

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA

Departament d'Enginyeria Química E.T.S.E.I.B.

**ANÀLISI I CONTROL DE CIANURS I
PRODUCTES RELACIONATS
PRESENTS EN AIGÜES RESIDUALS I
DISSOLUCIONS DE PROCESSOS
INDUSTRIALS MITJANÇANT
ELECTROFORESI CAPIL·LAR**

Autor: Vivenç Martí i Gregorio
Director: Fernando Canal Bienzobas

Barcelona, novembre de 1996

TERCERA PART:

**ANÀLISI DE CIANUR LLIURE,
FEBLEMENT LLIGAT I TOTAL
MITJANÇANT
ELECTROFORESI CAPIL.LAR**

CAPÍTOL 6:

DETECCIÓ INDIRECTA DEL CIANUR LLIURE I COMPOSTOS RELACIONATS

6.1. INTRODUCCIÓ

6.1.1. PROBLEMÀTICA I MÈTODES ANALÍTICS

La principal forma responsable de la toxicitat dels cianurs en el medi aquàtic és el cianur lliure (CN^- i $\text{HCN}_{(\text{aq})}$), i per tant la toxicitat d'altres cianurs com els ciano-complexos metàl·lics disminueix quan més fort és l'enllaç entre metall i lligand i augmenta amb la capacitat d'alliberar cianur lliure (ULL 87).

La presència de cianur lliure a les aigües té com a origen més comú la descàrrega incontrolada de residus de processos provinents d'indústries productores i consumidores d' HCN , NaCN i ciano-complexos, i per tant és funció de la seva quantitat de producció i del seu consum.

Durant 1994 la producció i consum aparent d' HCN a Espanya va ser de 2288 Tm amb una utilització del 114 % de la seva capacitat de producció i un creixement del 18 % respecte l'any anterior. La producció de NaCN al mateix any va ser de 6436 Tm i el consum aparent de 8256 Tm, amb una utilització del 86% i un augment del 14% respecte el 1993 (MIN 95).

Tot i que el volum de producció de NaCN i HCN és baix en comparació amb altres productes d'ús industrial, el fet de que el percentatge d'utilització sigui elevat i hi hagi un creixement en la demanda d' HCN i NaCN , suposa un augment del risc en la manipulació incorrecta d'aquests productes.

El cianur lliure es pot eliminar satisfactòriament abans de l'abocament mitjançant l'oxidació, ja sigui utilitzant ClO^- , Cl_2 o els seus derivats en medi alcalí, O_3 o radiació ultraviolada (MAH 92). L'oxidació amb agents químics produeix CNO^- en primer lloc (veure figura II.1 del capítol 2) i HCO_3^- i N_2 en etapes posteriors (WEF 91)(GEM 90)(GUB 85), mentre que l'oxidació amb UV dona lloc a CNO^- , NO_3^- , CO_3^{2-} i HCO_3^- (PER 89)(POH 92).

L'espècie SCN^- també pot estar present en alguns processos de cianuració o es pot formar per la reacció alcalina del CN^- amb HS^- (MAH 92)

La degradació del CN^- per efectes tèrmics mostrada en el capítol 5 també és un altre procés d'oxidació en el que es formen les mateixes espècies anteriors. En aquest capítol s'ha aprofundit en l'estudi de totes

aquestes espècies provinents de processos de degradació i s'ha posat de manifest que són termodinàmicament espontanis quan es parteix de CN^- .

Els tractaments esmentats, doncs, permeten en condicions òptimes, eliminar satisfactòriament el cianur lliure abans d'abocar-lo al Medi Ambient i fan possible que la coexistència de l'anió CN^- i dels productes d'oxidació relacionats pugui ser força comuna en efluent industrial.

Tal i com s'ha vist en anteriors capítols, els efluent cianurats típics de les indústries, a part del cianur lliure, contenen altres formes lligades, algunes de les quals (cianurs de Fe(II), Fe(III), Au(I), Co(III)) no són eliminables pels processos d'oxidació (NON 87).

Això implica que en el procediment estàndard d'anàlisi s'utilitzi una classificació més pràctica que distingeix entre el cianur total i el cianur oxidable, on queden inclosos el cianur lliure i alguns ciano-complexos que s'oxiden parcialment o total. Per determinar aquest cianur oxidable cal analitzar primer el cianur total de la mostra mitjançant destil·lació àcida prèvia i més tard aplicar el mateix procediment analític a la mostra oxidada amb ClO^- (AAW 92) o irradiada amb raigs UV (AST 91). Per diferència de tots dos resultats s'obté el cianur que és eliminable per aquests mètodes.

Tot i obtenir aquest valor pràctic del cianur oxidable, aquests mètodes no poden determinar el cianur lliure (CN^- i HCN) en la mostra inicial donat que es detecta conjuntament amb el cianur complexat feblement lligat, i per tal de detectar el CNO^- i el SCN^- , s'ha de recurrir a altres mètodes estàndard igual de laboriosos.

La presència en les mostres a destil·lar d'anions tan comuns com CO_3^{2-} , HCO_3^- i NO_3^- (anions esperats en els efluent) implica pretractaments per la separació d'interferències analítiques abans de cada destil·lació àcida, que allarguen considerablement el procés (AAW 92)(AST 91).

Solament si s'està segur que en la mostra només hi ha cianur lliure és quan es poden aplicar mètodes d'anàlisi estàndard directes utilitzant mètodes colorimètrics, elèctrodes selectius o valoracions volumètriques, ja que són mètodes pensats per l'anàlisi de l'anió CN^- . De fet, un gran nombre dels mètodes de detecció de cianurs està enfocat solament cap a la determinació del cianur lliure i en cap cas s'inclou la detecció d'espècies relacionades amb l'oxidació (MCK93)(MKC 91)((MKR 89).

Tots aquests problemes han fet necessari el desenvolupament d'una nova tècnica analítica suficientment ràpida en el temps total d'anàlisi, capaç de determinar individualment les quantitats de cianur lliure i d'espècies relacionades i de detectar el cianur amb uns bons LOD.

Per tal de poder detectar múltiples espècies en un sol anàlisi cal aplicar mètodes resolutius (HPLC, CE) i utilitzar un mètode de detecció correcte. En aquestes tècniques, l'anió CN^- solament es pot detectar electroquímicament de manera directa utilitzant detectors amperomètrics (POH 84)(LRJ 90), ja que la conductimetria és poc viable en tampons de pH elevat per una espècie tan poc conductiva com és el CN^- i els mètodes potenciomètrics basats en elèctrodes són de difícil implementació en les tècniques resolutives.

Donat que aquests mètodes de detecció estan poc extesos s'ha de tornar a la detecció UV, que és la més utilitzada comercialment.

El cianur lliure i el CNO^- no tenen bona absorció UV (BRI 57)(BSR 54) i per tant no és possible utilitzar el mode de detecció directa i cal, o bé derivatitzar aquestes espècies cap a compostos més detectables o bé utilitzar la detecció indirecta.

La primera alternativa, però, no permetria calcular el cianur lliure d'una mostra ja que el mètode de derivatització podria fer que part del cianur lligat també es derivatitzés i, d'altra banda, els LOD podrien estar limitats per la cinètica i l'equilibri de la reacció de derivatització, la qual cosa impediria conèixer amb exactitud l'especiació de la mostra a baixes concentracions i en un temps curt.

6.1.2. MÈTODES DE DETECCIÓ INDIRECTA

Si s'evita la derivatització, els mètodes de detecció indirectes aplicats a tècniques resolutives (HPLC i CE) utilitzant absorció o fluorescència són una bona elecció donades la seva versatilitat i detecció universal (YEU 89).

En el cas de CE, la detecció indirecta és més sensible que en HPLC ja que les dimensions reduïdes dels capil·lars utilitzats afavoreixen la detecció d'espècies i l'assoliment de LOD baixos (YEK 91). S'ha d'afegir a tot això la possibilitat de reduir el temps d'anàlisi i augmentar la resolució i l'eficàcia dels diferents compostos de la mostra (JOJ 90).

La detecció indirecta en CE aplicada a l'anàlisi de petits ions (CIA) ha donat lloc a una branca específica que permet determinar els anions (JAJ 91)(JOJ 91)(JOJ 92) i cations (WBJ 92) (FFN 90) (KKY 92) comuns utilitzant absorció UV indirecta, ja que és el mode de detecció més extès en els aparells comercials. Aquests estudis han donat lloc a aplicacions reals en l'anàlisi d'aliments (KEN 91) (AAB 92) i d'orina (WJJ 91).

L'aplicació de la fluorescència indirecta amb làsser és una tècnica més recent i per tant menys extesa, que també permet la determinació d'anions (XUY 94)(YEK 91) i cations comuns (GRY 90).

