48,1	96	86
500	64,6	145	135
700	83,9	194	184
900	99,7	243	233
1100	114,7	292	282
1350	122,9	354	344

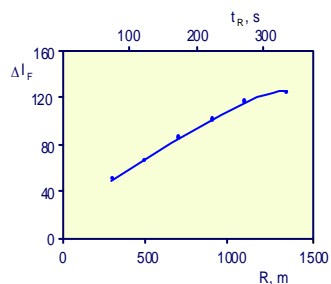


Figura 224. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación de carboستيرil-124. Evolución cinética de la reacción a temperatura ambiente. C_1 : $[CARB] = 10^{-4} M$, $[KBr] = 6,7 \times 10^{-2} M$, $[HCl] = 0,8 M$, $F_R = 0,24 mL \cdot min^{-1}$. Canal C_2 : Agua como portador, $V_i = 243 \mu L$ de disolución patrón de BrO_3^- en concentración de $200 \mu g \cdot L^{-1}$, $F_P = 0,24 mL \cdot min^{-1}$. Canal C_3 : $[NaAc] = 2,5 M$, $F_A = 0,24 mL \cdot min^{-1}$.

4.3.1. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA VELOCIDAD DE LA REACCIÓN

Como el objetivo del método analítico que se desea poner a punto es conseguir la máxima sensibilidad, y a la vista de los resultados en la experiencia anterior, interesa conocer si la temperatura de termostatación del reactor incrementa la velocidad de reacción de manera suficiente como para conseguir la máxima señal analítica.

Utilizando las condiciones experimentales del estudio anterior, se fija la longitud del reactor en 400 cm y se termostata a diferentes temperaturas entre 23 °C y 80 °C.

El tiempo de reacción es el mismo para todas las experiencias, $t_R = 110$ s, el tiempo de contacto entre el *bolo reaccionante* y el reactor termostataado también lo es por ser constante los valores de F_R y F_P (98 S). El tiempo de aparición, t_a , es el mismo para todos los casos, 120 s.

Los valores de ΔI_F obtenidos para cada temperatura se indican en la Tabla 77 y se representan en la Figura 225.

Tabla 77. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la temperatura sobre la cinética de la reacción. Valores de ΔI_F obtenidos al mismo tiempo de reacción y diferentes temperaturas de termostatación.

$T, ^\circ C$	ΔI_F $\lambda_{em} = 430$ nm
23	53,8
30	77,3
40	116,7
50	143,4
60	149,5
70	149,5
80	149,5

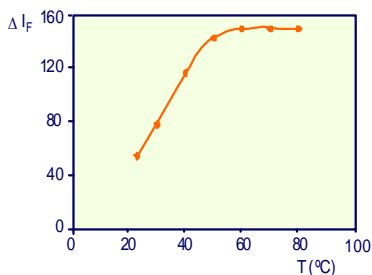


Figura 225. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la temperatura sobre la cinética de la reacción. C_1 : $[CARB] = 10^{-4}$ M, $[KBr] = 6,7 \times 10^{-2}$ M, $[HCl] = 0,8$ M, $F_R = 0,24$ mL.min $^{-1}$. Canal C_2 : Agua como portador, $V_i = 243$ μ L de disolución patrón de BrO_3^- en concentración de 200 μ g.L $^{-1}$, $F_P = 0,24$ mL.min $^{-1}$. Canal C_3 : $[NaAc] = 2,5$ M, $F_A = 0,24$ mL.min $^{-1}$

Al incrementarse la temperatura, aumenta la señal analítica por hacerlo la velocidad de reacción, de forma que se alcanza, para ese tiempo de reacción, un valor constante para ΔI_F a partir de 60 °C. Se alcanza la completitud de la reacción a esa temperatura a pesar de que en el tiempo de contacto, 98 s, es muy probable que la temperatura del *bolo reaccionante* no sea de 60 °C.

No se pueden deducir datos sobre la estabilidad del producto de bromación pues no es fluorescente (diferencia con la reacción de bromación de la ODA seguida espectrofotométricamente).

El proceso de generación de pequeñas burbujas de vapor es apreciable a temperaturas altas $> 70\text{ }^{\circ}\text{C}$, pero afectan menos a la emisión de fluorescencia, por ser independiente del índice de refracción, que a las medidas espectrofotométricas.

Desde un punto de vista práctico, se deduce que la termostatación del reactor a temperaturas superiores a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ acelera suficientemente la velocidad de la reacción como para conseguir la completitud de la misma.

4.4. OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES

Conocidas algunas características cinéticas de la reacción química, el paso siguiente consiste en estudiar cada una de las variables que afectan a la señal analítica, teniendo presente que hay que diferenciar las que afectan a la reacción química de aquellas que modifican el valor de la intensidad de emisión de fluorescencia.

Nos ha parecido conveniente dividir variables en dos grupos.

4.4.1. VARIABLES QUÍMICAS

Utilizando el esquema de flujo de la Figura 222 se fijan las condiciones geométricas e hidrodinámicas en los siguientes valores:

$$F_R = F_P = 0,24\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}; F_A = 0,24\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$$

$$R = 400\text{ cm}; T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$V_i = 243\text{ }\mu\text{L de disoluciones patrón de BrO}_3^- \text{ de } 200 \text{ y } 600\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

De modo que el tiempo de reacción es constante en todos los casos, $t_R = 110\text{ s}$, el tiempo de contacto con el reactor termostatado es constante, $t_c = 98\text{ s}$ y el tiempo de aparición el mismo, $t_a = 120\text{ s}$.

Salvo cuando se estudie cada variable, se fijan las siguientes condiciones generales para el estudio: $[\text{CARB}] = 10^{-4}\text{ M}$; $[\text{KBr}] = 8,4 \times 10^{-2}\text{ M}$; $[\text{NaAc}] = 2,5\text{ M}$.

Concentración de carbostiril-124

La primera variable estudiada es la **concentración de CARB** que se modifica desde $7,3 \times 10^{-6}$ M hasta 10^{-4} M. Para cada concentración estudiada la línea base tiene un valor de I_F diferente, como es lógico, pero lo que se mide es el descenso de fluorescencia, ΔI_F .

Los valores medios de ΔI_F obtenidos para cada concentración de reactivo fluorescente se representan en la Figura 226 y se indican en la Tabla 78, para las dos concentraciones de BrO_3^- estudiadas.

Tabla 78. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de CARB.

[CARB], M	ΔI_F	
	[BrO_3^-], $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	200	600
$7,3 \times 10^{-6}$	35,4	191,2
$1,5 \times 10^{-5}$	95,2	300,4
$2,9 \times 10^{-5}$	147,8	389,6
$4,4 \times 10^{-5}$	159,3	456,3
$5,9 \times 10^{-5}$	159,2	496,0
$8,0 \times 10^{-5}$	158,8	495,2
$1,0 \times 10^{-4}$	143,2	484,6

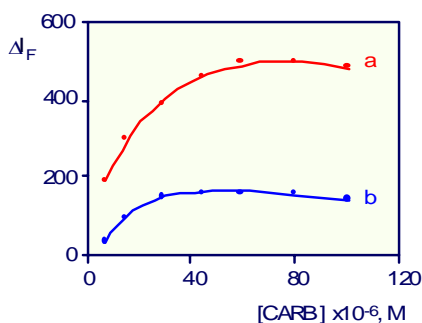


Figura 226. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de CARB. a: $600 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de BrO_3^- ; b: $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de BrO_3^- . $[\text{KBr}] = 8,4 \times 10^{-2}$ M; $[\text{NaAc}] = 2,5$ M. $F_R = F_P = 0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $F_A = 0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $R = 400$ cm; $T = 60$ °C; $V_i = 243 \mu\text{L}$.

Cuanto mayor es la $[\text{CARB}]$ mayor es la cantidad de producto bromado formado, mayor es el ΔI_F , llegándose a un valor a partir del cual la reacción es independiente de la concentración del reactivo fluorescente. Este valor al que se alcanza la constancia es diferente, lógicamente, para cada concentración de BrO_3^- , siendo $4,0 \times 10^{-5}$ M para $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y $5,9 \times 10^{-5}$ M para $600 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Concentraciones superiores de CARB generan un ligero descenso en la señal analítica debido probablemente a que a esas concentraciones la molécula

orgánica sufre un proceso de autoabsorción de parte de la radiación emitida, disminuyendo el rendimiento cuántico.

Como las velocidades de flujo de las disoluciones que fluyen por C_1 y C_2 son iguales, las concentraciones reales de CARB en el punto de confluencia, son justo la mitad (dilución doble).

Desde un punto de vista práctico se deduce que hasta $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- la concentración *óptima* en la confluencia para la reacción de bromación es $2,0 \times 10^{-5}$ M aunque concentraciones superiores hasta $5,0 \times 10^{-5}$ M generan señales similares. Lo mismo ocurre para concentraciones superiores a $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ hasta $600 \mu\text{g.L}^{-1}$, la concentración *óptima* de CARB es $3,0 \times 10^{-5}$ M, aunque concentraciones superiores, hasta $5,0 \times 10^{-5}$ M generan señales similares.

Concentración de KBr

Para estudiar la **influencia de la concentración de KBr** sobre la reacción de bromación, fijadas el resto de variables en los valores ya indicados, se modifica la concentración de Br^- en la disolución que fluye por C_1 desde $4,0 \times 10^{-3}$ M hasta $8,4 \times 10^{-2}$ M lo que corresponde a $2,0 \times 10^{-3}$ M hasta $4,2 \times 10^{-2}$ M en el punto de confluencia desde donde comienza la reacción de bromación.

Puede comprobarse como a medida que aumenta la concentración de Br^- , se incrementa la señal analítica por hacerlo la velocidad de reacción con BrO_3^- alcanzándose un valor constante al tiempo de reacción estudiado, y en las condiciones experimentales de trabajo.

Para concentraciones hasta $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- , la señal analítica es constante a partir de una concentración de Br^- de $3,0 \times 10^{-2}$ en la disolución que fluye por C_1 lo que corresponde a $1,5 \times 10^{-2}$ M en el punto de confluencia, a partir del cual ocurre la reacción química. Para concentraciones de BrO_3^- superiores a $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ (hasta $600 \mu\text{g.L}^{-1}$) la constancia en la señal analítica se alcanza desde

un valor de Br^- ligeramente superior, $4,5 \times 10^{-2}$ M, lo que corresponde en la confluencia a $2,25 \times 10^{-2}$ M.

Tabla 79. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de KBr.

[KBr], $\times 10^{-2}$ M	ΔI_F	
	[BrO_3^-] $\mu\text{g.L}^{-1}$	
	200	600
0,5	34,8	269,6
1,0	76,0	348,7
2,0	114,5	421,2
3,0	149,6	460,5
4,5	149,9	484,1
6,0	149,7	484,3
8,0	149,6	484,0

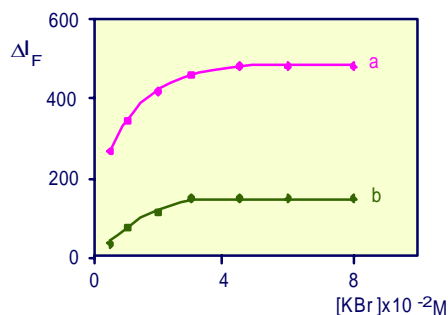


Figura 227. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de KBr. a: $600 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- , b: $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ de BrO_3^- . [CARB] = 10^{-4} M; [NaAc] = 2,5 M. $F_R = F_P = 0,24 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_A = 0,24 \text{ mL.min}^{-1}$; $R = 400 \text{ cm}$; $T = 60^\circ \text{C}$; $V_i = 243 \mu\text{L}$.

Concentración de Protones

Para el estudio de la *influencia de $[\text{H}^+]$* , se modifica la concentración de HCl de la disolución que fluye por C_1 desde 0,05 M hasta 1,2 M, manteniendo el resto de variables en los valores ya indicados. La concentración de NaAc, 2,5 M, asegura que para todos los valores de HCl estudiados, el pH de la mezcla de disoluciones en el segundo punto de confluencia sea superior a $\text{pH} = 4,3$ (valor a partir del cual la especie CARB muestra un valor en la emisión de fluorescencia constante). Para la mayor concentración de HCl estudiada, 1,22 M, el pH en el segundo punto de confluencia es prácticamente 5,4.

Los valores de ΔI_F obtenidos, como media de tres inyecciones, para cada $[\text{H}^+]$ se indican en la Tabla 80 y se representan en la Figura 228.

Puede comprobarse como la velocidad de la reacción de bromación es independiente de la concentración de H^+ , alcanzándose un valor constante para la señal analítica, independientemente de la concentración de BrO_3^- , a partir de

[HCl] = 0,6 M. La velocidad de la reacción se incrementa con la [H⁺], alcanzándose la constancia en la señal analítica, en las condiciones experimentales fijadas, a partir de [HCl] = 0,3 M en el primer punto de confluencia, donde comienza la reacción química.

Tabla 80. Determinación de BrO₃⁻ en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de HCl.

[HCl], M	ΔI_F	
	[BrO ₃ ⁻] $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 200	600
0,5	41,2	310,1
0,2	65,1	364,0
0,3	83,6	400,5
0,4	102,5	429,7
0,5	123,4	461,2
0,6	149,3	485,0
0,8	149,6	484,7
1,0	149,2	484,9
1,2	149,4	484,3

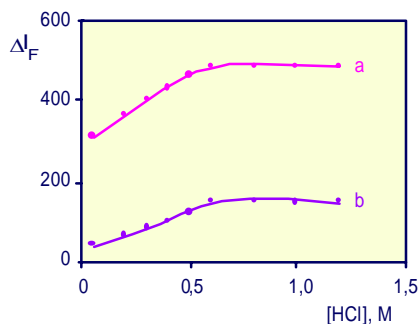


Figura 228. Determinación de BrO₃⁻ en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de HCl. A: 600 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de BrO₃⁻, b: 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de BrO₃⁻. [CARB] = 10⁻⁴ M; [NaAc] = 2,5 M. F_R = F_P = 0,24 mL·min⁻¹; F_A = 0,24 mL·min⁻¹; R = 400 cm; T = 60 °C; V_i = 243 μL .

Concentración de Acetato de Sodio

Para confirmar la influencia de la concentración de acetato de sodio sobre la señal analítica, emisión de fluorescencia, tras la reacción química, se modifica su concentración desde 0,05 M hasta 3,0 M. Como la concentración de HCl se mantiene en 0,8 M, 0,4 M en la primera confluencia, las variaciones en la señal analítica obtenidas sólo son atribuibles a la modificación en la emisión de fluorescencia por variación de la concentración de la forma básica de CARB.

Los valores de ΔI_F obtenidos, media de tres inyecciones, se muestran en la Tabla 81 y se representan frente a la concentración de NaAc en la Figura 229.

Puede comprobarse como para valores inferiores a 0,3 M en NaAc la señal analítica es inferior al valor constante alcanzado para concentraciones superiores, debido a que el pH en el segundo punto de confluencia es inferior al $pK_a + 1$, zona de predominio de la forma básica del CARB, que es la forma fluorescente.

Tabla 81. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de NaAc.

[NaAc], M	ΔI_F	
	$BrO_3^- \mu g.L^{-1}$	
	200	600
0,05	18,4	49,8
0,1	35,3	83,6
0,2	147,7	480,6
0,6	149,6	484,2
0,6	149,8	484,9
1,2	149,0	484,9
1,8	149,3	484,2
2,5	149,5	484,5
3,0	149,7	484,1

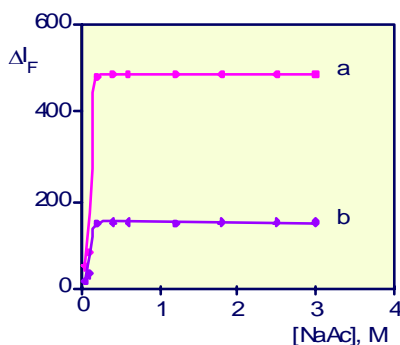


Figura 229. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Influencia de la concentración de NaAc. a: $600 \mu g.L^{-1}$ de BrO_3^- , b: $200 \mu g.L^{-1}$ de BrO_3^- [CARB] = 10^{-4} M. $F_R = F_P = 0,24 mL.min^{-1}$; $F_A = 0,24 mL.min^{-1}$; $R = 400 cm$; $T = 60^\circ C$; $V_i = 243 \mu L$.

Teniendo en cuenta que la concentración de HCl se diluye en el primer punto de confluencia alcanzado el valor de 0,4 M, se puede deducir desde un punto de vista práctico que la relación óptima entre $[Ac^-]$ y $[H^+]$ en el segundo punto de confluencia debe de ser $[Ac^-]/[H^+] > 0,7$ con lo que se asegura el máximo valor en la emisión de fluorescencia para cada concentración de BrO_3^- .

4.4.2. VARIABLES GEOMÉTRICAS E HIDRODINÁMICAS

Estudiados y deducidos los valores óptimos de las variables químicas que afectan a la reacción de bromación y al proceso de emisión de fluorescencia,

el paso siguiente consiste en el estudio de las variables geométricas e hidrodinámicas que afectan a la señal analítica por diferentes motivos.

El tiempo de reacción viene controlado por la velocidad de flujo desde el primer punto de confluencia, esto es por los valores de $F_R + F_P$, así como por la longitud del reactor R. Ambas variables son las responsables de fijar el tiempo en que el *bolo reaccionante* está introducido en el baño termostataado que siempre es ligeramente menor que el tiempo de reacción.

Por otra parte la relación entre F_R y F_P controla la dilución de los reactivos y lo que es más importante la dilución del *bolo* inyectado conteniendo BrO_3^- lo que afecta a la sensibilidad del método.

Por último el valor de F_A afecta, aunque no excesivamente, a la velocidad de determinación (que no es un objetivo marcado) y lo que es más importante, a la dilución sobre el *bolo reaccionante* y por lo tanto a la sensibilidad de la señal analítica final.

Por las razones expuestas *el estudio de las velocidades de flujo* se ha realizado de la siguiente manera:

A. Influencia de F_A : Velocidad de flujo de la disolución de acetato sódico

Esta disolución tiene el objetivo de ajustar el pH de las otras disoluciones mezcladas en las que ya ha ocurrido la reacción de bromación con el objetivo de alcanzar un $\text{pH} > 4,3$ para la medida de la fluorescencia del reactivo [CARB]. No obstante al mezclarse esta disolución de acetato sódico en el segundo punto de confluencia del esquema de flujo, Figura 222, con la disolución donde ya ha ocurrido la reacción de bromación, disminuye por dilución la concentración de todos los productos generados afectando por lo tanto a la sensibilidad de la señal analítica.

Para deducir el valor óptimo de F_A en el esquema de flujo citado se fijan las siguientes condiciones:

Disolución de reactivo, R: $F_R = 0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $[\text{CARB}] = 8,0 \times 10^{-5}$, $[\text{HCl}] = 1,2 \text{ M}$ y $[\text{KBr}] = 8 \times 10^{-2} \text{ M}$.

Disolución portadora, P: $F_P = 0,24 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $V_i = 243 \mu\text{L}$ de disolución de BrO_3^- de $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración.

Reactor de 400 cm, termostataado a $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

En estas condiciones y al mantener $F_R = F_A$, la reacción química de bromación transcurre con los valores óptimos de todas las especies que intervienen en ella.

Se fija para la disolución de acetato sódico una concentración alta, 3,0 M y se modifica su velocidad de flujo, F_A , desde $0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $0,48 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, de forma que en la segunda confluencia se garantiza en todos los casos que $[\text{NaAc}]/[\text{H}^+] > 0,7$, siendo la relación más pequeña para el caudal más bajo, $F_A = 0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, en que la relación de concentraciones es de 0,71.

Caudales de F_A inferiores a $0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (manteniendo $F_R + F_A = 0,48 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) provocan una mala mezcla en el punto de confluencia provocando alteraciones en el fiagrama que afectan a la precisión en la señal analítica.

Los resultados obtenidos, en cuanto al descenso en el valor de la intensidad de fluorescencia, se refiere, se muestran en la Tabla 82 y se representan en la Figura 230.

Al mantenerse el valor de $F_R + F_P$ constante en todas las experiencias en $0,48 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, tanto el tiempo de reacción como el tiempo de contacto con el reactor termostataado se mantienen constantes ($t_R = 98 \text{ s}$, $t_C = 110 \text{ s}$), por esa razón las modificaciones en los valores de ΔI_F solo pueden atribuirse a los procesos de dilución del *bolo reaccionante* al mezclarse con la disolución de acetato sódico.

Puede comprobarse como cuanto menor es el valor de la velocidad de flujo, F_A y cuanto mayor es la relación $F_R + F_P/F_A$, mayor es el valor de ΔI_F por ser menor la dilución del *bolo reaccionante*. Desde el punto de vista de la

sensibilidad analítica interesa trabajar con relaciones de velocidades de flujo $F_R + F_P/F_A$ del orden de 6.

Tabla 82. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carboستيرil-124. Influencia de la relación de velocidades de flujo entre $F_R + F_P$ y F_A .

F_A mL.min ⁻¹	$\frac{F_R+F_P}{F_A}$	ΔI_F $\lambda_{em} =$ 430nm	Δt s
0.08	6.0	258.7	180
0.12	4.0	241.2	165
0.17	2.8	190.5	155
0.24	2.0	150.1	140
0.32	1.5	120.3	126
0.40	1.2	99.7	110
0.48	1.0	81.0	90

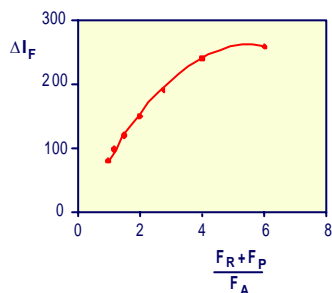


Figura 230. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carboستيرil-124. Influencia de la relación de velocidades de flujo entre $F_R + F_P$ y F_A . C_1 : $[CARB] = 10^{-4}$ M, $[KBr] = 6,7 \times 10^{-2}$ M, $[HCl] = 0,8$ M, $F_R = 0,24$ mL.min⁻¹. Canal C_2 : Agua como portador, $V_i = 243$ μ L de disolución patrón de BrO_3^- en concentración de 200 μ g.L⁻¹, $F_P = 0,24$ mL.min⁻¹. Canal C_3 : $[NaAc] = 2,5$ M, $F_A = 0,24$ mL.min⁻¹.

El incremento en la sensibilidad se ve contrarrestado por un aumento en el valor de Δt , anchura del diagrama en la línea base, como consecuencia de un menor valor de F_t (velocidad de flujo total) que varía desde $0,56$ mL.min⁻¹ hasta $0,96$ mL.min⁻¹. El valor de t_a , tiempo de aparición disminuye en el mismo sentido, a medida que aumenta el valor de F_A , pero su variación alrededor de los 120 s es difícil de medir con precisión pues el tramo de teflón que une la segunda confluencia con célula de flujo es corto y difieren los tiempos en menos de 2 segundos.

B. Influencia de la relación de velocidades de flujo F_P/F_A .

Las velocidades de flujo, F_P y F_R controlan desde el primer punto de mezcla el tiempo de reacción de bromación así como el tiempo de contacto entre el bolo reaccionante y el reactor termostatado.

Por otra parte la relación entre F_P y F_R afecta en el primer punto de confluencia a la dilución del *bolo de patrón o muestra* así como a la dilución de reactivos.

Para poder estudiar la influencia de esta relación sobre la señal analítica, se mantiene el tiempo de reacción y el tiempo de contacto constantes, las variables químicas dentro de los márgenes óptimos citados en el estudio anterior, la relación óptima para $F_P + F_R/F_A$ y las variables geométricas e hidrodinámicas, temperatura del reactor y volumen de patrón inyectado (243 μL de BrO_3^- en concentración de 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$) y se modifican los valores de F_P , F_R y F_A .

El valor de $F_P + F_R$ se mantiene en 0,48 mL.min^{-1} (relación óptima deducida anteriormente). El valor de F_P se varía desde 0,22 mL.min^{-1} hasta 0,38 mL.min^{-1} , a la vez que F_R adopta los valores complementarios entre 0,26 y 0,10 respectivamente. En este margen de valores de F_P/F_R (0,85 hasta 3,8) la concentración de [CARB], que es el reactivo más crítico, se mantiene en el valor óptimo, $2 \times 10^{-5} \text{ M} - 5 \times 10^{-5} \text{ M}$.

Las velocidades de flujo se controlan con tres bombas peristálticas para poder modificar F_P , F_R y F_A de modo individual y en valores diferentes.

Los valores de ΔI_F ($\lambda_{\text{exc}} = 339 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 430 \text{ nm}$) obtenidos al inyectar 243 μL de disolución de BrO_3^- de 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de concentración para las diferentes condiciones experimentales se indican en la Tabla 83 y se representan en la Figura 231 frente a la relación F_P/F_R .

Puede comprobarse como la señal analítica, ΔI_F , aumenta al hacerlo el valor de F_P/F_R por sufrir *la muestra* inyectada una menor dilución cuanto mayor es la diferencia entre los valores de F_P y F_R .

Como conclusión práctica se deduce que la mayor señal analítica, manteniendo el tiempo de reacción constante en 110 s, se obtiene cuando F_P vale 0,38 mL.min^{-1} y $F_R = 0,10 \text{ mL.min}^{-1}$ ($F_P/F_R = 3,8$). No es posible obtener relaciones mayores pues se diluiría el reactivo Carbestiril por debajo de los valores óptimos.

En todas las experiencias los valores de t_a e Δt son constantes (122 s y 180 s respectivamente).

Tabla 83. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carboستيرil-124. Influencia de la relación de velocidades de flujo entre F_P/F_R manteniendo constante $F_P+F_R = 0,48 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_A = 0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

F_A $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	F_R $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	F_P/F_R	ΔI_F $\lambda_{em} = 430\text{nm}$
0,22	0,26	0,85	249,6
0,24	0,24	1,0	258,1
0,28	0,20	1,4	286,4
0,30	0,18	1,7	300,1
0,32	0,16	2,0	315,8
0,34	0,14	2,4	329,2
0,36	0,12	3,0	345,6
0,38	0,10	3,8	354,9

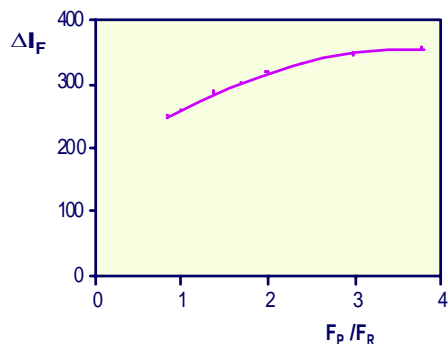


Figura 231. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carboستيرil-124. Influencia de la relación de velocidades de flujo entre F_P/F_R manteniendo constante $F_P+F_R = 0,48 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_A = 0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ C_1 : $[CARB] = 10^{-4} \text{ M}$, $[KBr] = 6,7 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[HCl] = 0,8 \text{ M}$, Canal C_2 : Agua como portador, $V_i = 243 \mu\text{L}$ de disolución patrón de BrO_3^- en concentración de $200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, Canal C_3 : $[NaAc] = 2,5 \text{ M}$, $t_R = 110 \text{ s}$, $t_C = 98 \text{ s}$.

Influencia del volumen de inyección

Deducidas las condiciones óptimas para las relaciones entre las velocidades de flujo de los tres canales del esquema de flujo y con los tiempos de reacción óptimos deducidos en los estudios previos así como la longitud del reactor y su temperatura de termostatación, sólo queda estudiar el *volumen de inyección* como última variable que afecta a la sensibilidad analítica.

Para el estudio de esta variable se realiza una modificación de tipo práctico en el esquema de flujo de la Figura 222. Una bomba peristáltica controla la velocidad de flujo de la disolución portadora, F_P , que se mantiene en un valor de $0,38 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, mientras con la segunda bomba peristáltica se controlan a la vez F_R y F_A que se mantienen en un mismo valor de $0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$

pero se prefiere perder ligeramente en sensibilidad ganando en sencillez y comodidad en el diseño del esquema de flujo definitivo.

El nuevo esquema de flujo, con el que se realizan los estudios posteriores, queda reflejado en la Figura 232.

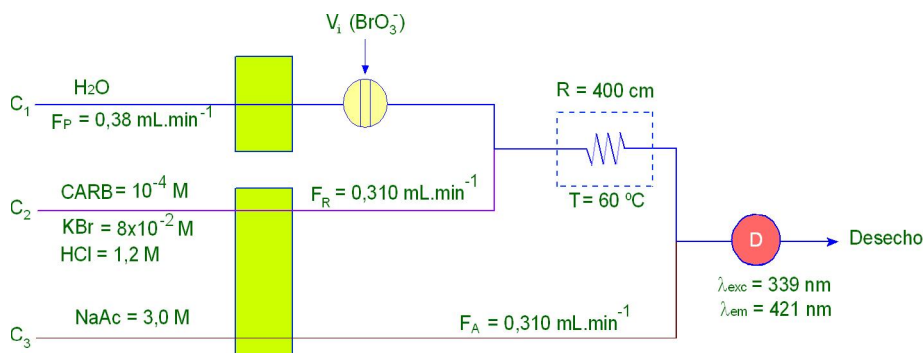


Figura 232. Esquema de flujo óptimo para la determinación de BrO_3^- mediante la reacción de bromación de Carbstiril-124.

Para el estudio de la influencia del volumen inyectado de patrón o muestra se fijan las siguientes condiciones químicas: $[\text{CARB}] = 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{HCl}] = 1,2 \text{ M}$, $[\text{KBr}] = 8 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{NaAc}] = 3,0 \text{ M}$.

La longitud del reactor se mantiene en 400 cm y se termostata a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ y en todos los casos se inyecta una disolución patrón de BrO_3^- de $200 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ de concentración.

Los valores de ΔI_F obtenidos para cada experiencia junto con los valores de anchura de banda en la base del diagrama se indican en la Tabla 84 y la relación entre señal analítica y volumen de inyección se representa en la Figura 233.

Como era de esperar, cuanto mayor es el volumen inyectado, mayor es el valor de la señal analítica por disminuir la dispersión del *bolo inyectado* y aumentar, por lo tanto, la concentración de analito en dicha zona. Por encima de $288 \text{ } \mu\text{L}$, el incremento comienza a ser menos pronunciado tendiendo a

alcanzar el valor que se obtiene sin dispersión al pasar en continuo la disolución patrón de BrO_3^- de $200 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Tabla 84. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbestiril-124. Influencia del volumen de inyección sobre la señal analítica.

V_i μL	Δt s	ΔI_F $\lambda_{em} =$ 430 nm
45	91,2	90
67	120,6	100
108	184,4	120
179	275,1	145
243	349,3	180
288	398,9	210
327	408,4	255
437	419,6	315
594	420,1	400
continuo	420,8	-

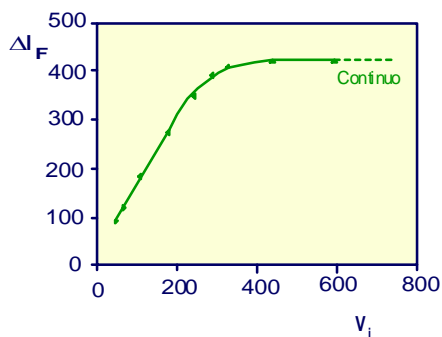


Figura 233. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbestiril-124. Influencia del volumen de inyección sobre la señal analítica C_1 : Agua como portador. Canal C_2 : $[\text{CARB}] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{KBr}] = 8 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HCl}] = 1,2 \text{ M}$. Canal C_3 : $[\text{NaAc}] = 3,0 \text{ M}$. $F_p = 0,38 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_R = F_A = 0,10 \text{ mL.min}^{-1}$.

Desde un punto de vista práctico, para conjugar sensibilidad y velocidad de muestreo, que disminuye al aumentar V_i por hacerlo el valor de ΔI_F , se escoge como volumen de inyección adecuado el de $288 \mu\text{L}$.

En todas las experiencias realizadas $t_R = 110 \text{ s}$, $t_c = 110 \text{ s}$, $t_a = 110 \text{ s}$.

4.5. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE BROMATO. CALIBRADO ANALÍTICO.

Deducidas las condiciones químicas, geométricas e hidrodinámicas óptimas, se estudia la relación existente entre la concentración de BrO_3^- y la señal analítica, ΔI_F .

En el esquema de flujo de la Figura 232 se fijan las siguientes condiciones:

$$C_1 : F_P = 0,38 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}, V_i = 288 \mu\text{L}$$

$$C_2 : F_R = 0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}, [\text{CARB}] = 10^{-4} \text{ M}, [\text{HCl}] = 1,2 \text{ M}, [\text{KBr}] = 8 \times 10^{-2} \text{ M}$$

$$C_3 : F_A = 0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}, [\text{NaAc}] = 3,0 \text{ M.}$$

$$R = 400 \text{ cm, Temperatura de termostatación} = 60 \text{ }^\circ\text{C}$$

Se preparan disoluciones patrón de bromato en concentraciones comprendidas entre 4 y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ que se inyectan por triplicado en el sistema de flujo indicando ($V_i = 288 \mu\text{L}$). Los valores medios de ΔI_F para cada patrón se muestran en la Tabla 85 y su relación se representa en la Figura 234.

Puede comprobarse como los valores de ΔI_F ($\lambda_{\text{exc}} = 339 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 430 \text{ nm}$) en función de la concentración de BrO_3^- se ajustan a una línea recta de ecuación:

$$\Delta I_F = (-0,4 \pm 2,3) + (2,08 \pm 0,03) [\text{BrO}_3^-], \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

Con coeficiente de regresión lineal de $R^2 = 0,9998$, para un nivel de confianza del 95%.

Límite de detección.

La concentración límite de detección calculada a partir de la expresión [3] o la [4], teniendo en cuenta que el valor de la fluctuación máxima de la línea base es $X_B^{\text{max}} = 0,6$, conduce a un valor de

$$C_L = 0,9 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}.$$

por lo que el método de determinación para BrO_3^- es el más sensible de todos los estudiados con la ventaja adicional de tener un margen de linealidad muy amplio, hasta $200 \mu\text{g.L}^{-1}$, lo que permite medir concentraciones de BrO_3^- alrededor de los niveles paramétricos actuales y los que se marquen en un futuro (recordemos que Japón y USA recomiendan $5 \mu\text{g.L}^{-1}$).

Tabla 85. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbstiril-124. Influencia de la concentración de bromato. Calibrado analítico.

$[\text{BrO}_3^-]$ $\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔI_F $\lambda_{em} = 430\text{nm}$
4	8,4
8	19,0
10	22,1
20	40,5
30	55,8
40	83,9
50	105,3
70	143,1
100	207,6
130	269,1
150	311,6
200	416,0

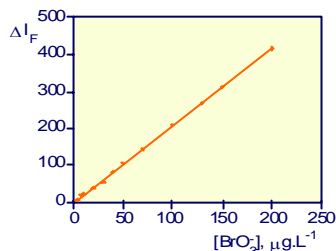


Figura 234. Determinación de BrO_3^- en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbstiril-124. Influencia de la concentración de bromato. Calibrado analítico. C_1 : Agua como portador. Canal C_2 : $[\text{CARB}] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{KBr}] = 8 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HCl}] = 1,2 \text{ M}$. Canal C_3 : $[\text{NaAc}] = 3,0 \text{ M}$. $F_P = 0,38 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_R = F_A = 0,10 \text{ mL.min}^{-1}$, $V_i = 288 \mu\text{L}$, $R = 400 \text{ cm}$ y $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Precisión

Para el estudio de la precisión del método se preparan doce disoluciones patrón de BrO_3^- ($n = 12$) conteniendo $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ y otras 12 en concentración superior de $30,0 \mu\text{g.L}^{-1}$ y se inyectan ($V_i = 288 \mu\text{L}$) en el sistema de flujo.

Medidos los valores individuales de ΔI_F y tras el tratamiento estadístico correspondiente, se obtienen valores para la desviación estándar relativa de $S_R = 3,2\%$ Y $S_R = 2,6\%$ respectivamente.

Velocidad de determinación

En las condiciones experimentales consideradas como óptimas, el tiempo de aparición, t_a , es de 120 s y la anchura del fiagrama en la línea base, Δt , es de 210 s. La velocidad de determinación aplicando este método está comprendida entre 10 y 12 determinaciones por hora.

4.6. ESTUDIO DE INTERFERENCIAS

El estudio de interferencias se realiza con los cationes y aniones ensayados en la parte correspondiente a la reacción con Fucsina, en concentraciones variables, inyectando disoluciones patrón de BrO_3^- de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ de concentración sin y con el interferente ensayado.

El estudio se realiza empleando el esquema de flujo de la Figura 232 y en las condiciones experimentales indicadas en el calibrado para BrO_3^- .

Manteniendo el criterio de considerar interferente a aquel analito que modifique la señal analítica del BrO_3^- en un 5%, de todos los posibles interferentes ensayados sólo el ClO_2^- modifica la señal analítica, en las condiciones experimentales del estudio, por encima de $5 \mu\text{g.L}^{-1}$.

El ClO_2^- reacciona en medio ácido con Br^- generando bromo que reacciona con Carbostril-124, al igual que lo hace el BrO_3^- pero, a la vista de las señales analíticas generadas por los dos analitos para una misma concentración - menor la de ClO_2^- -, parece que la cinética de la reacción, en cuanto a la velocidad se refiere, es diferente.

Para comprobar este comportamiento, en el sistema de flujo de la Figura 232 se inyectan 288 μL de disoluciones patrón de ClO_2^- en las condiciones experimentales del calibrado para BrO_3^- y en concentraciones comprendidas entre 10 y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Los valores de ΔI_F obtenidos se indican en la Tabla 86 y se representan frente a la concentración de ClO_2^- en la Figura 235.

Tabla 86. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbstiril-124. Interferencia de ClO_2^- .

$[\text{ClO}_2^-]$ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	ΔI_F $\lambda_{em} = 430\text{nm}$
10	4,1
20	8,6
30	13,4
50	21,2
70	30,4
100	41,8
150	59,3
170	67,8
200	81,2

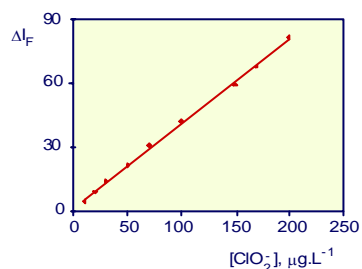


Figura 235. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbstiril-124. Interferencia de ClO_2^- . C_1 : Agua como portador. Canal C_2 : $[\text{CARB}] = 10^{-4} \text{ M}$, $[\text{KBr}] = 8 \times 10^{-2} \text{ M}$, $[\text{HCl}] = 1,2 \text{ M}$. Canal C_3 : $[\text{NaAc}] = 3,0 \text{ M}$. $F_P = 0,38 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_R = F_A = 0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $V_i = 288 \mu\text{L}$, $R = 400 \text{ cm}$ y $T = 60^\circ\text{C}$.

