# DETERMINACIÓ ESPECTROFOTOFLUORIMÈTRICA DE TRACES D'ALUMINI AMB ÀCID PAMOIC *

per

*ANA IZQUIERDO I RIDORSA*

Departament de Química Analítica. Facultat de Química
Universitat de Barcelona

SUMMARY

A new spectrophotofluorometric method for the determination of submicrogram amounts of aluminum with pamoic acid in a dioxane: water medium is described. The excitation and emission spectra for the reagent and its aluminium complex, and the optimum conditions of pH, reagent concentration and development time are studied, and the effect of a large number of cations and anions on the aluminium determination is investigated.

The stoichiometry of the complex is obtained by the continuous variations and mole-ratio methods. The conditional stability constant for the complex is also evaluated.

## 1. OBJECTE DEL TREBALL

L'objecte d'aquest treball ha estat l'estudi de l'àcid pamoic com a reactiu analític per a la determinació espectrofotofluorimètrica de petites quantitats d'alumini(III), l'establiment de l'estequiometria del

* Aquest treball forma part de la memòria presentada per l'autora el desembre de 1983 per a accedir al Grau de Llicenciat en Ciències Químiques, i ha estat dut a terme al Departament de Química Analítica de la Facultat de Química de la Universitat de Barcelona, sota la direcció del Dr. Enric Casassas i Simó, catedràtic, i del Dr. Lluís Garcia i Puignou, professor titular de l'esmentat Departament.

complex format, i l'estudi comparatiu d'aquest nou mètode establert amb el mètode, descrit per Kirkbright,[1] que utilitza l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic per a la determinació d'alumini(III).

## 2. INTRODUCCIÓ

La formació de quelats metàl·lics fluorescents, per combinació d'un ió metàl·lic amb un lligand orgànic, ha esdevingut un procediment per al desenvolupament de mètodes d'anàlisi inorgànica altament específics i molt sensibles. Bé que en mots casos la fluorescència és una propietat inherent a la natura del reactiu orgànic, aquesta resulta considerablement incrementada o modificada per la presència de l'ió metàl·lic.

Molts reactius orgànics amb propietats fluorescents han estat emprats en l'establiment de nous mètodes fluorimètrics d'anàlisi de petites quantitats de metalls.[2] Són ben conegudes les propietats fluorescents d'alguns complexos metàl·lics de l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic, les quals han donat lloc a diversos mètodes de determinació quantitativa de traces de metalls, entre els l'alumini,[3, 4, 5, 6, 7, 8] característics per llur sensibilitat i selectivitat.

Per contra, no han estat estudiades les propietats fluorescents dels compostos metàl·lics de l'àcid 2,2'-dihidroxi-3,3'-dicarboxi-1,1'-dinaftilmetà, anomenat també àcid pamoic o àcid embònic (fig. 1).

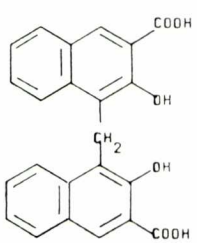


Fig. 1. Àcid pamoic.

L'àcid pamoic presenta una intensa fluorescència groga en medi bàsic, la qual ha estat utilitzada per Wullen i col·lab.[9] per a establir un mètode de determinació d'àcid pamoic en productes farmacèutics.

Com que la molècula de l'àcid pamoic conté els mateixos grups funcionals i cicles aromàtics que la molècula de l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic, això permet de suposar que l'àcid pamoic també formarà complexos fluorescents amb alguns metalls, entre ells l'alumini. A més, la hidridació $sp^3$ del carboni metilènic de l'àcid pamoic fa que els dos

grups naftalènics es trobin situats en dos plans diferents, la qual cosa dóna lloc al fet que l'àcid pamoic no pugui actuar com a lligand tetradentat, sinó només com a bidentat, d'una forma anàloga a la de l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic.

Com a continuació d'un estudi iniciat per Casassas, Gargallo i Duñach[10, 11, 12] sobre les característiques de fluorescència de l'àcid pamoic i la seva reaccionabilitat amb diferents ions metàl·lics, han estat dutes a terme unes proves qualitatives prèvies al respecte, en les quals hom ha observat que l'àcid pamoic, en medi dèbilment àcid, forma amb l'alumini un precipitat groc pàl·lid, soluble en mescles de dioxà: aigua, el qual presenta una forta fluorescència, diferent de la del reactiu.