Si bé en tots aquests estudis hi ha un gran nombre d'anions inorgànics (SCN^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- , NO_3^- , Cl^- i SO_4^{2-} inclosos) que han estat determinats per absorció i fluorescència indirectes amb LOD entre 10^{-5} i 10^{-6} M, el CNO^- i CN^- no estan inclosos en aquestes aplicacions.

Els fonaments de la detecció indirecta per absorció i fluorescència en CE s'han exposat a l'apartat 1.4.2. del primer capítol i permeten fer una comparació entre aquestes dues tècniques de detecció.

La absorció indirecta presenta una menor sensibilitat que la fluorescència indirecta amb làsser ja que mentre en la primera solament es pot operar sobre els factors de l'expressió (1.29), en la fluorescència indirecta es pot utilitzar un valor d' I_0 elevat subministrat pel làsser, a part d'operar amb els factors que afecten a l'absortivitat (expressió (1.34)).

Quan es consideren els LOD de les tècniques indirectes s'ha de fer menció a l'expressió (1.38) del capítol 1.

En tots dos tipus de detecció es dona el mateix valor de TR (valor que depèn del desplaçament del cromòfor per part de l'analit) i que pels anions monovalents utilitzant fluoresceïna a pH bàsic (2 càrregues negatives) té un valor màxim de 0.5 mols analit /mol fluoresceïna.

En el cas de l'absorció indirecta s'utilitzen tampons en concentracions entre 1 i 5 mM i amb una absortivitat entre 1000 (salicilats i cromats) i 10000 (ftalats, benzoats) A.U. $\cdot\text{dm}^3/\text{cm}\cdot\text{mol}$. Si es considera que el camí òptic és similar al radi del capil·lar (expressió 1.17) i que el soroll pot estar al voltant de 10^{-4} A.U., el valor de DR (expressió 1.36) a partir del senyal d'absorció de fons (expressió 1.16) es trobarà entre 50 i 2000 i el valor de C_{lim} pel CN^- entre $2\cdot 10^{-5}$ i $2\cdot 10^{-6}$ M.

En fluorescència indirecta amb làsser hi ha el desavantatge que els valors típics de DR per muntatges làsser estan al voltant de 100 però, per contra, el valor mínim de concentració de fluoròfor que realment es pot utilitzar arriba a 10^{-4} M, ja que la potència del làsser fa que la tècnica encara sigui sensible amb aquestes concentracions. Com a conseqüència, s'esperen uns valors de C_{lim} entorn a $2 \cdot 10^{-6}$ M pel CN^- que són similars o millors que els valors d'absorció indirecta.

Per aquestes raons, s'ha dut a terme un estudi per determinar el cianur lliure i les seves espècies relacionades mitjançant CE utilitzant un detector làsser basat en la detecció indirecta per fluorescència.

6.1.3. OPTIMITZACIÓ DE LA DETECCIÓ INDIRECTA DE CIANURS

L'expressió (1.34) és la que mostra el senyal dels analits detectats per fluorescència indirecta, i per tant està directament relacionada amb l'altura del pic que s'obté a les anàlisis CE, i l'expressió (1.38) dóna idea dels LOD que es poden aconseguir mitjançant aquesta tècnica.

Per tal d'optimitzar aquest senyal, en primer lloc cal optimitzar els paràmetres que afecten l'absorbància, operar al valor d' ϵ_f màxim donat per l'espectre UV del cromòfor i utilitzar diàmetres de capil·lar adequats per la detecció. En el cas del prototipus utilitzat es va escollir un capil·lar de $75 \mu\text{m}$ de diàmetre intern, valor superior al d'anteriors capítols, per millorar el camí òptic i evitar que les vibracions afectessin més el senyal. L'optimització d'aquests paràmetres ha de permetre una correcta detecció per absorció indirecta dels analits d'interès.

Després de realitzar aquesta optimització dels paràmetres d'absorció, un factor important per millorar el senyal en fluorescència indirecta és la millora del valor Φ_f . Com es veurà més endavant, la fluoresceïna és el fluoròfor òptim pel prototipus que s'ha desenvolupat i permet valors elevats de Φ_f i d' ϵ_f que donen senyals considerables.

Quan es donen valors de fluorescència i d'absorbància elevats cal reduir l'efecte de "bleaching" (autoabsorció de la radiació fluorescent emesa) ja que d'aquesta manera el rendiment de l'emissió del fluoròfor Φ_f serà màxim (expressió 1.34). Per tal d'aconseguir aquest efecte és recomenable que el

fluoròfor es mogui a gran velocitat davant del detector (KUY 88). Això es pot aconseguir operant en unes condicions que donin lloc a una elevada mobilitat del fluoròfor i aplicant voltatges alts. Aquestes condicions permetran, alhora que s'incrementa el senyal, reduir el temps d'anàlisi.

Al capítol 2 s'ha justificat que cal un pH suficientment bàsic per analitzar cianurs i que la utilització d'aquests pH dona lloc a mobilitats electroosmòtiques elevades. D'altra banda, la mobilitat electroforètica de la fluoresceïna és força baixa donat el seu elevat pes molecular en comparació a la resta d'analits i la seva estructura amb 3 anells benzènics. Les mobilitats dels analits que es volen analitzar es troben a la zona intermèdia-baixa (veure taula II.1).

Per tot això, en aquest capítol s'ha aprofitat el valor elevat de la mobilitat electroosmòtica que donen els pH elevats i s'ha operat sempre amb una polaritat positiva, ja que la disminució de la mobilitat electroosmòtica i la utilització de polaritat negativa donaria una mobilitat total del fluoròfor i dels analits baixa que afavoriria l'efecte de "bleaching".

Un cop millorat el senyal cal optimitzar els LOD operant sobre els factors que afecten a (1.38) és a dir incrementant DR i TR i disminuint la concentració del fluoròfor.

El valor de DR millora amb Φ_f , ϵ_f i una intensitat d'excitació (I_0) estable. Incrementant el valor d' I_0 i utilitzant una concentració creixent de cromòfor en la dissolució reguladora s'obté un augment notable del soroll d'origen químic, paral·lelament al què prediu l'expressió (1.25) en el cas de l'absorció.

Donat que la disminució de la concentració de fluoròfor també és un factor fonamental per aconseguir LOD baixos, tal i com mostra l'expressió (1.38), s'operarà a una concentració de fluoròfor el més baixa possible i amb valors de potència òptica mínims (uns 5 mW). Observi's que el fet de baixar la concentració de fluoròfor no afecta directament el senyal indirecte donat per l'expressió (1.34).

L'altre factor a optimitzar és el TR que millora quan la mobilitat de l'analit és propera a la del fluoròfor i quan augmenta la relació entre les càrregues netes de l'analit respecte el fluoròfor.

La utilització de pH propers al pK_a influeix notablement sobre la càrrega neta i la mobilitat del cianur lliure (CN^- més HCN), paràmetres que depenen

del grau de dissociació del $\text{HCN}_{(\text{aq})}$ (α). La càrrega neta del cianur lliure serà igual al valor d' α corresponent al pH utilitzat en la dissolució reguladora i la seva mobilitat electroforètica efectiva ($(\mu_{\text{CN}})_{\text{ef}}$) vindrà donada per l'equació de Tiselius aplicada a una espècie monopròtica (EBV 76)

$$(\mu_{\text{CN}})_{\text{ef}} = \alpha \mu_{\text{CN}} \quad (6.1.)$$

on μ_{CN} és la mobilitat electroforètica de l'anió CN^- (veure taula II.1 per saber-ne el valor aproximat). L'espècie $\text{HCN}_{(\text{aq})}$ és neutra i per tant quan més baix sigui el pH menys càrrega elèctrica i mobilitat tindrà el cianur lliure.

Un altre factor a considerar en l'optimització de TR és la competència de l' OH^- amb la mostra en el desplaçament de la fluoresceïna la qual cosa fa que sigui necessari operar a pH no gaire elevats.

Així doncs, el tampó que s'utilitzi haurà de tenir un pH adequat per a què el CN^- tingui una càrrega neta propera a -1, una mobilitat propera a la de la fluoresceïna i una concentració d' OH^- que no afecti el desplaçament.

Per tal d'avaluar si el procés de desplaçament és el correcte, s'han de complir les expressions (1.34) i (1.35), que marquen la linealitat del calibratge de la tècnica.

Les importants fluctuacions de la línia de base en fluorescència indirecta fan aconsellable la utilització de les altures de pic en lloc de la de les seves àrees per a la realització dels calibratges. Això és possible ja que les mostres tenen com a matriu la pròpia dissolució tampó i per tant no hi ha fenòmens de concentració com els estudiats en el capítol 2.

