

CAPÍTOL 2: MATERIALS I MÈTODES

2.1.REACTIUS I DISSOLUCIONS

2.1.1. REACTIUS

Sempre que ha estat possible s'empra la qualitat "per anàlisi" o similar.

2.1.1.1. Patrons

Patrons de tensioactius aniònics

Com a patrons de tensioactius aniònics s'han utilitzat tres tipus: el dodecilsulfat de sodi, també conegut com a laurilsulfat de sodi, SDS, (Fluka) i el dodecilbensensulfonat de sodi, SDBS i el tetrapropilenbensensulfonat de sodi, STBS, de Carlo Erba. Tots tres tenen un grau de puresa del 99%.

Dels patrons de tensioactius descrits, el SDBS és el tensioactiu aniònic més emprat en productes de neteja comercials. No obstant, hi ha certa dificultat en obtenir-lo com a reactiu analític i la seva manipulació és complexa ja que es tracta d'un reactiu higroscòpic que forma solucions molt viscoses. Per aquesta raó, en la majoria d'experiències s'utilitza el SDS que, a més, té una cinètica de reacció més ràpida perquè presenta una estructura química amb menys impediments estèrics.

El STBS és un tensioactiu de cadena ramificada, l'ús comercial del qual no està permès per la seva baixa biodegradabilitat. No obstant, per l'objectiu de desenvolupar un analitzador automatitzat que operi en condicions de manteniment reduït, disposar d'un patró que no es degradi tan ràpidament representa un factor important.

Patrons de tensioactius no iònics

Els diferents patrons de tensioactius no iònics emprats es presenten a la Taula 2-1. Es classifiquen en nonilfenolpolietoxilats (NPES), octilfenolpolietoxilats (OPES) i alcohols polietoxilats. Els Igepals i el Triton X-100[®] s'han comprat a Aldrich i la resta de patrons han estat donats per KAO Corp. Tots els patrons tenen un grau de puresa del 99%.

Taula 2-1. Tensioactius no iònics emprats amb les respectives característiques estructurals. Sn, sobrenom utilitzat en aquest treball; UEOs, número d'unitats etoxilades; n°C, número d'àtoms de carboni de la cadena hidrofòbica.

Tipus de tensioactiu	Nom comercial	Sn	UEOs	n°C
nonilfenols polietoxilats	Igepal CO-520 [®]	Ig5	5	9
	Findet 9Q/19 [®]	F7	7	9
	Findet 9Q/21.5 [®]	F9i	9	9
	Igepal CO-720 [®]	Ig12	12	9
	Igepal CO-890 [®]	Ig40	40	9
octilfenol polietoxilats	Triton X-100 [®]	T9	9	8
alcohols polietoxilats	Findet 20/N [®]	F2	2	12-14
	Findet 1214/16 [®]	F4	4	12-14
	Findet 13/18.5 [®]	F6.5	6.5	13
	Findet 10/18 [®]	F8	8	10
	Findet 1214N/21 [®]	F9ii	9	12-14
	Findet 1618 A/35-E [®]	F11	11	16-18
	Findet 18/27 [®]	F18/27	—	18
	Findet AR/30 [®]	F18	18	30

Per raons pràctiques es va treballar amb un nombre reduït de compostos alhora de preparar els patrons per a realitzar la majoria d'experiències. Aquests foren el Igepal Co-720[®] (Ig12) i el Triton X-100[®] (T9), per ser els compostos als quals els sensors presentaven una millor resposta. També s'ha utilitzat el Findet 9Q/19[®] (F7) alhora de realitzar la validació del sistema, ja que és un compost que es troba habitualment en les mostres mediambientals¹.

Construcció dels elèctrodes

La construcció del suport conductor sòlid dels elèctrodes selectius de tensioactius implica la utilització de grafit en pols d'una mida de partícula de 50 µm (Merck), i d'Araldit M/5409 i Enduridor HR (ambdós de CIBA-GEIGY) per la resina epoxi.

Pel que fa a la membrana selectiva de tensioactius aniònics s'utilitza l'*o*-nitrofenil octil éter, NPOE (Fluka, Selectophore) com a solvent mediador, clorur de polivinil, PVC (Fluka) com a suport polimèric i tetrahidrofurà, THF (Merck) com a dissolvent per a l'homogenització total de tots els components. Pels components del parell iònic es fa servir el tensioactiu aniònic SDBS (Carlo Erba) com a anió i la sal d'amoni quaternari, bromur de tetradodecilamoni (Fluka) com a catió.

Els reactius emprats pel que fa al compost electroactiu de la membrana selectiva a tensioactius no iònics són: tetrafenilborat de sodi, TPB (Fluka), clorur de bari (Panreac) i els tensioactius no iònics: Ig5 i Ig12 (Aldrich, vegeu les característiques a la Taula 2-1). Com a solvent mediador es va assajar el *o*-nitrofenil octil éter, NPOE i el *o*-nitrofenil fenil éter, NPPE, (Fluka, Selectophore). La resta de reactius emprats, el polímer i el dissolvent, són els mateixos que s'utilitzen per a la membrana de tensioactius aniònics.

Sorbents d'Extracció en Fase Sòlida

S'han assajat diverses resines comercials i específiques d'Extracció en Fase Sòlida (SPE) com a rebliments per a la preconcentració de tensioactius mitjançant columnes d'extracció. Com a cartutxos de sílice modificada amb C₁₈ s'han emprat el *Sep-Pak* d'una mida mitja de partícula de 55-105µm, subministrat per Waters Chromatography (Millipore), el *LiChrolut RP-18 endcapped*, d'una mida mitjana de partícula de 40-63µm (Merck) i el *Discovery DSC-18* (Supelco). També s'ha utilitzat un polímer de poliestirèdivinilbenzè d'una mida mitjana de partícula de 40-120µm, *LiChrolut EN* (Merck) i un copolímer de polidivinilbenzè i vinilpirrolidina, l'*Oasis* (Waters Chromatography, Millipore), que exhibeix comportament polar i apolar, amb un diàmetre mig de partícula de 31 µm.

Pel què fa al disc d'extracció s'ha utilitzat també una resina de sílice modificada amb C₁₈ (3M Empore).

2.1.2. DISSOLUCIONS

Totes les solucions es preparen amb aigua bidestil·lada.

Les calibracions es realitzen a partir de solucions diàriament preparades per dilució de solucions stock dels diferents tensioactius. Les solucions stock de concentració 0.01 M es preparen mensualment per pesada directa del reactiu i es guarden a la nevera a 5°C per minimitzar la biodegradació.

Com es recomana a la bibliografia², es va estudiar la possibilitat d'addicionar a les solucions patró un petit percentatge de formaldehid per tal de retardar el procés de biodegradació. Això, però, no va resultar factible degut a que el formaldehid provoca una distorsió del senyal mesurat pels elèctrodes en sistemes convencionals i sistemes FIA directes.

2.1.3. MOSTRES REALS

Les mostres s'han recollit en diferents punts de la conca del riu Llobregat i es guarden a la nevera a 5°C per evitar la degradació dels analits fins al moment de l'anàlisi, que té lloc el dia següent.

Les mostres destinades a la determinació de tensioactius no iònics es recullen en pots de vidre, que és el procediment habitual per a l'anàlisi de microcontaminants orgànics per minimitzar l'adsorció d'aquests compostos en les parets dels recipients³.

Les mostres de tensioactius aniònics es recullen en envasos de polietilè i abans de l'anàlisi es filtren mitjançant filtres de fibra de vidre de 0.7 µm (Schleicher & Schuell, Dassel, Alemanya). En aquest cas el procediment és diferent ja que els tensioactius aniònics són un dels paràmetres que es determinen mensualment als laboratoris de la Planta de Tractament de St. Joan Despí, apart d'altres analits com sodi, potassi, calci, alumini, ferro, metalls pesants tipus plom, mercuri, etc. Per aquesta raó, es prenen grans quantitats de mostra, que són més fàcilment transportables en envasos de plàstic.

2.2. INSTRUMENTACIÓ

2.2.1. ELÈCTRODES SELECTIUS D'IONS

Els elèctrodes selectius d'ions (ISEs) amb contacte intern sòlid *all-solid-state* presenten una sèrie d'avantatges respecte els elèctrodes amb referència interna líquida. Aquests són una major robustesa mecànica, versatilitat respecte la posició de treball dels sensors i possibilitat de treballar en un ampli interval de temperatures (tant a temperatures elevades, essencials per a l'esterilització (>100°C), com a temperatures properes a 0°C les quals són importants per al transport d'aquests dispositius durant l'hivern). A més a més, aquests elèctrodes es poden construir amb múltiples configuracions⁴.

En el nostre grup de recerca s'ha desenvolupat una metodologia propia de fabricació d'elèctrodes *all-solid-state* que ha permès la construcció d'un gran nombre d'elèctrodes selectius de diferents ions emprant una gran varietat de ionòfors i de dissolvents mediadors. En són uns exemples els ISEs de: perclorat⁵, calci⁶, nitrat⁷, clorur⁸, amoni⁹, fosfat¹⁰, plom¹¹ i isocianurat¹².

2.2.1.1. Preparació de les membranes sensores

Preparació de la membrana sensora de tensioactius aniònics

La inexistència d'elèctrodes selectius de tensioactius aniònics adequats per anàlisi de rutina mitjançant potenciometria directa va impulsar, en el nostre grup de recerca, l'estudi de noves composicions de membrana per al desenvolupament de dispositius que presentessin unes característiques de resposta i un temps de vida millors als dels existents¹³. Com a continuació d'aquests estudis, en el present treball s'han construït els elèctrodes emprant la membrana considerada com a més òptima per a treballar en flux¹⁴, la qual conté el parell iònic format per una sal d'amoni quaternari i dodecilbensulfonat. El parell iònic es prepara segons el protocol descrit per *Baró-Romà i col*¹³.

Per preparar la membrana de portador mòbil, els diferents components de la membrana que s'obtenen per pesada directa dels corresponents reactius, es dissolen en un dissolvent volàtil, tetrahidrofurà (THF), que s'encarrega d'homogenitzar la membrana. La proporció és de 5 ml de THF per 100.0 mg de PVC. D'aquesta manera el còctel constituït pel parell iònic, la matriu polimèrica i el solvent mediador no queda molt viscos, la qual cosa podria dificultar la posterior deposició de la membrana. Per concloure, la composició de la membrana és: un 1% de parell iònic, un 33% de PVC i un 66% de NPOE com a plastificant.

Preparació de la membrana sensora de tensioactius no iònics

La preparació del portador mòbil de la membrana basat en una sal de tetrafenilborat (TPB) del complex format entre l'ió bari i un compost polietoxilat es va fer seguint el procediment descrit per *Moody i col*¹⁵, els quals van desenvolupar, l'any 1986, el primer ISE de bari d'aquest tipus construït amb referència interna sòlida.

Es barregen 50 ml d'una suspensió aquosa del tensioactiu polietoxilat 0.01 M amb 50 ml d'una solució de clorur de bari 0.1 M. A continuació, amb agitació lenta però seguida, s'afegeix gota a gota aproximadament 120 ml d'una solució de TPB de sodi 0.01 M, de manera que es forma un precipitat blanc. Després, es filtra el complex format, el qual es renta amb aigua bidestil·lada i s'asseca a 40°C.

De manera similar a la membrana selectiva de tensioactius aniònics, per a preparar la membrana es dissol el còctel constituït per un 7% de la sal del complex, un 30% de la matriu polimèrica i

un 63% del plastificant en tetrahidrofurà (5 ml de THF per 100.0 mg de PVC). Degut als anteriors treballs realitzats per *Jaber i col*¹⁶⁻¹⁸ on s'optimitza el solvent mediador d'aquest tipus de sensors, s'assaja com a plastificant l'*o*-nitrofenil octil éter, NPOE i l'*o*-nitrofenil fenil éter, NPPE.

2.2.1.2. Construcció dels elèctrodes de configuració convencional

Com es pot veure a la Figura 2-1, la construcció d'ISEs de configuració convencional consta de diferents etapes.

