

VI. 2. EXPERIMENTAL

Reactivos

- Gel Sephadex G-15.

- Disolución patrón de Al(III) de 0.1 g.L^{-1} , preparada a partir de $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, en HNO_3 $6.5 \times 10^{-2} \text{ M}$ y contrastada mediante valoración con EDTA. Se conserva en un frasco de polietileno.

Todas las disoluciones de Al(III) se prepararon a partir de ésta por dilución con agua bidestilada. Se preparan diariamente para asegurar la estabilidad de la disolución diluida.

- Disolución patrón de Be(II) de 0.1 g.L^{-1} , a partir de $\text{BeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en HClO_4 $6 \times 10^{-2} \text{ M}$ y contrastada gravimetricamente por el método del fosfato. Se conserva la disolución de Be(II) en un frasco de polietileno para evitar el intercambio iónico con el vidrio.

Todas las disoluciones de Be(II) se obtuvieron a partir de ésta por dilución con agua bidestilada. Se prepararon diariamente para asegurar la estabilidad de la disolución diluida.

- Disolución de morina (2',3,4',5,7-pentahidroxi flavona) purificada por el procedimiento descrito en el Capítulo III, al 0.02 % en etanol del 99.5 %.

Las demás disoluciones de morina se prepararon a partir de ésta por dilución en etanol del 99.5%, siendo necesario prepararlas diariamente.

- Disoluciones reguladoras de ácido acético y acetato sódico de diversos valores de pH, preparadas a partir de una disolución de CH_3COONa 0.1 M (6.804 g en 500 mL de agua bidestilada) y la cantidad de CH_3COOH necesaria para la obtención del pH deseado.

- Disolución de iones de 1 g.L^{-1} en ión, preparadas por disolución de las sales que se indican en la tabla VI.1.

Tabla VI.1.

<i>ión</i>	<i>sal empleada</i>
NO_3^-	NaNO_3
SO_4^{2-}	Na_2SO_4
Cl^-	NaCl
F^-	NaF
CO_3^{2-}	$\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$
PO_4^{3-}	$\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
Ca(II)	$\text{Ca(NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Mg(II)	$\text{Mg(NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Fe(III)	$\text{Fe(NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$
Cu(II)	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Si(IV)	SiO_3Na_2

Todos los reactivos empleados son de calidad reactivo unos y suprapuro otros.

En el estudio cualitativo sobre la fijación de los complejos de Be(II) y Al(III) con morina en diversos soportes sólidos (Capítulo I), se comprobó que ambos complejos deben poseer carga diferente, pues ambos se fijan en cambiadores de iones de diferente carga (Al-morina en catiónicos y Be-morina en aniónicos). Esto es, no hay condiciones, aún modificando el pH, en las que se fijan simultáneamente ambos complejos, pues si uno lo hace el otro es excluido.

Por ésta razón, se intentó la fijación por adsorción en una matriz sólida sin carga eléctrica neta. En razón del carácter relativamente hidrófilo de la molécula de morina, se eligió como soporte un polidextrano. El Sephadex G-15 resultó ser el más adecuado para la fijación conjunta de ambos complejos en medio ácido débil.

VI.3. CARACTERISTICAS ESPECTRALES

Nuestro estudio fué encaminado a resolver la mezcla de aluminio y berilio mediante la formación de sus complejos correspondientes con morina y empleando la fluorescencia sincrónica derivada. Para ello establecimos en primer lugar las condiciones más adecuadas para que se formaran y fijaran ambos complejos simultaneamente.

VI.3.1. Espectros de fluorescencia total de los complejos Al(III)-morina, Be(II)-morina y la mezcla de ambos, en fase Sephadex G-15

Como ya se ha indicado en el capítulo III, se dispone de una comunicación establecida entre el espectrofluorímetro y un ordenador, un programa de recogida y tratamiento de datos (FLUOPACK) y un programa de representación tridimensional (GOLDEN SOFTWARE) que permiten la obtención de los espectros de luminiscencia totales de los sistemas indicados.

Se registraron, en primer lugar, los espectros de fluorescencia total del complejo Al(III)-morina en el soporte Sephadex elegido, la del complejo Be(II)-morina y por último, el de una mezcla de ambos.

Para la obtención de los espectros de excitación y emisión del sistema morina-Al(III) en fase sólida, se preparó un matraz aforado de 500 mL en el que se introdujeron 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó con agua bidestilada.

Se transvasó a una botella de polietileno y se añadieron 2 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3}\%$, y a continuación 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico (0.1M) de $\text{pH} = 6$ y 100 mg de Sephadex G-15, tal y como se concluye del estudio cualitativo previo (pag).

Analogamente se preparó un blanco introduciendo 500 mL de agua bidestilada en otra botella de polietileno añadiéndose los mismos volúmenes de reactivos indicados anteriormente. Este blanco es común en para los dos complejos y la mezcla de ambos.

Después de una agitación de 15 minutos, se filtró la disolución, se llenaron las cubetas y se procedió a registrar los espectros en las siguientes condiciones: intervalo de emisión entre 485 y 585 nm; intervalo de excitación entre 360 y 460 nm variando de 2 en 2 nm para cada barrido de emisión (pues el programa Fluopack realiza 50 barridos), rendijas de excitación y emisión 2.5 nm y factor de sensibilidad 0.1.

Los espectros obtenidos de la muestra y el blanco se representaron haciendo uso del programa Golden comentado en el capítulo III. Los resultados se muestran en la figura VI.5.

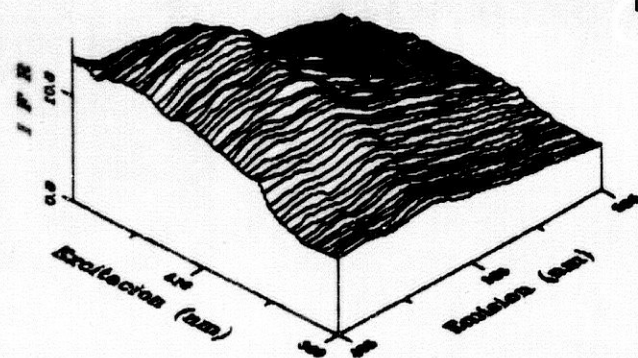
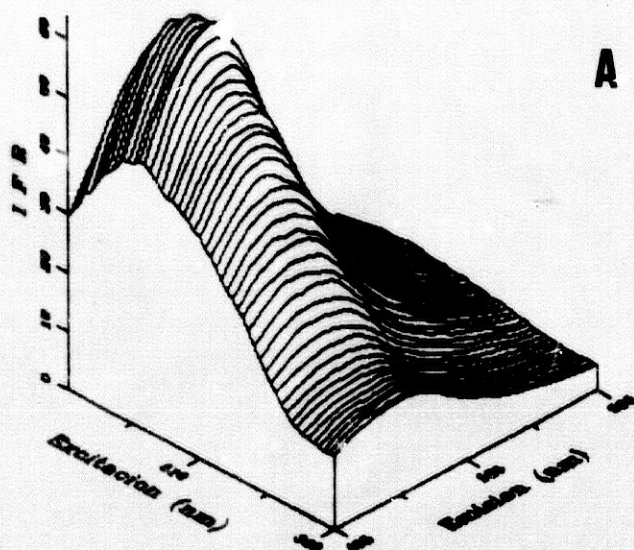


Figura VI.5. Espectros tridimensionales del complejo Al(III)-morina-G.15 (A) y del blanco (B)

Para la obtención de los espectros de excitación y emisión del sistema morina-Be(II) en fase sólida se preparó un matraz aforado de 500 mL en el que se introdujeron 12.5 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó con agua bidestilada.

Se transvasó a una botella de polietileno y se añadieron 2 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3}\%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico (0.1M) de $\text{pH} = 6$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Después de una agitación de 15 minutos, se filtró la disolución, se llenaron las cubetas y se procedió a registrar los espectros en las siguientes condiciones: intervalo de emisión entre 485 y 585 nm; intervalo de excitación entre 360 y 460 nm variando de 2 en 2 nm para cada barrido de emisión (pues el programa Fluopack realiza 50 barridos), rendijas de excitación y emisión 2.5 nm y factor de sensibilidad 0.1.

El espectro obtenido de la muestra se representó haciendo uso del programa Golden y se muestra en la figura VI.6.

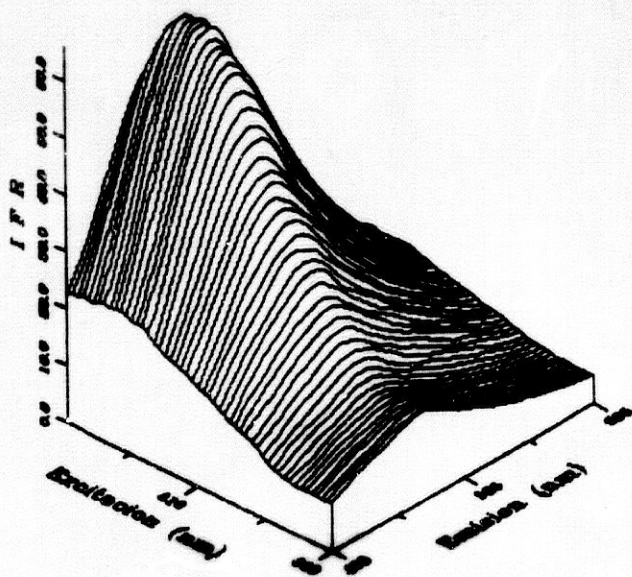


Figura VI.6. Espectro tridimensional del complejo Be(II)-morina-G.15

Para la obtención de los espectros de excitación y emisión de la mezcla de complejos de Al(III) y Be(II) en fase sólida, se preparó un matraz aforado de 500 mL en el que se introdujeron 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y 12.5 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó con agua bidestilada.

Se transvasó a una botella de polietileno y se añadieron 2 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico (0.1M) de pH = 6 y 100 mg de Sephadex G-15.

Después de una agitación de 15 minutos, se filtró la disolución, se llenaron las cubetas y se procedió a registrar los espectros en las siguientes condiciones: intervalo de emisión entre 485 y 585 nm; intervalo de excitación entre 360 y 460 nm variando de 2 en 2 nm para cada barrido de emisión (pues el programa Fluopack realiza 50 barridos), rendijas de excitación y emisión 2.5 nm y factor de sensibilidad 0.1.

El espectro obtenido de la mezcla se representó haciendo uso del programa Golden. El resultado se muestra en la figura VI.7.

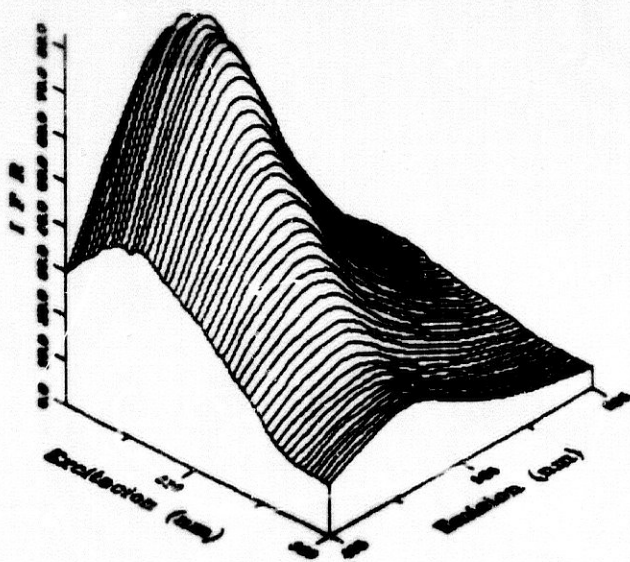


Figura VI.7. Espectro tridimensional de la mezcla

VI.3.2. Espectros diferencia

Con objeto de obtener el espectro de luminiscencia total del sistema, se restó el espectro del blanco común a todos ellos al del sistema en cada caso y el espectro resultante se representa con distintas vistas (figuras VI.8-VI.13) por rotación alrededor del eje Z.

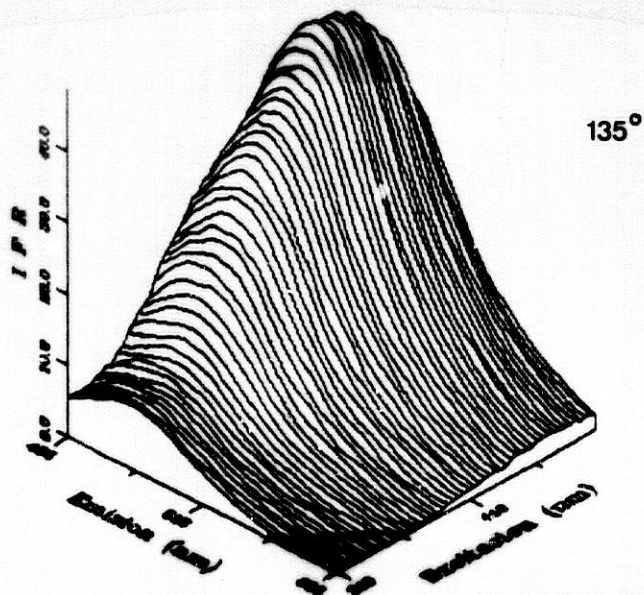
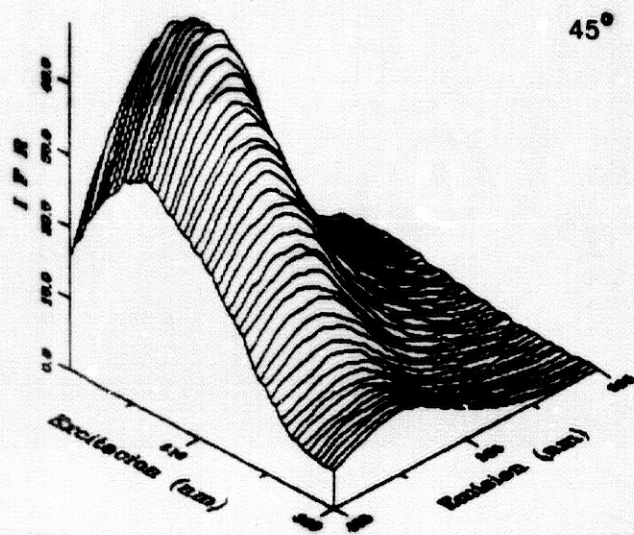


Figura VI.8. Espectro de luminiscencia total del complejo Al(III)-morina-G.15 visto según diferentes ángulos de rotación alrededor del eje Z.

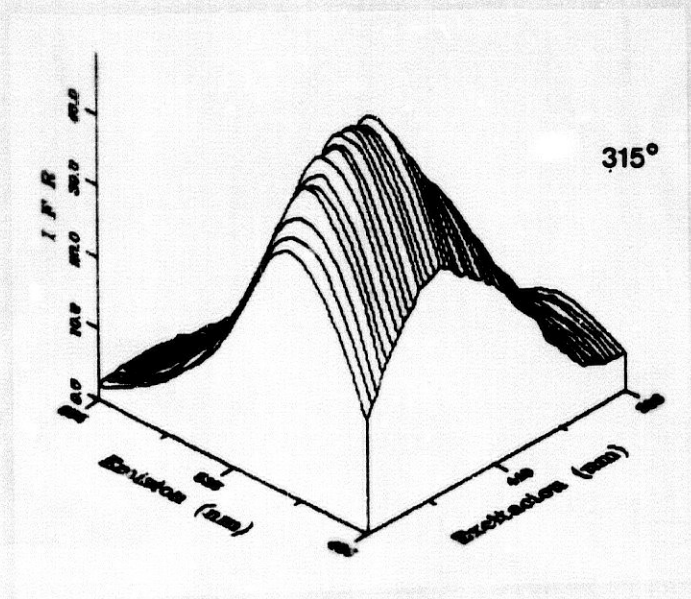
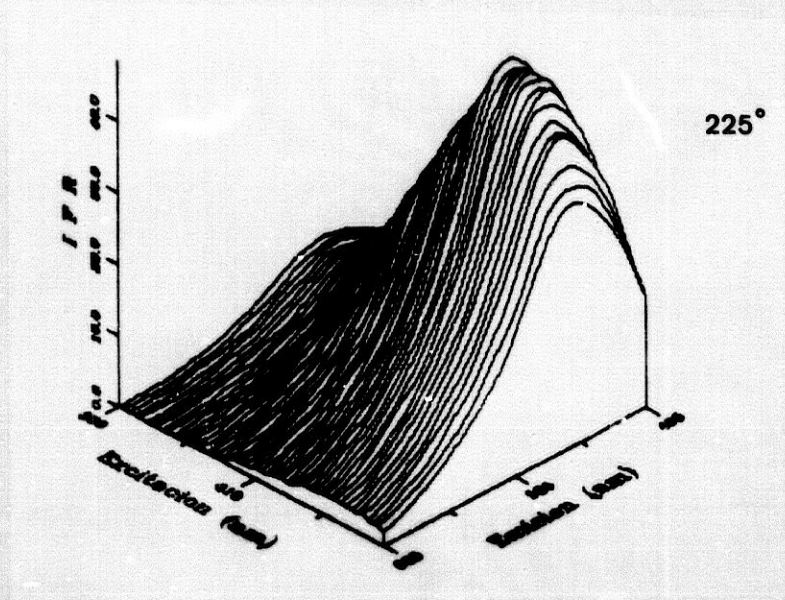


Figura VI.9. Espectro de luminiscencia total del complejo Al(III)-morina-G.15 visto según diferentes ángulos de rotación alrededor del eje Z.

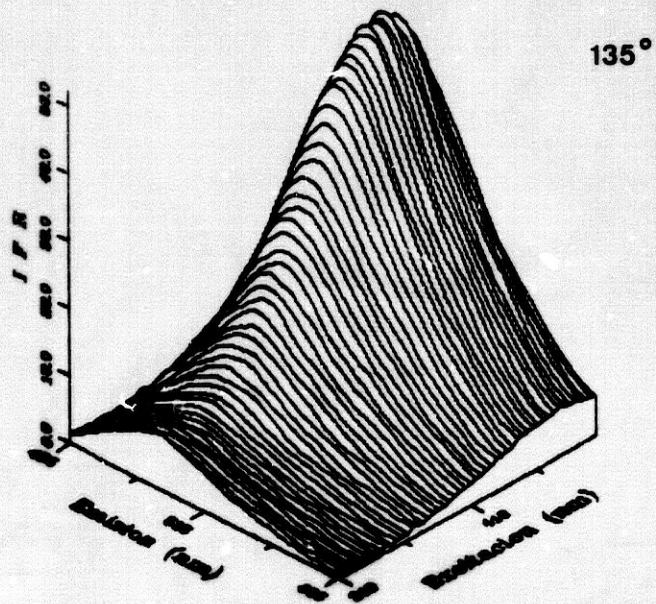
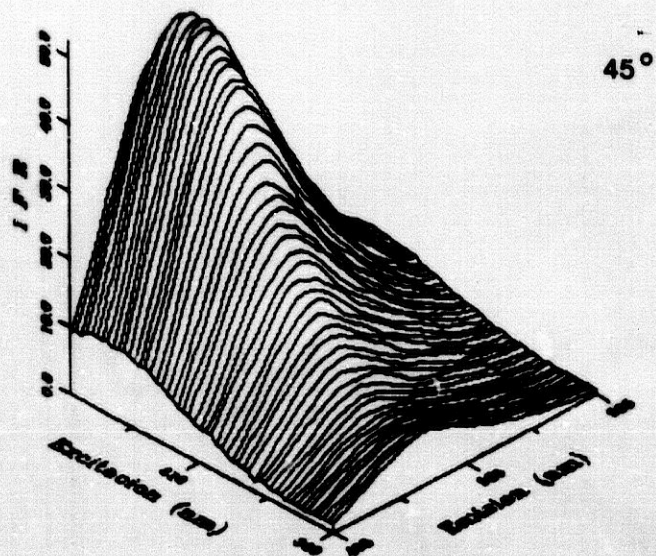


Figura VI.10. Espectro de luminiscencia total del complejo Be(II)-morina-G.15 visto según diferentes ángulos de rotación alrededor del eje Z.

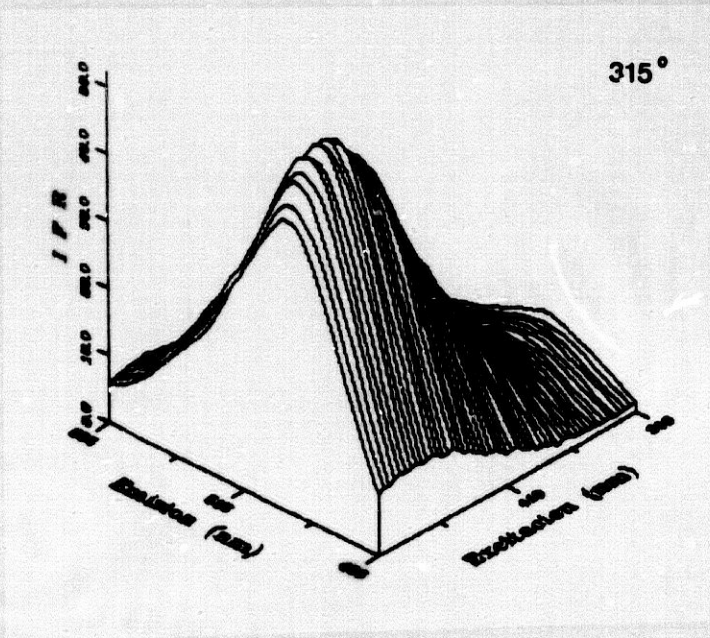
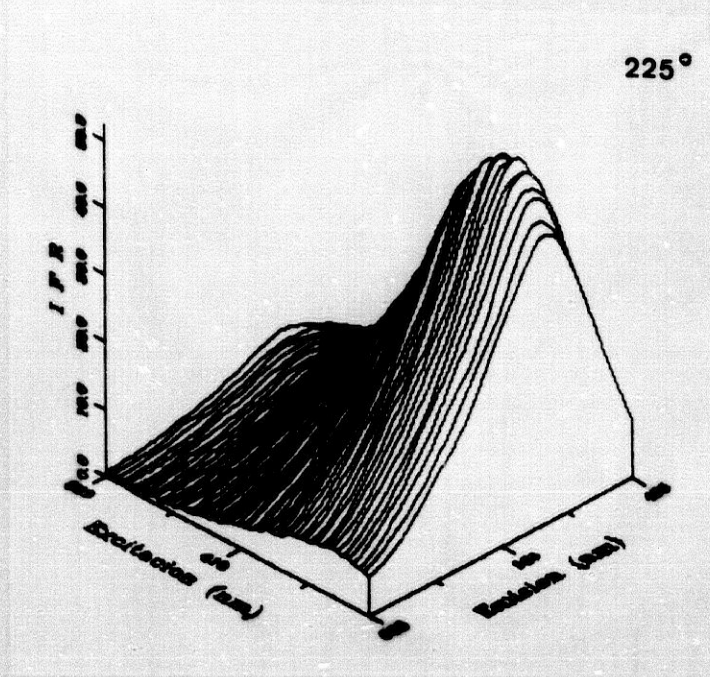
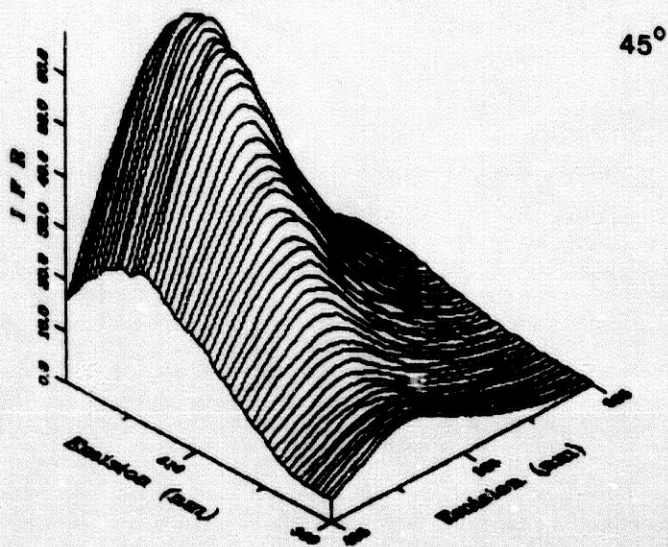
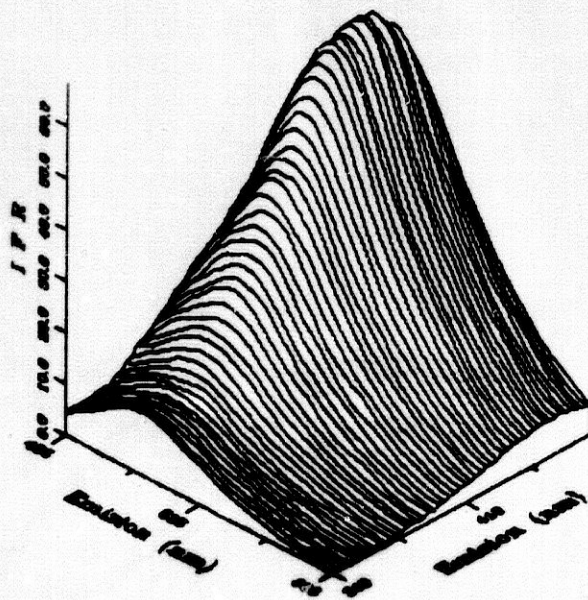


Figura VI.11. Espectro de luminiscencia total del complejo Be(II)-morina-G.15 visto según diferentes ángulos de rotación alrededor del eje Z.



45°



135°

Figura VI.12. Espectro de luminiscencia total de la mezcla de complejos visto según diferentes ángulos de rotación alrededor del eje Z.

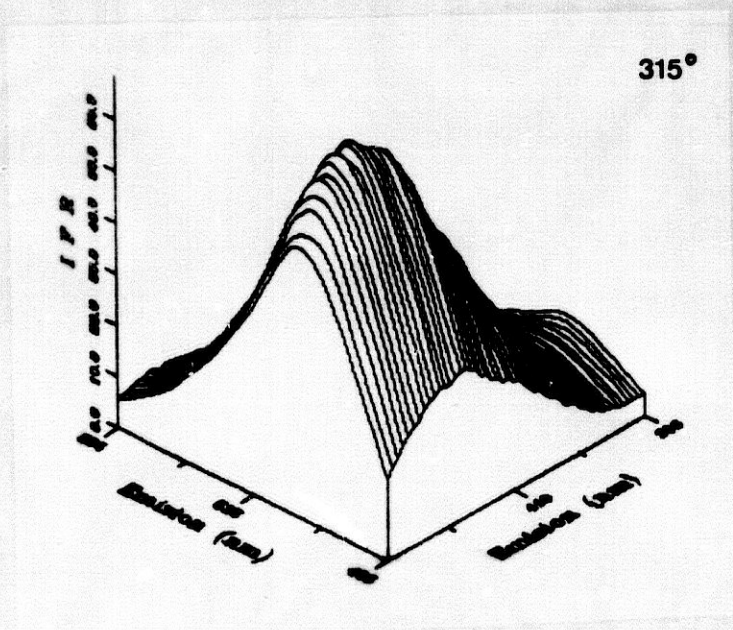
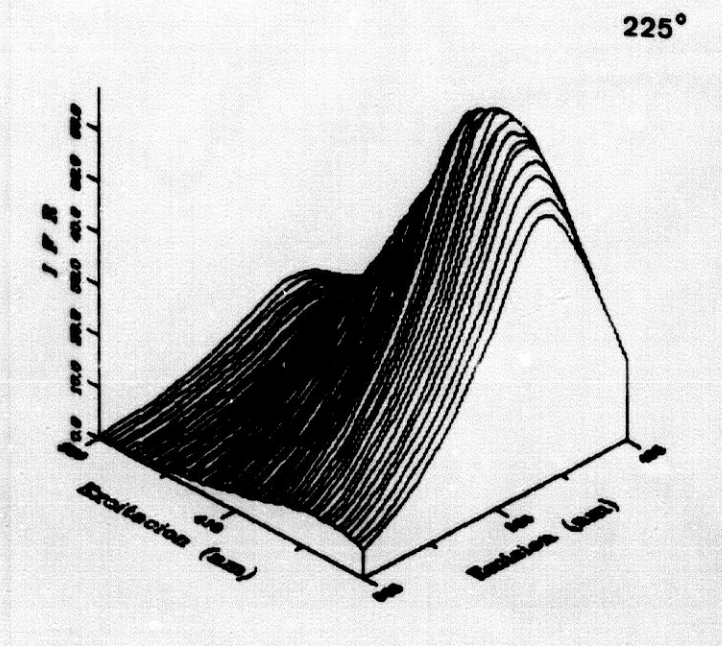


Figura VI.13. Espectro de luminiscencia total de la mezcla de complejos visto según diferentes ángulos de rotación alrededor del eje Z.

VI.3.3. Curvas de nivel

Un segundo método para representar los espectros de luminiscencia total es en forma de curvas de nivel o topogramas. En la figura VI.14 se representa el topograma del blanco, común a todos ellos. En la figura VI.15, se representan los topogramas del espectro diferencia (el del sistema restado del blanco) del sistema morina-Al(III)-G.15 y morina-Be(II)-G.15. En la figura VI.16, se representa el topograma del espectro diferencia de la mezcla. Como ya se ha indicado los dos ejes normales representan las longitudes de onda de excitación y de emisión mientras que las intensidades se expresan con una serie de curvas de nivel.

Este sistema permite determinar el máximo del sistema con gran precisión y calcular en primera aproximación el intervalo de longitud de onda ($\Delta\lambda$) óptimo para la obtención de espectros sincrónicos.

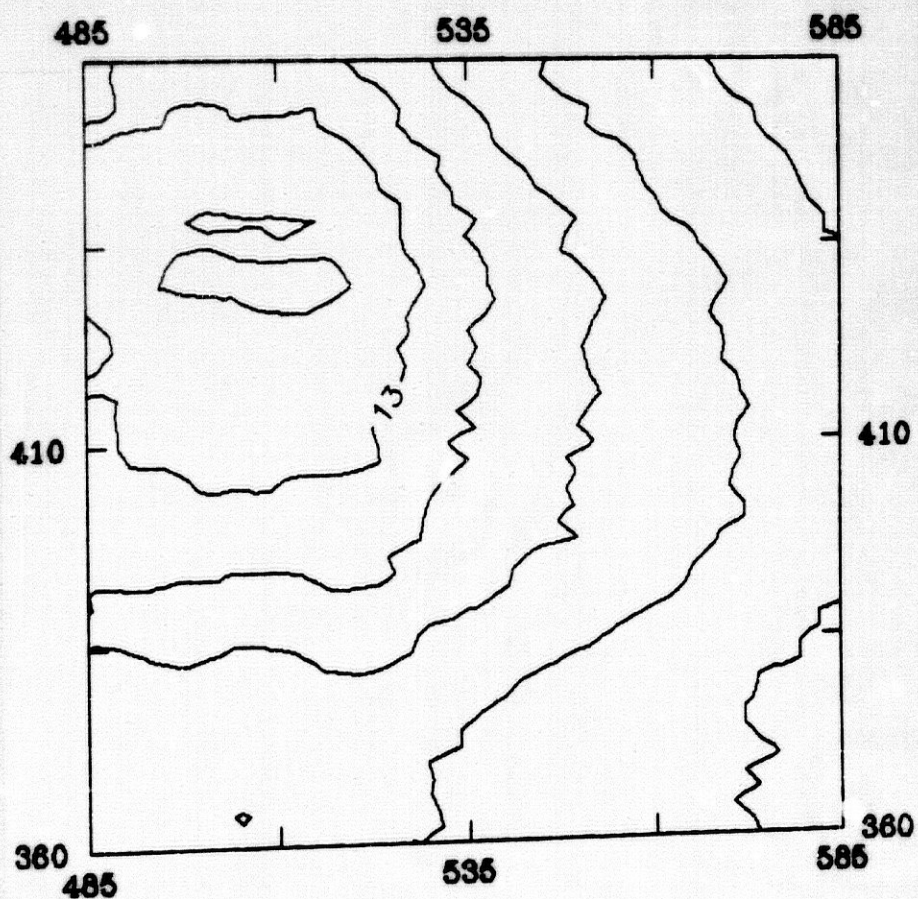


Figura VI.14. Topograma del blanco

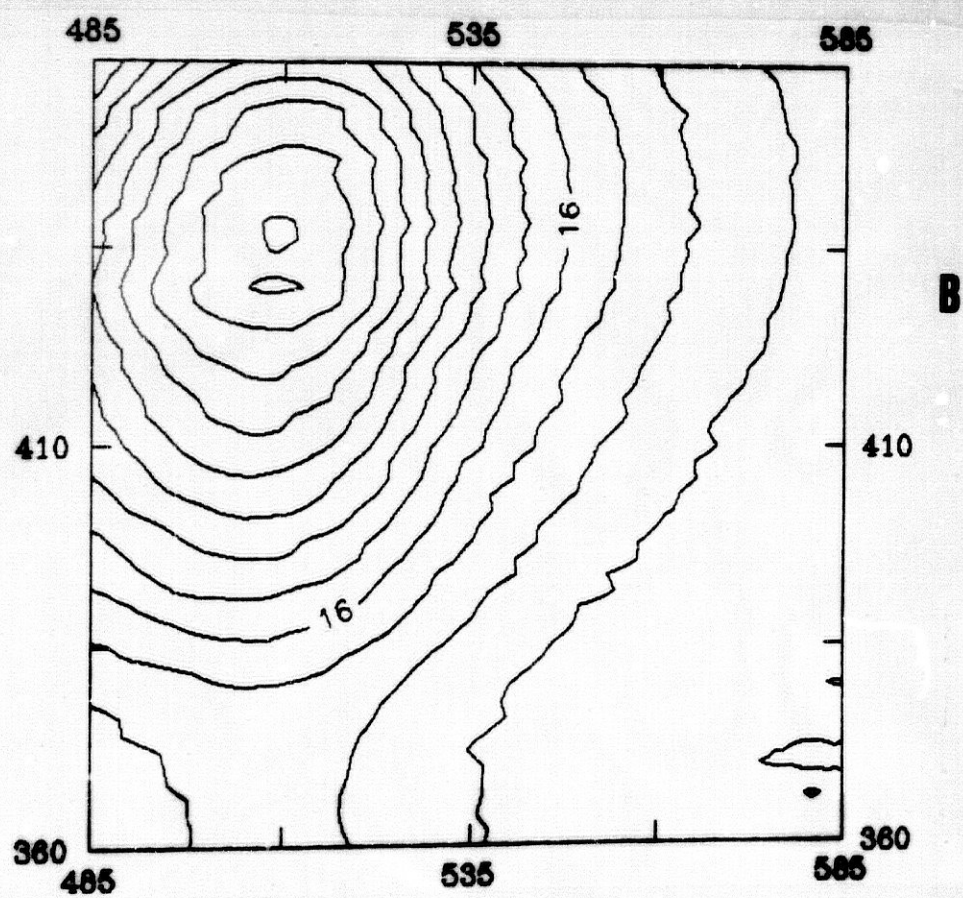
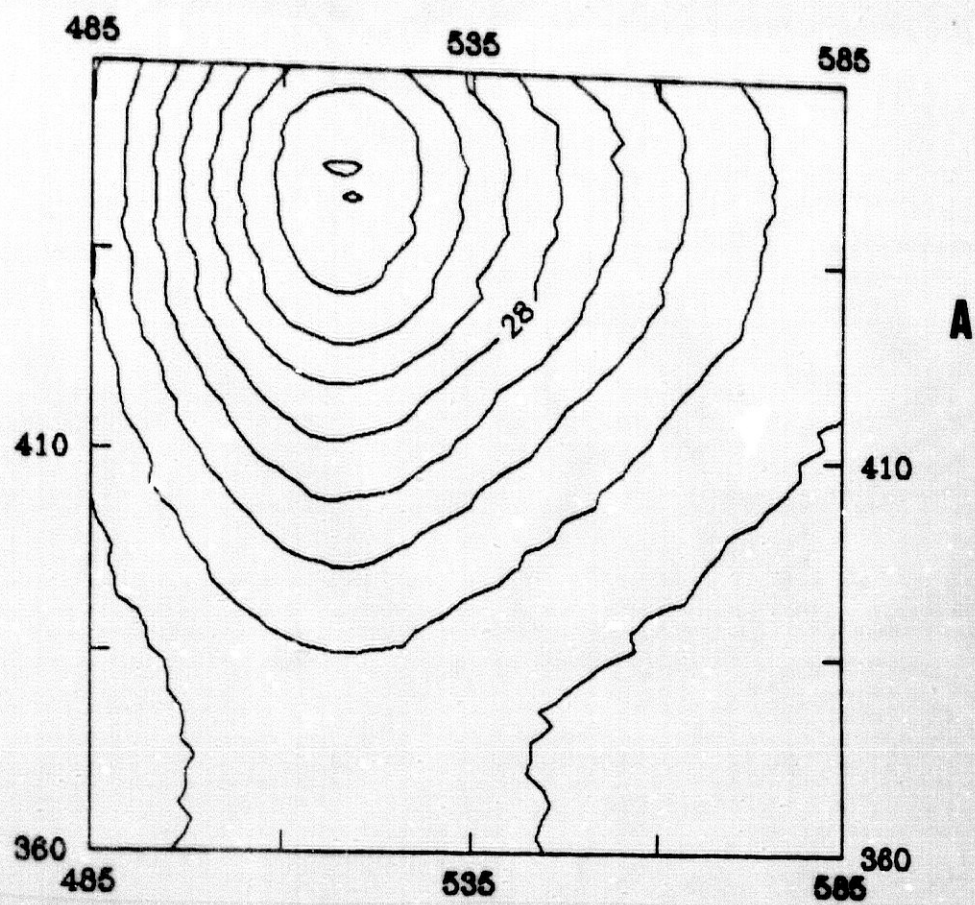


Figura VI.15. Topogramas diferencia de los sistemas G.15-
morina-Be(II) (A) y G.15-Al(III)-morina (B)

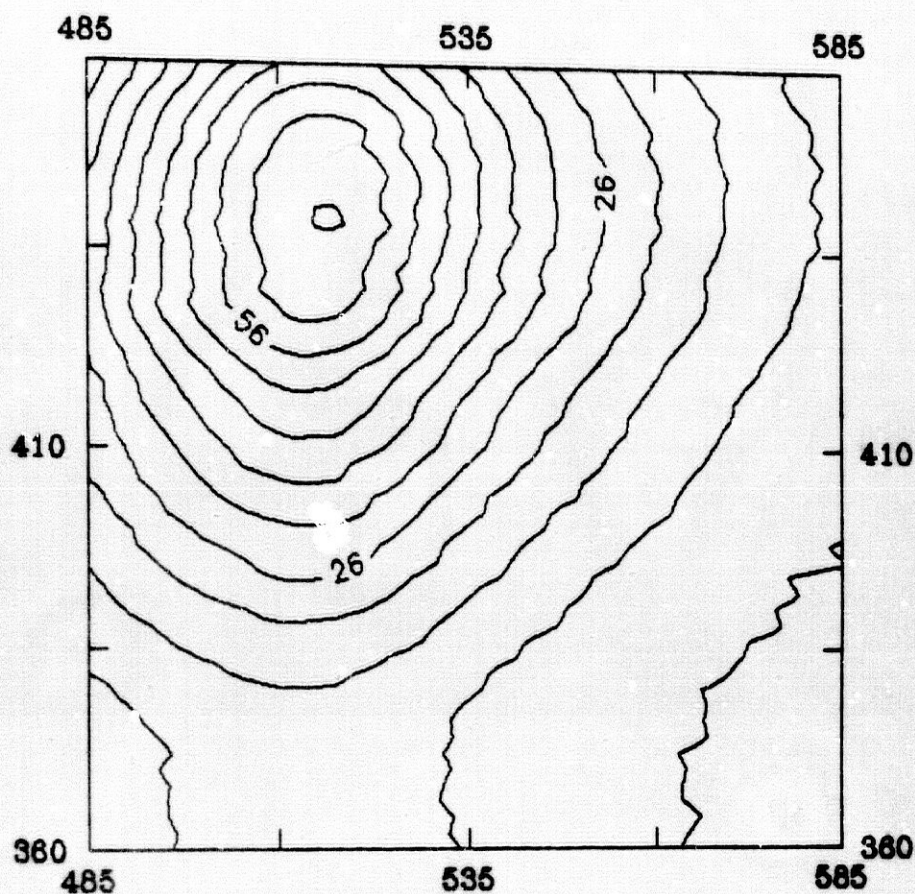


Figura VI.16. Topograma diferencia de la mezcla.