Prenent logaritmes en l'expressió (1.34), basada en alcades (h), s'obté :

$$\log(h) = a + m \cdot \log(C_a) \quad (6.2)$$

on m és el pendent de regressió, que teòricament ha de valer la unitat si el desplaçament és correcte, i a és l'ordenada a l'origen que indica la sensibilitat de la tècnica.

Finalment, un factor important quan es treballa amb detectors prototipus és evitar al màxim les vibracions. Hi ha muntatges que utilitzen canceladors de soroll amb els que aconseguen valors de DR superiors a 1000 (XUY 93). El temps i la pressió d'injecció són factors que també caldrà optimitzar per obtenir un bon senyal, tal i com s'ha mostrat als capítols 1 i 2.

6.2. PART EXPERIMENTAL

6.2.1. REACTIUS I DISSOLUCIONS

La fluoresceïna en forma de sal disòdica dihidratada ($C_{20}H_{10}Na_2O_5 \cdot 2H_2O$, $M=412.3$) es va obtenir de Eastman Kodak (Rochester, NY, USA). El cianat de sodi (NaCNO) i l'hipoclorit de sodi (NaClO) provineren de Jansen Chimica (Gardena, CA, USA). La resta de productes que es citen es van obtenir de Fisher Chemical (Fair Lawn, NJ, USA).

Per tal d'optimitzar les condicions d'anàlisi es van utilitzar dissolucions reguladores consistents en fluoresceïna amb una concentració entre 100 i 2000 μM tamponades a pH entre 9.3 i més de 11 amb NaOH o KOH.

Els patrons de cianur de sodi es van preparar cada 2 ó 3 dies en concentracions de 1 a 10 g/l i es van enmagatzemar en un lloc fosc i fred. Les dissolucions superiors a 10 ppm de NaCN es van preparar cada dia i les dissolucions per sota d'aquests valors es van preparar moments abans de les anàlisis. La resta de dissolucions es va preparar cada 2 ó 3 dies.

Tots els patrons es van dissoldre en la dissolució reguladora per tal d'ésser analitzats.

6.2.2. INSTRUMENTACIÓ

En tots dos mètodes de detecció indirecta (absorció UV i fluorescència) es va utilitzar un capil·lar de sílica fosa de 75 μm de diàmetre intern i 360 μm de diàmetre extern de Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA). Les longituds totals van ésser de 70 i 73 cm i les longituds de detecció de 44 i 38 cm pel cas de la detecció per absorció i per fluorescència indirectes, respectivament.

Per operar en el mode de detecció per absorció es va connectar el capil·lar a un aparell comercial d'electroforesi model 3140 d'ISCO (Lincoln, NE, USA) i es va utilitzar el seu detector d'absorció incorporat. En aquest cas es van recollir les dades utilitzant el software ICE en un ordinador IBM-PC/AT 286.

La detecció basada en fluorescència es va realitzar substituint el detector d'absorció pel detector prototipus mostrat a la figura 6.1.

La font d'excitació d'aquest detector va consistir en un raig de 488 nm d'un làsser d'Ar⁺ (1) model 2211-10SL de Cyonics, Uniphase (San Jose, CA, USA) que es va introduir dins d'una caixa de plexiglass (2) a través d'una lent plano-convexa i un filtre d'interferència de 488 nm (3).

El raig incident es va projectar perpendicularment a la finestra creada al capil·lar, i el capil·lar es va connectar a l'aparell comercial d'electroforesi de la mateixa manera que en el mode de detecció per absorció, utilitzant una peça d'alumini per subjectar el capil·lar (4).

La radiació fluorescent emesa pel capil·lar es va recollir perpendicularment al raig incident mitjançant un objectiu de microscopi de 10 augments (5) situat en un porta-objectius (6) Edmund Scientific (Barrington, NJ, USA) i va ser conduïda a un fotodetector (9) model HC 220-01 de Hamamatsu (Bridgewater, NJ, USA) a través d'un filtre passabanda de 500 nm (8) utilitzant un mirall de montura cinemàtica (7) de Melles Griot (Irvine, CA, USA). En el cas de la detecció per fluorescència, les dades van ser recollides utilitzant un integrador Datajet d' Spectra-Physics (San Jose, CA, USA).

Per tal de realitzar l'alineació del raig es va procurar que la imatge del capil·lar creada a la superfície del filtre (8) estés centrada i ben enfocada. També es va mesurar el voltatge de sortida del fotodiode per saber si el senyal era l'adequat per aconseguir una bona detecció.

6.2.3. CONDICIONS EXPERIMENTALS

Les dissolucions reguladores es van filtrar amb filtres membrana de 0.2 µm d'Alltech (Deerfield, IL, USA) i es van degasificar durant 15 minuts utilitzant un sistema de buit amb ultrasons. Després d'això, la dissolució es va fer circular durant 4 ó 5 hores al voltatge d'anàlisi. Donat que per sobre de 25 KV el temps d'estabilització va ser insuficient, es van escollir valors iguals o inferiors per les anàlisis.

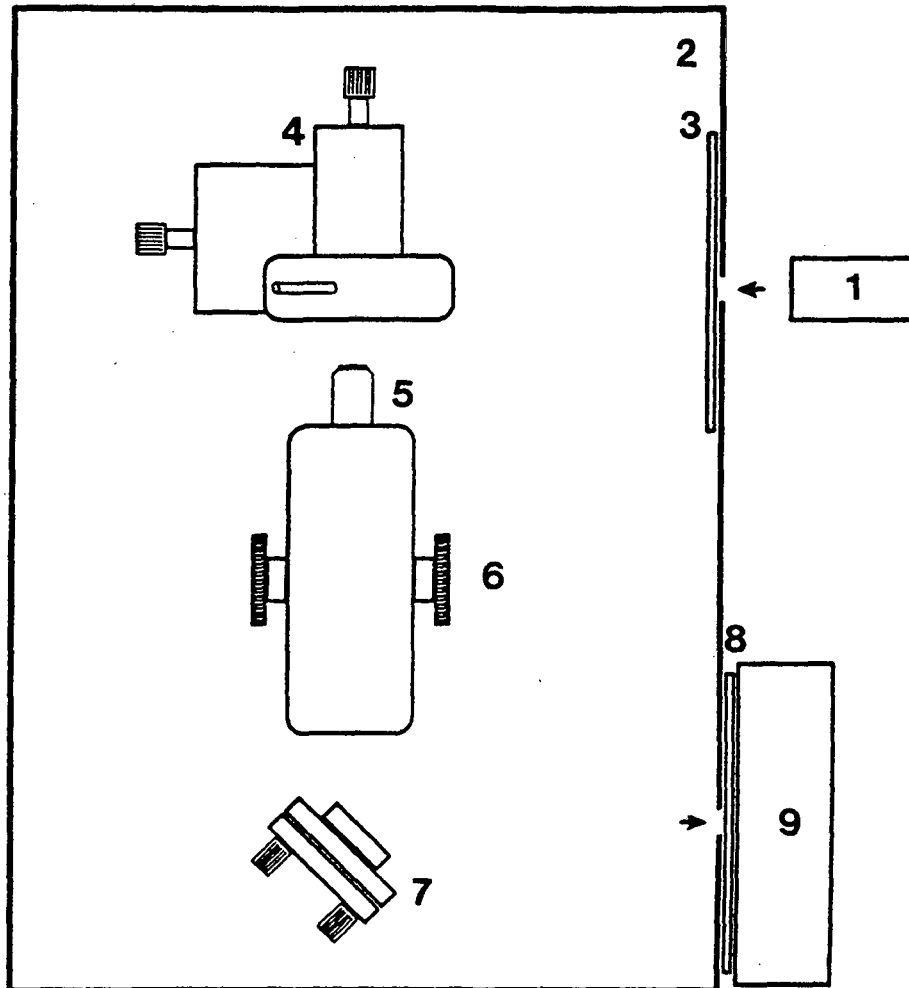


Figura 6.1. Esquema del detector basat en fluorescència làsser.
 Les diferents parts del sistema s'expliquen en el text.

Es va evitar utilitzar dissolucions de fluoresceïna per sota de 100 μM ja que la baixa capacitat amortidora desestabilitzaria la línia de base. En tots els casos també es va escollir un valor baix de potència òptica (entre 4 i 5 mW) per tal d'evitar soroll extra degut a la fluorescència del tampó.

La mostra es va introduir al sistema utilitzant el buit com a mètode d'injecció. En aquest model el volum de mostra introduïda venia fixat pels KPa.s aplicats al capil.lar.