Tenint en compte aquest fet, en aquest treball pretenem d'establir un nou mètode espectrofotofluorimètric de determinació de petites quantitats d'alumini, utilitzant l'àcid pamoic com a reactiu. Alhora, ha estat feta una anàlisi comparativa de les característiques del nou mètode establert, amb el ja descrit[1] que utilitza l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic com a reactiu, assenyalant les analogies i diferències entre ambdós mètodes.

Previament, ha estat dut a terme l'estudi espectrofotofluorimètric del mateix reactiu i, a causa de la seva poca solubilitat en aigua, ha estat necessària en primer lloc la realització d'un estudi de solubilitat a fi d'escollir el medi adequat per a tenir l'àcid pamoic en solució. Posteriorment, per a establir les característiques espectrofotofluorimètriques de l'àcid pamoic, hem dut a terme un estudi dels seus espectres d'excitació i de fluorescència, del qual hom dedueix un desplaçament de Stokes anormal degut a la transferència protònica en l'estat excitat. Ha estat estudiada també l'estabilitat de les solucions de reactiu amb el temps, i la influència de la temperatura i de l'acidesa del medi sobre la intensitat de fluorescència.

A continuació, i com a objecte principal d'aquest treball, han estat optimitzades les condicions experimentals per a portar a terme la determinació d'alumini: ha estat dut a terme un estudi dels espectres d'excitació i de fluorescència del complex de l'alumini amb l'àcid pamoic, de l'estabilitat del complex amb el temps, i de la variació de la intensitat de fluorescència amb el pH, la concentració de reactiu i la concentració d'alumini.

Un cop establertes les condicions òptimes i la tècnica de treball, hem determinat els paràmetres de qualitat del nou mètode: límit de detecció, sensibilitat i precisió de la mesura, així com un estudi de les interferències degudes als metalls més anàlegs i als que sovint acompanyen l'alumini en mostres d'aerosols atmosfèrics, en les quals hom intentaria l'aplicació del nou mètode.

A fi de caracteritzar el complex àcid pamoic-alumini(III) estudiat en aquest treball, ha estat determinada l'estequiometria emprant els

mètodes espectrofotofluorimètrics de les variacions contínues[13] i de la raó molar,[14] i dels resultats hem deduït un valor aproximat de la constant de formació del complex, utilitzant el mètode proposat per Likussar i Boltz.[15]

## 3. INSTRUMENTACIÓ

- pHmetre Radiometer pHM 64 mb un elèctrode combinat de vidre i de calomelans saturat (GK 2401 B).
- Espectrofotofluorímetre Aminco SPF 500 RATIO, amb cubetes que quars d'l cm de camí òptic.
- Calculadora Hewlett-Packard HP 9815 S.
- Registre gràfic Hewlett-Packard HP 7225 A.

Sistema d'operació de l'espectrofotofluorímetre:

En aquest treball tots els mesuraments han estat duts a terme amb el mode Ratio d'operació.

Tal com podem observar a la figura 2, una porció de la llum d'excitació de l'ordre del 10-15% és desviada per un *beam splitter*, abans d'arribar a la mostra, i hom la fa passar a través del compartiment de referència fins a un tub fotomultiplicador de referència, el qual mesura,