Como puede observarse en las figuras VI.15 y VI.16, el sistema Al(III)-morina-G.15 presenta un máximo de emisión a 506 nm y un máximo a una longitud de onda de excitación de 430 nm. El sistema Be(II)-morina presenta un máximo de emisión a 519 nm y un máximo a una longitud de onda de excitación de 441 nm y la mezcla de ambos a 520 nm y 440 nm, respectivamente.

En las curvas de nivel representadas en la figura VI.17 se observa la zona donde fluoresce el sistema Be-morina-G.15 (—), Al-morina-G.15 (•••) y la mezcla de ambos (+++), en ella puede seleccionarse el $\Delta\lambda$, en primera aproximación, mediante una línea que forme 45° con la horizontal pasando por los espectros máximos y evitando en lo posible las zonas de solapamiento.

El incremento de de longitud de onda óptimo para la obtención de los espectros sincrónicos es de $\lambda_{em} - \lambda_{exc} = 485 - 410 = 75 \text{ nm}$.

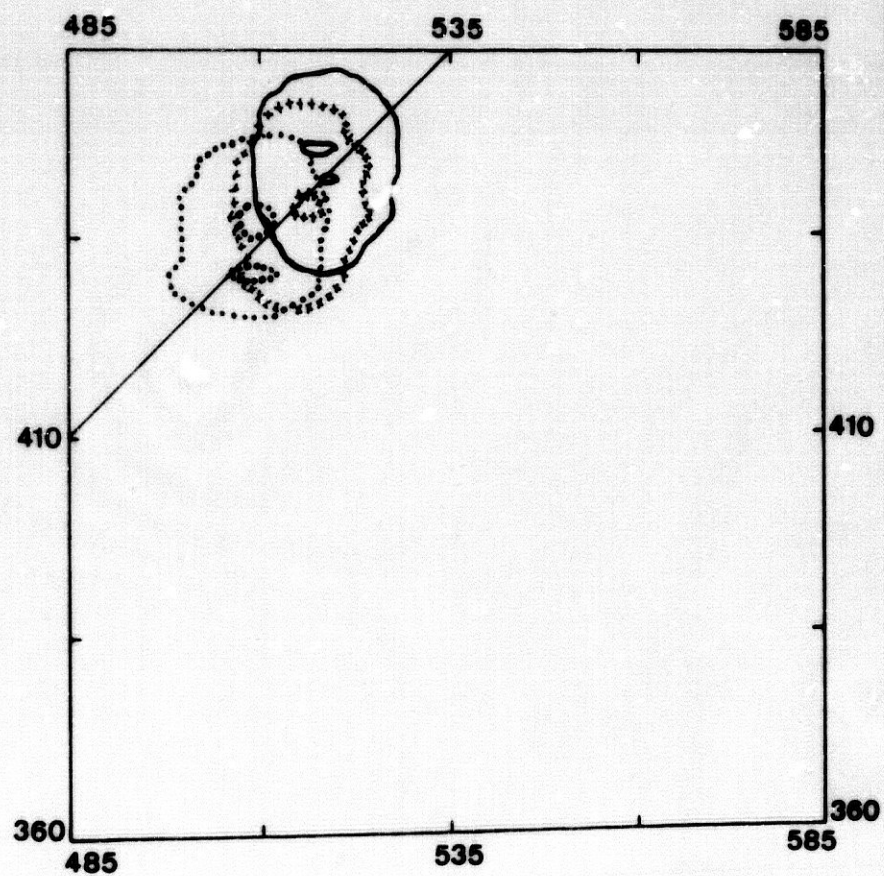


Figura VI.17.

VI.3.4. Espectros bidimensionales en fase resina

Los espectros de excitación y emisión más intensos del conjunto se han extraído del espectro de luminiscencia total y se muestran en las figuras VI.18, VI.19 y VI.20.

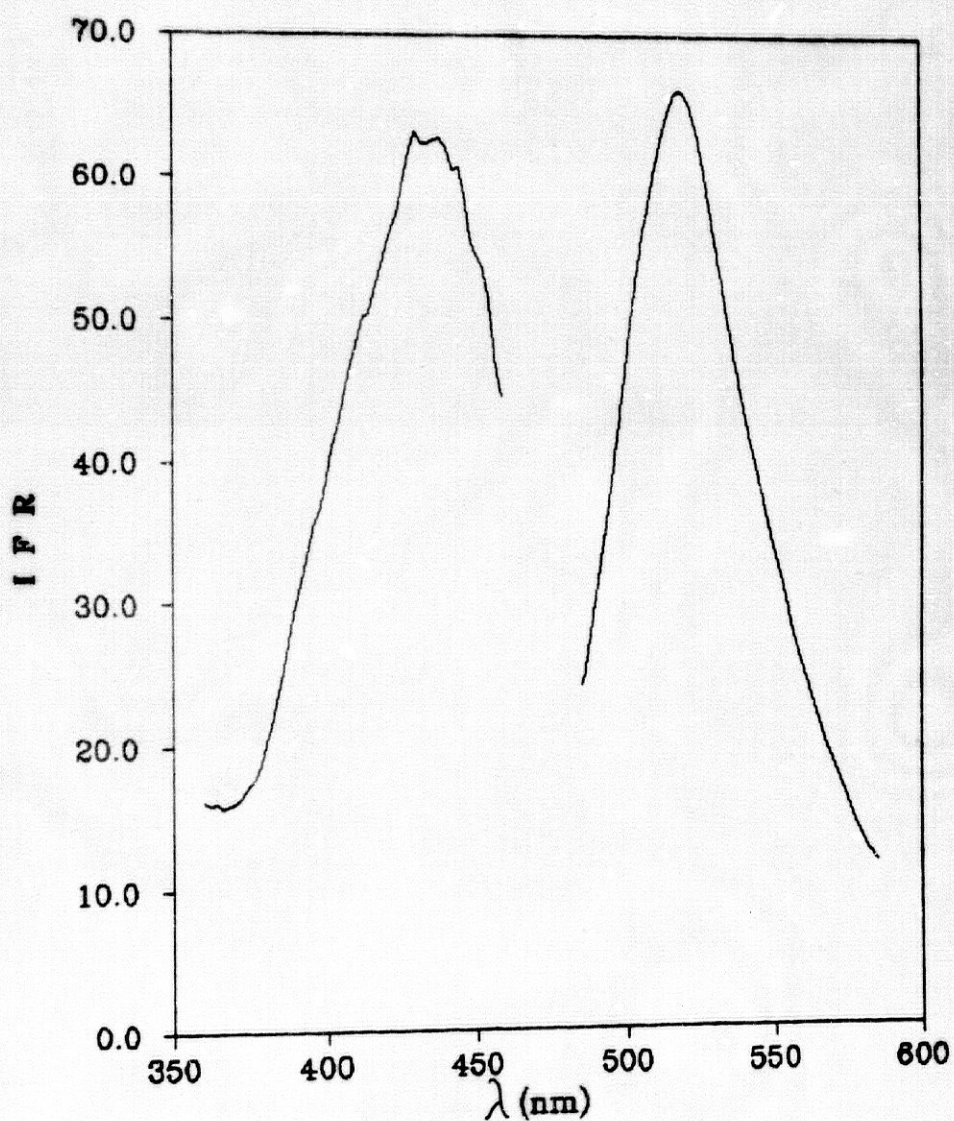


Figura VI.18. Espectros de excitación y emisión del sistema G.15-morina-Al(III)

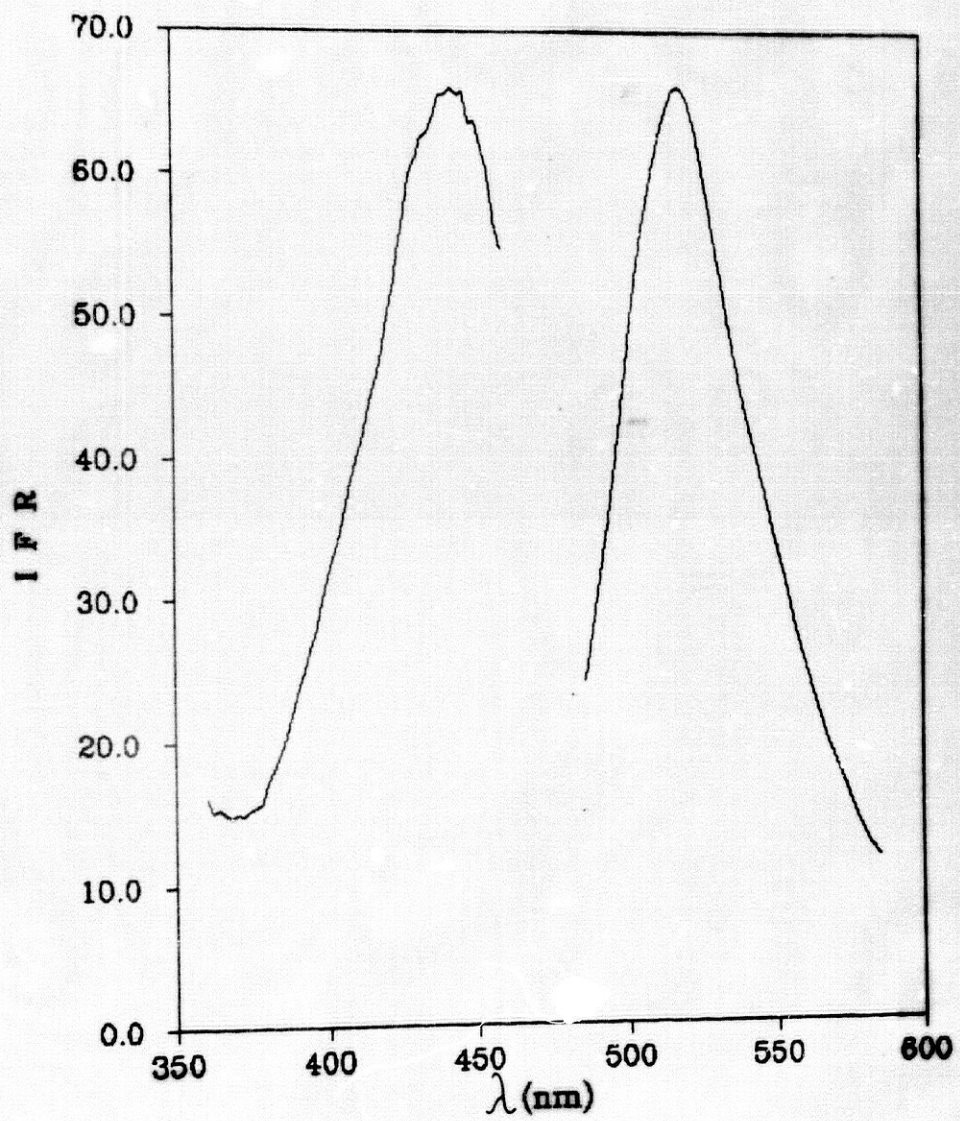


Figura VI.19. Espectros de excitación y emisión del sistema G.15-morina-Be(II).

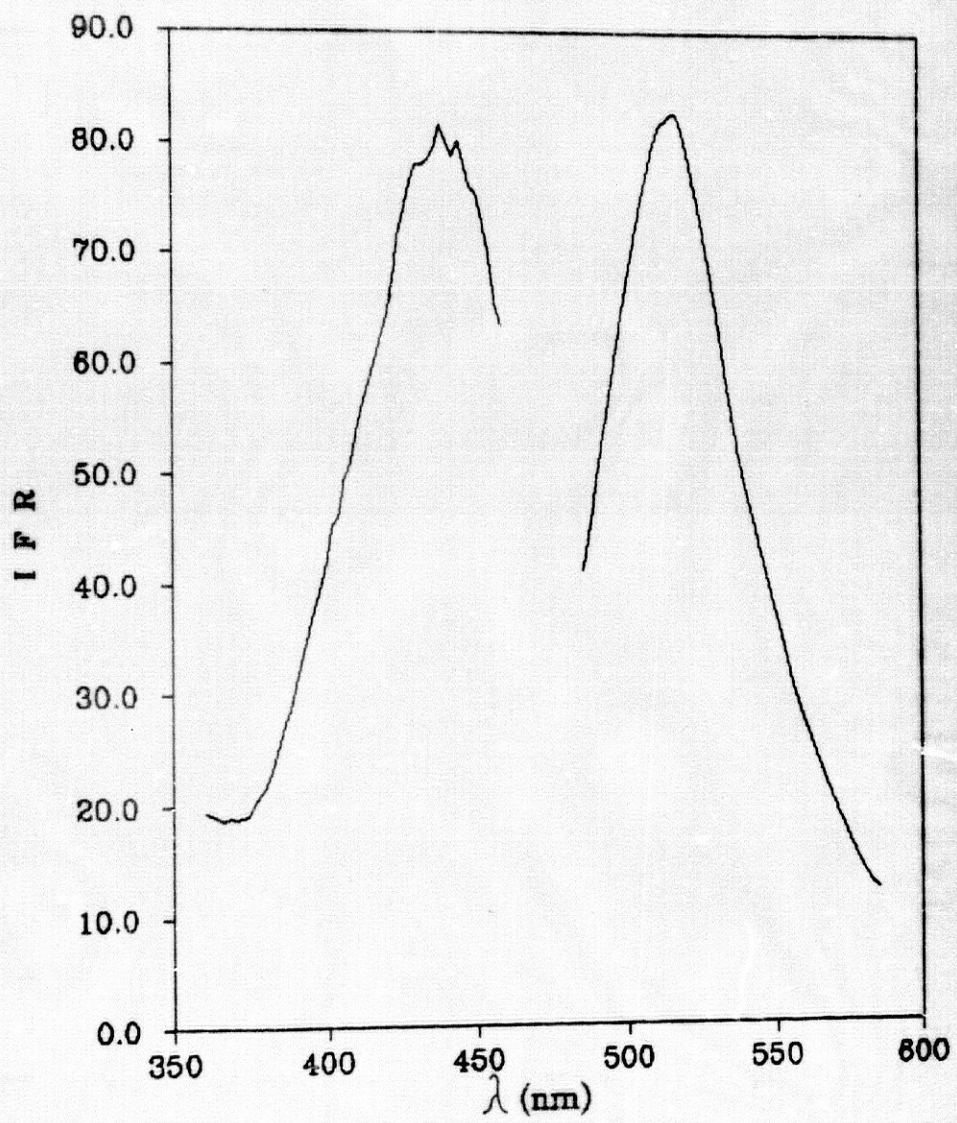


Figura VI.20. Espectros de excitación y emisión de la mezcla

Como se ha indicado anteriormente, el complejo de Al(III) presenta una longitud de onda de excitación de 430 nm y de emisión de 506 nm, y el complejo de Be(II) posee una longitud de onda excitación de 441 y de emisión de 519 nm. Estas diferencias en las longitudes de onda de excitación y emisión máximas entre ambos complejos son obviamente insuficientes para permitir la resolución de una mezcla mediante fluorescencia convencional, puesto que el solapamiento entre ambos espectros es muy acusado. Sin embargo, el que haya una separación de 11 nm en los espectros de excitación y de 13 nm en los espectros de emisión nos hizo pensar inicialmente en que podría ser suficiente para determinar ambos iones por fluorescencia sincrónica derivada.

ELECCION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS
DE FORMACION DE LOS COMPLEJOS
FIJADOS EN FASE RESINA

V.4.1. INFLUENCIA DE LA ACIDEZ

Para determinar la influencia que ejerce la acidez del medio sobre la intensidad de fluorescencia de ambos complejos, puesto que hemos cambiado de soporte sólido y fijar el valor de pH más adecuado para que se forman ambos, se realizaron las siguientes experiencias.

Se preparó dos series de disoluciones, una para cada complejo, y que contenían 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y otra 12.5 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} , enrasando ambas con agua bidestilada hasta un volumen final de 500 mL.

Se transfirieron todas las disoluciones a sus correspondientes frascos de polietileno y se añadieron 2 mL de disolución etanólica de morina al $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de diferentes valores de pH y 100 mg de Sephadex G-15.

Se prepararon los blancos correspondientes, que no contenían berilio ni aluminio y que fueron sometidos al mismo tratamiento que la muestra.

Tras agitar las muestras durante 15 minutos, se filtró la disolución y se introdujo la resina en la cubeta de medida con la ayuda de una pipeta.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia de la serie de aluminio, fueron: $\lambda_{exc} = 430 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 506 \text{ nm}$, rendija de excitación y de emisión 2.5nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C .

Las condiciones operatorias para su medida en la serie de berilio, fueron: $\lambda_{exc} = 441$ nm, $\lambda_{em} = 519$ nm, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C.

Los resultados obtenidos para cada serie se reflejan en las tablas VI.1 y VI.2 y se han representado graficamente en la figura VI.21.

Tabla VI.1. Influencia del pH sobre el sistema Al(III)-morina-G.15

pH	%IFR _(P)	%IFR _(B)	% Δ IFR
4.11	23.0	12.0	10.0
4.60	45.0	13.0	32.0
5.10	64.5	14.0	50.5
5.60	37.5	11.5	26.0
6.05	30.8	12.3	18.5
6.40	25.1	12.1	13.0

Tabla VI.2. Influencia del pH sobre el sistema Be(II)-morina-G.15

pH	%IFR _(P)	%IFR _(B)	% Δ IFR
4.16	13.3	12.0	1.1
4.60	15.8	12.5	3.3
5.10	21.7	13.5	8.2
5.60	28.6	11.4	17.2
6.05	41.5	13.3	28.2
6.37	46.0	12.7	33.3

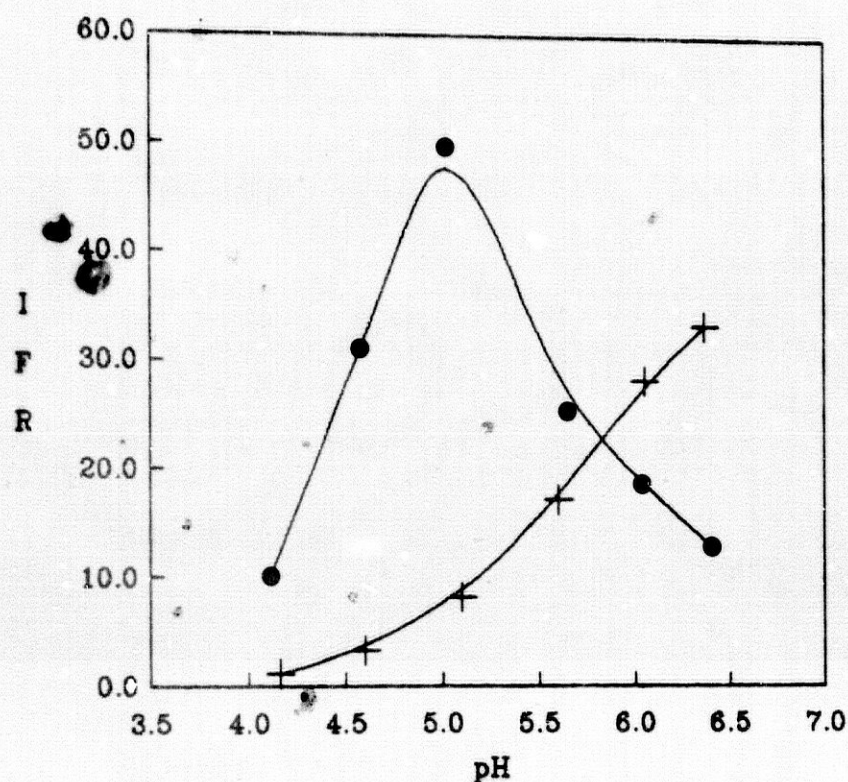


Figura VI.21. Influencia del pH sobre ambos sistemas. (●) sistema Al(III)-morina-G.15; (+) sistema Be(II)-morina-G.15

Los resultados muestran que la fluorescencia del complejo morina-Al(III) fijado en Sephadex G-15 se incrementa con el pH hasta un valor comprendido entre 4.80 y 5.20 que es el óptimo para la formación y adsorción del complejo en la resina, valor a partir del cual la fluorescencia comienza a disminuir. El complejo de Be(II)-morina sobre G-15 muestra, sin embargo, un incremento continuo de la intensidad de fluorescencia al aumentar el pH, lo cual es lógico ya que este complejo se forma mejor en medio básico.

Se elige como pH de trabajo 5.75, valor al que ambos complejos presentan la misma intensidad de fluorescencia. Se logra de esta forma que ambos complejos se formen en una extensión razonable. Un valor de pH inferior favorecería al complejo de aluminio en detrimento del de berilio, pues en muestras reales los contenidos en aluminio suelen ser mayores que los de berilio, por lo que no interesa que la señal debida al aluminio sea muy superior a la de berilio.

El valor de pH elegido se ajusta mediante la adición de 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico (0.1 M).

VI.4.2. INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA

Para conocer la influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia de ambos sistemas, se preparó, dos series de disoluciones que contenían una de ellas, 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y otra 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y agua bidestilada hasta 500 mL.

Estas disoluciones se transfirieron a botellas de polietileno de 1 L de capacidad y se les añadieron 2 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3}\%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se sometió a una agitación durante un tiempo de 15 minutos, transcurridos los cuales se filtró la disolución, transfiriéndose la resina a la cubeta de medida y se procedió a la lectura de su intensidad de fluorescencia.

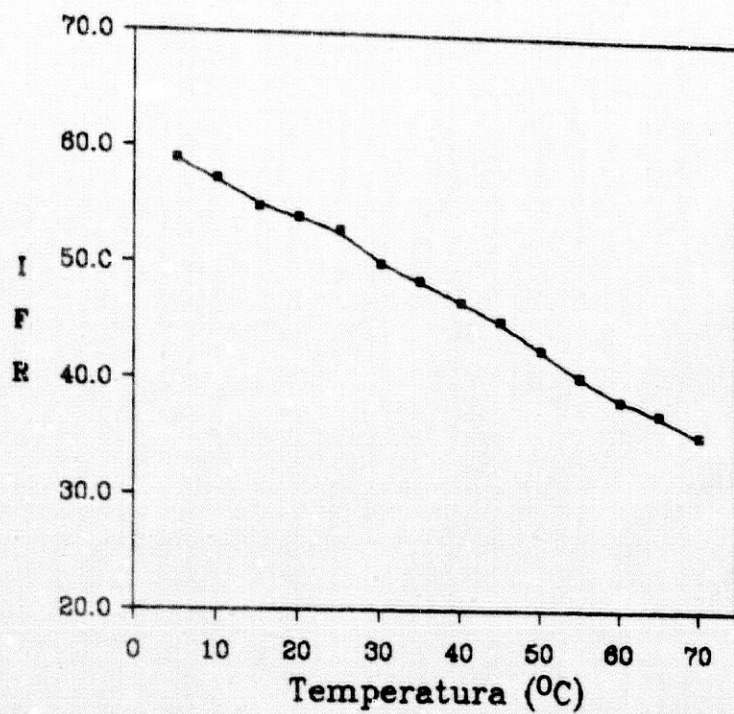
Las condiciones operatorias para su medida en las series de berilio fueron: $\lambda_{\text{exc}} = 441 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 519 \text{ nm}$, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura variable.

En la tabla VI.3 se recogen los resultados obtenidos al calentar el sistema y posteriormente enfriarlo con la ayuda de un termostato y se representan gráficamente en la figura VI.22.

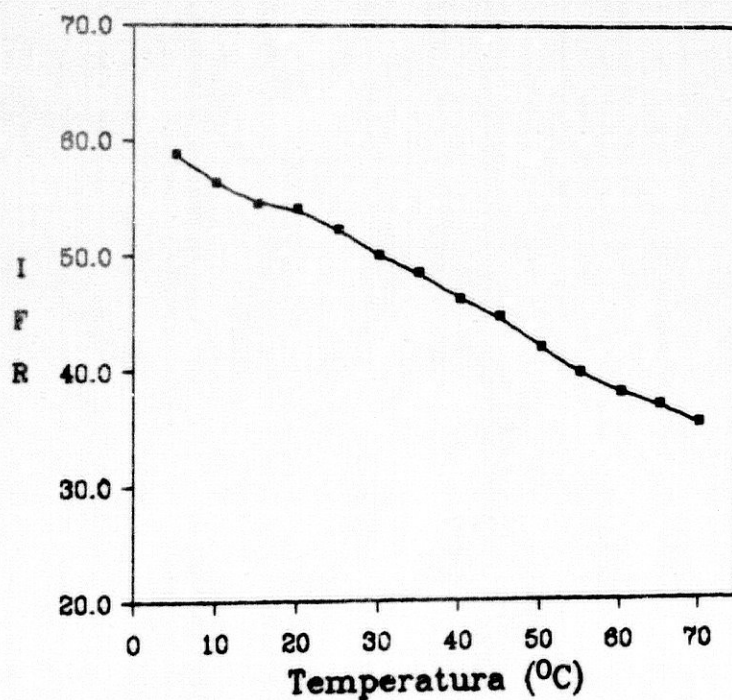
Tabla VI.3. Influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia del complejo Be-morina.

<i>calentamiento</i>		<i>enfriamiento</i>	
<i>T_a</i> (°C)	<i>IFR</i> (%)	<i>T_a</i> (°C)	<i>IFR</i> (%)
5	58.9	70	35.4
10	57.3	65	37.0
15	54.9	60	38.1
20	54.0	55	39.8
25	52.9	50	42.0
30	50.0	45	44.7
35	48.6	40	46.2
40	46.8	35	48.5
45	45.2	30	50.0
50	42.7	25	52.3
55	40.4	20	54.1
60	38.4	15	54.5
65	37.2	10	56.3
70	35.4	5	58.8

De la observación de la figura VI.22 puede deducirse que la intensidad de fluorescencia decrece cuando la temperatura del sistema se incrementa. Este decrecimiento corresponde a un 10% hasta 25°C, a un 21% hasta 40°C y a un 40% hasta 70°C. La ecuación experimental obtenida puede ajustarse a una polinómica del tipo $IFR = 59.9 - 0.2 T - 3.3 \times 10^{-3} T^2 + 2.4 \times 10^{-5} T^3$ (desviación estandar del ajuste 0.409).



a



b

Figura VI.22. Influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia del sistema Be(II)-morina-G.15.
a) calentamiento; b) enfriamiento

Este decrecimiento observado en la intensidad de fluorescencia relativa con el calentamiento del sistema es reversible, es decir enfriando nuevamente el sistema, la intensidad de fluorescencia recupera el valor inicial. Esta dependencia es similar a la observada en disolución (157) y también al del estudio realizado del mismo complejo fijado sobre una resina aniónica (Capítulo IV).

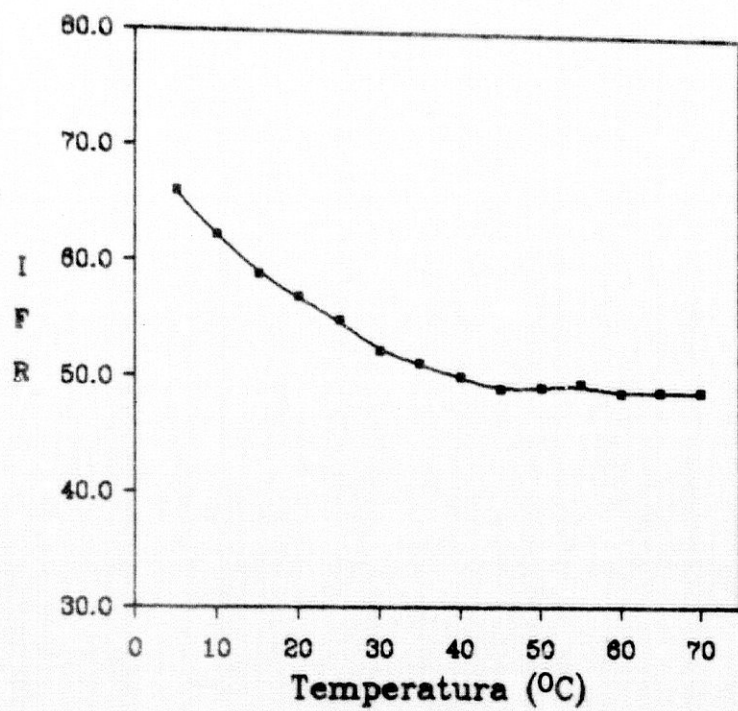
Se concluye que es necesario termostatar antes de realizar la medida de la fluorescencia. Hemos fijado la temperatura de trabajo en $20.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, próxima a la ambiente y fácilmente alcanzable mediante el empleo de un termostato.

Por otra parte, se midió la intensidad de fluorescencia de la serie de muestras que contenían aluminio en las siguientes condiciones: $\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 506 \text{ nm}$, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura variable.

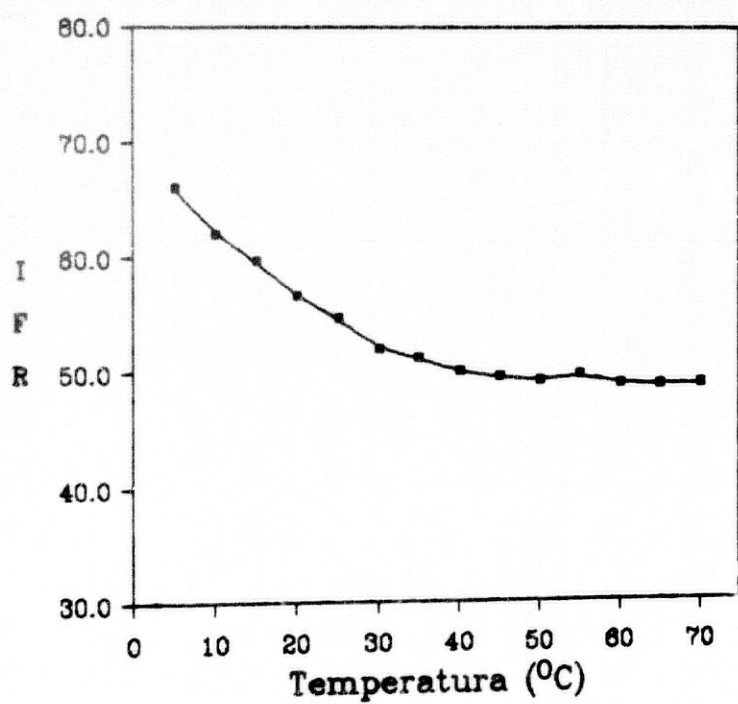
En la tabla VI.4 se recogen los resultados obtenidos al calentar el sistema y posteriormente enfriarlo con la ayuda de un termostato y se representan gráficamente en la figura VI.23.

Tabla VI.4. Influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia sobre el complejo Al-morina.

<i>calentamiento</i>		<i>enfriamiento</i>	
<i>T_a</i> (°C)	<i>IFR</i> (%)	<i>T_a</i> (°C)	<i>IFR</i> (%)
5	66.0	70	48.9
10	62.3	65	48.8
15	58.9	60	48.9
20	56.9	55	49.7
25	54.9	50	49.2
30	52.3	45	49.5
35	51.2	40	50.0
40	50.0	35	51.2
45	49.0	30	52.0
50	49.2	25	54.7
55	49.5	20	56.6
60	48.7	15	59.7
65	48.9	10	62.0
70	48.9	5	66.0



a



b

Figura VI.23. Influencia de la temperatura sobre la intensidad de fluorescencia del sistema Al(III)-morina-G.15.
a) calentamiento; b) enfriamiento

De la observación de la figura VI.23 puede deducirse que la intensidad de fluorescencia del sistema decrece cuando la temperatura se incrementa. Este decrecimiento corresponde a un 17% hasta 25°C, a un 24% hasta 40°C y a un 26% hasta 60°C. A partir de esta temperatura la intensidad de fluorescencia permanece constante. La ecuación experimental obtenida puede ajustarse a una polinómica de éste tipo $IFR = 70.3 - 0.9 T + 1.3 \times 10^{-2} T^2 - 5.5 \times 10^{-5} T^3$ (desviación estandar de la media 0.343).

Para el complejo Al(III)-morina fijado en la resina catiónica Sephadex SP C-25, se encuentra una dependencia de la temperatura con la intensidad de fluorescencia que puede ajustarse a una ecuación polinomial del mismo orden (Capítulo V). No obstante, es de resaltar que aquel caso el proceso era irreversible.

Consecuentemente será necesario termostatar para la realización de la medida, pues la intensidad de fluorescencia decrece considerablemente con el aumento de la temperatura. Se hará a $20.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

VI.4.3. ESTABILIDAD DE LOS COMPLEJOS EN FASE SOLIDA

Se ha establecido la influencia que el tiempo ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema Sephadex G.15-morina-Be(II) y Sephadex G.15-morina-Al(III), siguiendo el procedimiento operatorio que se describe a continuación.

Se tomaron dos matraces aforados de 500 mL y se añadieron a uno 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y a otro 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} , enrasándose ambos con agua bidestilada. Estas disoluciones se transfirieron a botellas de polietileno de 1 L de capacidad y se añadieron 2 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3}\%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Tras agitar la mezcla durante 15 minutos, filtrar y llenar la cubeta se midió la intensidad de fluorescencia cada cierto tiempo.

Las condiciones operatorias para su medida en la serie de berilio fueron: $\lambda_{\text{exc}} = 441 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 519 \text{ nm}$, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C .

Las condiciones operatorias empleadas en la serie de aluminio fueron: $\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 506 \text{ nm}$, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C .

En las tablas VI.5 y VI.6 se recogen los valores obtenidos y se han representado graficamente en las figuras VI.24 y VI.25.