6.3. RESULTATS I DISCUSSIÓ

6.3.1. PROVES DE FUNCIONAMENT DEL SISTEMA

6.3.1.1. Detecció del cianur lliure per absorció indirecta

Com a pas previ a la utilització del detector de fluorescència prototipus, es va realitzar la detecció de CN^- utilitzant dissolucions de fluoresceïna 1 mM a $\text{pH}=11$ i operant amb el mode d'absorció indirecta per tal de provar les condicions d'anàlisi i les mostres escollides.

L'espectre d'absorció UV-visible d'una dissolució 10^{-5} M de fluoresceïna a $\text{pH}=11$ va mostrar un màxim relatiu a 238 nm i un d'absolut a 490 nm. Operant a la primera longitud d'ona i amb un tampó 1 mM de fluoresceïna a $\text{pH}=11$ es van obtenir els resultats de la figura 6.2 (A) que mostren la detectabilitat del CN^- . Es pot observar com, per aquestes condicions, el LOD està al voltant d' 1 ppm de CN^- ($4 \cdot 10^{-5}$ M) i el temps de migració entre 8 i 9 minuts, valors que permetrien una anàlisi ràpida i satisfactòria en aigües d'efluents abans del seu abocament. El CN^- també es va poder detectar per absorció indirecta utilitzant concentracions de fluoresceïna de 2 mM ($\text{pH}=10.5$) i 0.5 mM ($\text{pH}=10.2$).

Un cop comprovada la detecció del CN^- per aquest mètode indirecte es va passar a provar el detector prototipus.

6.3.1.2. Proves de funcionament del detector fluorimètric

Per tal de comprovar el correcte funcionament del muntatge experimental es va avaluar la detecció directa de la fluoresceïna mitjançant la seva recta de calibratge utilitzant el prototipus basat en un làsser de 488 nm. La fluoresceïna és el fluoròfor òptim per aquest làsser ja que té el màxim d'absorció absolut molt proper a 488 nm.

En primer lloc es va comprovar que la potència òptica del làsser fos lineal amb el corrent del tub ($r > 0.99$), fet que va indicar el seu correcte funcionament.

Un cop realitzada aquesta prova, es va analitzar una mostra $2 \cdot 10^{-8}$ M de fluoresceïna (22 KV i 5 KPa.s) i es va mesurar l'altura del pic de fluoresceïna en funció de la potència òptica del làser aplicada per tal d'avaluar la linealitat del sistema i comprovar fins on arribava el fenomen de "bleaching". Es va observar que més enllà de 22 mW la linealitat es trencava i l'altura del pic no creixia perceptiblement, indicant l'eliminació del fenomen de "bleaching".

Utilitzant aquesta potència i un temps d'injecció de 50 KPa.s es va realitzar un calibratge amb patrons entre $2 \cdot 10^{-10}$ M i 10^{-6} M de fluoresceïna. La regressió del logaritme de la concentració en funció del logaritme de l'altura de pic (13 mesures) va donar un valor de $r > 0.999$ i un pendent de 1.07 ± 0.01 , proper a la unitat, que indica que el sistema funciona correctament ja que es compleix l'expressió (1.31).

També es va constatar el funcionament correcte del fotodiode del muntatge per la detecció indirecta fent circular pel capil·lar dues dissolucions reguladores de fluoresceïna diferents (1mM a pH=10 i 0.4 mM a pH=9.3) i estudiant la correlació entre la potència òptica aplicada i el voltatge de sortida del fotodiode. La correlació entre aquests paràmetres va ser lineal amb $r > 0.999$ per voltatges entre 3.1 i 12.3 V. Si la potència òptica era suficientment elevada el fotodiode es saturava a uns 12.5 V, valor que es va evitar en totes les anàlisis efectuades.

6.3.2. DETECCIÓ DE CIANUR LLIURE PER FLUORESCÈNCIA INDIRECTA

6.3.2.1. Optimització de les condicions

Un cop comprovat que el tipus de dissolució i el prototipus funcionaven adequadament, es van escollir les condicions experimentals per tal d'optimitzar el LOD del CN^- seguint la metodologia presentada a la introducció.

Per millorar el LOD del CN^- respecte la detecció per absorció indirecta es va operar amb voltatges per sobre de + 20 KV i paràmetres d'injecció entre 15 i 50 Kpa.s, que donaven una bona reproductibilitat per l'altura dels pics.

Utilitzant aquestes condicions la fluoresceïna es movia ràpidament (temps de detecció entre 2 i 3 minuts) evitant en gran mesura el fenomen de "bleaching".

Els següents factors a optimitzar van ser la concentració de fluoròfor i el pH. En un principi, es va mantenir la concentració d' OH^- igual o per sota de la de la fluoresceïna per tal d'evitar una possible interferència dels OH^- en el desplaçament del fluoròfor.

Operant amb dissolucions de concentracions semblants a les utilitzades en absorció indirecta (1 mM a pH=11) es va haver d'injectar una concentració de NaCN superior a les de la figura 6.2. per tal de veure'n el senyal, ja que el soroll era elevat.

La concentració del fluoròfor es va haver de disminuir fins a 0.25 mM de fluoresceïna a pH=9.6 per tal d'obtenir uns LOD similars als de la detecció per absorció indirecta. Baixant la concentració de fluoresceïna fins a 0.1 mM i el pH a 9.3 també es van obtenir resultats similars, però els pics de CN^- apareixien deformats i sortien prop d'un dels pics del sistema.

Per contra, els pics dels compostos relacionats CNO^- , SCN^- i NO_3^- , els quals s'estudien més endavant, es van poder quantitzar bé amb aquesta dissolució reguladora. El fet de que els pics de CN^- apareguessin deformats i que les mobilitats disminuïssin en acostar-se al valor del pKa del $\text{HCN}_{(\text{aq})}$ és conseqüent amb l'expressió (6.1) ja que s'obté una barreja de CN^- i $\text{HCN}_{(\text{aq})}$ amb una càrrega neta inferior a 1 que provoca una mobilitat més lenta i un desplaçament menor del fluoròfor, donant pics baixos i deformes amb un valor de TR inferior.

Davant d'aquests resultats, es va decidir augmentar lleugerament el pH per tal de veure si interferia en el desplaçament del fluoròfor per part de la mostra. Els millors resultats per detectar CN^- es mostren a la figura 2 (B) on es va utilitzar 0.1 mM de fluoresceïna a pH= 10 (KOH). Es pot observar que el perfil dels pics és satisfactori. Fins el grau en què es va poder optimitzar cada mode de detecció, els LOD van ser millors per la fluorescència indirecta que per l'absorció indirecta, i el temps d'anàlisi va ser més curt.