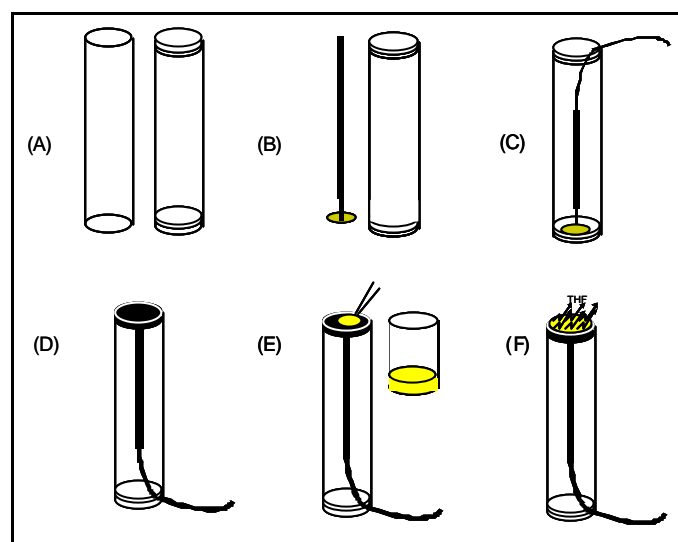


Figura 2-1. Esquema del procés de construcció d'un elèctrode convencional. (A) Inserció dels tubs de PVC en el cos de metacrilat, (B) La connexió elèctrica es solda a la placa de Cu, (C) Inserció de la connexió, (D) Aplicació del compòsit, (E) Aplicació de la membrana i (F) Evaporació del THF.

En un tub de metacrilat de 0.8 cm de diàmetre intern i 10 cm de llargada, s'introdueix un tub de 3 mm de PVC a 0.5 cm de distància dels extrems (Figura 2-1A). Paral·lelament es solda una placa de coure, de manera que aquesta quedi perpendicular al cable elèctric (Figura 2-1B). S'introdueix el cable tensat en el tub de metacrilat fent que la placa quedi centrada i perfectament recolzada sobre el tros de tub de PVC i s'encola el cable al tub per l'extrem oposat (Figura 2-1C).

S'aplica una pasta conductora que fa de contacte intern dins del buit que queda entre la placa de coure i el cos de metacrilat. La resina conductora es basa en un compòsit format per un 50% de grafit en pols i el mateix percentatge de resina epoxi, formada per Araldit M i Enduridor HR en proporcions 1:0.4. Un cop omplert, es deixa curar la pasta de 12 a 24 hores a 40°C fins que s'endureixi (Figura 2-1D). Posteriorment es poleix la superfície i es fa una cavitat de 0.3 mm on es disposa finalment el còctel sensor (Figura 2-1E).

La deposició de la membrana es fa gota a gota deixant evaporar durant uns 15 minuts després de cada addició el THF. L'addició de les primeres gotes és el pas més crític per obtenir una distribució homogènia de la membrana en tota la superfície, i cal anar en compte que no es

formin bombolles d'aire que restarien atrapades a la membrana (Figura 2-1F). Un cop feta la darrera deposició la membrana es deixa assecar durant 24 hores.

Els elèctrodes es condicionen deixant la membrana dels ISEs en contacte amb una solució que contingui l'ió al qual és selectiu. Aquest procés es realitza per mantenir la concentració del portador mòbil de la membrana i així assegurar que els elèctrodes tenen una resposta comparable al llarg del temps. En el cas dels elèctrodes selectius de tensioactius aniònics, la solució de condicionament és una solució de SDBS $1 \cdot 10^{-3}$ M ja que solucions més concentrades degraden la resposta. Pels elèctrodes selectius de tensioactius no iònics, aquesta és una solució de Ig12 de la mateixa concentració.

2.2.1.3. Construcció dels elèctrodes de configuració tubular

La metodologia de construcció d'elèctrodes de configuració tubular desenvolupada al GSB ha estat descrita en nombrosos treballs^{4,9,19,20}. Com ja s'ha comentat anteriorment, aquesta configuració permet, a part d'integrar de manera senzilla l'elèctrode en el sistema, el manteniment de les característiques hidrodinàmiques del flux.

La Figura 2-2 mostra les diferents etapes de la construcció d'ISEs de configuració tubular. A partir d'un tub de metacrilat de 12 mm de diàmetre extern s'obtenen els cossos dels elèctrodes, de 0.8 cm de longitud (Figura 2-2A). En la part central de cada cos s'insereix el connector, el qual ha de permetre un bon contacte elèctric entre l'elèctrode i el potenciòmetre (Figura 2-2B). Després, s'aplica el compost gràfit-epoxi (1:1) dins del cos de l'elèctrode i es cura a 40°C de 12 a 24 hores (Figura 2-2C). Recordem que la resina epoxi està formada per Araldit M i Enduridor HR en proporcions 1:0.4.

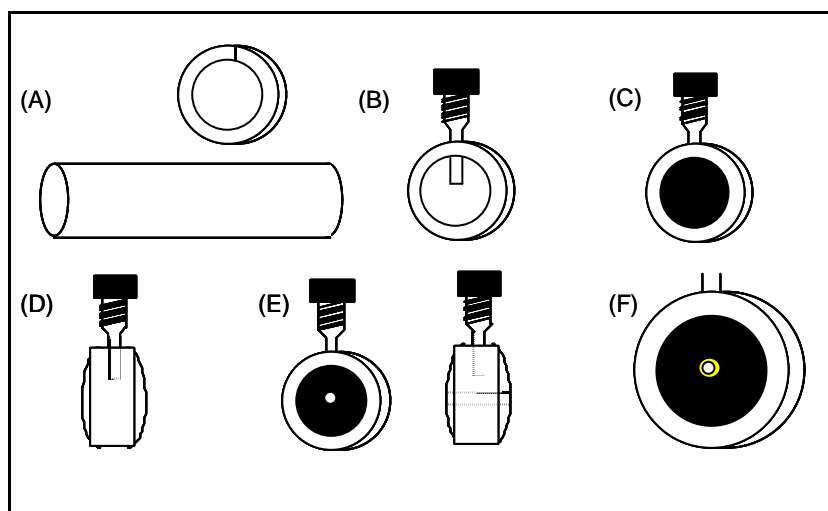


Figura 2-2. Esquema del procés de construcció d'un elèctrode tubular (configuració FIA). (A) Cos de metacrilat, (B) Inserció del connector, (C) Aplicació del compost, (D) Aplicació de la capa d'altant, (E) ISE preparat per a l'aplicació de la membrana i (F) ISE amb membrana.

L'aïllament de les cares de l'elèctrode es realitza aplicant una capa de resina epoxi a ambdues cares, una vegada aquestes han estat polides (Figura 2-2D). Després s'introdueix l'elèctrode a l'estufa a 40°C durant 12 hores més. Posteriorment, es realitza un forat de 1.5 mm de diàmetre en el centre del cos, en les parets del qual es disposarà la membrana sensora (Figura 2-2E).

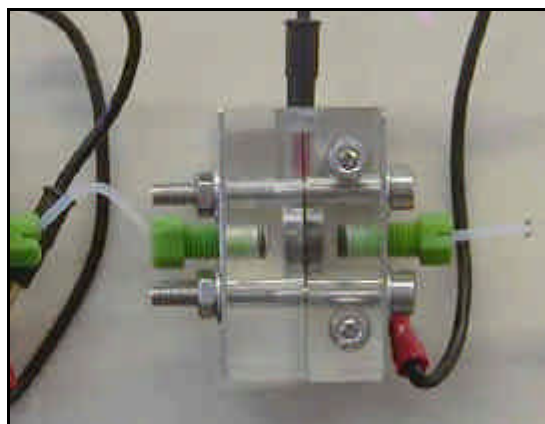
La deposició de la membrana es realitza gota a gota, mitjançant una pipeta Pasteur, deixant evaporar cada vegada el THF durant aproximadament 15 minuts a temperatura ambient. El mateix procediment es repeteix unes deu vegades, però s'alterna cada vegada la cara on s'apliquen les gotes per tal de no taponar l'orifici. A la darrera deposició es deixa assecar dotze hores per tal d'assegurar-nos que el dissolvent s'ha evaporat totalment. Al finalitzar s'ha de veure a contrallum una fina capa que recobreix tota la paret interna de l'orifici, que correspon a la membrana sensora (Figura 2-2F).

Per integrar els elèctrodes dins el sistema de flux, es col·loquen aquests entre dos peces de metacrilat (vegeu Figura 2-3). Aquestes peces tenen un petit orifici, que és per on s'introdueixen els tubs que fan de conducció dels líquids en el sistema FIA, el qual ha de coincidir amb l'orifici de l'elèctrode. Per assegurar l'estanquitat del conjunt i la coincidència dels orificis, es col·loca una junta de silicona entre la superfície de metacrilat i la de l'elèctrode. Les dues peces de metacrilat s'uneixen entre elles amb quatre cargols que es troben en els vèrtexs de les mateixes.

El condicionament dels elèctrodes es realitza de la mateixa manera que per la configuració convencional.



(A)



(B)

Figura 2-3. Fotografies (A) d'un ISE tubular, i (B) d'un suport d'ISE tubular.

2.2.2. COLUMNA DE PRECONCENTRACIÓ

2.2.2.1. Disseny de la columna de preconcentració

Les dimensions geomètriques de la columna (longitud i diàmetre del tub del rebliment) s'han optimitzat per minimitzar la dispersió i la quantitat de material adsorbent utilitzat per a la preconcentració de l'analit. L'objectiu particular d'aquest estudi fou trobar una columna amb les mínimes dimensions per evitar problemes de sobrepressions o de dilució de la mostra, però amb la capacitat de preconcentració requerida en el cas de detectar tensioactius a nivells ambientals. Addicionalment, com menor és el volum de la columna més petits són els volums d'eluent que s'han d'emprar.

Es construeixen una sèrie de 8 columnes de diferents dimensions amb metacrilat. A continuació es mostra a la Figura 2-4 i a la Taula 2-2 les característiques de cada una: longitud (L), diàmetre intern (D) i volum intern (V).

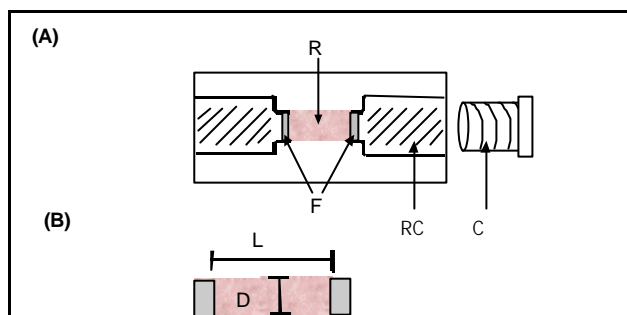


Figura 2-4. (A) Esquema general de la columna de preconcentració. F, fritats; R, rebliment; RC, rosca per al connector; C, connector FIA. (B) Detalls del diàmetre intern, D, i la longitud interna, L, de la columna.

Taula 2-2. Característiques geomètriques de les diferents columnes.

Columna	C1	C2	C3	C3B	C4	C4B	C5	C6
L (mm)	20.0	10.0	14.0	14.0	6.0	6.0	11.0	16.0
D (mm)	4.0	2.0	1.75	2.0	1.0	2.0	1.8	1.8
v (μl)	300	31.4	33.7	44	4.7	18.8	28.0	40.7

Per saber quin disseny és el més idoni, s'empaqueten totes les columnes amb el mateix rebliment (Sep-Pak, Waters) i es realitzen diferents experiències amb la finalitat de determinar alguns paràmetres que ens puguin orientar en l'elecció de la columna òptima. Aquestes es basen en comparar l'alçada de pic FIA al preconcentrar un mateix volum d'un mateix patró i observar la quantitat d'analit que no es reté a causa de la longitud de la columna.

Finalment, s'escull la columna C6 com a òptima ja que les columnes C4,C4B, C2 i C5 tenen uns volums de ruptura massa petits i, en canvi, la columna C1 provoca molta sobrepressió al sistema amb el pas dels líquids. La sobrepressió en un sistema FIA es tradueix amb la desconexió del punt més feble del sistema, de manera que es produeixen pèrdues dels líquids. Això es minimitza utilitzant en aquests punts connectors Gilson de baixa pressió (P/N 810065, Villiers Le Biel, França), que augmenten la robustesa del sistema.