Tabla VI.5. Estabilidad del complejo G.15-morina-Be(II)

<i>t</i> (min)	IFR (%)
0	53.4
5	53.2
10	53.4
15	53.4
25	53.2
35	53.1
45	52.3
60	51.5
90	50.5
150	49.2

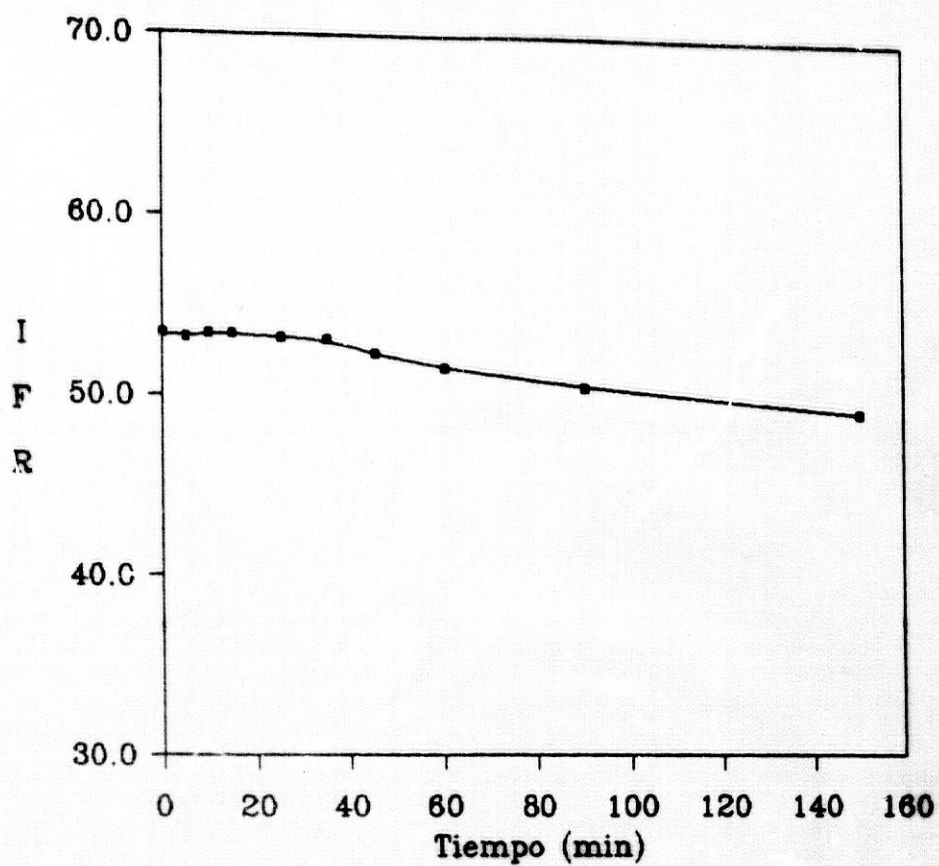
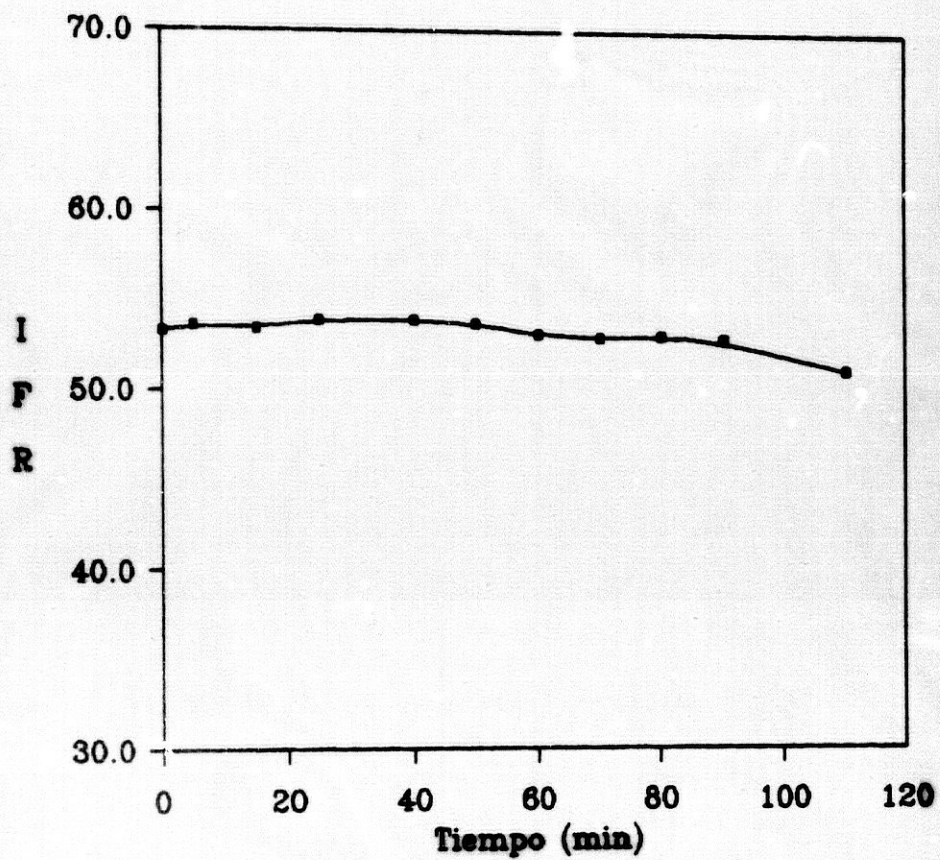


Figura VI.24. Estabilidad del sistema G.15-morina-Be(II)

Tabla VI.6. Estabilidad del complejo G.15-morina-Al(III)

<i>t</i> (min)	IFR (%)
0	53.3
5	53.6
15	53.4
25	53.9
40	53.9
50	53.7
60	53.1
70	52.9
80	53.0
90	52.8
110	51.1



El estudio de la estabilidad de estos complejos pone de manifiesto que ambos son estables al menos, durante 90 minutos, tiempo suficiente para la realización de la medida necesaria.

VI.4.4. INFLUENCIA DE LA CONCENTRACION DE REACTIVO

Para determinar la influencia que ejerce la concentración de reactivo sobre la formación y adsorción de los complejos fluorescentes de berilio y aluminio con morina en fase sólida, se realizó la siguiente experiencia.

En dos series de matraces aforados de 500 mL se añadieron a una 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y a la otra, 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó con agua bidestilada ambas series hasta el volumen indicado.

Estas disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno de 1 L de capacidad y se les añadieron las cantidades de etanol del 99.5 % y disolución etanólica de morina del 6.2×10^{-3} %, de la forma en que se especifica a continuación (tabla VI.7), al objeto de mantener constante el porcentaje etanólico del medio.

Tabla VI.7.

Matraz	Vol. Morina (mL)	Vol. Etanol (mL)
1	0.5	9.5
2	1.5	8.5
3	2.0	8.0
4	2.5	7.5
5	3.0	7.0
6	3.5	6.5
7	4.0	6.0
8	4.5	5.5
9	5.0	5.0
10	10.0	---

A continuación, se añadieron a cada uno de los frascos, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de pH = 5.75 y 100 mg de Sephadex G-15. Los blancos correspondientes, que contienen los mismos reactivos salvo berilio y aluminio, respectivamente, y fueron sometidos al mismo tratamiento.

Tras agitar durante un tiempo de 15 minutos, filtrar y llenar las cubetas, se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia de la serie de Be(II) fueron: $\lambda_{exc} = 441$ nm, $\lambda_{em} = 519$ nm, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia de la serie de Al(III) fueron: $\lambda_{exc} = 430$ nm, $\lambda_{em} = 506$ nm, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C.

En las tablas VI.8 y VI.9 se muestran los resultados obtenidos en cada estudio y la dependencia de la concentración del reactivo con la diferencia de intensidad de fluorescencia entre el problema y el blanco se muestra en la figura VI.26.

Tabla VI.8. Influencia de la concentración de reactivo sobre el sistema Be(II)-morina-G.15

[morinal] $\times 10^6 M$	%IFR _(P)	%IFR _(B)	% Δ IFR
0.18	38.9	12.4	26.5
0.55	48.9	13.8	35.1
0.73	51.3	14.5	36.8
0.91	56.8	18.0	38.8
1.10	67.0	17.9	49.1
1.28	73.4	18.4	55.0
1.46	78.5	18.7	59.8
1.65	79.3	18.3	61.0
1.83	79.8	18.5	61.3
3.66	78.9	18.2	60.7

Tabla VI.9. Influencia de la concentración de reactivo sobre el sistema Al(III)-morina-Sephadex G.15

[morinal] $\times 10^6$ M	%IFR _(F)	%IFR _(B)	% Δ IFR
0.18	41.3	12.4	28.9
0.55	48.0	13.8	34.2
0.73	48.7	14.5	34.2
0.91	52.1	18.0	34.1
1.10	53.0	17.9	35.1
1.28	52.6	18.4	34.2
1.46	52.7	18.7	34.0
1.65	53.1	18.3	34.8
1.83	52.5	18.5	34.0
3.66	52.4	18.2	34.2

Por una parte, en la tabla VI.8 y VI.9 se aprecia un incremento de la intensidad de fluorescencia de los blancos al aumentar la concentración de reactivo hasta que comienza a ser estable para una concentración superior a 10^{-6} M (3.4×10^{-5} %).

Como vemos la concentración óptima de morina para la formación del complejo Be(II)-morina sobre Sephadex G-15 es de 1.7×10^{-6} M, esto es, 5.7×10^{-5} %, mientras que para la formación del complejo Al(III)-morina sobre Sephadex G-15 la concentración óptima de morina es de 7.0×10^{-7} M (2.4×10^{-5} %).

Para la determinación conjunta de ambos complejos consideramos la suma de las concentraciones necesarias para la formación de cada complejo aisladamente. Por ello 2.4×10^{-6} M se considera que es la concentración óptima de morina y será la que se usa en los estudios posteriores.

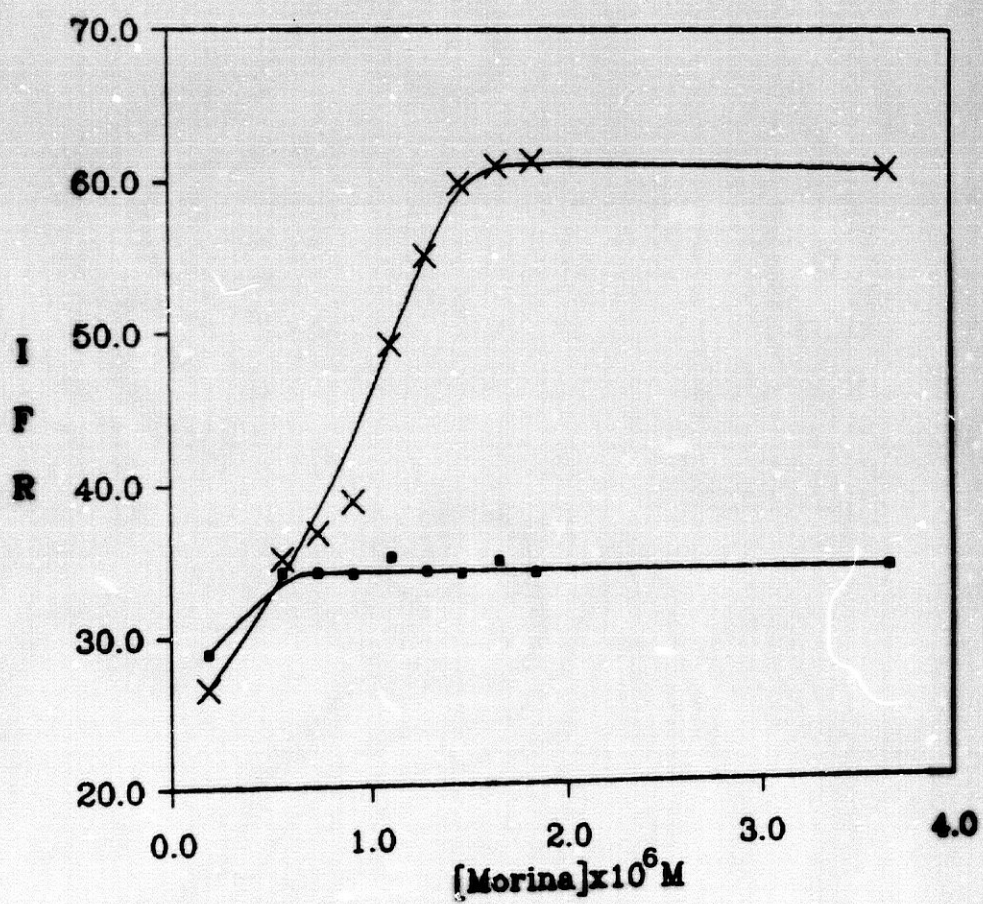


Figura VI.26. Influencia de la concentración de reactivo sobre la intensidad de fluorescencia del sistema Be(II)-morina-G.15 (•) y Al(III)-morina-G.15 (x)

VI.4.5. INFLUENCIA DEL TIEMPO DE AGITACION

Se ha determinado la influencia del tiempo de agitación necesario para la fijación de los complejos fluorescentes de aluminio y berilio con morina en fase sólida.

Para ello se prepararon dos series de matraces de 500 mL y se adicionó a una de ellas 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y a otra 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó con agua bidestilada ambas series.

Se transvasaron las disoluciones a frascos de polietileno y se añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

El procedimiento seguido fué el siguiente: se agitó con períodos de tiempo crecientes, se filtró, se llenaron las cubetas y se midió su intensidad de fluorescencia.

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia de la serie de berilio fueron: $\lambda_{\text{exc}} = 441 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 519 \text{ nm}$, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C .

Las condiciones operatorias para la medida de la intensidad de fluorescencia de la serie de aluminio fueron: $\lambda_{\text{exc}} = 430 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} = 506 \text{ nm}$, rendija de excitación y emisión 2.5 nm, factor de sensibilidad 0.1 y temperatura 20°C .

Los resultados obtenidos se recogen en la tabla VI.10, que se han representado graficamente en la figura VI.27.

Tabla VI.10. Influencia del tiempo de agitación.

<i>t</i> (min)	morina-Be(II) %IFR	Al(III)-morina %IFR
5	41.6	43.2
10	46.3	58.9
15	47.1	61.0
25	47.0	61.3
35	38.3	60.9

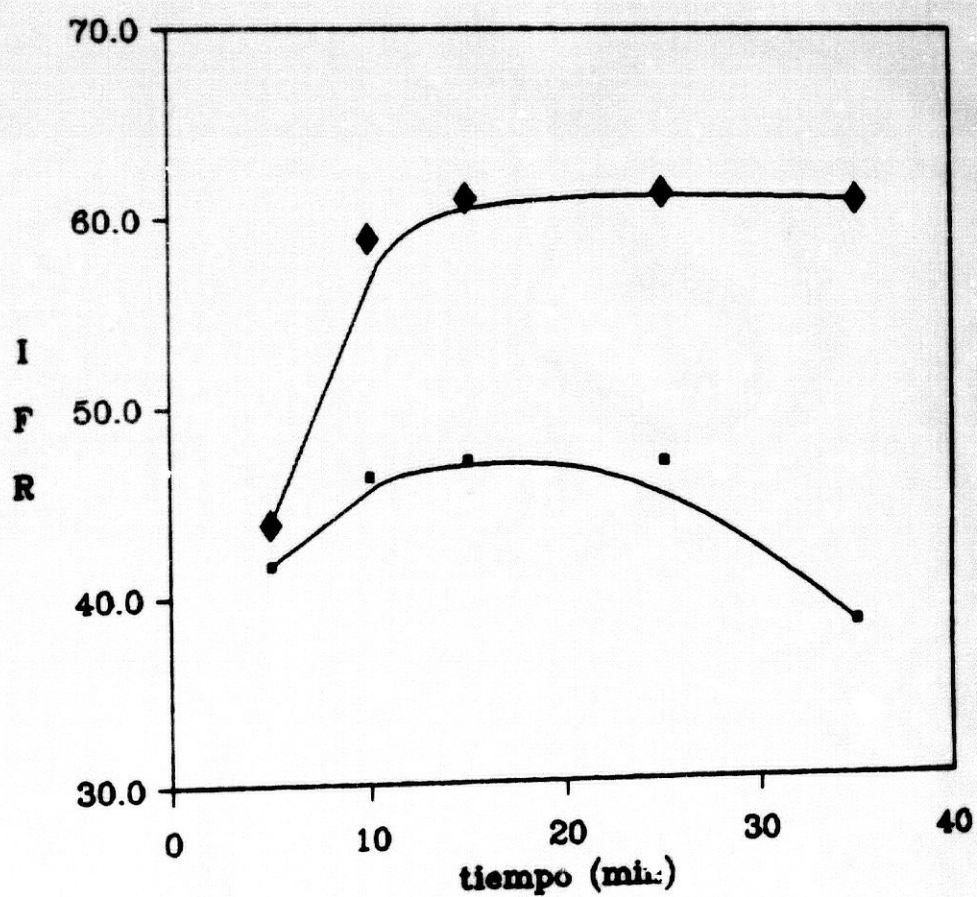


Figura VI.27. Influencia del tiempo de agitación. (■) sistema Be(II)-morina-G.15; (◆) sistema Al(III)-morina-G.15

Los resultados (figura VI.27) nos señalan que es adecuado un tiempo de agitación de 15 minutos para la formación y fijación de los complejos en estudio, ya que si fuera superior la señal correspondiente a la especie Be-morina podría disminuir.

VI.4.6. RESUMEN DE LA DETERMINACION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS PARA LA FORMACION Y FIJACION DE LOS COMPLEJOS

En el estudio de la formación y fijación conjunta de los quelatos fluorescentes que forma la morina con el Be(II) y Al(III) en fase resina se ha escogido, en primer lugar, el soporte adecuado en el cual los complejos muestran fluorescencia en la misma zona de pH, resultando ser el adsorbente Sephadex G-15.

En segundo lugar, una vez elegidas las longitudes de onda de excitación y de emisión del sistema, se han optimizado aquellas variables que afectan a la intensidad de fluorescencia. En la siguiente tabla VI.11 se resumen las condiciones óptimas que se han seleccionado tras su estudio.

Tabla VI.11.

variable	condición óptima	
	Be(II)	Al(III)
longitud de onda de excitación (nm)	441	430
longitud de onda de emisión (nm)	519	506
pH	5.75	
disolución reguladora	ácido acético/acetato	
volumen disolución reguladora	10 mL	
concentración de morina	$8.1 \times 10^{-5} \%$ ($2.4 \times 10^{-6} M$)	
estabilidad	90 minutos	
temperatura	$20.0 \pm 0.5^\circ C$	
tiempo de agitación del sistema	15 min	

SELECCION DE LAS CONDICIONES

INSTRUMENTALES OPTIMAS

VI.5. SELECCION DE LAS CONDICIONES INSTRUMENTALES OPTIMAS

Una vez determinadas las condiciones más adecuadas para la formación y fijación simultánea de los complejos de aluminio y berilio, se ha procedido al estudio de la relación que existe entre la intensidad de fluorescencia y las concentraciones de aluminio y berilio, al efectuar la primera derivada de los espectros sincrónicos.

Para ello se ha procedido al estudio de las variables instrumentales que influyen sobre los espectros sincrónicos, así como sobre las señales derivadas obtenidas.

A continuación se describen las experiencias realizadas y los resultados obtenidos.

VI.5.1. OPTIMIZACION DEL INCREMENTO DE LONGITUD DE ONDA

Al realizar el espectro sincrónico de una muestra, la selección apropiada de la diferencia constante entre las longitudes de onda de emisión y excitación es crítica debido a que esta diferencia puede modificar en gran extensión la forma del espectro.

En nuestro caso en que el objetivo es la determinación simultánea de berilio y aluminio, la selección de ésta diferencia de longitudes de onda ($\Delta\lambda$) se ha hecho en base a los siguientes criterios.

En primer lugar, la diferencia entre la longitud de onda de los máximos de los espectros sincrónicos de ambos complejos debe ser lo más grande posible para facilitar una posterior resolución.

En segundo lugar, la intensidad de fluorescencia emitida por ambos complejos debe mantenerse lo más elevada posible con objeto de no perder demasiada sensibilidad en la determinación.

Para seleccionar el valor óptimo de $\Delta\lambda$ se registraron los espectros sincrónicos del complejo de aluminio y del complejo de berilio a varias diferencias de longitudes de onda entre el monocromador de emisión y de excitación. A partir de los topogramas de los complejos de berilio, de aluminio y de la mezcla, el incremento de longitud de onda es de 75 nm. No

obstante se llevan a cabo dos experiencias encaminadas a determinar con precisión este valor.

Para ello en un matraz de 500 mL se añaden 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y agua bidestilada hasta el enrase. Se transfiere a un frasco de polietileno y se adicionan 7 mL de disolución etanólica de mcrina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Por otra parte, en un matraz de 500 mL se añaden 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y agua bidestilada hasta el enrase. Se transfiere a un frasco de polietileno y se adicionan 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Ambas muestras se someten a una agitación de 15 minutos tras la cual se filtran y se procede al registro de los espectros sincrónicos variando el incremento de longitud de onda entre 65 y 90 nm, de 5 en 5 nm.

Los correspondientes espectros sincrónicos se registran en las siguientes condiciones: velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm, barrido sincrónico de 350 a 550 nm.

En la tabla VI.12 se refleja la diferencia entre la longitud de onda del máximo del espectro sincrónico del complejo de berilio y la del complejo de aluminio, frente a $\Delta\lambda (\lambda_{\text{em}} - \lambda_{\text{exc}})$ y se representa en la figura VI.28.

Tabla VI.12. Optimización del incremento de longitud de onda

$\Delta\lambda$	$\lambda_{\max Be} - \lambda_{\max Al}$
65	13
70	15
75	15
80	14
85	14
90	14

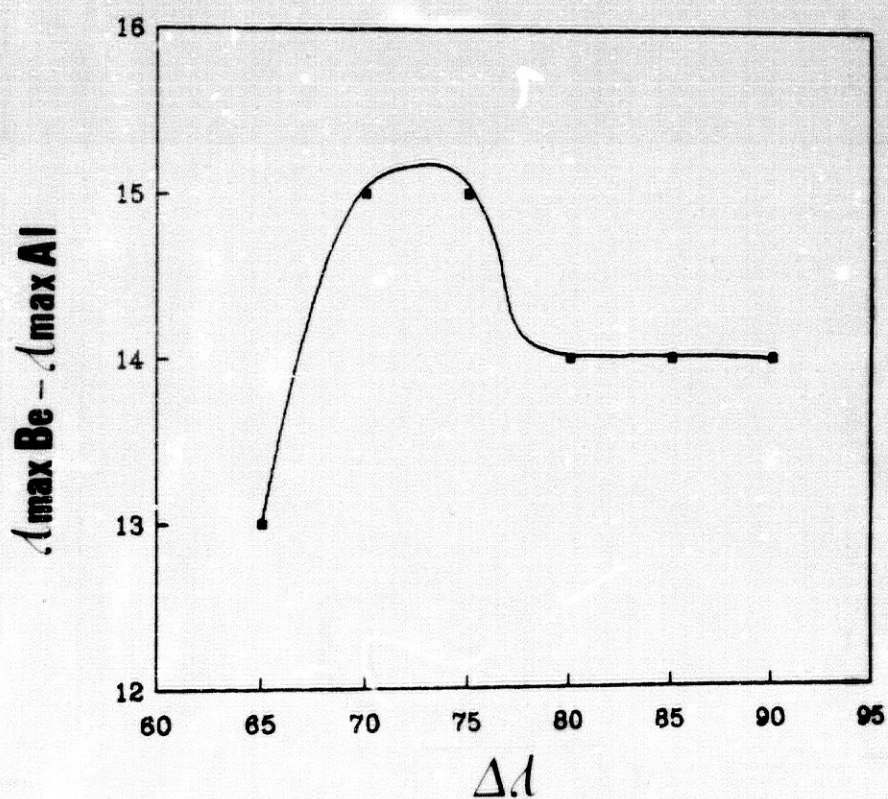


Figura VI.28. Influencia de $\Delta\lambda$ en la diferencia entre las longitudes de onda de los máximos de los espectros sincrónicos de los complejos.

De la observación de la figura VI.23, se concluye que existe una zona donde la separación entre los máximos de los complejos es máxima y aproximadamente constante y que corresponde a un incremento de longitud de onda comprendido en el intervalo de 70-75 nm.

En la tabla VI.13 se indica la intensidad de fluorescencia emitida por ambos complejos en el máximo del espectro sincrónico, en función del incremento de la longitud de onda ($\Delta\lambda$) y se representa en la figura VI.29.

Tabla VI.13. Influencia de $\Delta\lambda$ sobre la intensidad de fluorescencia de los espectros sincrónicos de los complejos.

$\% IFR_{B_{20}}$	$\% IFR_{A1}$	$\Delta\lambda$
39.8	47.4	65
42.4	48.2	70
42.9	50.7	75
42.2	50.1	80
40.5	48.9	85
40.0	46.4	90

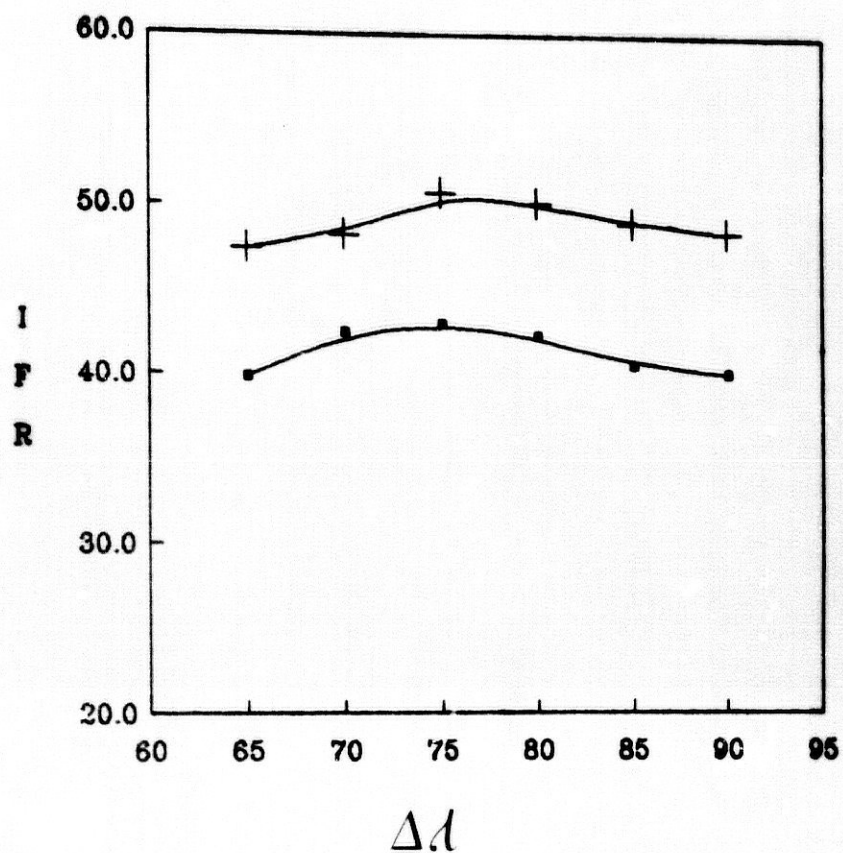


Figura VI.29. Influencia de $\Delta\lambda$ sobre la intensidad de fluorescencia de los máximos de los espectros sincrónicos. (●) sistema Be(II)-morina-G.15; (+) sistema Al(III)-morina-G.15.

Se deduce de acuerdo con las anteriores figuras VI.23 y VI.24, que para lograr una mayor diferencia entre los máximos de los espectros sincrónicos y mantenerse lo mayor posible la señal de fluorescencia de cada uno de los complejos, el incremento de longitud de onda óptimo es de 75 nm, nuevamente.

VI.5.2. ELECCION DEL FACTOR DE FILTRADO EN LA OBTENCION DE LOS ESPECTROS SINCRONICOS DERIVADOS

Una vez establecida la diferencia óptima entre las longitudes de onda de emisión y excitación para registrar el espectro sincrónico, se ha procedido al estudio de la influencia del factor de filtrado en la obtención de los espectros sincrónicos derivados.

Matemáticamente puede demostrarse (217,218) que la relación entre la señal analítica y el ruido se hace más pequeña a medida que se aumenta el orden de derivación. Por ello, para usar como técnica de trabajo la derivación, es necesario introducir un filtrado de la señal para controlar el incremento en el ruido, que es un resultado inevitable con la diferenciación de un espectro.

En el proceso de filtrado se hace una convolución de la serie de datos con una función de filtrado consistente en una serie de coeficientes "proporcionales". Cada punto de la serie de datos filtrados es una combinación lineal de un grupo de puntos adyacentes de la serie de datos sin filtrar, multiplicando cada uno por un coeficiente proporcional.

En el programa utilizado, se aplica el método de filtrado y diferenciación de datos basado en el procedimiento de mínimos cuadrados simplificados de *Savitzky y Golay* (219,220). Los factores de filtrado que pueden usarse son 5, 10, 15, 20 y 25,

que ajustan cada punto a un polinomio cuadrático o cúbico a través de sucesivas ventanas de datos que se utilizan para determinar el mejor punto central.

A medida que aumentamos el factor de filtrado, el proceso de filtración es más efectivo, a costa de perder resolución.

Con objeto de observar la influencia del factor de filtrado en los espectros sincrónicos derivados, se registró la primera derivada del espectro sincrónico ($\Delta\lambda = 75 \text{ nm}$) de una muestra que contenía 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} en 500 mL de agua bidestilada. A continuación se le añaden 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G.15. Se agita la muestra durante 15 minutos y se filtra.

A continuación se registra el espectro sincrónico en las siguientes condiciones: velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm, barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm.

Se realiza la primera derivada del espectro sincrónico obtenido para diversos valores del factor de filtrado y se representa en las figuras VI.30, VI.31 y VI.32.

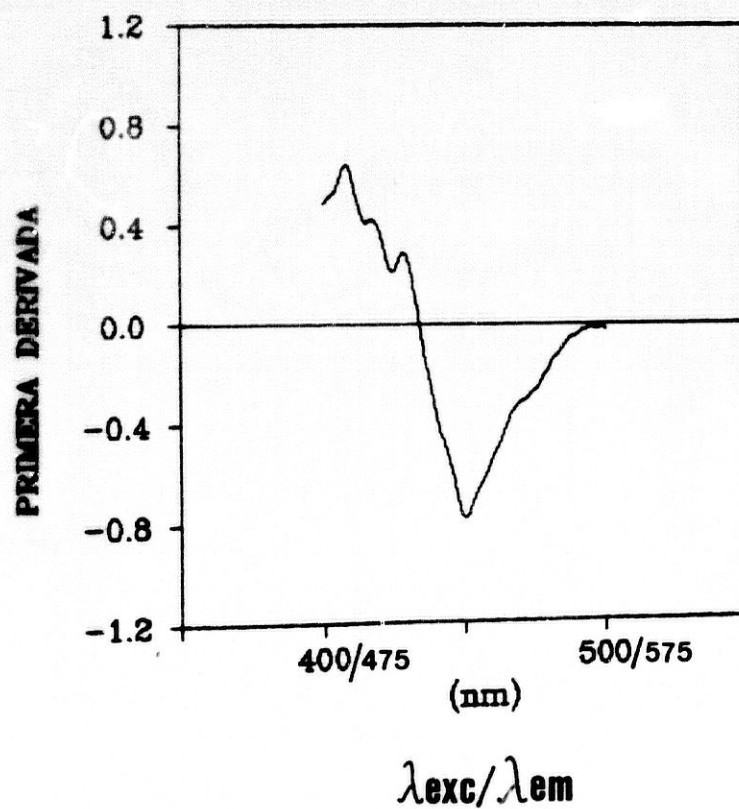
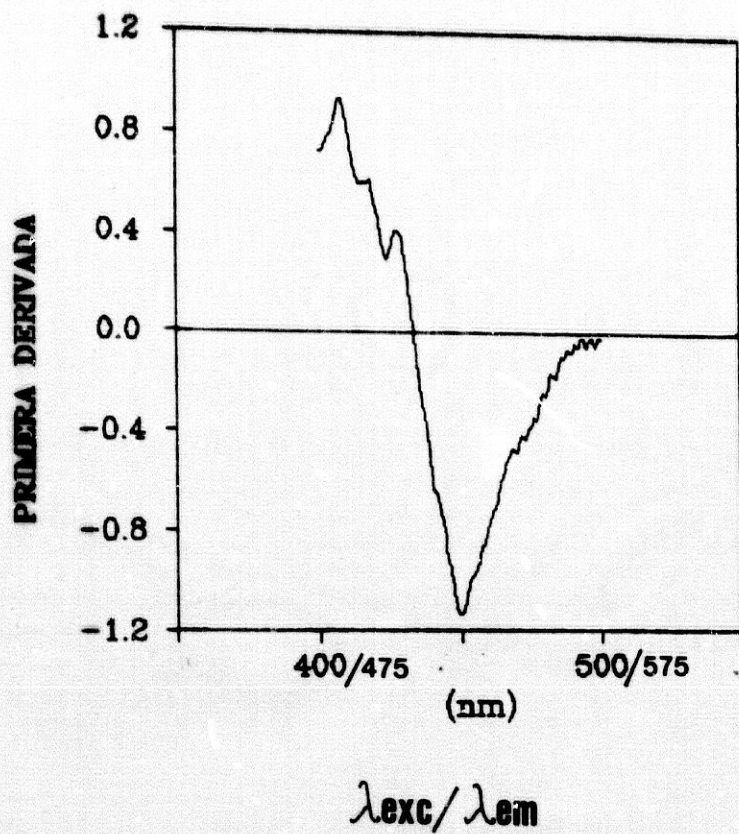


Figura VI.30. Influencia del factor de filtrado en la primera derivada de los espectros sincrónicos

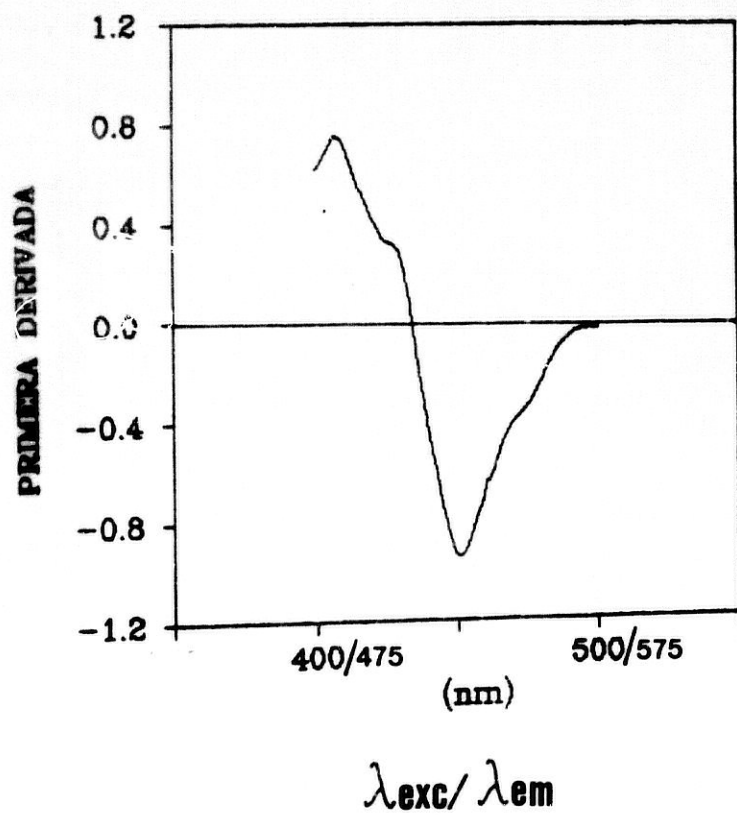
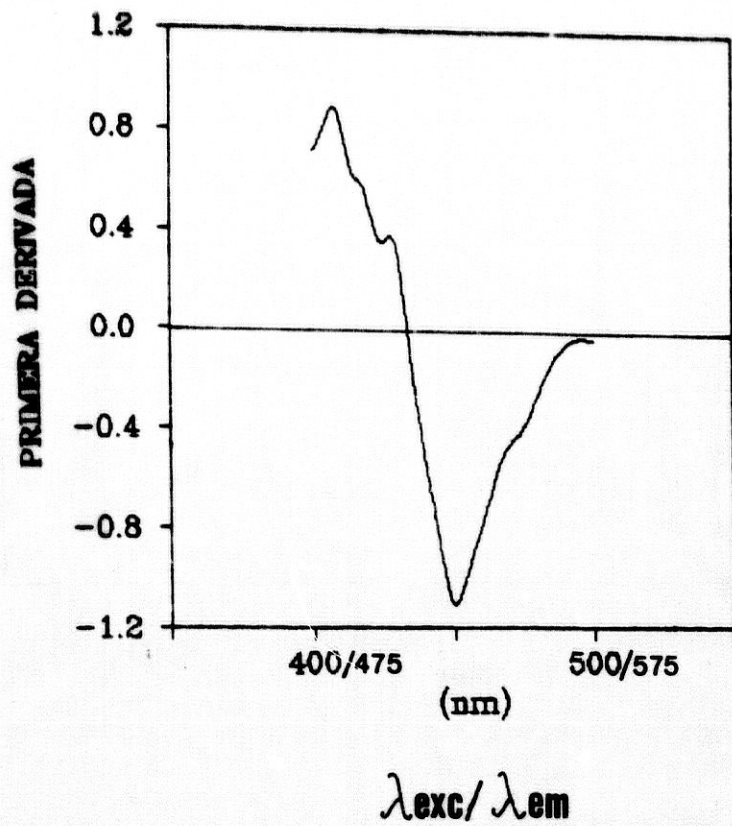


Figura VI.31. Influencia del factor de filtrado en la primera derivada de los espectros sincrónicos

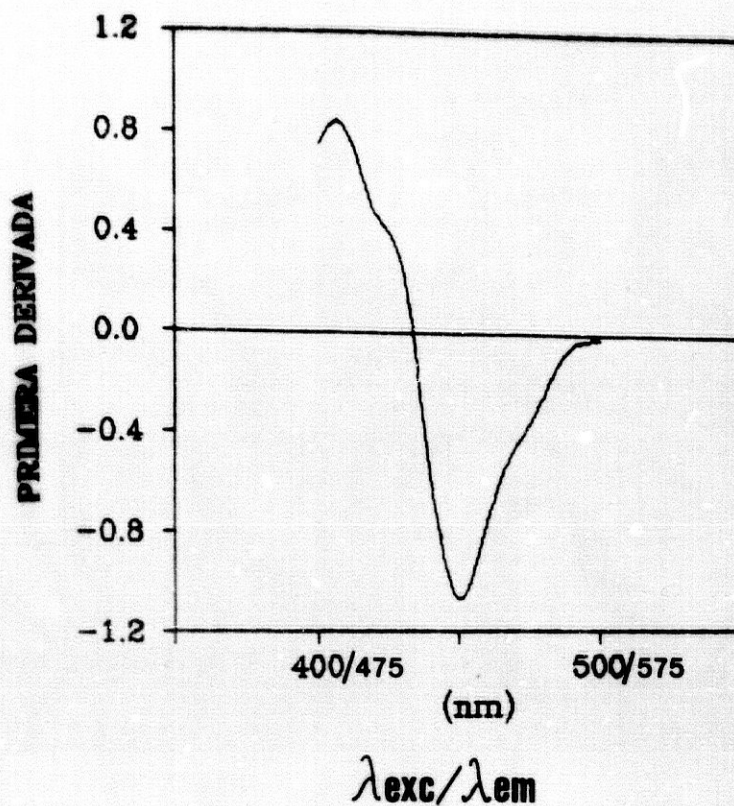


Figura VI.32. Influencia del factor de filtrado en la primera derivada de los espectros sincrónicos

En las figuras anteriores puede observarse que la señal obtenida al realizar la primera derivada está prácticamente exenta de ruido cuando el factor de filtrado es superior a 15, por lo que éste valor es el que se elige.