Puede comprobarse como la señal analítica, ΔI_F , frente a la concentración de ClO_2^- se ajusta a una línea recta de ecuación:

$$\Delta I_F = (1,0 \pm 0,6) + (0,397 \pm 0,005) [\text{ClO}_2^-], \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

para un nivel de confianza del 95% y con un coeficiente de regresión lineal de $R^2 = 0,999$.

La pendiente de dicha recta, es claramente inferior a la que se obtiene en las mismas condiciones para BrO_3^- (0,397 frente a 2,08) lo que es indicativo de una menor velocidad de la reacción para el caso del ClO_2^- .

Independientemente de que la reacción de bromación del carbostiril-124 sea útil analíticamente para determinar ClO_2^- en sistemas acuosos donde no exista BrO_3^- , para intentar resolver su interferencia en el método de determinación de bromato, se ensaya la medida analítica que ambos analitos generan en otras condiciones cinéticas.

Los mejores resultados se han obtenido sin más que cambiar la temperatura de termostatación del reactor de 400 cm., manteniendo las demás variables constantes en los valores ya comentados.

En la Tabla 87 se indican los valores de ΔI_F obtenidos termostatando el reactor a 40 °C e inyectando disoluciones patrón de BrO_3^- y ClO_2^- de diferentes concentraciones.

Tabla 87. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Calibrado analítico para BrO_3^- a 40 °C y ClO_2^- como interferente a la misma temperatura.

$[\text{BrO}_3^-]$ $\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔI_F $\lambda_{\text{em}} =$ 430nm	$[\text{ClO}_2^-]$ $\mu\text{g.L}^{-1}$	ΔI_F $\lambda_{\text{em}} =$ 430nm
4	6,6	50	4,1
8	13,7	60	5,1
10	16,0	70	5,8
20	32,9	80	6,6
30	49,2	90	7,7
40	64,0	100	8,0
50	81,6	110	9,0
70	112,9	130	10,6
100	161,8	150	12,3
130	210,1	170	13,4
150	243,5	190	15,5
200	232,8	200	16,2

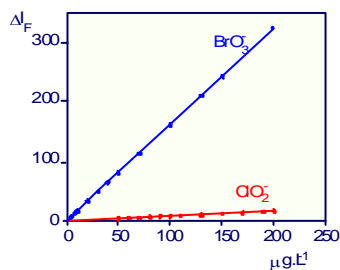


Figura 236. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Calibrado analítico para BrO_3^- a 40 °C y ClO_2^- como interferente a la misma temperatura. C_1 : Agua como portador. Canal C_2 : $[\text{CARB}] = 10^{-4}$ M, $[\text{KBr}] = 8 \times 10^{-2}$ M, $[\text{HCl}] = 1,2$ M. Canal C_3 : $[\text{NaAc}] = 3,0$ M. $F_p = 0,38$ mL.min $^{-1}$, $F_R = F_A = 0,10$ mL.min $^{-1}$, $V_i = 288$ μL , $R = 400$ cm.

Los valores de ΔI_F obtenidos para ambas series de experiencias se han representado en la Figura 236, donde puede comprobarse que se ajustan frente a la concentración, a líneas rectas de ecuaciones:

$$\text{BrO}_3^- : \Delta I_F = (0,2 \pm 0,2) + (1,617 \pm 0,002) [\text{BrO}_3^-], \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

$$\text{ClO}_2^- : \Delta I_F = (0,3 \pm 0,1) + (0,079 \pm 0,001) [\text{ClO}_2^-], \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$$

para un 95% de fiabilidad.

El margen de linealidad para ambos analitos se sigue manteniendo hasta los 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pero disminuye la pendiente del calibrado respecto a la obtenida a 60 °C.

El método de determinación es menos sensible a 40 °C ($C_L = 2,2 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) pero suficiente como para poder ser aplicado en las proximidades de los valores paramétricos (10-20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) y además a dicha temperatura la interferencia del ClO_2^- disminuye, en cuanto a concentración se refiere.

Se concluye que el ClO_2^- a 40 °C interfiere en a determinación de BrO_3^- , en aguas sometidas a potabilización cuando su concentración es superior a 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

4.7. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Para validar el método de determinación de BrO_3^- mediante la reacción de bromación del Carbstiril-124 se dopa agua de sondeo (Robledo Hermoso, Salamanca) y agua mineral (Aquabona®) con disolución patrón de analito en concentración final comprendida entre 10 y 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y se determina en las condiciones del calibrado a 60 °C.

Los resultados obtenidos para ambas matrices se muestran en la Tabla 88 y han sido obtenidos después de inyectar tres veces cada disolución

dopada. Puede comprobarse como, para un nivel de confianza del 95% no existe diferencia significativa entre el BrO_3^- puesto y el encontrado.

Tabla 84. Determinación de BrO_3^- , en flujo continuo mediante la reacción de bromación del carbostiril-124. Validación del método

$[\text{BrO}_3^-]$ PUESTO $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	$[\text{BrO}_3^-]$ ENCONTRADO, $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	
	AGUA SONDEO	AGUA MINERAL
10	11 ± 3	12 ± 3
20	21 ± 3	20 ± 3
30	28 ± 3	29 ± 3
40	39 ± 3	38 ± 3
50	52 ± 3	48 ± 3

- Nivel de confianza del 95%

Un estudio similar con agua de grifo de Salamanca (agua clorada en potabilización) generó resultados para BrO_3^- superiores a las concentraciones puestas a pesar de eliminar el Cl_2 libre de la matriz. La interferencia, con alta probabilidad es debida al ClO_2^- presente.

Se propone un nuevo procedimiento sensible y selectivo que permite la determinación on-line de bromato a nivel de trazas en aguas potabilizadas sin necesidad de procesos previos de separación y preconcentración. El método se basa en la reacción de bromación del carbostiril en un sistema reflujo que permite el control cinético de la reacción con detección fluorimétrica. El procedimiento, sencillo y de fácil automatización, permite la determinación del analito en un amplio margen de concentraciones ($4\text{-}200 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), por lo que se adapta completamente a los requisitos exigibles por la legislación actual y a las previsiones para el futuro de los países más desarrollados.

**V.- TRANSFERENCIA DE GASES ACOPLADA
A SISTEMAS FIA. OPTIMIZACIÓN DEL
PROCESO EN SU APLICACIÓN A LA
DETERMINACIÓN DE AMONIO EN AGUAS**

TRANSFERENCIA DE GASES ACOPLADA A SISTEMAS FIA. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO EN SU APLICACIÓN A LA DETERMINACIÓN DE NH_4^+ EN AGUAS.

La transferencia de especies gaseosas a través de membranas fue utilizada inicialmente para separar compuestos de bajo peso molecular de otros de mayor peso [46]²⁸.

Los métodos de análisis por inyección en flujo basados en transferencias gaseosas a través de una membrana porosa GD-FIA fueron introducidos por primera vez para la determinación de dióxido de carbono, CO_2 , y amonio, NH_4^+ , en sangre [47, 48]²⁹.

En ambos casos tiene lugar una transferencia selectiva de CO_2 y NH_3 hacia una solución aceptora, de composición definida. La especie que atraviesa la membrana modifica el pH de la disolución aceptora, lo que provoca cambios de concentración de un indicador coloreado, que pueden ser seguidos fotométricamente [49 - 51]³⁰.

²⁸ [46] R. M. Carlson. Automated separation and conductimetric determination of ammonia and dissolved carbon dioxide. *Anal. Chem.* 50 (1978) 1528.

²⁹ [47] H. Baadenhuijsen, H. E. H. Seuren-Jacobs. Determination of total CO_2 in plasma by automated flow-injection analysis. *Clin. Chem.* 25 (1979) 443.

[48] G. Schulze, C. Y. Liu, M. Brodowski, O. Elsholz, W. Frenzel, J. Möller. Different approaches to the determination of ammonium ions at low levels by flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta* 214 (1988) 121.

³⁰ [49] S. Motomizu, K. Toei, T. Kuwaki, M. Oshima. Gas-diffusion unit with tubular microporous poly(tetrafluoroethylene) membrana for flow-injection determination of carbon dioxide. *Anal. Chem.* 59 (1987) 2930.

[50] K. J. Smith, G. E. Pacey. Reverse dual phase gas diffusion flow injection analysis. *Talanta* 40 (1993) 1961

[51] V. Kubán, P. K. Dasgupta. Comparison of photometry and conductometry for the determination of total carbonate by gas permeation flow injection analysis. *Talanta* 40 (1993) 831.

Son numerosas las variables tanto de tipo químico, físico o hidrodinámico que están involucradas en los procesos citados, con el fin de alcanzar la mayor sensibilidad analítica.

Van der Linden [52]³¹, basándose en el modelo de tanques en serie ha desarrollado modelos matemáticos y ha obtenido expresiones generales para los procesos de transporte a través de membranas en módulos insertados en sistemas de flujo continuo [53 - 56]³² comprobando su validez con analitos de diferente volatilidad y membranas de diferente composición [57]³³. No obstante, en todos los casos, para que el modelo de tanques en serie explique el comportamiento experimental, *se debe trabajar con velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora prácticamente iguales*, condiciones en las que el rendimiento en el proceso de transferencia del gas a través de la membrana no tiene por qué ser máximo.

El objetivo del presente trabajo de investigación es estudiar todas las variables que afectan al rendimiento en el proceso de transferencia de una especie gaseosa a través de una membrana insertada en un módulo acoplado a un sistema de flujo continuo. Se hará hincapié en la influencia de la diferencia en las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, así como en otras variables menos explicadas en la bibliografía. El objetivo fundamental se centra en conseguir las condiciones experimentales óptimas en las que el rendimiento de transferencia a través de la membrana sea máximo con la obtención de ecuaciones empíricas que describan dicho proceso.

En dichas condiciones experimentales óptimas de máximo rendimiento, se estudiarán otras técnicas FIA como son las de FLUJO INVERSO

³¹ [52] W. E. Van der Linden. Membrane separation in flow injection analysis. Gass diffusion. *Anal. Chim. Acta* 151 (1983) 359.

³² [53] W. E. Van der Linden. The optimum composition of pH-sensitive acceptor solutions for membrane separation in flow injection. *Anal. Chim. Acta* 273 (1983) 277.

[54] S. D. Kolev, W. E. Van der Linden. Laminar dispersion in parallel plate sections of flow systems used in analytical chemistry and chemical engineering. *Anal. Chim. Acta* 247 (1991) 51.

[55] S. D. Kolev, W. E. Van der Linden. Limits of mass transfer in parallel-plate dialysers. *Anal. Chim. Acta* 256 (1992) 256.

[56] S. D. Kolev, W. E. Van der Linden. Influence of the main parameters of a parallel-plate dialyser under laminar flow conditions. *Anal. Chim. Acta* 257 (1992) 317.

³³ [57] S. D. Kolev, W. E. Van der Linden. Analysis of transient laminar mass transfer in a parallel-plate dialyser. *Anal. Chim. Acta* 257 (1992) 331.

y PARADA DE FLUJO con el fin de aportar al proceso las ventajas inherentes a cada una de ellas.

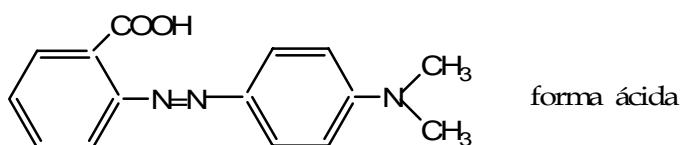
Se ha escogido como analito para dichos estudios al ión NH_4^+ , que se transforma en NH_3 gaseoso en medio básico y se recoge sobre una disolución aceptora que contiene un indicador ácido-base (ROJO DE METILO) cuya forma ácida se monitoriza espectrofotométricamente.

Con el fin de incrementar la sensibilidad del método se estudia también la recogida del gas NH_3 generado sobre una disolución aceptora que contiene EOSINA AZULADA, indicador ácido-base, monitorizando el incremento de la forma básica de manera fluorimétrica por tener comportamiento fluorescente.

Los esquemas de flujo diseñados para las diferentes técnicas y modalidades se aplican a la determinación de NH_4^+ en aguas potables (nivel paramétrico actual $0,50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE AMONIO EN UN SISTEMA GD-FIA. INDICADOR ROJO DE METILO

El ROJO DE METILO, $C_{15}H_{15}N_3O_2$, ácido (4' dimetilaminoazobenceno-2-carboxílico):



es un indicador ácido-base tradicional en química, de $pK_a = 5,06$, con una zona de transición en medio acuoso de $pH = 4,4 - 6,2$, poco soluble en agua, más soluble en medio etanólico o en medio ácido.

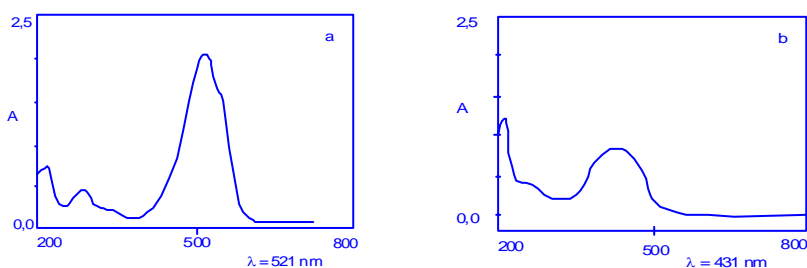


Figura 237. Espectros del Rojo de Metilo. a) Forma ácida, ROJA, $pH = 2,7$. b) Forma básica, AMARILLA, $pH = 10,2$. (Ambos espectros corresponden a disoluciones de la misma concentración).

Al tener diferente color la forma ácida (ROJO) y la forma básica (AMARILLO), su comportamiento espectrofotométrico es diferente (Figura 237). La forma ácida presenta un espectro con un máximo de absorbancia a 521 nm mientras que la forma básica lo hace a 431 nm y con un menor coeficiente de absorptividad molar. Estas características espectrofotométricas lo convierten en un indicador adecuado para ser utilizado en el proceso GD-FIA para la determinación de amonio que se pretende poner a punto.

ESQUEMA DE FLUJO BÁSICO

En la Figura 238 se muestra el esquema de flujo empleado para las diferentes técnicas y modalidades que pasamos a describir.

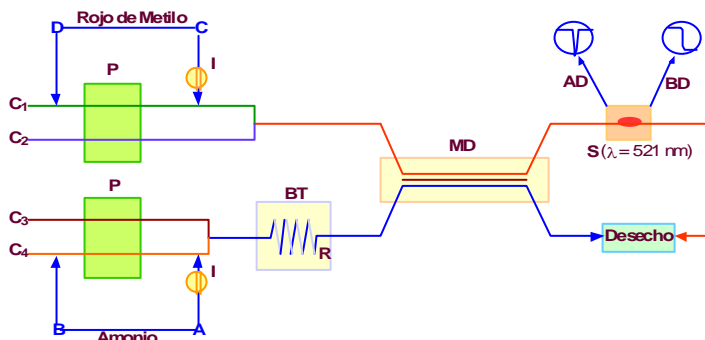


Figura 238. Sistema de flujo. C₁: Agua bidestilada o rojo de metilo; C₂: HCl; C₃: NaOH; C₄: Agua bidestilada o disolución de NH₄⁺; P: Bomba peristáltica; I: Válvula de inyección; BT: Baño termostático; R: reactor; MD: Módulo de difusión; S: espectrofotómetro; AD: Técnica clásica; BD: Técnica de flujo inverso.

Dos bombas peristálticas impulsan cuatro disoluciones que fluyen por cuatro canales, C₁, C₂, C₃ y C₄ con velocidades de flujo que denominaremos F_A, velocidad de flujo de la disolución aceptora (en el punto de confluencia entre C₁ y C₂) y F_D, velocidad de flujo de la disolución dadora (en el punto de confluencia entre C₃ y C₄). Siempre se fija F_{C₁} = F_{C₂} y F_{C₃} = F_{C₄} y experimentalmente se estudia la relación F_A/F_D o viceversa.

Por el canal C₁ fluye una disolución acuosa de ROJO de METILO, en la técnica FIA modalidad clásica (AD), en la que por el canal C₄ fluye agua bidestilada como portador sobre la que se inyecta un volumen V_i de disolución patrón o muestra que contiene NH₄⁺. La misma configuración se mantiene para la modalidad de parada de flujo.

En la modalidad FIA de flujo inverso por el canal C₁ fluye la disolución acuosa de Rojo de Metilo y por C₄ la disolución, en continuo, patrón o muestra de NH₄⁺ (BD).

En todas las modalidades por C₂ fluye una disolución acuosa de HCl que en la confluencia con C₁ ajusta el pH al valor adecuado para la máxima sensibilidad en la medida analítica final (en este punto de confluencia predomina la forma ácida, ROJA, del indicador).

En todos los casos por C₃ fluye una disolución acuosa fuertemente básica que en la confluencia con C₄ transforma NH₄⁺ en NH₃ gaseoso.

La disolución mezcla entre C₃ y C₄ se hace fluir a través de un reactor R, de longitud adecuada, que se encuentra introducido en un baño termostataado. Cuando la disolución o el *bolo inyectado* de NH₄⁺ transformado en NH₃ que atraviesa el reactor se calienta, disminuye la solubilidad del gas en la corriente dadora (ley de Henry) facilitando el transporte a través de la membrana de difusión gaseosa hacia la disolución aceptora, que se encuentra a temperatura ambiente.

La disolución aceptora y la dadora entran en el módulo que contiene la membrana a través de los semicanales separados por la misma, donde tiene lugar el proceso de transferencia gaseosa.

Cuando el NH₃ gaseoso pasa a través de la membrana hasta la disolución aceptora, se hidroliza y modifica el pH de la misma, aumentando su valor, por lo que disminuye, en la zona de la disolución aceptora donde ocurre la transferencia del gas, la concentración de la forma ácida del indicador generando una señal analítica, fiagrama, cuando dicha zona alcanza la célula de flujo del espectrofotómetro que se encuentra programado a una longitud de onda de 521 nm. En esta modalidad de flujo la línea base del fiagrama corresponde a la absorbancia del Rojo de Metilo a 521 nm, forma ácida, en la disolución aceptora al pH ligeramente ácido de la mezcla C₁+C₂. El descenso negativo, ΔA , en el máximo del fiagrama es proporcional, en algún margen de concentración, a la cantidad de NH₄⁺ (concentración) en la disolución patrón o muestra inyectada.

Antes de seguir comentando aspectos generales de las otras técnicas de flujo nos gustaría aclarar la necesidad de los cuatro canales en el esquema propuesto.

La disolución de indicador, Rojo de Metilo que fluye por C_1 podría ajustarse inicialmente con el pH óptimo preparando previamente una disolución acuosa a la que se añade la cantidad adecuada de HCl. Pero esta disolución genera con el tiempo partículas sólidas que se depositan fundamentalmente en la membrana generando distorsión en la señal analítica final. Por esta razón se ha preferido trabajar con dos canales, para obtener la mezcla óptima "in situ", con lo que la disolución acuosa de indicador es estable durante semanas y por el canal C_2 se hace fluir la disolución de HCl en la concentración adecuada.

En cuanto a los canales C_3 y C_4 se refiere, responsables de la mezcla entre el NH_4^+ inyectado y la disolución de NaOH, podrían ser sustituidos por un solo canal en el que la disolución de NaOH actuara de portador, pero en ese caso para una mezcla adecuada sería preciso trabajar con un reactor excesivamente largo o bien volúmenes pequeños de patrón o muestra. Por esta razón se ha preferido trabajar con dos canales, que al confluir provocan una mezcla homogénea.

Cuando se utilice el esquema de flujo para aplicar la técnica o modalidad de *flujo inverso*, la disolución de NH_4^+ no se inyecta, se hace fluir en continuo, con lo que la forma del diagrama se modifica, en el sentido de que inicialmente la señal analítica desciende hasta alcanzar un valor que permanece constante mientras siga fluyendo la disolución de NH_4^+ .

En la modalidad de *parada de flujo* se para la bomba peristáltica que impulsa la disolución de indicador y HCl, pudiendo entonces pasar en continuo la disolución de NH_4^+ y NaOH o bien inyectar un volumen de disolución de NH_4^+ y parar el *bolo* justo cuando llegue a la membrana de difusión.

2.1. TÉCNICA FIA CLÁSICA

Con esta denominación se identifica la técnica de flujo en la que el indicador ácido-base se hace fluir en continuo y la disolución de NH_4^+ se inyecta sobre el portador de H_2O (ver Figura 238).

2.1.1. OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES

Con el fin de optimizar el procedimiento de determinación, se estudió la influencia de las diferentes variables químicas, geométricas e hidrodinámicas que intervienen en el proceso. Los resultados obtenidos para cada una de ellas se resumen en los apartados siguientes.

Variables químicas

Influencia de la concentración de HCl

En el esquema de flujo de la Figura 238, al no poder trabajar con un solo canal por el que fluya la disolución de Rojo de Metilo en medio ligeramente ácido, por el problema de la aparición con el tiempo de pequeñas partículas sólidas que obstruyen los tubos de silicona y que finalmente se adhieren a la superficie de la membrana, para estudiar la influencia del pH de la disolución aceptora sobre la señal analítica, se trabajó en las siguientes condiciones:

Por el canal C_1 se hace fluir una disolución de Rojo de Metilo de concentración constante $8,0 \times 10^{-5}$ M con una velocidad de flujo de $0,083$ mL. min^{-1} . Por el canal C_2 fluye una disolución de ácido HCl de concentración variable entre $1,4 \times 10^{-5}$ y $15,6 \times 10^{-5}$ M con una velocidad de flujo idéntica a la del canal C_1 , $0,083$ mL. min^{-1} . Ambas disoluciones confluyen y se mueven hacia la membrana con una velocidad de flujo, F_A (disolución aceptora) de $0,166$ mL. min^{-1} .

Por el canal C_3 fluye una disolución de NaOH $0,012$ M con una velocidad de flujo de $0,245$ mL. min^{-1} . Por el canal C_4 fluye H_2O bidestilada como portador sobre la que se inyecta un volumen de 408 μL de disolución de NH_4^+ con una velocidad de flujo de $0,245$ mL. min^{-1} , igual a la del canal C_3 . Las disoluciones que fluyen por los canales C_3 y C_4 se mezclan en una T de metacrilato, moviéndose desde ese punto con una velocidad de flujo, F_D (disolución dadora) de $0,490$ mL. min^{-1} .

Se han realizado cuatro series de experiencias con disoluciones patrón de NH_4^+ de 0,5 mg.L⁻¹, 1,0 mg.L⁻¹, 2,0 mg.L⁻¹ y 3,0 mg.L⁻¹.

Los valores de ΔA , para las diferentes concentraciones de HCl y distintas concentraciones de NH_4^+ se muestran en la Tabla 89 y se representan en la Figura 239.

Tabla 89. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica. Influencia de la concentración de HCl de la disolución que fluye por C₂ para diferentes concentraciones de NH_4^+ . [Rojo de Metilo] = $8,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; [NaOH] = 0,012 M; $F_A = 0,166 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_{C_1} = F_{C_2} = 0,83 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_{C_3} = F_{C_4} = 0,245 \text{ mL.min}^{-1}$. $V_i = 408 \mu\text{L}$; $F_D = 0,490 \text{ mL.min}^{-1}$.

[HCl]	A, 521 nm			
	NH_4^+ , mg.L ⁻¹			
$\times 10^{-5} \text{ M}$	0,5	1,0	2,0	3,0
1,4	0,041	0,065	0,122	0,157
1,9	0,047	0,071	0,134	0,164
2,4	0,049	0,077	0,147	0,185
3,6	0,077	0,122	0,229	0,298
4,8	0,090	0,156	0,284	0,378
6,0	0,095	0,174	0,334	0,458
7,2	0,091	0,174	0,368	0,494
9,6	0,084	0,160	0,377	0,528
15	0,070	0,145	0,373	0,524

Puede comprobarse como para las concentraciones más bajas de HCl la señal analítica, ΔA a 521 nm, es más pequeña por ser menor a esos pH, a la derecha del pKa, la concentración de la forma ácida del indicador, siendo su variación más pequeña al recoger La disolución aceptora el NH_3 difundido a través de la membrana.

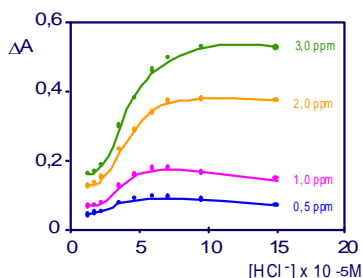


Figura 239. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica. Condiciones experimentales: las de la Tabla 89. la concentración de amonio empleada en cada caso se indica en la curva correspondiente

A medida que se incrementa la concentración de HCl, aumenta la concentración de la forma ácida del indicador (la línea base tiene mayor valor de absorbancia) por lo que el NH_3 que difunde a través de la membrana, que es constante para cada concentración de NH_4^+ inyectada genera sobre el *bolo de aceptor* un mayor descenso en la señal de la línea base.

Para concentraciones de NH_4^+ de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ y $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$, cuando la concentración de HCl alcanza valores de $6,0 \times 10^{-5}$ se obtiene el máximo valor de ΔA , disminuyendo ligeramente para concentraciones superiores por empezar a predominar la forma ácida del indicador.

Para concentraciones de superiores, $2,0$ y $3,0 \text{ mg.L}^{-1}$, la constancia en el valor de ΔA se alcanza a valores de concentración más altos, $9,6 \times 10^{-5} \text{ M}$, por generarse mayor concentración de NH_3 .

Desde un punto de vista práctico se escoge como concentración de HCl óptima $9,6 \times 10^{-5} \text{ M}$.

En la Figura 240, a modo de ejemplo, se muestra un fiagrama obtenido en una de las experiencias al inyectar por duplicado el patrón NH_4^+ . El valor de absorbancia de la línea base depende de la concentración de HCl y el descenso en el valor de absorbancia también del patrón de NH_4^+ inyectado.

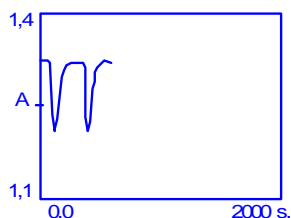


Figura 240. Determinación de amonio mediante la técnica FIA clásica. Fiagrama típico

La forma del fiagrama muestra una amplia cola indicativa de un amplio proceso de dispersión. La anchura en la base del fiagrama, como iremos comentando, depende no solo de la dispersión, sino también y fundamentalmente de los valores de F_A , F_D y V_i .

Influencia de la concentración de Rojo de Metilo

En el esquema de flujo de la Figura 238 se fija en todos los canales una velocidad de flujo de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ por lo que la velocidad de flujo de la disolución *aceptora*, F_A , es de $0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ al igual que la de la disolución *dadora*, $F_D = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Por el canal C_2 se hace fluir una disolución de HCl de concentración $9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ de manera que el pH medido a la salida del punto de confluencia con la disolución de Rojo de Metilo (RM) es de 4,30 (ligeramente a la izquierda del pKa).

Por el canal C_3 fluye agua bidestilada como portador sobre la que se inyectan $163 \mu\text{L}$ de disoluciones patrón de NH_4^+ de 10 y 3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración.

Por el canal C_4 fluye una disolución de NaOH $0,012 \text{ M}$.

Por el canal C_1 se hacen fluir disoluciones de indicador, Rojo de Metilo, en concentración variable, desde $1,7 \times 10^{-5}$ hasta $16,6 \times 10^{-5} \text{ M}$.

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 90, y se representan en la Figura 241, frente a la concentración de indicador.

Recordemos que al mantenerse constante las condiciones que afectan al proceso de difusión de NH_3 a través de la membrana, la cantidad de dicha especie recogida en la disolución *aceptora* es constante para cada una de las dos experiencias.

El incremento de pH en el *boloceptor* en cada experiencia es constante, por lo que la forma ácida del indicador actúa como reactivo limitante, razón por la que al aumentar la concentración de Rojo de Metilo se incrementa la señal analítica, ΔA , alcanzando un valor constante a partir de $6,6 \times 10^{-5} \text{ M}$ para la experiencia en que se inyecta la disolución patrón de NH_4^+ de 3,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y de $10,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ cuando el NH_4^+ es 10,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Tabla 90. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica. Influencia de la concentración de Rojo de Metilo para diferentes concentraciones de NH_4^+ .

[RM] $\times 10^{-5}$, M	A, 521 nm	
	$[\text{NH}_4^+]$ 3 mg.L ⁻¹	$[\text{NH}_4^+]$ 10 mg.L ⁻¹
1,6	0,016	0,049
3,4	0,075	0,171
4,8	0,114	0,255
6,6	0,142	0,356
8,0	0,142	0,413
10,0	0,146	0,462
12,8	0,142	0,464
16,6	0,144	0,464

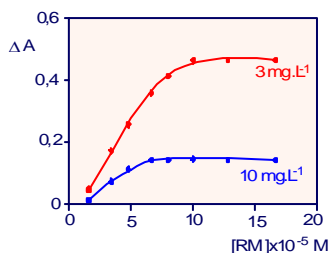


Figura 241. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica. Influencia de la concentración de Rojo de Metilo para diferentes concentraciones de NH_4^+ . $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$; $F_A = 0,40 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_{C1} = F_{C2} = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_{C3} = F_{C4} = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$. $V_i = 163 \mu\text{L}$; $F_D = 0,40 \text{ mL.min}^{-1}$.

El hecho de que la forma ácida del indicador se encuentre más disociada a bajas concentraciones explica el menor ΔA .

Desde un punto de vista práctico se adopta como concentración óptima de Rojo de Metilo $10,0 \times 10^{-5} \text{ M}$ para disoluciones de NH_4^+ inyectadas de hasta 10 mg.L^{-1} de concentración.

La forma de los diagramas es similar a la comentada en el apartado anterior, presentando la línea base un valor de absorbancia variable y creciente con la concentración de indicador.

Influencia de la concentración de NaOH

La disolución de NaOH que fluye por el canal C_3 , al mezclarse en el punto de confluencia con el *bolo de* NH_4^+ inyectado, genera a través de una reacción ácido-base la transformación de NH_4^+ en la especie gaseosa NH_3 que es la que se difunde a través de la membrana hasta la disolución aceptora.

Para conocer la concentración óptima de NaOH para que la transformación sea máxima, en el sistema de flujo de la Figura 238 se fijan las mismas variables químicas e hidrodinámicas del estudio anterior (influencia de la concentración de Rojo de Metilo) con la concentración de indicador en $10,0 \times 10^{-5}$ M.

Se inyectan 163 μ L de disoluciones patrón de NH_4^+ de 3 y 10 mg.L^{-1} de concentración y se modifica la concentración en NaOH de la disolución que fluye por C_3 desde 0,003 M hasta 0,15 M.

Los valores de ΔA obtenidos para las dos series de experiencias aparecen en la Tabla 91 y se representan frente a la concentración de hidróxido sódico en la Figura 242.

Tabla 91. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica. Influencia de la concentración de NaOH para diferentes concentraciones de NH_4^+ .

[NaOH] M	ΔA , 521 nm	
	[NH_4^+] 3 mg.L^{-1}	[NH_4^+] 10 mg.L^{-1}
0,003	0,104	0,391
0,006	0,132	0,450
0,012	0,139	0,459
0,030	0,138	0,46
0,060	0,131	0,451
0,090	0,115	0,422
0,130	0,081	0,334
0,150	0,068	0,285

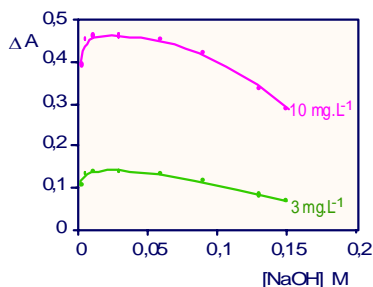


Figura 242. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica. Influencia de la concentración de NaOH para diferentes concentraciones de NH_4^+ que se indican en la gráfica correspondiente. $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{RM}] = 10,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $F_A = 0,40 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_{C1} = F_{C2} = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_{C3} = F_{C4} = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$. $V_i = 163 \mu\text{L}$; $F_D = 0,40 \text{ mL.min}^{-1}$.

Puede comprobarse cómo al aumentar la concentración de NaOH se incrementa el valor de ΔA por haberse generado mayor cantidad de amoniaco en la disolución dadora, alcanzándose un valor prácticamente constante en ambas experiencias desde $[\text{NaOH}]$ 0,006 M. y hasta 0,060 M. El hecho de que para concentraciones superiores de NaOH la señal analítica disminuya se debe

a que aumenta la fuerza iónica de la disolución dadora disminuyendo la presión de vapor de la disolución y aumentando la solubilidad de NH_3 gaseoso en dicha disolución, haciendo que el rendimiento de transferencia en la membrana disminuya. Como concentración óptima de NaOH se escoge la de 0,012M.

Influencia de la temperatura

Las variables químicas estudiadas hasta ahora son las responsables de controlar las condiciones óptimas en las que se genera mayor cantidad de NH_3 gaseoso en la disolución dadora y las condiciones óptimas en las que, tras atravesar el analito gaseoso la membrana de difusión, modifica la forma ácida del indicador generando un descenso de absorbancia a 521 nm, de mayor magnitud. Las variables químicas que controlan esta reacción ácido-base son la concentración del indicador en la disolución aceptora así como su pH.

Las variables responsables del RENDIMIENTO del PROCESO de DIFUSIÓN fundamentalmente son la diferencia de temperatura entre la disolución dadora y la aceptora, así como la relación entre las velocidades de flujo de ambas disoluciones (F_D y F_A). La naturaleza y longitud de la membrana de difusión también afecta al proceso de transferencia del gas, pero al trabajar con un módulo prefabricado y membranas de la misma naturaleza, estas dos variables no han podido ser estudiadas.

Desde un punto de vista teórico, el mayor rendimiento en el proceso de transferencia del gas se debe de alcanzar cuanto mayor sea la diferencia de temperaturas entre la disolución dadora y la aceptora. Cuanto mayor sea la temperatura de la disolución dadora menor será la solubilidad de NH_3 gaseoso en ella y cuanto más baja sea la temperatura de la disolución aceptora mayor será la solubilidad de la especie gaseosa, lo que favorecerá el proceso de difusión.

Para conseguir esta diferencia de temperaturas existen dos maneras diferentes de operar utilizando el esquema de flujo de la Figura 238:

a) Colocar tras el punto de confluencia entre el portador y la disolución de NaOH, un reactor R de longitud adecuada que va introducido en un baño de agua cuya temperatura pueda ser controlada mediante la programación del termostato (Figura 243 a).

b) Termostatar la parte inferior del módulo de difusión gaseosa, introduciendo en el baño sólo dicha parte (Figura 243 b).

En ambos esquemas de flujo, manteniendo siempre la disolución aceptora a temperatura ambiente (22-25 °C) se estudia el efecto de la temperatura de termostatación del reactor R o del módulo M (parte inferior) sobre la señal analítica y por lo tanto sobre el rendimiento del proceso de difusión. Se estudia la técnica clásica de inyectar un volumen de disolución patrón de NH_4^+ o bien la técnica de *flujo inverso* de pasar en continuo la disolución patrón de NH_4^+ por el canal del portador.

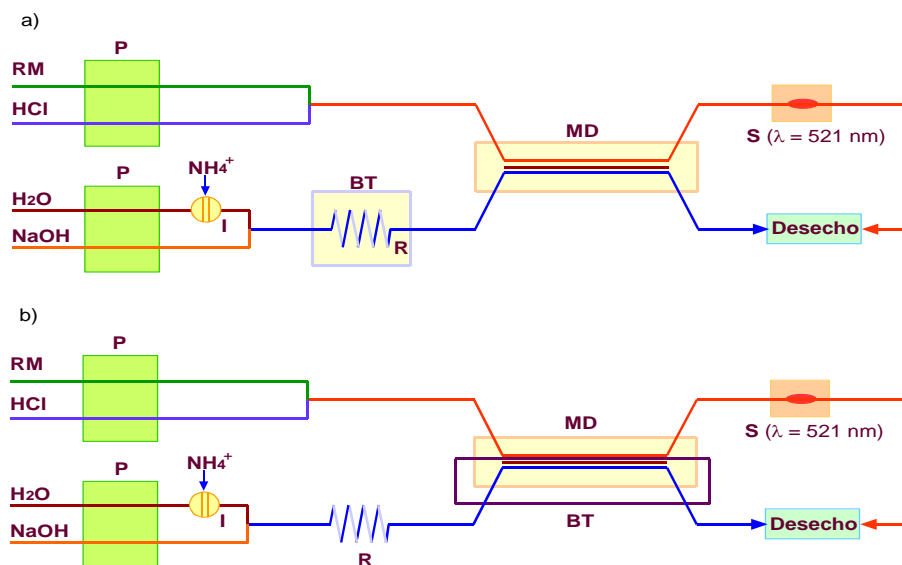


Figura 243. Montajes de flujo para estudiar la influencia de la temperatura de la disolución dadora y aceptora sobre el proceso de difusión gaseosa. a) Inserción de un reactor termostatado; b) Termostatación de la parte inferior del módulo. RM: Rojo de Metilo, P: Bomba peristáltica, I: Válvula de inyección; R: Reactor, MD: Módulo de difusión gaseosa, BT: Baño termostatado, S: espectrofotómetro.

Termostatación del reactor

En el esquema de flujo de la Figura 243-a, se fijan las siguientes condiciones experimentales:

$[RM] = 9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[HCl] = 9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $F_A = 0,40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, $[NaOH] = 0,012 \text{ M}$; $[NH_4^+] = 1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; $V_i = 408 \text{ } \mu\text{L}$; $F_D = 0,80 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, T de termostatación = $60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Y se modifica la longitud del reactor, R, entre 1 y 5 m.

Cuanto mayor es la longitud del reactor R, mayor es el tiempo de contacto entre la disolución de NH_4^+ , inyectada o pasada en continuo y el baño termostataado por lo que la temperatura de la disolución dadora aumentará con la longitud del reactor.