La Figura 2-5 mostra una fotografia de diverses columnes de preconcentració.



Figura 2-5. Fotografia de dues columnes de diverses dimensions que es comparen amb la mida d'un ISE i d'una moneda espanyola de 5 pessetes (diàmetre 17 mm).

2.2.2.2. Muntatge de la columna

Les columnes s'omplen del rebliment per aspiració d'una suspensió alcohòlica d'aquest. El procediment que es segueix és el següent: primer, es fa una suspensió de la resina en metanol. En segon lloc, es posa un fritat en un extrem de la columna, i es col·loquen les conduccions per impulsar els líquids. Amb una bomba peristàltica s'aspira la suspensió de forma que el sorbent es va empaquetant fins que s'observa que la columna està completament reblerta. Finalment, es retira la resina sobrant de l'extrem obert de la columna, es col·loca un altre fritat a l'altre extrem i s'impulsa aigua destil·lada de manera anàloga al pas anterior, durant uns deu minuts.

S'han provat diferents tipus de fritats: un de polietilè contingut en el cartutx del rebliment Sep-pak amb una mida de porus de 20 μm , una malla de nylon d'una mida de porus mitja de 40 μm i fritats de polipropilè d'una mida de porus de 35 i 90 μm subministrats per MoBiTec (Göttingen, Alemanya). Aquests darrers foren els escollits perquè permeten un muntatge més senzill i una millor operativitat.

2.2.2.3. Condicionament de la columna

Els manuals comercials dels sorbents de SPE estableixen un protocol a l'hora d'utilitzar aquests materials amb la finalitat de *condicionar* els rebliments per a augmentar-ne l'eficiència. Aquest condicionament es basa en passar un volum d'un solvent d'alta polaritat, que ha de ser com a mínim el volum de la columna (2 ml de metanol) i després es passa un volum igual d'aigua destil·lada²¹. Cal vigilar que la columna no quedi seca ja que es podrien produir canalitzacions en el propi material, que farien que el camí mig recorregut per l'analit no fos reproducible.

2.2.3. DISC DE PRECONCENTRACIÓ

2.2.3.1. Disseny del suport del disc de preconcentració

Ateses les característiques especials del nou material i a què en la bibliografia la majoria d'autors que utilitzen discs d'extracció ho fan en sistemes off-line, va ser necessari dissenyar nous suports que permetessin la seva fàcil integració en sistemes de flux.

Inicialment, es va utilitzar com a model, el disseny emprat per a la construcció dels dispositius difusors/dialitzadors de flux continu. Amb aquest suport, construït en metacrilat, la única superfície del disc disponible per tal de realitzar la preconcentració és la que coincideix amb el canal de difusió/diàlisi (0.4 cm^2), que és equivalent a utilitzar un disc de radi 3.6 mm. El líquid arriba mitjançant el connector i travessa el disc d'extracció com si es tractés d'un filtre.

A la Figura 2-6 es mostra un esquema del mateix.

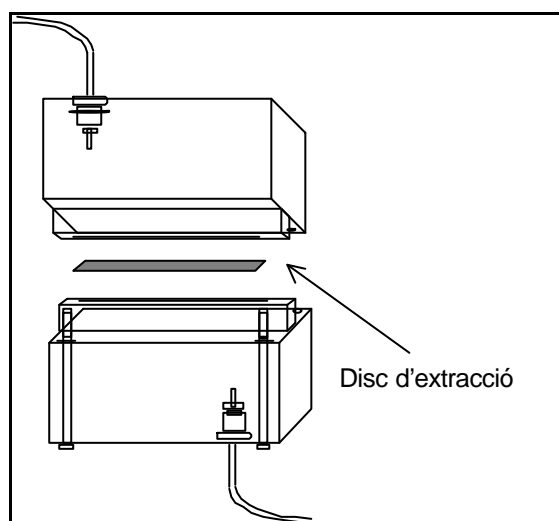


Figura 2-6. Esquema del suport del disc d'extracció. Pel connector superior entra la mostra amb l'analit que es preconcentra en el disc d'extracció. Després la mostra surt a través del connector inferior cap al sistema de detecció.

En el taller mecànic de la UAB es va dissenyar un altre suport basat en el descrit en la bibliografia per *Brinkman i col*^{22,23} i que ha esta utilitzat per altres autors²⁴, però que degut a problemes d'estanqueïta t no es va poder emprar en el nostre sistema.

2.2.3.2. Muntatge del disc de preconcentració

La utilització d'aquest nou material té avantatges respecte a la utilització de la columna, pel què fa referència a la seva utilització. Per una banda, el material adsorbent és més senzill de manipular i facilita la seva substitució i, per altra banda, s'eliminen els problemes derivats de l'empaquetament de la columna.

El procediment de muntatge del disc consisteix en retallar, del disc obtingut comercialment, un rectangle d'una superfície igual a la del suport. Es diposita en el suport, procurant que no en sobresurti pels extrems. Finalment, es premen, procurant fer la mateixa força, els quatre cargols que es troben en els extrems del suport, per tal d'establir la mateixa pressió en la membrana.

2.2.3.3. Condicionament del disc d'extracció

Els discs d'extracció també requereixen d'un condicionament previ per tal de proporcionar una bona interfase entre el sorbent i la mostra. En aquest cas, i d'acord amb les especificacions tècniques del fabricant, s'ha de seguir la primera vegada que s'utilitza, el següent protocol²⁵: es passen 2 ml d'un solvent condicionador, en el nostre cas metanol. Seguidament, es fa passar aire pel suport per tal d'assecar-lo i, a continuació, 2 ml de metanol sense deixar que el disc s'assequi. Finalment, es passen 2 ml d'aigua destil·lada procurant que el disc no quedi sec en cap moment.

En les posteriors utilitzacions del disc d'extracció, i sempre que el disc no s'hagi assecat, només es fa passar 2 ml de metanol i aigua destil·lada.

2.2.4. INSTRUMENTACIÓ PER A LA CARACTERITZACIÓ DELS ELÈCTRODES DE CONFIGURACIÓ CONVENCIONAL

A la Figura 2-7 es mostra un esquema del sistema emprat per l'avaluació dels elèctrodes de configuració convencional, amb els diferents elements que el constitueixen.

Les mesures es realitzen mitjançant un *potenciòmetre* digital model Crison micropH 2001, que té una línia de comunicació que permet l'avaluació de fins a 8 elèctrodes gràcies a un commutador digital construït al GSB. Les lectures es controlen via ordinador (PC-AT 386 a 20 MHz), a partir d'un cable de comunicació RS-232C i d'un software desenvolupat especialment en QuickBASIC⁸. L'elèctrode de referència Ag/AgCl és de doble unió líquida (Orion 90-02).

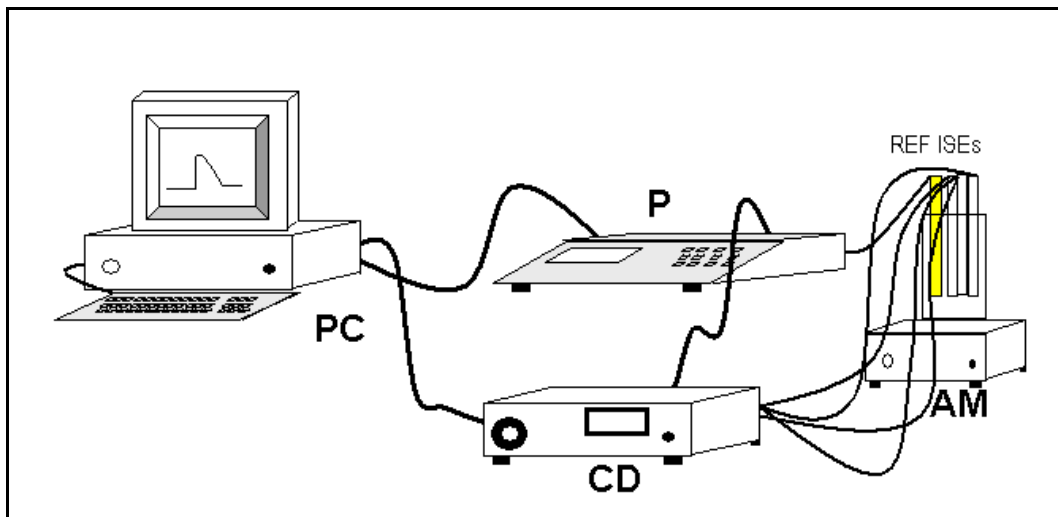


Figura 2-7. Sistema de mesura potenciomètrica dels ISEs de configuració convencional. PC, ordinador personal; P, potenciòmetre; CD, commutador digital; AM, agitador magnètic; ISEs, elèctrodes selectius d'ions; REF, elèctrode de referència.

2.2.5. INSTRUMENTACIÓ DELS SISTEMES DE GESTIÓ DE FLUIDS

2.2.5.1. Sistema FIA directe

Des d'un punt de vista instrumental, la caracterització dels senyals subministrats pels elèctrodes tubulars és més complexa que la dels elèctrodes de configuració convencional. Això és degut a que els sensors integrats com a detectors en els sistemes de flux continu subministren senyals transitoris la captura dels quals ha de ser prou ràpida per no perdre informació (mínim de 10 lectures per segon). Per aquesta raó és totalment necessari l'ús d'un ordinador amb una interfase adient.

La Figura 2-8 mostra un esquema del sistema FIA emprat per l'avaluació dels ISEs tubulars desenvolupats amb els diferents elements que el constitueixen i a la Figura 2-9 es pot veure una fotografia del sistema emprat al laboratori.

El *potenciòmetre* és un milivoltímetre model ISE Amplifier, construït per MBT Tecnologia Ambiental (Cerdanyola, Espanya). Inclou quatre potenciòmetres optoïllats que permeten el seguiment simultani de fins a quatre elèctrodes, en condicions de flux. El senyal de sortida del potenciòmetre ve multiplicat amb un factor de 5, com a etapa prèvia a l'adquisició de dades.

El *sistema d'adquisició de dades* es realitza mitjançant un ordinador compatible que, simultàniament, pot controlar els sistemes d'injecció de la mostra. L'ordinador incorpora una placa de conversió analògica-digital PCL-812 PG (Advantech). El procés de presa de dades es realitza mitjançant un software desenvolupat específicament per aquesta aplicació en llenguatge QuickBASIC.

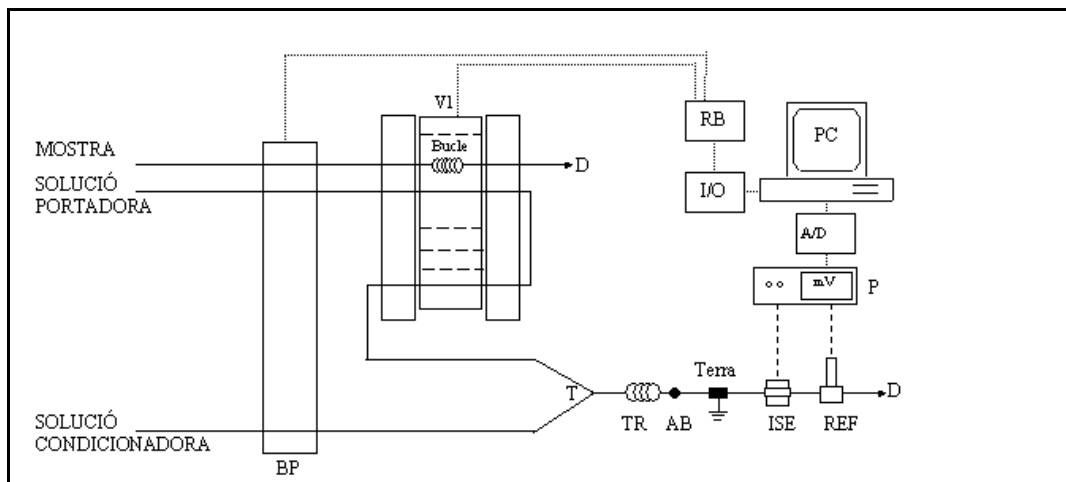


Figura 2-8. Sistema FIA per l'anàlisi directa de tensioactius. BP, bomba peristàtica; V1, injector-commutador; T, unió en T; TR, tub de reacció; AB, atrapador de bombolles; ISE, elèctrode selectiu d'ions; REF, elèctrode referència; P, potenciòmetre; A/D, tarja d'adquisició de dades; PC, ordinador personal; I/O, tarja de control digital; RB, tarja de relés; D, desguàs.