VI.5.3. ELECCION DE LAS LONGITUDES DE ONDA ANALITICAS

Para la elección de las longitudes de onda analíticas se han registrado los espectros sincrónicos de los complejos de berilio y aluminio en fase sólida así como el de la mezcla en las condiciones consideradas óptimas.

Para ello se han tomado tres matraces de 500 mL a los que se han añadido respectivamente 15 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} , 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y 15 mL de ambas disoluciones, y agua bidestilada hasta el enrase.

Las disoluciones se transfieren a los correspondientes frascos de polietileno de 1 L de capacidad y se añade a cada uno de ellos 7 mL de disolución etanólica de morina al $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitan durante 15 minutos, se filtran las disoluciones y se llena la cubeta de medida.

Los correspondientes espectros sincrónicos se registran en las siguientes condiciones: velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm, barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm.

En la figura VI.33 se muestran los espectros sincrónicos obtenidos. En ella puede observarse que el espectro sincrónico del complejo de Be(II) (curva a), presenta un máximo a

445/520 nm, el del complejo de Al(III) (curva b) lo presenta a 430/505 nm, mientras que el máximo del espectro total de la mezcla (curva c) se encuentra a 441/516 nm, localizado entre los máximos de los dos complejos.

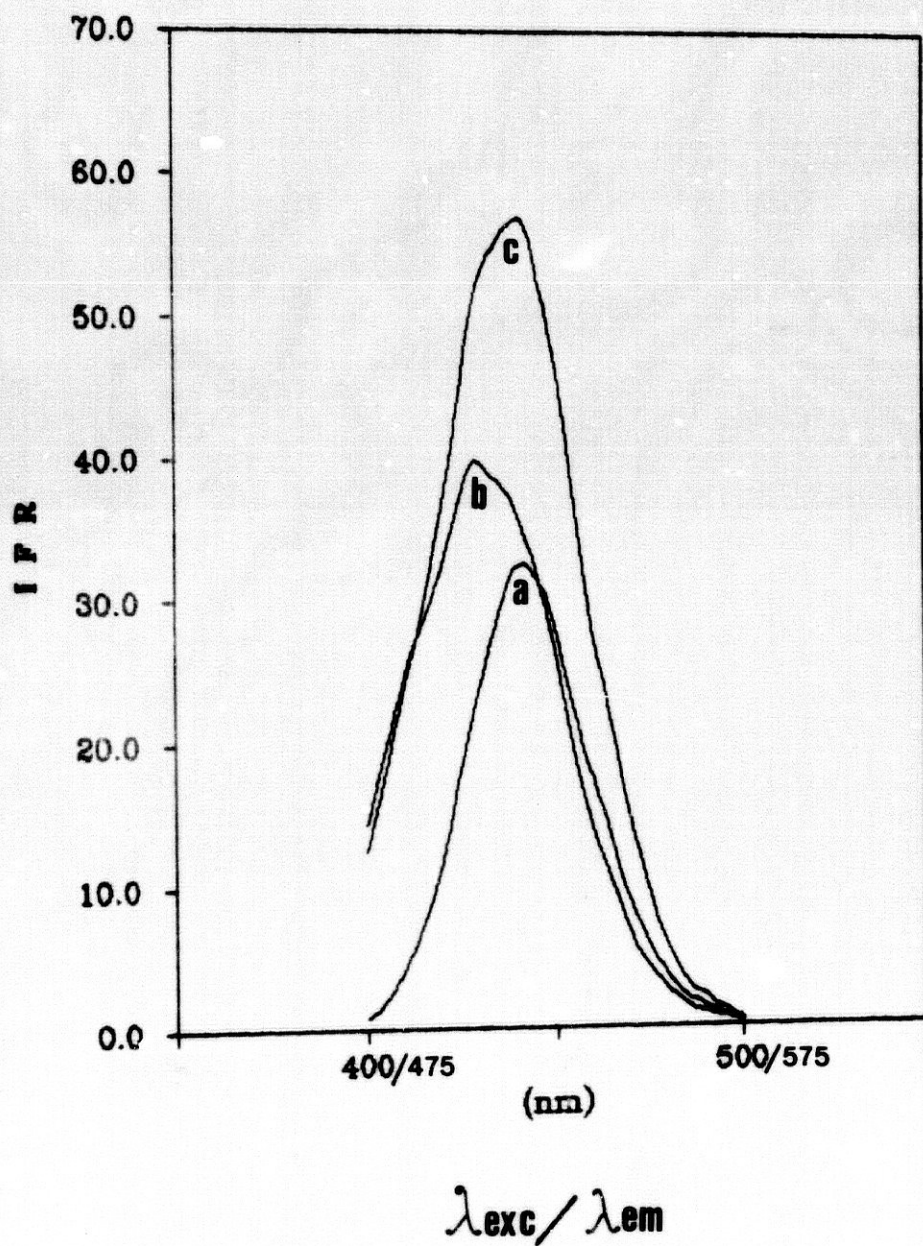


Figura VI.33. Espectros sincrónicos de los complejos de berilio (curva a), de aluminio (curva b) y de la mezcla de ambos (curva c) una vez restado el blanco.

Dado el considerable solapamiento de los espectros sincrónicos de ambos complejos, la determinación de aluminio y berilio cuando se hallan presentes en la misma solución, conllevaría dificultades considerables.

La resolución de la mezcla podría hacerse de forma convencional, es decir, midiendo la emisión de fluorescencia total de la mezcla a las dos longitudes de onda de máxima emisión de cada uno de los complejos y resolviendo el sistema de ecuaciones correspondiente. Pero el sistema requiere un conocimiento exacto de la emisión de cada uno de los componentes individuales a las longitudes de onda de medida. Además, cuando los espectros están muy solapados, como es el caso que nos ocupa, los errores cometidos pueden ser apreciables.

En el presente estudio se pretende la resolución de la mezcla de estos dos iones combinando la fluorescencia sincrónica con técnicas de derivación.

En la figura VI.34, se representan la primera derivada de los espectros sincrónicos de los complejos de aluminio (curva a), de berilio (curva b) y de la mezcla de ambos complejos (curva c).

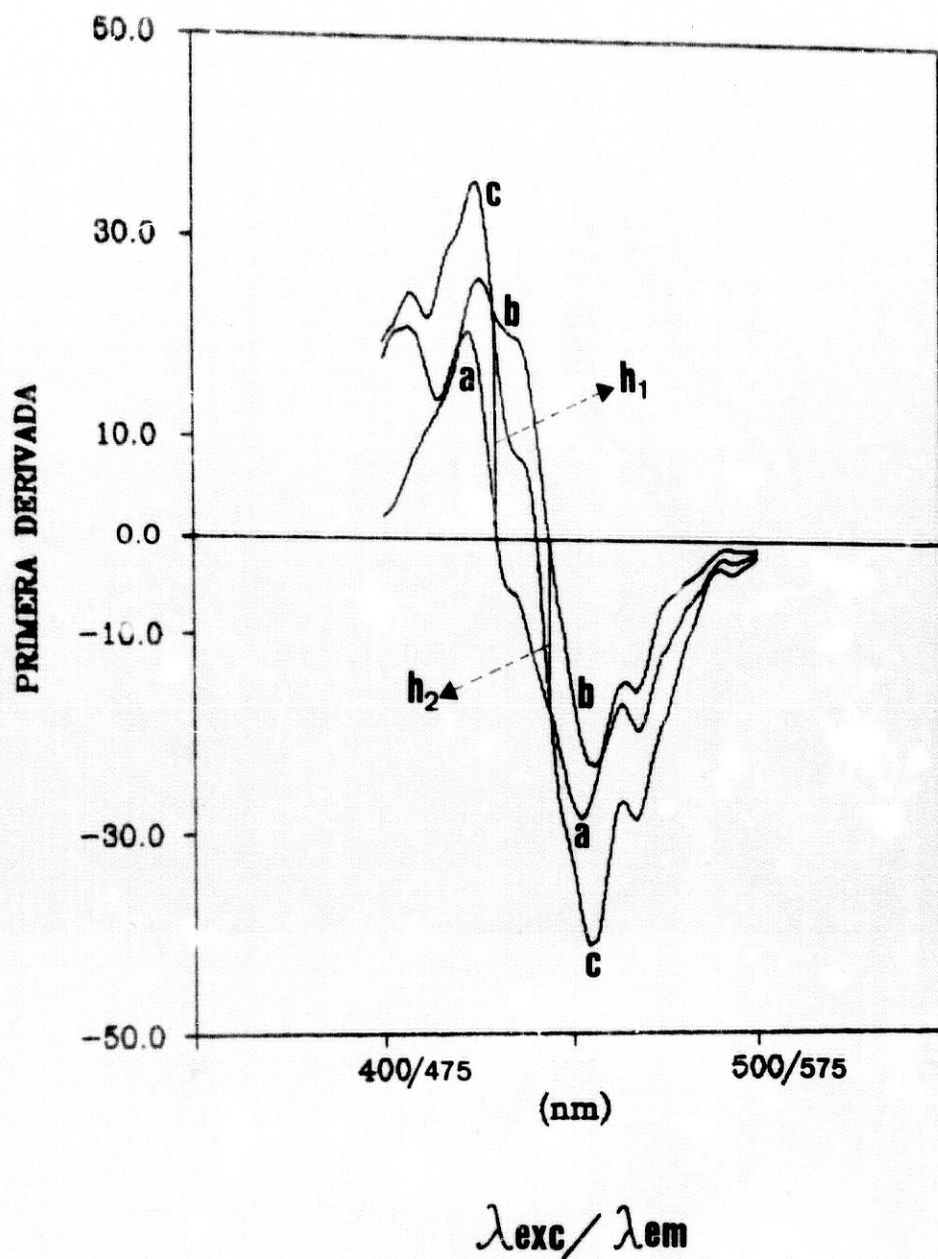


Figura VI.34. Primera derivada de los espectros sincrónicos corregidos de los complejos de aluminio (a), berilio (b) y la mezcla (c)

Se observa que a causa de la proximidad de los máximos en los espectros sincrónicos de ambos complejos, no se consigue la suficiente resolución para proporcionar dos picos distintos e independientes uno de otro al registrar la primera derivada de la mezcla de ambos complejos.

Por ello se ha utilizado la técnica de "medida en el punto de corte" para elegir las longitudes de onda adecuadas con el fin de tomar medidas proporcionales a las concentraciones de aluminio y berilio y realizar las correspondientes rectas de calibrado.

Esta técnica consiste en medir el valor absoluto del espectro derivado total (primera o segunda derivada) a un valor de abscisa (longitud de onda) correspondiente al punto de corte del componente que interfiere. A estas longitudes de onda, la amplitud de la señal de la derivada de uno de los componentes se hace cero y por ello, las medidas del valor de la derivada de una mezcla, realizadas en el punto de corte de uno de los dos componentes será únicamente función de la concentración del otro componente.

Por lo tanto, en nuestro caso, las medidas h_1 y h_2 en la primera derivada del espectro sincrónico de la mezcla (figura VI.34) deben ser proporcionales a las concentraciones de berilio y aluminio, respectivamente. En consecuencia, las longitudes de onda a las que se han medido estas señales, serán las longitudes de onda analíticas para llevar a cabo la determinación.

Las longitudes de onda analíticas en la primera derivada son $\lambda_{max}/\lambda_{em} = 430/505$ nm para el berilio y $\lambda_{max}/\lambda_{em} = 445/520$ nm para el aluminio.

ESTUDIO DE LAS CARACTERISTICAS

ANALITICAS DEL SISTEMA

VI.6.1. RECTAS DE CALIBRADO

VI.6.1.1. Rectas de calibrado de berilio

Se establecieron tres rectas de calibrado para comprobar la independencia entre las señales analíticas de berilio y aluminio, a partir de medidas (h) de muestras que contenían cantidades crecientes de berilio, en ausencia y en presencia de dos concentraciones constantes de aluminio, respectivamente.

1.- Recta de calibrado para berilio en ausencia de aluminio

Se preparó, en primer lugar, una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron volúmenes crecientes de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y se enrasó con agua bidestilada. Se preparó asimismo un blanco que no contenía berilio y al que se le añadieron los reactivos tal y como se describe a continuación y que fué sometido al mismo tratamiento.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitaron durante 15 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se registraron los

espectros sincrónicos de cada una de las muestras, que se representan en la figura VI.35. (Se indican solamente 5 espectros sincrónicos por las limitaciones del programa empleado para el dibujo de graficos, lo cual ocurre en todas las figuras posteriores en las que aparezcan 5 espectros).

Las condiciones operatorias para registro de los espectros sincrónicos fueron: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido $120 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$, factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y de emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

Dichos espectros fueron archivados en un disco magnético y se restó a cada uno de ellos el espectro correspondiente a la señal del blanco. Sobre los espectros sincrónicos corregidos se efectuó el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20. De los espectros obtenidos se representan en la figura VI.36 sólo 5 de ellos debido a la limitación del programa empleado, como ya se dijo antes.

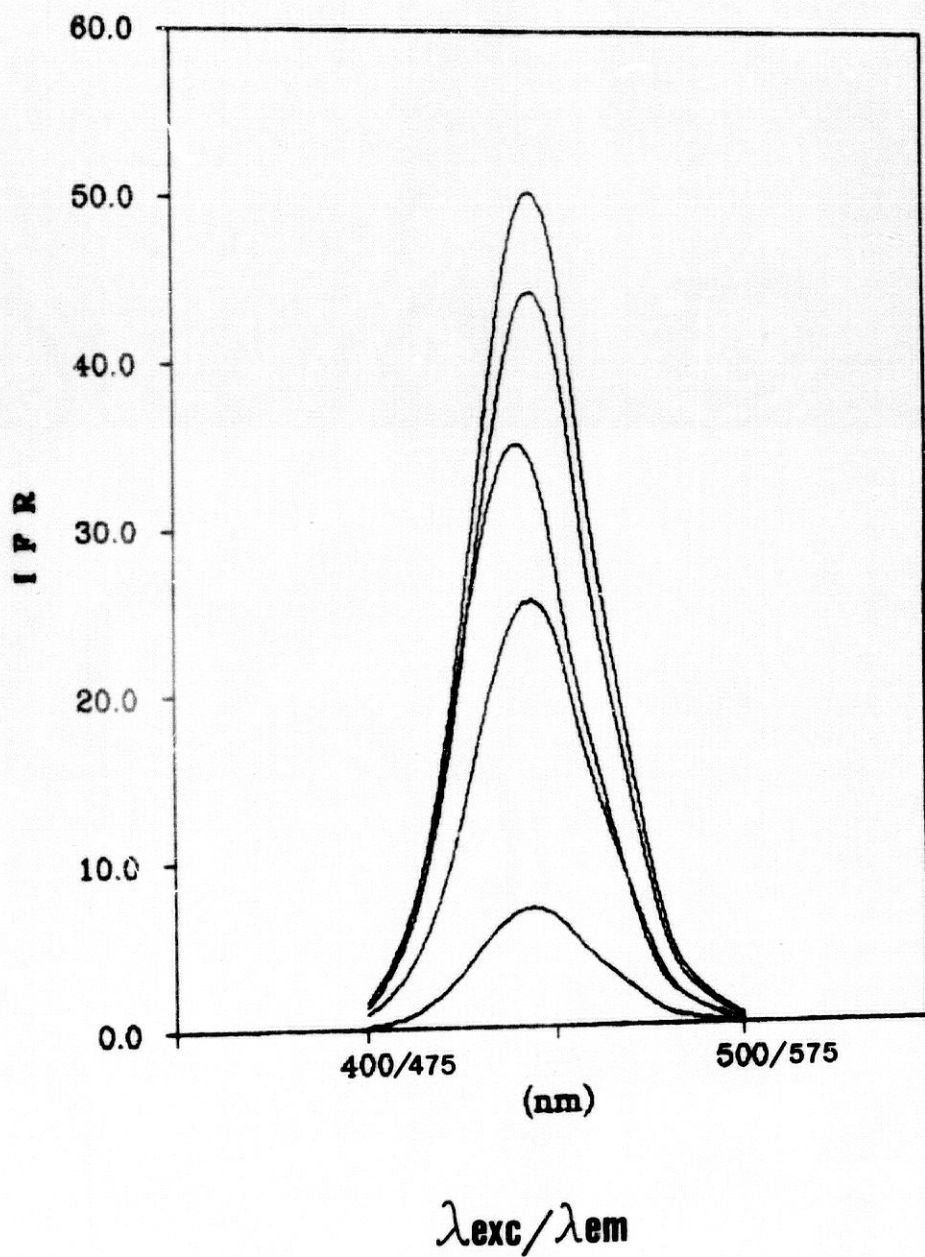


Figura VI.35. Espectros sincrónicos. Recta de calibrado de berilio para 0.5, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$

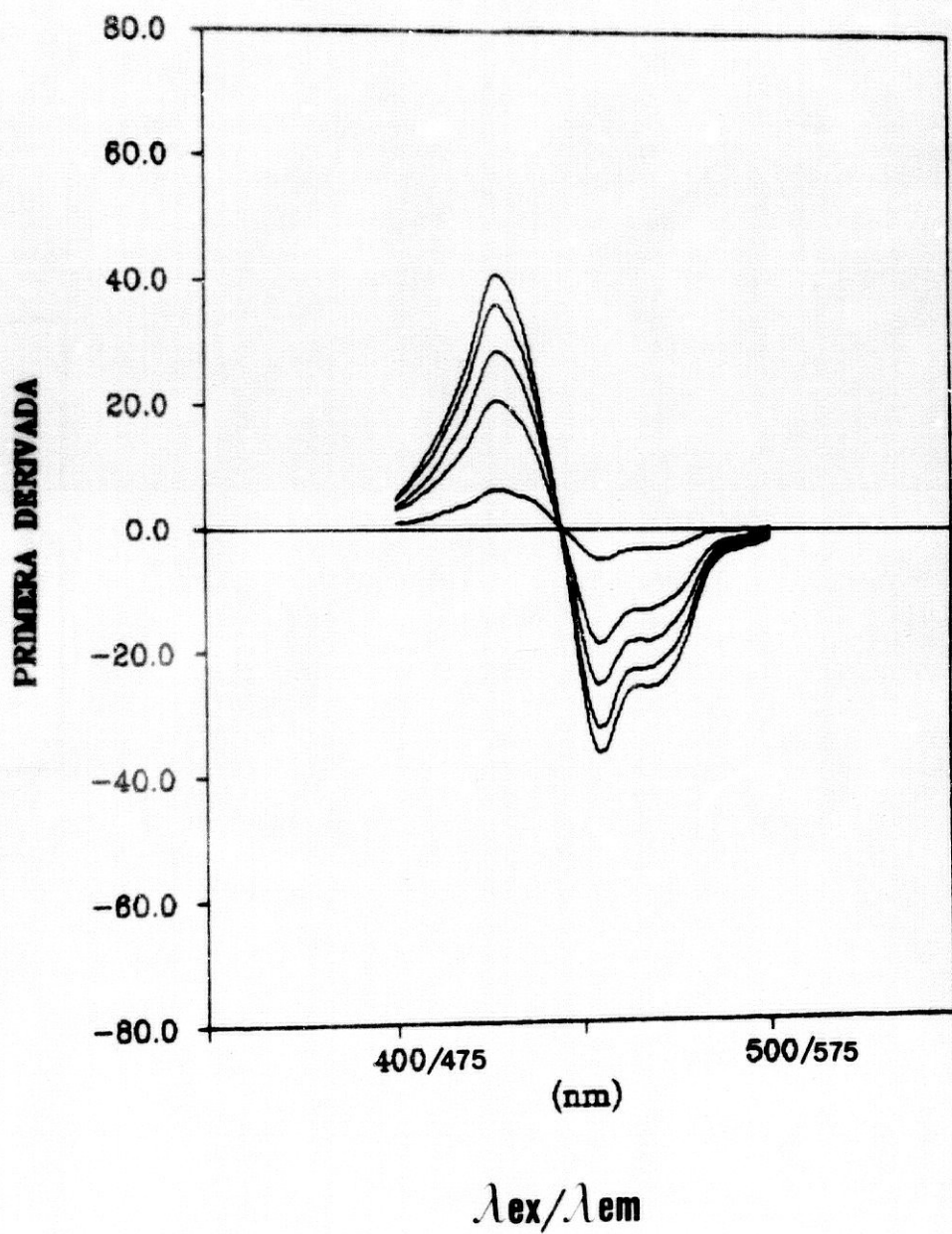


Figura VI.36. Primera derivada de los espectros sincrónicos.
Recta de calibrado de Be(II)

Puede observarse que los espectros se cortan a una longitud de onda de $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 445/520$ nm, correspondiente al punto de corte del espectro derivado del complejo de berilio con el eje de abscisas.

El valor de la primera derivada se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 430/505 nm a la línea base (h_1). Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.14 y se representan gráficamente en la figura VI.37.

Tabla VI.14. Recta de calibrado para berilio

ppb Be(II)	dIFR/d λ
0	0
0.5	5.6
1.0	10.6
2.0	17.6
3.0	26.5
4.0	34.1
5.0	39.3

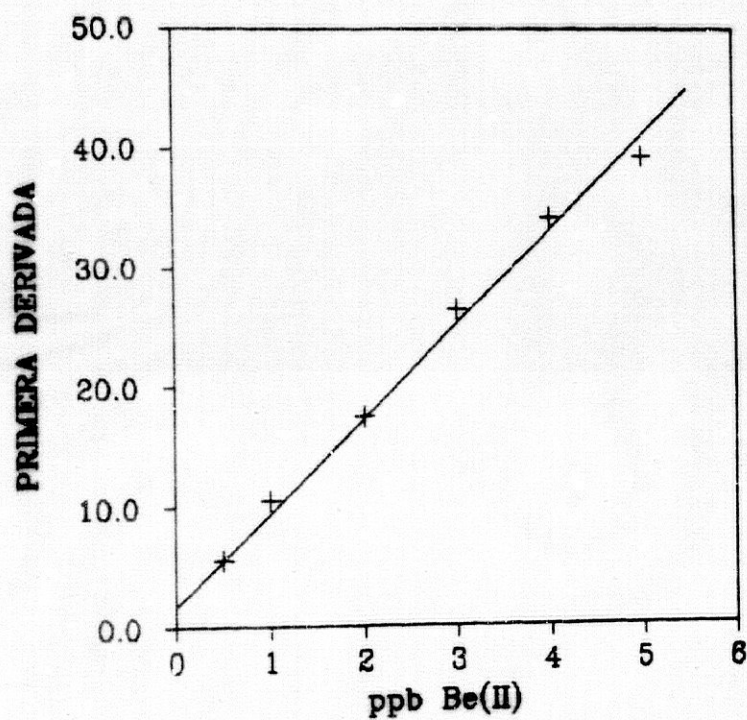


Figura VI.37. Recta de calibrado para berilio.

La ecuación correspondiente a ésta recta de calibrado, ajustada por mínimos cuadrados es:

$$\text{IFR} = 7.88 [\text{Be(II)}] + 1.65$$

donde la $[\text{Be(II)}]$ viene expresada en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

El coeficiente de correlación encontrado es de 0.996.

2.- Recta de calibrado de berilio en presencia de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de aluminio

Para la obtención de la recta de calibrado de berilio en presencia de una cantidad constante de aluminio se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron volúmenes crecientes de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y una cantidad constante de aluminio de 10 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó con agua bidestilada. Se preparó asimismo un blanco que no contenía los cationes y al que se le añadieron los reactivos tal y como se describe.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitaron durante 15 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se registraron los espectros sincrónicos de cada una de las muestras, que se representan en la figura VI.38.

Las condiciones operatorias para el registro de los espectros sincrónicos fueron: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y de emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

A dichos espectros se les restó a cada uno de ellos el correspondiente a la señal del blanco. Sobre los espectros sincrónicos corregidos se efectuó el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20. Se representan en la figura VI.39.

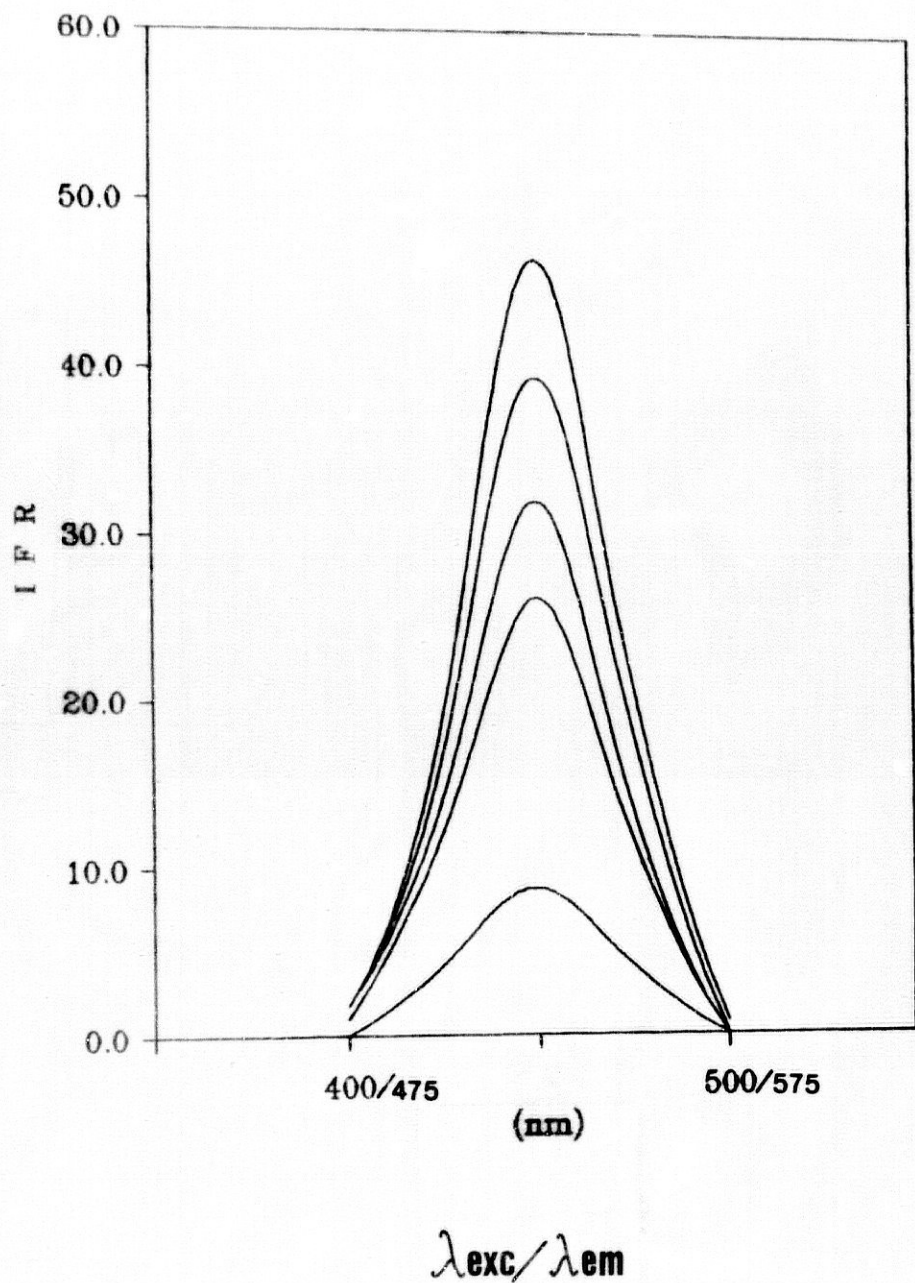


Figura VI.38. Espectros sincrónicos. Recta de calibrado de Be(II) para 0.5, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en presencia de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III)

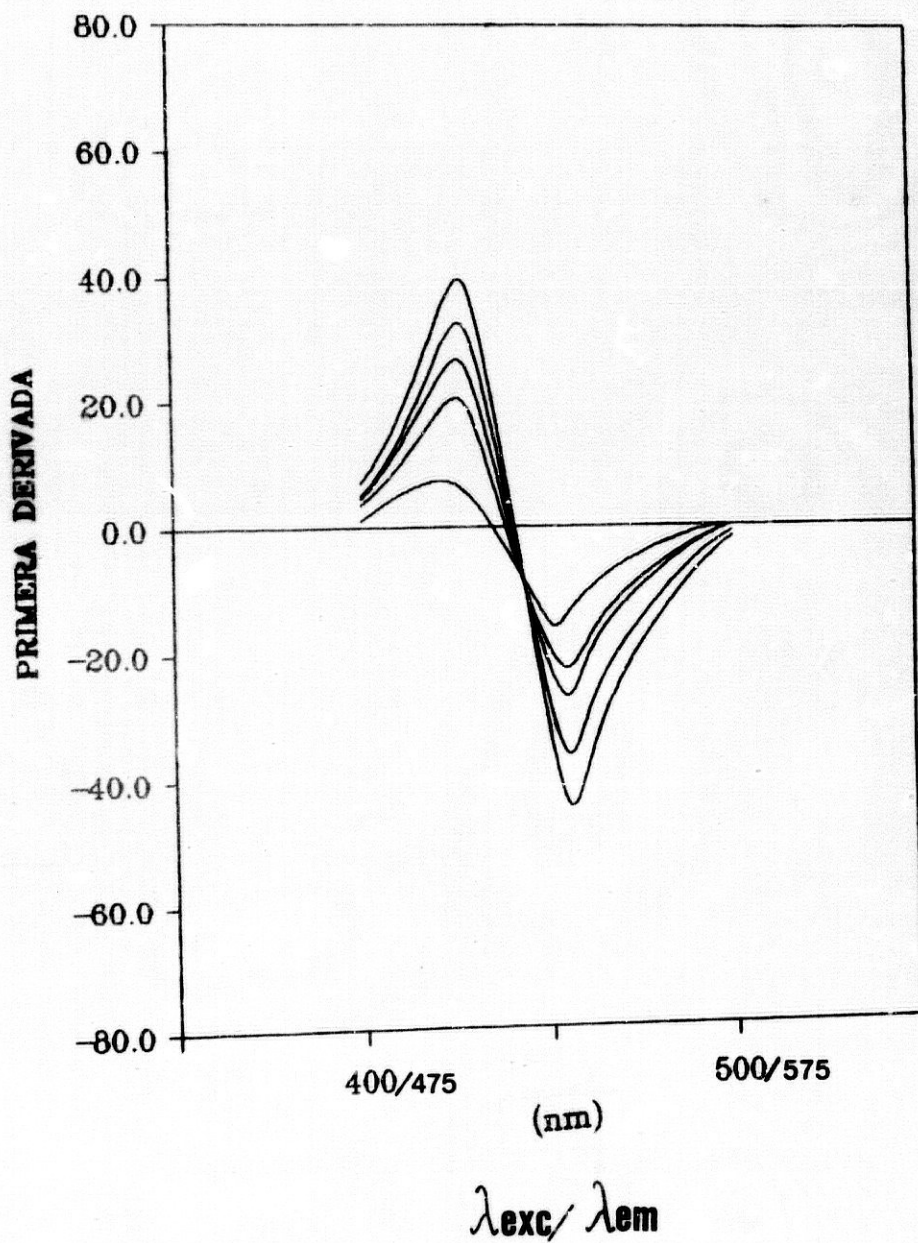


Figura VI.39. Primera derivada de los espectros sincrónicos.
 Recta de calibrado de Be(II) en presencia de
 $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III)

Puede observarse que los espectros se cortan a una longitud de onda de $\lambda_{\text{corte}}/\lambda_{\text{em}} = 445/520$ nm, que corresponde a un valor de la ordenada debido a la concentración de aluminio.

El valor de la primera derivada se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 430/505 nm a la línea base (h_1). Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.15 y se representan gráficamente en la figura VI.40.

Tabla VI.15. Recta de calibrado de Be(II) en presencia de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III)

ppb Be(II)	dIFR/d λ
0	0
0.5	6.0
1.0	10.8
2.0	18.3
3.0	24.8
4.0	32.0
5.0	40.1

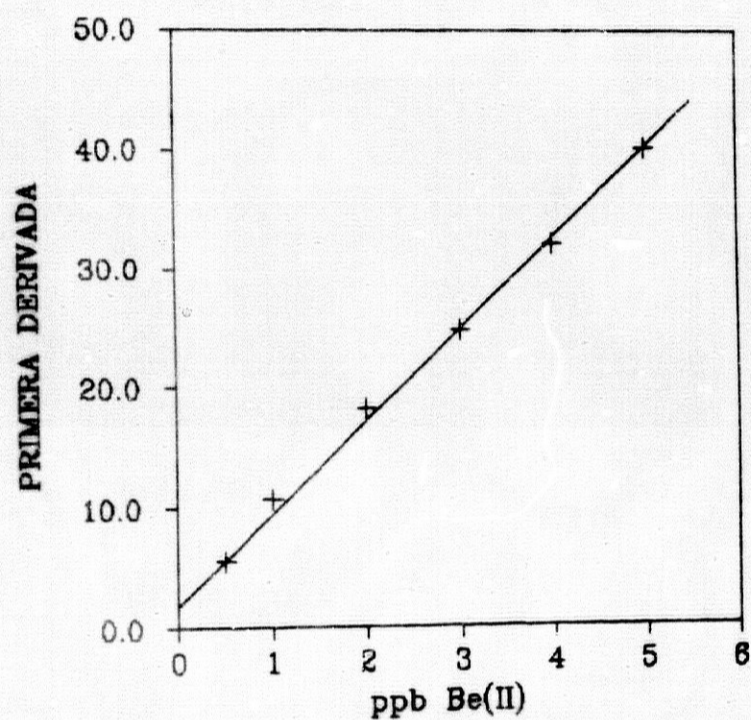


Figura VI.40. Recta de calibrado de Be(II) en presencia de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III)

La ecuación correspondiente a ésta recta de calibrado, ajustada por mínimos cuadrados es:

$$\text{IFR} = 7.69 [\text{Be(II)}] + 1.82$$

donde la [Be(II)] viene expresada en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

El coeficiente de correlación encontrado es de 0.997.

3.- Recta de calibrado de berilio en presencia de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de aluminio

Por último, en una serie de matraces aforados de 500 mL se introdujeron volúmenes crecientes de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y un volumen constante de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} de 20 mL y se enrasó con agua bidestilada. Se preparó asimismo un blanco que no contenía los cationes y al que se le añadieron los reactivos tal y como se describe.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitaron durante 15 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se registraron los espectros sincrónicos de cada una de las muestras, que se representan en la figura VI.41.

Las condiciones operatorias para el registro de los espectros sincrónicos fueron: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

Dichos espectros fueron archivados en disco y se restó a cada uno de ellos el espectro correspondiente a la señal del blanco. Sobre los espectros sincrónicos corregidos se efectuó el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20. Los espectros derivados se representan en la figura VI.42.