En la Tabla 92 se muestran los valores de ΔA , a 521 nm, obtenidos para cada longitud de reactor, junto con los tiempos de contacto (t_c), calculados teóricamente, durante los cuales el *bolo inyectado* se calienta al atravesar el reactor termostataado. En dicha tabla se indican también los tiempos de aparición (t_a) del fiagrama para cada experiencia.

Tabla 92. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica con inyección de $408 \text{ } \mu\text{L}$ de NH_4^+ ($1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) y termostatación del reactor R. Influencia de la longitud del reactor sobre el valor de ΔA .

R cm	ΔA 521 nm	t_c s	t_a s
100	0,065	15	98
200	0,113	19	112
300	0,152	44	128
400	0,158	59	143
500	0,161	74	158

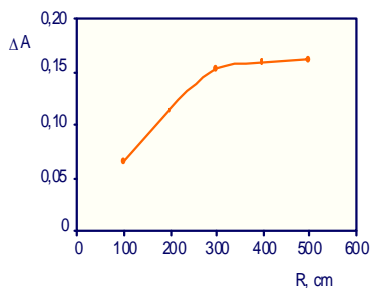


Figura 244. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica con inyección de $408 \text{ } \mu\text{L}$ de NH_4^+ ($1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) y termostatación del reactor R. Influencia de la longitud del reactor sobre el valor de ΔA . $[HCl] = 9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[NaOH] = 0,012 \text{ M}$; $F_A = 0,40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $V_i = 408 \text{ } \mu\text{L}$; $F_D = 0,40 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $T = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.

En todas las experiencias, el tiempo que tarda en pasar el *bolo* de NH_4^+ calentado a través de los 7,5 cm de membrana es de aproximadamente 70 s, si bien cuanto mayor sea la longitud del reactor mayor será la dispersión que sufre, por lo que este tiempo se puede incrementar, pero ligeramente.

El tiempo de paso ha sido calculado teóricamente teniendo en cuenta el volumen inyectado, el valor de F_D ($0,80 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) y el volumen de la cámara interior del módulo de difusión, $40 \mu\text{L}$. Este último valor fue deducido experimentalmente trabajando en el esquema de flujo con CARMOISINA (colorante) con el mismo valor de velocidad de flujo y midiendo el tiempo de permanencia en el módulo.

Los valores de ΔA (valores medios de tres inyecciones) obtenidos se han representado frente a la longitud del reactor R, en la Figura 244.

Puede comprobarse como a medida que aumenta la longitud del reactor lo hace el valor de ΔA por haberse transferido mayor cantidad de NH_3 gaseoso sobre la disolución aceptora. Cuanto mayor es la longitud del reactor mayor es el incremento de temperatura que alcanza la muestra inyectada, con lo que menor es la solubilidad del NH_3 gaseoso generado, por lo que se transfiere en mayor medida.

A partir de una longitud de 300 cm, el ΔA tiende a un valor constante por hacerlo la cantidad de NH_3 transferido. Este valor constante sería el que corresponde al NH_3 transferido cuando la disolución dadora alcanza los 60°C y la disolución aceptora tiene 22°C .

Desde un punto de vista práctico se toma la longitud de 300 cm como óptima, pues longitudes superiores incrementan muy ligeramente el rendimiento en el proceso de difusión gaseosa y por el contrario elevan el tiempo de aparición del fiagrama, considerablemente. En todas las experiencias, el valor de Δt , anchura de la base del fiagrama es constante, 2500 s pues manteniendo V_i constante, F_D constante, el tiempo de aparición prácticamente depende de F_A , pues la dispersión del *bolo* en función de la longitud de R (observar el fiagrama de la Figura 240) tiene lugar fundamentalmente en la zona de la cola.

Manteniendo constante la longitud del reactor en 300 cm y el resto de las variables en los valores indicados al principio, se inyectan 408 μL de disolución patrón de NH_4^+ (por triplicado) y se varía la temperatura de termostatación desde 25 $^\circ\text{C}$ hasta 90 $^\circ\text{C}$.

Los valores de ΔA obtenidos para cada temperatura se muestran en la Tabla 93 y se representan en la Figura 245. Puede observarse como aumentan con la temperatura de termostatación de manera prácticamente lineal con un coeficiente de regresión de 0,978. Si se obtiene la ecuación de la línea recta a la que se ajustan los valores hasta 65 $^\circ\text{C}$, esta muestra un coeficiente de regresión lineal de 0,9904, para un nivel de confianza del 95%. Los valores por encima de 65 $^\circ\text{C}$ se desvían de la linealidad tendiendo a un valor de absorbancia constante.

Tabla 93. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica con inyección de 408 μL de NH_4^+ ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y termostatación del reactor $R = 300 \text{ cm}$ a diferentes temperaturas.

T, $^\circ\text{C}$	ΔA , 521 nm
25	0,103
35	0,117
40	0,120
50	0,139
55	0,149
60	0,154
65	0,160
70	0,163
80	0,173
90	0,182

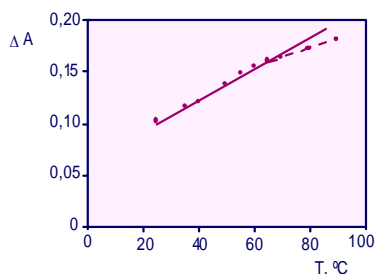


Figura 245. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica con inyección de 408 μL de NH_4^+ ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y termostatación del reactor $R = 300 \text{ cm}$ a diferentes temperaturas. $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$; $F_A = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $V_i = 408 \mu\text{L}$; $F_D = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Ecuación de línea recta, hasta 65 $^\circ\text{C}$:

$$\Delta A = (0,067 \pm 0,004) \times (1,4 \pm 0,1) \times 10^{-3} [T], \text{ } ^\circ\text{C}$$

Una experiencia similar realizada con $F_D = 1,572 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y utilizando un reactor, R, de 650 cm, manteniendo el resto de las variables en los valores mencionados, conduce a resultados similares en cuanto a la influencia de la temperatura se refiere, sobre el rendimiento en el proceso de difusión gaseosa a través de la membrana.

Los valores de ΔA obtenidos para las diferentes experiencias, se indica en la Tabla 94 y se representan frente a la temperatura en la Figura 246.

Tabla 94. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FIA clásica con inyección de $408 \mu\text{L}$ de NH_4^+ ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Termostatación del reactor $R = 650 \text{ cm}$ a diferentes temperaturas.

T, °C	ΔA , 521 nm
25	0,133
35	0,160
50	0,194
55	0,205
60	0,224
65	0,238
70	0,242
80	0,265
90	0,284

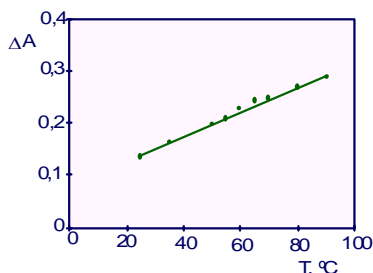


Figura 246. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Técnica FI clásica con inyección de $408 \mu\text{L}$ de NH_4^+ ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Termostatación del reactor $R = 650 \text{ cm}$ a diferentes temperaturas. $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$; $F_A = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $V_i = 408 \mu\text{L}$; $F_D = 1,572 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Para hacer el estudio comparativo con la experiencia anterior, al ser el valor de F_D más elevado, es necesario introducir un reactor de 650 cm para que el tiempo de contacto entre el *bolo* y el baño termostatado, sea similar (48-49 s).

El resultado que se obtiene cualitativamente es similar: a medida que aumenta la temperatura de termostatación, aumenta la diferencia entre las temperaturas de las disoluciones dadora y aceptora incrementándose el rendimiento en el proceso de difusión.

Los valores de ΔA obtenidos son mayores en esta segunda experiencia, lo que sólo puede atribuirse al hecho de que la relación de caudales F_D/F_A es mayor. Esto puede favorecer el proceso de difusión gaseosa a través de la membrana, sin despreciar que en este caso al ser el tiempo de paso del *bolo* por la parte inferior de la membrana, menor (35 s), el NH_3 difundido es recogido por un *bolo aceptor* menor de 233 μL , existiendo un proceso de preconcentración.

Los valores de ΔA , en esta experiencia, hasta los 65 °C se ajustan frente a la temperatura a una línea recta de ecuación:

$$\Delta A = (0,067 \pm 0,005) + (2,6 \pm 0,1) \times 10^{-3} [T], \text{ } ^\circ\text{C}$$

con una pendiente superior a la experiencia anterior en la que la relación F_D/F_A era menor. El coeficiente de regresión lineal es de 0,9983 para un nivel de confianza del 95%.

En esta segunda experiencia el tiempo de aparición, t_a , es menor, 88 s así como la anchura en la base del diagrama, Δt , 160 s.

Comparando las ecuaciones de ambas experiencias se deduce que, si bien la relación entre el rendimiento de difusión y la temperatura (hasta 65 °C), es lineal, la pendiente es mayor cuanto más alta es la relación F_D/F_A .

El hecho de que la ordenada en el origen sea independiente del valor de F_D/F_A parece indicar que el rendimiento en el proceso de difusión cuando la temperatura de la disolución aceptor y la dadora es la misma, no depende de esta relación.

A la desviación de la linealidad contribuye el hecho de que a altas temperaturas, al aumentar la presión de vapor, la presión ejercida sobre la membrana del lado de la disolución dadora es mucho mayor que sobre el lado de la disolución aceptor, proceso que altera el equilibrio de diálisis y modifica el valor de absorbancia de la línea base por diluirse muy ligeramente el indicador al pasar por los laterales de la membrana gotículas de la disolución dadora. Este proceso altera también la señal analítica, razón por la que la

temperatura máxima de trabajo no debe exceder los 70 °C para minimizar al máximo este fenómeno.

Las dos experiencias antes comentadas, en las condiciones de relación de caudales $F_D/F_A = 2,0$ y $F_D/F_A = 3,9$ se repiten para las mismas condiciones experimentales, pero en vez de inyectar un volumen de disolución patrón NH_4^+ , ésta se pasa en CONTINUO por el canal portador (MODALIDAD DE FLUJO INVERSO) variando la temperatura de termostatación del reactor correspondiente entre 25 °C y 90 °C.

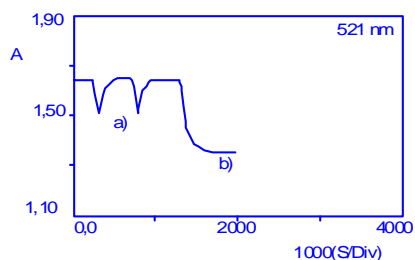


Figura 247. Diagramas obtenidos. a) Al inyectar un volumen de disolución patrón de NH_4^+ . b) Al pasar en continuo la disolución patrón de NH_4^+ por el canal del portador.

El diagrama que se obtiene en estas condiciones, se representa en la Figura 247 para su comparación con el que se obtiene al inyectar un volumen determinado de NH_4^+ . El tiempo de calentamiento de la disolución de NH_4^+ que fluye en continuo es idéntico para cada longitud de reactor termostatado, la diferencia estriba en que trabajando con esta modalidad, se elimina la dispersión del *bolo de aceptor* razón por la que la señal analítica una vez que alcanza el máximo valor se mantiene posteriormente constante.

El hecho de eliminar el proceso de dispersión del *bolo aceptor* hace que la señal analítica, ΔA , sea mayor que la que se obtiene cuando se inyecta la misma disolución.

Los valores de ΔA obtenidos a 521 nm, para las dos experiencias, se indican en la Tabla 95 y se representan gráficamente en la Figura 248.

El resultado cualitativo que se obtiene es similar al encontrado en las experiencias en las que se inyectaba un volumen de disolución patrón de NH_4^+ de (1.0 mg.L⁻¹) 408 μ L. Cuanto mayor es la temperatura de termostatación de los

reactores mayor es la señal analítica lo que indica que al aumentar la diferencia de temperaturas de la disolución aceptora y dadora, aumenta el proceso de difusión de NH_3 a través de la membrana.

Tabla 95. Modalidad de flujo inverso pasando en continuo una disolución patrón de NH_4^+ ($1,0 \text{ mg.L}^{-1}$). Termostatación de los reactores de 300 cm y 650 cm a diferentes temperaturas. Valores de ΔA a 521 nm. $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$.

T, °C	ΔA , 521 nm	
	$F_D/F_A = 3,9$	$F_D/F_A = 2,0$
25	0,198	0,226
35	0,211	0,272
50	0,237	0,326
55	0,251	0,349
60	0,266	0,380
65	0,273	0,405
70	0,277	0,409
80	0,293	0,446
90	0,299	0,460

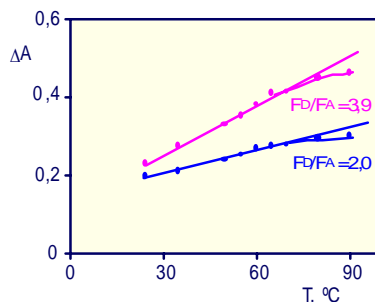


Figura 248. Modalidad de flujo inverso pasando en continuo una disolución patrón de NH_4^+ ($1,0 \text{ mg.L}^{-1}$). Termostatación de los reactores de 300 cm y 650 cm a diferentes temperaturas. Valores de ΔA a 521 nm. $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$.

Desde el punto de vista cuantitativo, los valores de ΔA que se obtienen al pasar en continuo la disolución de NH_4^+ , son mayores que los que se obtienen al inyectar la misma disolución (comparar con valores de las Tablas 93 y 94). Por otra parte los valores de ΔA , indicativos del rendimiento en el proceso de difusión del NH_3 generado, son mayores en la experiencia en la que la relación de caudales es mayor, $F_D/F_A = 3,9$ frente a $F_D/F_A = 2,0$.

Los valores de ΔA , hasta $65 \text{ }^{\circ}\text{C}$, en ambas experiencias se ajustan frente a la temperatura a una relación lineal, siendo las ecuaciones de las líneas rectas:

$$F_D/F_A = 2,0 \quad \Delta A = (0,15 \pm 0,02) + (1,9 \pm 0,3) \times 10^{-3} [T] \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$F_D/F_A = 3,9 \quad \Delta A = (0,12 \pm 0,02) + (4,4 \pm 0,5) \times 10^{-3} [T] \text{ } ^\circ\text{C}$$

con coeficientes de regresión, $R^2 = 0,984$ y $R^2 = 0,993$, respectivamente.

En estas experiencias los valores del tiempo de aparición, t_a , son medidos desde que comienza a fluir la disolución patrón de amonio. En cuanto a Δt , se refiere, no tiene ningún sentido medirlos en este tipo de experiencias, pues para el cálculo de la velocidad de determinación es suficiente contabilizar el tiempo que se necesita para alcanzar la constancia en el valor de ΔA , lo que está muy próximo a t_a .

Termostatación del módulo

La termostatación del módulo que contiene la membrana de difusión gaseosa permite eliminar el reactor previo de termostatación, lo que incrementa la velocidad de determinación y minimiza la dispersión del *bolo de NH₃* en el sistema.

Por otro lado, la longitud de la membrana, 7,5 cm, muy inferior a la longitud de los reactores, hace que el tiempo de contacto de la *muestra* con la membrana, así como el de la disolución dadora, sea muy corto, 3 s para $F_D = 0,80 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y 1,55 para $F_D = 1,572 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, por lo que el incremento de temperatura que alcanza la disolución dadora a priori debe de ser menor que en el caso en el que se termostata un reactor de 300 cm a 650 cm de longitud.

Además la termostatación del módulo tiene el inconveniente, aunque solo se sumerja la parte inferior en el baño termostatado, de que calienta ambos lados de la membrana por difusión del calor a través del metacrilato.

Con el fin de comprobar el resultado final de estas ventajas e inconvenientes y poder obtener información a la hora de ensayar otras técnicas de flujo (parada de flujo de la disolución aceptora), utilizando los esquemas de flujo de la Figura 243, retirando los reactores que van introducidos en el termostato, se introduce el módulo de metacrilato, que contiene la membrana de difusión, en el baño termostatado haciendo que el nivel del agua llegue justo a la parte inferior.

En estas condiciones y manteniendo las variables químicas en los mismos valores que se fijaron al termostatar el reactor, se inyectan 408 μL o se pasa en continuo una disolución patrón de NH_4^+ de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de concentración, variando la temperatura de termostatación del módulo desde $25 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta $90 \text{ }^\circ\text{C}$. En ambos casos se realizan dos series de experiencias fijando F_A en $0,400 \text{ mL.min}^{-1}$ y F_D en $0,800 \text{ mL.min}^{-1}$ y $1,572 \text{ mL.min}^{-1}$ ($F_D/F_A = 2,0$ y $3,9$ respectivamente).

Como el comportamiento obtenido al inyectar la disolución de NH_4^+ o pasarla en continuo cualitativamente es el mismo, sólo se muestran los valores de ΔA obtenidos a las diferentes temperaturas, en el segundo caso. Dichos valores se muestran en la Tabla 96, después de esperar 15-20 minutos, al acabar cada experiencia antes de que se alcance la temperatura programada.

Tabla 96. Modalidad de flujo inverso pasando en continuo una disolución patrón de NH_4^+ ($1,0 \text{ mg.L}^{-1}$) con termostatación del módulo de difusión gaseosa. Valores de ΔA a 521 nm . $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$.

T, $^\circ\text{C}$	$\Delta A, 521 \text{ nm}$	
	$F_D/F_A = 2,0$	$F_D/F_A = 3,9$
25	0,172	0,212
35	0,183	0,248
50	0,215	0,296
55	0,224	0,307
60	0,235	0,321
65	0,241	0,336
70	0,248	0,350
80	0,260	0,369
90	0,269	0,386

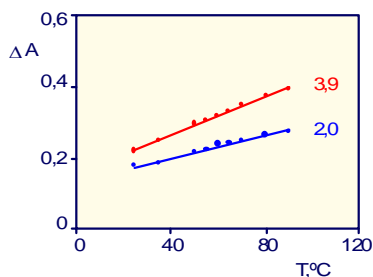


Figura 249. Modalidad de flujo inverso pasando en continuo una disolución patrón de NH_4^+ ($1,0 \text{ mg.L}^{-1}$) con termostatación del módulo de difusión gaseosa. Valores de ΔA a 521 nm . $[\text{HCl}] = 9,5 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$.

Los valores de ΔA obtenidos para las dos experiencias en continuo se representan frente a la temperatura de termostatación en la Figura 249 junto con

los valores obtenidos en la experiencia similar en la que se termostataban los reactores.

Puede comprobarse como, a pesar de todos los inconvenientes ya mencionados, en ambas experiencias, el rendimiento en el proceso de difusión se incrementa con la temperatura, por lo que el valor de ΔA también lo hace en el mismo sentido. No obstante el rendimiento y por lo tanto ΔA es menor en cada experiencia que en la correspondiente con termostatación del reactor y además el incremento en la señal no es lineal con la temperatura por lo que el efecto de dicha variable físicamente es diferente.

Para temperaturas superiores a 70 °C se observa una gran cantidad de *burbujas* de gas que quedan pegadas a la parte inferior de la membrana provocando una peor reproducibilidad en la señal analítica.

El hecho de que aumente el valor de ΔA , (al termostatar el módulo) con la temperatura a pesar del corto tiempo de contacto puede atribuirse también a la mayor transmisión de calor del metacrilato que del teflón.

Si bien desde el punto de vista de la sensibilidad es más adecuado utilizar un reactor termostatado que termostatar el módulo, esta segunda opción, por debajo de 70 °C, puede ser utilizada si se quiere aumentar la velocidad de determinación ($t_a = 30$ s para $F_D/F_A = 2,0$, frente a los 80 s cuando se inyecta el NH_4^+ y $t_a = 22$ s para $F_D/F_A = 3,9$, frente a 72 s para el proceso con inyección).

La termostatación del módulo también es útil si se emplea la técnica de parada de flujo de la disolución aceptora.

Variables geométricas e hidrodinámicas

Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora

Las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, F_D y F_A , son variables clave a la hora de estudiar su influencia sobre el rendimiento en el proceso de difusión de una especie gaseosa a través de una membrana de teflón.

Consultando la bibliografía sobre dicho proceso se puede comprobar como la mayoría de los autores proponen trabajar en condiciones en que $F_A = F_D$ para alcanzar los mejores resultados.

Con el fin de comprobar la influencia de ambas velocidades de flujo, en el esquema de la Figura 243-a se fijan las siguientes condiciones: [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M ; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[NH_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; V_i : 408 μ L; T: 50 °C y se modifican los valores de F_D desde 0,1 mL.min⁻¹ hasta 2,0 mL.min⁻¹ a la vez que F_A se varia desde 0,05 mL.min⁻¹ hasta 1,50 mL.min⁻¹.

Con el fin de que el tiempo que tarde el *bolo de NH₃* en atravesar el reactor termostatado sea constante, 50 s, para mantener la temperatura del mismo constante e independiente del valor de F_D , se modifica la longitud del reactor para cada velocidad de flujo de la disolución dadora (Tabla 97).

Tabla 97. Valores de la longitud del reactor para diferentes valores de F_D . Tiempo de permanencia del "bolo de NH₃" en el termostato, 50 s.

F_D , mL.min ⁻¹	R, cm
0,10	42
0,20	84
0,30	126
0,40	168
0,50	210
0,60	252
0,70	294
0,80	336
0,90	378
1,00	420
1,20	504
1,40	588
1,50	630
1,70	714
2,00	840

En la Tabla 98 se muestran los valores de ΔA obtenidos a 521 nm, en las diferentes experiencias realizadas inyectando siempre por triplicado 408 μL de disolución patrón de NH_4^+ (1,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Existe una línea de separación que divide las experiencias en dos bloques, uno que comprende los resultados obtenidos cuando $F_D/F_A \geq 6$ y otro en los que $F_D/F_A < 6$; pues los resultados experimentales obtenidos indican que ocurren procesos físicos diferentes en ambos bloques. En el bloque de experiencias en el que la relación $F_D/F_A < 6$ la línea base del fiagrama se mantiene constante y sin alteraciones, mientras que en las experiencias en las que la relación $F_D/F_A \geq 6$ la línea base se altera considerablemente debido a que la presión ejercida sobre la parte inferior de la membrana es tan alta que permite el paso de gotículas de la disolución dadora hacia la aceptora, modificando el pH de la misma, pero es un proceso diferente al de la difusión gaseosa del NH_3 . El mismo fenómeno, pero inverso, se observa cuando $F_D/F_A \geq 6$. (Figura 250).

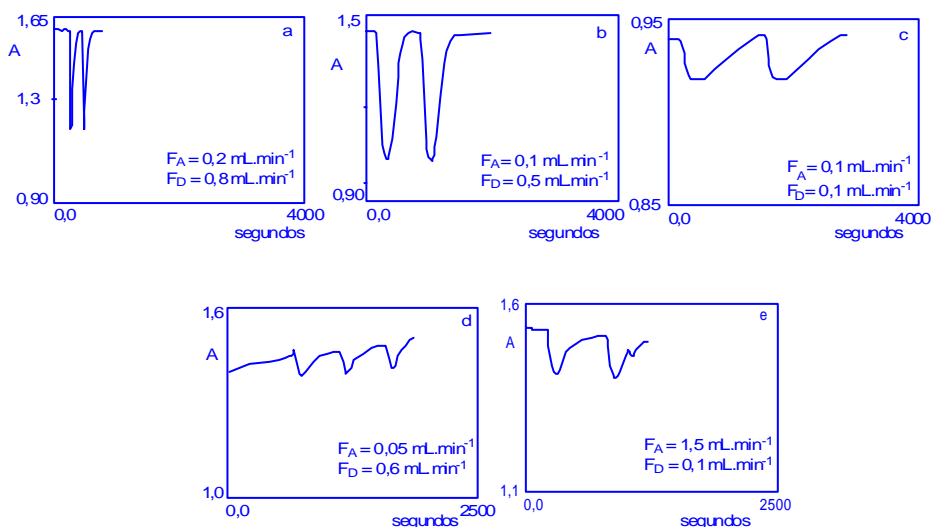


Figura 250. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Fiagramas obtenidos sin alteración de la membrana (a, b y c). Fiagramas obtenidos con alteración de la membrana (d y e).

Tabla 98. Influencia de las velocidades de flujo de la disolución dadora y aceptora, F_D y F_A en la determinación de NH_4^+ en flujo continuo mediante la técnica de inyección clásica. [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[NH_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; V_i : 408 μ L; T: 50 °C.

F_D	F_A , mL.min ⁻¹										
	0,05	0,08	0,10	0,15	0,20	0,30	0,40	0,60	0,80	1,00	1,50
	A, 521 nm (valor medio de tres inyecciones en el sistema)										
0,1	0,012	0,018	0,024	0,037	0,038	0,024	0,017	0,012			
0,2	0,022	0,039	0,055	0,071	0,074	0,047	0,035	0,024	0,020	0,014	
0,3	0,036	0,072	0,087	0,108	0,111	0,073	0,055	0,036	0,028	0,022	0,015
0,4	0,044	0,090	0,111	0,142	0,146	0,098	0,073	0,050	0,037	0,029	0,020
0,5	0,043	0,113	0,144	0,173	0,181	0,122	0,090	0,061	0,045	0,037	0,025
0,6	0,040	0,115	0,158	0,220	0,223	0,147	0,112	0,074	0,055	0,043	0,030
0,7	0,032	0,114	0,179	0,256	0,255	0,170	0,129	0,086	0,065	0,052	0,034
0,8	0,023	0,113	0,185	0,289	0,290	0,197	0,144	0,099	0,074	0,059	0,039
0,9	0,016	0,110	0,186	0,333	0,331	0,224	0,168	0,112	0,083	0,067	0,044
1,0		0,102	0,177	0,332	0,364	0,245	0,182	0,124	0,092	0,073	0,050
1,2		0,071	0,160	0,325	0,373	0,295	0,221	0,149	0,109	0,088	0,059
1,4		0,033	0,131	0,298	0,369	0,343	0,257	0,170	0,129	0,101	0,070
1,5		0,020	0,119	0,283	0,362	0,361	0,275	0,184	0,139	0,113	0,074
1,7			0,096	0,251	0,344	0,371	0,310	0,210	0,157	0,122	0,083
2,0			0,063	0,204	0,325	0,375	0,367	0,245	0,184	0,147	0,098

En las experiencias en que $F_A \neq F_D$ se observa con total claridad, mejor cuando es mayor la diferencia, una transformación de la energía cinética de las disoluciones en ENERGÍA DE PRESIÓN, razón por la cual la membrana de teflón sufre una presión por el lado de la mayor velocidad de flujo, moviéndose constantemente de abajo hacia arriba o al revés, pero sin que exista contacto entre las disoluciones dadora y aceptora.

Cuando $F_D \cong F_A$ no se observa el proceso comentado.

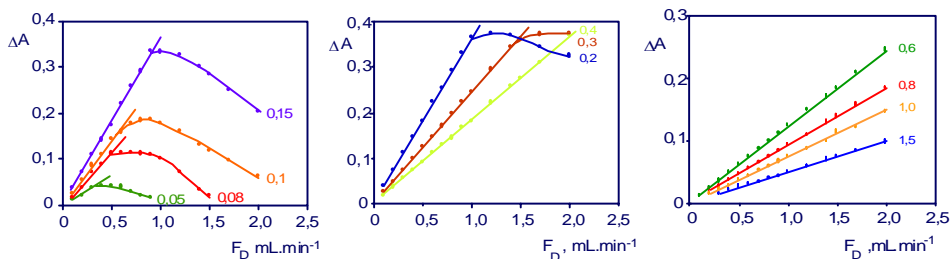


Figura 251. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Variación de ΔA a 521 nm frente a F_D manteniendo constante el valor de F_A . $[RM]: 9,95 \times 10^{-5} M$; $[HCl]: 9,0 \times 10^{-5} M$; $[NaOH]: 0,012 M$; $[NH_4^+]: 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$; $V: 408 \mu\text{L}$; $T: 50^\circ\text{C}$.

Los valores de ΔA a 521 nm, representados frente a la velocidad de flujo de la disolución dadora, F_D (Figura 251) se ajustan para las diferentes condiciones ensayadas, a las siguientes ecuaciones de líneas rectas:

F_A	F_D	F_D/F_A	ECUACIÓN	R^2
0,05	0,3	6,0	$\Delta A = (-0,01 \pm 0,03) + (0,12 \pm 0,14) [F_D]$	0,9912
0,08	0,5	6,3	$\Delta A = (-0,01 \pm 0,01) + (0,24 \pm 0,04) [F_D]$	0,9925
0,10	0,5	5,0	$\Delta A = (-0,005 \pm 0,008) + (0,296 \pm 0,005) [F_D]$	0,9986
0,15	0,8	5,3	$\Delta A = (-0,002 \pm 0,007) + (0,364 \pm 0,002) [F_D]$	0,9998
0,20	0,9	5,0	$\Delta A = (-0,001 \pm 0,004) + (0,364 \pm 0,006) [F_D]$	0,9996
0,30	1,2	4,0	$\Delta A = (-0,001 \pm 0,001) + (0,247 \pm 0,003) [F_D]$	0,9993
0,40	1,4	3,5	$\Delta A = (-0,001 \pm 0,002) + (0,185 \pm 0,003) [F_D]$	0,9996
0,60	2	3,3	$\Delta A = (-0,001 \pm 0,001) + (0,123 \pm 0,001) [F_D]$	0,9998
0,80	2	2,5	$\Delta A = (-0,001 \pm 0,001) + (0,092 \pm 0,001) [F_D]$	0,9998
1,00	2	2,0	$\Delta A = (-0,001 \pm 0,002) + (0,073 \pm 0,002) [F_D]$	0,9988
1,50	2	1,3	$\Delta A = (-0,0004 \pm 0,0007) + (0,0490 \pm 0,0006) [F_D]$	0,9996

Los valores de absorbancia para las experiencias en las que $F_D/F_A \geq 6$ ó $F_A/F_D \geq 6$, donde ocurre el fenómeno anómalo en el que debido a la alta presión ejercida sobre un lado de la membrana hay alteración de la disolución

aceptora o de la disolución dadora, se desvían claramente de la linealidad, por lo que dichos valores no se tienen en cuenta.

Puede observarse como la pendiente de las rectas aumenta inicialmente cuando se mantiene el valor de F_A entre $0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y disminuye posteriormente a medida que los valores de F_A varían desde $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $1,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

De las experiencias en las que el proceso de difusión gaseosa ocurre con absoluta normalidad, se deduce que la relación existente entre la concentración final de NH_3 recogido por la disolución aceptora, *bolo aceptor*, medida por el valor de ΔA , es directamente proporcional al valor de F_D para cada valor de F_A .

La constante de proporcionalidad, pendiente, depende directamente del valor de F_D , para cada valor de F_A , si bien el valor de F_A de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ divide a los resultados en dos bloques distintos; para valores de F_A entre $0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $0,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ la constante de proporcionalidad crece con el valor de F_A , mientras que para valores de F_A superiores a $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, la constante de proporcionalidad (pendiente) disminuye a medida que aumenta F_A .

Parece por lo tanto que la concentración de NH_3 final en el *bolo aceptor*, en función del valor de F_D , depende del valor de F_A de manera diferente si este último vale más o menos de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Los procesos físicos que explican este comportamiento son diferentes en estas dos zonas de F_A separadas por el valor fronterizo de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

La representación de los valores de ΔA a 521 nm frente a los valores de F_A , Figura 252, confirma de alguna manera, los resultados comentados anteriormente. Puede observarse en la Figura como para todos los valores de F_D la dependencia entre ΔA y F_A es diferente si el valor de F_A es menor o mayor del valor de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La representación gráfica de las experiencias en las que F_D es mayor que $1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ es engañosa pues los valores máximos de absorbancia no se obtienen para $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ por estar afectados los valores en los que $F_D/F_A > 6$, por el proceso anómalo sobre la membrana.

Desde un punto de vista práctico se deduce que el valor máximo de ΔA a 521 nm se obtiene, despreciando los valores anómalos, para $F_A = 0,20$ mL.min⁻¹ y $F_D = 1,00$ mL.min⁻¹ o relaciones $F_D/F_A \approx 5,0$.

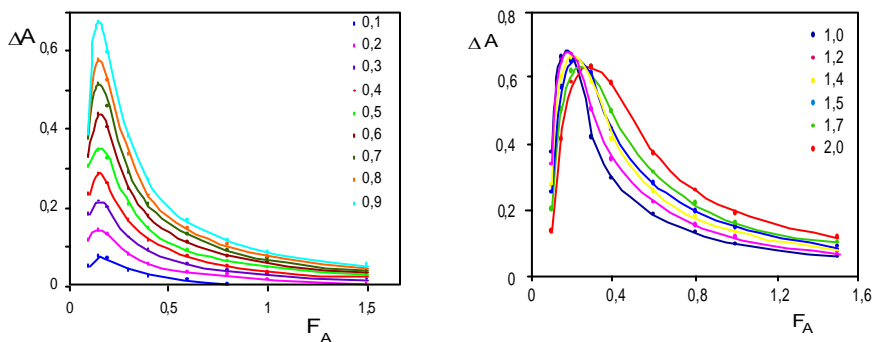


Figura 252. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora sobre la señal analítica. Técnica de flujo clásica. Cada curva en la gráfica representa un valor de F_D . [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[NH_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; V_i : 408 μ L; T: 50 °C.

Del estudio de la dependencia del valor de ΔA a 521 nm de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora se deduce que existe una relación dual, no dependiendo sólo de una de las variables y que esta relación parece además diferente, sea cual sea el valor de F_D , para dos zonas de valores de F_A separadas en el valor de 0,20 mL.min⁻¹

Para intentar dilucidar la dependencia dual ó doble, se representan los valores de ΔA frente a la relación F_D/F_A (Tabla 99, Figura 253).

Tabla 99. Influencia de las velocidades de flujo de la disolución dadora y aceptora en la determinación de NH_4^+ . Valores de ΔA para diferentes valores de F_D/F_A . Técnica de inyección clásica. $[\text{RM}]$: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{HCl}]$: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}]$: $0,012 \text{ M}$; $[\text{NH}_4^+]$: $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$; V_i : $408 \mu\text{L}$; T : 50°C . F_A y F_D : velocidades de flujo en mL.min^{-1} .

$F_A = 0,05$	$F_A = 0,08$	$F_A = 0,10$	$F_A = 0,15$	$F_A = 0,20$	$F_A = 0,30$	$F_A = 0,40$	$F_A = 0,60$	$F_A = 0,80$	$F_A = 1,00$	$F_A = 1,50$
$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$	$\frac{F_D}{F_A}$
ΔA	ΔA	ΔA	ΔA	ΔA	ΔA	ΔA	ΔA	ΔA	ΔA	ΔA
2,0	1,3	1,0	0,7	0,5	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2
0,012	0,018	0,024	0,037	0,038	0,024	0,017	0,012	0,020	0,014	0,015
4,0	2,5	2,0	1,3	1,0	0,7	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3
0,022	0,039	0,055	0,071	0,074	0,047	0,035	0,024	0,028	0,022	0,020
6,0	3,8	3,0	2,0	1,5	1,0	0,8	0,5	0,5	0,4	0,33
0,036	0,072	0,087	0,108	0,111	0,073	0,055	0,036	0,037	0,029	0,025
	5,0	4,0	2,7	2,0	1,3	1,0	0,7	0,6	0,5	0,4
	0,090	0,111	0,142	0,146	0,098	0,073	0,050	0,045	0,037	0,030
	6,3	5,0	3,3	2,5	1,7	1,3	0,8	0,8	0,6	0,5
	0,113	0,144	0,173	0,181	0,122	0,090	0,061	0,055	0,043	0,034
		6,0	4,0	3,0	2,0	1,5	1,0	0,9	0,7	0,53
		0,158	0,220	0,223	0,147	0,112	0,074	0,065	0,052	0,039
			4,7	3,5	2,3	1,8	1,2	1,0	0,74	0,6
			0,256	0,255	0,170	0,129	0,086	0,074	0,059	0,044
			5,3	4,0	2,7	2,0	1,3	1,1	0,83	0,7
			0,289	0,290	0,197	0,144	0,099	0,083	0,067	0,050
			6,0	4,5	3,0	2,3	1,5	1,3	0,92	0,8
			0,333	0,331	0,224	0,168	0,112	0,092	0,073	0,059
				5,0	3,3	2,5	1,7	1,5	1,2	0,9
				0,364	0,245	0,182	0,124	0,109	0,088	0,070
					4,0	3,0	2,0	1,8	1,4	1,0
					0,295	0,221	0,149	0,129	0,101	0,074
					4,7	3,5	2,3	1,9	1,5	1,1
					0,343	0,257	0,170	0,139	0,113	0,083
					5,0	3,8	2,5	2,1	1,7	1,3
					0,361	0,275	0,184	0,157	0,122	0,098
						4,3	2,8	2,5	2,0	
						5,0	3,3	2,5	2,0	
						0,367	0,245	0,184	0,147	

Puede observarse cómo una vez más el valor de F_A de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ separa dos zonas de comportamiento diferente del valor de ΔA frente a los valores de F_D/F_A .