Com a *sistema de propulsió* s'utilitza una bomba peristàtica de 4 canals, marca Gilson, model Minipuls2 (Pacisa). Els tubs de bomba de Tygon, un tipus especial de PVC, són subministrats per Elkay Eireann (Galway, Irlanda) i tenen diferent diàmetre segons el cabal desitjat (entre 0.13 i 2.79 mm, el cabal amb una bomba a 50 rpm varia de 0.024 a 10.2 ml· min⁻¹).

El *sistema d'injecció* és un injector-commutador dissenyat i construït en el grup de recerca de B.Reis C.E.N.A. a Brasil²⁶. Aquest sistema presenta l'avantatge que utilitza simultàniament diferents circuits d'injecció, la qual cosa permet realitzar injeccions simultànies en canals diferents.

El *supressor de pulsacions/atrapador de bombolles* és un bloc de metacrilat amb dos compartiments, cada un amb entrada i sortida de flux, que redueix les pulsacions produïdes pel funcionament de la bomba peristàtica. A més, reté les possibles bombolles que provenen de la solució portadora i la solució condicionadora, la qual cosa evita distorsions del senyal mesurat. Una altra opció per a suprimir els potencials de corrent fluctuants generats per l'ús de la bomba peristàtica és l'elèctrode de *presa de terra* ("Grounding Electrode"). Aquest és un tub d'acer inoxidable d'igual diàmetre intern que el tub de tefló emprat en el sistema, que s'insereix en el sistema just abans de l'elèctrode indicador i pel qual circula la solució i el qual es connecta a terra²⁷.

Les *unions en T* són unes peces construïdes en metacrilat que permeten la confluència de diferents canals (solució portadora i solució condicionadora) per tal d'assolir la mescla de diferents solucions en un únic canal de sortida, abans del detector.

El sistema de detecció potenciomètrica bàsic està constituït per un elèctrode selectiu de configuració tubular que actua com a elèctrode indicador i un elèctrode de referència de doble unió líquida (Orion 90-02). Aquest últim s'integra en el sistema de flux mitjançant un suport de metacrilat en el qual s'ha mecanitzat una cavitat específica.

Totes les conduccions estan fetes amb tubs de tefló, de la firma Omnifit, de 0.8 mm de diàmetre intern que s'integren fàcilment en el sistema de flux mitjançant connectors de cromatografia líquida de baixa pressió específics de PVC, construïts al Taller Mecànic de la UAB. Per assegurar l'estanqueïtat de les connexions s'utilitzen juntes toroïdals de viton (Epidor S.A.) de diàmetre intern 1.78 mm. Els bucles d'injecció i els tubs de reacció es construeixen amb el mateix tub de tefló. Aquests darrers, que s'utilitzen per aconseguir l'homogenització de la solució de sortida de la unió en T, es munten enrotllant-los sobre un suport cilíndric de 1cm.

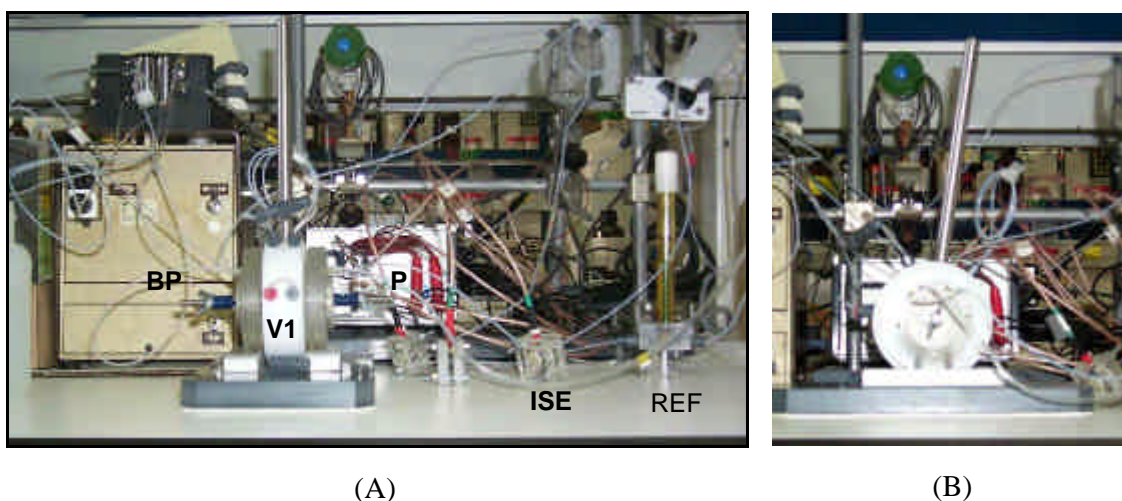


Figura 2-9. (A) Fotografia del sistema FIA del laboratori del GSB. BP), Bomba peristàltica; V1), Injector-commutador; P), Potenciòmetre; ISE), elèctrode selectiu d'ions i REF), elèctrode de referència. (B) Vista lateral de l'injector commutador.

2.2.5.2. Sistema FIA amb preconcentració on-line

El sistema FIA que integra una metodologia de preconcentració on-line es basa en el descrit anteriorment per avaluar els ISEs, tot i que incorpora dos elements nous i dos canals suplementaris. A la Figura 2-10 es presenta el sistema emprat en l'anàlisi de tensioactius a nivell mediambiental.

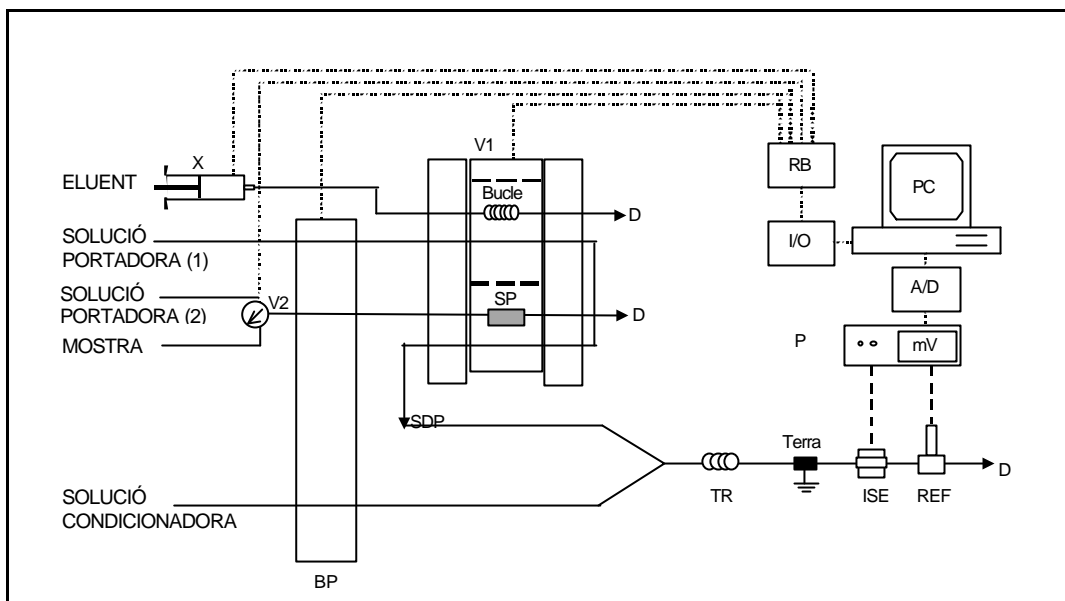


Figura 2-10. Sistema FIA amb preconcentració on-line emprat per l'anàlisi de tensioactius en mostres ambientals. BP, bomba peristàltica; V1, injecteur-commutador; V2, vàlvula solenoide de tres vies; X, xeringa; SP, sistema de preconcentració (columna o disc); SDP, circuit del flux cap al sistema de detecció; TR, tub de reacció; ISE, elèctrode selectiu d'ions; REF, elèctrode referència; P, potenciòmetre; A/D, tarja d'adquisició de dades; PC, ordinador personal; I/O, tarja de control digital; RB, tarja de relés; D, desguàs.

Els dos canals suplementaris són el canal de l'eluent i un nou canal de solució portadora per l'eluent, que conté aigua destil·lada. Els elements nous introduïts són: la columna de preconcentració que s'integra en un dels bucles de l'injecteur-commutador i un nou sistema d'injecció de la mostra. Aquest és una vàlvula de solenoide de tres vies que realitza la injecció per temps.

Les vàlvules de solenoide són sistemes d'injecció que es basen en la càrrega per temps. Aquests presenten un avantatge important respecte als sistemes convencionals de càrrega per volum, i és que permeten una major freqüència de mostreig²⁸. Aquest fet és degut a que s'injecta directament la mostra dins la columna, durant un determinat interval de temps. L'inconvenient però, és que tenen una gran dependència del cabal. Els cabals proporcionats per les bombes peristàltiques convencionals són molt sensibles a les relatives grans sobrepresions que es creen en els sistemes de flux que incorporen columnes on-line. Així, cal establir un control periòdic del cabal, sobretot a l'incorporar una nova columna o per observar problemes de baixa reproductibilitat dels senyals al llarg del temps.

A diferència del sistema anterior, l'injecteur-commutador s'utilitza en aquest cas per injectar l'eluent i com a suport de l'element de preconcentració, que ocupa la posició d'un dels bucles d'injecció mitjançant un tub flexible que fa de connexió senzilla. L'injecteur-commutador permet realitzar, en una sola operació i d'una manera simple, l'elució a contracorrent del sistema preconcentrador. Aquesta presenta més avantatges que l'elució en el mateix sentit ja que

minimitza els possibles problemes de sobrepressió causats pel rebliment de la columna i, pertant, permet una major duració d'aquestes al prevenir un empaquetament prematur. Així, segons *Fang i col.*²⁸, l'elució a contracorrent permet obtenir una menor dispersió i una millor reproductibilitat del sistema. La Figura 2-11 mostra un esquema de l'injector-commutador durant les etapes de preconcentració i elució de l'analit.

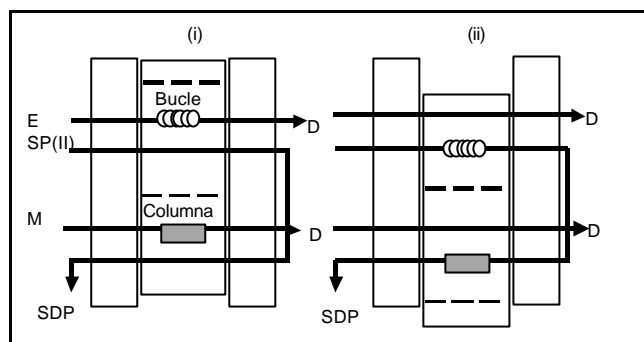


Figura 2-11. Esquema de l'injector-commutador. (i) Posició de preconcentració; (ii) Posició d'elució. E, eluent; SP(II) solució portadora de l'eluent; M, mostra; SDP, cap al sistema de detecció potenciomètric; D, desguàs.