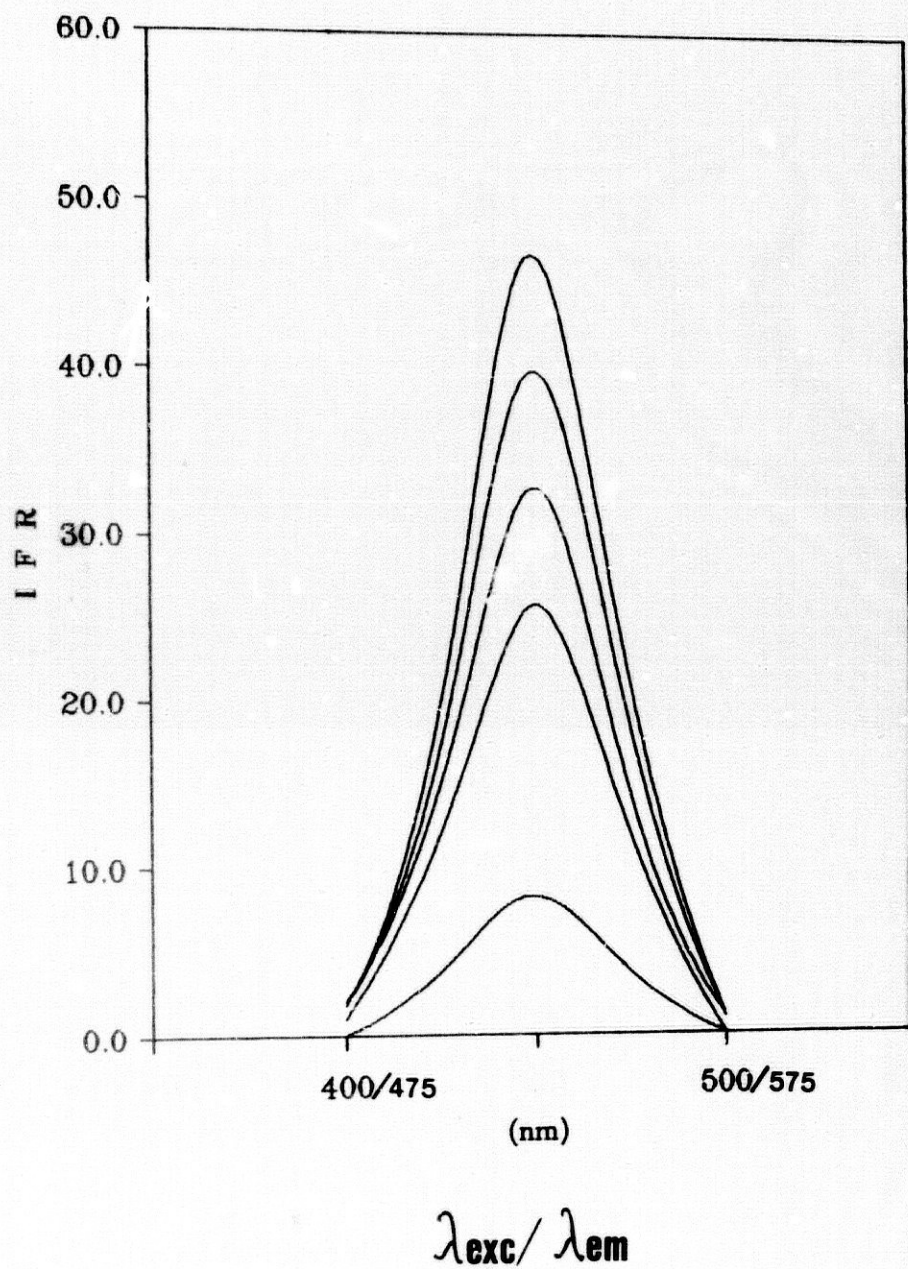


Figura VI.41. Espectros sincrónicos. Recta de calibrado de Be(II) para 0.5, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en presencia de 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III)

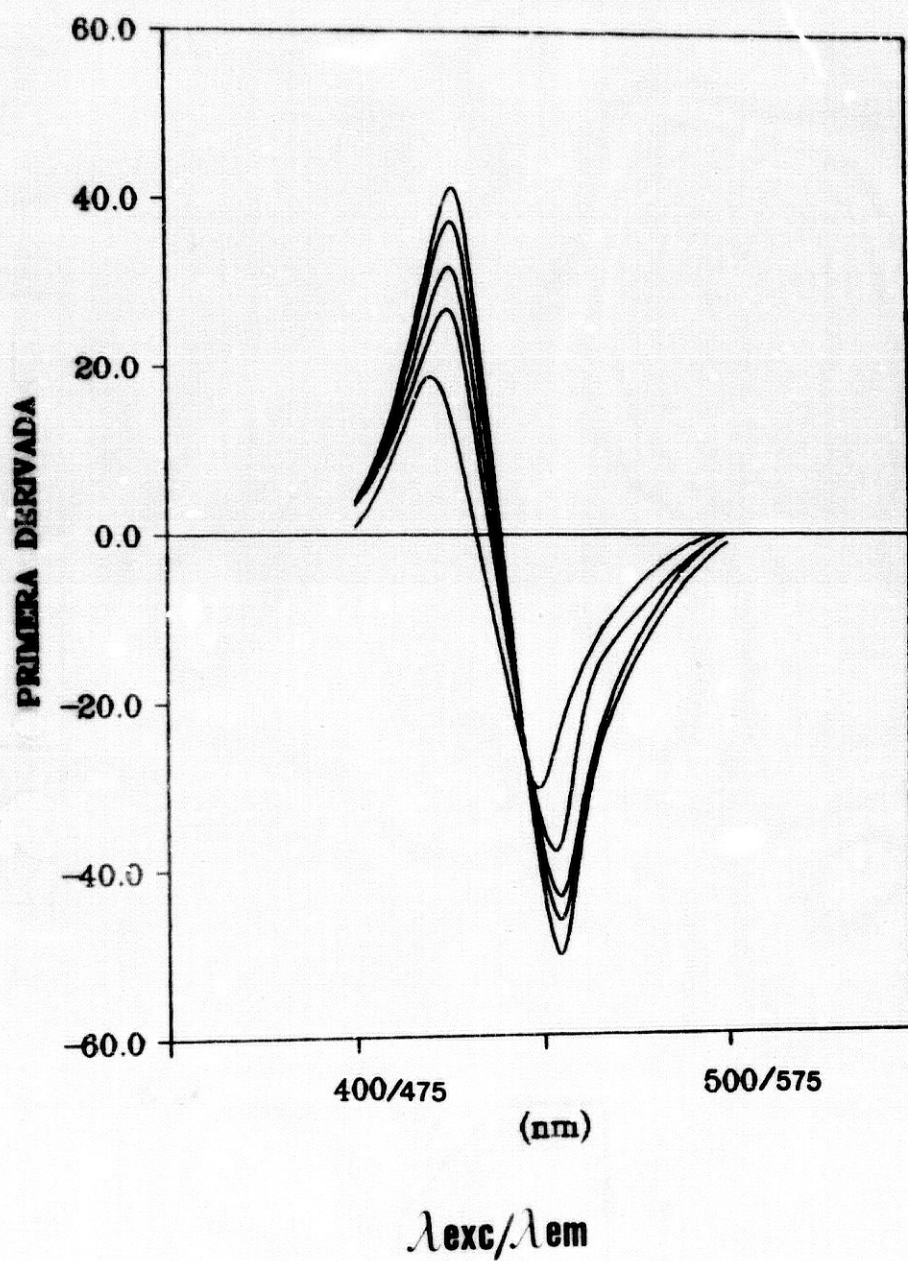


Figura VI.42. Primera derivada de los espectros sincrónicos.
 Recta de calibrado de Be(II) en presencia de
 $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III)

Puede observarse que los espectros se cortan a una longitud de onda de $\lambda_{\text{interc}}/\lambda_{\text{em}} = 445/520$ nm, y corresponde a una cierta ordenada por la presencia de aluminio.

El valor de la primera derivada se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 430/505 nm a la línea base (h_1). Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.16 y se representan gráficamente en la figura VI.43.

Tabla VI.16. Recta de calibrado de berilio en presencia de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de aluminio

ppb Be (II)	dIFR/d λ
0	0
0.5	4.8
1.0	12.2
2.0	18.8
3.0	25.3
4.0	32.2
5.0	38.9

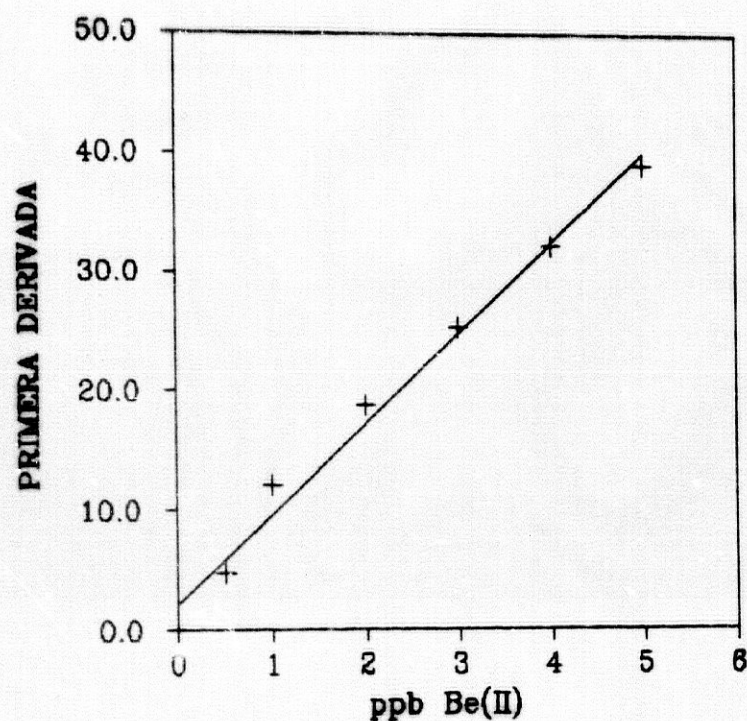


Figura VI.43. Recta de calibrado de Be(II) en presencia de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III)

La ecuación correspondiente a ésta recta de calibrado, ajustada por mínimos cuadrados es:

$$\text{IFR} = 7.58 [\text{Be(II)}] + 2.10$$

donde la $[\text{Be(II)}]$ viene expresada en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

El coeficiente de correlación encontrado es de 0.994.

Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.17.

Tabla VI.17. Rectas de calibrado para Be(II). Primera derivada de los espectros sincrónicos

	[Al(III)] $\mu\text{g. L}^{-1}$	ordenada origen	pendiente	coeficiente regresión
Be(II)	----	1.65	7.88	0.996
(430/505)	2	1.82	7.69	0.997
	4	2.10	7.58	0.994

VI.6.1.2. Rectas de calibrado de aluminio

Se establecieron asimismo tres rectas de calibrado para comprobar la independencia entre las señales analíticas de berilio y aluminio.

1.- Recta de calibrado para aluminio en ausencia de berilio

En una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron volúmenes crecientes de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y se enrasó con agua bidestilada. Se preparó asimismo un blanco que no contenía aluminio y al que se le añadieron los reactivos tal y como se describe a continuación y que fué sometido al mismo tratamiento.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitaron durante 15 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se registraron los espectros sincrónicos de cada una de las muestras, que se representan en la figura VI.44. (Se indican solamente 5 espectros sincrónicos por las limitaciones del programa de graficos).

Las condiciones operatorias para el registro de los espectros sincrónicos fueron: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

Dichos espectros fueron archivados en disco y se restó a cada uno de ellos el espectro correspondiente a la señal del blanco. Sobre los espectros sincrónicos corregidos se efectuó el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15

puntos y un factor de multiplicación de 20. De los espectros obtenidos se representan en la figura VI.45 sólo 5 de ellos.

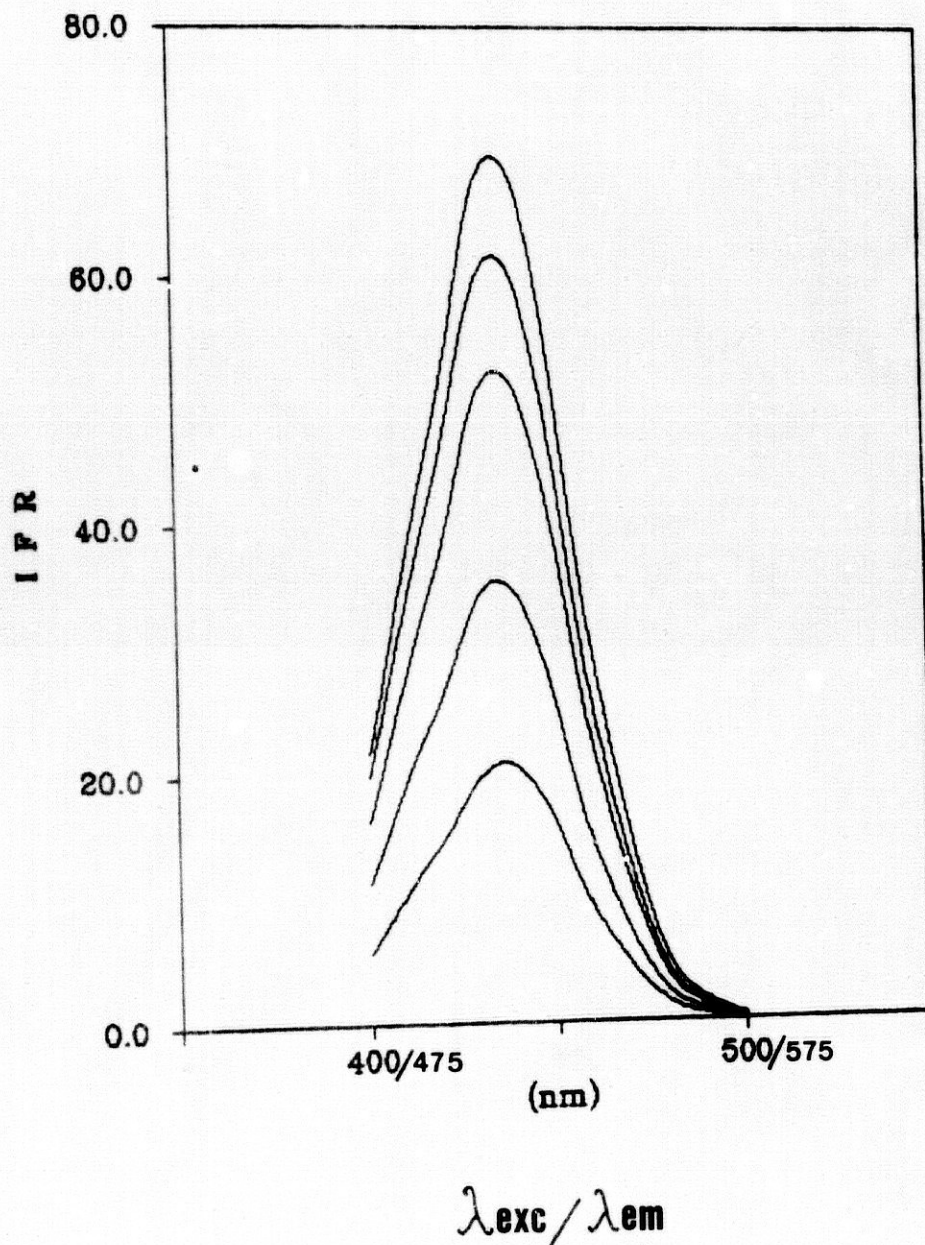


Figura VI.44. Espectros sincrónicos. Recta de calibrado de aluminio para 0.5, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$

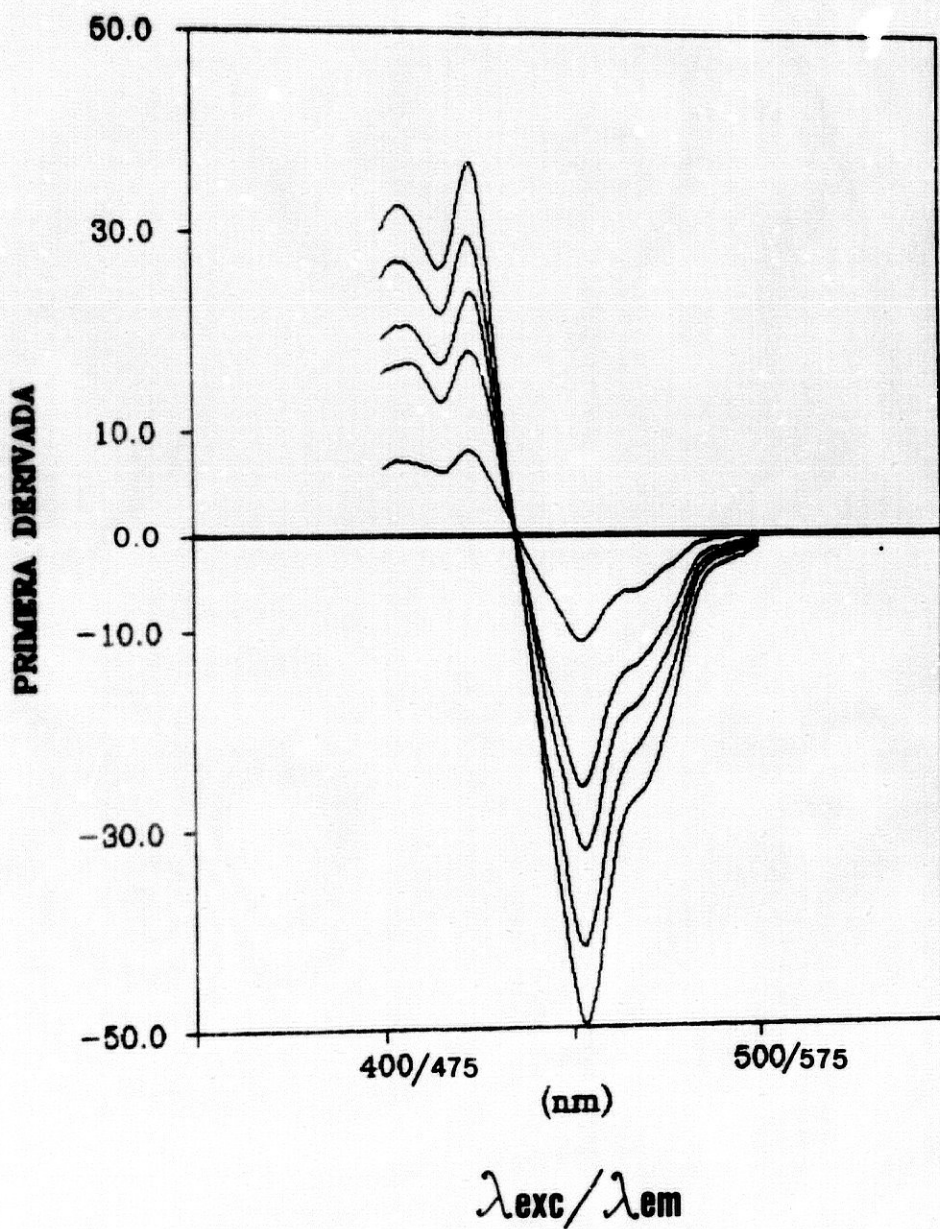


Figura VI.45. Primera derivada de los espectros sincrónicos.
 Recta de calibrado de Al(III)

Puede observarse que los espectros se cortan a una longitud de onda de $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 430/505$ nm, correspondiente al punto de corte del espectro derivado del complejo de aluminio con el eje de abscisas.

El valor de la primera derivada se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 445/520 nm a la línea base (h_2). Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.18 y se representan graficamente en la figura VI.46.

Tabla VI.18. Recta de calibrado de Al(III)

<i>ppb Al (III)</i>	<i>dIFR/dλ</i>
0	0
0.5	5.0
1.0	8.7
2.0	15.3
3.0	20.9
4.0	26.6
5.0	32.7

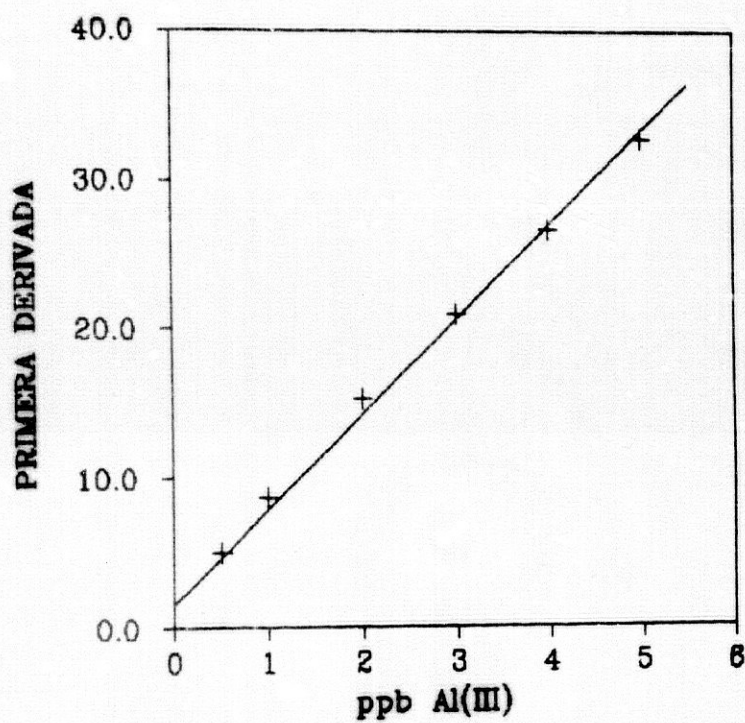


Figura VI.46. Recta de calibrado para Al(III).

La ecuación correspondiente a ésta recta de calibrado, ajustada por mínimos cuadrados es:

$$\text{IFR} = 6.33 [\text{Al(III)}] + 1.57$$

donde la [Al(III)] viene expresada en $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

El coeficiente de correlación encontrado es de 0.997.

2.- Recta de calibrado de aluminio en presencia de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de berilio

Para la obtención de la recta de calibrado de aluminio en presencia de berilio se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron volúmenes crecientes de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y una cantidad constante de berilio de 10 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó con agua bidestilada. Se preparó asimismo un blanco que no contenía los cationes y al que se le añadieron los reactivos tal y como se describe.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitaron durante 15 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se registraron los espectros sincrónicos de cada una de las muestras, que se representan en la figura VI.47.

Las condiciones operatorias para el registro de los espectros sincrónicos fueron: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

Dichos espectros fueron archivados en disco y se restó a cada uno de ellos el espectro correspondiente a la señal del blanco. Sobre los espectros sincrónicos corregidos se efectuó el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20. Se representan en la figura VI.48.

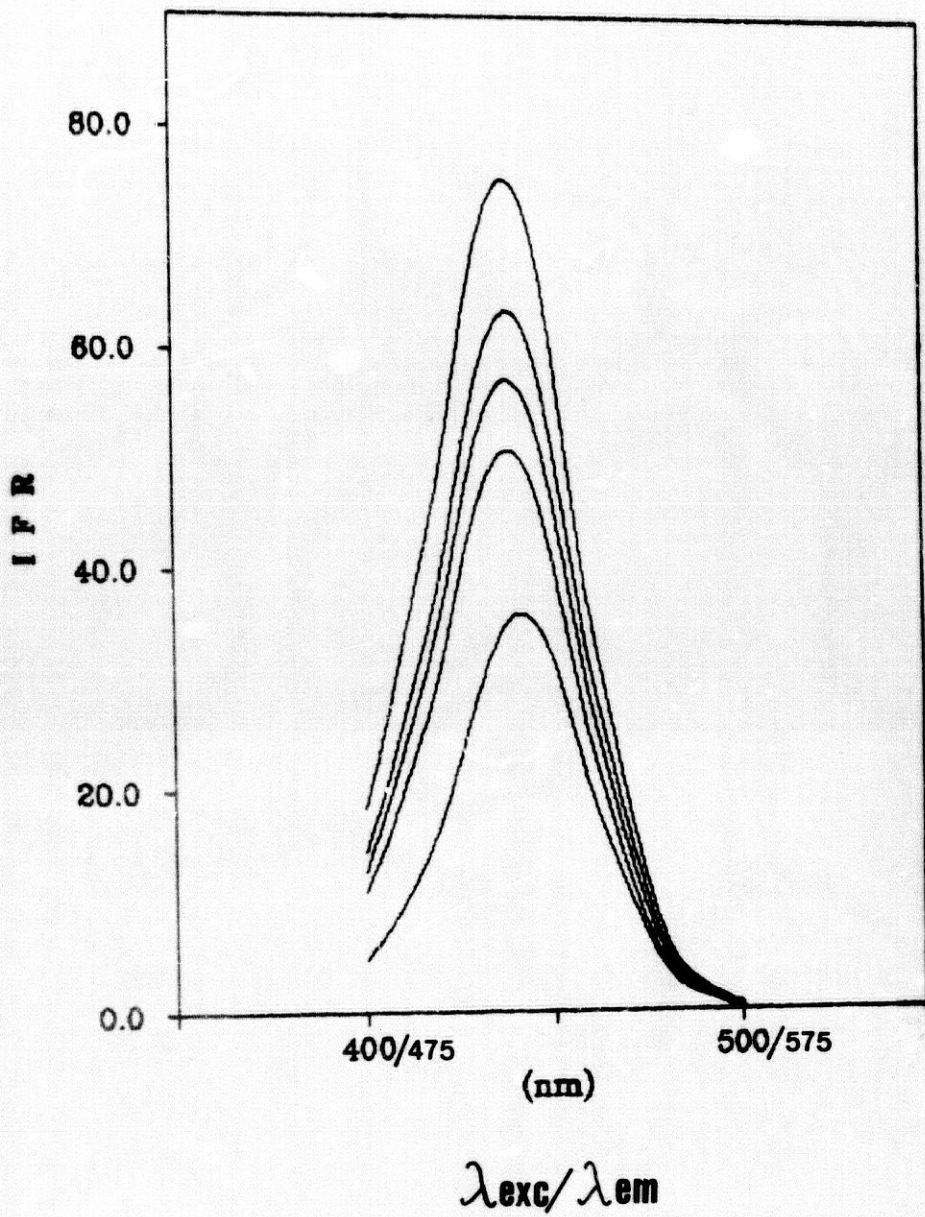


Figura VI.47. Espectros sincrónicos. Recta de calibrado de Al(III) para 0.5, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en presencia de 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II)

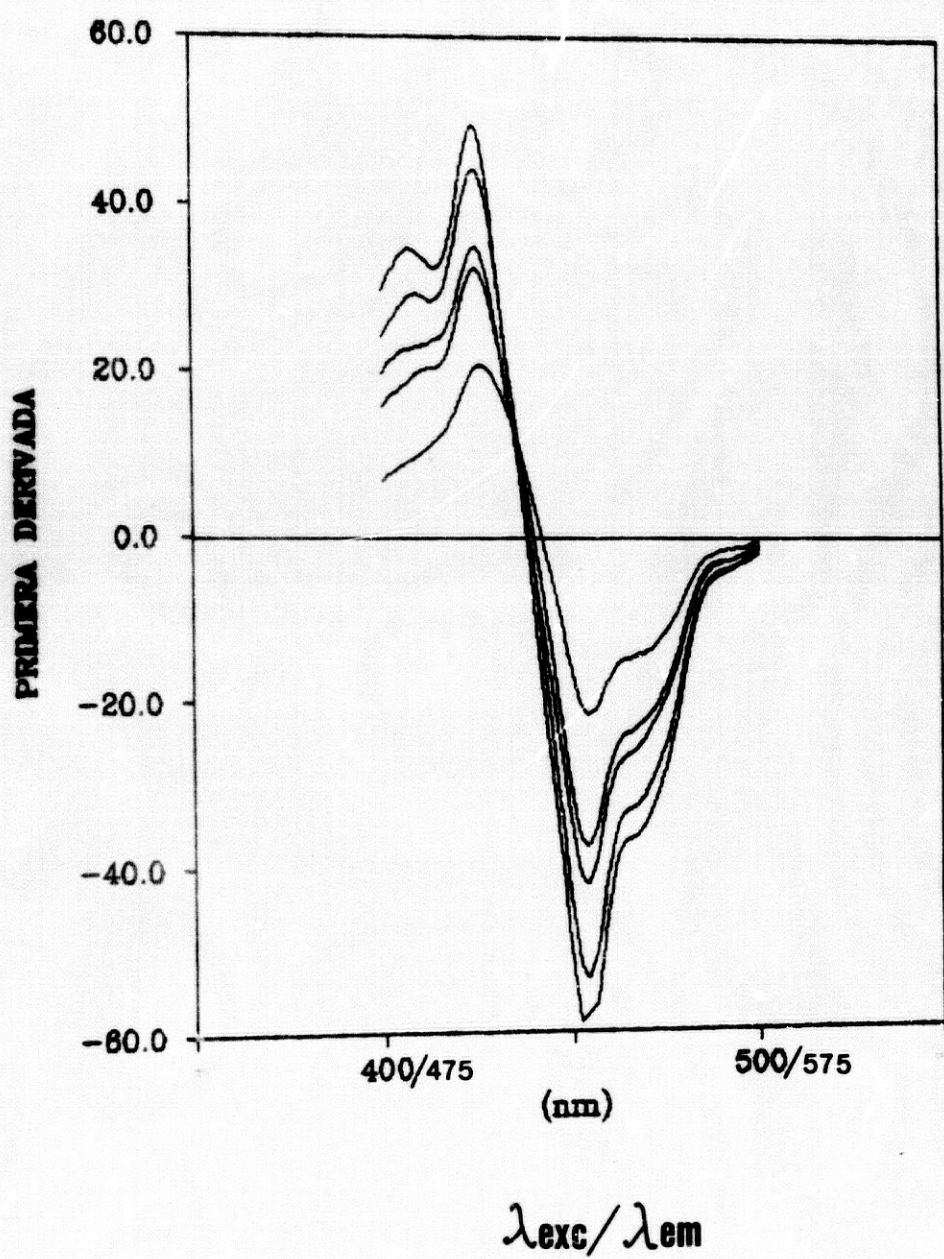


Figura VI.48. Primera derivada de los espectros sincrónicos.
 Recta de calibrado de Al(III) en presencia de
 $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II)

Puede observarse que los espectros se cortan a una longitud de onda de $\lambda_{\text{corte}}/\lambda_{\text{em}} = 430/505$ nm, correspondiente a un valor de ordenada debido a la concentración de berilio añadida.

El valor de la primera derivada se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 445/520 nm a la línea base (h_2). Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.19 y se representan graficamente en la figura VI.49.

Tabla VI.19. Recta de calibrado de Al(III) en presencia de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II)

ppb Al(III)	dIFR/d λ
0	0
0.5	6.6
1.0	9.4
2.0	15.3
3.0	20.6
4.0	26.6
5.0	32.6

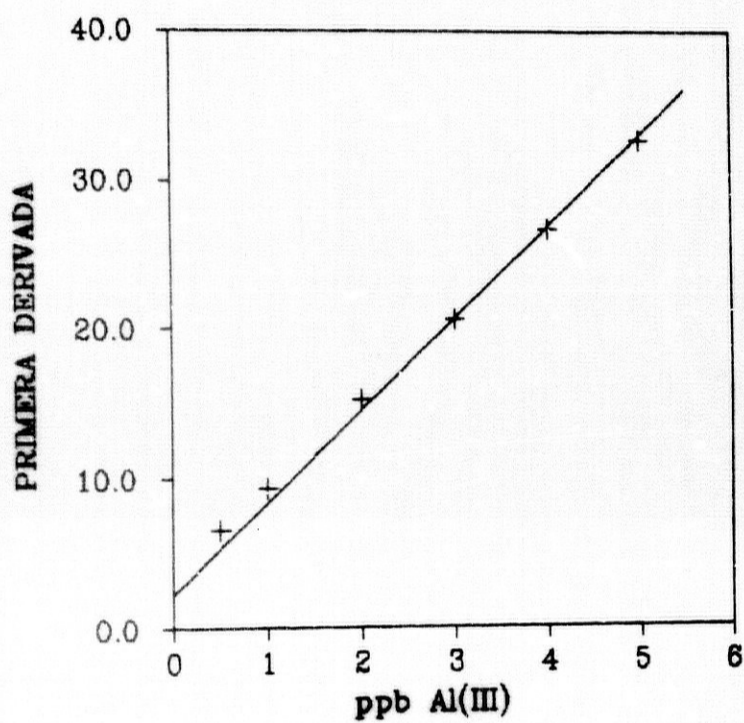


Figura VI.49. Recta de calibrado de Al(III) en presencia de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II)

La ecuación correspondiente a ésta recta de calibrado, ajustada por mínimos cuadrados es:

$$\text{IFR} = 6.13 [\text{Al(III)}] + 2.27$$

donde la $[\text{Al(III)}]$ viene expresada en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

El coeficiente de correlación encontrado es de 0.995.

3.- Recta de calibrado de aluminio en presencia de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de berilio

Por último, en una serie de matraces aforados se introdujeron volúmenes crecientes de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y un volumen constante de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} de 20 mL y se enrasó con agua bidestilada. Se preparó asimismo un blanco que no contenía los cationes y al que se le añadieron los reactivos tal y como se describe.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitaron durante 15 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se registraron los espectros sincrónicos de cada una de las muestras, que se representan en la figura VI.50.

Las condiciones operatorias para el registro de los espectros sincrónicos fueron: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

Dichos espectros fueron archivados en disco y se restó a cada uno de ellos el espectro correspondiente a la señal del blanco. Sobre los espectros sincrónicos corregidos se efectuó el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20. Los espectros derivados se representan en la figura VI.51.

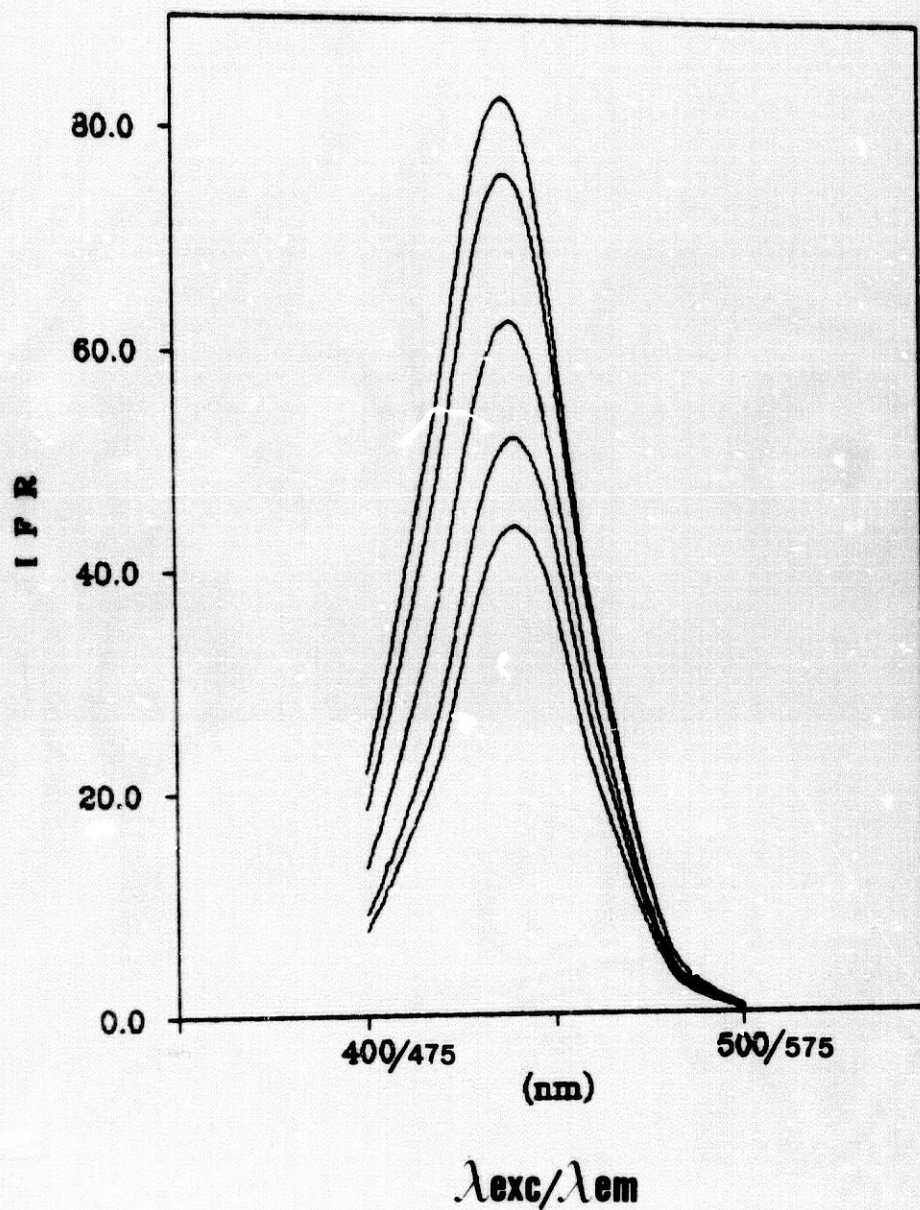


Figura VI.50. Espectros sincrónicos. Recta de calibrado de Al(III) para 1, 2, 3, 4 y 5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en presencia de 4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Be(II)

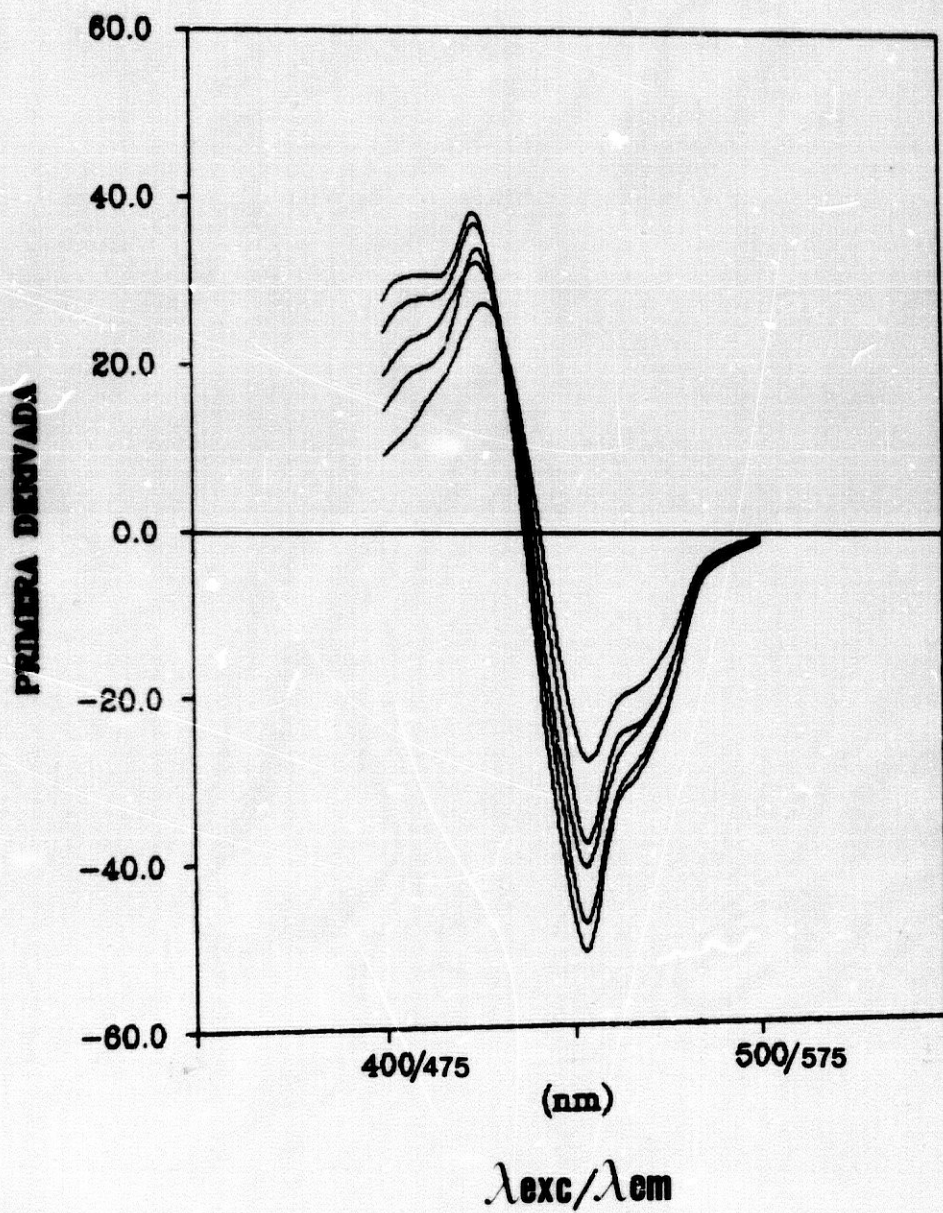


Figura VI.51. Primera derivada de los espectros sincrónicos.
 Recta de calibrado de Al(III) en presencia de
 $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II)

Puede observarse que los espectros se cortan a una longitud de onda de $\lambda_{\text{absorc}}/\lambda_{\text{em}} = 430/505$ nm, y corresponde a una cierta ordenada por la presencia de una concentración constante de berilio.