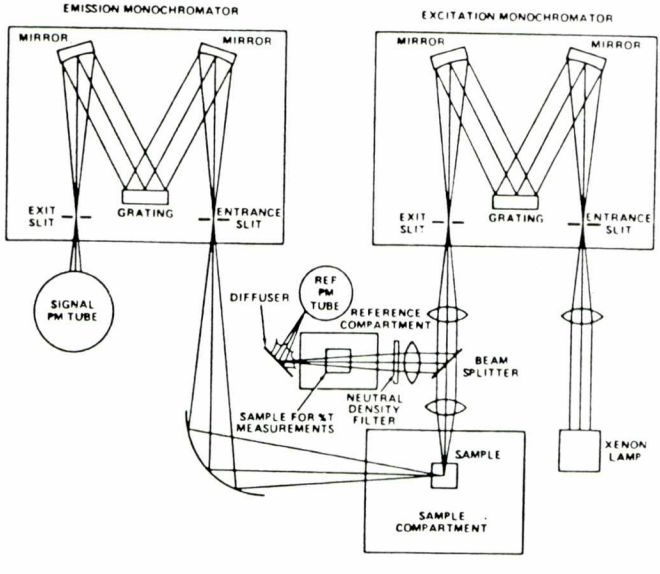


Fig. 2. Diagrama òptic simplificat de l'espectrofotofluorímetre Aminco SPF 500 RATIO.

per tant, la radiació d'excitació. La radiació d'emissió també és detectada pel seu corresponent tub fotomultiplicador. En el mode Ratio, aquests dos senyals que donen els dos tubs fotomultiplicadors són amplificats i aplicats a un divisor electrònic, que dur a terme l'operació següent per tal d'estabilitzar el senyal:

$$\frac{I_{\text{fluorescència}}}{I_{\text{referència}}} = I_{\text{Ratio compensada}}$$

Si canvia l'energia d'excitació que va a parar a la mostra, la fluorescència d'aquesta canviarà. Però, pel fet que l'energia d'excitació és captada pel tub fotomultiplicador de referència, tant el numerador com el divisor electrònic canviaràn amb el mateix percentatge, i el quocient es mantindrà constant. Amb el mode Ratio hom obté, per tant, valors corregits respecte a les fluctuacions d'energia de la làmpada de xenó.

Calibratge:

Per tal d'obtenir en tots els experiments valors d'intensitat de fluorescència comparables, reproduïbles i independents de les condicions de treball de l'aparell, com són les escletxes d'excitació i d'emissió utilitzades, tots els valors d'intensitat de fluorescència es refereixen, en aquest treball, al que hom obté, en les mateixes condicions de treball de l'espectrofotofluorímetre i a $\lambda_{ex}$ = 350 nm i $\lambda_{em}$ = 450 nm (longituds d'ona característiques del sulfat de quinina), per a una solució de sulfat de quinina en àcid sulfúric 0,1 N, i que és pres com a 100.

## 4. ESTUDI DE LES CARACTERÍSTIQUES ESPECTROFOTOFLUORIMÈTRIQUES DE L'ÀCID PAMOIC

### *4.1. Solubilitat de l'àcid pamoic i elecció del dissolvent adequat*

Donada la insolubilitat de l'àcid pamoic en aigua, ha estat provada la seva solubilitat en diferents dissolvents orgànics.

Segons els resultats obtinguts, els dissolvents orgànica assajats han estat classificats en tres grups, tenint en compte la diferent solubilitat de l'àcid pamoic en ells:

A) Dissolvents en els quals l'àcid pamoic és insoluble en una proporció 0.1/100 p/v:

- dissolvents miscibles amb aigua: etanol, àcid acètic, metanol, acetona
- dissolvents inmiscibles amb aigua: èter, benzé, cloroform, alcohol isoamílic, tetraclorur de carboni.

B) Dissolvents en els quals l'àcid pamoic és soluble en una proporció 0.1/100 p/v, però no ho és en una proporció 1/100 p/v:

– dissolvents miscibles amb aigua: dioxà.

C) Dissolvents en els quals l'àcid pamoic és soluble en una proporció 1/100 p/v:

– dissolvents miscibles amb aigua: N,N-dimetilformamida, piridina, nitrobenzé.

Com a resultat d'aquest estudi de solubilitat, i pensant de dur a terme la determinació d'alumini en un medi homogeni sense extracció, hom ha escollit com a dissolvent adequat el dioxà, el qual és miscible amb l'aigua. Han estat descartat altres dissolvents miscibles amb l'aigua, com poden ésser la N,N-dimetilformamida o la piridina per llur caràcter bàsic. En un medi d'aquest tipus el pH podria resultar difícil d'ajustar en cas que fos necessari treballar a unes determinades condicions de pH, i a més, la possible hidròlisi de l'alumini introduiria complicacions.