2.2.5.3. Prototipus de sistema FIA amb preconcentració on-line dissenyat per ADASA SISTEMAS

Basats en els diferents sistemes FIA desenvolupats a nivell de laboratori en el GSB, l'empresa ADASA SISTEMAS del GRUP AGBAR, ha construït una sèrie de prototipus d'analitzadors industrials per a la seva integració en estacions automàtiques de control. Els prototipus construïts per ADASA SISTEMAS que ja estan en funcionament en les conques dels rius Ebre i Llobregat són: l'analitzador per a la determinació d'ió amoni, l'AQUAMONIA® i l'analitzador per a la determinació d'ió nitrat, l'AQUANITRA®, desenvolupats en el GSB per *E. Barquero*⁸. En el nostre cas, l'analitzador per a la determinació de tensioactius (aniònics o no iònics segons l'ISE emprat) que incorpora una etapa de preconcentració on-line s'anomena AQUATENS®. Per ADASA SISTEMAS, el disseny d'un equip amb aquestes característiques també ha representat una novetat i un repte, i ha estat després del desenvolupament d'aquest analitzador que se n'han dissenyat d'altres que també integren una metodologia de preconcentració com l'analitzador de fosfat, l'AQUAPHOS®, l'analitzador per a la determinació conjunta d'ió amoni, nitrat i fosfat, l'AQUAMULTI®, o l'analitzador de metalls pesants, l'AQUAMET®.

Tots els prototipus són sistemes totalment automàtics, el control i la programació de funcionament dels quals es fa mitjançant un petit ordinador (PCL). Els processos de calibració, autocalibració, són automàtics i programables, i es realitzen amb un nombre determinat de patrons. En l'AQUATENS® s'utilitzen 3 patrons, P1, P2 i P3 on P1 és aigua destil·lada per a fer el blanc degut al senyal de l'eluent. Aquests prototipus tenen capacitat d'emmagatzemar dades dels darrers 100 anàlisis i 50 calibracions, en una memòria tipus pila, i tenen una sortida de

comunicació RS-232C per extreure totes aquestes dades. En aquests prototipus, molts dels components instrumentals emprats en els equips de laboratori han estat substituïts per augmentar-ne la robustesa i disminuir els costos. Així, en el cas del sistema de propulsió, les bombes emprades són bombes peristàltiques Ismatec de velocitat fixa (20 rpm), de manera que la única via de variar els cabals és mitjançant l'ús de tubs de bomba de diferent diàmetre intern. Pel que fa als sistemes d'injecció, s'utilitzen vàlvules solenoides de pinçament (Sirai).

La Figura 2-12 mostra un esquema de l'AQUATENS® amb les diferents etapes de funcionament. A l'igual que en el sistema emprat al laboratori, aquestes etapes es divideixen principalment en dues: l'etapa de preconcentració on la mostra, o els patrons durant les autocalibracions, es retenen a la columna de preconcentració, i l'etapa d'elució. En el prototipus no s'ha utilitzat el disc d'extracció degut als problemes de disseny que s'expliquen a § 3.4.1.2.

Com es pot veure a la figura, aquest sistema que incorpora l'etapa de preconcentració on-line, també pot ser utilitzat com a sistema FIA directe si es substitueix la columna de preconcentració per un connector, i els patrons o les mostres s'injecten via el canal de l'eluent. En aquest cas, però, és convenient programar l'analitzador a fi que l'etapa de preconcentració sigui nul·la i així minimitzar el consum dels reactius.

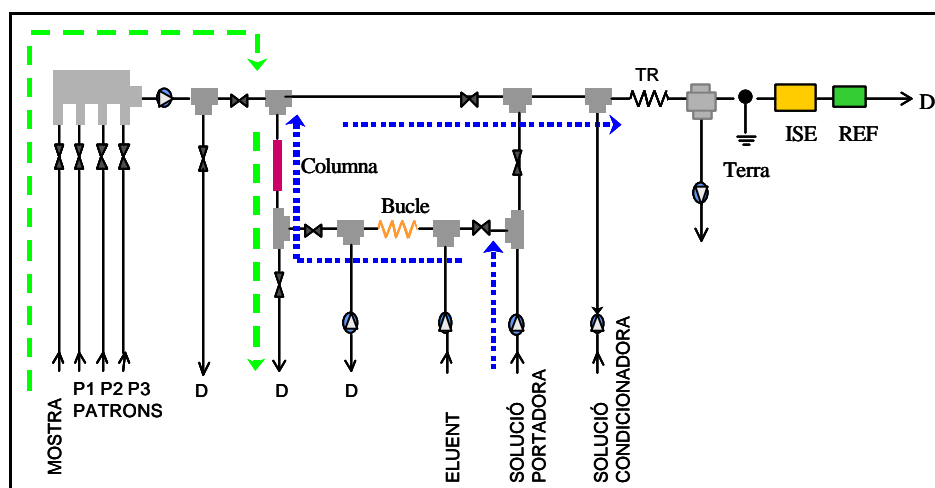


Figura 2-12. Prototipus d'analitzador amb preconcentració on-line, l'AQUATENS®, (⊙), bomba peristàltica; (□), unió en T; (X), vàlvules solenoides; TR, tub de reacció; (⊞), atrapedor de bombolles; ISE, elèctrode selectiu d'ions; REF, elèctrode referència; D, desguàs; (----) Etapa de preconcentració; (---) Etapa d'elució.

Per ordre cronològic de com es va desenvolupar el treball experimental, l'AQUATENS® ha estat emprat durant el desenvolupament de l'analitzador de tensioactius no iònics, fet que influeix si es comparen directament els paràmetres obtinguts amb els diferents sistemes (intervalls lineals, límits de detecció, etc.)

2.3. METODOLOGIES D'AVALUACIÓ

A continuació s'exposen les metodologies emprades per a avaluar els principals elements que componen els sistemes FIA: els elèctrodes i la columna de preconcentració.

2.3.1. MODEL DE RESPOSTA DELS ELÈCTRODES SELECTIUS D'IONS

Els paràmetres de resposta obtinguts en la calibració d'elèctrodes selectius de qualsevol ió s'utilitzen com a criteri de comparació alhora de determinar la millor composició de membrana i caracteritzar els dispositius. Aquesta caracterització es fa mitjançant procediments discrets no continus ("batch") emprant el sistema descrit a l'apartat § 2.2.4. En aquest treball només s'han caracteritzat els elèctrodes selectius de tensioactius no iònics, ja que l'optimització dels elèctrodes selectius de tensioactius aniònics s'havia fet anteriorment en el GSB per Baró-Romà¹³.

Com ja s'ha comentat en § 1.4.1, la potenciometria és una tècnica electroquímica basada en la mesura de la força electromotriu (*efm*) que es genera en la interfase entre dues superfícies sotmeses a un gradient de potencial. Així, la potenciometria aplicada a la química analítica utilitza aquesta força per a determinar concentracions d'analits en mostres²⁹.

És conegut que quan un elèctrode és immers dins d'una solució es desenvolupa un potencial a la superfície d'aquest, que depèn de l'activitat dels ions en solució i del número d'electrons implicats en el procés. Aquest model lineal que es coneix com l'equació de Nernst es descriu segons,

$$E = E_0 + (RT/Z_i F) \ln a_i \quad (2-1)$$

on, E és el potencial obtingut (mV); E₀, el potencial estàndard de l'elèctrode (mV); R, la constant dels gasos (8.3145 J · K⁻¹ · mol⁻¹); T, la temperatura absoluta (K); Z_i, representa la càrrega de l'ió principal, amb el seu signe corresponent; F, és la constant de Faraday (9.6486 · 10⁴ C · mol⁻¹); a_i, correspon a l'activitat de l'ió principal que es vol determinar. Si agrupem els termes constants, l'equació de Nernst apareix simplement com,

$$E = E_0 + s \cdot \log a_i \quad (2-2)$$

on s és el pendent, que es coneix com a sensibilitat de l'elèctrode, que té un valor teòric de 59.16 mV · dec⁻¹, en el cas d'un ió monovalent a 25°C. La corba de calibració d'un ISE, es construeix representant aquest potencial en front del logaritme de l'activitat (log a_i). La Figura 2-13 mostra la representació teòrica d'una corba de calibració on es senyalen les diferents zones que la componen: la zona *nernstiana*, on es compleix la llei de Nernst i la zona *subnernstiana*, amb una sensibilitat inferior a la predita per la llei.

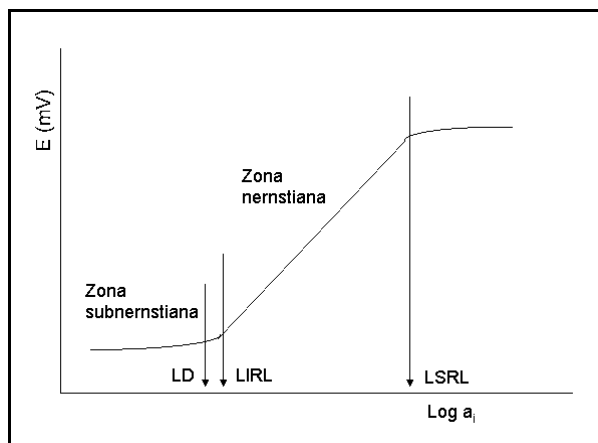


Figura 2-13. Representació d'una corba de calibració d'un elèctrode selectiu a cations. E, potencial mesurat en mV; LD, límit de detecció; LIRL, límit inferior de resposta lineal; LSRL, límit superior de resposta lineal; a, activitat de l'ió principal.

Tot i el model, en el cas d'elèctrodes selectius a ions, al representar el potencial en funció del logaritme de l'activitat de l'analit apareixen dues zones corbes als extrems de l'interval lineal, corresponents als valors de concentracions més altes i baixes. La corba que apareix a valors baixos, la zona subnernstiana, determina el límit de detecció. En les zones altes de concentració, la pèrdua de linealitat s'atribueix a la saturació de la membrana i, en el cas d'elèctrodes selectius a tensioactius, a la formació de micel·les que només tenen lloc a valors de concentracions elevades (vegeu § 1.2). La CMC pot ser determinada per la intersecció entre la recta corresponent a la zona lineal i una extrapolació de la zona corba.

Les calibracions en *batch* dels elèctrodes selectius de tensioactius no iònics en sistemes discontinus es realitzen seguint el següent protocol: sobre un volum inicial de 25.0 ml de fons es fan microaddicions de patró de diferents concentracions d'Ig12: 0.001, 0.01 i 0.1 M, i es mesura el potencial d'equilibri després de cada addició. Les primeres sèries de calibracions tenen l'objectiu de determinar les característiques de resposta dels sensors en absència d'ions interferents, i per això el fons emprat és aigua bidestil·lada. L'esquema de les addicions s'estableix després de realitzar una primera calibració dels dispositius, on es determina la resposta d'aquests vers l'analit. Així, les calibracions d'aquests ISEs consten de 25 punts segons la Taula 2-3.

Es pot observar que tot i que el model teòric fa referència a activitats, en el cas dels tensioactius no iònics es treballa amb concentracions degut a la dificultat de calcular activitats en espècies voluminoses no iòniques³⁰.

Taula 2-3. Esquema de les addicions seguides durant les calibracions dels ISES de tensioactius no iònics.

Addició (μl)	Concentració afegida (M)	Volum total (ml)	Concentració analít (M)
0	0.001	25.000	0
10	0.001	25.010	$4.0 \cdot 10^{-7}$
10	0.001	25.020	$8.0 \cdot 10^{-7}$
25	0.001	25.045	$1.8 \cdot 10^{-6}$
50	0.001	25.095	$3.8 \cdot 10^{-6}$
100	0.001	25.195	$7.7 \cdot 10^{-6}$
100	0.001	25.295	$1.2 \cdot 10^{-5}$
100	0.001	25.395	$1.6 \cdot 10^{-5}$
200	0.001	25.595	$2.3 \cdot 10^{-5}$
25	0.01	25.620	$3.3 \cdot 10^{-5}$
25	0.01	25.645	$4.3 \cdot 10^{-5}$
50	0.01	25.695	$6.2 \cdot 10^{-5}$
50	0.01	25.745	$8.1 \cdot 10^{-5}$
100	0.01	25.845	$1.2 \cdot 10^{-4}$
100	0.01	25.945	$1.6 \cdot 10^{-4}$
200	0.01	26.145	$2.3 \cdot 10^{-4}$
200	0.01	26.345	$3.1 \cdot 10^{-4}$
300	0.01	26.645	$4.2 \cdot 10^{-4}$
25	0.1	26.670	$5.1 \cdot 10^{-4}$
50	0.1	26.720	$7.0 \cdot 10^{-4}$
100	0.1	26.820	$1.1 \cdot 10^{-3}$
100	0.1	26.920	$1.4 \cdot 10^{-3}$
100	0.1	27.020	$1.8 \cdot 10^{-3}$
200	0.1	27.220	$2.5 \cdot 10^{-3}$
200	0.1	27.420	$3.2 \cdot 10^{-3}$

2.3.1.1. Model de resposta dels elèctrodes selectius d'ions integrats en sistemes de flux

Una vegada caracteritzats els elèctrodes mitjançant procediments discontinus, els paràmetres obtinguts en la calibració dels elèctrodes integrats en sistemes de flux s'utilitzen per l'optimització dels diferents sistemes.