El valor de la primera derivada se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 445/520 nm a la línea base (h_z). Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.20 y se representan gráficamente en la figura VI.52.

Tabla VI.20. Recta de calibrado de Al(III) en presencia de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II)

ppb Al(III)	dIFR/d λ
0	0
0.5	4.8
1.0	10.1
2.0	13.6
3.0	20.4
4.0	25.9
5.0	31.8

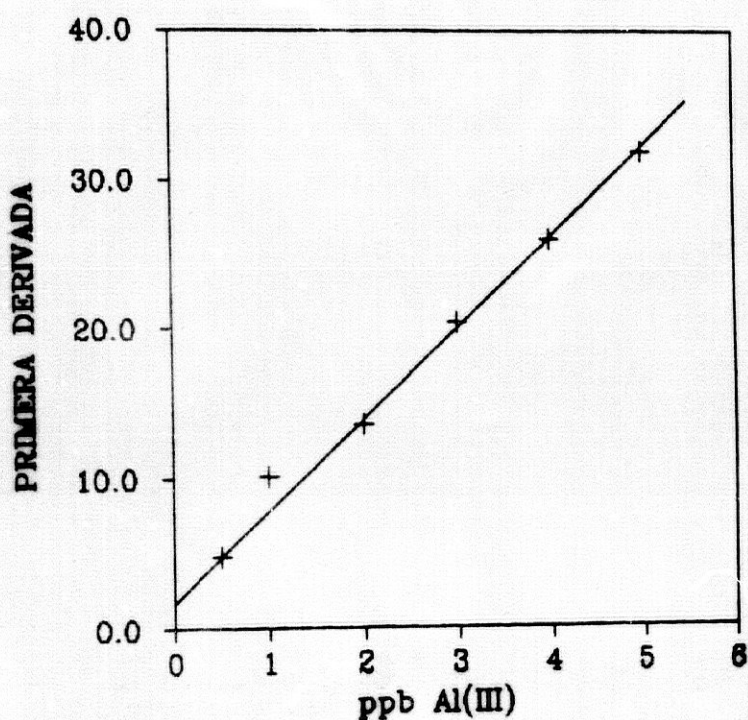


Figura VI.52. Recta de calibrado de Al(III) en presencia de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II)

La ecuación correspondiente a ésta recta de calibrado, ajustada por mínimos cuadrados es:

$$\text{IFR} = 6.09 [\text{Al(III)}] + 1.74$$

donde la [Al(III)] viene expresada en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

El coeficiente de correlación encontrado es de 0.994.

Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.21.

Tabla VI.21. Rectas de calibrado de Al(III). Primera derivada de los espectros sincrónicos

	[Be(II)] µg. L ⁻¹	ordenada origen	pendiente	coeficiente regresión
Al(III)	----	1.57	6.33	0.997
(445/520)	2	2.27	6.13	0.995
	4	1.74	6.09	0.994

A partir de los resultados expuestos en la tabla VI.21, se puede deducir que la amplitud de la señal derivada de la mezcla medida en el punto de corte del espectro derivado de uno de los dos componentes es una función solamente de la concentración del otro componente, de acuerdo con las predicciones teóricas.

Los altos valores encontrados para el coeficiente de correlación de todas las rectas de calibrado y el pequeño valor de la ordenada en el origen, indican una buena linealidad en las gráficas de calibración al medir las primeras derivadas de los espectros sincrónicos.

VI.6.2. METODO PROPUESTO PARA LA DETERMINACION CONJUNTA DE Be(II) Y Al(III)

Como consecuencia del estudio realizado, proponemos el siguiente método para la determinación conjunta de Al(III) y Be(II) mediante fluorescencia sincrónica derivada en fase sólida.

- Recta de calibrado para aluminio

Para ello se prepara una serie de matraces aforados de 500 mL en los que se introducen volúmenes crecientes de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y se enrasó con agua bidestilada. Se preparó asimismo un blanco que no contiene aluminio y al que se le añadieron los reactivos tal y como se describe a continuación y que se somete al mismo tratamiento.

Las disoluciones se transfieren a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de resina Sephadex G-15.

Se agitan durante 15 minutos, se filtran las disoluciones, se llenan las cubetas y se registran los espectros sincrónicos en las condiciones indicadas anteriormente. Se obtienen las primeras derivadas de los espectros corregidos, con

un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20.

A partir de los espectros sincrónicos derivados se toma el valor de la primera derivada como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 430/505 nm a la línea base (h_1).

- Recta de calibrado para berilio

En una serie de matraces aforados de 500 mL se introducen volúmenes crecientes de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} comprendidos entre 2.5 y 25 mL y se enrasa con agua bidestilada. Se prepara asimismo un blanco que no contiene berilio y al que se le añaden los reactivos tal y como se describe a continuación y que se somete al mismo tratamiento.

Las disoluciones se transfieren a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de resina Sephadex G-15.

Se agitan durante 15 minutos, se filtran las disoluciones, se llenan las cubetas y se registran los espectros sincrónicos de cada una de las muestras. Una vez corregidos con el blanco se calcula la primera derivada de cada uno de ellos, tomando como valor de la primera derivada el valor absoluto de 445/520 nm a la línea base (h_2).

- Disolución problema

La disolución problema se prepara introduciendo en un matraz aforado de 500 mL el volumen necesario de muestra de forma que la concentración final de Be(II) esté comprendida entre 0.5 y $5 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ y la de Al(III) entre 0.5 y $5 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ y agua bidestilada hasta el enrase.

La disolución se transfiere a un frasco de polietileno y se le añaden 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3}\%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de pH = 5.75 y 100 mg de resina Sephadex G-15.

Se agita durante 15 minutos, se filtra y se llena la cubeta de medida y una vez termostatado el sistema a 20°C se registra el espectro sincrónico de la mezcla.

Las condiciones operatorias para el registro del espectro sincrónico son: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido $120 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$, factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

El espectro obtenido se resta el espectro correspondiente a la señal del blanco. Sobre el espectro sincrónico corregido se efectúa el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20.

El valor de la primera derivada se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 430/505 nm a la línea base (h_1) para el berilio y a 445/520 nm para el aluminio.

El valor obtenido se refiere a la correspondiente recta de calibrado obtenida.

VI.6.3. REPRODUCIBILIDAD DEL METODO

Para determinar la reproducibilidad del método se preparó una serie de 10 matraces aforados de 500 mL en los que se introdujeron 10 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} , 10 mL de disolución de Al(III) de 0.1 mg.L^{-1} y agua bidestilada hasta el enrase.

Las disoluciones se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex G-15.

Se agitaron durante 15 minutos, se filtraron las disoluciones, se llenaron las cubetas y se registraron los espectros sincrónicos de cada una de las muestras.

Las condiciones operatorias para el registro de los espectros sincrónicos fueron: barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm, velocidad de barrido 120 nm.min^{-1} , factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendija de excitación y de emisión 2.5 nm y temperatura 20°C .

A los espectros obtenidos se efectuó el cálculo de la primera derivada, con un factor de filtrado de 15 puntos y un factor de multiplicación de 20.

El valor de la primera derivada para el berilio se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el

espectro a 430/505 nm a la línea base (h_1). El valor de la primera derivada para el aluminio se ha tomado como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a 445/520 nm a la línea base (h_2).

Los resultados obtenidos se reúnen en la tabla VI.23.

Tabla VI.23. Reproducibilidad del método

	$dIFR/d\lambda$ (430/505)	$dIFR/d\lambda$ (445/520)
	16.7	20.7
	16.4	23.0
	15.6	21.7
	17.2	21.1
	16.1	20.4
	15.4	21.6
	16.7	21.1
	16.4	22.8
	15.6	20.2
	15.7	22.9
.....		
$\overline{dIFR/d\lambda}$	16.2	21.6
σ_{n-1}	0.59	1.04
DSR (%)	3.6	4.6

Por consiguiente, la precisión del método para una concentración de Be(II) y Al(III) de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$, es de 3.6 y 4.6 %, respectivamente, expresada como desviación estandar relativa.

VI.6.4. LIMITE DE DETECCION Y DETERMINACION DEL METODO PROPUESTO

Para su establecimiento se ha seguido el criterio de la I.U.P.A.C. (171), que ha sido expuesto con anterioridad en el capítulo IV de esta Memoria Doctoral.

Para determinar el límite de detección del método propuesto, se prepararon 10 matraces aforados de 500 mL que contenían agua bidestilada. Se transfirieron a sus correspondientes frascos de polietileno, y se les añadieron 7 mL de disolución etanólica de morina 6.2×10^{-3} %, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico (0.1M) de pH = 5.75 y 100 mg de Sephadex G-15.

Las disoluciones se agitaron durante 15 minutos y a continuación se filtraron y se llenaron las cubetas de medida para el registro de los espectros sincrónicos.

Las condiciones operatorias fueron: velocidad de barrido $120 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$, factor de escala 0.1, factor de respuesta 3, rendijas de excitación y emisión de 2.5 nm, barrido sincrónico de 350 a 550 nm, incremento de longitud de onda 75 nm.

A continuación se efectuó el cálculo de la primera derivada de cada uno de los espectros obtenidos, con un factor de filtrado de 15 y un factor de multiplicación de 20. Se determina en cada uno de ellos el valor de la primera derivada como el valor absoluto de la distancia vertical desde el espectro a

430/505 nm (en el caso del berilio) y a 445/520 nm (en el aluminio) hasta la línea base.

En la tabla VI.24 se muestran los resultados obtenidos.

Tabla VI.24. Límite de detección y de determinación

Muestra	$dIFR/d\lambda$ (430/505)	$dIFR/d\lambda$ (445/520)
1	0.5	1.1
2	0.9	1.6
3	0.8	0.9
4	0.5	1.5
5	0.8	1.1
6	0.9	1.5
7	0.5	1.4
8	0.6	1.5
9	0.8	1.4
10	0.7	1.4
.....		
$d\bar{IFR}/d\lambda$	0.7	1.3
σ_{n-1}	0.16	0.23
$C_L (\mu\text{g. L}^{-1})$	0.06	0.11
$C_d (\mu\text{g. L}^{-1})$	0.20	0.36

Por lo tanto, si la señal correspondiente a la primera derivada de una muestra es $dIFR/d\lambda > 0.7 + (3 \times 0.16) = 1.2$, podemos afirmar con una certeza del 99,86% que el berilio está presente en dicha muestra. Si la señal correspondiente a la primera derivada de una muestra es $dIFR/d\lambda > 1.3 + (3 \times 0.23) =$

2.0, podemos afirmar con una certeza del 99,86% que el aluminio está presente en dicha muestra.

El límite de detección ($k = 3$) obtenido a partir de:

$$C_L = k \cdot \sigma_{n-1} / m$$

siendo m la pendiente de la recta de calibrado, es de $0.06 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) y de $0.11 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III).

El límite de determinación ($k = 10$) obtenido de:

$$C_D = k \cdot \sigma_{n-1} / m$$

es de $0.20 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) y de $0.36 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III).

Si se comparan los límites de detección obtenidos con los propuestos en la bibliografía para la determinación simultánea de berilio y aluminio mediante fluorescencia sincrónica derivada por *García Sanchez y col* (221), se observa que éstos se han reducido considerablemente.

VI.6.5. SENSIBILIDAD DEL METODO PROPUESTO

Basandonos en el concepto de sensibilidad de un procedimiento analítico, ya definido en el capítulo IV, y utilizando los datos aportados por las experiencias anteriores (curvas de calibrado) hemos realizado el cálculo de la sensibilidad de este método. El valor obtenido es de $0.074 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) y de $0.164 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III).

VI.6.6. RESUMEN DE LOS PARAMETROS ANALITICOS

En la tabla VI.25 se resumen los parámetros analíticos encontrados en el estudio de la mezcla de complejos de Be(II)-morina y Al(III)-morina fijado en Sephadex G-15.

Tabla VI.25. Parámetros analíticos

<i>Parámetros analíticos</i>	<i>Be(II)</i>	<i>Al(III)</i>
ordenada en el origen	1.65	1.57
pendiente	7.88	6.33
rango lineal ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	0.5-5.0	0.5-5.0
coeficiente de correlación	0.996	0.997
límite de detección ($k = 3$) ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	0.06	0.11
límite de determinación ($k = 10$) ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	0.20	0.36
RSD (%)	3.6	4.6
sensibilidad analítica	0.074	0.164

INFLUENCIA DE IONES EXTRANOS

VI.7.1. INFLUENCIA DE IONES EXTRANOS

Se ha estudiado la influencia que la presencia de los iones más frecuentes en aguas, causa en la determinación de simultánea de Be(II) y Al(III) por el método operatorio propuesto en fase resina. Se han estudiado los mismos iones que se eligieron en los estudios anteriores porque es también en aguas, naturales o no, donde se pretende aplicar el método propuesto.

Para llevar a cabo el estudio se preparó una serie de matraces aforados de 500 mL para cada ión ensayado, que contenían en todos los casos $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) y $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) y concentraciones crecientes de aquel. Estas disoluciones fueron tratadas en la misma forma que se indica en el proceso operatorio.

A partir del valor absoluto de la distancia desde cada espectro sincrónico derivado a 430/505 ó 445/520 nm (respectivamente para berilio y aluminio) a la línea base se determinó en cada caso el error relativo que origina el ión extraño.

Hemos admitido como límite de tolerancia para el ión extraño, la concentración de éste que origina un error relativo del 5%. No se considera que interfiera, por tanto, aquellas concentraciones de ión extraño que producían un error igual o inferior a ese valor.

Los resultados obtenidos se muestran en las tablas VI.26-VI.36 y en las figuras VI.53 y VI.63.

Tabla VI.26. Interferencia del ión NO_3^-

Ión	($\mu\text{g. L}^{-1}$)	$\log([\text{NO}_3^-]/C)$	(%) $E_{\text{Be(II)}}$	(%) $E_{\text{Al(III)}}$
NO_3^-	40	1.1	1.3	1.4
	400	2.1	2.6	2.3
	4000	3.1	3.2	4.5
	8000	3.4	4.5	5.0

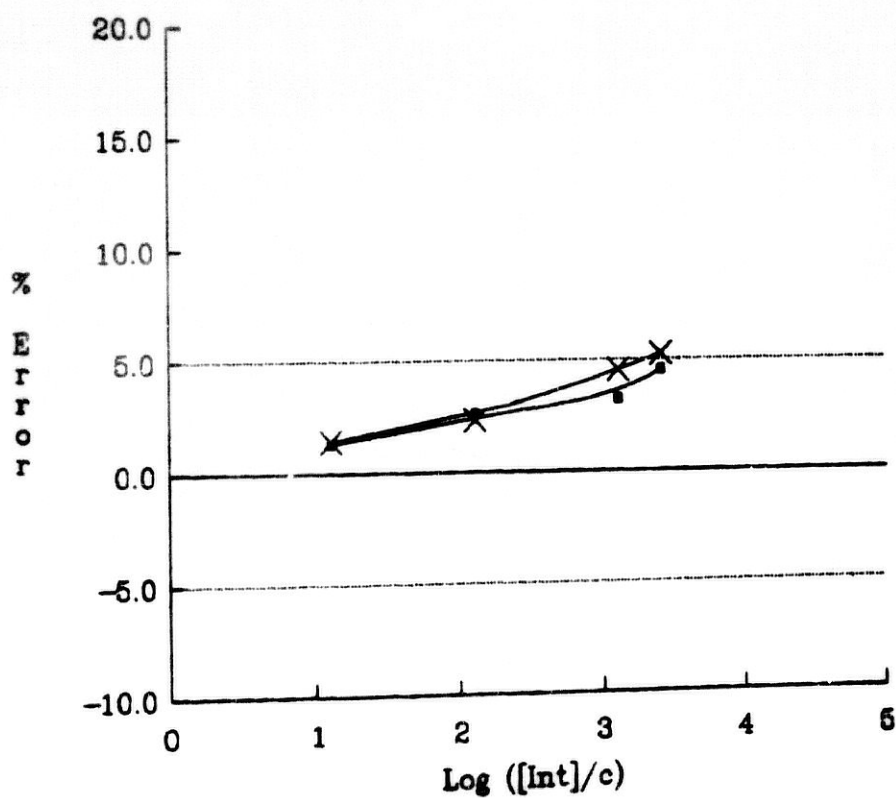


Figura VI.53. Interferencia de NO_3^- para una concentración de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (●) y 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (x).

Tabla VI.27. Interferencia del ión Cl^-

Ión	($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log ([\text{Cl}^-]/C)$	(%) $\text{Er}_{\text{Be(II)}}$	(%) $\text{Er}_{\text{Al(III)}}$
Cl^-	40	1.1	0.8	2.8
	400	2.1	2.7	3.6
	4000	3.1	3.9	10.3
	8000	3.4	4.7	19.8

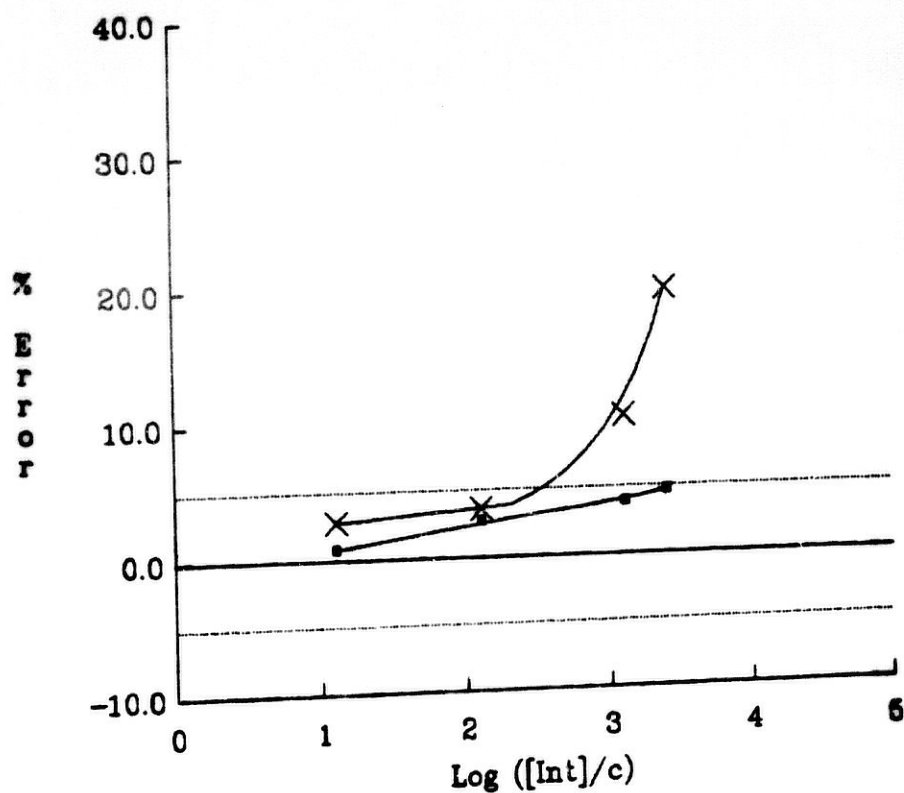


Figura VI.54. Interferencia de Cl^- para una concentración de $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (●) y $3 \mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (×).

Tabla VI.28. Interferencia del ión F^-

Ión	($\mu\text{g. L}^{-1}$)	$\log ([F^-]/C)$	(%) $Er_{Be(II)}$	(%) $Er_{Al(III)}$
F^-	10	0.5	0.6	-3.9
	40	1.1	1.3	-17.1
	100	1.5	1.3	-32.0
	400	2.1	1.4	-48.7

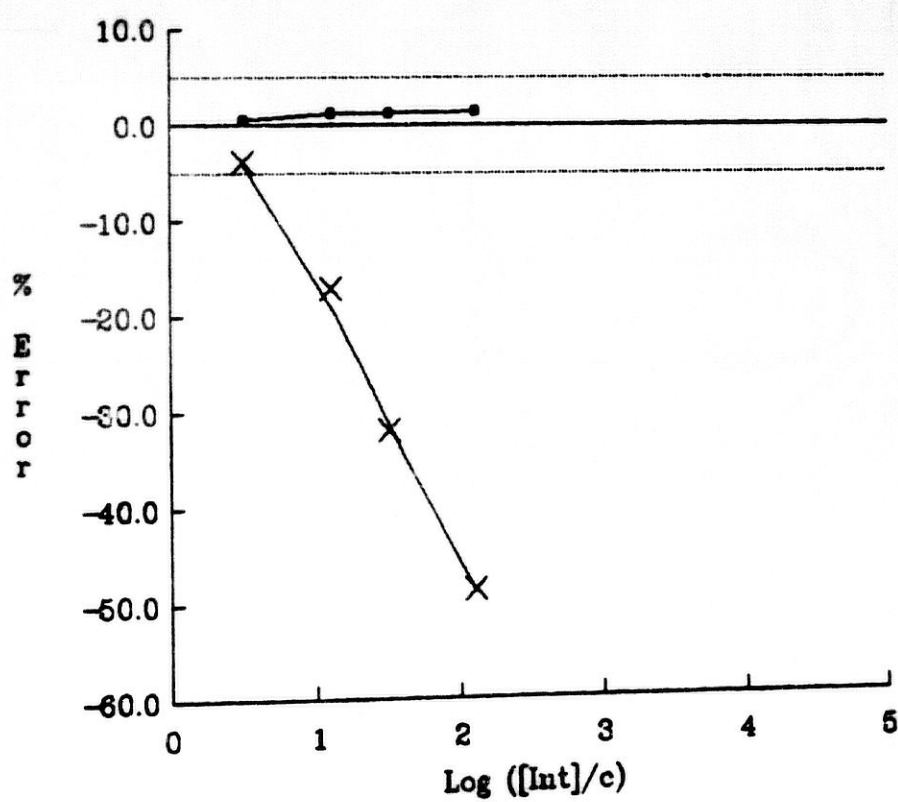


Figura VI.55. Interferencia de F^- para una concentración de $3 \mu\text{g. L}^{-1}$ de $Be(II)$ (•) y $3 \mu\text{g. L}^{-1}$ de $Al(III)$ (x).

Tabla VI.29. Interferencia del ión SO_4^{2-}

Ión	($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log ([\text{SO}_4^{2-}]/C)$	(%) $E_{\text{Be(II)}}$	(%) $E_{\text{Al(III)}}$
SO_4^{2-}	40	1.1	0.1	-2.1
	400	2.1	0.9	-4.8
	800	2.4	2.6	-5.1
	4000	3.1	4.5	-12.3

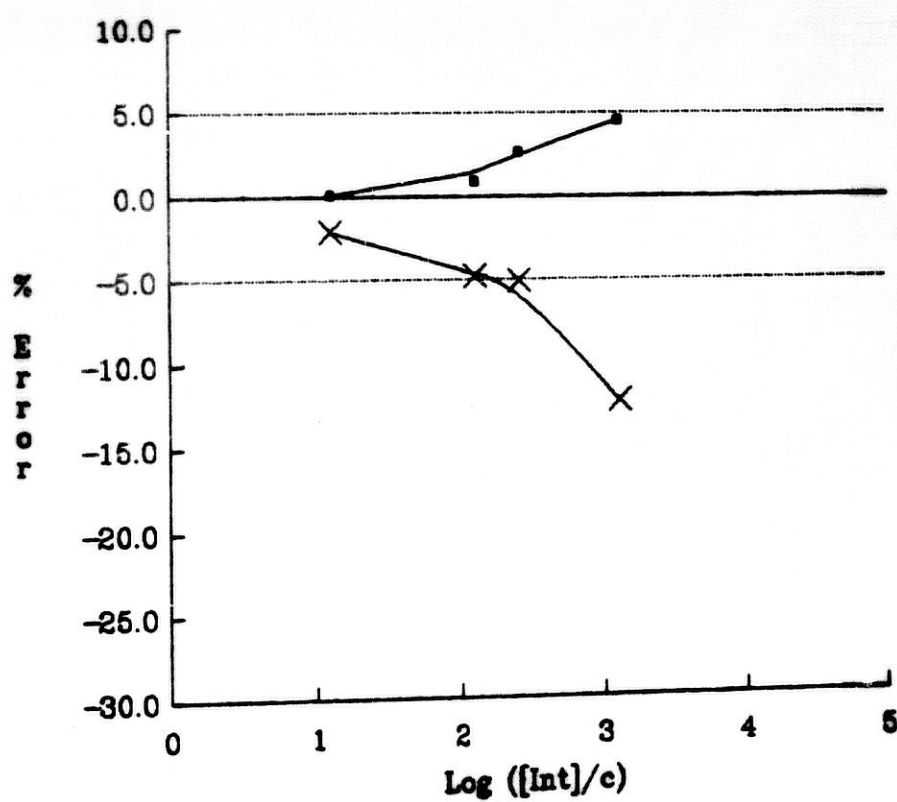


Figura VI.56. Interferencia de SO_4^{2-} para una concentración de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (●) y 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (×).

Tabla VI.30. Interferencia del ión CO_3^{2-}

Ión	($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log ([\text{CO}_3^{2-}]/C)$	(%) $Er_{\text{Be(II)}}$	(%) $Er_{\text{Al(III)}}$
CO_3^{2-}	40	1.1	-1.2	-2.0
	400	2.1	1.1	-2.3
	800	2.4	2.7	-2.1
	4000	3.1	4.3	-2.4

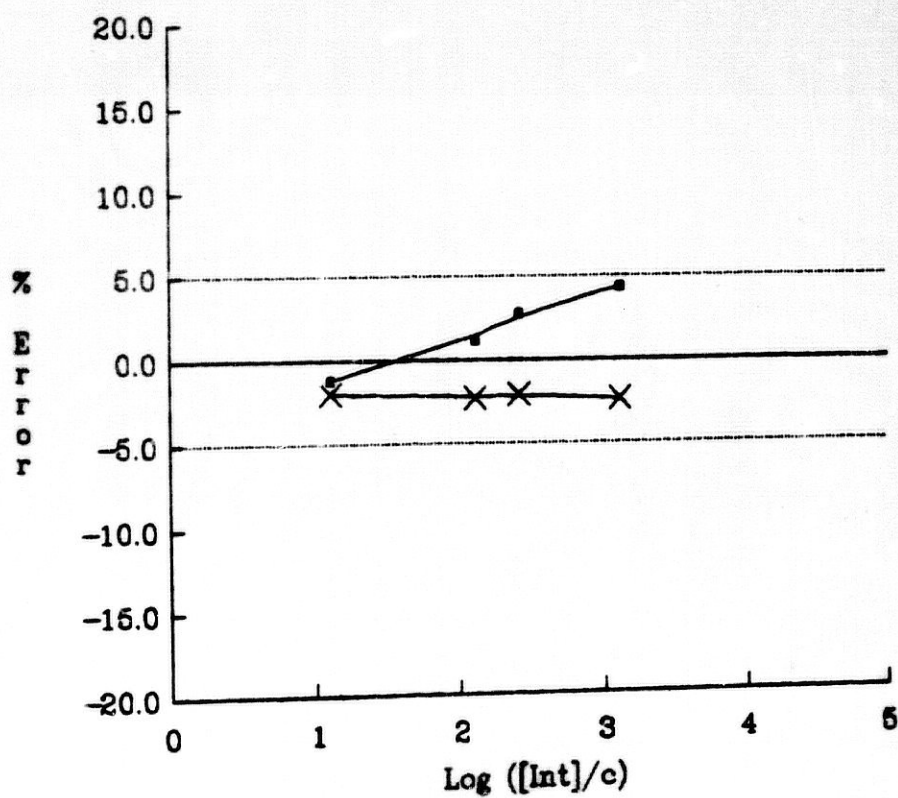


Figura VI.57. Interferencia de CO_3^{2-} para una concentración de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (•) y 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (x).

Tabla VI.31. Interferencia del ión Ca(II)

Ión	($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log ([\text{Ca(II)}]/C)$	(%) $E_{\text{Be(II)}}$	(%) $E_{\text{Al(III)}}$
Ca(II)	40	1.1	1.6	1.2
	400	2.1	4.3	-2.8
	800	2.4	11.6	-0.9
	1000	2.5	17.2	8.5

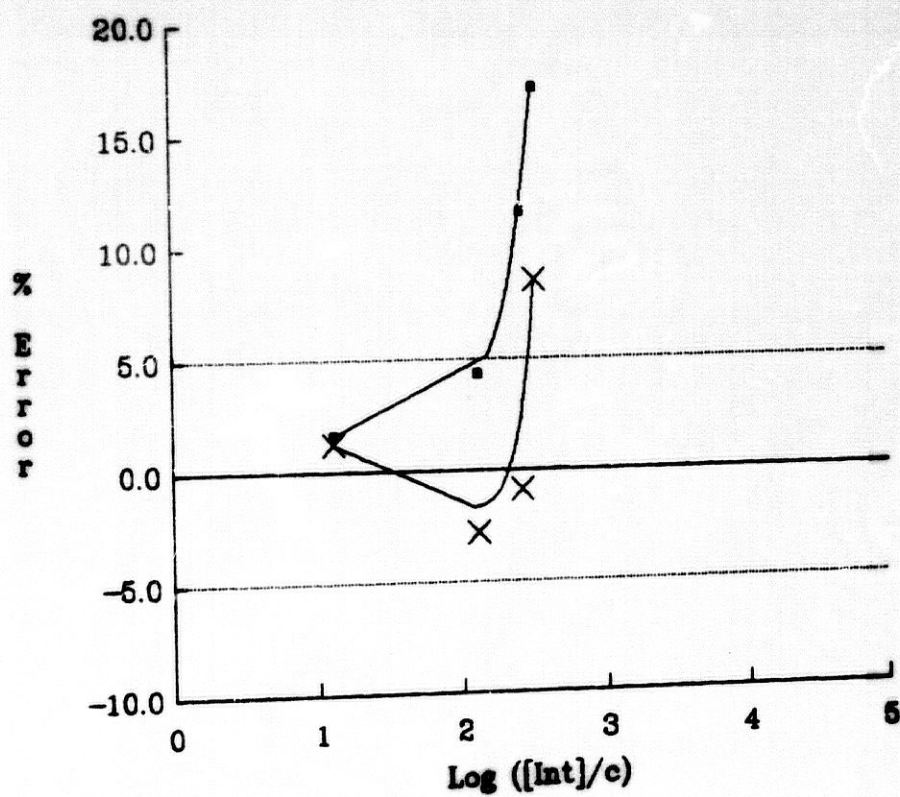


Figura VI.58. Interferencia de Ca(II) para una concentración de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (·) y 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (x).

Tabla VI.32. Interferencia del ión Fe(III)

Ión	($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log ([\text{Fe(III)}/C])$	(%) $E_{\text{Be(II)}}$	(%) $E_{\text{Al(III)}}$
Fe(III)	1	-0.5	0.4	-2.9
	10	0.5	-3.1	-2.8
	50	1.2	-9.5	-2.0
	100	1.5	-29.2	-20.2
	1000	2.5	-98.8	-99.0

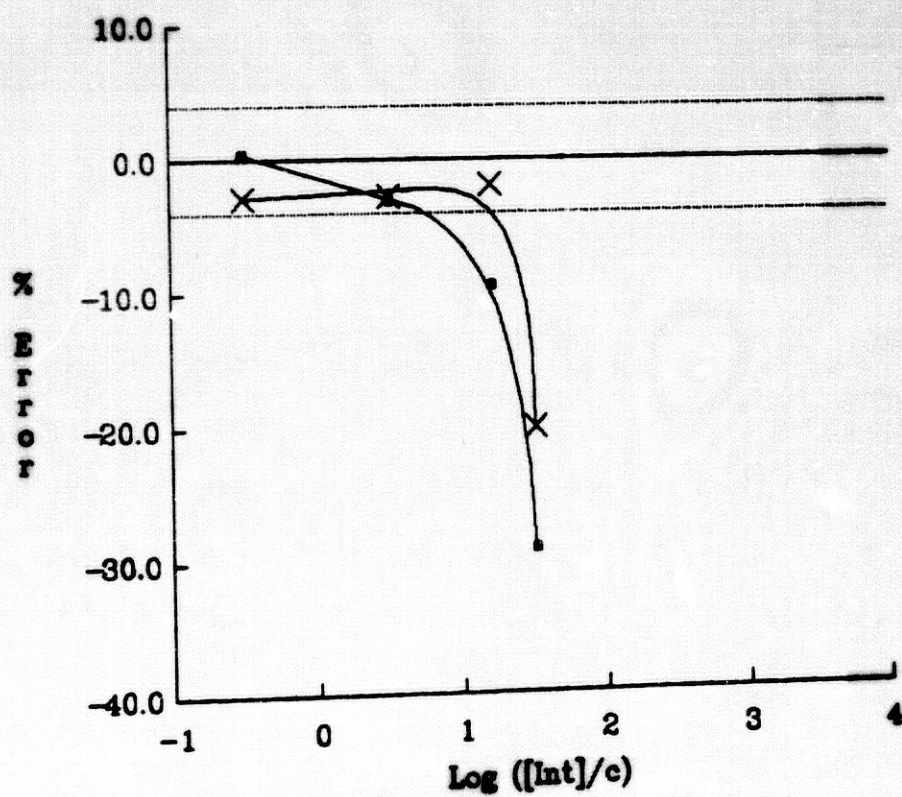


Figura VI.59. Interferencia de Fe(III) para una concentración de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (•) y 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (x).