Els avantatges que ofereix el treball amb dioxà són els següents:

– miscibilitat completa amb l'aigua,

– el dioxà com a regla general[16] provoca l'exaltament de la intensitat de fluorescència,

– el dioxà té un punt d'ebullició de 101.1°C a 760 mm de pressió, i per tant, no introdueix problemes derivats de la volatilitat.

### 4.2. *Espectres d'excitació i de fluorescència*

A les figures 3 i 4 mostrem els espectres d'excitació i de fluorescència corresponents a una solució de reactiu $1.03 \cdot 10^{-5}$ M en un medi dioxà: aigua de proporció 3:7, amb un pH final de 5,35. En cada cas ha estat representat sobreposat l'espectre del blanc corresponent a les mateixes condicions de treball.

L'àcid pamoic, tal com podem observar als espectres, presenta un màxim d'excitació característic a $\lambda_{ex}$ = 366 nm i un màxim d'emissió característic a $\lambda_{em}$ = 523 nm.

Han estat obtinguts, també, els espectres d'excitació i d'emissió del reactiu dissolt en aigua amb un pH final de 5.45, i hom ha comprovat que en aquest medi les longituds d'ona d'aparició dels màxims són les mateixes.

Els espectres d'excitació i d'emissió de l'àcid pamoic, com és observable a les figures 3 i 4, presenten un desplaçament de Stokes ($\Delta\tilde{\nu} = \tilde{\nu}_{ex} - \tilde{\nu}_{em}$) de 8202 $cm^{-1}$, anormalment alt.

Karushi Hirota,[17] a partir de l'estudi dels espectres de fluorescència de l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic i compostos relacionats, com a funció de la temperatura i dels solvents, demostra que l'enllaç d'hidrogen

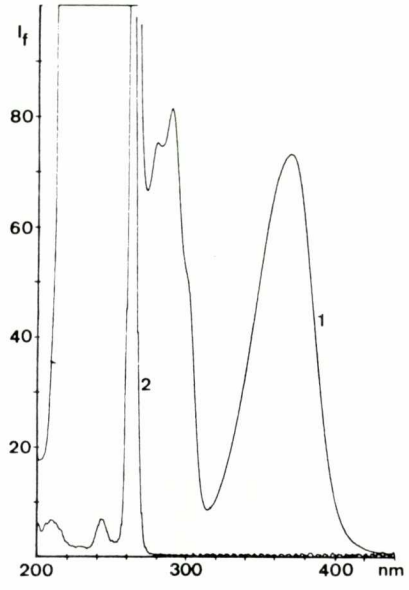


Fig. 3. Espectres d'excitació corresponents al reactiu (1) i al blanc (2), obtinguts a $\lambda_{em}$ = 523 nm. $c_{reactiu} = 1.03 \cdot 10^{-5}$M en medi dioxà: aigua 3:7; pH = 5.35.

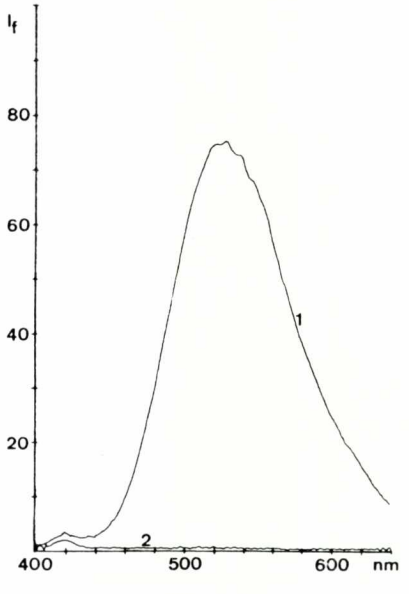


Fig. 4. Espectres de fluorescència corresponents al reactiu (1) i al blanc (2), obtinguts a $\lambda_{ex}$ = 366 nm. $c_{reactiu} = 1.03 \cdot 10^{-5}$M en medi dioxà: aigua 3:7; pH = 5.35.

intramolecular existeix en l'estat excitat i que el desplaçament de Stokes anormalment alt, que aquests compostos presenten, és degut a la transferència protònica a través de l'enllaç d'hidrogen intramolecular, des del grup hidroxil fins al carboxil en l'estat excitat. Per contra, les substàncies que no poden formar l'enllaç intramolecular, com ara l'àcid 3-metoxi-2-naftoic o l'àcid o-metoxibenzoic, no donen un desplaçament de Stokes anormalment alt.