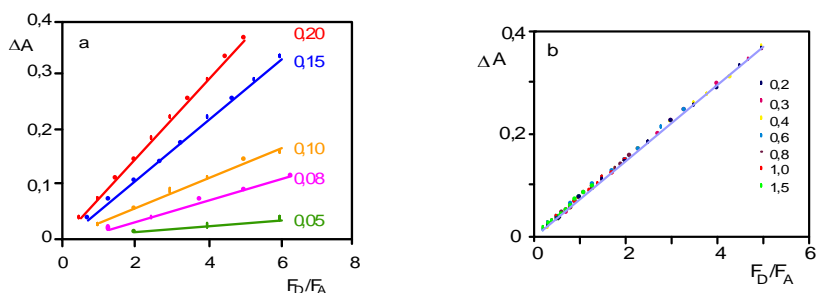


Figura 253. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora sobre la señal analítica. Técnica de flujo clásica. Valores de ΔA frente a F_D/F_A . $[RM]$: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[HCl]$: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[NaOH]$: $0,012 \text{ M}$; $[NH_4^+]$: $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; V_i : $408 \mu\text{L}$; T : $50 \text{ }^\circ\text{C}$. a) $F_A \leq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. b) $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Para valores de $F_A \leq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, Figura 253-a, cuanto mayor es el valor de F_D/F_A mayor es el valor de la señal analítica pero dependiendo a su vez del valor de F_A . La representación de ΔA frente a F_D/F_A se ajusta a la ecuación de una línea recta cuya pendiente es mayor cuanto mayor es el valor de F_A :

F_A	ECUACIÓN	R^2
0,05	$\Delta A = (-0,01 \pm 0,03) + (0,006 \pm 0,007) [F_D/F_A]$	0,9908
0,08	$\Delta A = (-0,01 \pm 0,01) + (0,019 \pm 0,003) [F_D/F_A]$	0,9934
0,10	$\Delta A = (0,01 \pm 0,01) + (0,027 \pm 0,004) [F_D/F_A]$	0,9907
0,15	$\Delta A = (-0,004 \pm 0,006) + (0,055 \pm 0,001) [F_D/F_A]$	0,9989
0,20	$\Delta A = (0,001 \pm 0,003) + (0,073 \pm 0,001) [F_D/F_A]$	0,9997

Los valores de ΔA frente a la relación F_D/F_A para valores de $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (Figura 253-b) se ajustan a ecuaciones de líneas rectas que para un 95 % de fiabilidad no difieren significativamente:

F_A	ECUACIÓN	R^2
0,30	$\Delta A = (0,001 \pm 0,001) + (0,073 \pm 0,002) [F_D/F_A]$	0,9993
0,40	$\Delta A = (0,003 \pm 0,003) + (0,074 \pm 0,001) [F_D/F_A]$	0,9995
0,60	$\Delta A = (0,001 \pm 0,002) + (0,075 \pm 0,001) [F_D/F_A]$	0,9994
0,80	$\Delta A = (0,001 \pm 0,002) + (0,074 \pm 0,001) [F_D/F_A]$	0,9985
1,00	$\Delta A = (0,001 \pm 0,002) + (0,073 \pm 0,002) [F_D/F_A]$	0,9989
1,50	$\Delta A = (-0,002 \pm 0,002) + (0,076 \pm 0,003) [F_D/F_A]$	0,9967

Esto es, los valores de ΔA a 521 nm, para todos los casos en que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, son dependientes del valor de F_D/F_A , ajustándose a una línea recta de ecuación :

$$\Delta A = (0,001 \pm 0,002) + (0,074 \pm 0,002) [F_D/F_A] ; R^2 = 0,9989$$

Para valores de $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, la señal analítica es mayor cuanto mayor lo sea la relación F_D/F_A , teniendo como límite práctico el valor de $F_D/F_A \cong 6$, a partir del cual la presión que sufre uno de los lados de la membrana es tan alta que hay transferencia de líquido de una parte a otra alternando la línea base y por lo tanto la señal analítica.

Explicación de los resultados experimentales

El valor de ΔA a 521 nm depende de tres procesos diferentes:

- a) Cantidad de NH_3 gaseoso transferido a través de la membrana, esto es PROCESO DE DIFUSIÓN GASEOSA.
- b) Volumen de disolución aceptora sobre el que se recoge el NH_3 difundido, lo que denominamos *BOLO ACEPTOR*.
- c) Dilución del *bolo aceptor* en su viaje hacia el detector.

El segundo proceso depende, para una longitud de membrana dada (volumen de las semicámaras del módulo, 40 μL) de los valores de F_A y F_D . Puesto que en todas las experiencias siempre se inyecta el mismo volumen de

disolución patrón de NH_4^+ , 408 μL ($1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), el *bolo dador*, volumen de disolución dadora que contiene el NH_3 después de mezclarse las disoluciones que fluyen por C_3 y C_4 , es en todos los casos de 916 μL aproximadamente, siempre que se despreja su dilución por difusión a lo largo del reactor que como ya dijimos varia desde 42 cm hasta 840 cm cuando F_D se modifica desde $0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $2,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Este proceso de difusión, de tener extensión apreciable, será mayor cuanto menor sea la velocidad de flujo de la disolución dadora y mayor sea la longitud del reactor de termostatación.

Para el cálculo teórico de V_A (volumen del *bolo aceptor*) puesto que experimentalmente no es posible, se despreja el proceso de difusión del *bolo dador*, antes mencionado.

El tercero de los procesos inicialmente mencionado, *difusión del bolo aceptor*, será de mayor extensión cuanto menor sea V_A y menor sea el valor de F_A . No obstante, dada la longitud tan corta del tubo de teflón que une la salida del módulo de membrana con la célula de flujo, este proceso de difusión debe ser pequeño en estas condiciones experimentales.

Por las razones anteriormente expuestas, el cálculo teórico del valor de V_A en función de los valores de F_A y F_D nos permitirá conocer la influencia de esta variable sobre la señal analítica y obtener así más información sobre el primero de los procesos, proceso de difusión gaseosa.

Dependiendo de la relación de valores entre F_A y F_D , nos encontramos tres situaciones experimentales completamente distintas (Figura 254).

En las experiencias en las que $F_A = F_D$, en todos los casos, $V_A = V_D = 916 \mu\text{L}$. (Figura 254-b), sólo varia el tiempo que tarda el *bolo dador* en atravesar la membrana, menor cuanto mayor sea F_D . Para el caso de la Figura 254-b, este tiempo, t_M , es de 275 s. (teniendo en cuenta que $F_D = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y que la cámara de cada parte del módulo tiene un volumen de 40 μL).

En las experiencias en las que $F_A > F_D$, Figura 254-c, en esos casos siempre $V_A > V_D$ y su cálculo es sencillo:

$$V_A = V_D \frac{F_A}{F_D}$$

Para el caso mostrado en la Figura 254-c, como $V_A = 916 \mu\text{L}$, $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, resulta $V_A = 4.580 \mu\text{L}$.

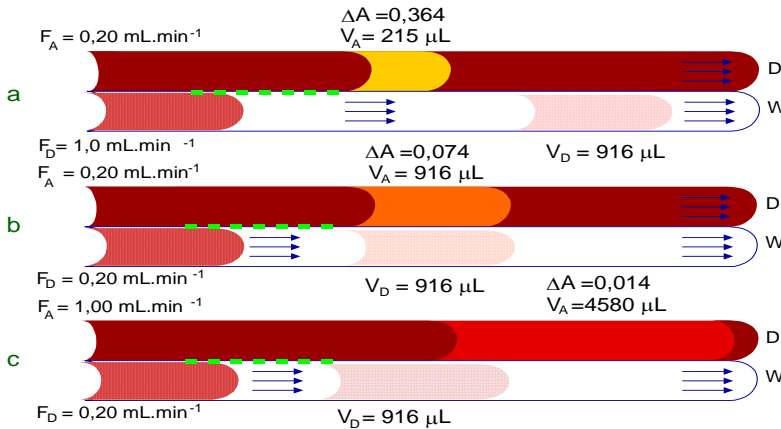


Figura 254. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Determinación teórica de los valores de V_A . Situaciones experimentales: a) $F_D > F_A$; b) $F_D = F_A$; c) $F_D < F_A$. $V_D = 916 \mu\text{L}$. D: detector espectrofotométrico, W: Desecho.

El tiempo que tarda en atravesar el *bolo dador* la cámara de la membrana depende de F_D y en el caso de la Figura citada (254-c) es de 275 s. En ese tiempo, el volumen de disolución aceptora por la otra parte de la membrana es 5 veces mayor (relación de caudales), 4.580 μL . El NH_3 difundido a través de la membrana se recoge sobre un volumen mayor, se **diluye**.

En esta situación experimental, $F_A > F_D$, cuanto mayor sea F_D , para un valor dado de F_A , menor será el valor de V_A y menor será el **proceso de dilución**.

Por último, en un tercer grupo de experiencias, $F_D > F_A$, (Figura 254-a). En estos casos $V_A < V_D$; el NH_3 difundido desde un volumen dado, V_D , es recogido por un volumen de disolución aceptora, V_A y menor (**preconcentración**).

El cálculo de V_A , en estos casos no es tan intuitivo como en los otros dos, pues además de estar relacionado con la relación F_A/F_D que modifica el valor de V_D , es necesario sumarle un término que tiene que ver con el hecho de que cuando el *bolo dador* alcanza el extremo final de la cámara de la membrana, el *bolo aceptor* sólo se ha movido en el interior de la cámara una fracción del volumen de la misma, $\left[V_M - V_M \frac{F_A}{F_D} \right]$, siendo V_M el volumen de la semicámara superior. La expresión que relaciona V_A con el resto de variables, es:

$$V_A = V_D \frac{F_A}{F_D} + \left[V_M - V_M \frac{F_A}{F_D} \right]$$

Obsérvese que si $F_A = F_D$, $V_A = V_D$.

El segundo término de la expresión anterior es mayor cuanto mayor es el valor de F_D y cuanto menor es el valor de F_A .

En el caso considerado en la Figura 254-a, al ser $V_D = 916$, $F_A = 0,20$ mL.min⁻¹, $F_D = 1,00$ mL.min⁻¹ y $V_M = 40$ µL, resulta para V_A un valor de 215,3 µL (siempre aproximaremos a 215 µL).

En el caso particular que hemos planteado en la Figura 254, para la discusión del cálculo de V_A , se han indicado los valores experimentales de las absorbancias a 521 nm. Será necesario comprobar qué tipo de proceso es el responsable de las diferencias observadas en estas absorbancias.

En la Tabla 100 se muestran los valores de V_A calculados para todas las experiencias, que se han dividido en tres bloques según $F_A > F_D$; $F_A = F_D$ y $F_D > F_A$ (el valor de V_D en todas las experiencias es de 916 µL).

Como ya hemos comentado, para las experiencias en las que el valor de F_D/F_A es elevado y superior a 6,0 o inferior a 0,16, para $F_A < 0,2$, y para las que F_D/F_A es superior a 5,0 o inferior a 0,16 para $F_A \geq 0,2$, la membrana sufre por uno de sus lados una elevada presión generando que gotículas de las disoluciones dadoras o aceptoras pueden *colarse* hacia el otro lado. Para valores

muy inferiores a 0,16 (F_D/F_A) o muy superiores a 6,0 incluso la membrana llega a romperse.

Por esta razón para el estudio de la influencia de F_A y F_D sobre la señal analítica solo se tienen en cuenta los valores experimentales de ΔA a 521 nm para aquellas experiencias en las que la membrana funciona sin alteraciones serias si bien sufriendo una elevada presión para los valores de F_D/F_A más próximos a 5 o a 0,16. Por este motivo, en la Tabla 101 se muestran los valores de V_A para las experiencias válidas y en la Tabla 102 los valores experimentales del ΔA a 521 nm que se han dividido en dos bloques según que el valor de F_A sea $< 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ o $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

En la Tabla 102 se indican con el mismo color aquellas experiencias que tienen el mismo valor de F_D/F_A donde se observa, como ya se había comentado, que en las experiencias donde $F_A \geq 0,20 \text{ mL}$, los valores de ΔA para cada valor de F_D/F_A son constantes, mientras que en las experiencias donde $F_A < 0,2$ no ocurre este fenómeno.

Para poder obtener información sobre la participación del proceso de DIFUSIÓN GASEOSA y del proceso de DILUCIÓN o PRECONCENTRACIÓN en el *bolo aceptor* en función de F_D , F_A o F_D/F_A sobre la señal analítica final, ΔA a 521 nm, se calculan los valores teóricos de ΔA , de las experiencias válidas, considerando que el primero de los procesos se mantiene independiente de F_A y F_D (proceso de difusión gaseosa constante) y que la señal analítica depende entonces sólo del proceso de dilución o preconcentración en el *bolo aceptor* como consecuencia de la variación de V_A en función de F_A y F_D .

Este cálculo teórico se realizade la manera siguiente: Se parte del valor experimental de ΔA más pequeño de las series (Tabla 102) que se obtienen al fijar constante F_A y variar F_D , así como al mantener constante F_D y variar F_A . Teniendo en cuenta los valores de V_A (Tabla 101) de las experiencias contiguas se calcula el valor teórico de ΔA que tendría cada experiencia si ocurriera sólo el proceso de dilución o preconcentración.

Tabla 100. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Valores teóricos de V_A , volumen del "bolo aceptor" en función de los valores de F_A y F_D . No se tienen cuenta los procesos de dispersión del bolo dador y del bolo aceptor. $V_D = 916 \mu\text{L}$, $V_i = 408 \mu\text{L}$. $[\text{RM}]$: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{HCl}]$: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}]$: $0,012 \text{ M}$; $[\text{NH}_4^+]$: $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$; $t_c = 50 \text{ s}$. $R = \text{variable}$

F_A mL.min^{-1}	$F_D, \text{mL.min}^{-1}$														
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,2	1,4	1,5	1,7	2,0
0,05	478	259	177	150	128	113	103	95	89	84	77	71	69	66	62
0,08	746	390	274	215	180	157	140	128	118	110	98	90	87	81	75
0,10	916	478	332	259	215	186	165	150	137	128	113	103	98	92	84
0,15	1374	697	478	369	303	259	228	204	186	171	150	134	128	117	106
0,20	1832	916	624	478	390	332	290	259	235	215	186	165	157	143	128
0,30	2748	1374	916	697	566	478	416	369	332	303	259	228	215	195	171
0,40	3664	1832	1221	916	741	624	541	478	429	390	332	290	274	246	215
0,60	5496	2748	1832	1374	1099	916	791	697	624	566	478	416	390	349	303
0,80	7328	3664	2443	1832	1466	1222	1048	916	819	741	624	541	507	452	390
1,00	9160	4580	3053	2290	1832	1527	1309	1145	1018	916	770	666	624	555	478
1,50	13740	6870	4580	3435	2748	2290	1963	1718	1527	1374	1145	981	916	813	697

Tabla 101. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Valores teóricos de V_A , volumen del "bolo aceptor" en función de los valores de F_A y F_D , sólo para las experiencias en las que no existe anomalía en el funcionamiento de la membrana (F_D/F_A entre 0,2 y 6,0) para $F_A < 0,20$ y 0,2 y 5,0 para $F_A \geq 0,20$. $V_D = 916 \mu\text{L}$, $V_A = 408 \mu\text{L}$. [RM]: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; [NaOH]: $0,012 \text{ M}$; $[\text{NH}_4^+]$: $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$. $t_c = 50 \text{ s}$. R = variable

F_A mL.min ⁻¹	F_D , mL.min ⁻¹														
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,2	1,4	1,5	1,7	2,0
0,05	478	259	177												
0,08	746	390	274	215	180										
0,10	916	478	332	259	215	186									
0,15	1374	697	478	369	303	259	228	204	186						
0,20	1832	916	624	478	390	332	290	259	235	215					
0,30	2748	1374	916	697	566	478	416	369	332	303	259	228	215		
0,40	3664	1832	1221	916	741	624	541	478	429	390	332	290	274	246	215
0,60	5496	2748	1832	1374	1099	916	791	697	624	566	478	416	390	349	303
0,80		3664	2443	1832	1466	1222	1048	916	819	741	624	541	507	452	390
1,00		4580	3053	2290	1832	1527	1309	1145	1018	916	770	666	624	555	478
1,50			4580	3435	2748	2290	1963	1718	1527	1374	1145	981	916	813	697

Tabla 102. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptor. Valores experimentales de ΔA a 521 nm en función de F_A y F_D para las experiencias en las que no existe anomalía en el funcionamiento de la membrana. Los valores se han dividido en dos bloques, uno hasta $F_A < 0,20$ y otro para $F_A > 0,20$. $V_D = 916 \mu L$, $V_i = 408 \mu L$. $[RM] : 9,95 \times 10^{-5} M$; $[HCl] : 9,0 \times 10^{-5} M$; $[NaOH] : 0,012 M$; $[NH_4^+] : 1,0 \text{ mg} \cdot L^{-1}$; $t_c = 50 \text{ s}$. $R = \text{variable}$. ■ $F_D/F_A = 1,0$; ■ $F_D/F_A = 0,05$; ■ $F_D/F_A = 2,0$; ■ $F_D/F_A = 3,0$; ■ $F_D/F_A = 1,5$; ■ $F_D/F_A = 4,0$; ■ $F_D/F_A = 5,0$

F_A mL.min ⁻¹	F_D , mL.min ⁻¹														
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,2	1,4	1,5	1,7	2,0
0,05	0,012	0,022	0,036												
0,08	0,018	0,039	0,072	0,090	0,113										
0,10	0,024	0,055	0,087	0,111	0,144	0,158									
0,15	0,037	0,071	0,108	0,142	0,173	0,220	0,256	0,289	0,333						
0,20	0,038	0,074	0,111	0,146	0,181	0,223	0,255	0,290	0,331	0,364					
0,30	0,024	0,047	0,073	0,098	0,122	0,147	0,170	0,197	0,224	0,245	0,295	0,343	0,361		
0,40	0,017	0,035	0,055	0,073	0,090	0,112	0,129	0,144	0,168	0,182	0,221	0,257	0,275	0,310	0,367
0,60	0,012	0,024	0,036	0,050	0,061	0,074	0,086	0,099	0,112	0,124	0,149	0,170	0,184	0,210	0,245
0,80		0,020	0,028	0,037	0,045	0,055	0,065	0,074	0,083	0,092	0,109	0,129	0,139	0,157	0,184
1,00		0,014	0,022	0,029	0,037	0,043	0,052	0,059	0,067	0,073	0,088	0,101	0,113	0,122	0,147
1,50			0,015	0,020	0,025	0,030	0,034	0,039	0,044	0,050	0,059	0,070	0,074	0,083	0,098

En la Tabla 103 se muestran los valores teóricos para ΔA cuando se fija F_A y se varía F_D y en la Tabla 104, al revés. Estos valores se comparan con los experimentales para obtener conclusiones. Los valores de partida para el cálculo teórico se indican en ambas tablas, donde se han dividido en dos bloques: para $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ se comprueba que son muy similares o coincidentes, independientemente del valor de F_A o F_D para aquellos casos en los que F_D/F_A es inferior a 1,5 (comprobar en la Tabla 103 la experiencia en la que $F_A = 1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_D varía desde 0,20 hasta 2,00 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ o en la Tabla 104 la experiencia en la que $F_D = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_A varía desde 0,20 hasta 1,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

Cuanto mayor es la diferencia entre F_A y F_D , esto es, cuanto mayor es el valor de F_D/F_A mayor es la diferencia entre los valores teóricos de ΔA y los valores experimentales, si bien la mayor diferencia se alcanza para $F_D/F_A = 5,0$ que no supone más que un 12 % del valor experimental.

Tabla 103. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Valores teóricos de ΔA a 521 nm si solo ocurre el proceso de dilución o preconcentración en el "bolo aceptor". Proceso de difusión gaseosa constante. Valores para F_A constante, variando F_D .
 ■ Valores de referencia para el cálculo teórico.

F_D	$F_A = 0,08$		$F_A = 0,10$		$F_A = 0,15$	
	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}
0,1	0,018	0,018	0,024	0,024	0,037	0,037
0,2	0,035	0,039	0,046	0,055	0,073	0,071
0,3	0,049	0,072	0,066	0,087	0,106	0,108
0,4	0,062	0,090	0,085	0,111	0,138	0,142
0,5	0,074	0,113	0,102	0,144	0,168	0,173
0,6			0,118	0,158	0,196	0,220
0,7					0,223	0,256
0,8					0,249	0,289
0,9					0,273	0,333

Tabla 103. Cont.

F _D	F _A =0,20		F _A =0,30		F _A =0,40		F _A =0,60		F _A =0,80		F _A =1,00		F _A =1,50	
	ΔA_{teo}	$\Delta A_{\text{exp.}}$	ΔA_{teo}	$\Delta A_{\text{exp.}}$	ΔA_{teo}	$\Delta A_{\text{exp.}}$	ΔA_{teo}	$\Delta A_{\text{exp.}}$	ΔA_{teo}	$\Delta A_{\text{exp.}}$	ΔA_{teo}	$\Delta A_{\text{exp.}}$	ΔA_{teo}	$\Delta A_{\text{exp.}}$
0,1	0,038	0,038	0,024	0,024	0,017	0,017	0,012	0,012	0,020	0,020	0,014	0,014	0,015	0,015
0,2	0,076	0,074	0,049	0,047	0,034	0,035	0,024	0,024	0,030	0,028	0,021	0,022	0,020	0,020
0,3	0,1115	0,111	0,072	0,073	0,051	0,055	0,036	0,036	0,040	0,037	0,028	0,029	0,025	0,025
0,4	0,146	0,146	0,095	0,098	0,068	0,073	0,048	0,050	0,050	0,045	0,035	0,037	0,030	0,030
0,5	0,179	0,181	0,117	0,122	0,084	0,090	0,060	0,061	0,060	0,055	0,042	0,043	0,035	0,034
0,6	0,210	0,223	0,138	0,147	0,100	0,112	0,072	0,074	0,070	0,065	0,049	0,052	0,040	0,039
0,7	0,240	0,255	0,159	0,170	0,115	0,129	0,083	0,086	0,080	0,074	0,056	0,059	0,045	0,044
0,8	0,269	0,290	0,179	0,197	0,131	0,144	0,095	0,099	0,089	0,083	0,063	0,067	0,050	0,050
0,9	0,296	0,331	0,199	0,224	0,145	0,168	0,106	0,112	0,099	0,092	0,070	0,073	0,060	0,059
1,0	0,324	0,364	0,218	0,245	0,160	0,182	0,117	0,124	0,117	0,109	0,083	0,088	0,070	0,070
1,2			0,255	0,295	0,188	0,221	0,138	0,149	0,135	0,129	0,096	0,101	0,060	0,059
1,4			0,289	0,343	0,215	0,257	0,159	0,170	0,145	0,139	0,103	0,113	0,075	0,074
1,5			0,307	0,361	0,227	0,275	0,169	0,184	0,164	0,157	0,115	0,122	0,085	0,083
1,7					0,253	0,310	0,190	0,210	0,188	0,184	0,134	0,147	0,099	0,098
2,0					0,290	0,367	0,218	0,245						

Tabla 104. Valores teóricos de ΔA a 521 nm si solo ocurre el proceso de dilución o preconcentración en el "bolo aceptor". Proceso de difusión gaseosa constante. Valores para F_D constante, variando F_A . ■ Valores de referencia para el cálculo teórico.

F_A	$F_D = 0,10$ mL.min ⁻¹		$F_D = 0,20$ mL.min ⁻¹		$F_D = 0,30$ mL.min ⁻¹		$F_D = 0,40$ mL.min ⁻¹	
	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}
0,05	0,012	0,012	0,022	0,022	0,036	0,036		
0,08	0,008	0,018	0,015	0,039	0,023	0,072	0,090	0,090
0,10	0,006	0,024	0,012	0,055	0,019	0,087	0,075	0,111
0,15	0,004	0,037	0,008	0,071	0,013	0,108	0,050	0,142

Tabla 104. Cont.

F_A	$F_D = 0,20$ mL.min ⁻¹		$F_D = 0,60$ mL.min ⁻¹		$F_D = 0,80$ mL.min ⁻¹		$F_D = 1,00$ mL.min ⁻¹		$F_D = 1,50$ mL.min ⁻¹	
	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}	ΔA_{teo}	ΔA_{exp}
0,20	0,074	0,074	0,223	0,223	0,029 0	0,290	0,364	0,364		
0,30	0,049	0,047	0,154	0,147	0,204	0,197	0,258	0,245	0,361	0,361
0,40	0,037	0,035	0,118	0,112	0,157	0,144	0,201	0,182	0,283	0,275
0,60	0,025	0,024	0,081	0,074	0,107	0,099	0,138	0,124	0,199	0,184
0,80	0,019	0,020	0,061	0,055	0,082	0,074	0,106	0,092	0,153	0,139
1,00	0,015	0,014	0,048	0,043	0,066	0,059	0,085	0,073	0,124	0,113
1,50			0,032	0,030	0,044	0,039	0,057	0,050	0,084	0,074

La representación de los valores teóricos y experimentales de ΔA frente al valor de F_D/F_A (Tabla 105 y Figura 255) confirma las conclusiones anteriores y ayuda a comprender la conclusión final: Cuando $F_A \geq 0,20$ mL.min⁻¹, la cantidad de NH₃ transferido a través de la membrana solo aumenta muy ligeramente cuando lo hace la relación F_D/F_A , siendo el proceso de concentración (menor volumen de V_A a medida que aumenta F_D) en el *bolo del aceptor* el proceso responsable de que la señal analítica, ΔA , reflejo de la

concentración de NH_3 que llega al *bolo aceptor* aumente cuando lo hace la relación F_D/F_A .

La contribución del proceso de difusión gaseosa aumenta sólo ligeramente con el valor de F_D/F_A , siendo de un 2 % para $F_D/F_A = 2,0$, del 7 % para $F_D/F_A = 3,0$, del 9 % para $F_D/F_A = 4,0$ y del 12 % para $F_D/F_A = 5,0$

Tabla 105. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptor. Valores teóricos de ΔA a 521 nm si únicamente ocurre el proceso de dilución o preconcentración en el "bolo aceptor", comparados con los valores experimentales según el valor de F_D/F_A ($F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

F_D/F_A	$\Delta A, 521 \text{ nm}$	
	Teórico	Experim
0,2	0,015	0,015
0,3	0,025	0,025
0,5	0,038	0,037
1,0	0,075	0,074
1,5	0,110	0,111
2,0	0,144	0,147
2,5	0,176	0,182
3,0	0,207	0,223
4,0	0,265	0,290
4,3	0,279	0,310
4,7	0,301	0,343
5,0	0,320	0,364

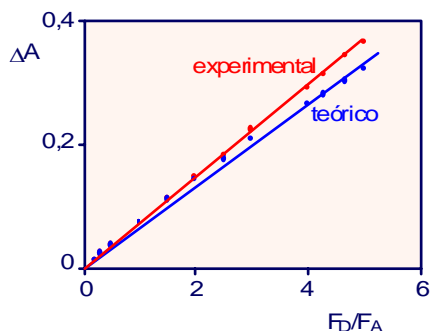


Figura 255. Representación gráfica de los valores de ΔA frente a F_D/F_A para el proceso teórico de dilución o preconcentración comparado con los valores experimentales.

En la Figura 256 se ha esquematizado, como conclusión lo que ocurre al fijar el valor de F_A en $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y variar F_D desde $0,10$ hasta $1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (F_D/F_A varía desde $0,5$ hasta $5,0$).

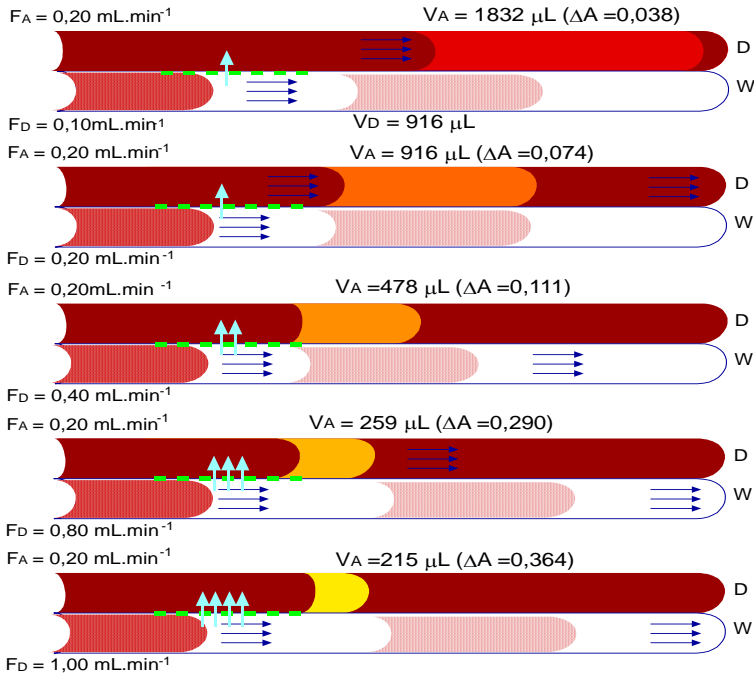
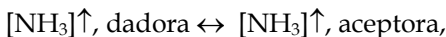


Figura 256. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Experiencias en las que $F_A \geq 0,20$ mL.min⁻¹. Explicación del incremento en la señal analítica, ΔA a 521 nm, al mantener constante F_A y variar F_D de modo que se incrementa el valor de F_D/F_A desde 0,5 hasta 5,0. Se indica con flechas la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa.

A medida que aumenta el valor de F_D , aumenta la relación de velocidades de flujo F_D/F_A , disminuye el valor de V_A , volumen de aceptora que recoge el $\text{NH}_3\uparrow$ difundido, y el proceso de transferencia de gas se desplaza en mayor medida hacia la disolución aceptora; aumenta el valor de la constante del equilibrio:



Por lo que la cantidad de $\text{NH}_3\uparrow$ recogido en el *bolo aceptora* aumenta, haciéndolo su concentración y el valor del descenso de la absorbancia a 521 nm.

Por el contrario, al mantener constante el valor de F_D en 0,80 mL.min⁻¹ como ejemplo (Figura 257) y variar F_A desde 0,20 hasta 1,50 mL.min⁻¹ (F_D/F_A varía desde 4,0 hasta 0,53) disminuye la magnitud relativa del proceso de difusión, disminuye la constante de equilibrio del proceso de transferencia

gaseosa y aumenta el valor de V_A por lo que el *bolo aceptor* diluye la concentración de $\text{NH}_3 \uparrow$, razones por las que la señal analítica ΔA , disminuye a medida que F_D/F_A se hace menor.

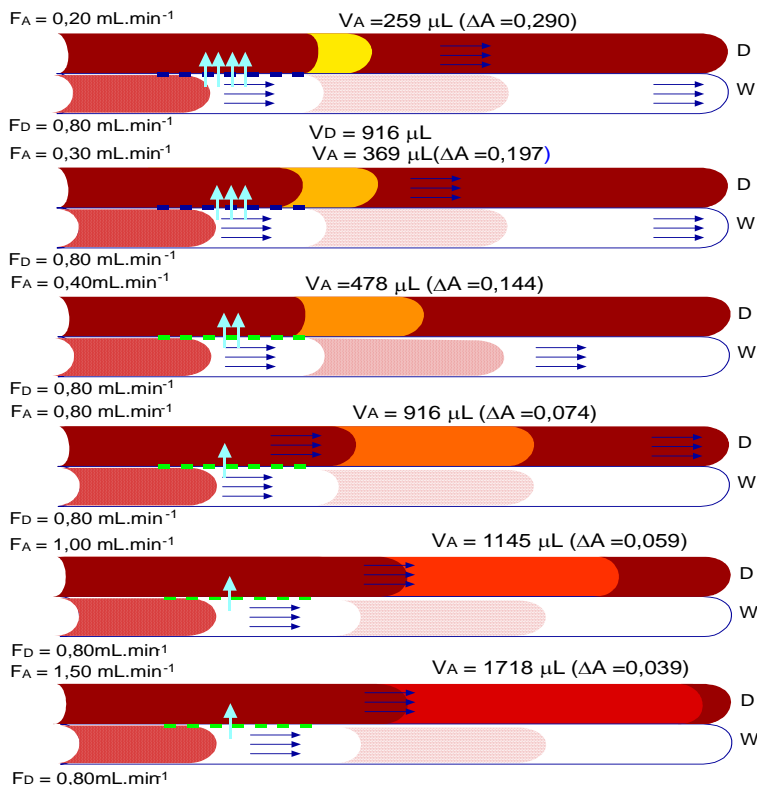


Figura 257. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptor. Experiencias en las que $F_A \geq 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$. Explicación del descenso en la señal analítica, ΔA a 521 nm, al mantener constante F_D y variar F_A de modo que disminuye el valor de F_D/F_A desde 4,0 hasta 0,53. Se indica con flechas (↑) la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa.

Una conclusión que se deduce de lo anterior, basada en el hecho de que la constante del equilibrio de transferencia gaseosa a través de la membrana depende del valor de F_D/F_A , es que para las experiencias en que F_D/F_A se mantiene constante, como además $V_A = V_D$, la señal analítica, ΔA a 521 nm, es constante. En la Figura 258, se esquematiza esta conclusión para $F_D/F_A = 1,0$, variando F_D y F_A .

En todas las figuras indicadas, la posición relativa de los *bolos aceptor* y *dador* indica en todo momento de manera comparativa si F_A es mayor, igual o menor que F_D , y da una idea del tiempo de aparición de la señal analítica, de manera comparativa, a la hora de comparar experiencias.

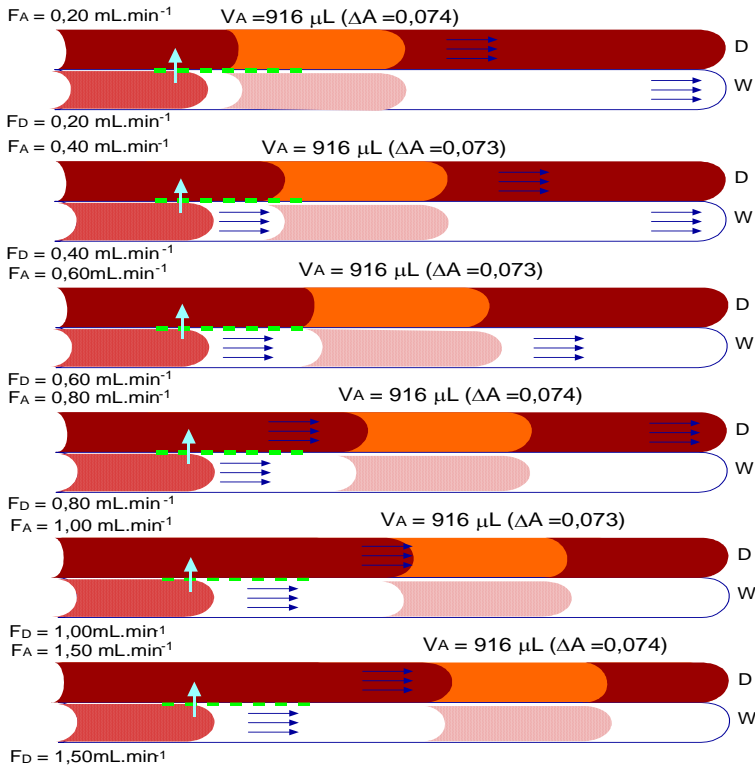


Figura 258. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptor. Experiencias en las que $F_A = F_D$. Explicación de la constancia en la señal analítica, ΔA a 521 nm, al mantener $F_D/F_A = 1$ y variar F_A y F_D . Se indica con flechas la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa.

Experiencias en las que $F_A < 0,2$

Al comparar los valores experimentales, de ΔA a 521 nm, con los teóricos si sólo ocurriera el proceso de dilución o concentración con la variación de V_A , se observa (Tabla 103 y 104) en las experiencias en que $F_A < 0,2$ que son totalmente discordantes, lo que indica que la suposición hecha de que el proceso de difusión gaseosa es constante, es absolutamente falso.

A diferencia de lo que ocurría en las experiencias en las que $F_A \geq 0,20$ mL.min⁻¹, la señal analítica, ΔA a 521 nm, no es la misma para el mismo valor de F_D/F_A y depende tanto de F_A como de F_D .

Para las experiencias en las que F_D se mantiene constante y se varía F_A , el valor experimental de ΔA a 521 nm se incrementa cuanto mayor es el valor de F_A en todas las experiencias. En la Figura 259 se muestran los valores de ΔA obtenidos en la experiencia en la que se mantiene F_D en 0,30 mL.min⁻¹. En dicha figura se muestran también los valores teóricos si fuera el proceso de difusión gaseosa constante e independiente de F_A y F_D y únicamente dependiera de la variación de V_A (proceso de dilución o concentración).

Puede comprobarse en la Figura 259 como los valores experimentales se desvían claramente de los valores teóricos, lo que indica que el proceso de difusión gaseosa, para los casos en los que $F_A < 0,2$ mL.min⁻¹ tiene una gran influencia en la cantidad de NH₃ gaseoso que se transfiere desde la solución dadora hacia la aceptora. Los valores experimentales de ΔA aumentan al hacerlo el valor de F_A , a pesar de que al aumentar V_A , aumenta el proceso de dilución, lo que indica que el proceso de difusión gaseosa desde $F_A = 0,05$ mL.min⁻¹ hasta 0,15 mL.min⁻¹, aumenta considerablemente, lo que explica que a pesar de la dilución, la señal analítica aumente en el mismo sentido. El aumento desde 0,15 mL.min⁻¹ hasta 0,20 mL.min⁻¹ es mucho más pequeño dando la sensación de que este incremento a partir de 0,20 mL.min⁻¹ es ligero (ya se comentó anteriormente en las experiencias en donde $F_A \geq 0,20$ mL.min⁻¹)

Tabla 105. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Experiencias en las que $F_A < 0,2$ mL.min⁻¹

F_A mL.min ⁻¹	ΔA , 521 nm	
	Teórico	Experim
0,05	0,036	0,036
0,08	0,023	0,072
0,10	0,019	0,087
0,15	0,013	0,108

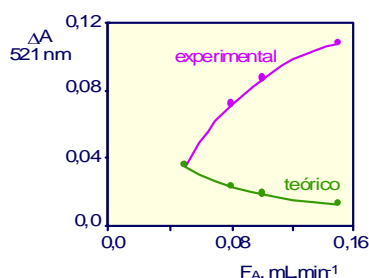


Figura 259. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Experiencias en las que $F_A < 0,2$ mL.min⁻¹. Valores experimentales de ΔA a 521 nm fijando F_D en 0,30 mL.min⁻¹ y variando F_A desde 0,05 mL.min⁻¹ hasta 0,15 mL.min⁻¹, y valores teóricos, si sólo se tiene en cuenta la variación de V_A . En ambos casos también se indica el valor de $F_A = 0,20$ mL.min⁻¹ que es el valor fronterizo entre dos bloques de resultados.