Per a les calibracions dels elèctrodes integrats en sistemes de flux es preparen diferents solucions de l'analít de concentracions perfectament conegudes, de manera que cada patró s'injecta en el sistema seqüencialment, de menor a major concentració, per evitar la saturació de les membranes sensores per possibles fenòmens d'histeresi i afavorir la recuperació de la línia base.

En aquest cas, la corba de calibració es construeix representant l'alçada de pic obtingut per injecció d'una mostra (H) en front del logaritme de l'activitat ($\log a_i$). En teoria, aquesta resposta segueix el model predit per l'equació de Nernst,

$$H = E_0 + s \cdot \log a_i \quad (2-3)$$

Si es treballa amb una solució portadora d'una concentració salina elevada, es pot considerar que el coeficient d'activitat (γ_i), calculat a partir de l'equació de Debye-Hückel, és constant,

$$-\log \gamma_i = (0.51 \cdot z_i^2 \cdot I^{1/2}) / (1 + I^{1/2}) \quad (2-4)$$

$$I = 0.5 \sum (c_i \cdot z_i^2) \quad (2-5)$$

on z_i és la càrrega de l'ió principal; I , la força iònica de la solució i c_i , la concentració de l'ió principal. D'aquesta forma, la llei de Nernst es simplifica ja que el potencial varia en funció del logaritme de la concentració i no del logaritme de l'activitat de l'analit segons,

$$a_i = \gamma_i \cdot c_i \quad (2-6)$$

Així,

$$H = E_0 + s \cdot \log \gamma + s \cdot \log c_i \quad (2-7)$$

$$H = E_0' + s \cdot \log c_i \quad (2-8)$$

on E_0' és l'ordenada de la recta i s , el pendent o sensibilitat dels ISEs.

La corba de calibració que s'obté és similar a la mostrada a la Figura 2-13, tot i que en aquest cas es representa H versus el logaritme de la concentració de l'analit. Cal tenir en compte que la corba de calibració típica d'un elèctrode selectiu a un anió té pendent negatiu degut a què, a mesura que la concentració de l'ió augmenta, el potencial mesurat disminueix. En sistemes FIP però, al mesurar alçades de pics, mesurem la diferència entre la línia base i el potencial de pic (que és el potencial màxim, en valor absolut). D'aquesta manera, la corba de calibració que s'obté té la mateixa forma que la d'un elèctrode selectiu d'un catió.

2.3.2. CARACTERÍSTIQUES DE RESPOSTA DELS ELÈCTRODES SELECTIUS D'IONS

La representació de la corba de calibració i el tractament estadístic de les dades experimentals permeten obtenir múltiple informació de paràmetres d'interès per a la caracterització tant dels elèctrodes com dels sistemes de flux. Aquests paràmetres són: l'interval lineal, la sensibilitat, la selectivitat, el límit de detecció i el temps de vida dels dispositius.

Interval lineal de resposta

L'*interval lineal* és el rang de concentracions de l'analit on es compleix l'equació de Nernst. Aquest rang està limitat per dos valors extrems: el *límit inferior de resposta lineal* (LIRL) i el *límit superior de resposta lineal* (LSRL), que fan referència a aquells valors de concentració de l'analit pels quals el sensor deixa de respondre linealment segons el model de Nernst.

Per determinar aquest paràmetre amb molta precisió, cal injectar un gran nombre de patrons de concentracions properes als límits de resposta lineal i utilitzar un criteri estadístic ferm alhora de decidir la linealitat (p.ex. la regressió robusta). Per això, el rang de resposta es determina durant la caracterització dels elèctrodes en condicions discontinües. Degut a què no hi ha cap definició clara per a la seva determinació, s'opta pel mètode descrit per *Hara i col.*³¹, tot i que

amb una petita variació del valor estadístic r . A partir d'un programa fet amb Excel per *E.Barquero*⁸, la metodologia consisteix en eliminar punt per punt de les dues zones no lineals, la superior i la inferior, fins que l'interval lineal compleixi el criteri de $r^2 \geq 0.998$.

En el cas de les calibracions realitzades amb els sistemes de flux, el criteri escollit a l'hora de fixar el rang lineal és menys rigorós degut al menor nombre de punts que té la corba de calibració. El que es fa és incloure-hi tots aquells valors de concentració de manera que, al fer una regressió per mínims quadrats de les dades, s'obtingui un coeficient de regressió el més aproximat a 1 (>0.99).

Sensibilitat

El pendent de la recta ajustada per mínims quadrats o *sensibilitat* (s) és un dels paràmetres més importants a determinar. Així, un valor elevat significa una millor discriminació entre els senyals corresponents a dues mostres de concentracions similars.

Suposant una resposta nernstiana de l'elèctrode, el valor teòric del pendent al determinar un ió monovalent és de 59.16 mV, si es treballa a 25°C. Si els pendents són menors, es parla de rectes sub Nernstianes, que és el cas més habitual, i rectes súper Nernstianes quan aquests són majors.

El pendent és un dels factors més importants a l'hora de comparar diferents elèctrodes o sistemes de flux, sobretot perquè s'utilitza com a criteri per a determinar el temps de vida útil dels sensors.

Límit de detecció

El *límit de detecció* (LD) és un paràmetre comú a qualsevol tècnica analítica que determina el seu rang de treball, és a dir, l'interval de concentracions on aquesta es pot aplicar. En el cas de sensors que treballen en la zona subnernstiana (no lineal) la seva definició és important per estar segurs del correcte funcionament del sensor.

Existeixen criteris molt diferents a l'hora de determinar el límit de detecció en potenciometria. Per analogia a les definicions adoptades en altres camps, caldria definir-lo com aquella concentració a la qual, sota especificacions adequades, el potencial difereix en un múltiple arbitrari de l'error estàndard del potencial corresponent a una única mesura de la regió de mínimes concentracions³². Tanmateix, la diferència fonamental en la naturalesa de la resposta potenciomètrica que és logarítmica en comparació a la d'altres mètodes lineals justifica una altra definició. Així, per qüestions pràctiques la IUPAC recomana una definició més simple i convenient. Defineix el *límit pràctic de detecció* (LPD) com l'activitat (o concentració) d'ió principal segons el punt d'intersecció entre l'extrapolació de la recta que correspon al comportament nernstià i el segment final de baixes concentracions, normalment horitzontal, de la corba de calibració³³.

Una altra definició acceptada del límit pràctic de detecció es deriva d'aplicar mètodes no lineals d'ajust. Aquest tipus de regressió no lineal permet ajustar totes les dades experimentals, inclosos

aquells valors de concentracions inferiors al límit inferior de resposta lineal, a una corba del tipus,

$$y = A + B \cdot \log (c_i + C) \quad (2-9)$$

on B és la sensibilitat del sensor en tot l'interval de calibració (zona lineal i no lineal); c_i , és la concentració de l'analit i el terme C, correspon a un sumatori que té en compte el límit pràctic de detecció i l'efecte de l'existència de possibles interferències, segons l'equació de Nikol'skii-Eisenmann (vegeu l'apartat següent).

$$C = \text{LPD} + \sum K_{i,j}^{\text{pot}} (a_j)^{z_i/z_j} \quad (2-10)$$

Aquest tipus d'ajust no lineal, tot i que introdueix més complexitat de càlcul, proporciona informació de més qualitat, ja que permet la interpolació de mostres corresponents a la zona subnormal i dona directament informació del límit pràctic de detecció.

En el present treball, seguint la metodologia establerta en el GSB⁸ s'utilitza aquest tipus de regressió per a determinar el valor del límit pràctic de detecció, considerant que l'efecte d'interferència del medi és nul quan s'empra aigua bidestil·lada com a fons durant les calibracions en *batch* (vegeu §2.3.1).

$$\begin{aligned} K_{A,B}^{\text{pot}} &= 0 \\ C &= \text{LPD} \end{aligned} \quad (2-11)$$

Els càlculs es realitzen mitjançant el paquet gràfic SIGMAPLOT 4.0, que utilitza l'algorisme Marquardt-Levenberg³⁴.

Selectivitat

La selectivitat és una de les característiques més importants de qualsevol tècnica analítica i determina el seu grau d'aplicabilitat. Les substàncies que, diferents a l'ió principal, provoquen una resposta similar de l'elèctrode s'anomenen *interferències*. És imprescindible avaluar les possibles interferències ja que la seva presència pot provocar una mesura errònia de l'activitat de l'analit principal.

El procés a través del qual té lloc aquesta resposta de l'elèctrode a ions diferents de l'analit al qual és selectiu té a veure amb la formació de parell iònic competitiu entre aquests ions i el ionòfor. Entre les substàncies interferents s'inclouen també electròlits que, presents en una concentració elevada, poden provocar un ascens apreciable del potencial d'unió líquida o substàncies, com poden ser dissolvents orgànics, que interaccionen amb la membrana del sensor provocant canvis en la seva composició. Un altre grup de substàncies que poden interferir són aquelles que interaccionen amb l'analit modificant la seva concentració en solució.

Tot i l'avanç que s'ha fet en el camp dels ISEs basats en portadors mòbils, la descripció teòrica de la selectivitat dels sensors no ha estat revisada des dels primers intents teòrics al voltant dels anys 30 quan *Nicol'skii* va descriure la selectivitat dels elèctrodes de vidre per a mesures de pH en presència d'altres ions monovalents³⁵. Més tard, *Eisenmann i Ross* van ampliar la teoria pel cas d'ions que mostressin càrregues diferents. Així doncs, la presència d'interferències es contempla en una ampliació semiempírica de l'equació de Nernst anomenada *equació de Nikolskii-Eisenmann*,

$$E = E_0 + (2.303 RT/z_i F) \log (a_i + \sum K_{i,j}^{\text{pot}} (a_j)^{z_i/z_j}) \quad (2-12)$$

on a_i correspon a l'activitat de l'ió principal que es vol determinar; a_j és l'activitat d'una espècie interferent qualsevol i $K_{i,j}^{\text{pot}}$, denominat *coeficient de selectivitat potenciomètric*. Aquest coeficient mesura la capacitat d'un ISE de distingir l'ió principal dels altres ions, considerats interferents³³. És desitjable un coeficient de selectivitat petit de manera que la possible presència d'interferències no modifiqui la resposta de l'analit que es vol determinar. Tot i que la IUPAC recomana l'ús d'aquesta definició, s'ha demostrat que aquesta no descriu de manera acurada la resposta d'ISEs quan es comparen ions de diferent càrrega³⁵.

La IUPAC aconsella dos mètodes per a la determinació d'aquests coeficients³⁶, només aplicables quan l'elèctrode presenta un comportament nernstià tant per l'ió primari com per les interferències.

El primer, anomenat *Mètode de les Dissolucions Separades*, és poc adequat ja que no representa les condicions reals sota les quals s'empren els elèctrodes. El potencial de la cel·la constituïda per l'ISE i l'elèctrode de referència es mesura amb dues solucions diferents: una que només conté l'ió principal i a un valor d'activitat a_i i una segona que conté únicament l'ió interferent j al mateix nivell d'activitat ($a_i = a_j$). Suposant que els potencials mesurats són respectivament E_1 i E_2 ,

$$\log K_{i,j}^{\text{pot}} = (E_2 - E_1) / [2,303 RT / (z_i F)] + (1 - z_i / z_j) \log a_j \quad (2-13)$$

El *Mètode de les Dissolucions Mesclades* consisteix en mesurar el potencial de la cel·la amb solucions que continguin un nivell constant de la substància interferent i diferents valors d'activitat de l'ió principal i . Els valors de potencial es representen en front de l'activitat (o concentració) de l'ió principal (Figura 2-14), de manera que la intersecció de les extrapolacions de les zones lineals de la corba indica el valor de a_i que cal emprar alhora de calcular el coeficient de selectivitat potenciomètrica,

$$K_{i,j}^{\text{pot}} = a_i^* / (a_j^*)^{z_i/z_j} \quad (2-14)$$

on a_i^* és el nivell de concentració de l'analit en el punt d'intersecció i a_j^* és la concentració d'ió interferent.