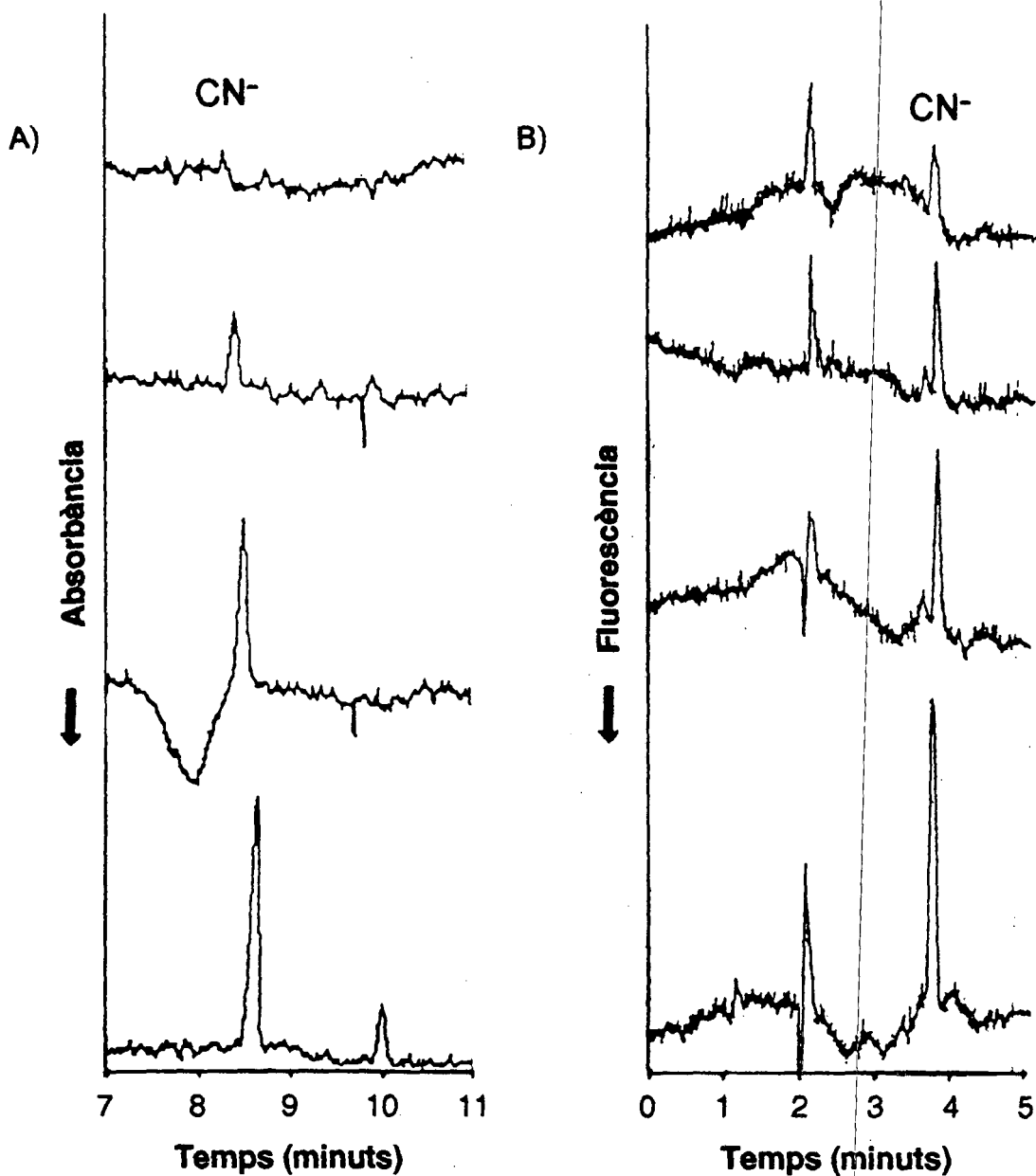


Figura 6.2. Comparació de la detecció indirecta per diferents concentracions de CN^- :

a) 10^{-5} M b) $4 \cdot 10^{-5}$ M c) 10^{-4} M d) $2 \cdot 10^{-4}$ M

(A) Absorció UV a 238 nm (1 mM fluoresceïna a pH=11, 5 KPa.s i 20 KV)

(B) Fluorescència a 4 mW (0.1 mM fluoresceïna a pH=10, 25 KPa.s i 25 KV).

6.3.2.2. Soroll, LOD i temps d'anàlisi del CN⁻.

La taula VI.1 resumeix alguns resultats analítics de la separació i detecció del CN⁻ i dels anions relacionats.

Els límits de detecció de tots els anions estudiats es van calcular a partir de l'altura del pic que era superior a dos cops l'amplada del soroll de pic a pic del mateix assaig (POS 84) tal i com s'ha indicat en el capítol 3. Pel cas del CN⁻ els LOD indicats corresponen a 130 ppb. Aquest valor és superior als límits de detecció que es requereixen per tal de controlar el CN⁻ en aigües potables, però permetria el control d'aigües residuals abans del seu abocament.

Sota les condicions optimitzades es va obtenir un temps d'anàlisi molt curt i suficientment acurat per identificar qualitativament el CN⁻.

6.3.2.3. Valors de DR i TR pel CN⁻.

La reserva dinàmica (DR) d'aquestes anàlisis es va calcular a partir de l'amplada de soroll i les mesures del senyal de fons que s'obtenien després d'obturar el raig làsser del detector i ajustar el senyal a zero.

Depenent de les condicions, es van obtenir valors de DR entre 75 i més de 300 per dissolucions 0.1 mM de fluoresceïna. Operant sota condicions analítiques similars, els factors principals que es va veure que afectaven el soroll, i per tant els LOD, van ésser la vibració mecànica de l'òptica (moviments de l'ordre de 75µm) i el temps d'estabilització de la dissolució reguladora en el capil·lar.

Aquest fet significa que els LOD experimentals podrien reduir-se si fos possible reduir el soroll i incrementar el valor de DR.

Coneixent el valor de C_{lim} a partir dels LOD (expressió (1.39)), els valors de DR i la concentració del cromòfor, es pot calcular el valor de TR prop dels LOD utilitzant l'expressió (1.38). Pel cas dels anions monovalents, el valor màxim de TR possible hauria de ser 0.5, donat que la fluoresceïna a pH alcalí té dues càrregues negatives.

Anió	CN ⁻	CNO ⁻	SCN ⁻	NO ₃ ⁻
Temps migració* (min ± R.S.D. %)	3.7±1.4	5.7±1.1	6.3±0.9	7.9±1.0
LOD (M)	5·10 ⁻⁶	2-9·10 ⁻⁶	2·10 ⁻⁶ -10 ⁻⁵	2·10 ⁻⁶ -10 ⁻⁵
DR	90	≥300	≥300	≥300
TR	0.44	0.07	0.05	0.05

* Pel CN⁻ n=6, mentre que per la resta d'anions n=10.

Taula VI.1. Principals paràmetres de la separació i detecció dels anions per detecció indirecta.

El valor de TR pel CN⁻ està molt proper al valor teòric. Això significa que el tampó es va optimitzar correctament i que el LOD del CN⁻ és proper al que teòricament s'esperava amb els valors de DR obtinguts.

Donat que el desplaçament està basat en les càrregues del fluoròfor i de la mostra semblaria que concentracions d'OH⁻ similars o superiors a la de la fluoresceïna interferirien en el desplaçament i reduirien el valor de TR. Tot i així, el valor de TR augmenta quan la mobilitat de l'anàlit és similar a la del cromòfor. La mobilitat dels OH⁻ és molt alta comparada amb la de cromòfor i per tant, no interfereix de manera notable en el desplaçament. D'aquesta manera es pot operar a un concentració baixa de cromòfor a un pH raonablement alt, tal i com ja han aconseguit alguns autors (GAY 90).

6.3.2.4. Calibratge del CN⁻

Per tal d'avaluar la validesa de l'expressió (1.34) que indica una relació directament proporcional entre concentració i senyal es va realitzar la regressió lineal del logaritme de la concentració, des de 10⁻⁵ M fins 2·10⁻³ M, respecte el logaritme de l'altura de pic (mesurada en mm) que es mostra en la figura 6.3.

Es pot observar com la tendència dels punts és lineal i permet una calibració per tal d'estimar (més que determinar) concentracions de cianur. La precisió de l'altura dels pics de CN^- també va ser baixa (de l'ordre del 10%), tal i com s'observa, fins i tot quan s'injectaven mostres acabades de preparar.

Aquesta regressió va donar un valor de $r^2=0.974$ per 15 mesures amb $F_{\text{cal}} > F_{(1,13,0.05)}=4.67$ que indica que el model logarítmic és correcte, però es va obtenir un pendent de 0.40 ± 0.03 que dista molt de la unitat i, per tant, invalida l'expressió (1.34).

Donat que per la detecció directa de la fluoresceïna amb el mateix muntatge el pendent era proper a la unitat, aquesta desviació del pendent es deu a la tècnica indirecta utilitzada, més que al muntatge experimental. De fet, aquests resultats indicarien que el valor de TR depèn de la pròpia concentració de la mostra i de la presència d' OH^- i creix a concentracions baixes, fet que explicaria aquesta desviació del pendent unitat.

6.3.3. DETECCIÓ DELS COMPOSTOS RELACIONATS AMB EL CN^- PER FLUORESCÈNCIA INDIRECTA

6.3.3.1. Anàlisi qualitativa i estudi d'interferències

En aquests estudis també es van analitzar anions relacionats amb el CN^- (CNO^- , SCN^- , NO_3^-) i possibles ions interferents (Cl^- , SO_4^{2-} i $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$) utilitzant el mètode de fluorescència indirecta optimitzat. Mescles d'aquests anions van ser analitzades utilitzant dissolucions reguladores amb concentracions de fluoresceïna i pH en un interval similar a l'utilitzat per la detecció del CN^- .

La separació de CNO^- , SCN^- , NO_3^- del Cl^- i el SO_4^{2-} es va aconseguir tal i com mostra la figura 6.5. En aquest electroferograma el pics de Cl^- i SO_4^{2-} no es van poder resoldre. Aquest fet però, no té importància perquè solament es volia comprovar si aquests dos anions interferien en la posició dels anions relacionats amb el CN^- .