En la Figura 260 se ha esquematizado este comportamiento para las experiencias en que $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y se modifica el valor de F_A manteniendo constante el de F_D en $0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Se inserta también el caso en que $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para que se vea que su valor de ΔA es parecido al obtenido para $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

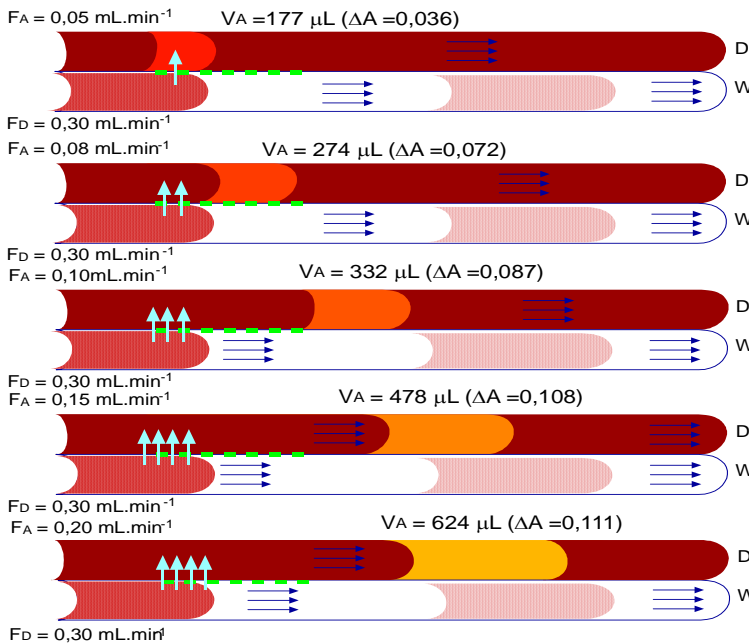


Figura 260. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Experiencias en las que $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Explicación del incremento en la señal analítica, ΔA a 521 nm , al mantener constante el valor de F_D y variar F_A . Se indica con flechas la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa. Se incluye el valor de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, para comparar.

En la Figura 261 se representan los valores de ΔA a 521 nm , tanto experimentales como teóricos, considerando solo el proceso de dilución o concentración para la experiencia en la que se mantiene constante F_A en $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y se varía F_D desde $0,1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $0,9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (Tabla 106). Puede comprobarse como hasta $F_D = 0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ coinciden los valores, lo que indica que predomina el proceso de concentración debido a la disminución de V_A , sobre el proceso de difusión gaseosa a través de la membrana.

Tabla 106. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Valores teóricos de ΔA a 521 nm si sólo ocurre el proceso de dilución o concentración en el "bolo aceptor", comparado con los valores experimentales

F_D	ΔA , 521 nm	
	Teórico	Experim
0,1	0,037	0,037
0,2	0,073	0,071
0,3	0,106	0,108
0,4	0,138	0,142
0,5	0,168	0,173
0,6	0,196	0,220
0,7	0,223	0,256
0,8	0,249	0,289
0,9	0,273	0,333

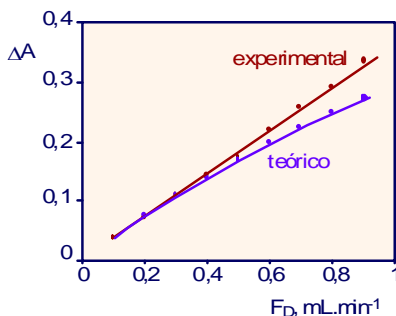


Figura 261. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Valores teóricos de ΔA a 521 nm si sólo ocurre el proceso de dilución o concentración en el "bolo aceptor", comparado con los valores experimentales. Valores para $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_D entre 0,1 y 0,9 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Para valores de F_D superiores a $0,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ son mayores los valores experimentales que los teóricos, tanto más cuanto mayor es el valor de F_D , lo que indica que a partir de dicho valor se incrementa el proceso de difusión gaseosa que contribuye en mayor medida a la concentración final de $\text{NH}_3\uparrow$ en el *bolo aceptor*; no obstante esta contribución es del 20 % para el valor más alto de F_D , $0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

En la Figura 262 se esquematizan estas conclusiones para la experiencia en la que F_A se mantiene en el valor de $0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y se varía F_D desde $0,10$ hasta $0,60 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

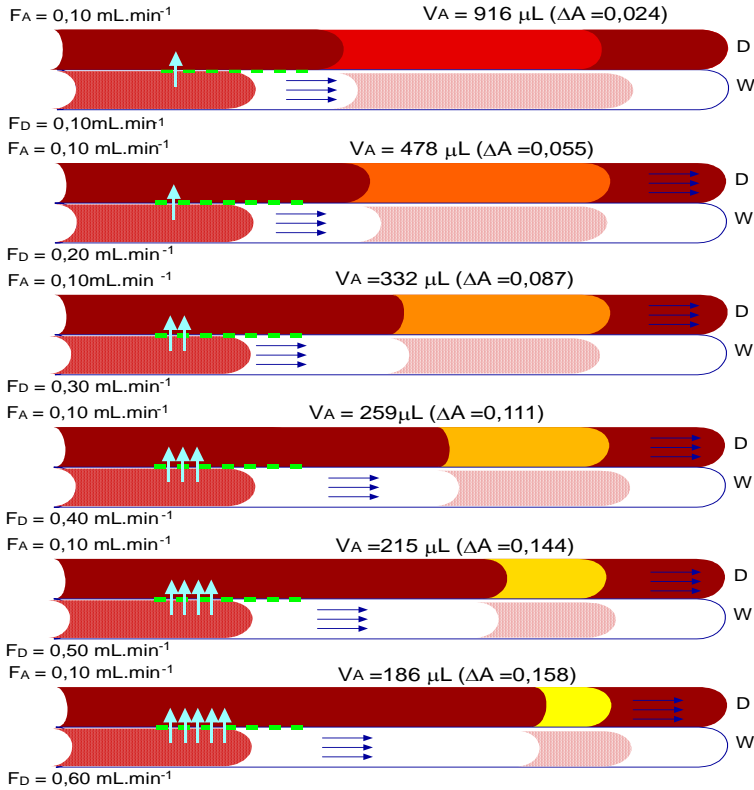


Figura 262. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Experiencias en las que $F_A < 0,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Explicación del incremento en la señal analítica, ΔA a 521 nm, al mantener constante el valor de F_A y variar F_D . Se indica con flechas la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa.

Experiencias conjuntas, F_A entre 0,05 y 1,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$

Las explicaciones por zonas de los valores de F_A nos permiten ahora comprender lo que ocurre sea cual sea el valor de F_A y F_D .

En la Figura 263 se esquematiza la evolución de la señal analítica, ΔA a 521 nm, al variar F_A desde 0,05 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta 1,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Tomando como valor de referencia el de ΔA en la experiencia de $F_A = 0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, y teniendo en cuenta la relación de volúmenes del *bolo aceptor* entre experiencias consecutivas, se calcula el valor teórico que debería tener ΔA de las experiencias consecutivas y la diferencia en la señal se atribuye al incremento

en el proceso de difusión de gases. Para que se comprenda mejor se expone un ejemplo:

El valor de V_A para la experiencia de $F_A = 0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ es de $274 \mu\text{L}$, luego el valor de ΔA de absorbancia que le correspondería por el proceso de dilución sería $0,036 \times 177/274 = 0,023$, como el valor experimental de $\Delta A = 0,072$ significa que la diferencia se atribuye al incremento en el proceso de difusión ($\Delta A = 0,049$) lo que significa un incremento del 36 %.

Siguiendo este razonamiento se calcula que el incremento para la experiencia en donde $F_A = 0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ es de 89 %, para $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de 160 % y para $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de 178 %. Estos incrementos al aumentar el valor de F_A se han representado en la Figura 263 con flechas más anchas que indican el incremento en el proceso de difusión gaseosa a través de la membrana.

Hasta el valor de $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, al incremento en la señal analítica contribuyen tanto al proceso de difusión gaseosa como el proceso de dilución, siendo el primero de signo positivo y de mayor magnitud.

A partir de $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, la señal analítica comienza a disminuir por mantenerse prácticamente constante el proceso de difusión y predomina el proceso de dilución debido al incremento del valor de V_A . Tomando como referencia el valor de ΔA para la experiencia de $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ se comprueba fácilmente que el valor experimental de la señal analítica, para valores superiores de F_A , evoluciona disminuyendo debido al proceso de dilución (V_A aumenta desde 624 hasta $4.580 \mu\text{L}$). Por tanto a partir de $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, el proceso de difusión gaseosa es prácticamente constante e independiente de F_D .

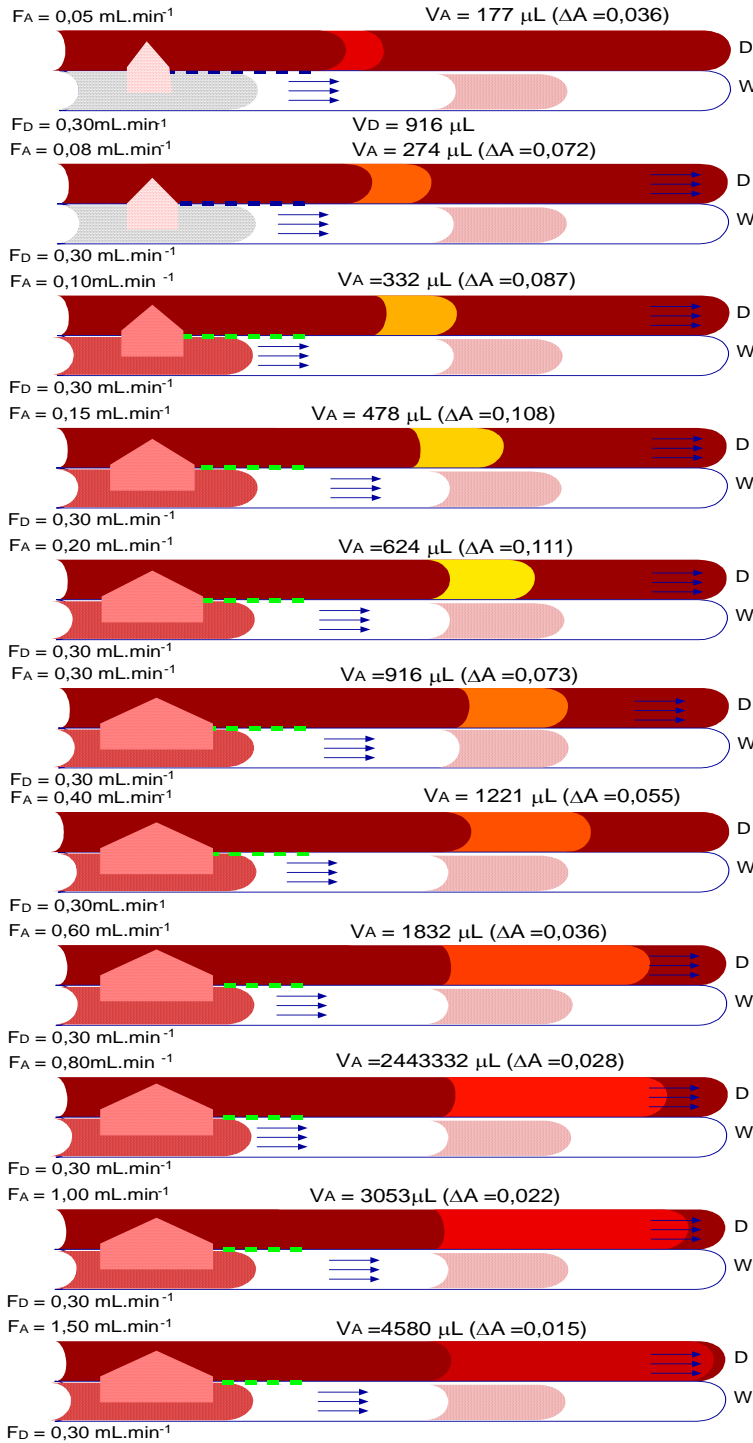


Figura 263. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Experiencias en las que $F_A < 0,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Explicación de la variación de la señal analítica, ΔA a 521 nm, en función de F_A , manteniendo constante F_D . El tamaño de las flechas indica la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa.

La evolución con F_A de los procesos de difusión gaseosa y de dilución se representan en la Figura 264. El primero incrementa el valor de ΔA hasta $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, permaneciendo constante para valores superiores. El segundo aumenta al hacerlo F_A , lo que afecta negativamente al valor de ΔA .

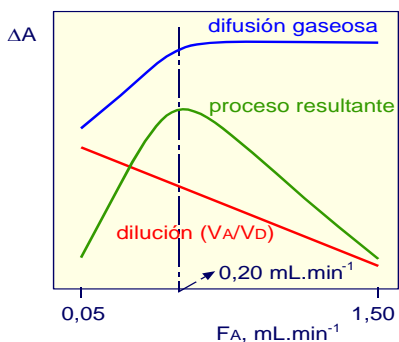


Figura 264. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Evolución de la señal analítica al variar F_A y mantener constante F_D . El proceso de difusión gaseosa aumenta hasta $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y después se mantiene constante. El proceso de dilución aumenta con F_A , pero es negativo. El resultado final tiene un máximo para $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

El resultado final explica las curvas experimentales obtenidas, así como que el valor máximo se presente para $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Para cualquier otro valor de F_D constante, el resultado sería idéntico, salvo los valores individuales de ΔA .

Para explicar el comportamiento de la señal analítica en función de F_D , manteniendo constante el valor de F_A , nos apoyamos en el esquema de la Figura 265 en la que se representa la variación de V_A en función del valor de F_D así como el valor experimental de ΔA a 521 nm .

Como el valor de $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ es constante, se toma como referencia el primer valor de $\Delta A = 0,037$ (F_D más pequeño) para el cálculo del valor de ΔA que deberían tener las experiencias a diferente valor de F_D (teniendo en cuenta la relación V_A/V_D). De la diferencia entre el valor experimental de ΔA y del teórico teniendo en cuenta el proceso de concentración, se deducen consideraciones sobre el proceso de difusión gaseosa.

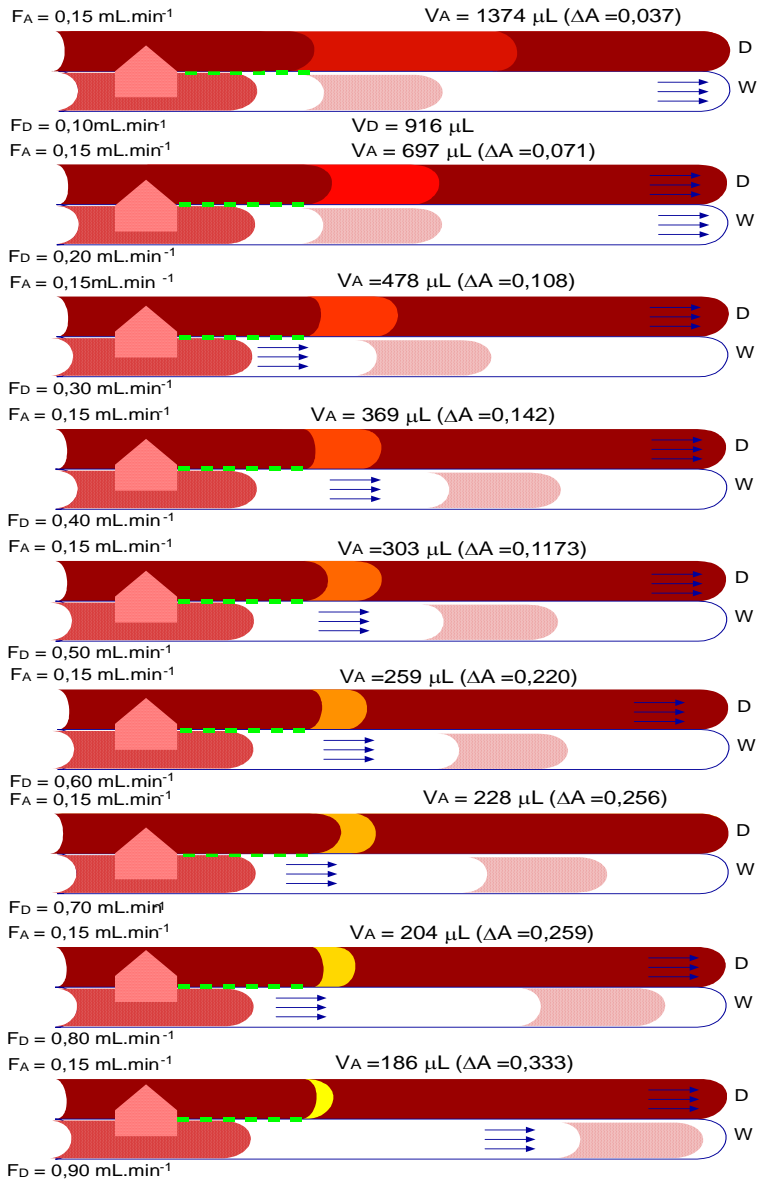


Figura 265. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Explicación de la variación de la señal analítica, ΔA a 521 na, en función de F_D , manteniendo constante F_A . El tamaño de las flechas indica la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa.

Como el valor de ΔA experimental para $F_D = 0,10$ mL.min⁻¹ es 0,037, la experiencia de $F_D = 0,20$ mL.min⁻¹, teniendo en cuenta la relación V_A/V_D sólo,

debería dar un valor de ΔA de 0,72; como el experimental es 0,71, se deduce que el proceso de difusión gaseosa en ambos casos tiene una magnitud muy parecida (recuérdese que en este razonamiento se ha despreciado en todo momento el proceso de dispersión del “bolo aceptor” que depende de su volumen y del valor de F_A ; este proceso puede afectar en el estudio comparativo de experiencias con magnitudes parecidas en el proceso de difusión gaseosa.

Al aplicar el mismo procedimiento a la experiencia en la que $F_D = 0,30$ mL.min⁻¹, la diferencia entre los valores de ΔA experimental y teórico conduce a un incremento del 2% en el proceso de difusión gaseosa comparándolo con la experiencia guía a $F_D = 0,10$ mL.min⁻¹. El estudio sobre el resto de experiencias conduce a incrementos en el proceso de difusión gaseosa que oscilan de manera creciente entre 4 % para $F_D = 0,40$ mL.min⁻¹ hasta 22 % para $F_D = 0,90$ mL.min⁻¹.

Como el incremento en el valor de ΔA teniendo en cuenta el proceso de concentración (V_D/V_A) oscila entre el 92 % para la experiencia en la que $F_D = 0,10$ mL.min⁻¹ hasta 638 % para $F_D = 0,90$ mL.min⁻¹, se deduce que contribuye más el proceso de concentración (variación de V_A) que el proceso de difusión gaseosa al hecho experimental de que se incremente el valor de ΔA al hacerlo F_D .

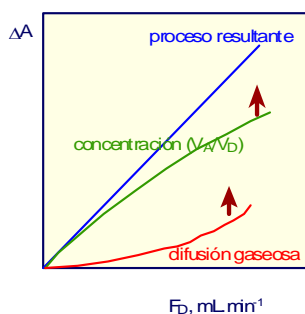


Figura 266. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptor. Evolución de la señal analítica al variar F_D y mantener constante F_A . El proceso de difusión gaseosa aumenta con el valor de F_D o F_D/F_A y el proceso de concentración (V_D/V_A) también aumenta en el mismo sentido.

En la Figura 266 se muestra de manera esquematizada cómo contribuyen los procesos de difusión gaseosa y concentración (como consecuencia de la relación V_D/V_A) sobre el proceso total cuando, manteniendo constante F_A , se varía F_D . Ambos procesos aumentan al hacerlo el valor de F_D y ambos contribuyen positivamente al ΔA a 521 nm. Para cada valor de F_A el incremento ocurre en el mismo sentido, aumentando con el valor de F_D/F_A .

No obstante el hecho de que la magnitud del proceso de difusión gaseosa aumente con F_A hasta $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y después permanezca constante, introduce una diferencia en las experiencias en las que se varía F_D manteniendo F_A constante.

En la Figura 267 se representan dos experiencias en las que $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, concretamente para $F_A = 0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. En negro se indica el resultado experimental de ΔA a 521 nm , en azul los valores calculados a partir de la experiencia de menor valor de F_D , teniendo en cuenta la relación V_D/V_A , esto es cómo si sólo ocurriera el proceso de concentración, y en rojo la diferencia entre los valores anteriores, que muestra la contribución del proceso de difusión gaseosa con el valor de F_D .

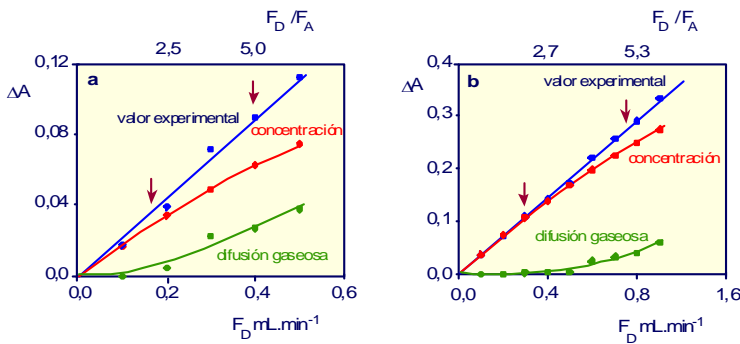


Figura 267. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Evolución de la señal analítica al variar F_D y mantener constante F_A . Contribución del proceso de difusión gaseosa y el proceso de concentración (V_D/V_A). a) $F_A = 0,08 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y b) $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Comparando ambas experiencias se comprueba que el valor experimental de ΔA para un mismo valor de F_D , es mayor cuanto más alto es el valor de F_A , como ya se había comprobado. Cuanto mayor es de F_A mayor es la contribución del proceso de concentración (V_D/V_A) sobre el incremento de la señal analítica. Al aumentar el valor de F_D , en la experiencia en la que $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ los valores experimentales de ΔA y los calculados como contribución del proceso de concentración prácticamente coinciden hasta un valor de $F_D = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Como consecuencia de lo anterior, la contribución del proceso de difusión gaseosa, si bien aumenta en ambas experiencias a medida que lo hace el valor de F_D , este aumento es diferente según sea el valor de F_A . Así para $F_D = 0,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, si $F_A = 0,80 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, la contribución del proceso de difusión se

incrementa en un 51 %, mientras que si $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ esta contribución es del 4 %.

En las experiencias en las que $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, el proceso de concentración, como consecuencia de la variación de V_D/V_A , contribuye más a la señal analítica final cuanto mayor es F_A , siendo la contribución del proceso de difusión gaseosa de sentido contrario, para un mismo valor de F_D es mayor cuanto menor es F_A .

Estos dos hechos explican que para valores de $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ la señal analítica que se obtiene para un mismo valor de F_D/F_A (en la Figura 267 se han indicado con flechas los valores de 2,0 y 5,0) sea diferente según sea el valor de F_A .

Muy diferente es la situación en experiencias en las que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, aunque individualmente tengan un comportamiento como el indicado en la Figura 266, a medida que se incrementa el valor de F_D . Para estos valores de F_A la contribución del proceso de concentración (V_D/V_A) y del proceso de difusión gaseosa presentan diferencias respecto a las experiencias en las que $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Estas diferencias están marcadas por el hecho de que el proceso de difusión gaseosa permanece constante e independiente de F_A para valores iguales o superiores a $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, lo que permite comprobar con más claridad la contribución del proceso de difusión gaseosa con el incremento del valor de F_D .

En la Figura 268 se representan los valores de ΔA a 521 nm obtenidos para $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_A = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Se han representado en negro los valores experimentales, en azul los valores deducidos teniendo en cuenta que sólo ocurre el proceso de concentración (V_D/V_A) y en rojo el valor deducido de la contribución del proceso de difusión gaseosa (en realidad es incremento del proceso de difusión gaseosa desde la experiencia de valor de F_A más pequeño).

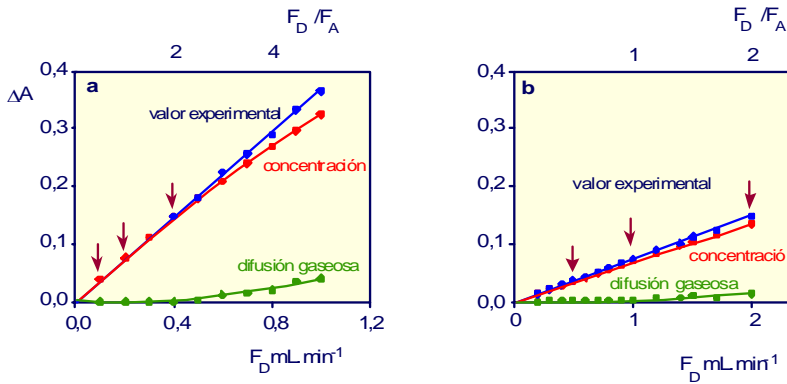


Figura 268. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Evolución de la señal analítica al variar F_D y mantener constante F_A . Contribución del proceso de difusión gaseosa y el proceso de concentración (V_D/V_A). a) $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y b) $F_A = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

En la Figura 269, se esquematiza la experiencia de $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ variando F_D desde $0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Se representa la evolución del valor de V_A con F_D así como el incremento del proceso de difusión gaseosa expresado en tanto por ciento, calculado a partir de la diferencia de ΔA experimental y ΔA teórico debido al proceso de concentración.

De la comparación de las dos experiencias de la Figura 268 se deducen las siguientes observaciones: a diferencia de lo que ocurría en las experiencias en las que $F_A < 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, cuando $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ la señal analítica para un valor de F_D constante es menor cuanto mayor es el valor de F_D . Como el proceso de difusión gaseosa se mantiene constante, para un valor de F_D , sea cual sea el valor de F_A (siempre que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) sólo puede explicarse por el hecho de que este proceso esté controlado por la relación F_D/F_A , como veremos a continuación.

En la Figura 268 puede comprobarse como cuanto mayor es F_A , más se parecen los valores experimentales de ΔA a los valores calculados si sólo ocurriera el proceso de concentración (V_D/V_A) en función de la variación del valor de F_D .

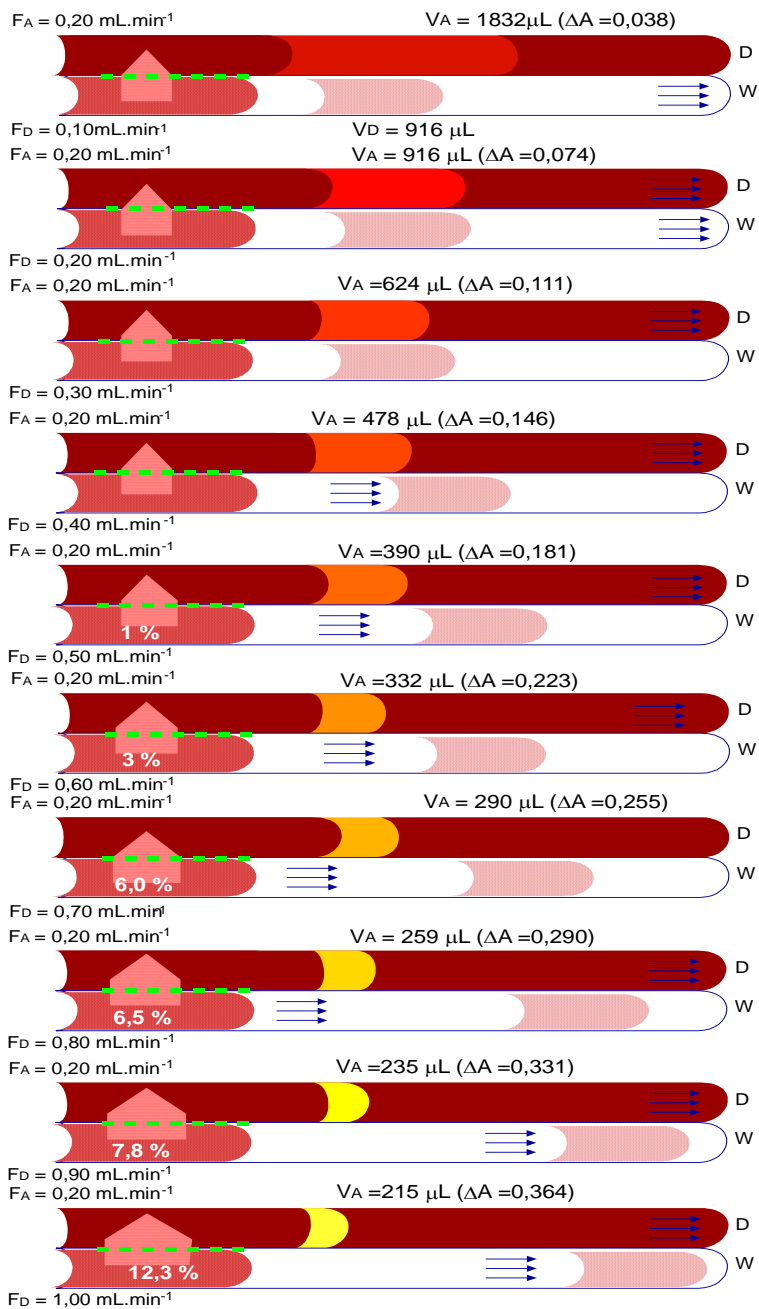


Figura 269. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora. Explicación de la variación de la señal analítica, ΔA a 521 nm, en función de F_D , manteniendo constante F_A . El tamaño de las flechas indica la magnitud relativa del proceso de difusión gaseosa.

Para las dos experiencias, $F_A = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$ y $F_A = 1,00 \text{ mL.min}^{-1}$, los valores experimentales de ΔA y los valores teóricos calculados teniendo en

cuenta el proceso de concentración, son prácticamente coincidentes hasta valores de $F_D = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_D = 1,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ respectivamente, lo que corresponde en ambas experiencias a valores de F_D/F_A entre 1,4 y 1,5. Por encima de este valor la diferencia entre los valores teóricos y experimentales antes mencionados, es mayor cuanto menor es el valor de F_A , luego en este sentido se incrementa la contribución del proceso de difusión gaseosa.

El incremento en la contribución del proceso de difusión gaseosa con el valor de F_D , es muy pequeño, por ejemplo del 12 % para $F_D = 1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, en la experiencia de $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, respecto al valor inicial de F_D de $0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. En la experiencia en que $F_A = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, el incremento es aún menor y difícil de evaluar por las diferencias tan pequeñas en los valores de ΔA experimentales y teóricos.

En estas experiencias en las que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, la señal analítica ΔA a 521 nm depende de la relación F_D/F_A . Así en la Figura 266 se han marcado para las dos experiencias tres valores de F_D/F_A , 0,5, 1,0 y 2,0 para que se compruebe que el valor de ΔA es idéntico para cada valor de F_D/F_A .

La contribución del proceso de difusión gaseosa hay que estudiarla en función de la variación de F_D/F_A y como los datos de las dos experiencias de la Figura 268 sólo aportan como información que esta contribución parece constante hasta $F_D/F_A \cong 2$, se obtienen todos los datos posibles a partir de todas las experiencias en las que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_D varía desde $0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $2,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

En la Figura 270 se han representado en azul los valores de ΔA experimentales para todas las experiencias en las que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (ver Tabla 102) frente al valor de F_D/F_A que como ya comentamos se ajustan a la ecuación de una línea recta.

Tomando como dato de partida el valor de ΔA de $F_D = 0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para cada serie de valores de F_A excepto para la serie de $F_A = 0,80 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_A = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ que se toma el de $F_D = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y para la serie de $F_A = 1,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ en el que se toma el de $F_D = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, se calculan los valores de ΔA que presentarían las demás experiencias de la serie teniendo en cuenta el

proceso de concentración por la variación del correspondiente valor de V_D/V_A (ver Tabla 103).

Dichos valores se han representado, en la Figura 270, en rojo y en forma de banda del mismo color la variación obtenida a partir de los datos experimentales.

La diferencia entre los valores de ΔA experimentales (en azul) y los valores de ΔA calculados teniendo en cuenta el proceso de concentración (V_D/V_A) (en rojo) se representa en verde y nos sirve para estimar la contribución del proceso de difusión gaseosa en función de la variación del valor F_D/F_A . También se ha representado en forma de banda la variación de los valores deducidos para cada F_D/F_A .

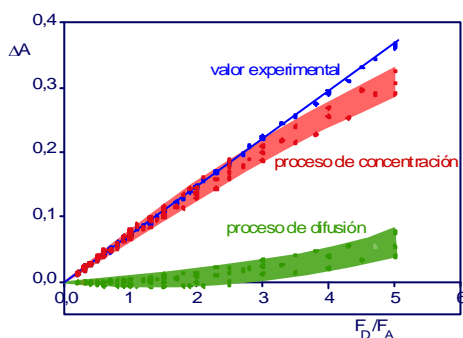


Figura 270. Contribución de los procesos de concentración (V_D/V_A) y difusión gaseosa a la señal analítica experimental en función del valor de F_D/F_A . Experiencias en las que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

De la observación de los resultados obtenidos y plasmados en la Figura 268 se deduce que el incremento de la señal analítica, ΔA a 521 nm, al aumentar el valor de F_D/F_A , en las experiencias en las que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, se debe fundamentalmente al proceso que hemos denominado de concentración (variación del valor de V_A con la variación de F_A , pues V_D permanece prácticamente constante).

Hasta un valor de $F_D/F_A \cong 1,5 - 1,6$, la contribución del proceso de difusión gaseosa se mantiene prácticamente constante, incrementándose posteriormente tanto más cuanto mayor es el valor de F_D/F_A siendo su máxima contribución de un 20 % sobre el proceso total.

Las variaciones de los valores teóricos, anchura de las bandas verde y roja, puede que estén relacionadas con el hecho de que para la obtención de los valores de V_A y V_D siempre se ha despreciado el proceso de dispersión de los “bolos aceptor y dador”. La mayor fluctuación se obtiene para valores altos de F_D/F_A , donde F_A es pequeño, que es donde más debe afectar el proceso de dispersión del “bolo aceptor”.

Comprobación de los resultados pasando en continuo la disolución de NH_4^+

La contribución del proceso de difusión gaseosa y del proceso de concentración/dilución sobre la señal analítica final, al modificar los valores de F_A y F_D , se ha deducido despreciando el proceso de dispersión que ocurre cuando el “bolo aceptor” se mueve desde el módulo de difusión gaseosa hasta el detector. Este proceso de dispersión ensancha el “bolo del aceptor” y lo diluye, disminuyendo la señal analítica final.

Con el fin de comprobar como evoluciona, ΔA a 521 nm, en ausencia del proceso de dispersión del “bolo aceptor”, utilizando el esquema de flujo de la Figura 243-a, se hace pasar en continuo la disolución patrón de NH_4^+ de 1,0 mg.L⁻¹ de concentración. El resto de condiciones fijadas se mantienen en los mismos valores que se utilizaron cuando se inyectaba la disolución patrón de NH_4^+ : [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; temperatura de termostatación: 50°C.

Se modifican los valores de F_D desde 0,1 mL.min⁻¹ hasta 2,0 mL.min⁻¹ (manteniendo las velocidades de flujo de C_3 y C_4 iguales, justo en la mitad del valor de F_D), mientras que F_A se varía desde 0,05 mL.min⁻¹ hasta 1,50 mL.min⁻¹ (manteniendo iguales las velocidades de flujo de las disoluciones que fluyen por C_1 y C_2 y justo en la mitad del valor de F_A).

Con el fin de que la disolución de NH_4^+ al atravesar el reactor termostatado a 50 °C adquiera el mismo gradiente de temperatura al variar el valor de F_D , la longitud del reactor se modifica desde 42 cm ($F_D = 0,10$ mL.min⁻¹) hasta 840 cm ($F_D = 2,0$ mL.min⁻¹), Tabla 97, de forma que en todas las

experiencias el tiempo de contacto de la disolución patrón de NH_4^+ con la zona termostataada a 50 °C, es de 50 segundos.

Los resultados obtenidos al variar F_A y F_D , como media de tres experiencias, se muestran en la Tabla 106. En este caso ΔA a 521 nm se mide desde el valor de la línea base hasta el valor de absorbancia constante que alcanza la señal analítica, Figura 247-b. En la Tabla 106 sólo se indican los valores de ΔA de las experiencias en las que la línea base no sufre alteraciones debido al contacto entre las disoluciones ya comentado, que ocurre cuando $F_D/F_A > 5$ o cuando $F_A/F_D > 6$.

Si se comparan los valores de ΔA obtenidos al pasar continuamente la disolución de NH_4^+ (Tabla 106) con los obtenidos al inyectar 408 μL de la misma disolución (Tabla 102) se observa con claridad que, sea cual sea el valor de F_A o F_D , son más altos en el primer caso que en el segundo. Este hecho era lo esperado pues al pasar en continuo la disolución de analito, NH_4^+ , se elimina la dispersión del “bolo aceptor” al tener este un tamaño que tiende a infinito (en realidad es finito pues sólo se pasa la disolución de NH_4^+ durante el tiempo necesario para registrar la señal analítica, pero es mucho más grande que en la técnica clásica en la que se inyectan 408 μL).

Tabla 106. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, F_D y F_A en la determinación de NH_4^+ en flujo continuo mediante la técnica inversa pasando en continuo la disolución patrón de NH_4^+ . [RMI]: $9,95 \times 10^{-5}$ M ; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[NH_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; T: 50 °C. ■ $F_D > F_A = 1,0$; ■ $F_D = F_A$; ■ F_D/F_A .

F_A mL.min ⁻¹	F_D , mL.min ⁻¹														
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,2	1,4	1,5	1,7	2,0
	ΔA , 521 nm														
0,05	0,030	0,059	0,106												
0,08	0,043	0,104	0,178	0,234	0,305										
0,10	0,050	0,119	0,196	0,255	0,337	0,379									
0,15	0,074	0,165	0,257	0,346	0,431	0,519	0,607	0,682	0,725						
0,20	0,068	0,128	0,186	0,261	0,324	0,408	0,459	0,522	0,592	0,655					
0,30	0,040	0,090	0,124	0,170	0,219	0,258	0,301	0,353	0,404	0,431	0,524	0,612	0,653		
0,40	0,028	0,063	0,093	0,126	0,160	0,191	0,223	0,259	0,286	0,319	0,396	0,479	0,494	0,544	0,658
0,60	0,016	0,046	0,065	0,079	0,104	0,127	0,145	0,167	0,187	0,216	0,262	0,303	0,323	0,366	0,426
0,80		0,026	0,040	0,062	0,077	0,094	0,109	0,123	0,140	0,155	0,187	0,227	0,245	0,273	0,321
1,00			0,035	0,047	0,063	0,072	0,086	0,099	0,114	0,123	0,155	0,178	0,191	0,222	0,260
1,50			0,022	0,031	0,035	0,046	0,060	0,067	0,074	0,082	0,102	0,116	0,125	0,140	0,167

Para profundizar en el efecto de la eliminación del proceso de dispersión sobre la señal analítica al variar las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, recurrimos a la comparación de valores de ΔA a 521 nm, fijando F_A y variando F_D , o viceversa.