La Figura 2-14 presenta les corbes de calibració que s'obtenen en absència i presència d'interferències. S'observa una corba similar a la corba de calibració, amb dues zones lineals

ben diferenciades: una part horitzontal que correspon a aquelles concentracions de l'analit, normalment baixes, on l'elèctrode respon principalment a l'espècie interferent (A) i una altra zona (B) on la resposta de l'elèctrode es deu a la presència del mateix analit.

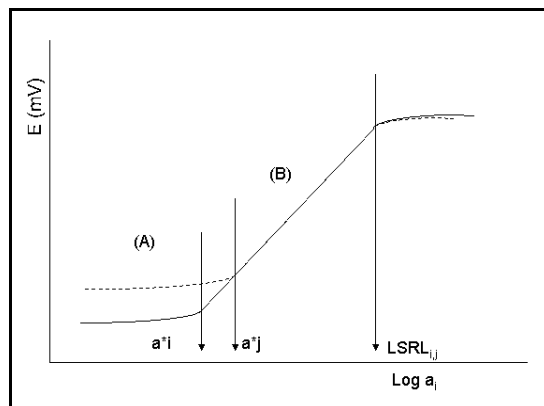


Figura 2-14. Representació esquemàtica d'una corba de calibrat obtinguda en presència (-----) i absència (—) d'interferències. (A), $E = E_0 + s \log [k_{i,j}^{\text{pot}} (a_j)^{z_i/z_j}]$; (B), $E = E_0 + s \log (a_i)$.

S'han trobat moltes discrepàncies entre els coeficients determinats per diferents autors segons les condicions experimentals o el mètode emprat. Per això, aquests es solen expressar en forma logarítmica, $\log K_{i,j}^{\text{pot}}$, i es comparen segons l'ordre de magnitud. Alguns dels factors que poden influir són: possibles diferències entre les composicions de les membranes d'elèctrodes selectius a un mateix ió (variacions entre els grups funcionals dels plastificants, etc.), la història prèvia de les membranes utilitzades, la força iònica de les dissolucions amb les quals es fan les experiències, mecanismes de resposta no contemplats en l'equació de Nikolskii-Eisenmann (intercanvi iònic), etc.

També s'observa que l'equació (2-12) presenta una sèrie de limitacions quan els ions implicats (l'analit i l'interferent) tenen càrrega elèctrica diferent i quan els ions interferents presenten un comportament no nernstià degut a una dependència de la $K_{i,j}^{\text{pot}}$ amb l'activitat. A més a més, segons Baker³⁵ l'equació no és simètrica i el coeficient de selectivitat és poc intuïtiu. S'han fet nombrosos intents per resoldre aquests inconvenients. L'aproximació més empírica és l'anomenat *Mètode dels Potencials Equivalents* (MPM, *Matched Potential Method*)^{37,38}, el qual és actualment recomanat per la IUPAC³⁶ en els casos de poca idealitat abans esmentats. Aquest mètode consisteix en dos experiments separats: en una solució de referència, s'afegeix una determinada quantitat d'ió principal que permeti assolir un nivell de concentració analítica determinada i es mesura el potencial absolut. A continuació, en una altra solució sense analit, es va afegint quantitats d'ió interferent fins que s'assoleixi el mateix potencial. El quocient entre la concentració de l'ió principal i la concentració d'ió interferent final és el que s'anomena coeficient de selectivitat del MPM, K_{ij}^{MPM} . L'avantatge d'aquest factor és que és molt més intuïtiu que el $K_{i,j}^{\text{pot}}$ idóna informació d'aplicació pràctica immediata.

En el present treball s'ha emprat el *Mètode dels Potencials Equivalents* per a estudiar la selectivitat dels elèctrodes selectius de tensioactius no iònics envers uns compostos determinats, i el *Mètode de les Dissolucions Mesclades*, en el cas de l'avaluació dels elèctrodes en els sistemes de flux. Pels elèctrodes selectius de tensioactius aniònics s'ha determinat els coeficients de selectivitat dels anions Cl^- i NO_3^- perquè aquests són els anions més habituals en les aigües. *Sánchez i col.*¹⁴ ja van estudiar en condicions discontinües aquests coeficients de selectivitat, així com el d'altres anions (sulfat, hidrogenfosfat, hidrogencarbonat, perclorat, etc.) i es comprovà la potencial interferència dels primers. En aquest cas s'ha emprat també el mètode de les dissolucions mesclades, a fi de comparar els resultats obtinguts en *batch* i en continu.

Temps de vida

Respecte el temps de vida dels ISES, existeixen diferents demandes segons el camp d'aplicabilitat. Per exemple, per aplicacions clíniques els sensors poden tenir un temps de vida d'alguns dies o, fins i tot, de poques hores, mentre que per aplicacions ambientals interessen dispositius que mantinguin les seves característiques de resposta durant un llarg període de temps. Així, el temps de vida depèn de diferents factors: segons la tècnica analítica utilitzada, la matriu de les mostres i la composició de la membrana²⁹.

Normalment, el temps de vida d'un elèctrode està limitat per la pèrdua dels components de la membrana (portador o plastificant)³⁹, que provoca una disminució gradual de la sensibilitat dels elèctrodes.

Per a determinar el temps de vida dels elèctrodes, es comparen els valors del pendent i límit de detecció de diferents calibrats realitzats al llarg del temps, de manera que una pèrdua de la sensibilitat o un augment notable del límit de detecció indicaran una pèrdua de les característiques de resposta i una necessitat de substitució del sensor per un de nou.

2.3.3. CARACTERITZACIÓ DELS SORBENTS D'EXTRACCIÓ EN FASE SÒLIDA

L'elecció del rebliment que millor s'adequa a l'analit d'interès és important alhora d'optimitzar un procés de preconcentració. Aquesta es fa en base la caracterització de diferents sorbents, és a dir, de la determinació de les respectives corbes de ruptura, de la capacitat i del volum mort de la columna, que pot provocar la dispersió de la mostra⁴⁰⁻⁴².

2.3.3.1. Corba de ruptura i capacitat

La *retenció* de l'analit és el factor que més influència té pel seu enriquiment mitjançant una columna de preconcentració. Aquesta ha de ser màxima en el sistema aigua-sorbent-analit i mínima en el sistema eluent-sorbent-analit.

Teòricament, a l'inici d'un procés de preconcentració tot l'analit que entra dins la columna s'adsorbeix en el rebliment. Però degut a què la capacitat del sorbent és finita, a mesura que

passa el temps certa quantitat d'analit deixa d'adsorbir-se. Aquesta quantitat augmenta al llarg del temps fins al moment en què la concentració de l'analit en l'efluent -solució que surt de la columna- és igual a la de l'influent -solució que entra dins la columna-. En aquest punt es diu que el rebliment està saturat, i no pot retenir més analit.

La retenció de l'analit es pot expressar a partir de la *corba de ruptura*, la qual mostra la dependència de la relació entre la concentració de l'efluent (C) i la de l'influent (C_0) amb el volum de mostra que passa a través de la columna. Aquest volum es pot relacionar amb el temps mitjançant el cabal. De la corba de retenció es determina el *volum de ruptura*, que correspon al màxim volum de mostra que es pot passar a través de la columna sense pèrdua d'analit. Des d'un punt de vista pràctic el nivell de ruptura es fixa en un 1-10%, és a dir, un valor de C/C_0 entre 0.01 i 0.10⁴³.

Les corbes de retenció es mesuren experimentalment mitjançant mètodes directes, que es basen en la detecció de l'analit en l'efluent o amb mètodes indirectes, on s'avalua l'efecte del volum de mostra en la retenció. A la bibliografia existeixen estudis que pretenen determinar matemàticament les propietats de sorció de diferents sorbents envers un determinat analit^{41,44-46}.

En el present treball les corbes de ruptura es determinen mitjançant el sistema FIA directe amb una petita modificació, ja que s'introdueix la columna de preconcentració reblerta amb el sorbent que es vol caracteritzar abans de la vàlvula d'injecció. *Elsholz i col.*⁴² ja van utilitzar un sistema similar per a la determinació de les corbes de ruptura de diferents metalls pesants. A la Figura 2-15 es pot veure un esquema del sistema emprat i a la Figura 2-16 la representació d'una corba de ruptura teòrica.

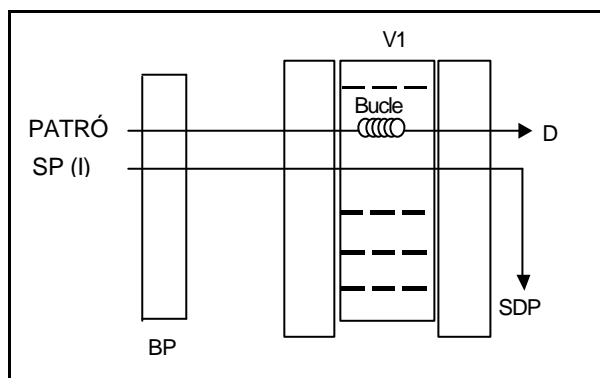


Figura 2-15. Modificació del sistema FIA directe per a la caracterització dels sorbents per a la preconcentració on-line. BP, bomba peristàltica; V1, injecció-commutador; SP(I), solució portadora; SDP, cap al sistema de detecció potenciomètrica; D, desguàs.

En aquest sistema, la sortida de la columna de preconcentració es connecta al bucle d'injecció de l'injecció-commutador, de manera que en un interval determinat de temps, t_1 , s'injecta un

volum de l'efluent i s'enregistra el pic. El temps de commutació de la vàlvula ha de ser curt, ja que així la solució de l'efluent renova el bucle durant t_2 . A fi d'obtenir una correcta representació de la corba de ruptura, es realitza una calibració prèvia del sistema per a interpolar les alçades de pic obtingudes.

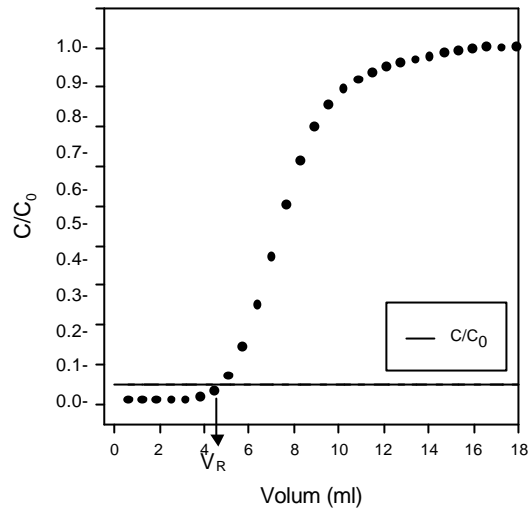


Figura 2-16. Corba de ruptura teòrica d'un sorbent de SPE. V_R , volum de ruptura; C , concentració de l'analit en l'efluent; C_0 , concentració de l'analit en l'influent; $C/C_0=0.5$.

La *capacitat* d'un rebliment és la quantitat total de compostos que poden ser retinguts, en una determinada massa de sorbent. Generalment, les unitats de capacitat més emprades són mg o mmols extrets d'analit per gram de rebliment sec, tot i que en alguns casos s'expressa per ml de sorbent empaquetat ja que és difícil assecar el material fins a un contingut d'aigua constant sense que aquest perdi les seves propietats.

La capacitat de la majoria de sorbents s'estima de l'ordre de 10-20 mg d'analit per gram de rebliment sec⁴⁷. No obstant, si altres compostos presents en la mostra poden ser també retinguts, la capacitat del sorbent es reduirà proporcionalment a la quantitat d'aquests compostos interferents, establint-se una competència entre aquests i l'analit.