Tabla VI.33. Interferencia del ión Mg(II)

Ión	($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log ([\text{Mg(II)}]/C)$	(%) $E_{\text{Be(II)}}$	(%) $E_{\text{Al(III)}}$
Mg(II)	20	0.8	0	1.6
	40	1.1	12.5	4.3
	400	2.1	21.1	13.7
	1000	2.5	35.7	27.3

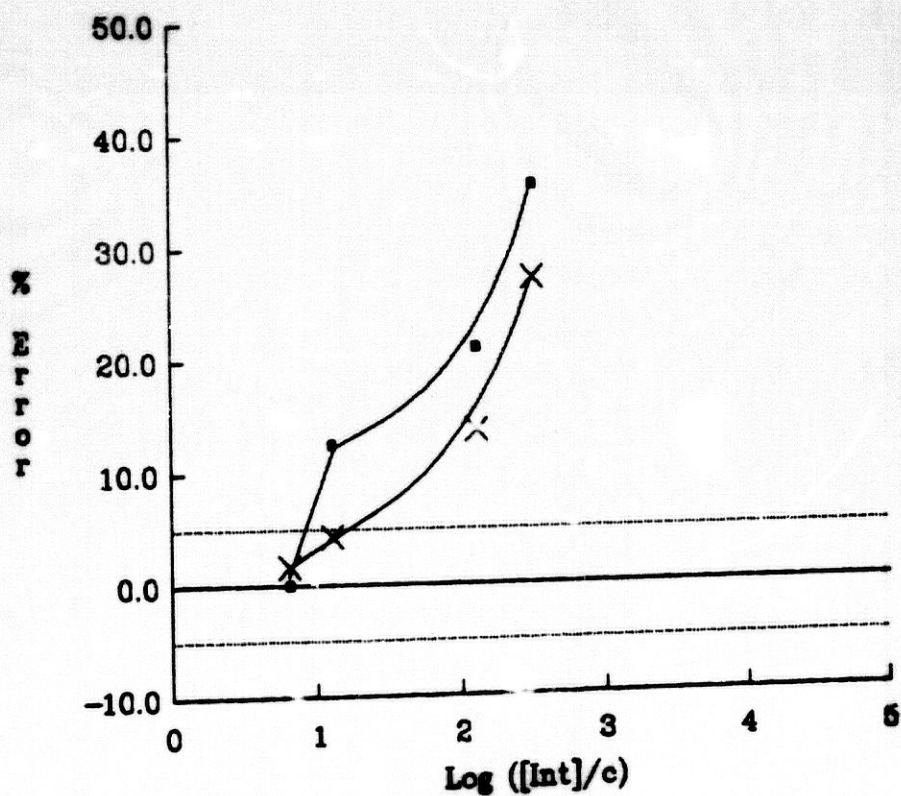


Figura VI.60. Interferencia de Mg(II) para una concentración de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (●) y 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (×).

Tabla VI.34. Interferencia del ión Cu(II)

Ión	($\mu\text{g.L}^{-1}$)	$\log(I\text{Cu(II)})/C$	(%) $E_{\text{Be(II)}}$	(%) $E_{\text{Al(III)}}$
Cu(II)	10	0.5	-0.5	-2.0
	20	0.8	-1.2	-3.1
	40	1.1	-2.3	-3.9
	400	2.1	-8.3	-17.9

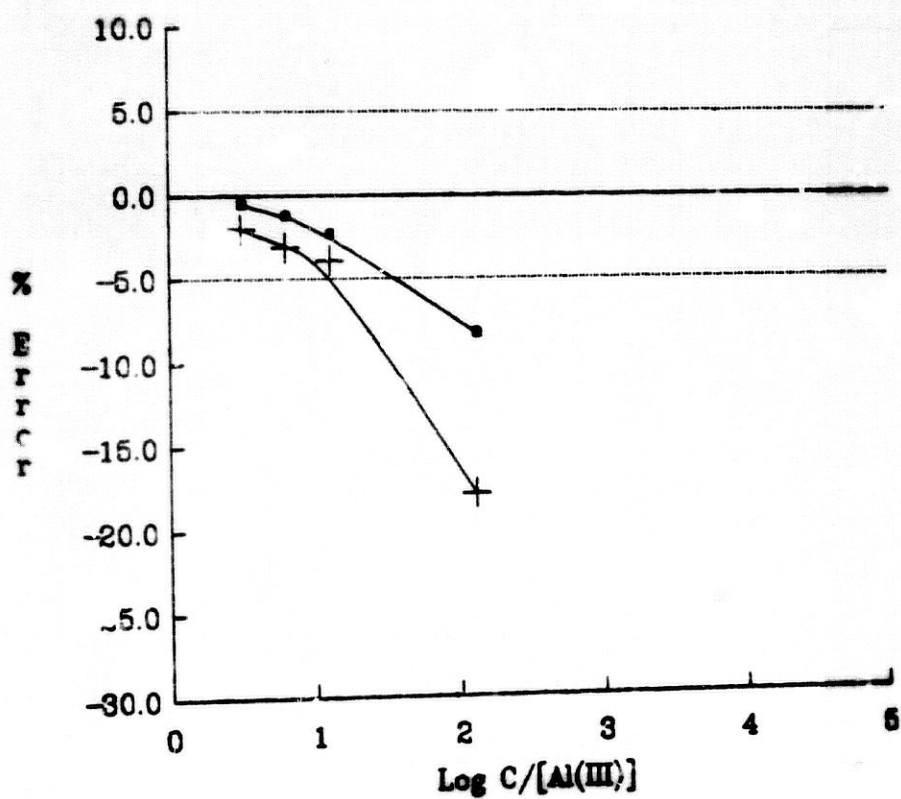


Figura VI.61. Interferencia de Cu(II) para una concentración de 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Be(II) (●) y 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de Al(III) (x).

Tabla VI.35. Interferencia del ión SiO_3^{2-}

Ión	($\mu\text{g. L}^{-1}$)	$\log ([\text{SiO}_3^{2-}]/C)$	(%) $\text{Er}_{\text{Be(II)}}$	(%) $\text{Er}_{\text{Al(III)}}$
SiO_3^{2-}	40	1.1	1.2	1.0
	400	2.1	1.1	0.8
	4000	3.1	3.2	2.7
	8000	3.4	4.3	3.9

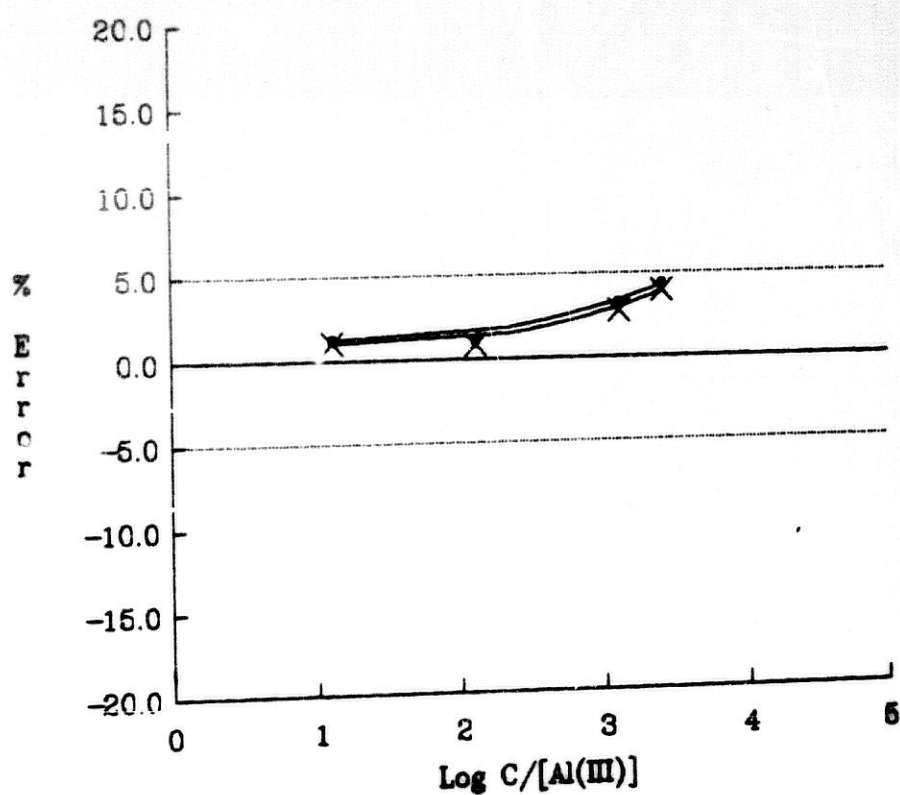


Figura VI.62. Interferencia de SiO_3^{2-} para una concentración de $3 \mu\text{g. L}^{-1}$ de Be(II) (●) y $3 \mu\text{g. L}^{-1}$ de Al(III) (x).

Tabla VI.36. Interferencia del ión PO_4^{3-}

Ión	($\mu\text{g. L}^{-1}$)	$\log(I/\text{PO}_4^{3-})/C$	(%) $E_{\text{Be(II)}}$	(%) $E_{\text{Al(III)}}$
PO_4^{3-}	10	0.5	0.4	-2.6
	40	1.1	1.0	-4.3
	400	2.1	0.8	-12.6
	800	2.4	1.7	-23.0

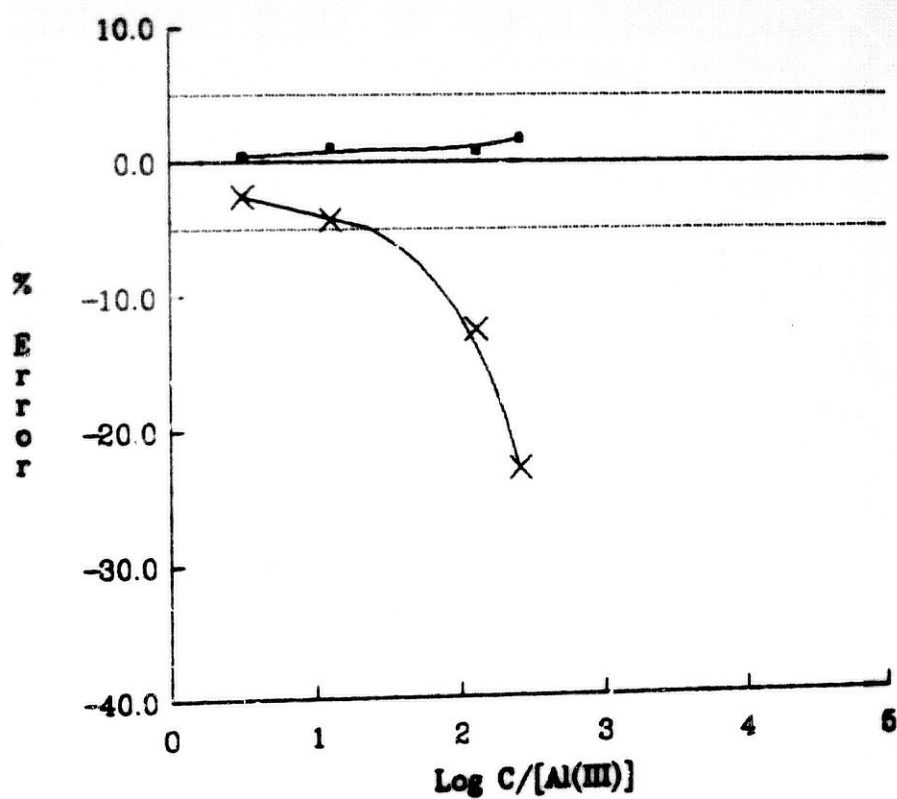


Figura VI.63. Interferencia de PO_4^{3-} para una concentración de $3 \mu\text{g. L}^{-1}$ de Be(II) (●) y $3 \mu\text{g. L}^{-1}$ de Al(III) (x).

En la tabla VI.37, se resumen los datos de tolerancia para los distintos iones extraños en la determinación de berilio y aluminio, obtenidos a partir de las figuras VI.53 VI.63, con el criterio adoptado.

Tabla VI.37. Tolerancia de los iones extraños.

Ión extraño	Tolerancia ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
	para Be(II)	para Al(III)
NO_3^-	>8000	>8000
SiO_3^{2-}	>8000	>8000
CO_3^{2-}	>4000	>4000
Cl^-	>8000	1200
SO_4^{2-}	>4000	600
PO_4^{3-}	>800	60
F^-	>400	15
Ca(II)	500	900
Cu(II)	150	45
Mg(II)	30	50
Fe(III)	20	60

De la observación de la anterior tabla VI.37 y figuras VI.48-VI.58 puede deducirse:

- No interfiere en la determinación conjunta de Be(II) y Al(III) en relación en peso de ión extraño/Be(II) o Al(III) igual o inferior a 2700: NO_3^- , SiO_3^{2-} .
- No interfiere para una relación en peso de ión extraño/Be(II) o Al(III) igual o inferior a 1300: CO_3^{2-} .

- Ejercen elevada interferencia sobre la determinación conjunta de Be(II) y Al(III) los iones Cu(II), Mg(II), Fe(III), F⁻ y PO₄³⁻, pues aunque éstos dos últimos no interfieren en la determinación de Be(II) lo hacen en gran extensión sobre la de Al(III).
- Todos los iones interfieren de forma positiva, salvo el Fe(III) y Cu(II) que lo hacen de forma negativa en la determinación de berilio y el F⁻, SO₄²⁻, Fe(III), Cu(II) y PO₄³⁻ en la determinación de aluminio.

APLICACIONES ANALITICAS

VI.8.1. APLICACIONES ANALITICAS

El método propuesto para la determinación conjunta de Al(III) y Be(II) ha sido aplicado a muestras sintéticas y reales.

VI.8.1.1. Resolución de mezclas en muestras sintéticas

Con objeto de aplicar el método propuesto para la determinación conjunta de berilio y aluminio mediante fluorescencia sincrónica derivada se han preparado una serie de muestras para las siguientes relaciones molares: 1:1, 1:2, 1:4, 4:1 y 2:1 (Be:Al).

Para cada todas ellas se ha seguido el mismo procedimiento. En un matraz aforado de 500 mL se añade el volumen de disolución de Be(II) y de Al(III) necesario para que la concentración final de los mismos sea la que se indica en cada una de las tablas. A continuación se añaden los reactivos tal y como se describe en el procedimiento operatorio.

A partir del valor absoluto de la distancia desde el espectro derivado a 430/505 nm ó 445/520 nm (respectivamente para cada catión) hasta la línea base, calculamos el error en la determinación una vez referido a la correspondiente recta de calibrado.

Con el fin de comprobar los resultados obtenidos, para cada mezcla se han realizado tres determinaciones simultáneas.

En las tablas VI.38-VI.46, se resumen los resultados obtenidos junto con el estudio estadístico.

Tabla VI.38. Relación molar 1:4 (Be:Al)

Be (II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 430/505	Be (II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al (III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 445/520	Al (III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
1.0	11.4	1.2	4.0	28.2	4.2
1.0	10.2	1.1	4.0	27.8	4.1
1.0	10.5	1.1	4.0	26.4	3.9
	$\mu\text{g. L}^{-1}$	1.1		$\mu\text{g. L}^{-1}$	4.1
	σ_{n-1}	0.05		σ_{n-1}	0.15
	% Error	10.0		% Error	2.5

Tabla VI.39. Relación molar 1:2 (Be:Al)

Be (II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 430/505	Be (II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al (III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 445/520	Al (III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
1.0	10.6	1.1	2.0	15.0	2.1
1.0	10.2	1.1	2.0	14.5	2.0
1.0	9.7	1.0	2.0	15.7	2.2
	$\mu\text{g. L}^{-1}$	1.1		$\mu\text{g. L}^{-1}$	2.1
	σ_{n-1}	0.06		σ_{n-1}	0.10
	% Error	10.0		% Error	5.0

Tabla VI.40. Relación molar 1:2 (Be:Al)

Be (II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 430/505	Be (II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al (III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 445/520	Al (III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
2.0	17.2	2.0	4.0	27.4	4.1
2.0	19.1	2.2	4.0	28.6	4.3
2.0	18.4	2.1	4.0	28.8	4.3
.....					
	$\mu\text{g. L}^{-1}$	2.1		$\mu\text{g. L}^{-1}$	4.2
	σ_{n-1}	0.10		σ_{n-1}	0.12
	% Error	5.0		% Error	5.0

Tabla VI.41. Relación molar 1:1 (Be:Al)

Be (II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 430/505	Be (II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al (III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 445/520	Al (III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
1.0	11.1	1.2	1.0	8.6	1.0
1.0	11.4	1.2	1.0	9.1	1.2
1.0	9.9	1.0	1.0	9.4	1.2
.....					
	$\mu\text{g. L}^{-1}$	1.1		$\mu\text{g. L}^{-1}$	1.1
	σ_{n-1}	0.12		σ_{n-1}	0.12
	% Error	10.0		% Error	10.0

Tabla VI.42. Relación molar 1:1 (Be:Al)

Be(II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/ $d\lambda$ 430/505	Be(II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al(III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/ $d\lambda$ 445/520	Al(III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
2.0	18.9	2.2	2.0	15.6	2.2
2.0	18.4	2.1	2.0	13.8	1.9
2.0	16.6	1.9	2.0	14.9	2.1
		$\mu\text{g. L}^{-1}$ 2.1			$\mu\text{g. L}^{-1}$ 2.1
		σ_{n-1} 0.15			σ_{n-1} 0.15
		% Error 5.0			% Error 5.0

Tabla VI.43. Relación molar 1:1 (Be:Al)

Be(II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/ $d\lambda$ 430/505	Be(II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al(III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/ $d\lambda$ 445/520	Al(III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
4.0	31.7	3.8	4.0	26.4	3.9
4.0	32.6	3.9	4.0	27.6	4.1
4.0	32.7	3.9	4.0	28.1	4.2
		$\mu\text{g. L}^{-1}$ 3.9			$\mu\text{g. L}^{-1}$ 4.1
		σ_{n-1} 0.06			σ_{n-1} 0.15
		% Error -2.5			% Error 2.5

Tabla VI.44. Relación molar 2:1 (Be:Al)

Be (II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 430/505	Be (II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al (III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 445/520	Al (III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
2.0	18.1	2.1	1.0	8.8	1.1
2.0	18.3	2.1	1.0	8.6	1.1
2.0	17.2	2.0	1.0	7.9	1.0
		$\mu\text{g. L}^{-1}$	2.1		
		σ_{n-1}	0.06		
		% Error	5.0		
				$\mu\text{g. L}^{-1}$	1.1
				σ_{n-1}	0.06
				% Error	10.0

Tabla VI.45. Relación molar 2:1 (Be:Al)

Be (II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 430/505	Be (II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al (III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 445/520	Al (III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
4.0	35.0	4.2	2.0	13.6	1.9
4.0	34.1	4.1	2.0	16.0	2.3
4.0	32.6	3.9	2.0	13.5	1.9
		$\mu\text{g. L}^{-1}$	4.1		
		σ_{n-1}	0.15		
		% Error	2.5		
				$\mu\text{g. L}^{-1}$	2.1
				σ_{n-1}	0.23
				% Error	5.0

Tabla VI.46. Relación molar 4:1 (Be:Al)

Be(II) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 430/505	Be(II) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$	Al(III) añadido $\mu\text{g. L}^{-1}$	dIFR/d λ 445/520	Al(III) encontrado $\mu\text{g. L}^{-1}$
4.0	34.9	4.2	1.0	9.8	1.3
4.0	34.2	4.1	1.0	6.2	0.7
4.0	32.5	3.9	1.0	7.4	0.9
	$\mu\text{g. L}^{-1}$	4.1		$\mu\text{g. L}^{-1}$	0.9
	σ_{n-1}	0.15		σ_{n-1}	0.30
	% Error	2.5		% Error	-10.0

En la tabla VI.47, se resumen los resultados obtenidos en la resolución de mezclas de berilio y aluminio para las distintas relaciones molares ensayadas.

Tabla VI.47. Determinación conjunta de berilio y aluminio en mezclas binarias

Relación molar Be:Al	Be(II) ($\mu\text{g L}^{-1}$)		%Error	Al(III) ($\mu\text{g L}^{-1}$)		%Error
	añadido	encontrado*		añadido	encontrado*	
1:4	1.0	1.1	10.0	4.0	4.1	2.5
1:2	1.0	1.1	10.0	2.0	2.1	5.0
1:2	2.0	2.1	5.0	4.0	4.2	5.0
1:1	1.0	1.1	10.0	1.0	1.1	10.0
1:1	2.0	2.1	5.0	2.0	2.1	5.0
1:1	4.0	3.9	-2.5	4.0	4.1	2.5
2:1	2.0	2.1	5.0	1.0	1.1	10.0
2:1	4.0	4.1	2.5	2.0	2.1	5.0
4:1	4.0	4.1	2.5	1.0	0.9	-10.0

* media de 5 determinaciones

Se concluye, por tanto, que de acuerdo con los resultados obtenidos el método propuesto es válido para la determinación conjunta de berilio y aluminio.

VI.8.1.2. Resolución de mezclas en muestras reales

Se ha planteado la aplicación de éste método a la determinación simultánea de berilio y aluminio en muestras reales. Se ha seleccionado un tipo de agua de manantial (Ortigosa del Monte), que ya se ha empleado con anterioridad en ésta Memoria de Doctorado.

En todos los casos se ha empleado un pequeño volumen de agua que se ha diluido hasta 500 mL con agua bidestilada para el análisis de las muestras, ya que el contenido de aluminio en las mismas es superior al rango de aplicación del método. Sin embargo, el berilio se adiciona en todos los casos, ya que la concentración de éste catión en el agua a analizar es muy inferior al límite de determinación del método.

El método analítico empleado es el método de adición de patrón y la medida directa referida a la recta de calibrado.

VI.8.1.2.1. Procedimiento propuesto para el análisis de aguas.

Se toma un volumen de muestra adecuado de forma que la concentración de berilio y aluminio presente esté comprendido en el rango de la recta de calibrado y se enrasa con agua bidestilada hasta 500 mL. Se transvasa a un frasco de polietileno y se añaden 7 mL de disolución etanólica de morina de $6.2 \times 10^{-3}\%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de pH = 5.75 y 100 mg de Sephadex G-15.

La mezcla se agita mecánicamente durante 15 minutos, y los siguientes pasos son los que se indican en el procedimiento operatorio.

Se emplea el método de adición de patrón o la medida directa referida a la recta de calibrado (si las pendientes de ambas rectas son del mismo orden), para determinar conjuntamente el contenido de Be(II) y Al(III) en las aguas.

VI.8.1.2.2. Método de referencia.

Se ha empleado como método de referencia para la determinación de Aluminio la medida por Absorción atómica con llama de óxido nitroso-acetileno. Se basa en la formación de un complejo quelato por la adición de 8-hidroxiquinoleína al agua que contiene aluminio y su posterior extracción en metilisobutil cetona (191).

VI.8.1.2.3. Determinación conjunta de berilio y aluminio en aguas de manantial. Agua de Ortigosa del Monte.

Se ha aplicado el método propuesto al agua de manantial de Ortigosa del Monte, cuya composición media en componentes mayoritarios y técnica aplicada para su determinación, ya se indicó en el capítulo IV.

De acuerdo con la tolerancia (tabla VI.37) que presenta el método propuesto para Be(II) y Al(III), y dado que es necesario diluir la muestra, no interfieren las concentraciones de iones presentes en el agua a analizar.

El método de referencia nos permite determinar un contenido de Al(III) en la muestra de agua que se indica en la tabla VI.48.

Tabla VI.48. Contenido de Al(III) en el agua mineral de Ortigosa del Monte. Método de referencia.

Al(III) $\mu\text{g.L}^{-1}$
13.6
14.2
15.1
.....
14.3 \pm 0.7
.....
% DSR = 4.9

Este valor permite diluir la muestra de agua hasta que la concentración de Al(III) esté comprendida en el rango de la recta de calibrado. Por ello, la dilución de la muestra también rebaja la concentración de los otros componentes por lo que su contenido no será interferencia en la aplicación directa del método propuesto.

Método analítico empleado y resultados

Cómo método analítico de trabajo se ha empleado la medida directa referida a la recta de calibrado y la recta de calibrado por adición de patrón.

- CALIBRADO POR MEDIDA DIRECTA

Para la determinación conjunta del contenido de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte, se tomaron 100 mL de la misma a los que se añadieron 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} , y se enrasó hasta 500 mL con agua bidestilada.

A continuación se añadieron 7 ml de disolución etanólica de morina 6.2×10^{-3} %, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de pH = 5.75 y 100 mg de Sephadex G-15.

Se ha preparado un blanco de agua bidestilada que no contiene los cationes y que se ha sometido al mismo tratamiento que la muestra.

Se agitó durante 15 minutos y los siguientes pasos fueron los que se indican en el método operatorio.

El proceso se repite tres veces para comprobar los resultados obtenidos.

Los valores obtenidos de la distancia del espectro derivado a 430/505 nm ó 445/520 nm (para cada catión, respectivamente) a la línea base se trasladaron a las rectas de calibrado previamente obtenidas, cuyos resultados se indican en las tablas VI.49 y VI.50.

Tabla VI.49. Recta de calibrado de Be(II)

ppb Be(II)	dIFR/dλ
0	0
0.5	5.6
1.0	10.6
2.0	17.6
3.0	26.5
4.0	34.1
5.0	39.3

La recta de calibrado obtenida corresponde a la siguiente ecuación, una vez ajustada por mínimos cuadrados:

$$\text{IFR} = 7.88 [\text{Be(II)}] + 1.65 \quad r = 0.996$$

donde la $[\text{Be(II)}]$ viene dada en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Tabla VI.50. Recta de calibrado de Al(III)

ppb Al(III)	dIFR/dλ
0	0
0.5	5.0
1.0	8.7
2.0	15.3
3.0	20.9
4.0	26.6
5.0	32.7

La recta de calibrado obtenida corresponde a la siguiente ecuación, una vez ajustada por mínimos cuadrados:

$$\text{IFR} = 6.33 [\text{Al(III)}] + 1.57 \quad r = 0.997$$

donde la $[\text{Al(III)}]$ viene dada en $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Los resultados obtenidos en la determinación simultánea de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte, obtenidos de la medida adecuada en el espectro derivado corregido con el blanco, se indican en las tablas VI.51. En la tabla VI.52 se indican el contenido de Be(II) y Al(III), una vez corregidos

los volúmenes, junto con el estudio estadístico y en la tabla VI.53, los resultados del estudio de recuperación del berilio.

Tabla VI.51. Determinación de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte

Vol. Problema (mL)	Be(II) añadida ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	Vol. Final (mL)	dIFR/d λ (430/505)	dIFR/d λ (445/520)
100	3	500	23.2	16.8
100	3	500	24.1	17.9
100	3	500	23.9	17.0

Tabla VI.52. Contenido de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte. Calibrado por medida directa.

Al(III) ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	Be(II) ($\mu\text{g. L}^{-1}$)
12.0	<0.20
12.9	<0.20
12.2	<0.20
.....	
12.4 \pm 0.5	
.....	
% DSR = 4.0	

Tabla VI.53. Recuperación de Be(II)

Be(II) añadido ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Be(II) recup. ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	%recup.
3.0	2.7	90.0
3.0	2.8	93.4
3.0	2.8	93.4
.....		
2.8 \pm 0.1		92.3

De las tablas anteriores puede deducirse que es posible la determinación simultánea de Be(II) y Al(III) por el método propuesto.

- CALIBRADO POR ADICION DE PATRON

Para la determinación simultánea de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte, se realizó una recta de calibrado por adición de patrón de la siguiente manera. Se tomaron en cinco matraces aforados, 100 mL de agua a analizar y 15 mL de disolución de Be(II) de 0.1 mg.L^{-1} y se enrasó hasta 500 mL con agua bidestilada.

Se transfieren las disoluciones a frascos de polietileno y se añaden a cada uno de ellos 0, 2.5, 5.0, 7.5 y 10 mL de disolución de Be(II) y de disolución de Al(III), ambas de una concentración de 0.1 mg.L^{-1} .

A continuación se adicionan 7 mL de disolución etanólica de morina $6.2 \times 10^{-3} \%$, 10 mL de disolución reguladora de ácido acético/acetato sódico de $\text{pH} = 5.75$ y 100 mg de Sephadex

G-15. Se preparó también un blanco de agua bidestilada que no contenía los cationes.

Se agitan durante 15 minutos y se sigue el procedimiento tal y como se describe en el método operatorio.

Con el fin de comprobar los resultados obtenidos, se realizaron tres determinaciones simultáneas.

Los resultados obtenidos en la medida de la primera derivada en los espectros derivados corregidos por el blanco se reflejan en la tabla VI.54, y se han representado graficamente en las figuras VI.64 y VI.65, la recta de calibrado de mejor ajuste, respectivamente para ambos.

Tabla VI.54. Determinación de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte

<i>V. agua</i> (mL)	<i>Be(II) añad.</i> ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<i>V. Final</i> (mL)	<i>Be(II) añad.</i> ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<i>Al(III) añad.</i> ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	<i>dIFR/dA</i> (430/505)	<i>dIFR/dA</i> (445/520)
100	---	500	---	---	22,9	16,8
100	3	500	0,5	0,5	27,0	19,1
100	3	500	1,0	1,0	31,3	22,3
100	3	500	1,5	1,5	35,6	25,6
100	3	500	2,0	2,0	39,0	28,4
100	---	500	---	---	23,0	19,8
100	3	500	0,5	0,5	27,1	23,1
100	3	500	1,0	1,0	31,2	26,0
100	3	500	1,5	1,5	35,1	29,1
100	3	500	2,0	2,0	39,0	33,4
100	---	500	---	---	24,6	17,6
100	3	500	0,5	0,5	29,0	21,4
100	3	500	1,0	1,0	32,9	24,6
100	3	500	1,5	1,5	37,9	27,2
100	3	500	2,0	2,0	40,3	30,3

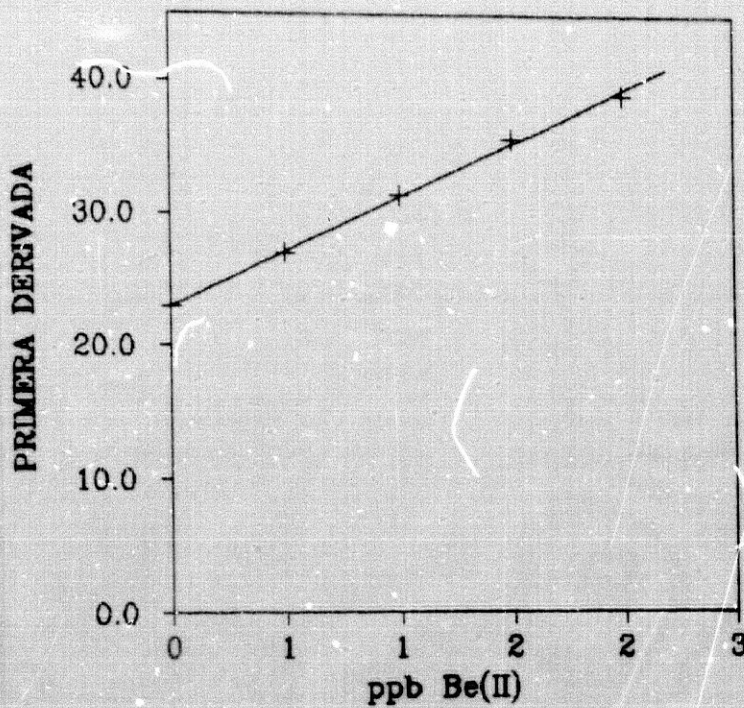


Figura VI.64. Recta de calibrado por adición de patrón

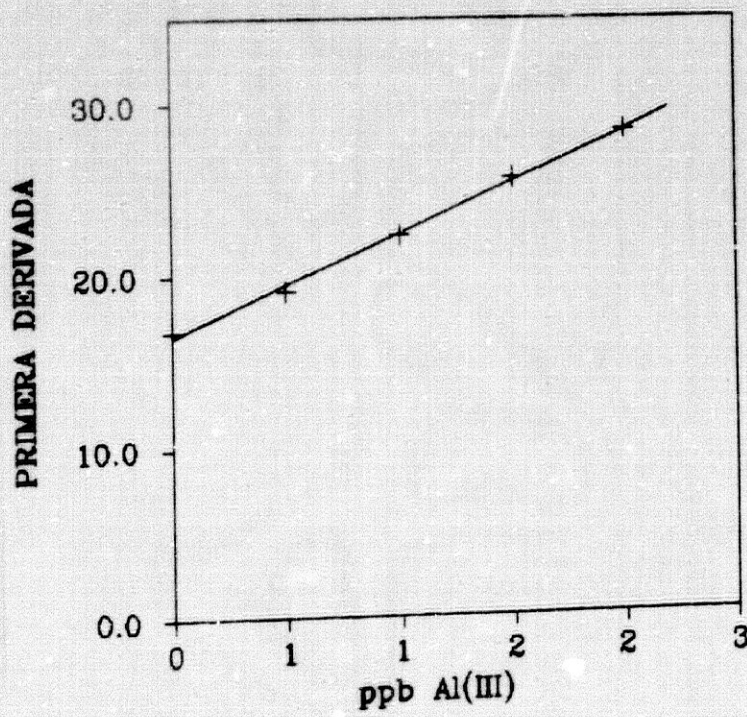


Figura VI.65. Recta de calibrado por adición de patrón

Ajustando las rectas obtenidas por mínimos cuadrados se obtienen los resultados que se indican en la tabla VI.55.

Tabla VI.55.

$IFR = f(C)$	coef. regres.	[Be(II)] ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	Al(III) ($\mu\text{g. L}^{-1}$)
$IFR = 23.00 + 8.16 [\text{Be(II)}]$	0.999	2.8	
$IFR = 23.08 + 8.00 [\text{Be(II)}]$	0.999	2.9	
$IFR = 24.88 + 8.06 [\text{Be(II)}]$	0.996	3.1	
$IFR = 16.50 + 5.94 [\text{Al(III)}]$	0.998		2.8
$IFR = 19.64 + 6.64 [\text{Al(III)}]$	0.997		3.0
$IFR = 17.98 + 6.24 [\text{Al(III)}]$	0.998		2.9

Una vez corregidas las diluciones, la concentración de Al(III) determinado se indica en la tabla VI.56 junto con el estudio estadístico.

Tabla VI.56. Contenido de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte. Calibrado por adición de patrón.

Al(III) ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	Be(II) ($\mu\text{g. L}^{-1}$)
14.0	>0.20
15.0	>0.20
14.5	>0.20
.....	
14.5 ± 0.5	
.....	
% DSR = 3.4	

En la tabla VI.57 se resume el estudio de recuperación de berilio.

Tabla VI.57. Recuperación de Be(II)

Be(II) añadido ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Be(II) recup. ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	% recup.
3.0	2.8	93.4
3.0	2.9	96.7
3.0	3.1	103.4
2.9 \pm 0.2		97.8

Al realizar la determinación conjunta de Be(II) y Al(III) en el agua de Ortigosa del Monte mediante el método de adición de patrón, se observó que la pendiente es del orden de la recta de calibrado, en ambos casos.

En la tabla VI.58, se resumen los contenidos en el análisis del agua.

Tabla VI.58. Contenido de Be(II) y Al(III) en el agua de Bezoya

contenido $\mu\text{g.L}^{-1}$	método referencia*	DSR (%)	medida directa*	DSR (%)	adición de patrón*	DSR (%)
Be(II)	---	---	<0.20	---	<0.20	---
Al(III)	14.3	4.8	12.4	4.0	14.5	3.4

* media de tres determinaciones

C O N C L U S I O N E S

CONCLUSIONES

1.- Se ha realizado un estudio cualitativo de la fijación de los complejos morina-Be(II) y morina-Al(III) sobre varios soportes sólidos y a diferentes valores de pH, al objeto de seleccionar el soporte adecuado donde fijar los complejos fluorescentes en estudio. Se concluye que el complejo morina-Be(II) muestra máxima fluorescencia cuando se fija sobre el cambiador aniónico Sephadex QAE A-25 en medio fuertemente básico. El complejo Al(III)-morina presenta la máxima intensidad de fluorescencia cuando se fija en un cambiador catiónico SP C-25 en medio debilmente ácido. Los complejos morina-Be(II) y morina-Al(III) muestran fluorescencia simultaneamente en el soporte neutro Sephadex G-15 y a un valor de pH próximo a la neutralidad.

2.- Se estudia la influencia que las diversas posiciones de la cubeta de medida ejerce sobre la intensidad de fluorescencia del sistema y se deduce que el soporte empleado puede influir en la geometría óptima del sistema. Para Sephadex QAE y SP es conveniente realizar la medida de la fluorescencia difusa transmitida.

3.- Se ha realizado el estudio espectrofluorimétrico de la morina por Espectrofluorimetría de Cambio Iónico, técnica iniciada y desarrollada en el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Granada por F. Capitán y col., empleando como soporte un cambiador aniónico, Sephadex QAE A-25, un

cambiador catiónico SP C-25 y un adsorbente Sephadex G-15. Se han establecido las características luminiscentes de esta hidroxiflavona fijada sobre un soporte sólido y la influencia de diversos factores sobre esta emisión luminiscente.

4.- Se ha realizado el estudio espectrofluorimétrico del sistema morina-Be(II) por Espectrofluorimetría de Cambio Iónico, empleando como soporte la resina aniónica Sephadex QAE A-25. Se han optimizado las distintas variables que influyen sobre la fijación y la intensidad de fluorescencia del complejo en fase resina.

5.- Se ha establecido que el tiempo de vida media del estado excitado del complejo Be-morina en fase resina a varias temperaturas es inferior a 5×10^{-6} s, lo que nos hace pensar que se trate de un proceso de fluorescencia y no de fosforescencia.