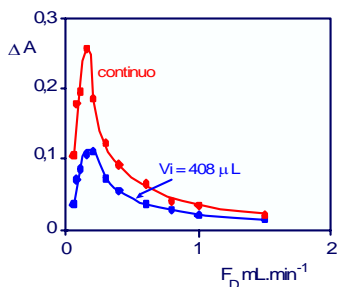


Figura 271. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, F_D y F_A , sobre la señal analítica, ΔA a 521 nm. Comparación de los valores obtenidos por la técnica clásica de inyectar 408 μL de disolución de NH_4^+ o pasando ésta constantemente. Valores para $F_D = 0,30$ mL.min⁻¹ y F_A desde 0,05 hasta 1,5 mL.min⁻¹. [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M ; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[NH_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; T: 50 °C

En la Figura 271, a modo de ejemplo, se representa la señal analítica, ΔA a 521 nm, obtenida al pasar en continuo la disolución de NH_4^+ con una velocidad de flujo constante, F_D , de 0,30 mL.min⁻¹ y variando la velocidad de flujo de la disolución aceptora, F_A , desde 0,05 mL.min⁻¹ hasta 1,5 mL.min⁻¹. Se representa conjuntamente la variación de la señal analítica, en las mismas condiciones, que se obtuvo al inyectar 408 μL de la disolución de analito.

La evolución cualitativa, de la señal analítica es similar en ambos casos.

Inicialmente, desde $F_A = 0,05$ mL.min⁻¹, la señal analítica aumenta considerablemente a medida que lo hace el valor de F_A , alcanzando un valor máximo a partir del cual comienza a disminuir a medida que aumenta F_A .

En todos los casos la señal analítica que se obtiene al pasar en continuo la disolución de amonio es mayor que la que se obtiene, en el mismo valor de F_A , al inyectar la disolución de analito. Para $F_A = 0,05$ mL.min⁻¹ este incremento supone un aumento del 210 %, para $F_A = 0,08$ mL.min⁻¹ es de 145 %, para $F_A = 0,10$ mL.min⁻¹ es del 129 % y para $F_A = 0,15$ mL.min⁻¹ y del 108 %.

Este hecho indica que al aumentar el valor de F_A desde 0,05 hasta 0,15 mL.min⁻¹, aumenta el rendimiento del proceso de difusión gaseosa, pero

aumenta relativamente más cuanto menor es el valor de F_A , pues desaparece el proceso de dispersión del “bolo aceptor” que es mayor, en la técnica en la que se inyecta el analito, cuanto menor es F_A .

La no existencia del proceso de difusión del “bolo aceptor” es el motivo por el cual el máximo de la señal analítica, cuando la disolución de analito se pasa en continuo, se alcanza para $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ en vez de para $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ que se alcanza cuando el analito es inyectado. En este último caso, la dispersión para $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ es mayor que para $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, lo que hace que la señal analítica sea menor a $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ cuando se inyecta el analito que cuando se pasa en continuo, quedando menos afectada la señal obtenida a $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Para valores de $F_A > 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (cuando el analito se pasa en continuo) ΔA disminuye tanto más cuanto mayor es el valor de F_A . Cuanto mayor es el valor de F_A , menor es la diferencia entre los valores de ΔA obtenidos al pasar en continuo la disolución de NH_4^+ y al inyectarla.

Este resultado es lógico si se tienen en cuenta que cuanto mayor es F_A , menor es la dispersión del “bolo aceptor”.

Este descenso de la señal analítica, al aumentar el valor de F_A por encima de $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ cuando la disolución de analito se pasa en continuo (igual ocurre por encima de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para el caso en que se inyecte el analito, $408 \mu\text{L}$), solo es posible si disminuye drásticamente el rendimiento en el proceso de difusión gaseosa a través de la membrana, al aumentar el valor de F_A o también que, a pesar de pasar en continuo la disolución de analito y no existir dispersión en la disolución aceptor, existe un proceso de dilución/concentración debido al hecho de ser diferentes los valores de F_A y F_D y tener en cuenta que el proceso de difusión gaseosa sólo ocurre a través de una semicámara (donde está la membrana) que tiene un volumen interno de $40 \mu\text{L}$.

La primera opción no parece factible si se tiene en cuenta que cuando se inyecta el analito, el descenso en la señal analítica al aumentar F_A , ya demostramos que se debía al proceso de dilución, manteniéndose constante prácticamente el proceso de difusión gaseosa (Figuras 263 y 264). Además esto

ocurre cuando $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, valor por encima del cual la dispersión del “bolo aceptor” disminuye con el valor de F_A .

La única opción posible para poder explicar lo que ocurre, tanto al inyectar el analito como al pasarlo en continuo, en función de F_A , por encima de $0,15$ o $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, es que al aumentar F_A aumente la relación V_A/V_D y disminuya la señal analítica por dilución, manteniéndose constante el rendimiento en el proceso de difusión gaseosa.

Aunque la disolución de analito se pase de manera continua, siempre hay un volumen de disolución aceptor que se pone en contacto, a través de la membrana, con el volumen de disolución dadora que ocupa la semicámara inferior del módulo, $40 \mu\text{L}$. Se puede considerar que la disolución dadora está constituida por “segmentos de $40 \mu\text{L}$ ” que transfieren el NH_3 sobre “segmentos de disolución aceptor” cuyo volumen depende de F_A y F_D .

Para valores de $F_A > F_D$, el volumen de los “segmentos de disolución aceptor” es $V_A = V_D (F_A/F_D)$, siendo $V_D = 40 \mu\text{L}$.

Para valores de $F_A < F_D$, el volumen de los “segmentos de disolución dadora” es menor que el “volumen de los “segmentos de disolución aceptor” y en este caso, a diferencia de cuando se inyecta el analito, al ser dos disoluciones homogéneas, no hay “bolo dador”, la disolución dadora estaría constituida por “segmentos” continuos e iguales de $40 \mu\text{L}$, que transfieren el NH_3 gaseoso sobre “segmentos” continuos e iguales de disolución aceptor cuyo volumen depende de F_A y F_D (Figura 272)

Así, por ejemplo, tomando los datos de la experiencia en la que $F_D = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_A se modifica desde $0,05$ hasta $1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, el ΔA , para las experiencias en que $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (el máximo) es de $0,257$. El cálculo de V_A que entra en contacto con $40 \mu\text{L}$ (V_D) conduce a un valor de $20 \mu\text{L}$; el significado real es que, cada dos “segmentos dadores”, $80 \mu\text{L}$ entran en contacto con un “segmento aceptor” de $40 \mu\text{L}$. Al pasar de la experiencia de $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a la de $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, teniendo en cuenta que el valor de V_A que resulta es de $26,7 \mu\text{L}$, se obtiene a un valor teórico de ΔA por dilución de $0,192$, siendo el experimental de $0,186$.

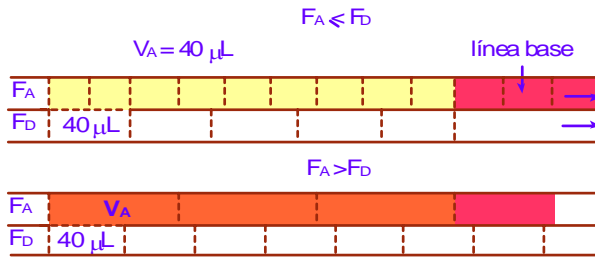


Figura 272. Generación de “segmentos de disolución aceptora” a partir del “segmento de $40 \mu\text{L}$ ” de la disolución dadora. El volumen de los segmentos de la disolución aceptora depende de F_A/F_D .

Al pasar de la experiencia de $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($\Delta A_{\text{exp}} = 0,186$, $V_A = 26,7 \mu\text{L}$) a la de $F_A = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($\Delta A_{\text{exp}} = 0,124$, $V_A = 40 \mu\text{L}$) resulta un valor teórico de ΔA de $0,124$, coincidente con el experimental. Al pasar de ésta última experiencia a la de $0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($\Delta A_{\text{exp}} = 0,093$, $V_A = 53,3 \mu\text{L}$) resulta un valor idéntico para ΔA de $0,093$, si se tiene en cuenta la dilución. Resultados igual de concordantes se obtienen para valores de F_A superiores.

Se confirma así que la bajada de señal analítica por encima de $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ se debe al proceso de dilución debido a la variación de los “volúmenes del segmento de disolución aceptora” con el valor de F_A , para un valor de F_D constante. Se deduce que el proceso de difusión gaseosa a través de la membrana, por encima de $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, se mantiene prácticamente constante e independiente del valor de F_A .

La teoría de los “segmentos de disolución aceptora” y “segmento de disolución dadora” sirve para reafirmar la subida de señal analítica, ΔA , desde $F_A = 0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Debido a la dilución la señal teórica de ΔA a 521 nm debería de disminuir al aumentar F_A . Como experimentalmente aumenta, se deduce que desde $F_A = 0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ el proceso de difusión gaseosa a través de la membrana se incrementa considerablemente.

El comportamiento observado para la experiencia en la que F_D se mantiene en $0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_A varía entre $0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, es idéntico al obtenido para otros valores de F_D (Figura 273). Para todos los valores de F_D , el valor máximo para la señal analítica se obtiene para $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, recordando que a partir de $F_D = 0,7 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ es imposible obtener los

valores de ΔA a 521 nm para aquellos valores de F_A que superan la relación $F_A/F_D > 5,3$. Comparando las experiencias en que es posible medir el valor de ΔA para los diferentes valores de F_A se deduce que el máximo valor se obtiene cuanto mayor es el valor de F_D (0,80 mL.min⁻¹ es el valor máximo que se ha podido medir).

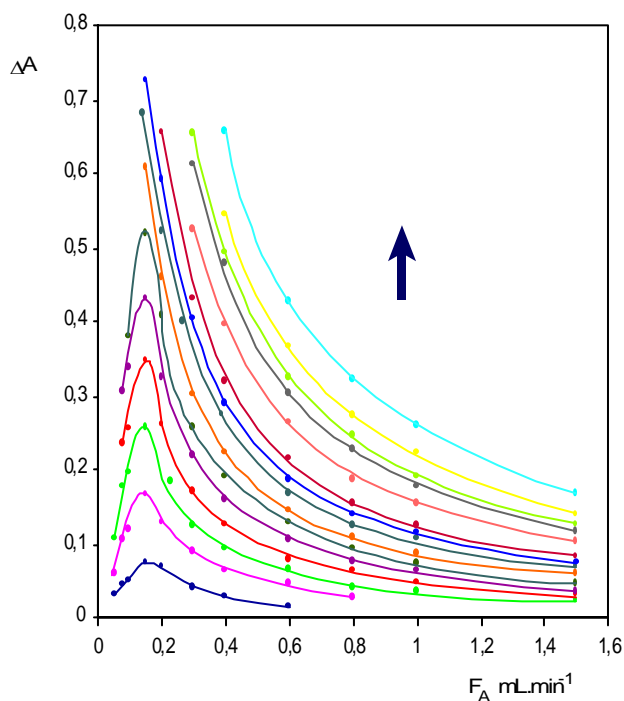


Figura 273. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, F_D y F_A , sobre la señal analítica, ΔA a 521 nm. Técnica inversa pasando en continuo la disolución patrón de NH_4^+ . Experiencias manteniendo constante F_D y variando el valor de F_A . [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[\text{NH}_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; T: 50 °C

En cuanto a la influencia de la velocidad de flujo de la disolución dadora se refiere, en la Figura 274 se han representado los valores de ΔA a 521 nm obtenidos a partir de las experiencias en que se fija F_A y se varía F_D desde 0,10 mL.min⁻¹ hasta 2,0 mL.min⁻¹.

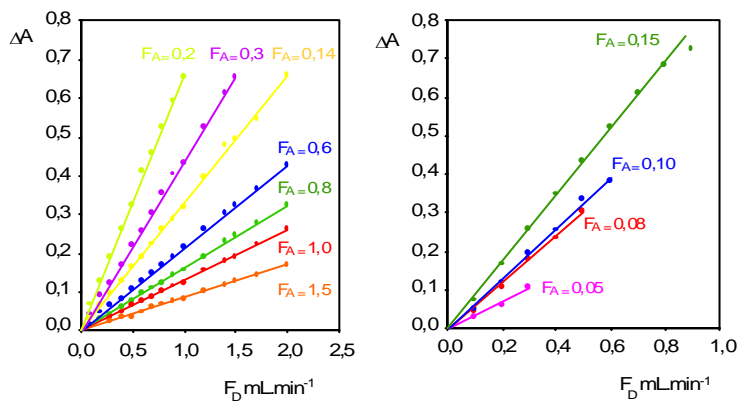


Figura 274. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, F_D y F_A , sobre la señal analítica, ΔA a 521 nm. Técnica inversa pasando en continuo la disolución patrón de NH_4^+ . Experiencias manteniendo constante F_A y variando el valor de F_D . [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; [NH_4^+]: 1,0 mg.L⁻¹; T: 50 °C.

Al igual que ocurriera en las experiencias en las que se inyectaban 408 μL de disolución patrón de NH_4^+ , en todos los casos la variación de la señal analítica variando F_D , para cada valor de F_A , se ajusta a líneas rectas cuyas ecuaciones son:

F_A	ECUACIÓN	R^2
0,05	$\Delta A = (0,0 \pm 0,01) + (0,4 \pm 0,6) F_D$	0,9816
0,08	$\Delta A = (-0,03 \pm 0,02) + (0,66 \pm 0,06) F_D$	0,9975
0,10	$\Delta A = (-0,01 \pm 0,02) + (0,68 \pm 0,06) F_D$	0,9950
0,15	$\Delta A = (0,01 \pm 0,02) + (0,78 \pm 0,03) F_D$	0,9982
0,20	$\Delta A = (0,00 \pm 0,01) + (0,66 \pm 0,02) F_D$	0,9990
0,30	$\Delta A = (0,00 \pm 0,01) + (0,44 \pm 0,01) F_D$	0,9994
0,40	$\Delta A = (0,00 \pm 0,02) + (0,38 \pm 0,02) F_D$	0,9913
0,60	$\Delta A = (0,005 \pm 0,003) + (0,218 \pm 0,003) F_D$	0,9994
0,80	$\Delta A = (-0,006 \pm 0,002) + (0,165 \pm 0,003) F_D$	0,9992
1,0	$\Delta A = (-0,006 \pm 0,002) + (0,132 \pm 0,002) F_D$	0,9993
1,5	$\Delta A = (-0,003 \pm 0,002) + (0,086 \pm 0,002) F_D$	0,9979

La explicación del comportamiento en función de F_D para cada experiencia en que F_A se mantiene constante es similar a la dada para el caso en que se inyecta la disolución patrón (Figura 265; 266).

A medida que aumenta el valor de F_D , disminuye el volumen de los “segmentos de disolución aceptora” por lo que aumenta el proceso de concentración desde $F_D = 0,1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta el valor más alto de F_D , razón por la cual se incrementa la señal analítica en función del factor F_A/F_D .

El proceso de concentración es el proceso que más contribuye al incremento en la señal analítica, aumentando el proceso de difusión gaseosa con el valor de F_D , pero en menor medida.

Si se toma como ejemplo, la experiencia en la que $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y F_D se varía desde $0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ se obtienen los siguientes resultados: La primera experiencia en que $F_D = 0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 80 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,064$) conduce al pasar a $F_D = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 40 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,128$) a un valor de ΔA de $0,128$; para la experiencia de $F_D = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 26,7 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,186$) se obtiene un valor de ΔA de $0,191$; para la experiencia de $F_D = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 20 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,261$) se obtiene un valor de ΔA de $0,256$; para la experiencia de $F_D = 0,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 16 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,324$) se obtiene un valor de ΔA de $0,320$; para la experiencia de $F_D = 0,60 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 13,3 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,409$) se obtiene un valor de ΔA de $0,384$; para la experiencia de $F_D = 0,70 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 11,4 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,477$) se obtiene un valor de ΔA de $0,449$; para la experiencia de $F_D = 0,80 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 10 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,522$) se obtiene para $\Delta A = 512$ y para la última experiencia, la de $F_D = 0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($V_A = 8,9 \text{ }\mu\text{L}$; $\Delta A_{\text{exp}} = 0,655$) se obtiene para ΔA un valor de $0,575$.

Puede observarse una situación similar a la esquematizada en la Figura 269. La contribución del proceso de difusión se mantiene constante prácticamente hasta el valor de F_D de $0,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, incrementándose posteriormente desde un 6 % para $F_D = 0,6 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta un 12 % para el valor de F_D más alto, $0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Al comparar todas las experiencias conjuntas, Figura 274, se observa que la pendiente de las líneas rectas (ΔA frente a F_D) aumenta inicialmente

desde $F_A = 0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, disminuyendo posteriormente a medida que aumenta el valor de F_A . Al pasar en continuo la disolución patrón de NH_4^+ , se obtiene el valor máximo para la señal analítica cuando $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_D = 0,8 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

La comparación del valor de las pendientes de las líneas rectas obtenidas en las experiencias en las que F_A se mantiene constante y F_D varía, Figura 275, para el caso en que se inyecta la disolución patrón de NH_4^+ y cuando se pasa en continuo, nos indica que el incremento obtenido con la última técnica varía desde un 400 % para la experiencia en la que $F_A = 0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ hasta un 80 % para la experiencia en la que $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, manteniéndose posteriormente en este valor hasta la última experiencia $F_A = 1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Este resultado experimental está relacionado con la mayor o menor dispersión del “bolo de disolución aceptora”, para la técnica en la que se inyecta la disolución patrón de NH_4^+ . Cuando mayor sea esta dispersión mayor diferencia se obtendría con la misma experiencia realizada en continuo. Para un mismo valor de F_D la dispersión del “bolo” es mayor cuanto menor es el valor de F_A , y al ser menor el volumen de “bolo aceptor” (ver Tabla 101); en el mismo sentido esto explica que la mayor diferencia entre los valores de ΔA se obtengan para los valores de F_A más bajos; entre $0,05 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Para valores de F_A superiores a $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ la dispersión es menor cuanto mayor es F_D , si bien la diferencia no se nota o manifiesta por estar compensada por el proceso de concentración: a menor valor de F_A , para un mismo valor de F_D , menor es V_A y por el incremento del proceso de difusión gaseosa mayor cuanto más alto es el valor de F_D .

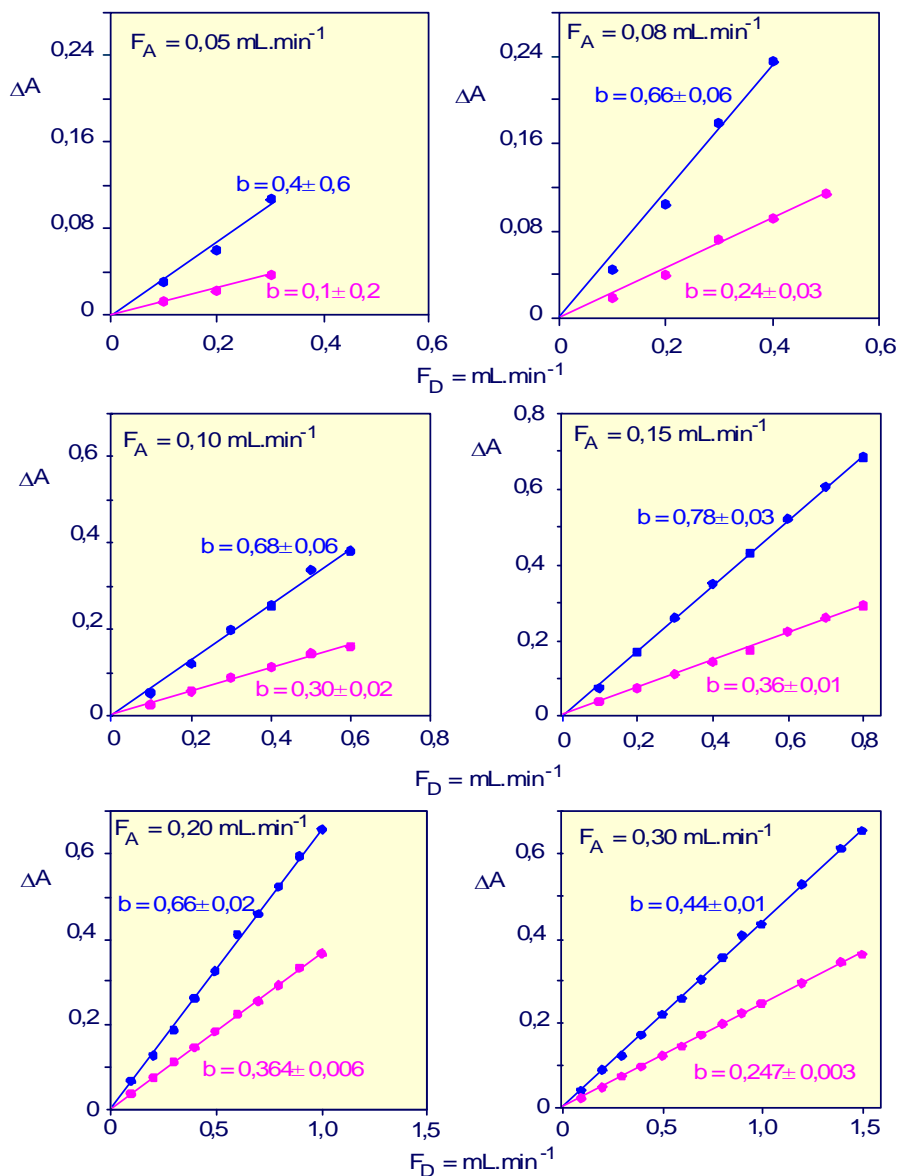


Figura 275. Influencia de la velocidad de flujo de la disolución dadora, F_D , sobre la señal analítica, ΔA a 521 nm. Resultados comparativos al pasar en continuo la disolución patrón de NH_4^+ y al inyectar $408 \mu\text{L}$ de dicha disolución. $[\text{RM}]$: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{HCl}]$: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}]$: $0,012 \text{ M}$; $[\text{NH}_4^+]$: $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; T : 50°C .

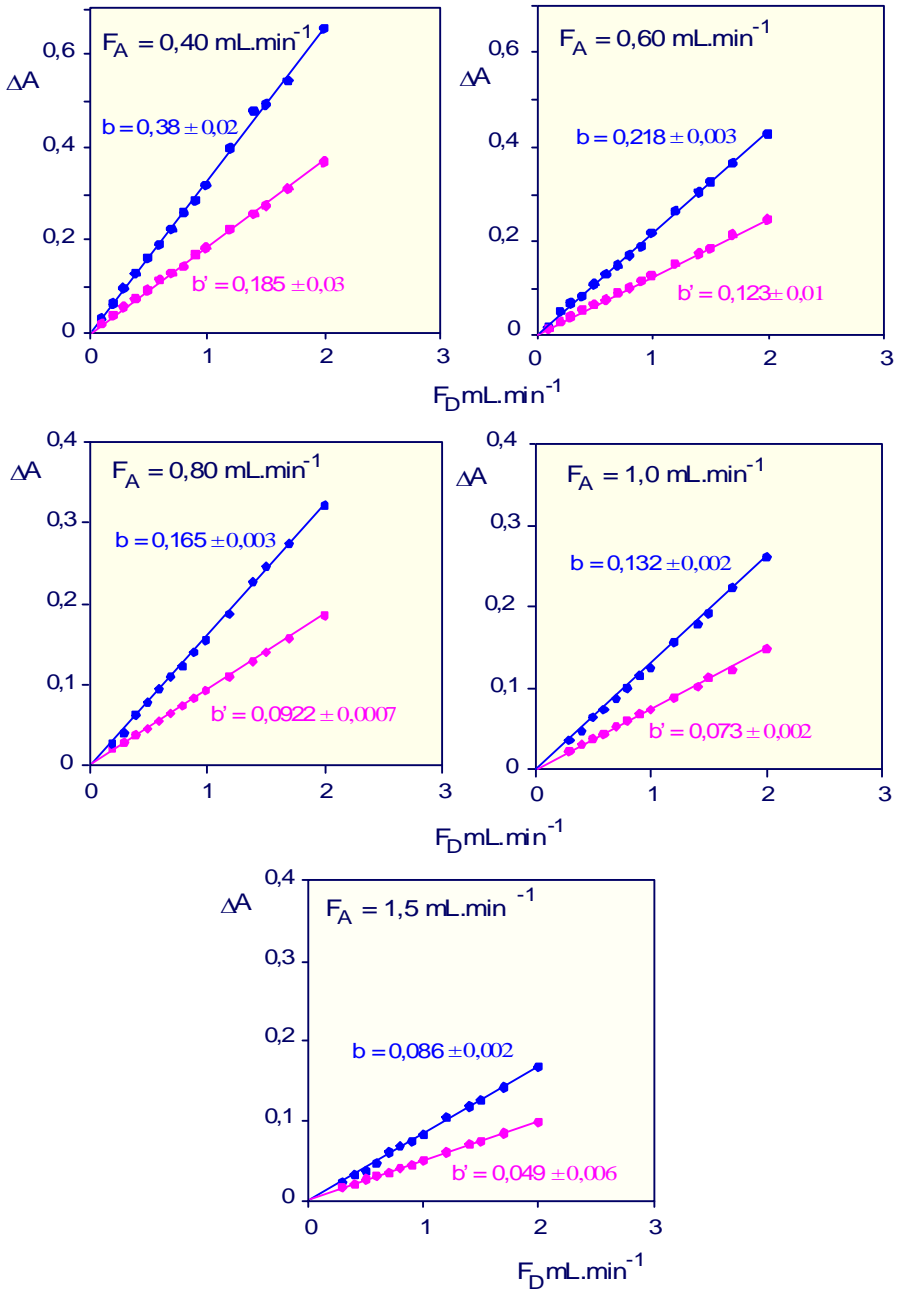


Figura 274. Continuación

Al igual que ocurriera en la técnica en la que se inyectaba el analito, técnica en continuo, pero en este caso a partir de $F_A \geq 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, los valores de ΔA , dependen de la relación de velocidades de flujo, F_D/F_A . La suma de las contribuciones de los procesos de concentración (V_D/V_A) y de difusión gaseosa a través de la membrana (ver Figura 269) hace que experimentalmente la señal analítica, ΔA , frente a F_D/F_A se ajusta a una línea recta, Figura 276, de ecuación:

$$\Delta A = (0,001 \pm 0,002) + (0,129 \pm 0,002) \frac{F_D}{F_A}$$

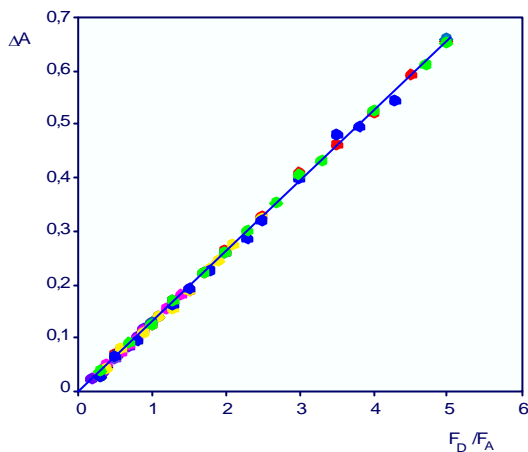


Figura 276. Influencia de la relación de velocidades de flujo, F_D/F_A , sobre la señal analítica, ΔA a 521 nm, para la técnica en la que la disolución patrón de NH_4^+ se pasa en continuo, para $F_A \geq 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. [RM]: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; [NaOH]: $0,012 \text{ M}$; [NH_4^+]: $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; T: $50 \text{ }^\circ\text{C}$.

Comparada con la ecuación obtenida para los valores en que $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ en el caso en que se inyecten $408 \mu\text{L}$ de la disolución patrón de NH_4^+ , presenta un mayor valor de pendiente ($0,129$ frente a $0,074$) como consecuencia del incremento de la señal analítica, ΔA , solo por la eliminación del proceso de dispersión del “bolo aceptor”.

CONCLUSIONES PRÁCTICAS DEL ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LAS VELOCIDADES DE FLUJO. CORRELACIONES EMPÍRICAS ENTRE LA SEÑAL ANALÍTICA Y LAS VARIABLES F_D/F_A , V_i Y TEMPERATURA.

Del estudio de la influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones aceptoras, F_A , y dadora, F_D , se puede concluir que la transferencia

de NH_3 a través de la membrana de difusión gaseosa se incrementa con el valor de F_A , alcanzando un valor constante para $0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ cuando se inyecta en el sistema la disolución de NH_4^+ y para $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ cuando se pasa en continuo como disolución dadora.

Por otra parte, sea cual sea el valor de F_A , y debido fundamentalmente al que hemos denominado proceso de concentración, cuanto mayor es el valor de F_D , menor es V_A y mayor es la concentración de NH_3 recogida por la disolución aceptora.

Para valores de $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, cuando se inyecta la disolución de analito y $F_A \geq 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ cuando se pasa en continuo, la concentración de NH_3 recogida en la disolución aceptora es directamente proporcional a la relación de velocidades de flujo F_D/F_A .

Por lo tanto, para obtener la máxima sensibilidad posible en la determinación de NH_4^+ interesa trabajar en las siguientes condiciones experimentales:

Técnica clásica (inyección):

$F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 5,0$)

$F_A = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 1,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 5,0$)

$F_A = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 2,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 5,0$)

Técnica inversa (continuo):

$F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 6,0$)

$F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 0,80 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 5,3$)

$F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 5,0$)

$F_A = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 1,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 5,0$)

$F_A = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 2,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, ($F_D/F_A = 5,0$)

valores de F_D/F_A superiores a los indicados, como ya hemos comentado, no son posibles debido a que provocan, como consecuencia de la diferencia de presiones a ambos lados de la membrana el paso de gotículas de una fase a la otra alterando seriamente la línea base.

En las condiciones de F_A y F_D enunciadas se obtienen valores similares para la señal analítica, ΔA a 521 nm, en la técnica clásica en la que se inyecta el analito y valores que difieren un 5 % o un 10 % en la técnica inversa (continuo) de las condiciones de máxima sensibilidad ($F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_D = 0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

A la hora de escoger entre este amplio abanico de posibilidades experimentales, además de tener en cuenta la sensibilidad es necesario considerar otras dos características muy importantes en las técnicas de flujo continuo que utilizan membrana, como método separativo, como son la *velocidad de determinación y la vida media de las membranas*.

En cuanto a la velocidad de determinación se refiere, viene determinada por el valor del tiempo de aparición, t_a , y por la anchura en la línea base, Δt . En las Tablas 107 y 108 se indican las experiencias en las que se inyectan 408 μL de disolución patrón de NH_4^+ de 1,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración.

Puede observarse en dichas tablas como cuanto mayor es el valor de F_A y más alto es el valor de F_D , menores son el tiempo de aparición, t_a , así como la anchura del fiagrama en la línea base, Δt . Por lo tanto cuanto mayores sean F_A y F_D , mayor será la velocidad de determinación. Desde este punto de vista, en la técnica clásica en la que se inyectan 408 μL , se combinan sensibilidad y velocidad de determinación más favorables trabajando con $F_A = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_D = 2,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

En cuanto a la técnica inversa, en la que se pasa en continuo la disolución patrón de NH_4^+ , el tiempo de aparición del fiagrama, t_a , es el tiempo que tarda la disolución de NH_4^+ desde que comienza a fluir hasta que llega al detector, por lo que sus valores al variar F_A y F_D son similares a los obtenidos en la técnica clásica.

Tabla 107. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptora, F_A y F_D , sobre el tiempo de aparición del fiograma, t_a . Técnica clásica inyectando $408 \mu\text{L}$ de disolución patrón de NH_4^+ . $[\text{RM}]: 9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{HCl}]: 9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}]: 0,012 \text{ M}$; $[\text{NH}_4^+]: 1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $T: 50 \text{ }^\circ\text{C}$.

F_A $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	$F_D, \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$										
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	t_a , segundos
0,05	282	225	206								
0,08	238	182	162	153	147						
0,10	224	166	147	138	132	128					
0,15	203	146	127	116	112	107	105	103	101		
0,20	192	137	118	107	103	99	97	95	93	92	
0,30	184	128	109	98	92	89	87	85	83	82	80
0,40	179	122	103	92	87	84	82	80	78	77	75
0,60	174	118	98	89	83	79	77	75	73	72	70
0,80		114	95	86	80	76	74	72	70	69	68
1,00		112	94	84	78	75	73	71	69	68	66
1,50			92	82	77	73	71	69	67	66	64
											62
											61
											60

Tabla 108. Influencia de las velocidades de flujo de las disoluciones dadora y aceptor, F_A y F_D , sobre el valor de la anchura del fiagrama en la línea base. Técnica clásica inyectando 408 μ L de disolución patrón de NH_4^+ . $[\text{RM}]$: $9,95 \times 10^{-5}$ M ; $[\text{HCl}]$: $9,0 \times 10^{-5}$ M; $[\text{NaOH}]$: 0,012 M; $[\text{NH}_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; T: 50 °C.

F_A mL.mir ⁻¹	F_D , mL.mir ⁻¹															
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,0	1,2	1,4	1,5	1,7	2,0	
0,05	1710	1500	1360													
0,08	1600	1420	1190	1010	850											
0,10	1520	1260	1070	960	770	692										
0,15	1480	1210	990	900	690	660	580	525	495							
0,20	1350	1020	930	860	630	577	505	462	440	420						
0,30	1010	790	630	600	570	530	480	435	420	385	350	320	280			
0,40	680	480	430	390	345	330	300	290	285	265	255	240	230	220	180	
0,60	570	400	380	360	320	300	290	270	255	240	230	225	200	180	165	
0,80		380	355	345	300	290	270	255	235	220	210	200	175	160	140	
1,00		360	340	315	290	270	250	240	220	200	180	160	140	130	125	
1,50			325	300	265	240	210	220	200	170	150	130	120	110	100	

En cuanto al valor de Δt en la técnica inversa como la línea base no se recupera mientras siga pasando la disolución de amonio, se puede considerar que Δt es el tiempo necesario para alcanzar la constancia en la señal analítica para poder ser medida correctamente y en ese sentido es prácticamente independiente de F_D y solo existen pequeñas diferencias con relación a F_A . Se puede asegurar que la velocidad de determinación es mayor cuanto más alto sea el valor de F_A y de F_D .

En este sentido si bien en dicha técnica trabajando con $F_A = 0,15$ mL.min⁻¹ y $F_D = 0,90$ mL.min⁻¹ se consigue la máxima sensibilidad, se pueden conseguir mayores velocidades de determinación, perdiendo un 10 % de la misma trabajando con valores de $F_A = 0,40$ mL.min⁻¹ y $F_D = 2,00$ mL.min⁻¹. No obstante en la técnica inversa las velocidades de determinación son muy similares y dentro de las condiciones experimentales en las que se obtiene máxima señal analítica, no es un parámetro determinante.

En cuanto a la *vida media de la membrana* se refiere, ésta depende fundamentalmente de la relación de velocidades de flujo F_D/F_A y del valor de F_D pues para el margen de valores de F_A considerados óptimos (entre 0,15 mL.min⁻¹ y 0,40 mL.min⁻¹), este parámetro no influye.

Cuanto mayor es la relación F_D/F_A , menor es la vida media de las membranas. Así para $F_D/F_A \approx 5,0$ ($F_D = 1,00$ mL.min⁻¹) puede utilizarse la misma membrana durante unas 600 horas de trabajo mientras que para $F_D/F_A \approx 6,0$ ($F_D = 0,90$ mL.min⁻¹) la vida media de la membrana baja hasta unas 400 horas de trabajo.

Por otra parte para un valor de $F_D/F_A = 5,0$, la vida media de la membrana disminuye al aumentar el valor de F_D , si bien esta influencia es menor que la observada al variar F_D/F_A . Así para $F_D/F_A = 5,0$, cuando $F_D = 1,00$ mL.min⁻¹ duración media es de 600 horas, bajando hasta unas 500 horas cuando con la misma relación de F_D/F_A , F_D es de 2,00 mL.min⁻¹.

Correlación empírica entre ΔA a 521 nm, F_D/F_A , V_i y temperatura de termostatación del reactor.

Al estudiar la influencia de las velocidades de flujo, F_A y F_D , sobre la señal analítica se pudo comprobar que al termostatar el reactor a 50 °C y trabajar con una disolución patrón de NH_4^+ de 1,0 mg.L⁻¹, existía una correlación lineal entre ΔA a 521 nm y la relación F_D/F_A a partir de determinados valores de F_A , dependiendo de la técnica empleada. Como en ambos casos la ordenada en el origen con su fluctuación, para el 95 % de fiabilidad, englobaba el origen de coordenadas, se puede asegurar que la correlación entre ambas variables es:

Técnica inversa ($T = 50$ °C, $[\text{NH}_4^+] = 1,0$ mg.L⁻¹)

$$F_A \geq 0,15 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \quad \Delta A = 0,129 \frac{F_D}{F_A} \quad [1]$$

Técnica clásica ($V_i = 408$ μL , $T = 50$ °C, $[\text{NH}_4^+] = 1,0$ mg.L⁻¹)

$$F_A \geq 0,20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1} \quad \Delta A = 0,074 \frac{F_D}{F_A} \quad [2]$$

Para deducir la correlación entre la señal analítica, ΔA a 521 nm, y la temperatura de termostatación del reactor, en la técnica clásica, se diseñan cuatro grupos de experiencias en las que F_A se mantiene constante (0,20 mL.min⁻¹) y F_D se varía desde 0,20 mL.min⁻¹ hasta 1,00 mL.min⁻¹ (F_D/F_A varía entre 1,0 y 5,0). En cada grupo de experiencias la temperatura se mantiene constante entre 30 y 65 °C y se inyectan 408 μL de disolución patrón de NH_4^+ de 1,0 mg.L⁻¹ de concentración.

La longitud del reactor se modifica dependiendo del valor de F_D (Tabla 97) para que el tiempo de contacto entre el "bolo de NH_4^+ " y el reactor termostataado sea constante, 50 segundos.

Tabla 109. Correlación entre ΔA a 521 nm y la temperatura de termostatación del reactor, T . Valores de ΔA para diferentes valores de F_D/F_A y diferentes temperaturas. Técnica clásica de inyección de una disolución de NH_4^+ .