A la bibliografia consultada no existeix cap mètode establert a l'hora de determinar les capacitats dels sorbents. En la majoria, a través de la columna es fa passar en continu una solució d'una determinada concentració d'analit i, per anàlisi del contingut d'aquest en l'efluent, se sap quan el rebliment ha assolit el nivell de saturació i no admet més quantitat d'analit. Fàcilment es pot observar que es tracta del mateix muntatge que per determinar les corbes de ruptura, de manera que la capacitat es calcularia per integració gràfica d'aquestes⁴⁸. També es pot determinar, segons el mètode que s'escaigui, tota la quantitat d'analit retingut una vegada ha estat eluït^{49,50}, o a partir del volum de la solució de l'analit on s'observa que el sorbent ja no en reté més quantitat⁵¹.

En el nostre cas, tot i que potser és el càlcul més aproximat, la capacitat es determina en les corbes de ruptura, a partir del volum on s'observa que la relació entre la concentració de l'analit en l'efluent i en l'influent (C/C_0) és constant i propera al valor teòric 1.

2.3.3.2. Dispersió

Durant el pas de la mostra per la columna, es pot produir un procés de dispersió o dilució d'aquesta sinó es controla adequadament el volum mort de la columna. Aquest depèn bàsicament de la mida de les partícules dels rebliments. Com a resultat d'això, es donaria un eixamplament important dels pics que implicaria una disminució en la seva alçada i, en conseqüència, de la sensibilitat del mètode.

La dispersió provocada per cada tipus de rebliment es determina mitjançant una experiència similar a les corbes de ruptura, però emprant una solució d'un anió que no sigui retingut per cap dels sorbents. L'experiència es farà amb clorur, utilitzant un elèctrode selectiu a aquest anió construït segons *Wuthier i col.*⁵².

2.3.4. AVALUACIÓ DELS SISTEMES DE GESTIÓ DE FLUIDS

Els sistemes FIA finals desenvolupats per a determinar tensioactius a nivells mediambientals s'avaluen, principalment, a partir del seu comportament al llarg del temps, és a dir, l'evolució dels paràmetres de calibració amb el temps. I addicionalment, segons la disminució del límit de detecció del sistema que s'aconsegueixi.

2.3.4.1. Repetitivitat i Reproductibilitat

Un dels factors que indiquen que un sistema funciona correctament és que qualsevol dels components que el formen mantingui un comportament correcte al llarg d'un període determinat de temps.

El concepte de repetitivitat i reproductibilitat són similars, però s'apliquen en situacions diferents. Així, el terme *repetitivitat* es refereix a la màxima concordança entre els successius resultats obtinguts a l'analitzar una mateixa mostra mitjançant un mateix mètode i sota unes mateixes condicions experimentals (mateix operador, aparell, laboratori i intervals de temps curts), la *reproductibilitat* va referida a condicions més heterogènies (diferents operadors emprant diferent equipament en diferents períodes de temps)⁵³.

En el nostre cas, s'estudiarà la repetitivitat dels diferents sistemes realitzant successius anàlisis d'una mateixa mostra utilitzant els sistemes amb preconcentració al llarg d'un mateix dia. La reproductibilitat es tindrà en compte estudiant el comportament d'un mateix sistema al llarg del temps i comparant la resposta de més d'un sistema en un mateix dia.

2.3.4.2. Factor de preconcentració

El *factor de preconcentració* (FP) expressa l'efectivitat de la preconcentració⁴⁸, és a dir, el guany obtingut en termes de concentració al tractar l'analít amb el sistema amb preconcentració on-line, en comparació amb el sistema directe. S'ha suggerit diversos mètodes per a calcular-lo^{43,54}.

En els sistemes amb detecció espectrofotomètrica, el factor de preconcentració es determina segons la relació entre les sensibilitats del sistema directe i el sistema amb preconcentració.

En el nostre cas, per analogia amb els sistemes espectrofotomètrics, el factor de preconcentració es calcula segons el quocient entre els límits pràctics de detecció obtinguts en els diferents sistemes,

$$FP = C / C^* \quad (2-15)$$

on C és el LPD del sistema directe i C* el del sistema amb preconcentració. Això és degut a què en els sistemes potenciomètrics la sensibilitat és sempre constant, segons l'equació de Nernst, fet que provocaria que el factor de preconcentració sempre fos 1. En canvi, són els límits de detecció dels diferents sistemes els que donen una mesura de la millora obtinguda en la resposta d'aquests.

2.4.BIBLIOGRAFIA

- ¹ J. Caixach; Laboratori d'Espectroscopia de masses, Dept. Química Ambiental CID-CSIC; Comunicació personal
- ² T. Aboul-Kassim, B.R.T. Simoneit. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **23** (1993) 325
- ³ Z. Lukaszewski, A. Szimanski. *Mikrochim. Acta*, **123** (1996) 185
- ⁴ S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, J.M. Paulís. *Quím. Anal.*, **6** (1987) 278
- ⁵ S. Alegret, A. Florido, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado. *Quím. Anal.*, **5** (1986) 36
- ⁶ J. Alonso, J. Bartrolí, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado. *Anal. Chim. Acta*, **179** (1986) 503
- ⁷ J. Alonso-Chamarro, J. Bartrolí, S.Jun, J.L.F.C.Lima, M.C.B.S.M.Montenegro. *Analyst*, **118** (1993) 1527
- ⁸ E. Barquero. *Disseny, Construcció i avaluació d'analitzadors per a la monitorització mediambiental*. Tesi Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona (2001)
- ⁹ E. Martínez-Fàbregas. *Sensors Potenciomètrics All-Solid-State d'Amoni i la seva conversió en Biosensors d'Urea (Construcció, Avaluació i Aplicació)*. Tesi Doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona (1989)
- ¹⁰ M. Ramon. *Desenvolupament d'un Sensor Potenciomètric Selectiu d'Ió Fosfat*. Treball de Recerca (Màster de Química) (1999)
- ¹¹ O. Fonseca. *Desarrollo y Evaluación de Sensores Potenciométricos Selectivos a Ion Plomo*. Treball de Recerca (Màster de Química) (1998)
- ¹² M. Massana. *Desenvolupament d'un Analitzador on-line per al Control d'un Procés Industrial de Fabricació d'Isocianurat*. Treball de Recerca (Màster de Química) (1999)
- ¹³ J. Baró-Romà, J. Sánchez, M. del Valle, J. Alonso, J. Bartrolí, *Sens. Actuators B*, **15** (1993) 179
- ¹⁴ J. Alonso, J. Baró, J. Bartrolí, J. Sánchez, M. del Valle. *Anal. Chim. Acta*, **308** (1995) 115
- ¹⁵ G.L. Moody, J.D.R. Thomas, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado. *Analyst*, **113** (1988) 1023
- ¹⁶ A.M.Y. Jaber, G.J. Moody, J.D.R. Thomas. *Analyst*, **101** (1976) 179
- ¹⁷ A.M.Y. Jaber, G.J. Moody, J.D.R. Thomas. *Analyst*, **102** (1977) 943
- ¹⁸ A.M.Y. Jaber, G.J. Moody, J.D.R. Thomas. *Analyst*, **113** (1988) 1409
- ¹⁹ S. Alegret, J. Alonso, J. Bartrolí, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, J.M. Paulís. *Anal. Lett.*, **18** (1985) 2291
- ²⁰ S. Alegret, J. Bartrolí. *Membranes selectives d'ions per a dispositius potenciomètrics de control de processos químics*. *Butll. Soc. Cat. Cièn.*, **9** (1989) 15
- ²¹ Waters. *Sep-pak Cartridge: Care and Use Manual*. Millipore Corporation (1992)

- ²² E.R. Bouwer, H. Lingeman, Th. Brinkman. *Chromatogrografia*, **29** (1990) 415
- ²³ E.H.R. van der Wal, E.R. Bouwer, H. Lingeman, Th. Brinkman. *Chromatogrografia*, **39** (1994) 239
- ²⁴ O. Jáuregui, M.T. Galceran. *Anal. Chim. Acta*, **340** (1997) 191
- ²⁵ 3M Empore™, Extraction Products. *A new standard for sample preparation*. 3M (1994)
- ²⁶ H. Bergamin, X.J. Medeiros, B.F. Reis, E.A.G. Zagatto. *Anal. Chim. Acta*, **101** (1978) 9
- ²⁷ P. Van der Winkel, J. Mertens, D.L. Massart. *Anal. Chem.*, **46** (1974) 1765
- ²⁸ Z. Fang, S. Xu, S. Zhang. *Anal. Chim. Acta*, **200** (1987) 35
- ²⁹ *Chemical and Biological Sensors*. Dermot Diamond, Ed., John Wiley & Sons, Inc. (1998) cap 2
- ³⁰ H.A. Laitinen, W.E. Harris. *Chemical Analysis, and Advance Text and Reference*. McGraw-Hill, New York (1975)
- ³¹ H. Hara, K. Takahashi, H. Ohkubo. *Anal. Chim. Acta*, **290** (1994) 329
- ³² D. Midgley. *Analyst*, **104** (1979) 248
- ³³ IUPAC, *Compendium of Analytical Nomenclature, Definitive Rules, 1997*. Oxford: Pergamon Press (1997) cap 8
- ³⁴ S.S. Rao, *Optimization. Theory and Applications*. John Wiley & Sons, Inc. New Delhi (1987)
- ³⁵ E. Bakker. *Trends in Anal. Chem.*, **16** (1997) 263
- ³⁶ Y. Umezawa, K. Umezawa, H.Sato. *Pure & Appl. Chem.*, **67** (1995) 507
- ³⁷ V.P.Y. Gadzekpo, G.D. Christian. *Anal. Chim. Acta*, **164** (1984) 279
- ³⁸ G.D. Christian. *Analyst*, **119** (1994) 2309
- ³⁹ D. Ammann. *Ion-Selective Microelectrodes*, Springer-Verlag, Berlin (1986) cap 3
- ⁴⁰ J. Liska, A. Kuthan, J. Krupcik. *J.Chromatogr. A.*, **509** (1990) 123
- ⁴¹ C.E. Werkhoven-Goewie, U. A. Th. Brinkman, R.W. Frel. *Anal. Chem.*, **53** (1981) 2072
- ⁴² O. Elsholz, G. Schulze. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **353** (1995) 119
- ⁴³ J. Liska. *J.Chromatogr. A.*, **655** (1993) 163
- ⁴⁴ D.S. Seibert, C.F. Poole. *Anal. Comm.*, **35** (1998) 147
- ⁴⁵ D.K. Poole, C.F. Poole. *Anal. Comm.*, **33** (1996) 353
- ⁴⁶ R. Ferrer, J.L. Beltran, J. Guiteras. *Anal. Chim. Acta*, **346** (1997) 253
- ⁴⁷ J.T. Baker. *Solid Phase Extraction for Sample Preparation: A Technical guide to theory, method development, and use*. J.T.Baker Inc. (1994)
- ⁴⁸ H.L. Lancaster, G.D. Marshall, E.R. Gonzalo, J. Ruzicka, G.D.Christian. *Analyst*, **119** (1994) 1459
- ⁴⁹ P. Jandera, J. Urbánek, B. Prokes, H. Brazková-Brúnová. *J. Chromatogr. A*, **736** (1996) 131
- ⁵⁰ Y.A. Zolotov, I.M. Maksimiva, E.I. Morosanova, A.A. Velikorodny. *Anal. Chim. Acta*, **308** (1995) 378
- ⁵¹ L. Steinmann, J. Porath, P. Hashemi, A. Olin, *Talanta*, **41** (1994) 1707

⁵² U. Wuthier, H.V. Pham, B. Rusterholz, W. Simon. *Helv. Chim. Acta*, **69** (1986) 1435

⁵³ J.C. Miller, J.N. Miller. *Estadística para Química Analítica*. Addison-Wesley Iberoamericana, Wilmington, Delaware, E.U.A (1993) cap 1

⁵⁴ R.E. Santelli, M. Gallego, M. Valcárcel. *Talanta*, **41** (1994) 817