6.- Se proponen nuevos métodos para la determinación de Be(II) por Espectrofluorimetría de Cambio Iónico para un volumen final de 250, 500 y 1000 mL de disolución, válidos todos ellos en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0.1 y $0.7 \mu\text{g.L}^{-1}$ y cuyas características analíticas se resumen en la tabla.

parámetro	250 mL	500 mL	1000 mL
ordenada en el origen	-2.2	1.5	-3.1
pendiente	117.94	124.03	144.70
rango lineal ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.10-0.70	0.10-0.70	0.10-0.70
coeficiente de correlación	0.997	0.999	0.996
límite de detección ($k = 3$) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.02	0.02	0.02
límite de determinación ($k = 10$) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.06	0.06	0.06
R.D. (%)	1.7	1.4	1.2
sensibilidad analítica	0.005	0.005	0.004

7.- Se ha ensayado el efecto producido por la presencia de iones extraños en la determinación de Be(II), comprobándose que el ión fluoruro no interfiere en relación en peso de ión extraño/Be(II) igual o inferior a 80000. Presentan interferencia moderada los iones SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} y SiO_3^{2-} y causan gran interferencia la presencia de los iones Ca(II), Mg(II), Fe(III) y Al(III).

8.- Se ha procedido con la ayuda de agentes enmascarantes a la eliminación de la interferencia provocada por los iones anteriormente mencionados, con objeto de aplicar el método propuesto a la determinación de Be(II) en aguas naturales.

9.- Se ha aplicado el método propuesto a la determinación de Be(II) en aguas de manantial, de pantano y urbana, encontrándose los resultados que se resumen en la tabla. Se ha realizado asimismo un estudio de recuperación con buenos resultados.

agua	contenido de Be(II) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	
	medida directa*	adición de patrón*
mineral Bezoya	<0.06	----
mineral Lanjarón	----	0.10 \pm 0.01
bruta Quentar	<0.10	<0.10
grifo Granada	0.09 \pm 0.01	0.09 \pm 0.01

* media de tres determinaciones

10.- Se ha realizado el estudio espectrofluorimétrico del sistema morina-Al(III) por Espectrofluorimetría de Cambio Iónico, empleando como soporte la resina catiónica Sephadex SP C-25. Se han optimizado las distintas variables que influyen sobre la fijación y la intensidad de fluorescencia del complejo en fase resina.

11.- Se ha determinado que el tiempo de vida media del estado excitado del complejo Al-morina en fase resina es inferior a 5×10^{-6} s, lo que nos hace pensar que se trate de un proceso de fluorescencia y no de fosforescencia.

12.- Se proponen nuevos métodos para la determinación de Be(II) por Espectrofluorimetría de Cambio Iónico para un volumen final de 250, 500 y 1000 mL, válido en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0.4 y 1.6 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para un volumen final de 250 y 500 mL y de 0.2 y 1.2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para un volumen final de 1000 mL, y cuyas características analíticas se resumen en la tabla.

Parámetros analíticos	Volumen de muestra		
	250 mL	500 mL	1000 mL
ordenada en el origen	-1.24	-0.08	1.94
pendiente	15.10	35.90	48.35
rango lineal ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.4-1.6	0.4-1.6	0.2-1.2
coeficiente de correlación	0.991	0.999	0.997
límite de detección ($k = 3$) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.05	0.04	0.03
límite de determinación ($k = 10$) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.18	0.12	0.07
RSD (%)	2.9	2.0	2.7
sensibilidad analítica	0.035	0.012	0.013

13.- Se ha ensayado el efecto producido por la presencia de iones extraños en la determinación de Be(II), comprobándose que el ión CO_3^{2-} y NO_3^- no interfieren en relación en peso de ión extraño/Be(II) superior a 10000. Presentan interferencia moderada los iones SO_4^{2-} , Cl^- , Mg(II), Ca(II) y PO_4^{3-} y causan gran interferencia la presencia de los iones Cu(II), F⁻ y Fe(III).

14.- Se ha aplicado el método propuesto a la determinación de Al(III) en aguas de manantial, de pantano y urbana que se resume en la siguiente tabla, realizándose asimismo un estudio de recuperación con buenos resultados en ambos casos.

agua	contenido en Al(III) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)					
	AA*	DSR (%)	medida directa*	DSR (%)	adición de patrón*	DSR (%)
Ortigosa del Monte	14,5	5,5	14,2 (2,1%)	2,8	16,4 (13,1%)	4,9
Lanjarón	5,0	6,0	-----	--	5,5 (10,0%)	3,1
Pantano	18,4	6,0	-----	--	19,7 (7,1%)	6,6
Urbana	157,1	5,5	157,8 (0,4%)	2,7	151,7 (3,4%)	4,8

* media de tres determinaciones

15.- Se ha realizado el estudio de la fijación conjunta de los sistemas morina-Al(III) y morina-Be(II) en el soporte Sephadex G-15 por Espectrofluorimetría en fase sólida y Espectrofluorimetría Sincrónica Derivada en fase sólida. Se han optimizado las distintas variables que influyen sobre la fijación e intensidad de fluorescencia de los dos sistemas y se han seleccionado los parámetros instrumentales con objeto de encontrar las condiciones óptimas para su determinación conjunta. Se eligen como longitudes de onda analíticas en la primera derivada $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 430/505$ nm para el berilio y $\lambda_{exc}/\lambda_{em} = 445/520$ nm para el aluminio.

16.- Se propone un método de determinación conjunta de Be(II) y Al(III) mediante fluorescencia sincrónica derivada en fase sólida, válido para el rango de concentraciones comprendido entre 0.5 y 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ para ambos cationes, y se resumen las características analíticas en la siguiente tabla.

Parámetros analíticos	Be(II)	Al(III)
ordenada en el origen	1.65	1.57
pendiente	7.88	6.33
rango lineal ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.5-5.0	0.5-5.0
coeficiente de correlación	0.996	0.997
límite de detección (k = 3) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.06	0.11
límite de determinación (k = 10) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	0.20	0.36
RSD (%)	3.6	4.6
sensibilidad analítica	0.074	0.164

17.- Ejercen elevada interferencia sobre la determinación conjunta de Be(II) y Al(III) los iones Cu(II), Mg(II), Fe(III), F^- y PO_4^{3-} , pues aunque la presencia de éstos dos últimos no interfiere en la determinación de Be(II) lo hacen en gran extensión sobre la de Al(III).

18.- Se ha aplicado el método propuesto a la determinación conjunta de Be(II) y Al(III) tanto en mezclas de muestras sintéticas como reales, encontrándose en ambos casos buenos resultados. En la tabla se resumen los resultados obtenidos en la aplicación a aguas de manantial.

contenido $\mu\text{g.L}^{-1}$	método referencia*	DSR (%)	medida directa*	DSR (%)	adición de patrón*	DSR (%)
Be(II)	---	---	<0.20	---	<0.20	---
Al(III)	14.3	4.8	12.4	4.0	14.5	3.4

* media de tres determinaciones

B I B L I O G R A F I A

BIBLIOGRAFIA

- 1.- K. YOSHIMURA, W. WAKI, S. OSHASI, *Talanta*; 23 449 (1976).
- 2.- M. FUJIMOTO, *Chemist. Analyst*; 49 4 (1960).
- 3.- I.U.P.A.C. Analytical Chemistry Division. Comision on Analytical Reaction. Reagents and Reactions for Qualitative Inorganic Analysis. Fith Report. Butterworths. (1967).
- 4.- S. NIGO, K. YOSHIMURA y T. TARUTANI; *Talanta*, 28 669 (1981).
- 5.- S. NIGO, K. YOSHIMURA y T. TARUTANI; *Talanta*, 29 173 (1982).
- 6.- K. YOSHIMURA, W. WAKI, S. OSHASI, *Talanta*; 25 579 (1978).
- 7.- Y. TOSHIMITSU, K. YOSHIMURA y S. OSHASI; *Talanta*, 26 273 (1979).
- 8.- K. YOSHIMURA y S. OSHASI, *S. Mem. Fac. Sc. Kyushu University, Ser. C.*; 11 181 (1978).
- 9.- K. YOSHIMURA, Y. TOSHIMITSU y S. OSHASI; *Talanta*, 27 579 (1981).
- 10- H. WAKI y J. KORKISCH; *Talanta*, 30 95 (1983).
- 11.- KENKYU, HOBUN-ASAHI, KAWA; *Kogyo, koto, Senmon, Gakko*, 21 117 (1984).
- 12.- J.M. BOSQUE, C. MERIDA y L.F. CAPITAN-VALLVEY; *Analisis en prensa*.
- 13.- F. CAPITAN, M.C. VALENCIA y L.F. CAPITAN-VALLVEY; *Microchim. Acta III*, 303 (1984).
- 14.- F. CAPITAN, L.F. CAPITAN-VALLVEY y M.C. GOMEZ; *Quim. Anal.*, 6, 343 (1987).
- 15.- F. CAPITAN, M.C. VALENCIA, L. CUADROS y L.F. CAPITAN-VALLVEY; *Microchem. J.*, 31 396 (1985).
- 16.- L.F. CAPITAN -VALLVEY, M.C. VALENCIA y J. GARCIA; *Quim. Anal.*, 6 445 (1987).

- 17.- F. MOLINA, M.C. VALENCIA, J. DE LA TORRE MORENO y L.F. CAPITAN-VALLVEY; *J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, en prensa
- 18.- L.F. CAPITAN -VALLVEY, M.C. VALENCIA y J.M. BOSQUE SENDRA; *Analyst*, 113 419 (1988).
- 19.- L.F. CAPITAN -VALLVEY, M.C. VALENCIA y I. DE ORBE; aceptado para su publicación en *Microchem. J.*
- 20.- L.F. CAPITAN -VALLVEY, J.M. BOSQUE SENDRA y M.C. VALENCIA; enviado para su publicación en *Analisis*.
- 21.- R.J. HURTUBISE, "Solid Surface Luminiscence Analysis", Marcel Dekker, inc (1981).
- 22.- C.A. HELLER, R.R. McBRIDE y M.A. RONNING; *Anal. chem*, 49 (14) 2251 (1977).
- 23.- G.G. GUILBAUT y A. VAUGHAN; *Anal. Chim. Acta*, 55 107 (1971).
- 24.- G.G. GUILBAUT y A. VAUGHAN; *Anal. Chim. Acta*, 58 75 (1972).
- 25.- M.A. DITZLER, G. DOHERTY, S. SIEBER y R. ALLSTON; *Anal. Chim. acta*, 142 305 (1982).
- 26.- J.R. LAKOWICZ; "Principles of Fluorescence Spectroscopy", Plenum Press. New York (1984).
- 27.- A. FERNANDEZ GUTIERREZ y A. MUÑOZ DE LA PEÑA in S.G. SHULMAN editor; "Molecular Luminiscence Spectroscopy: Methods and Applications", Part I. Cap. 4. Wiley, N. Y. (1985).
- 28.- E.L. WEHRI. "Modern Fluorescence Spectroscopy". Plenum Press, N.Y. (1976).
- 29.- M.J. BLANCH NAVAS, Tesina de Licenciatura. Universidad de Granada (1986). Dep. leg. 399-1986.
- 30.- G.F. KIRKBRIGHT, T.S. WEST y C. WOODWARD, *Talanta*; 13 1637 (1966).
- 31.- J.P. DE GRACIA GUINDO, Tesira de Licenciatura, Universidad de Granada (1989).
- 32.- J.L. VILCHEZ. Comunicación personal.
- 33.- H. WAKI, S. NODA y M. YAMASHITA; *Reactive Polymers*, 7 227 (1988).

- 34.- F. WILL, *Anal. Chem.* 33 1360 (1961).
- 35.- C.W. SILL, C.P. WILLIS, *Anal. Chem.* ; 31 598 (1959).
- 36.- F. GOPPELSRODER, *Z. Anal. Chem.*; 7 195 (1968).
- 37.- F. FEIGL, *Qualitative Analysis by Spot Tests*; Norderman, N.Y. (1939).
- 38.- H.L. ZERMATTEN, *J. Proc. Acad. Sci. Amsterdam*, 36 899 (1933).
- 39.- E.B. SANDELL, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*; 12 762 (1940).
- 40.- G. BECK, *Mikrochemie*; 20 194 (1936), *ibid*, *Mikrochim Acta*; 2 287 (1937).
- 41.- G. BECK, *Mikrochim. Acta*, 2 2 (1937).
- 42.- F.H. POLLARD, J.M.W. McOMIE y H.M. STEVENS, *J. Chem. Soc.*; 3435 (1954).
- 43.- A. GERTNER, A. KORNJAK, B. PAVISIC y V. GRDINIC, *Acta Pharm. Jugoslav.*; 21 125 (1971)
- 44.- F. FEIGL y V. GENTIL, *Mikrochim. Acta*; 93 (1954).
- 45.- H. GOTO, *J. Chem. Soc. Japan*; 59 547 (1938).
- 46.- H. GOTO, *J. Chem. Soc. Japan*; 60 937 (1939).
- 47.- G. CHARLOT, *Anal. Chim. Acta*; 1 234 (1947).
- 48.- G. ALMASSY, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*; 6 335 (1955).
- 49.- M. KATYAL, *Talanta*; 15 95 (1968).
- 50.- M. KATYAL y S. PRAKASH, *Talanta*; 24 367 (1977).
- 51.- F. HERNANDEZ HERNANDEZ y J. MEDINA ESCRICHE, *Química Analítica*; 5 1 (1986).
- 52.- F. BOSCH-REIG, *Inform. Quím. Anal.*; 22 153 (1968).
- 53.- F. BOSCH-REIG y F. BURRIEL-MARTI, *Inform. Quím. Anal.*; 25 86 (1971).
- 54.- O. TOMICEK y V. HOLECEK, *Chem. Listy*; 46 11 (1952).
- 55.- K.P. STOLYAROV y N.N. GRIGOREV, *J. Anal. Chem. USSR*; 17 563 (1962).
- 56.- J.H. WIERSMA y P.F. LOTT, *Anal. Lett.*; 1 603 (1968).
- 57.- K.P. STOLYAROV, N.N. GRIGOREV y L.L. SOLOV'EVA, *Instrum. Khim. Metody Anal.*; 25 (1973).
- 58.- L.A. SOLOV'EVA, K.P. STOLYAROV y N.N. GRIGOREV, *Instrum. Khim. Metody Anal.*; 98 (1973).

- 59.- K.P. STOLYAROV, N.N. GRIGOR'EV y L.A. SOLOV'EVA, *Vestn. Leningrad. Univ., Fiz., Khim.*; **46** 130 (1972).
- 60.- K.P. STOLYAROV, V.V. FIRYULINA y I.Z. GUBAIDULLIN, *Zavod. Lab.*; **38** 664 (1972).
- 61.- W.E. VAN DER LINDEN, *Microchim. Acta*; **1** 83 (1976).
- 62.- A. OKAC, *Collection Czechoslov. Chem. Commus.*; **10** 177 (1938).
- 63.- Z. KOLARIK, *Collection Czechoslov. Chem. Commus.*; **25** 2228 (1960).
- 64.- R.N. PLOTNIKOVA, R.P. ASHAEVA y D.P. SHCHERBOV, *Zavodsk. Lab.*; **32** 1963 (1966).
- 65.- P.N. PLOTNIKOVA, R.P. ASHAEVA y D.P. SHCHERBOV, *Issled. Razrab. Fotometrich. Metod. Opred. Mikrolichestv. Elem. Miner. Syr'ye*; **56** (1967).
- 66.- Z. URNER, Z. KOHOUTEK y L. SUCHO, *Sb. Vys. Sk. Chem. Technol. Praze, Anal. Chem.*; **H-16** 149 (1981).
- 67.- A. KORKUC y K. LESZ, *Chem. Anal. (Warsaw)*; **17** 855 (1972).
- 68.- L. PSZONICKI y V. TKACZ, *Chem. Anal. (Warsaw)*; **15** 809 (1970).
- 69.- J. DABROWSKY y L. PSZONICKI, *Chem. Anal. (Warsaw)*; **16** 51 (1971).
- 70.- L. PSZONICKI y W. TKACZ, *Anal. Chim. Acta*; **87** 177 (1976).
- 71.- W. TKACZ y L. PSZONICKI, *Chem. Anal. (Warsaw)*; **22** 801 (1977).
- 72.- N.L. OLENOVICH, L.I. KOVAL'CHUK y R.F. ZUFMAN, *Zh. Anal. Khim.*; **28** 1939 (1973).
- 73.- F. HERNANDEZ HERNANDEZ y J. MEDINA ESCRICHE, *Analyst*; **109** 1585 (1984).
- 74.- J. MEDINA ESCRICHE y F. HERNANDEZ HERNANDEZ, *Analyst*; **110** 287 (1985).
- 75.- C.E. WHITE y C.S. LOWE, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*; **12** 229 (1940).
- 76.- A.N. BUSEV y E.P. SHKROBOT, *Vestnik Moskov Univ., Ser. Mat., Mekh., Astron., Fiz. i Khim.*; **14** 199 (1959).
- 77.- J. TOVAREK y L. SOMMER, *Scr. Fac. Sci. Nat. Univ. Purkynianae Brun.*; **7** 17 (1977).

- 78.- L. BRADACS, F. PEIGL y F. HECHT, *Microchim. Acta*; 269 (1954).
- 79.- N.L. OLENOVICH, L.I. KOVL'CHUK y E.P. LOZITSKAYA, *Zh. Anal. Khim.*; 29 47 (1974).
- 80.- L.B. GINZBURG y E.P. SHKROBOT, *Zavodsk. Lab.*; 23 527 (1957).
- 81.- K. KASIURA y E. BOROCH, *Chem. Anal. (Warsaw)*; 24 181 (1979).
- 82.- D.P. SHCHERBOV, I.N. ASTAF'EVA y R.N. PLOTNIKOVA, *Zavodsk. Lab.*; 39 546 (1973).
- 83.- V.A. NAZARENKO y V.P. ANTONOVICH, *J. Anal. Chem. USSR, English Transl.*; 24 254 (1969).
- 84.- C.T. HUV, A.I. VOLKOVA y T.E. GET'MAN, *Visn. Kiis'k Univ. Ser. Fiz i Khim.*; 12 43 (1971).
- 85.- A.B. BLANK y L.E. BELENKO, *Zh. Anal. Khim.*; 33 65 (1978).
- 86.- A. MURATA, T. ITO, T. SAKAMOTO y H. KITAMURA, *Asahi Garasu Kogyo Gijutsu Shoreikai Kenkyu Hokoku*; 26 227 (1975).
- 87.- HUV CHAN-TI, T.E. GET'MAN y A.I. VOLKOVA, *Ukr. Khim. Zh.*; 36 87 (1970).
- 88.- R.W. PERKINS y D.R. KALWARF, *Anal. Chem.*; 28 1989 (1956).
- 89.- M.H. FLETCHER y R.G. MILKEY, *Anal. Chem.*; 28 1402 (1956).
- 90.- M.T. BECK y E. HANTOS, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*; 8 233 (1955).
- 91.- G. ALMASSY, *Magyar Khem. Folyoirat*; 60 76 (1954).
- 92.- E.A. BOZHEVOL'NOV, A.G. MONAKHOVA y G.V. SEREBRYAKOVA, *Metody Analiza Khim. Reaktivov i Preparatov*; 11 93 (1965).
- 93.- R.N. PLOTNIKOVA, D.N. PERMINOVA y D.P. SHCHERBOV, *Prom. Khim. Reaktivov*; 8 197 (1967).
- 94.- D.A. FAKEEVA, V.A. NIKOLAEVA y E.A. BOZHEVOL'NOV, *Metody Anal. Galogenidov Shcheloch. Shchelochnozemel'n Met. Vis. Chist.*; 2 90 (1971).
- 95.- R. CAZZOTTI, L.A. GOMIERO y A. ABRAO, *Publ. IEA*; 401 13 (1976).
- 96.- H. TUMA y N. TIETZ, *Chem. Listy*; 51 722 (1957).

- 97.- H. TUMA y V. KABICKY, *Talanta*; 8 749 (1961).
- 98.- A.T. PILIPENKO, T.V. KUKIBAEV, A.I. VOLKOVA y T.E. GET'MAN, *Zh. Anal. Khim.*; 27 1787 (1972).
- 99.- A.T. PILIPENKO, A.I. ZHEBENTYAEV y A.I. VOLKOVA, *Zh. Anal. Khim.*; 39 1854 (1974).
- 100.- A.I. VOLKOVA, T.E. GET'MAN y T.I. KUKIBAEV, *Ukr. Khim. Zh.*; 35 844 (1969).
- 101.- A.I. VOLKOVA y T.E. GET'MAN, *Ukr. Khim. Zh.*; 37 53 (1971).
- 102.- A.T. PILIPENKO, A.I. ZHEBENTYAEV y A.I. VOLKOVA, *Ukr. Khim. Zh.*; 37 578 (1971).
- 103.- A.T. PILIPENKO, A.I. ZHEBENTYAEV y A.I. VOLKOVA, *Ukr. Khim. Zh.*; 41 260 (1975).
- 104.- A.T. PILIPENKO, A.I. ZHEBENTYAEV y A.I. VOLKOVA, *Ukr. Khim. Zh.*; 29 1854 (1974).
- 105.- M.K. AKHMEDLI y A.A. BASHIROV, *Uch. Zap. Azerb. Gos. Univ., Ser. Khim. Nauk.*; 3 39 (1963).
- 106.- H. KAZVO, T. TAKASHI y W. SHIZUKO, *Jap. Anal.*; 12 918 (1963).
- 107.- Z. RADOVIC y A. MASELEV, *Arch. Farm.*; 33 221 (1983).
- 108.- D. MASELEV y Z. RADOVIC, *Glas. Hem. Drus. Beograd.*; 48 745 (1983).
- 109.- A.B. BLANK, I.I. MIRENSKAYA y L.M. SATONOVSKII, *Zh. Anal. Khim.*; 30 116 (1975).
- 110.- BBLA HADCBAS, *Veszprami Begyipari Ejjstem Kozl.*; 4 325 (1960).
- 111.- A. MURATA y F. YAMEMUCHI, *Bunseki Kagaku*; 10 379 (1961).
- 112.- K. SOBHANA y C.P. SAVARIAR, *J. Indian Chem. Soc.*; 54 539 (1977).
- 113.- M. KISKYTE y S. RAMONAITE, *Zh. Anal. Khim.*; 32 1415 (1977).
- 114.- R. MARKEVICIENE, *Metody Izuch Sostava Svoistv Gorn. Porod Prir. Vod.*; 100 (1983).
- 115.- Y.K. AGRAWAL y S.A. PATEL, *Bull. Soc. Chim. Belg.*; 90 1039 (1981).

- 116.- T. ITO y Y. HOSHINO, *Bull. Tokyo Ins. Technol.*; 52 17 (1963).
- 117.- Y. HOSHINO, *Nippon Kagaku Zasshi*; 81 1278 (1960).
- 118.- H. KOHARA, N. ISHIBASHI, Y. HANAMURA y K. VENO, *Bunseki Kagaku*; 15 938 (1966).
- 119.- G. ALMASSY y N. VIGVARY, *Magyar Khem. Folyoirat*; 62 332 (1956).
- 120.- N. ISHIBASHI y H. KOHARA, *Bunseki kagaku*; 13 239 (1964).
- 121.- V. PALECKITE y M. FINKELSTEINAITE, *Zh. Anal. Khim.*; 24 1550 (1969).
- 122.- H. KOHARA, K. VENO y N. ISHIBASHI, *Bunseki kagaku*; 15 1252 (1966).
- 123.- S. Ya. SHNAIDERMAN y G.N. PROKOF'EVA, *Zh. Anal. Khim.*; 25 2368 (1970).
- 124.- N.S. POLVETKOV, R.S. LAVER y O.F. GAIDARZHI, *Zh. Anal. Khim.*; 26 898 (1971).
- 125.- A.T. PILIPENKO, T.A. VASIL'CHUK y A.I. VOLKOVA, *Zh. Anal. Khim.*; 38 855 (1983).
- 126.- A. SANZ MEDEL y J.I. GARCIA ALONSO, *Anal. Chim. Acta*; 165 159 (1984).
- 127.- J. MEDINA ESCRICHE, M. DE LA GUARDIA CIRUGEDA y F. HERNANDEZ HERNANDEZ, *Analyst*; 108 1386 (1983).
- 128.- N.N. GRIGOR'EV, K.P. STOLYAROV y Z.P. MARTYNYENKO, *Primen. Org. Reagentov Anal. Khim.*; 189 (1969).
- 129.- E.M. NEVSKAYA y V.A. NAZARENKO, *Zh. Analit. Khim.*; 27 1699 (1972).
- 130.- J. MEDINA ESCRICHE, F. HERNANDEZ HERNANDEZ y F.J. LOPEZ BENET, *Analyst*; 110 1457 (1985).
- 131.- E.A. MORGEN, N.A. VLASOV y L.A. KOZHEMYAKINA, *Zh. Anal. Khim.*; 27 2064 (1972).
- 132.- H.H. WILLARD y Ch.A. HORTON, *Anal. Chem.*; 24 862 (1952).
- 133.- M.T. BECK, *Acta Chim. Acad. Hung.*; 4 223 (1954).
- 134.- T.B. LAND y S. EDMONS, *Microchim. Acta*; 6 1013 (1966).
- 135.- A.V. GUYON, G.L. POOL y C.B. LEMAN, "Photochem. Macromol. Proc. Symp. 1969", R.F. Reinisch, ed. Plenum Press, New York; 105 (1970).

- 136.- E. MORGAN, *Referat Zh. Khim.*; 19GD (1969).
- 137.- T. NASV, *Hokkaido Kyoiku Daigaku Kiyu, Dai-2-Bu, A*; 23 35 (1972).
- 138.- A.B. BLANK y L.E. BELENKO, *Zh. Anal. Khim.*; 40 461 (1985).
- 139.- H. WANG, L. LI, *Huaxue Xuebao*, 45 489 (1987).
- 140.- A.P. KOSTYSHINA y N.M. NAZARCHUK, *Zh. Khim.*; 19GD (1988).
- 141.- B.K. PAL, U. KABIRAJ y M. UKILUDDIN, *Analyst*; 112 171 (1987).
- 142.- M.A. RAGGI, G. VARANI, V. CAVRINI, D. LACCHE y L. NOBILE, *Anal. Lett.*; 19 1435 (1986).
- 143.- Y. TAMARI, A. TAKADA, H. TSUJE y Y. KUSAKA, *Anal. Sci.*; 4 (3) 277 (1988).
- 144.- H. BRANDL, *Prax. Naturwiss., Chem.*; 35 (3) 34 (1986).
- 145.- F. HERNANDEZ HERNANDEZ, J. MEDINA ESCRICHE y M.T. GASCO ANDREU, *Talanta*; 33 (6) 537 (1986).
- 146.- S. CUN S. ZHANG y S. ZHUU, *Fenxi Huaxue*; 16 (5) 448 (1988).
- 147.- F. HERNANDEZ HERNANDEZ, J. MEDINA ESCRICHE y J.V. MARTIN PRATS, *Analisis*; 14 (4) 181 (1986).
- 148.- M. TAREK, M. ZAKI, L.F.M. ESMAIL y A.Y. EL-SAYED, *Fresenius' Z. Anal. Chem.*; 331 (6) 607 (1988).
- 149.- H. LIN y Z. LI, *Fenxi Shiganshi*; 6 (2) 19 (1987).
- 150.- Z. LI, H. LIN, S. TAN y F. FAN, *Huaxue Shiji*; 8 (1) 20 (1986).
- 151.- F. HERNANDEZ HERNANDEZ, J. MEDINA ESCRICHE, R. MARIN SAEZ y M.C. ROIG BARREDA, *Analyst*; 111 (9) 1045 (1986).
- 152.- M.T.M. ZAKI, A.M. EL-ATRASH, W.H. MAHMOUD y A.Y. EL-SAYET, *Analyst*; 113 (6) 937 (1988).
- 153.- F.J. LOPEZ BENET, F. HERNANDEZ HERNANDEZ, J. MEDINA ESCRICHE y R. MARIN SAEZ, *Analyst*; 111 (11) 1325 (1986).
- 154.- J. MEDINA ESCRICHE, F.J. LOPEZ BENET y F. HERNANDEZ HERNANDEZ, *Analyst*; 113 (3) 437 (1988).
- 155.- W. LANGSETH, *Talanta*; 31 (11) 975 (1984).

- 156.- A.M. BERKLEY y G.H. SMITH. Scientific Report NCL/AE 203. The National Chemical Laboratory, 1962
- 157.- H.A. LAITINEN y P. KIVALO, *Anal. Chem.*; 24 1467 (1952).
- 158.- F. GARCIA SANCHEZ y V. CERDA. *Talanta*; 35 671 (1988)
- 159.- F.J. LOPEZ-BENET. Tesis Doctoral. Universidad de Valencia (1987).
- 160.- F.W. KLEMPERER y P. MARTIN, *Anal. Chem.*; 22 828 (1950).
- 161.- C.W. SILL, C.P. WILLIS y J.K. FLYGARE, *Anal. Chem.*; 33 1671 (1961).
- 162.- M.H. FLETCHER, *Anal. Chem.*; 37 550 (1965).
- 163.- J. BRILL y E. PRUVOT, *Mikrochim. Acta*; 4 577 (1950).
- 164.- I. KUBICEK, *Prac. Lek.*; 34 49 (1982)
- 165.- J.M. HAGUENOER y D. FURON "Toxicologie et Hygiene Industrielles, Tome I. Les dérivés minéraux. 1^{ère} partie", Technique & Documentation Paris (1981).
- 166.- N.H. FURMAN, Editor "Standard Methods of Chemical Analysis". Vol. 1 Van Nostrand, Princeton, NJ (1960).
- 167.- L.O. GARCIA-VIÖR y J.F. POSSIDONI DE ALBINATI, *An. Quim.*; 83 B 319 (1987).
- 168.- G. WELFORD y J. HARLEY, *Am. Ind. Hyg. Assoc. Quart.*; 13 4 (1952).
- 169.- J.J. LASERNA. Tesis Doctoral; Universidad de Málaga (1980).
- 170.- A. NAVALON. Tesis Doctoral. Universidad de Granada (1985).
- 171.- "Nomenclature, Symbols, Units and their Usage in Spectrochemical Analysis II", *Spectrochim. Acta (B)*; 33 B 242 (1978).
- 172.- "Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry", *Anal. Chem.*; 52 2242 (1980).
- 173.- F. GARCIA-SANCHEZ, M. HERNANDEZ-LOPEZ y A. HERRERA, *Anal. Chim. Acta*; 187 147 (1986).
- 174.- K. MORISHIGE, *Kinki Daigaku, Rikogakubu Kenkyu Hokoku*; 17 411 (1982).

- 175.- L. KARBET y Z. HOLZBECHER, *Coll. Czech. Chem. Comm.*; 42 540 (1976).
- 176.- A. MURATA y M. NAKAMURA, *Jap. Anal.*; 21 1365 (1972).
- 177.- T. ITO y MURATA, *Jap. Anal.*; 20 1422 (1971).
- 178.- K. MORISHIGE, *Anal. Chim. Acta*; 73 245 (1974).
- 179.- Z. HOLZBECHER y K. VOLKA; *Coll. Czech. Chem. Comm.*; 35 2925 (1970).
- 180.- A. GUIRAUM y J.L. VILCHEZ; *Quim. Anal.*; 29 265 (1975).
- 181.- Sh.T. TALIPOV, A.T. TASHKHODZHAEV, L.E. ZEL'TSER y Kh. KHIKMATOV, *Nauch. Tr. Tashk. Gos. Univ.*; 419 89 (1972).
- 182.- K. MORISHIGE, *Anal. Chim. Acta*; 121 301 (1980).
- 183.- A.T. TASHKHODZHAEV, L.E. ZEL'TSER, Sh.T. TALIPOV y Kh. KHIKMATOV, *Zavod. Lab.*; 41 280 (1975).
- 184.- K. MORISHIGE, *J. Inorg. Nucl. Chem.*; 40 843 (1978).
- 185.- A. MURATA, M. TCMINAGA y T. SUZUKI, *Jap. Anal.*; 23 1349 (1974).
- 186.- V. MALY y L. SOMMER, *Chem. Listy*; 73 538 (1979).
- 187.- L.E. ZEL'TSER, N.B. ETINGEN, N.G. VERESHCHAGINA y R.U. SAFINA, *Zh. Anal. Khim.*; 48 537 (1954).
- 188.- P. GARCIA-SANCHEZ y C. CRUCES-BLANCO, *Anal. Chem.*; 58 73 (1936).
- 189.- V. PATROVSKY, *Chem. Listy*; 48 537 (1954).
- 190.- J. RODIER "Análisis de aguas: aguas naturales, aguas residuales, agua de mar" Ed. Omega, (1981).
- 191.- "Standard Methods for the Examination of water and wastewater", 15th Edition, APHA-AWWA-WPCF, (1980).
- 192.- J.L. VILCHEZ QUERO, Comunicación personal
- 193.- C.E. WHITE, H. McFARLANE, F. FOGT y R. FUCHS, *Anal. Chem.*; 39, 367 (1967).
- 194.- P. FARRERAS VALENTI y C. ROZMAN, "Medicina Interna"; vol. I y II. Ed. Doyma S.A. Barcelona. Undécima edición. (1988).
- 195.- E.M. HARAM, R. WEBBERG y A. BERSTAD, *Scand J. Gastroenterol*; 22, 615 (1987).
- 196.- H.L. ELLIOT, P. DRYBUPGH, G.S. FELL, S. SABET, A.T. MACDOUGALL, *British Medical Journal*; 1 1101 (1978).

- 107.- R. RODRIGUEZ ROZA, A. SANZ-MEDEL y J. CANNATA, *Quim. Anal.*; 5, №12, 150 (1986).
- 198.- L.A. SAARL y W.R. SELTZ, *Anal. Chem.*; 55, 667 (1983).
- 199.- C.E. WHITE y C.S. LOWE, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*; 12, 229 (1940).
- 200.- K. HAYASHIYA, *Nippon Nogei Kagaku Kaishi.*; 33, 174 (1959).
- 201.- A.P. GOLOVINA, I.P. ALIMARIN, D.I. KUZNETSOV, A.D. FILYUGINA, *Zh. Anal. Khim.*; 21, 163 (1966).
- 202.- A.K. BABKO, A.T. VOLKOVA y T.E. GET'MAN, *Zh. Anal. Khim.*; 23, 39 (1968).
- 203.- Z.G. SZABO y M.T. BECK, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.*; 4, 211 (1954).
- 204.- K. WATANABE, H. YOSHIKAWA y KAWAGAKI, *Jap. Analy.*; 30, 640 (1981).
- 205.- A.T. PILIPENKO y A.I. ZHEBENTYAEV, *Zh. Anal. Khim.*; 33, 2119 (1978).
- 206.- R.L. WILSON y J.D. INGLE, Jr., *Anal. Chim. Acta.*; 92, 417 (1977).
- 207.- A.V. DOLGOREV, Yu.A. SERIKOV y L.A. RZHEVINA, *Zh. Anal. Khim.*; 33 1313 (1978).
- 208.- T.A. SHAKIROVA, Sh.T. TALIPOV, G.S. ANDRUSHKO y A.I. TASHKHODZHAEV, *Nauch. Tr. Tashkt. Gos. Univ.*; 435, 68 (1973).
- 209.- L.A. DEMINA, O.M. PETRUKHIN, Yu.A. ZOLOTOV y SEREBRYAKOVA, *Zh. Anal. Khim.*; 27, 1731 (1972).
- 210.- C.E. WHITE, H. McFARLANE, F. FOGT y R. FUCHS, *Anal. Chem.*; 39, 367 (1967).
- 211.- A.V. DOLGOREV, Yu.A. SERIKOV y N.A. CHESNOKVA, *Zavod. Lab.*; 45, 691 (1979).
- 212.- K. MORISHIGE, *Anal. Chim. Acta.*; 72, 295 (1974).
- 213.- V. SIMEONOV, A. VOULGARPOULOS, C. APOSTOLOPOULOU y G. VASILIKIOTIS, *Presenius' Z. Anal. Chem.*; 311, 16 (1982).
- 214.- F.B.F. LLOYD, *J. Forensic Sci. Soc.*; 11 153 (1971).
- 215.- B.J. CLARK, A.F. FELL, K.T. MILNE, D.M. PATTIE, M.H. WILLIAMS, *Anal. Chim. Acta.*; 170 35 (1984).

- 216.- G.L. GREEN, T.C. O'HAVER, *Anal. Chem.*; **46** 2191 (1974).
- 217.- T.C. O'HAVER, *Proc. Anal. Div. Chem. Soc.*; **19**, 22 (1982).
- 218.- A.F. FELL y G. SMITH, *Anal. Proc.*; **19**, 42 (1982).
- 219.- A. SAVITZKY y M.J.E. GOLAY, *Anal. Chem.*; **36**, 1627 (1964).
- 220.- J. STEINIER , Y. TERMONIA y J. DELTOUR, *Anal. Chem.*; **44**, 2906 (1972).
- 221.- F. GARCIA SANCHEZ, J.C. MARQUEZ GOMEZ y M. HERNANDEZ LOPEZ, *Analyst*; **112**, 649 (1987).