La transferència protònica és possible en l'estat excitat pel fet que, com ha estat estudiat per Weller,[18] els derivats carbonílics i carboxílics dels compostos aromàtics es fan més bàsics en l'estat excitat que en el fonamental, mentre que els derivats hidroxílics es fan més àcids en l'estat excitat.

Com a conseqüència de tot això, Kazushi Hirota proposa l'esquema de reacció de la figura 5 per a l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic, on $h\nu'$ i $h\nu$ són el component anormal i normal de la fluorescència, respectivament, A és un acceptor de protons i OH...A és un enllaç d'hidrogen intermolecular.

D'altra banda, Kazushi Hirota també observa que si les molècules de solvent són poc acceptores de protons, com és el cas del benzè o del tetraclorur de carboni, la transferència protònica no té lloc i el desplaçament de Stokes és normal. Els espectres de fluorescència de l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic mostren un desplaçament de Stokes anormalment alt només quan els solvents són acceptors de protons, i també quan el protó del grup carboxílic ha estat dissociat. En aquest últim cas, l'equilibri tautomèric en l'estat excitat (fig. 5) és totalment desplaçat cap a la dreta.

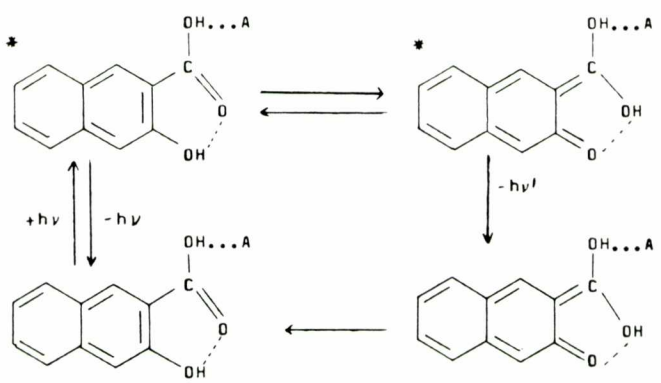


Fig. 5. Esquema de reacció de l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic.

Tots aquests resultats obtinguts per a l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic poden ésser aplicats d'una manera anàloga, a l'àcid pamoic, pel fet de

tenir ambdós compostos els mateixos grups funcionals i en la mateixa disposició. A més, els dissolvents en els quals han estat obtinguts els espectres d'excitació i de fluorescència de l'àcid pamoic, aigua i mescles dioxà: aigua, són bons acceptors de protons, i hom ha treballat també a unes condicions de pH en les quals l'àcid carboxílic es troba dissociat. És, per tant, factible, de considerar un esquema de reacció per a l'àcid pamoic (fig. 6) anàleg al descrit per a l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic.