$T, ^\circ\text{C}$	$F_D, \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$								
	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,00
	$\Delta A, 521 \text{ nm}$ (valor medio de tres inyecciones en el sistema)								
30	0,045	0,067	0,089	0,109	0,135	0,158	0,179	0,200	0,222
40	0,057	0,088	0,112	0,148	0,180	0,210	0,233	0,264	0,296
50	0,074	0,111	0,146	0,181	0,223	0,255	0,290	0,331	0,364
65	0,097	0,142	0,193	0,240	0,282	0,337	0,380	0,421	0,465
F_D/F_A	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0

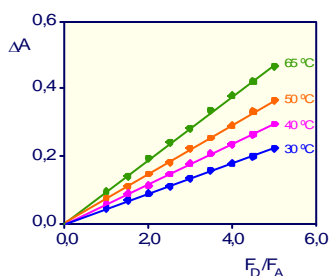


Figura 277. Correlación entre ΔA a 521 nm y la temperatura, T , de termostatación del reactor. Representación de los valores de ΔA frente a F_D/F_A para diferentes temperaturas. Técnica clásica de inyección de una disolución de NH_4^+ . [RM]: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; [NaOH]: $0,012 \text{ M}$; [NH_4^+]: $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $V_i = 408 \mu\text{L}$; $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Los valores de ΔA obtenidos, se muestran en la Tabla 109 y se representan frente al valor de F_D/F_A en la Figura 277, para cada temperatura estudiada.

En todos los casos se obtienen relaciones lineales siendo las ecuaciones de las líneas rectas:

$$30 \text{ } ^\circ\text{C} \quad \Delta A = (0,001 + 0,003) + (0,044 \pm 0,001) \frac{F_D}{F_A} \quad R^2 = 0,9996$$

$$40 \text{ } ^\circ\text{C} \quad \Delta A = (-0,002 + 0,006) + (0,060 \pm 0,002) \frac{F_D}{F_A} \quad R^2 = 0,9988$$

$$50 \text{ } ^\circ\text{C} \quad \Delta A = (0,001 + 0,004) + (0,072 \pm 0,001) \frac{F_D}{F_A} \quad R^2 = 0,9996$$

$$65 \text{ } ^\circ\text{C} \quad \Delta A = (0,006 + 0,008) + (0,093 \pm 0,002) \frac{F_D}{F_A} \quad R^2 = 0,9996$$

No se estudian temperaturas superiores a 65 °C por desviarse los valores de ΔA respecto al valor de F_D/F_A y porque comienzan a depositarse pequeñas burbujas sobre la membrana afectando a la reproducibilidad de la señal.

Cuanto mayor es la temperatura de termostatación mayor es la pendiente de la relación lineal debido a que se incrementa con dicha variable el proceso de transferencia gaseosa.

Como la ordenada en el origen, para un 95 % de fiabilidad, pasa por el eje de coordenadas, entre ΔA , T y F_D/F_A existe una correlación:

$$\Delta A = K' T \frac{F_D}{F_A} \quad [3]$$

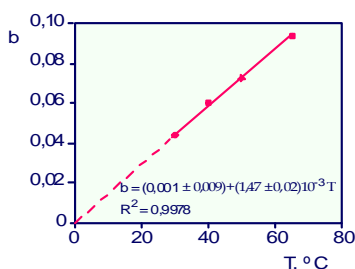


Figura 278. Variación de la pendiente (b) de las rectas (figura 277) en función de la temperatura. Obtención de la constante de proporcionalidad de la relación entre ΔA y las variables T y F_D/F_A . Técnica clásica. $[NH_4^+] = 1,00 \text{ mg.L}^{-1}$.

De la representación de los valores de las pendientes ($b = K'T$) frente a la temperatura de termostatación, T, Figura 278; se obtiene el valor de la constante de proporcionalidad, $K' = (1,47 \pm 0,02)$, por lo que la expresión [3] se transforma en:

$$\Delta A = (1,47 \pm 0,02) \times 10^{-3} T \frac{F_D}{F_A} \quad [4]$$

Un estudio similar, pero realizado mediante la técnica inversa, pasando en continuo la disolución de NH_4^+ de $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de concentración, conduce a valores de ΔA , Tabla 110, superiores, como era de esperar, a los obtenidos para las mismas condiciones mediante la técnica clásica de inyectar $408 \mu\text{L}$ de la misma disolución de NH_4^+ .

Tabla 110. Correlación entre ΔA a 521 nm y la temperatura, T , de termostatación del reactor. Valores de ΔA para diferentes valores de F_D/F_A y diferentes temperaturas. Técnica inversa pasando en continuo una disolución de NH_4^+ . [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[NH_4^+]$: 1,0 mg.L $^{-1}$; $V_i = 408 \mu\text{L}$; $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $[NH_4^+] = 1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

$T, ^\circ\text{C}$	$F_D, \text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$								
	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,00
	$\Delta A, 521 \text{ nm}$ (valor medio de tres inyecciones en el sistema)								
30	0,079	0,118	0,156	0,194	0,233	0,275	0,312	0,392	
40	0,103	0,158	0,207	0,262	0,311	0,365	0,418	0,467	0,518
50	0,128	0,186	0,261	0,324	0,408	0,459	0,522	0,592	0,655
65	0,170	0,254	0,336	0,420	0,508	0,590	0,677	0,762	0,843
F_D/F_A	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0

Las representaciones gráficas de los valores de ΔA frente al valor de F_D/F_A muestran de nuevo la relación lineal entre ambos, Figura 278, para cada temperatura estudiada. Las ecuaciones de las líneas rectas obtenidas son:

$$\begin{aligned}
 30^\circ\text{C} \quad \Delta A &= (-0,001 + 0,004) + (0,079 \pm 0,001) \frac{F_D}{F_A} & R^2 &= 0,9997 \\
 40^\circ\text{C} \quad \Delta A &= (-0,001 + 0,007) + (0,105 \pm 0,002) \frac{F_D}{F_A} & R^2 &= 0,9995 \\
 50^\circ\text{C} \quad \Delta A &= (-0,01 + 0,02) + (0,134 \pm 0,005) \frac{F_D}{F_A} & R^2 &= 0,9983 \\
 65^\circ\text{C} \quad \Delta A &= (-0,01 + 0,01) + (0,170 \pm 0,004) \frac{F_D}{F_A} & R^2 &= 0,9993
 \end{aligned}$$

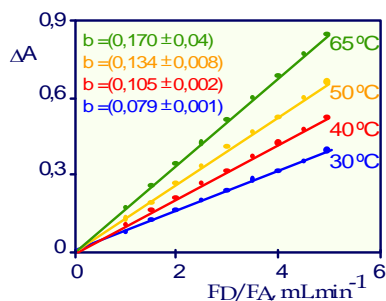


Figura 279. Correlación entre ΔA a 521 nm y la relación F_D/F_A para diferentes temperaturas de termostatación del reactor. Las condiciones experimentales se describen en la Tabla 110.

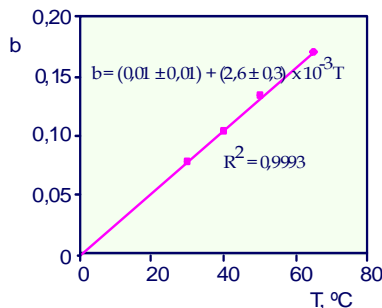


Figura 280. Obtención de la constante de proporcionalidad entre ΔA y las variables T y F_D/F_A . Técnica inversa pasando en continuo una disolución de NH_4^+ : 1,0 mg.L $^{-1}$. b = pendientes de las rectas de la Figura 279

De la representación de los valores de las pendientes ($b = K'T$) frente a la temperatura de termostatación, T , Figura 280, se obtiene el valor de la constante de proporcionalidad, $K' = (2,6 \pm 0,3) \times 10^{-3}$, mayor que en el caso de la técnica clásica, por lo que la expresión [3] para este caso, se transforma en:

$$\Delta A = (2,6 \pm 0,3) \times 10^{-3} T \frac{F_D}{F_A} \quad [5]$$

Correlación con el volumen de inyección, en la técnica clásica.

Desde el punto de vista de la sensibilidad, como hemos venido comprobando, los mejores resultados se obtienen al pasar en continuo la disolución de NH_4^+ , pues desaparece el proceso de dilución por dispersión del “bolo aceptor”.

En la técnica clásica en la que se inyecta un volumen determinado de la disolución de NH_4^+ , este condiciona el valor de la señal analítica pues cuanto menor es, menor es el tamaño del “bolo aceptor” y mayor es su dispersión, para un valor constante de F_A .

Con el fin de comprobar la correlación que existe entre la señal y el volumen de inyección, V_i , en la técnica clásica, se fijan las velocidades de flujo en $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $F_D = 1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y se inyecta una disolución de NH_4^+ de $1,00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración, variando el volumen de inyección desde $43 \mu\text{L}$ (volumen muerto de la válvula) hasta $860 \mu\text{L}$.

La experiencia se realiza termostatando el reactor ($R = 420 \text{ cm}$) a diferentes temperaturas, para obtener más información.

Los valores de ΔA obtenidos, Tabla 111, se han representado frente al volumen de inyección, V_i , Figura 281. Puede observarse en dicha figura como para cada temperatura estudiada, existe una relación lineal entre la señal analítica y el volumen de inyección, V_i , hasta un valor de $610 \mu\text{L}$. Para valores de V_i superiores, se desvía de esta linealidad, tendiendo exponencialmente al valor que se obtendría al pasar en continuo la disolución de NH_4^+ .

Para todas las temperaturas estudiadas, cuanto mayor es V_i , mayor es ΔA , por ser mayor la dispersión del *bolo dador* y fundamentalmente del *bolo aceptor*.

Lógicamente cuanto mayor es la temperatura de termostatación, mayor es la pendiente de la línea recta obtenida:

30 °C	$\Delta A = (0,001 + 0,002) + (6,00 \pm 0,02) \times 10^{-4} V_i$	$R^2 = 0,9998$
40 °C	$\Delta A = (-0,001 + 0,002) + (7,26 \pm 0,06) \times 10^{-4} V_i$	$R^2 = 0,9999$
50 °C	$\Delta A = (0,001 + 0,003) + (9,3 \pm 0,1) \times 10^{-4} V_i$	$R^2 = 0,9998$
65 °C	$\Delta A = (0,001 + 0,004) + (12,1 \pm 0,1) \times 10^{-4} V_i$	$R^2 = 0,9997$

Tabla 111. Correlación entre ΔA a 521 nm y volumen de inyección, V_i , en la técnica clásica. Valores de ΔA para diferentes valores de V_i y diferentes temperaturas. [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $[NH_4^+]$: 1,0 mg.L⁻¹; R= 420 cm.; $F_A = 0,20$ mL.min⁻¹, $F_D = 1,00$ mL.min⁻¹ $[NH_4^+] = 1,0$ mg.L⁻¹.

V_i μL	ΔA , 521 nm			
	T= 30	T= 40	T=50	T= 65
43	0,024	0,030	0,039	0,051
62	0,035	0,045	0,058	0,075
88	0,049	0,064	0,082	0,105
106	0,058	0,077	0,099	0,129
119	0,066	0,088	0,110	0,144
166	0,093	0,122	0,152	0,200
234	0,129	0,174	0,216	0,284
271	0,151	0,201	0,252	0,328
315	0,174	0,230	0,290	0,379
408	0,222	0,299	0,370	0,480
610	0,339	0,452	0,564	0,736
750	0,373	0,497	0,618	0,821
860	0,383	0,515	0,637	0,840

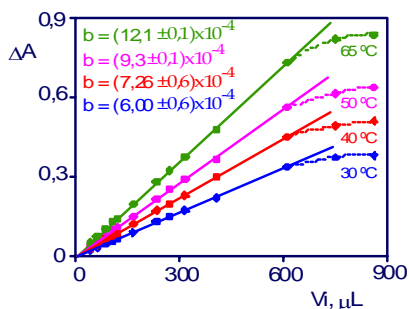


Figura 281. Correlación entre ΔA a 521 nm y el volumen de inyección, V_i , en la técnica clásica. Valores de ΔA para diferentes valores de V_i a diferentes temperaturas. Las Condiciones experimentales se muestran en la Tabla 111.

Las ecuaciones anteriores indican que, hasta 610 μ L, para cada valor de T y de F_D/F_A :

$$\Delta A = K'' V_i \tag{6}$$

y teniendo en cuenta las anteriores correlaciones, para $F_A \geq 0,20$ mL.min⁻¹:

$$\Delta A = K.T \frac{F_D}{F_A} V_i \tag{7}$$

A partir de los valores de las pendientes de las rectas de la Figura 280 ($b = K'' = K \cdot T \cdot F_D / F_A$), representados frente a los valores de $T \cdot F_D / F_A = T \cdot 5,0$ se obtiene, Figura 282, el valor de la constante de proporcionalidad, K , que correlaciona ΔA con las variables, T , V_i y F_D / F_A . El valor de K resulta ser, $K = (3,6 \pm 0,9) \times 10^{-6}$, por lo que la expresión [7] se transforma en:

$$\Delta A = (3,6 \pm 0,9) \cdot 10^{-6} \cdot T \cdot V_i \cdot \frac{F_D}{F_A} \quad [8]$$

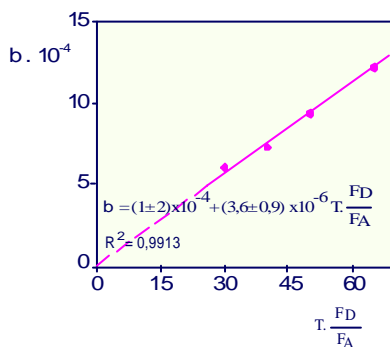


Figura 282. Obtención de la constante de proporcionalidad entre ΔA y las variables T , V_i y F_D / F_A en la técnica clásica de inyección de una disolución de NH_4^+ : $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. b : pendientes de las rectas de la Figura 280. V_i hasta $610 \mu\text{L}$.

Como conclusión se puede indicar que las correlaciones encontradas para las dos técnicas de flujo estudiadas, entre la señal analítica, que indica la concentración final de NH_3 recogida en el *bolo acceptor* como consecuencia del proceso de difusión a través de la membrana y de la relación V_D/V_A , y las variables estudiadas, han sido:

Técnica clásica (inyección de NH_4^+)

Para $V_i \leq 610 \mu\text{L}$, $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $[\text{NH}_4^+] = 1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

$$\Delta A = (3,6 \pm 0,9) \times 10^{-6} \cdot T \cdot V_i \frac{F_D}{F_A} \quad [8]$$

T en °C, V_i en μL

Técnica inversa (pasando en continuo de la disolución de NH_4^+)

$F_A \geq 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ y $[\text{NH}_4^+] = 1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

$$\Delta A = (2,6 \pm 0,3) \times 10^{-3} \cdot T \cdot V_i \frac{F_D}{F_A} \quad [5]$$

Para obtener las correlaciones con $[\text{NH}_4^+]$ será necesario estudiar como influye esta última variable.

Influencia de la concentración de NH_4^+ : Calibrados analíticos

Para estudiar la correlación entre la señal analítica, ΔA a 521 nm, y la concentración de analito, NH_4^+ , en el esquema de flujo ya mencionado de la Figura 243-a, se fijan las siguientes condiciones:

$[\text{RM}] = 9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{HCl}] = 9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}] = 0,012 \text{ M}$; $R = 420 \text{ cm}$

$F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($0,10 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para el canal C_1 y el canal C_2); $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($0,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para el canal C_3 y el canal C_4); $R = 420 \text{ cm}$.

y se modifica la concentración de NH_4^+ desde 0,1 hasta $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Para obtener con mayor precisión los datos de correlación se realizan cuatro series de experiencias termostataando el reactor a 30, 40, 50 y $65 \text{ }^\circ\text{C}$.

Preparadas las disoluciones patrón de NH_4^+ , éstas son inyectadas en el sistema ($V_i = 408 \mu\text{L}$), o son pasadas en continuo, en ambos casos por triplicado, obteniéndose el valor medio de ΔA que se muestra en las Tablas 112 y 113 y se representa en la Figura 283.

Tabla 112. Correlación entre los valores de ΔA a 521 nm y la concentración de analito, NH_4^+ . Técnica clásica, inyectando las disoluciones patrón de NH_4^+ . [RM]: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; [NaOH]: $0,012 \text{ M}$; $V_i = 408 \mu\text{L}$; $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $R = 420 \text{ cm}$.

T, °C	[NH_4^+], $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$					
	ΔA , 521 nm (valor medio de tres inyecciones en el sistema)					
	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
30	0,021	0,044	0,090	0,131	0,179	0,223
40	0,030	0,056	0,119	0,172	0,240	0,293
50	0,038	0,074	0,150	0,219	0,295	0,366
65	0,048	0,094	0,192	0,283	0,379	0,472

Tabla 113. Correlación entre los valores de ΔA a 521 nm y la concentración de analito, NH_4^+ . Técnica inversa, pasando en continuo las disoluciones patrón de NH_4^+ . [RM]: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; [NaOH]: $0,012 \text{ M}$; $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $R = 420 \text{ cm}$.

T, °C	[NH_4^+], $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$					
	ΔA , 521 nm (valor medio de tres inyecciones en el sistema)					
	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
30	0,038	0,079	0,160	0,230	0,316	0,388
40	0,052	0,100	0,211	0,309	0,417	0,519
50	0,066	0,127	0,262	0,388	0,524	0,647
65	0,084	0,165	0,341	0,510	0,673	0,841

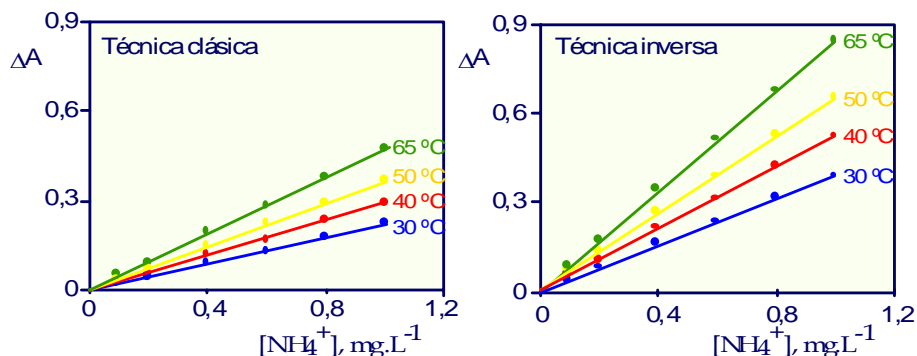


Figura 283. Correlación entre señal analítica y concentración de NH_4^+ . Representación gráfica de los valores de ΔA a 521 nm frente a la concentración de NH_4^+ para diferentes temperaturas de termostatación del reactor. Las condiciones experimentales se indican en la Tabla 113.

Puede comprobarse en la figura antes comentada, como para ambas técnicas la correlación entre ΔA a 521 nm y NH_4^+ , hasta $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, es lineal, ajustándose a las siguientes ecuaciones:

Técnica clásica ($V_i = 408 \mu\text{L}$)

$$30 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (-0,001 + 0,003) + (0,224 \pm 0,005) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9997$$

$$40 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (-0,001 + 0,008) + (0,30 \pm 0,01) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9990$$

$$50 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (0,002 + 0,004) + (0,365 \pm 0,006) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9999$$

$$65 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (0,001 + 0,003) + (0,472 \pm 0,001) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9999$$

Técnica inversa (NH_4^+ en continuo)

$$30 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (-0,001 + 0,008) + (0,39 \pm 0,01) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9994$$

$$40 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (-0,001 + 0,006) + (0,32 \pm 0,01) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9998$$

$$50 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (0,001 + 0,007) + (0,65 \pm 0,01) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9998$$

$$65 \text{ }^\circ\text{C} \quad \Delta A = (0,001 + 0,008) + (0,84 \pm 0,01) [\text{NH}_4^+], \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \quad R^2 = 0,9999$$

Como puede comprobarse para todos los casos estudiados, y con una fiabilidad del 95 %, los coeficientes de regresión son muy próximos a la unidad por lo que puede asegurarse, con la misma probabilidad, teniendo además en cuenta que la ordenada en el origen junto con su fluctuación engloba al eje de coordenadas, que al menos hasta una concentración de NH_4^+ de 1 mg.L⁻¹:

$$\Delta A = K_c [\text{NH}_4^+], \text{ mg.L}^{-1} \quad [9]$$

para ambas técnicas, tanto la clásica como la inversa en la que se pasa en continuo la disolución de NH_4^+ .

Como las ecuaciones [5] y [8] fueron deducidas para $[\text{NH}_4^+] = 1,0$ mg.L⁻¹ y teniendo en cuenta la ecuación [9] es fácil comprender que:

$$K_c = K \cdot V_i \cdot T \cdot \frac{F_D}{F_A} \quad \text{para la técnica clásica} \quad [10]$$

$$K_c = K \cdot T \cdot \frac{F_D}{F_A} \quad \text{para la técnica inversa} \quad [11]$$

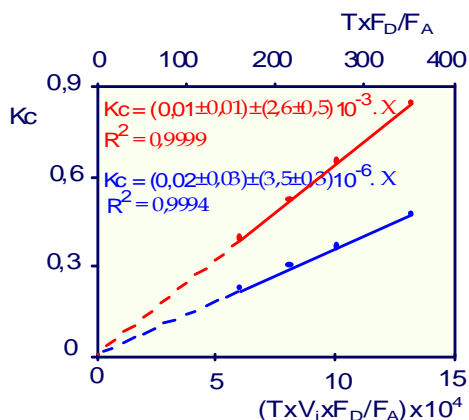


Figura 284. Obtención de la constante de proporcionalidad entre ΔA y las variables de las que depende. Representación gráfica de K_c , pendiente de las rectas de la Figura 282 frente a $(V_i \cdot T \cdot F_D / F_A)$ en la técnica clásica y $(T \cdot F_D / F_A)$ en la inversa. [RM]: $9,95 \times 10^{-5}$ M; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5}$ M; [NaOH]: 0,012 M; $V_i = 408 \mu\text{L}$; $F_A = 0,20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $F_D = 1,00 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; $R = 420 \text{ cm}$; T entre 30 y 65 °C.

La representación de los valores de K_c frente a $(V_i \cdot T \cdot F_D / F_A)$ en la técnica clásica y frente a $(T \cdot F_D / F_A)$ en la inversa, Figura 284, permite determinar la constante de proporcionalidad K para ambas técnicas, resultando un valor de: $K = (3,5 \pm 0,3) \times 10^{-6}$ para la técnica clásica y $K = (2,6 \pm 0,5) \times 10^{-3}$ para la técnica inversa, coincidente con los valores ya deducidos y que formaban parte de las expresiones [5] y [8].

Se puede asegurar con una fiabilidad del 95 % que para $F_A \geq 0,20$ mL.min⁻¹, $V_i \leq 610$ µL, $T \leq 65$ °C y $[\text{NH}_4^+] \leq 1,0$ mg.L⁻¹, al menos, el proceso de transferencia gaseosa de NH_3 a través de la membrana y, por lo tanto, la señal analítica, ΔA a 521 nm, está directamente relacionado con las variables de las que depende, según la ecuación:

$$\Delta A = (3,0 \pm 0,3) \times 10^{-6} \cdot V_i \cdot T \cdot \frac{F_D}{F_A} \cdot [\text{NH}_4^+] \quad [12]$$

Donde expresamos: V_i en µL; T en °C; F_D y F_A en mL.min⁻¹ y $[\text{NH}_4^+]$ en mg.L⁻¹, para la técnica clásica en la que se inyecta el analito.

Con el mismo nivel de probabilidad, se puede asegurar que en la técnica inversa en la que el analito se hace fluir constantemente, para $F_A \geq 0,15$ mL.min⁻¹, $T \leq 65$ °C y $[\text{NH}_4^+] \leq 1,0$ mg.L⁻¹, la relación es:

$$\Delta A = (2,6 \pm 0,5) \times 10^{-3} \cdot T \cdot \frac{F_D}{F_A} \cdot [\text{NH}_4^+] \quad [13]$$

Expresando V_i en µL; T en °C; F_D y F_A en mL.min⁻¹ y $[\text{NH}_4^+]$ en mg.L⁻¹.

Calibrados analíticos

Conocida la relación lineal existente entre ΔA a 521 nm y concentración de NH_4^+ , hasta 1,0 mg.L⁻¹; en el margen ya comentado de F_A , V_i y T ; interesa obtener los calibrados analíticos para proponer un método de determinación de NH_4^+ mediante las dos técnicas de flujo ya comentadas, inyección en el sistema o paso continuo de la muestra conteniendo el analito.

Desde el punto de vista de la SENSIBILIDAD, el mejor calibrado posible es aquél en el que utilizando la TÉCNICA INVERSA consigue el máximo valor de ΔA a 521 nm para una concentración de NH_4^+ dada. Las condiciones experimentales en las que se alcanza este resultado son: $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $F_D = 0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$ y las variables químicas en los valores ya comentados. El reactor para estas condiciones debe de ser $R = 378 \text{ cm}$.

Manteniendo estas condiciones experimentales, se hacen pasar en continuo disoluciones de NH_4^+ patrón en concentración desde $0,03 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ hasta $1,80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ obteniéndose el valor medio de ΔA a 521 nm por triplicado. Los valores obtenidos se indican en la Tabla 114 y se representan en la Figura 285-a.

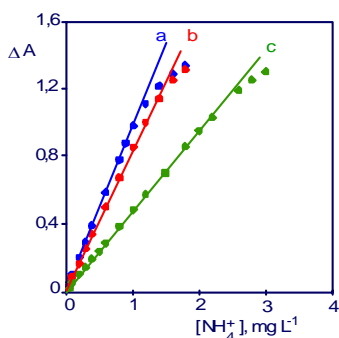


Figura 285. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Calibrados analíticos. $[\text{RM}]$: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{HCl}]$: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; $[\text{NaOH}]$: $0,012 \text{ M}$; Técnica inversa: $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$; $F_A = 0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $F_D = 0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $R = 378 \text{ cm}$. b) Técnica inversa: $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$; $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $R = 420 \text{ cm}$. c) Técnica clásica: $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$; $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; $R = 420 \text{ cm}$; $V_i = 408 \text{ } \mu\text{L}$.

Los valores de ΔA frente a la concentración de NH_4^+ se ajustan, en estas condiciones a una línea recta, hasta $[\text{NH}_4^+] = 1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, de ecuación:

$$\Delta A = (0,001 \pm 0,003) + (0,975 \pm 0,005) \cdot [\text{NH}_4^+]; \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; \quad R^2 = 1,0$$

para concentraciones superiores a $1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, la señal analítica se desvía de la linealidad por defecto, debido probablemente a que la forma básica del rojo de metilo generada en la reacción ácido-base comienza, para esas concentraciones, a absorber a 521 nm, razón por la cual el valor de ΔA es menor que si no ocurriera esta interferencia.

Este calibrado, utilizando la técnica inversa, si bien es el más sensible, adolece de un problema relativo debido al valor de $F_D/F_A = 6,0$, la presión ejercida sobre uno de los lados de la membrana es tan alta que la vida media de la misma es inferior a la que presenta para valores de $F_D/F_A < 6,0$.

Para mejorar este aspecto práctico del método, se podría trabajar con relaciones de F_D/F_A inferiores, perdiendo sólo ligeramente en sensibilidad, pero mejorando la vida media de la membrana y aumentando la velocidad de determinación respecto a los dos calibrados anteriores.

Tabla 114. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa. Relación entre la señal analítica, ΔA a 521 nm y concentración de NH_4^+ . $T = 65\text{ }^\circ\text{C}$, $[RM]: 9,95 \times 10^{-5}\text{ M}$; $[HCl]: 9,0 \times 10^{-5}\text{ M}$; $[NaOH]: 0,012\text{ M}$

Continuo		Continuo		$V_i = 408\text{ }\mu\text{L}$	
$F_A = 0,15\text{ mLmin}^{-1}$ $F_D = 0,90\text{ mLmin}^{-1}$ $R = 378\text{ cm}$		$F_A = 0,20\text{ mLmin}^{-1}$ $F_D = 1,00\text{ mLmin}^{-1}$ $R = 420\text{ cm}$		$F_A = 0,20\text{ mLmin}^{-1}$ $F_D = 1,00\text{ mLmin}^{-1}$ $R = 420\text{ cm}$	
$[NH_4^+]$ mgL^{-1}	ΔA 521 nm	$[NH_4^+]$ mgL^{-1}	ΔA 521 nm	$[NH_4^+]$ mgL^{-1}	ΔA 521 nm
0,03	0,029	0,03	0,024	0,05	0,023
0,05	0,049	0,05	0,042	0,10	0,047
0,08	0,076	0,08	0,068	0,20	0,096
0,10	0,098	0,10	0,085	0,30	0,140
0,20	0,194	0,20	0,165	0,40	0,192
0,30	0,290	0,30	0,257	0,50	0,231
0,40	0,388	0,40	0,339	0,60	0,282
0,60	0,587	0,60	0,503	0,80	0,379
0,80	0,776	0,80	0,670	1,0	0,480
0,90	0,873	1,00	0,843	1,2	0,569
1,00	0,978	1,20	0,995	1,5	0,697
1,20	1,107	1,40	1,133	1,8	0,851
1,40	1,209	1,60	1,251	2,0	0,948
1,60	1,281	1,80	1,314	2,2	1,031
1,80	1,330			2,6	1,184
				2,8	1,251
				3,0	1,297

En cuanto a la *técnica clásica* se refiere, la sensibilidad, incluso en las mejores condiciones de T y de F_D/F_A , depende del volumen inyectado, V_i , de patrón o muestra. Cuanto mayor es el volumen, mayor es la señal analítica, y por tanto la sensibilidad, pero en el mismo sentido disminuye la velocidad de determinación por aumentar la anchura del diagrama en la línea base, Δt .

Para alcanzar un compromiso entre sensibilidad y velocidad de determinación se escoge un volumen intermedio. A título de ejemplo, en la Tabla 114 se indican los valores de ΔA obtenidos para concentraciones de NH_4^+ comprendidas entre 0,05 y 3,0 mg.L⁻¹, inyectando 408 μL de cada disolución patrón, por triplicado, y manteniendo $F_A = 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 1,0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $R = 420 \text{ cm}$ y $T = 65 \text{ }^\circ\text{C}$. La relación entre ΔA y $[\text{NH}_4^+]$ es lineal hasta 2,0 mg.L⁻¹, Figura 285-c, ajustándose a la ecuación:

$$\Delta A = (0,002 \pm 0,007) + (0,471 \pm 0,007) \cdot [\text{NH}_4^+]; \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; \quad R^2 = 0,9996$$

La misma sensibilidad se puede conseguir manteniendo el valor de F_D/F_A en 5,0 pero variando F_D y F_A , siempre y cuando V_i , R y T se mantengan constantes en los valores antes indicados.

Para $F_A = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 1,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$:

$$\Delta A = (0,001 \pm 0,005) + (0,474 \pm 0,006) \cdot [\text{NH}_4^+]; \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; \quad R^2 = 0,9998$$

Para $F_A = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 2,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$:

$$\Delta A = (0,002 \pm 0,006) + (0,470 \pm 0,008) \cdot [\text{NH}_4^+]; \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}; \quad R^2 = 0,9995$$

En ambos casos el margen de determinación es lineal hasta 2,0 mg.L⁻¹.

Puede comprobarse como los tres calibrados comentados, obtenidos mediante la técnica clásica de flujo tienen una pendiente que no difiere significativamente para un 95 % de fiabilidad. Manteniendo la sensibilidad, se pueden conseguir mayores velocidades de determinación, prácticamente con la misma vida media de las membranas, sin más que fijar valores de F_A superiores a 0,20 ml.min⁻¹ (hasta 0,40 mL.min⁻¹) siempre y cuando se mantenga F_D/F_A constante en un valor de 5,0.

Todos los calibrados hasta ahora presentados, son adecuados para la determinación de NH_4^+ en aguas para consumo humano, pues el nivel paramétrico es $0,50 \text{ mg.L}^{-1}$, que queda adecuadamente englobado en los márgenes de determinación.

Tabla 115. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Relación entre señal analítica, ΔA a 521 nm y concentración de NH_4^+ . Técnica clásica. $V_i = 100 \mu\text{L}$; $F_A = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$; $F_D = 1,0 \text{ mL.min}^{-1}$; $R = 420 \text{ cm}$, $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ [RM]: $9,95 \times 10^{-5} \text{ M}$; [HCl]: $9,0 \times 10^{-5} \text{ M}$; [NaOH]: $0,012 \text{ M}$; $[\text{NH}_4^+] = 1,0 \text{ mg.L}^{-1}$.

$[\text{NH}_4^+]$, mg.L^{-1}	ΔA , 521 nm
1,0	0,052
2,0	0,104
4,0	0,220
6,0	0,321
8,0	0,436
10	0,542
12	0,640
14	0,760
16	0,867
18	0,970
20	1,050
22	1,123
24	1,209
26	1,271

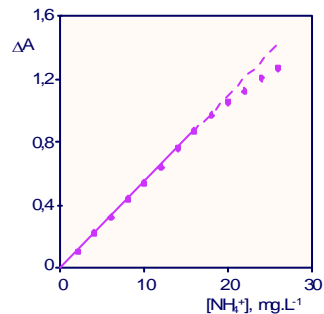


Figura 285. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo. Calibrado analítico mediante la técnica clásica. Las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 115

La elección adecuada de los valores de las diferentes variables que afectan a la señal analítica permiten obtener calibrados con mayores márgenes de determinación, si bien con pérdida de sensibilidad. A título de ejemplo en la Tabla 115 se muestran los valores de ΔA a 521 nm cuando se fija el valor de $F_A = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 1,0 \text{ mL.min}^{-1}$, $R = 420 \text{ cm}$ y $T = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ y se utiliza la técnica de inyección de $V_i = 100 \mu\text{L}$ de disolución conteniendo NH_4^+ .

En estas condiciones experimentales, el valor de ΔA frente a $[\text{NH}_4^+]$, Figura 285, se ajusta a una línea recta hasta 18 mg.L^{-1} de NH_4^+ , de ecuación:

$$\Delta A = (-0,002 \pm 0,007) + (0,054 \pm 0,001) \cdot [\text{NH}_4^+]; \text{ mg.L}^{-1}; \quad R^2 = 0,9998$$

OTRAS CARACTERÍSTICAS DE LOS MÉTODOS

Límite de detección

Las concentraciones correspondientes a los límites de detección calculados a partir de la expresión completa de la IUPAC [3] o la simplificada, conducen a los mismos valores lo que indica que los calibrados están bien definidos en el sentido de que la ordenada en el origen engloba con su fluctuación al eje de coordenadas y que los valores de S_a y S_b son lo suficientemente pequeños.

Tanto para la técnica clásica (inyección de NH_4^+), como para la técnica inversa (paso en continuo de la disolución de NH_4^+) el valor de X_B^{\max} que corresponde a la fluctuación máxima de la línea base en el primer caso y de la señal analítica constante, en el segundo, es de 0,005; por lo que los valores de C_L obtenidos han sido:

Técnica inversa

- $F_A = 0,15 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 0,90 \text{ mL.min}^{-1}$, $C_L = 15 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$
- $F_A = 0,15 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 0,80 \text{ mL.min}^{-1}$, $C_L = 17 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$
- $F_A = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 1,00 \text{ mL.min}^{-1}$, $C_L = 18 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$

Técnica clásica

- $F_A = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 1,00 \text{ mL.min}^{-1}$, $C_L = 32 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$
- $F_A = 0,30 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 1,50 \text{ mL.min}^{-1}$, $C_L = 17 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$
- $F_A = 0,40 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 2,00 \text{ mL.min}^{-1}$, $C_L = 32 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$
- $F_A = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 1,00 \text{ mL.min}^{-1}$, $C_L = 278 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$

$$T = 30 \text{ }^\circ\text{C}, V_i = 100 \text{ } \mu\text{L}$$

En todos los casos, los métodos son lo suficientemente sensibles como para poder ser utilizados en la determinación de NH_4^+ en aguas para el consumo teniendo en cuenta que el nivel paramétrico de potabilidad es $0,50 \text{ mg.L}^{-1}$.

Precisión de los métodos

El estudio de precisión se ha realizado con los dos calibrados, de ambas técnicas, más sensibles. Se preparan disoluciones patrón de NH_4^+ , doce para cada concentración ($n = 12$), que contienen $50 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ y $0,50 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente.

Mediante la técnica clásica se inyectan $408 \text{ } \mu\text{L}$ de dichas disoluciones, por triplicado, y a partir de los valores medios de ΔA a 521 nm y utilizando los calibrados antes expuestos se deducen los valores de la desviación estándar relativa que resultaron ser de $S_R = 2,9 \%$ para $50 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ y $S_R = 2,3 \%$ para $0,50 \text{ mg.L}^{-1}$.

Un estudio similar realizado mediante la técnica inversa, pasando las disoluciones de NH_4^+ en continuo, condujo a los siguientes valores: $S_R = 3,2 \%$ para $50 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ y $S_R = 2,6 \%$ para $0,50 \text{ mg.L}^{-1}$.

Velocidad de determinación

La velocidad de determinación viene condicionada por los valores de t_a y ΔA (tablas 107 y 108) que, si bien están perfectamente definidas en la técnica clásica, son más ambiguos o discutibles en la técnica inversa en cuanto a Δt se refiere.

Teniendo en cuenta los valores de t_a e Δt , según sea el valor de F_A y F_D se obtienen los siguientes valores:

Técnica clásica

- $F_A = 0,20 \text{ mL.min}^{-1}$, $F_D = 1,00 \text{ mL.min}^{-1}$, $t_a = 92 \text{ s}$, $\Delta t = 420 \text{ s}$, $V_D = 7 \text{ m.h}^{-1}$

- $F_A = 0,30 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 1,50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_a = 78 \text{ s}$, $\Delta t = 280 \text{ s}$, $V_D = 10 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$
- $F_A = 0,40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $F_D = 2,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, $t_a = 71 \text{ s}$, $\Delta t = 180 \text{ s}$, $V_D = 14 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$

Técnica inversa

En la técnica inversa el tiempo, t_a , de aparición se define como el tiempo que tarda en aparecer la señal analítica desde que comienza a succionar la bomba peristáltica la disolución patrón o muestra de NH_4^+ . Este tiempo es muy similar al valor de t_a de la técnica clásica, para un mismo valor de F_A y F_D .

El concepto de Δt , bien definido en la técnica clásica, anchura del fiagrama en la línea base, no está definido en la técnica inversa. Se puede considerar que en dicha técnica, Δt , es el tiempo necesario para que el valor de la señal analítica se mantenga constante el tiempo suficiente como para poder ser medido con precisión. Si bien este concepto es relativo, se puede considerar razonable que en 30-60 segundos se alcance esta condición.

Se comprende que la técnica inversa permite alcanzar velocidades de determinación mucho más altas que en el caso de la técnica clásica.