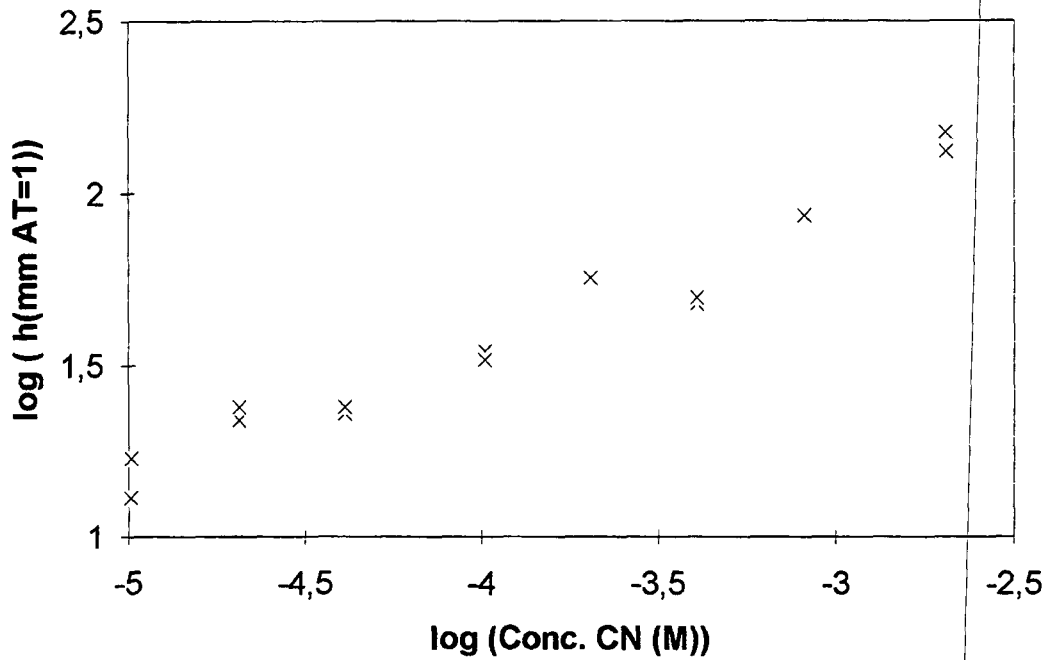


Figura 6.3. Representació del log. de l'altura de pic del CN⁻ en funció del log. de la seva concentració

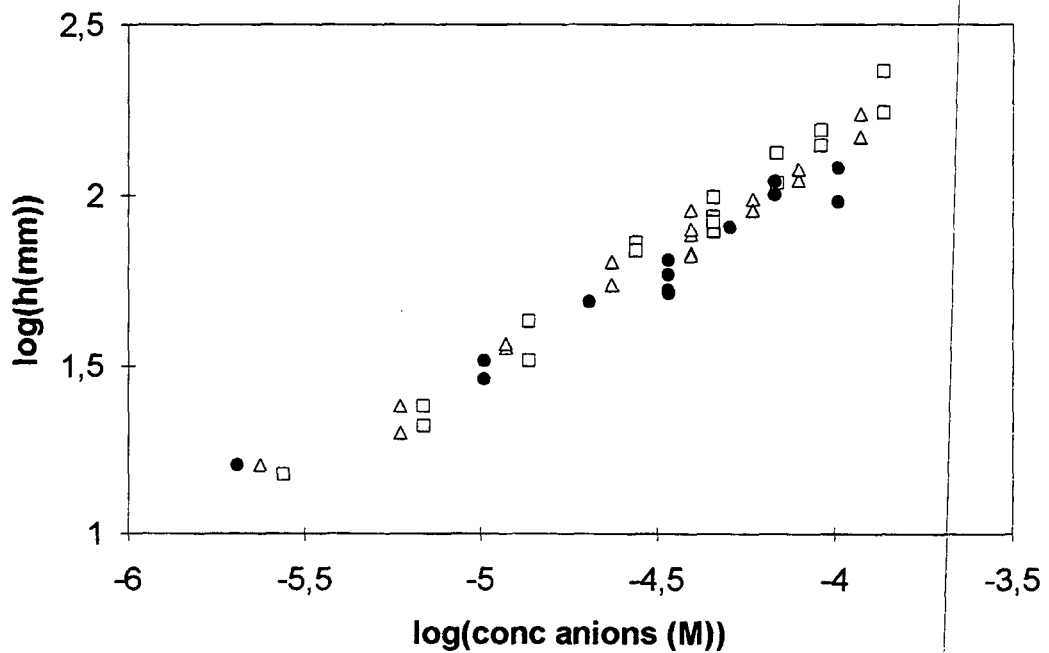


Figura 6.4. Representació del log. de l'altura de pics de CNO⁻ (□), SCN⁻ (Δ) i NO₃⁻ (◆) en funció del log. de la seva concentració.

Per tal de saber a partir de quina concentració podien interferir aquests dos anions, es van utilitzar concentracions de Cl^- i de SO_4^{2-} 11 cops més grans que les que apareixen a la figura 6.5 (28 ppm de Cl^- i 210 ppm de SO_4^{2-}), que corresponen a concentracions més altes que les presents en aigües naturals.

Els resultats van mostrar que la detecció de CNO^- i el SCN^- encara era possible sota aquestes condicions.

En comparació amb altres referències (JOJ 92)(JAB 93) es va observar que l'ordre relatiu de migració dels anions estudiats era el mateix excepte pel cas de Cl^- i SO_4^{2-} . El pic de $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$ no es va detectar amb polaritat positiva, probablement degut a la seva mobilitat.

Tots els pics tenen un "tailing" (veure apartat 1.3.3.2.) que indicaria que l'anió que s'analitza té una mobilitat total més gran que els anions de la dissolució reguladora (MEV 79). Aquest "tailing" es deu probablement a la relativament elevada concentració d' OH^- en la dissolució reguladora.

6.3.3.2. Soroll, LOD i temps d'anàlisi dels compostos relacionats.

A la taula VI.1. també apareixen els paràmetres analítics del CNO^- , SCN^- i NO_3^- . Un cop fixats la dissolució reguladora amb la mínima concentració de fluoròfor i el pH utilitzats per la detecció del CN^- , el control de les vibracions mecàniques i el temps d'estabilització del tampó dins del capil·lar van ésser els nous factors limitants que calia millorar.

Controlant la fixació del detector a l'aparell, el nivellament de la base i l'esmoreïment de les vibracions en certs punts i utilitzant un temps d'estabilització del capil·lar d'unes 40 hores els resultats de les anàlisis es van poder millorar, tal i com es mostra en la figura 6.6. on a més s'observa una separació clara entre els pics de Cl^- i de SO_4^{2-} quan s'injecten concentracions baixes.

Els LOD calculats a partir d'aquesta figura són els valors més petits presents a la taula VI.1. Aquest estat de baix soroll va finalitzar després d'unes hores i no va ser possible tornar-lo a reproduir.

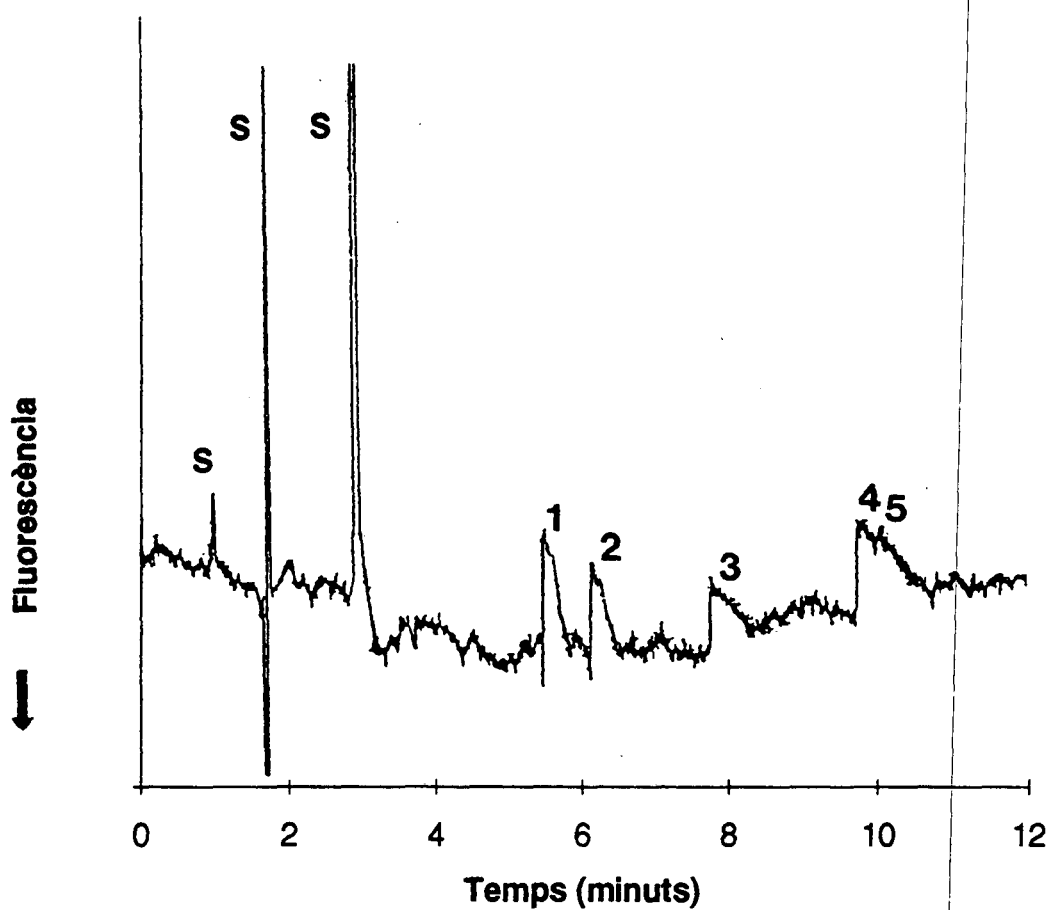


Figura 6.5. Electroforograma de l'anàlisi per fluorescència indirecta dels compostos relacionats

tampó: 0.1 mM fluoresceïna a pH=10 (KOH);

condicions: 5 mW de potència òptica, 25 KPa.s i 25 KV.

1- CNO^- ($4.6 \cdot 10^{-5}$ M) 2- SCN^- ($3.9 \cdot 10^{-5}$ M) 3- NO_3^- ($3.4 \cdot 10^{-5}$ M)

4 - Cl^- ($7.2 \cdot 10^{-5}$ M) 5- SO_4^{2-} ($2 \cdot 10^{-4}$ M) S - Pics del sistema

Així, els valors normals dels LOD amb una bona fixació del detector i un temps d'estabilització de 4 a 5 hores s'inclouen en la mateixa taula com a valors superiors dels LOD.

Un dels avantatges del mètode d'anàlisi desenvolupat és que es poden analitzar els anions d'interès en menys de 8 minuts amb una bona precisió en els temps de migració.

6.3.3.3. DR i TR dels compostos relacionats

Sota les condicions en les que es van obtenir els valors de LOD superiors, es va obtenir un valor de DR=300.

Comparant els valors de TR obtinguts entre els anions (incloent el CN^-) en la taula VI.1 es pot observar que s'obtenen valors consistents amb el fet de que el valor de TR augmenta quan la mobilitat de l'anió és més propera a la mobilitat del fluoròfor.

6.3.3.4. Calibratge dels compostos relacionats

El calibratge dels tres anions d'interès apareix en la figura 6.4. i es va realitzar des de concentracions properes al LOD fins a uns 10^{-4} M de cada anió.

La regressió lineal del logaritme de la concentració molar del CNO^- , SCN^- i NO_3^- respecte el logaritme de l'altura mesurada en comptes van mostrar valors de r^2 entre 0.96 i 0.98, que indiquen un bon ajust del model, i pendents d'entre 0.6 i 0.7.

Els valors del pendents novament són estadísticament diferents de la unitat, fet que mostra una desviació de l'expressió (1.34) amb causes d'aquest fet similars al cas del CN^- . El calibratge solament permet estimar la concentració de les espècies relacionades.

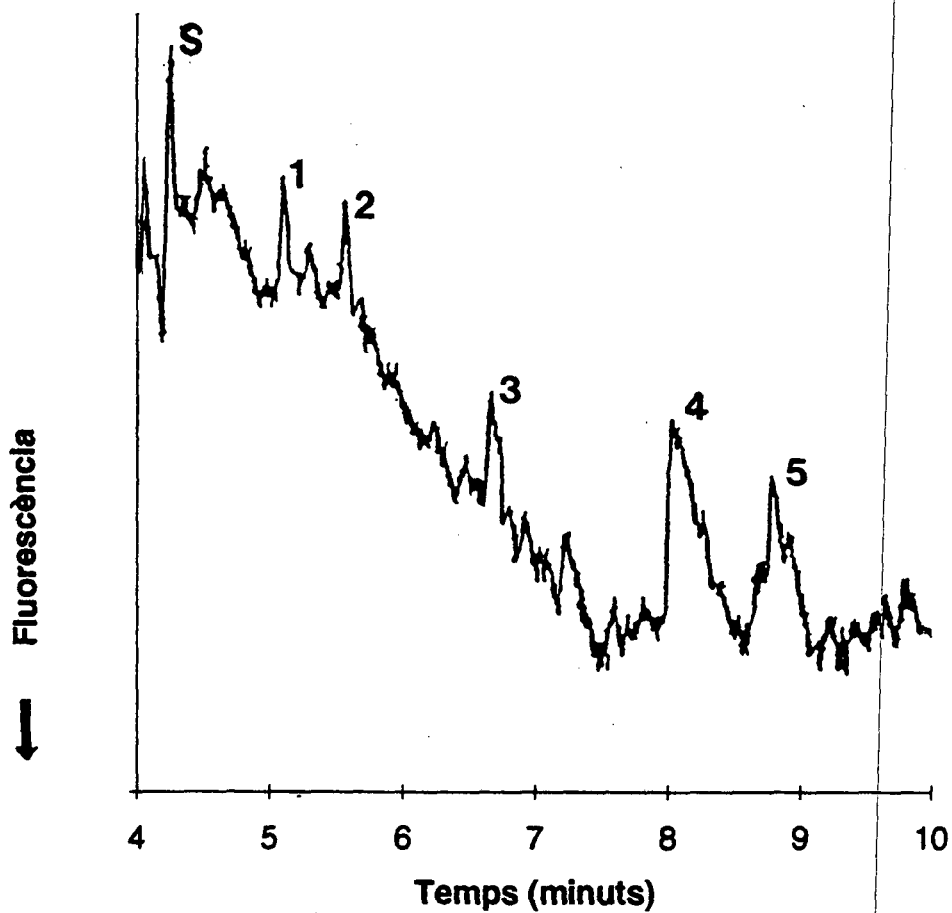


Figura 6.6. Electroforograma de l'anàlisi d'anions prop del seu LOD sota condicions favorables de soroll (fluorescència indirecta a 5 mW i tampó 0.1 mM fluoresceïna a pH=10 (KOH), 25 KPa.s i 25 KV.

1- CNO^- ($2.7 \cdot 10^{-6}$ M) 2- SCN^- ($2.3 \cdot 10^{-6}$ M) 3- NO_3^- ($2.0 \cdot 10^{-5}$ M)
 4- Cl^- ($4.3 \cdot 10^{-6}$ M) 5- SO_4^{2-} ($1.2 \cdot 10^{-5}$ M) S - Pic del sistema

6.3.4. ESTUDI DE L'OXIDACIÓ ALCALINA DEL CN^- I SCN^- AMB HIPOCLORIT

Per tal de verificar si el mètode analític es pot aplicar al seguiment de l'oxidació alcalina del CN^- utilitzant ClO^- , una dissolució sintètica de 100 ml amb $1.1 \cdot 10^{-2}$ M de NaCN i $5.5 \cdot 10^{-3}$ M de KSCN a pH 10 es va oxidar utilitzant ClO^- . El mètode d'oxidació que es va seguir està basat en assaigs estàndard (AAW 92)(AST 91) en els què es va utilitzar la mateixa concentració molar de ClO^- (24.8 g clor actiu / l) i la mateixa relació oxidant/mostra. La mostra a oxidar es va emplaçar dins d'un kitasatos cobert exteriorment amb cinta adhesiva negra per tal d'evitar possibles alteracions de la mostra degudes a la llum solar.

Per la part superior del kitasatos es va insertar un elèctrode de pH a través d'un tap de cautxú per tal de controlar l'alcalinitat de la dissolució. La sortida lateral del kitasatos es va utilitzar per introduir dissolucions amb l'ajut de petits tubs de tefló units a xeringues de plàstic.

L'operació d'oxidació va consistir en introduir progressivament la dissolució d'hipoclorit a raó d'uns 5 ml cada 15 minuts durant una hora sobre la mostra agitada afegint el volum de dissolució NaOH 1M necessari per mantenir el pH entre 10 i 11.

Finalitzada l'oxidació, la dissolució es va passar a un flascó de 200 ml i es va enrasar amb NaOH pH=10. Per tal de realitzar les anàlisis de la mostra oxidada, 0.1 ml d'aquesta dissolució es van diluir fins 5 ml amb dissolució reguladora.

L'electroferograma de la mostra diluïda apareix a la figura 6.7. En aquesta figura es poden identificar els pics de ClO^- , CNO^- i pics del sistema per addició de patrons i pel temps de migració. En aquestes anàlisis no va aparèixer cap interferència per part del ClO^- i d'altres subproductes (Cl^- , etc) en l'anàlisi del CNO^- .

Utilitzant el mètode desenvolupat es va estimar que la concentració de CNO^- es trobava entre 1 i $2 \cdot 10^{-4}$ M en la mostra oxidada, però no va ser possible determinar independentment si tot el CNO^- provenia de l'oxidació del CN^- i del SCN^- o solament del CN^- .