Validación de los métodos

Para validar los métodos analíticos antes estudiados se determina, en las condiciones de los calibrados la concentración de diferentes disoluciones de NH_4^+ preparadas a partir de un patrón certificado (CRM 409, LGC Promochem), cuyas características se desarrollan en el ANEXO III

La disolución patrón se prepara pesando 21,0000 g del líquido procedente de la ampolla en que se suministra el patrón y enrasando con agua bidestilada hasta un volumen final de 25,0 mL. Esta disolución contiene 1,60 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, con una fiabilidad del 95%.

Para comprobar la validez de los métodos, se preparan las disoluciones de concentración comprendida entre 0,032 y 0,64 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y se inyectan (408 μL) o se pasan en continuo, en el sistema de flujo ya comentado.

En cada caso se obtiene el valor de ΔA a 521 nm y a partir de la correspondiente ecuación del calibrado se deduce la concentración de NH_4^+ .

En la Tabla 116 se muestran los valores de concentración encontrados, después de tres determinaciones, para cada disolución patrón. Puede comprobarse como con una fiabilidad del 95 % los valores encontrados no difieren significativamente de los valores certificados.

Tabla 116. Determinación de NH_4^+ mediante difusión gaseosa en continuo. Validación de los métodos FIA clásico e inverso.

[NH_4^+] PUESTO mg.L ⁻¹	[NH_4^+] ENCONTRADO, mg.L ⁻¹	
	T. CLÁSICA	T. INVERSA
0,032 ± 0,001	0,03 ± 0,02	0,03 ± 0,02
0,13 ± 0,01	0,11 ± 0,06	0,15 ± 0,05
0,19 ± 0,01	0,19 ± 0,05	0,21 ± 0,04
0,32 ± 0,01	0,30 ± 0,05	0,31 ± 0,04
0,64 ± 0,02	0,65 ± 0,04	0,66 ± 0,03
Valores medios de tres determinaciones para un 95 % de fiabilidad.		

En los procesos de difusión gaseosa sobre membranas sólidas, insertadas en sistemas de flujo, el rendimiento final en el proceso de recogida de la especie volátil sobre una disolución aceptora depende de las variables que afectan al equilibrio de difusión, como son la diferencia de temperatura entre la fase dadora y aceptora o la diferente composición (fuerza iónica), así como de la diferencia entre las velocidades de flujo de ambas fases, obteniéndose los mejores resultados cuando $F_D > F_A$ (con la limitación de que $F_D/F_A \leq 6$) por favorecer la diferencia de presiones sobre los lados de la membrana la transferencia de analito, y ocurrir un proceso de "preconcentración" desde la fase dadora a la aceptora. Este plus de energía de presión es mayor cuanto más alta es la relación F_D/F_A .

La conjunción de las variables que afectan al rendimiento final de transferencia de analito se combinan de forma que para $F_A \geq 0,20 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, la relación entre la señal analítica final con el volumen inyectado, la temperatura de la disolución dadora y la relación de velocidades de flujo F_D/F_A es lineal; con las limitaciones ya expuestas, y en un amplio margen de valores de V_i .

La misma relación lineal se encuentra cuando la disolución de analito se hace fluir continuamente, si bien con una constante de proporcionalidad mayor por desaparecer los procesos de dilución por dispersión de los bolos dadores y aceptores.

Se comprueba que no es cierta la teoría asentada en bibliografía que consiste en atribuir los mejores rendimientos cuando $F_D \approx F_A$

DETERMINACIÓN FLUORIMÉTRICA DE AMONIO EN FLUJO CONTINUO. REACCIÓN CON EOSINA AZULADA

En la determinación de NH_4^+ mediante difusión gaseosa en continuo tras su transformación en NH_3 , es posible, sin más que cambiar la naturaleza de la disolución aceptora y la técnica de detección, incrementar la sensibilidad del método.

Con este objetivo se sustituye en la disolución portadora el Rojo de Metilo por la EOSINA AZULADA (EA), también indicador ácido-base pero con la peculiaridad de que su forma básica tiene propiedades fluorescentes mientras que la forma ácida no.

El seguimiento fluorimétrico de la concentración de la forma básica de la Eosina es un método indirecto para la medida del NH_3 transferido a través de la membrana de difusión gaseosa y por lo tanto para la medida de NH_4^+ en la muestra.

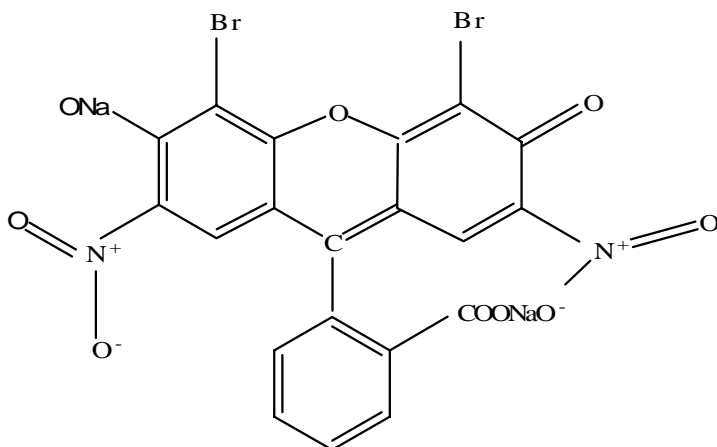
De entre todos los trazadores fluorescentes con características ácido-base, se escogió la Eosina azulada por su solubilidad en agua, sensibilidad de su fluorescencia y estabilidad frente a la luz.

El pK_a de la Eosina azulada en medio acuoso, según la bibliografía está, comprendido entre 3,3 y 3,8.

3.1. ESTUDIOS PREVIOS

3.1.1. CARACTERÍSTICAS ESPECTROFLUORIMÉTRICAS DE LA EOSINA AZULADA

La Eosina azulada es un indicador fluorescente clásico utilizado para microscopía, y más concretamente para tinción de fluidos vitales y de plasma; es muy soluble en agua y su forma básica presenta fluorescencia. Su sal sódica ($C_{20}H_6Br_2N_2O_9Na_2$), sal sódica de la 4',5'-dibromo,2',7'-dinitrofluoresceína, tiene la siguiente estructura molecular:



Mediante el método de *multiespectros* o barridos secuenciales del espectro de emisión, a diferentes longitudes de onda de excitación se dedujo que la Eosina azulada en agua presenta la máxima emisión a $\lambda_{em} = 552$ nm, siendo la longitud de onda óptima de excitación $\lambda_{exc} = 536$ nm ($R_{exc} = 5$ nm; $R_{em} = 5$ nm).

En las Figuras 287 y 288 se muestran los espectros de excitación y emisión a las longitudes de onda óptimas y pH básico (pH = 10)

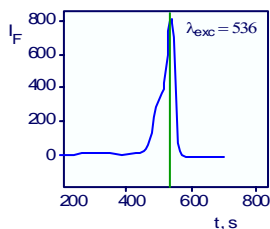


Figura 287. Espectro de excitación de La Eosina azulada a pH: 10, fijando λ_{em} en 552 nm.

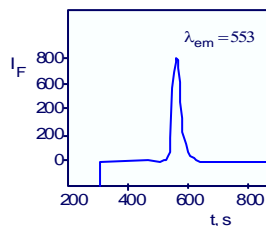


Figura 288. Espectro de emisión de La Eosina azulada a pH: 10, fijando λ_{exc} en 536 nm.

Si la misma disolución de Eosina se ajusta a pH = 1, no emite fluorescencia a ninguna longitud de onda de excitación, lo que confirma que la forma ácida de la Eosina azulada no es fluorescente.

Por otra parte, los espectros de excitación y emisión no se modifican morfológicamente con el pH, presentando siempre los máximos a $\lambda_{exc} = 536$ nm y $\lambda_{em} = 552$ nm. La intensidad de emisión disminuye a medida que el pH es más ácido por disminuir la concentración de la forma básica del indicador.

3.1.2. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE EOSINA AZULADA EN LA INTENSIDAD DE EMISIÓN DE FLUORESCENCIA

Con el fin de conocer la relación existente entre la concentración de Eosina azulada y la intensidad de emisión de fluorescencia, se preparan disoluciones acuosas a pH 10,58, pH al que predomina la forma básica del indicador, conteniendo concentraciones variables del mismo entre $1,67 \times 10^{-7}$ M y $33,3 \times 10^{-7}$ M. Fijada la longitud de onda de excitación en 536 nm, se miden los valores de intensidad de emisión de fluorescencia a 552 nm.

Los valores obtenidos se indican en la Tabla 117 y se representan en la Figura 289, donde puede observarse como para concentraciones de indicador elevadas la intensidad de fluorescencia se desvía claramente de una aparente proporcionalidad lineal. Este comportamiento es frecuente en moléculas

fluorescentes y está relacionado con un proceso de autoabsorción de la propia onda electromagnética emitida (efecto quenchin negativo).

Tabla 117. Valores de intensidad de emisión de fluorescencia para diferentes concentraciones de Eosina Azulada a pH = 10,58, $\lambda_{exc} = 536 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 552 \text{ nm}$,

[EA]x10 ⁻⁷ M	I _F $\lambda_{em} = 430 \text{ nm}$
1,67	55,8
3,33	100,5
5,09	162,3
6,67	211,4
8,33	276,9
10,0	331,9
13,3	416,3
16,7	506,4
25,0	674,3
33,3	761,3

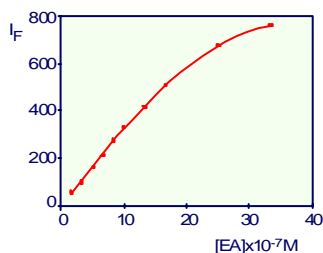


Figura 289. Proporcionalidad entre la intensidad de emisión de fluorescencia y la concentración de Eosina azulada, a pH = 10,58, $\lambda_{exc} = 536 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 552 \text{ nm}$,

Como consecuencia práctica más importante se deduce que será necesario tener en cuenta el efecto quenchin negativo para concentraciones superiores a $16,7 \times 10^{-7} \text{ M}$ de la forma básica del indicador; para valores inferiores la intensidad de fluorescencia es directamente proporcional a la concentración.

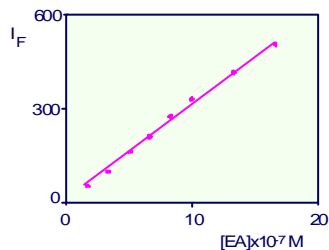


Figura 290. Linealidad entre la intensidad de fluorescencia emitida y la concentración de Eosina azulada, a pH = 10,58, $\lambda_{exc} = 536 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 552 \text{ nm}$,

Los valores de la intensidad de fluorescencia emitida, hasta una concentración de $16,7 \times 10^{-7} \text{ M}$, se ajustan a una recta, frente a la concentración de indicador, de ecuación:

$$I_F = (8 \pm 7) + (3,0 \pm 0,1) \times 10^{-8} [EA];$$

$$R^2 = 0,997$$

para un nivel de confianza del 95 %. (Figura 290).

3.1.3. INFLUENCIA DEL pH SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE LA FORMA BÁSICA DE EOSINA AZULADA

Con el fin de conocer la evolución de la concentración de la forma básica del trazador fluorescente con el pH, se preparan disoluciones de indicador conteniendo todas ellas una concentración $13,3 \times 10^{-7}$ M y pH variable entre 3,01 y 11,49; se mide la intensidad de fluorescencia a 552 nm, manteniendo constante la longitud de onda de excitación en 536 nm. Los valores de intensidad de emisión de fluorescencia se muestran en la Tabla 118 y se representan frente al pH en la Figura 291.

Puede comprobarse como para valores de pH inferiores a 5 existe un descenso brusco de la intensidad de emisión de fluorescencia debido a la disminución de la concentración de la forma básica del indicador.

Tabla 118. Influencia del pH sobre la concentración de la forma básica de la Eosina azulada. $\lambda_{exc} = 536$ nm, $\lambda_{em} = 552$ nm, $R_{exc} = 5$ nm, $R_{em} = 5$ nm, $[EA] = 13,3 \times 10^{-7}$ M.

pH	I_F $\lambda_{em} = 430$
3,01	29,4
3,52	190,2
4,00	301,8
4,99	395,9
6,01	400,1
8,02	404,2
9,06	410,3
10,58	416,4
11,49	414,4

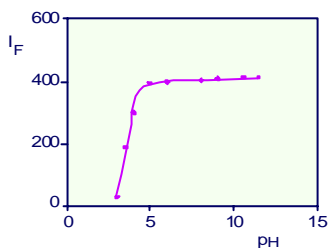


Figura 291. Influencia del pH sobre la concentración de la forma básica de la Eosina Azulada. Las condiciones experimentales se muestran en la Tabla 118.

Conocida la concentración inicial de indicador ($13,3 \times 10^{-7}$ M), es fácil deducir el pK_a de la Eosina azulada localizando el valor de pH para el cual la intensidad de fluorescencia es 206, que es el valor que corresponde a una concentración de Eosina básica de $6,65 \times 10^{-7}$ M (teniendo en cuenta la ecuación

lineal entre la Eosina básica y la fluorescencia). Este valor deducido gráficamente es $\approx 3,6$.

3.2. DETERMINACIÓN DE NH_4^+ EN FLUJO CONTINUO UTILIZANDO EOSINA COMO TRAZADOR

3.2.1. ESQUEMA DE FLUJO

En la Figura 292 se representa el esquema de flujo utilizado para la determinación de NH_4^+ . Consta de tres canales impulsados por dos bombas peristálticas con el fin de controlar las velocidades de flujo de las disoluciones aceptora y la dadora.

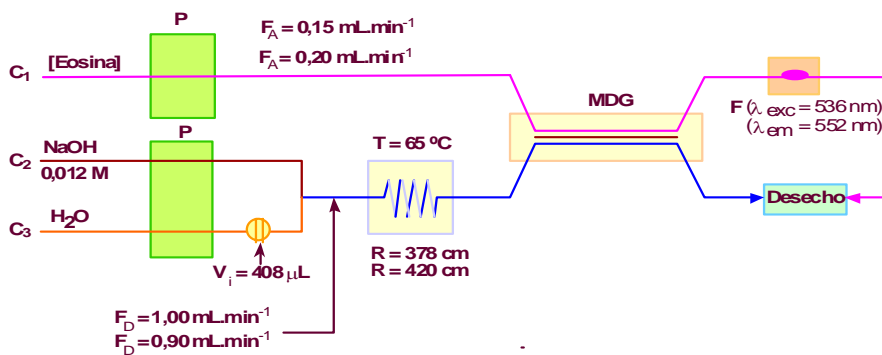


Figura 292. Esquema de flujo empleado para la determinación de NH_4^+ tras su transformación en NH_3 y recogida del gas sobre una disolución aceptora que contiene Eosina. En la técnica clásica la disolución de NH_4^+ se inyecta en el sistema, en la técnica inversa se hace pasar en continuo a través de C_3 . MDG: Módulo de difusión gaseosa, F: Fluorímetro con célula de flujo de 38 μL .

Por el canal C_1 fluye la disolución aceptora constituida por Eosina, en concentración adecuada y a un pH inferior a 5. Tanto la concentración óptima de Eosina como el pH son variables a estudiar. La disolución aceptora fluye con una velocidad de flujo, F_A , de 0,20 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para la técnica clásica y 0,15 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para la técnica inversa, cuando la disolución de NH_4^+ fluye continuamente por C_3 . Estos valores fueron los óptimos deducidos en el apartado anterior al estudiar el Rojo de Metilo como indicador ácido-base.

Por el canal C_2 fluye la disolución de NaOH, en concentración 0,012 M, responsable de la transformación de NH_4^+ en NH_3 .

Por el canal C_3 fluye agua como portador, en el caso que la técnica empleada sea la inyección de 408 μL de disolución patrón o muestra conteniendo NH_4^+ .

La velocidad de flujo de las disoluciones anteriores, C_2 y C_3 , es idéntica de forma que cuando confluyen tienen un valor de $F_D = 1,00 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para la técnica clásica y $0,90 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ para la técnica inversa. Estos valores al igual que en el caso de F_A son los valores óptimos ya obtenidos anteriormente.

La disolución dadora generada desde el punto de confluencia pasa a través de un reactor de 378 cm en la técnica clásica y 420 cm en la técnica inversa, que se encuentra termostataado a 65°C (temperatura óptima). En estas condiciones el tiempo de calentamiento del *bolo dador*, en ambas técnicas, es de 50 segundos.

El NH_3 contenido en el *bolo dador* al llegar al módulo que contiene la membrana se transfiere parcialmente hacia la disolución aceptora generando un *bolo aceptor*, en el que sube el pH como consecuencia de lo cual se incrementa la concentración de la forma básica de la Eosina, por lo que al llegar a la célula de flujo del fluorímetro, que se encuentra programado para medir a $\lambda_{\text{exc}} = 536 \text{ nm}$ y $\lambda_{\text{em}} = 550 \text{ nm}$, se obtendrá una línea base con una intensidad de fluorescencia constante que corresponde a la emisión proveniente de la concentración de la forma básica de Eosina en la disolución aceptora, y una *señal analítica positiva* por el incremento de la forma básica del indicador y, por lo tanto, de la intensidad de emisión de fluorescencia.

La señal, fiagrama, Figura 293, difiere no solo en altura, si no también en la forma: si se emplea la técnica clásica en la que se inyecta la disolución de NH_4^+ se obtiene el fiagrama típico, Figura 293-a, donde el incremento de la intensidad de emisión, ΔI_F , hasta el máximo del fiagrama representa la medida analítica; cuando la disolución de NH_4^+ se pasa en continuo, técnica inversa, Figura 292-b, la señal analítica, ΔI_F , se mide por

diferencia de la intensidad de emisión que muestra la señal en su máximo valor constante y de la intensidad de emisión de la línea base.

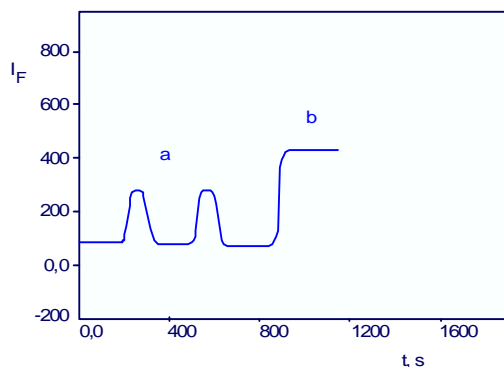


Figura 293. Diagramas obtenidos al emplear como disolución aceptora, Eosina a $\text{pH} < 5$. a) Técnica clásica, b) Técnica inversa.

Obsérvese que el valor de ΔI_F , para la misma disolución de NH_4^+ , es mayor en el caso de la técnica inversa que en el de la clásica, como ya se había comprobado en el apartado del Rojo de Metilo.

3.2.2. OPTIMIZACIÓN DE VARIABLES

La señal analítica final, ΔI_F , depende de la cantidad de Eosina básica formada, lo que a su vez está relacionado con la cantidad de NH_3 que llega a la fase aceptora (*rendimiento* en el proceso de difusión gaseosa) así como con el pH de dicha fase y la concentración de reactivo Eosina presente en dicha disolución.

Las condiciones óptimas para el máximo rendimiento en el proceso de difusión gaseosa para las dos técnicas de flujo estudiadas ya fueron deducidas al estudiar el Rojo de Metilo como indicador ácido-base y han sido comentadas al explicar el esquema de flujo empleado.

Influencia del pH de la disolución aceptora

El incremento en la concentración de la forma básica de la Eosina, que es la forma fluorescente, depende no sólo del NH_3 recogido sobre la disolución aceptora, sino también de la concentración de $[\text{H}^+]$ presente en la disolución, pues la modificación de la misma tras la reacción ácido-base debe permitir un ligero incremento del pH capaz de generar la mayor cantidad posible de forma básica de la Eosina.

Para deducir el pH óptimo de la disolución aceptora, en las condiciones indicadas en la Figura 292, se inyectan 408 μL o se pasa en continuo una disolución patrón de NH_4^+ de 0,35 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de concentración y se modifica el pH de la disolución de Eosina desde 3,30 hasta 4,10, conteniendo ésta una concentración analítica total de Eosina de $5,0 \times 10^{-5}$ M.

Los resultados obtenidos, ΔI_F , al realizar cada experiencia por triplicado se indican en la Tabla 119 y se representan en la Figura 294.

Puede comprobarse como la forma de la evolución de la señal analítica, ΔI_F , es la misma, sea cual sea la técnica de flujo utilizada con la diferencia que la magnitud es mayor en la técnica inversa.

Tabla 119. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo utilizando Eosina como indicador fluorescente. Influencia del pH de la disolución aceptora sobre la señal analítica. $\lambda_{\text{exc}} = 536 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 552 \text{ nm}$, $R_{\text{exc}} = 5 \text{ nm}$, $R_{\text{em}} = 5 \text{ nm}$, $[\text{EA}] = 5,0 \times 10^{-7} \text{ M}$, $[\text{NH}_4^+] = 0,35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

pH	ΔI_F	
	T. clásica	T. inversa
3,30	22,3	68,9
3,40	74,9	163,2
3,50	131,2	265,6
3,60	177,5	290,2
3,70	180,6	301,5
3,80	164,1	285,9
3,90	131,6	233,4
4,00	101,4	171,1
4,10	70,6	120,8

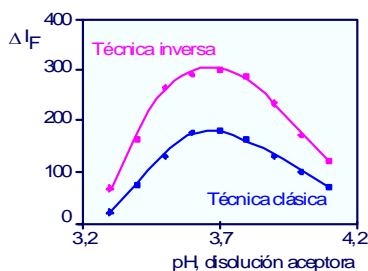


Figura 294. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo utilizando Eosina como indicador fluorescente. Influencia del pH de la disolución aceptora sobre la señal analítica. Condiciones experimentales: las descritas en la Tabla 119.

Para ambas técnicas de flujo a medida que el valor de pH se hace superior a 3,30 se incrementa la señal analítica, por hacerlo la concentración de la forma básica del indicador, alcanzándose un valor máximo en las proximidades del pKa, entre 3,60 y 3,70. Valores menos ácidos que estos conducen a un descenso en la señal analítica por aproximarse la Eosina básica a

su zona de predominio y disminuir por lo tanto la forma ácida, no fluorescente, del indicador.

Lógicamente la forma básica emite más fluorescencia cuanto mayor es el pH de la disolución aceptora, pero no afecta al estudio del valor de ΔI_F , medido hasta el máximo de la señal analítica.

Se adopta como pH óptimo el valor de 3,6, con el que se realizan el resto de las experiencias.

Influencia de la concentración de Eosina

La segunda variable química que afecta a la señal analítica es la concentración del reactivo fluorescente, pues el descenso en la concentración de protones H^+ , debido a la reacción ácido-base, actúa de variable limitante en la generación de ΔI_F .

Para comprobar cómo influye la concentración de Eosina sobre la señal analítica final, ΔI_F , se fija el pH de la disolución aceptora en 3,60 y se modifica la concentración de indicador entre $0,80 \times 10^{-5}$ y $12,3 \times 10^{-5}$ M. En todos los casos se utiliza una disolución patrón de NH_4^+ de $0,35 \text{ mg.L}^{-1}$ para ser inyectada ($408 \mu\text{L}$) o pasada en continuo. El resto de variables se mantienen en los valores indicados en la Figura 292.

En la Tabla 120 se indican los valores de ΔI_F obtenidos tras tres experiencias con cada concentración de Eosina y se representan en la Figura 295, frente a la concentración de reactivo.

Puede comprobarse como el comportamiento cualitativo en las dos técnicas de flujo es similar, siendo la señal analítica, ΔI_F , para todas las concentraciones de Eosina, mayor para la técnica inversa.

Al aumentar la concentración de Eosina aumenta el valor de la señal ΔI_F , por hacerlo la concentración de la forma básica del indicador. Se alcanza un valor máximo para concentración de Eosina inicialmente puesta del orden de $4,5$ a $5,0 \times 10^{-5}$ M. Valores de concentración superiores generan señales analíticas

que disminuyen con la concentración de reactivo por ocurrir el fenómeno de “quenchin” ya comprobado en los estudios en discontinuo.

Tabla 120. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo utilizando Eosina como indicador fluorescente. Influencia de la concentración de Eosina en la disolución aceptora sobre la señal analítica. $\lambda_{exc} = 536 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 552 \text{ nm}$, $R_{exc} = 5 \text{ nm}$, $R_{em} = 5 \text{ nm}$, $[\text{NH}_4^+] = 0,35 \text{ mg.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,60$.

[EA] $\times 10^{-5} \text{ M}$	ΔI_F	
	T. clásica	T. inversa
0,8	33,8	62,6
1,5	64,2	112,7
2,4	100,1	167,9
3,0	130,4	210,1
4,6	180,3	302,9
6,5	179,0	300,6
7,7	174,8	290,5
9,6	165,7	277,8
12,3	150,1	255,9

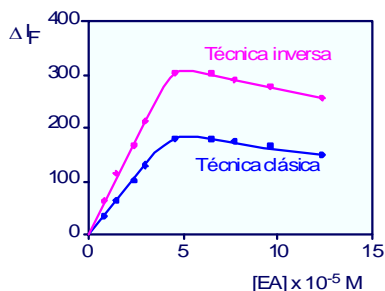


Figura 295. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo utilizando Eosina como indicador fluorescente. Influencia de la concentración de Eosina en la disolución aceptora sobre la señal analítica. Condiciones experimentales: las descritas en la Tabla 120.

3.2.3 CALIBRADOS ANALÍTICOS

Con el fin de obtener la relación entre concentración de NH_4^+ , en mg.L^{-1} , y señal analítica y comprobar el margen de aplicabilidad, se preparan disoluciones patrón de NH_4^+ en concentraciones comprendidas entre 0,02 y 1,90 mg.L^{-1} que se inyectan en el sistema de flujo o bien se pasan en continuo, fijando las variables en los valores indicados en la Figura 292 así como el pH de la disolución aceptora en 3,60 y la concentración de Eosina en $4,5 \times 10^{-5} \text{ M}$

Los valores de ΔI_F , media de tres experiencias, se indican en la Tabla 121 y se representan para su discusión en la Figura 296.

Puede comprobarse como con la técnica inversa, para una misma concentración de NH_4^+ , se obtienen señales más altas, por lo que el calibrado obtenido con esta técnica es más sensible que el obtenido mediante la técnica clásica.

Tabla 121. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo utilizando Eosina como indicador fluorescente. Calibrados analíticos. $\lambda_{\text{exc}} = 536 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 552 \text{ nm}$, $R_{\text{exc}} = 5 \text{ nm}$, $R_{\text{em}} = 5 \text{ nm}$, $[\text{NH}_4^+] = 0,35 \text{ mg.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,60$, $[\text{EA}] = 4,5 \times 10^{-3} \text{ M}$

[NH ₄ ⁺] mg.L ⁻¹	ΔI _F	
	T. clásica	T. inversa
0,02	10,4	17,1
0,05	26,0	44,0
0,10	51,8	87,6
0,20		174,2
0,30	154,6	260,9
0,40		348,6
0,50	258,2	435,7
0,60		524,5
0,70	358,3	610,8
0,80		699,3
0,90	464,1	784,7
1,10		930,2
1,30	667,4	
1,50	772,0	
1,70	859,0	
1,90	930,3	

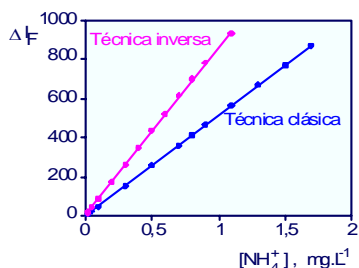


Figura 296. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo utilizando Eosina como indicador fluorescente. Calibrados analíticos. Condiciones experimentales: las descritas en la Tabla 121.

Para la técnica clásica se obtiene una relación lineal entre concentración de NH_4^+ y señal analítica, hasta $[\text{NH}_4^+] = 1,5 \text{ mg.L}^{-1}$. La línea recta se ajusta a la ecuación:

$$\Delta I_F = (0,3 \pm 1,0) + (514 \pm 1) [\text{NH}_4^+], \text{ mg.L}^{-1} \quad R^2 = 1,00$$

mientras que para la técnica inversa, el margen de linealidad llega hasta 1,1 mg.L⁻¹, ajustándose la línea recta a la ecuación:

$$\Delta I_F = (4 \pm 10) + (859 \pm 17) [\text{NH}_4^+], \text{ mg.L}^{-1} \quad R^2 = 0,9994$$

ambas ecuaciones para un 95 % de fiabilidad.

El desvío de la linealidad se debe al efecto “quenchin”, ya comentado, para altas concentraciones de la forma básica de la Eosina.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE LOS MÉTODOS

Límite de detección

Las concentraciones correspondientes a los límites de detección calculadas a partir de la expresión completa de la IUPAC [3] teniendo en cuenta que el valor de X_B^{max} para la fluctuación de la línea base es de 0,8 unidades de fluorescencia, para ambas técnicas, han sido:

$$\text{Técnica clásica} \quad C_L = 10 \mu\text{g.L}^{-1}$$

$$\text{Técnica inversa} \quad C_L = 5 \mu\text{g.L}^{-1}$$

Precisión de los métodos

El estudio de la precisión de ambos métodos se realizó preparando disoluciones estándar de NH_4^+ con contenidos de 50 y 0,50 $\mu\text{g.L}^{-1}$; $n = 12$ para cada concentración.

Después de inyectarlas (408 μL) o pasarlas en continuo, se obtienen los valores de ΔI_F a $\lambda_{\text{em}} = 552 \text{ nm}$ y tras el tratamiento estadístico correspondiente se deducen los valores de la S_R para ambas técnicas, que resultaron ser:

Técnica clásica:

$$[\text{NH}_4^+] = 50 \mu\text{g.L}^{-1} \quad S_R = 3,4 \%$$

$$[\text{NH}_4^+] = 0,05 \mu\text{g.L}^{-1} \quad S_R = 3,0 \%$$

Técnica inversa :

$$[\text{NH}_4^+] = 50 \mu\text{g.L}^{-1} \quad S_R = 3,6 \%$$

$$[\text{NH}_4^+] = 0,05 \mu\text{g.L}^{-1} \quad S_R = 3,2 \%$$

Velocidad de determinación

La velocidad de determinación de ambos métodos corresponde a los valores ya enunciados para la determinación de NH_4^+ , utilizando como indicador el Rojo de Metilo, en los valores de F_A y F_D utilizados.

Validación de los métodos

Se validan los dos métodos de determinación, uno inyectando 408 μL de disolución conteniendo NH_4^+ y otro pasando en continuo dicha disolución. Se parte del patrón certificado de NH_4^+ (CRM 409) del que se obtiene una disolución de concentración conocida en dicho analito.

La disolución patrón se prepara pesando 21,0000 g del *líquido procedente de la ampolla y enrasando a un volumen final de 25,0 mL*. Dicha disolución resulta tener una concentración de 1,60 mg.L^{-1} (con una fiabilidad de 0,04 mg.L^{-1} para un 95 % de probabilidad).

A partir de esta disolución se preparan otras más diluidas tomando alícuotas y enrasando al volumen adecuado con agua bidestilada.

Para comprobar la validez del método se preparan disoluciones con concentración de NH_4^+ comprendida entre 0,64 y 0,064 mg.L^{-1} , que se inyectan (408 μL) o se pasan en continuo, dependiendo de la técnica empleada, y se mide el valor medio de ΔI_F haciendo tres determinaciones para cada concentración.

Los valores de concentración, en mg.L^{-1} , encontrados, Tabla 122, para un 95 % de fiabilidad no difieren significativamente.

Tabla 122. Determinación de amonio mediante difusión gaseosa en continuo utilizando Eosina como indicador fluorescente. Validación del método $\lambda_{exc} = 536 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 552 \text{ nm}$, $R_{exc} = 5 \text{ nm}$, $R_{em} = 5 \text{ nm}$, $[EA] = 13,3 \times 10^{-7} \text{ M}$, $[\text{NH}_4^+] = 0,35 \text{ mg.L}^{-1}$, $\text{pH} = 3,60$, $[EA] = 4,5 \times 10^{-5} \text{ M}$.

PUESTO	[NH ₄ ⁺], mg.L ⁻¹ *	
	ENCONTRADO	
	T. clásica	T. inversa
0,64 ± 0,02	0,62 ± 0,04	0,66 ± 0,04
0,032 ± 0,01	0,33 ± 0,05	0,30 ± 0,05
0,19 ± 0,01	0,21 ± 0,05	0,18 ± 0,05
0,13 ± 0,01	0,10 ± 0,06	0,14 ± 0,06

* Valores medios de tres determinaciones 95 % de fiabilidad

Se comprueba que la utilización de un indicador fluorescente para el seguimiento de la cantidad de NH₃ recogido en la disolución aceptora mejora la sensibilidad del procedimiento. En ambos métodos, espectrofotométrico y espectrofluorimétrico, el NH₄⁺ se puede determinar claramente por debajo del valor paramétrico marcado por el legislador

VI.- ANEXOS

ANEXO I

NORMATIVA REGULADORA EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS POTABLES. LEGISLACIÓN ESPAÑOLA

Orden de 16 de Agosto de 1964, de la Presidencia del Gobierno, por la que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria del Hielo. BOE 204, de 25-08-64

Dto. 2484/67, de 21 de Septiembre, por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español. (BOE 17-10-67)

Resolución de 25 de Enero de 1982, de la Subsecretaría para la Sanidad, por la que se aprueba el modelo Libro Registro de Análisis para las Industrias de Aguas de bebida envasadas. BOE 65, de 17-03-82.

Real Decreto 1423/1982, de 18 de Junio, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico- Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público (Derogado) BOE de 29-06-82.

Orden Ministerial de 27 de Julio de 1983, que establece métodos oficiales de análisis microbiológicos de aguas potables de consumo público. BOE 193, de 13-08-83.

Resolución de 23 de Abril de 1984, de la Subsecretaría, por la que se aprueba la lista positiva de aditivos y coadyuvantes tecnológicos autorizados para tratamientos de las aguas potables de consumo público. BOE 111, de 09-05-84.

Ley 14/86, de 25 de Abril, General de Sanidad. (BOE 29-04-86).

Orden de 8 de Mayo de 1987, del ministerio de relaciones con las cortes y de la Secretaría del Gobierno, por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis microbiológicos para la elaboración, circulación y comercio de aguas bebidas envasadas. BOE 114, de 13-05-87.

Orden de 1 de Julio de 1987 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis físico-químicos para aguas potables de consumo público. BOE 163, de 09-07-87. C.e. BOE 223, de 17-09-87.

Orden de 8 de Febrero de 1988 relativa a los métodos de medición y a la frecuencia de muestreos y análisis de aguas superficiales que se destinen a la producción de agua potable. Incorpora la Dir. 79/869/CEE. BOE 53, de 02-03-88. C.e. BOE de 02-04-88.

Orden de 11 de Mayo de 1988 sobre características básicas de calidad que deben ser mantenidas en las corrientes de agua superficiales cuando sean destinadas a la producción de agua potable (modificada por la de 15 de Octubre de 1990 y por la de 30 de Noviembre de 1994). Incorpora la Dir. 75/440/CEE. BOE 124, de 24-05-88.

Real Decreto 1138/1990, de 14 de Septiembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico Sanitaria para el abastecimiento y control de calidad de las aguas potables de consumo público (Deroga el RD 1423/1982 de 18-06-82). BOE 226, de 20-09-90. C.errores BOE de 24-11-90.

Orden de 15 de Octubre de 1990. Modifica la Orden 11-5-1988, de características básicas de calidad que deben mantenerse en las corrientes superficiales destinadas a la producción de la potable. BOE 254, de 23-10-90.

Real Decreto 1164/1991, de Julio, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración circulación y comercio de aguas de bebida envasada. (Modificada por el Real Decreto 781/1998, BOE 121, de 21-05-98). BOE 178, de 26-07-91.

Orden de 30 de Noviembre de 1994. Modifica la Orden 11-5-1988, sobre características básicas de calidad que deben mantenerse en las corrientes de aguas continentales superficiales destinadas a la producción de agua potable. BOE 298, de 14-12-94.

Real Decreto 140/2003, de 7 de Febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE 45, de 21-02-03. C.errores BOE 54 de 04-03-03.

ANEXO II

NORMATIVA REGULADORA EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS POTABLES. DIRECTIVA EUROPEA

Directiva del Consejo 75/440/CEE, de 16 de Junio de 1975, requerida para las aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable en los Estados miembros. DOCE 194/L, de 25-07-75.

Directiva del Consejo 79/869/CEE, de 9 de Octubre de 1979, relativa a los métodos de medición y a la frecuencia de los muestreos y del análisis de las aguas superficiales destinadas a la producción de agua potable en los Estados miembros. DOCE 271/L, de 29-10-79.

Directiva 80/778/CEE del Consejo, de 15 de Julio de 1980, relativa a la Calidad de las Aguas destinadas al Consumo humano DOCE 229/L, de 30-08-80.

Directiva 98/83/CE del Consejo, de 3 de Noviembre de 1998, relativa a la calidad de las aguas destinadas al consumo humano. DOCE 330/L, de 05-12-98.

ANEXO III

MUESTRA PATRÓN DE AGUA

NR 784

COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES

COMMUNITY BUREAU OF REFERENCE - BCR-

CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

CERTIFICATE OF ANALYSIS

CRM 409 MAJOR COMPOUNDS IN SIMULATED RAIN WATER (high contents)			
	Amount of substance content ($\mu\text{mol/kg}$)		
	CERTIFIED VALUE (1)	UNCERTAINTY (2)	
calcium	15.5	0.3	18
chloride	113	2	20
hydronium	48.0	2.1	5
potassium	4.25	0.21	12
magnesium	12.3	0.2	18
sodium	82.9	1.2	18
ammonium	106	2	14
nitrate	78.1	1.0	19
sulphate	53.2	0.7	20

(1) Unweighted mean value of the means of p accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with different method of determination.

(2) Half-width of the 95 % confidence interval of the mean defined in (1). When the reference material is used to assess the performance of a procedure, the user should refer to the recommendations of the certification report.

DESCRIPCIÓN OF THE SAMPLE

The material consists of artificial rainwater with a relatively high level of electrolytes stored in sealed quartz ampoules, each containing approximately 100 ml. The samples were sterilized by gamma-irradiation (^{60}Co -source, 25 kGy). Additional information on the preparation, the certified and indicative values is given in the certification report.