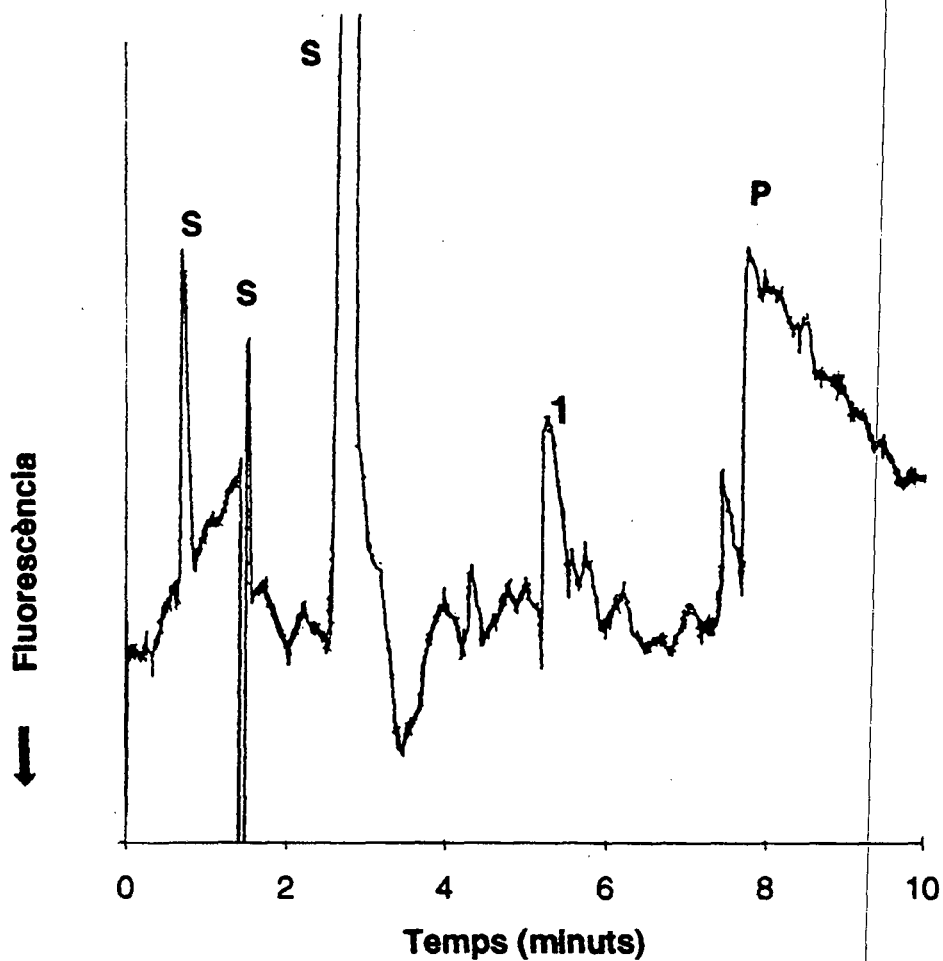


Figura 6.7. Electroforograma de l'anàlisi d'una mostra de CN^- i SCN^- oxidada (veure text) diluïda 100 cops. (fluorescència indirecta a 5 mW i tampó 0.1 mM fluoresceïna a pH=10 (KOH), 25 KPa.s i 25 KV).

1- CNO^- S- Pics del sistema P- Subproductes (ClO^- , Cl^-)

El fet de que l'espècie majoritària després de l'oxidació alcalina sigui principalment CNO^- indica que aquesta oxidació té lloc de forma majoritària en una sola etapa de manera que el CNO^- que no progressa cap altres formes (HCO_3^- , NH_3 , CO_2 , N_2) com en el capítol 5.

6.4. REFERÈNCIES

- (AAB 92) M. T. Ackermans, J. C. J. M. Ackermans-Loonen, J. L. Beckers
J.Chromatogr 627, (1992), 273-279.
- (AAW 92) APHA,AWWA,WEF, " Standard Methods for the Examination of
Water and Wastewater " 18th Ed., APHA, AWWA, WEF,
Washington D. C., 1992.
- (AST 91) ASTM, " Annual book of ASTM standards ", Ed. ASTM, Vol 11.02,
Washington D. C., 1991, 90-129.
- (BRI 57) J. Brigando, Bull. Soc. Chim.Fr. 24, (1957), 503-516.
- (BSR 54) R. P. Buck, S. Singhadeja, L. B. Rogers, Anal. Chem. 26, (1954),
1240-1242.
- (EBV 76) F. M. Everaerts, J. L. Beckers, T. P. Verheggen, " Isotacophoresis",
Elsevier, New York, 1976
- (FFN 90) F. Foret, S. Fanali, A. Nardi, P. Bocek, Electrophoresis ,11, (1990),
780-783.
- (GAY 90) T. W. Garner, E. S. Yeung , J. Chromatogr. 515, (1990), 639-644.
- (GEM 90) C. M. Gerritsen, D. W. Margerum, Inorg. Chem. 29, (1990), 2757
-2762.
- (GUB 85) M. D. Gurol, W. M. Bremen, Environ. Sci. Tech. 19, (1985), 804-809.
- (GRY 90) L. Gross, E. S. Yeung, Anal. Chem. 62, (1990), 427-431.
- (JAB 93) P. Jandik, G. Bonn, "Capillary Electrophoresis of Small Molecules and
Ions", VCH, New York, 1993
- (JAJ 91) P. Jandik, W. R. Jones, J. Chromatogr.,546,(1991),431-443.

- (JOJ 90) W. R. Jones, P. Jandik, *American Laboratory*, (June 1990), 51-63.
- (JOJ 91) P. Jandik, W. R. Jones, *J. Chromatogr.* 546, (1991), 431-443.
- (JOJ 92) W. R. Jones, P. Jandik, *J. Chromatogr.* 608, (1992), 385-393.
- (KEN 91) B.F.Kennedy, *J. Chromatogr.* 546,(1991),423-430.
- (KKY 92) M. Koberda, M. Konkowski, P. Youngber, *J. Chromatogr.* 602,(1992),
235-240.
- (KUY 88) W. G. Kuhr, E. S. Yeung, *Anal. Chem.* 60, (1988), 2642-46.
- (LRJ 90) Y. Liu, R. D. Rocklin, R. J. Joyce, M. J. Dole, *Anal. Chem.* 62, (1990),
766-770.
- (MAH 92) J. Marsden, I. House, "The chemistry of gold extraction", Ellis
Horwood, New York, 1992.
- (MCK 93) P. McCarthy, R.W. Klusman, *Anal. Chem.* 65, (1993), 244R-292R.
- (MEV 79) F. P. E. Mikkers, F. M. Everaerts, Th. P. E. M. Verheggen,
J. Chromatogr. 169, (1979), 1-10.
- (MIN 95) Ministerio de Industria y Energia, "La industria química en España
1994", Miner, Madrid, 1995.
- (MKC 91) P. McCarthy, R. W. Klusman, S. W. Cowling, J. A. Rice, *Anal.*
Chem. 63, (1991), 301R-342R.
- (MKR 89) P. McCarthy, R. W. Klusman, J. A. Rice, *Anal. Chem.* 61, (1989),
269R-304R.
- (NON 87) N. Nonomura, *Anal. Chem.* 59, (1987), 2073-2076.
- (PER 89) J. Peral, Tesis Doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, 1989.

- (POH 84) C. Pohlandt, S. Afr. J. Chem. 37, (1984), 133-137.
- (POH 92) C. H. Pollema, J. L. Hendrix et al., J. Photochem. Photobiol. 66, (1992), 235-244.
- (POS 84) C. F. Poole, S. A. Schuette, "Contemporary practice of chromatography", Elsevier, Amsterdam, 1984, p.387-388.
- (ULL 87) Ullmann "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry", VCH, Weinheim, Germany, tom A.8, 1987.
- (WBJ 92) A. Weston, P. R. Brown, P. Jandik, W. R. Jones, M. T. Ackermans, J. Chromatogr. 593, 1992, 289-295.
- (WEF 91) D. J. Wedl, R. J. Fulk, Metal Finishing 89, (Nov.1991), 33-37.
- (WJJ 91) B. J. Wildman, P. E. Jackson, W. R. Jones, P. G. Alden, J. Chromatogr. 546, (1991), 459-466.
- (XUY 93) Y. Xue, E. S. Yeung, Anal. Chem. 65, (1993), 2923-2927.
- (XUY 94) Q. Xue, E. S. Yeung, J. Chromatogr. 661, (1994), 287-295.
- (YEK 91) E. S. Yeung, W. G. Kuhr, Anal. Chem. 63, (1991), 275A-82A.
- (YEU 89) E. S. Yeung, Acc. Chem. Res. 22, (1989), 125-30.