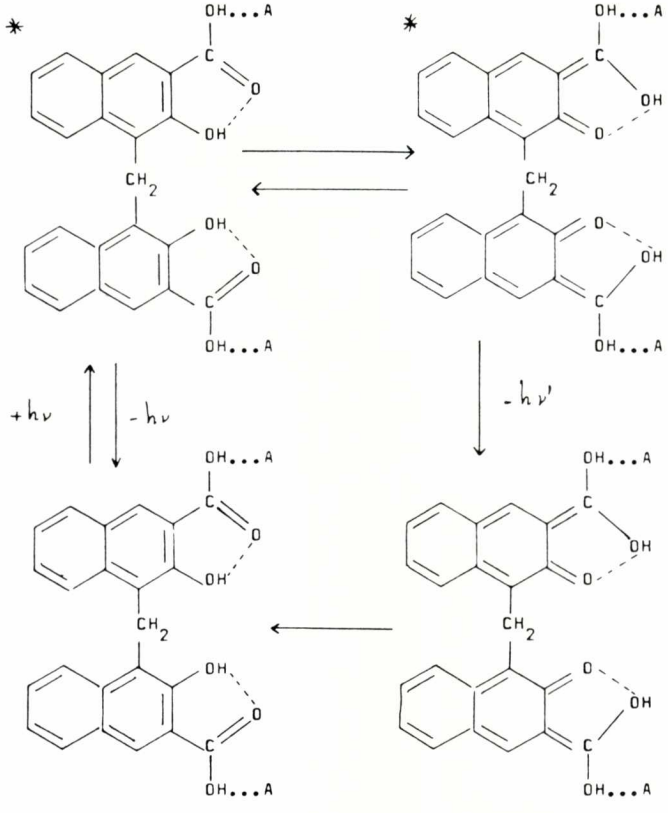


Fig. 6. Esquema de reacció de l'àcid pamoic.

## 4.3. *Estabilitat respecte al temps de les solucions de reactiu*

Hom ha estudiat l'estabilitat amb el temps de dues solucions aquoses de pamoat disòdic en medi bàsic, de diferent concentració: una solució A $7.13 \cdot 10^{-3}$ M de reactiu i una solució B $7.13 \cdot 10^{-5}$ M de reactiu.

Hom ha anat fent mesuraments durant un interval de temps de 7 dies per a la mostra A i de 2 dies per a la mostra B, i ha quedat comprovat que, al llarg de tot el temps en què s'ha estudiat, les solucions A i B de pamoat disòdic es mantenen estables. Queda clar, doncs, que les solucions mare de reactiu es poden conservar inalterades durant períodes llargs, si el medi és bàsic.

### 4.4. *Variació de la intensitat de fluorescència de les solucions de reactiu respecte a la temperatura i el temps d'escalfament*

A fi de veure si la temperatura influeix sobre la fluorescència de les solucions de pamoat de sodi, ha estat preparada una solució d'aquest, de concentració, $1.43 \cdot 10^{-6}$ M, amb una proporció dioxà: aigua 1:4 i un pH ajustat a 12. Una alíquota de la solució ha estat escalfada a 64°C durant 10 min, i una altra a 80°C durant 15 min. Després de refredar-ho a la temperatura ambient, hom ha determinat llur fluorescència, la qual ha estat comparada amb l'obtinguda amb solucions idèntiques sense escalfament previ. En tots els casos hom ha obtingut un valor d'intensitat de fluorescència al voltant de 76 ± 2%, la qual cosa indica que no hi ha variació ostensible de la intensitat de fluorescència, abans i després de tenir la solució en incubació. Per tant, com que un augment de la temperatura no modifica apreciablement la fluorescència de les solucions, a partir d'ara totes les lectures de fluorescència han estat dutes a terme a temperatura ambient, sense incubació prèvia.

### 4.5. *Variació de la intensitat de fluorescència respecte a la relació dioxà: aigua*

A fi de portar a terme l'estudi de la possible variació de la intensitat de fluorescència segons la quantitat de dioxà present, hom ha preparat

TAULA I

Variació de la intensitat de fluorescència respecte a la proporció dioxà: aigua. $c_{reactiu} = 1.43 \cdot 10^{-6}$ M; pH = 10; $\lambda_{ex} = 366$ nm; $\lambda_{em} = 523$ nm

| dioxà: aigua | If |
|---|---|
| 1:4 | 55 |
| 2:3 | 73 |
| 3:2 | 93 |

tres solucions de reactiu amb una relació dioxà: aigua d'1:4, 2:3 i 3:2, respectivament.

Els resultats obtinguts (taula I) mostren que, per a una concentració de reactiu determinada i a un pH donat, en augmentar la relació dioxà: aigua, augmenta el valor de la intensitat de fluorescència.

### 4.6. *Variació de la intensitat de fluorescència respecte al pH*

Per a estudiar la influència de l'acidesa sobre la intensitat de fluorescència, hom ha preparat una sèrie de solucions de reactiu, el pH de les quals ha estat ajustat a diversos valors entre 3 i 12 amb diferents quantitats d'àcid clorhídric $10^{-3}$ M o d'hidròxid de sodi $10^{-3}$ M, i a valors més alts de pH, amb solucions 1M i 3M d'hidròxid de sodi. Aquest estudi ha estat dut a terme per a 4 diferents relacions dioxà: aigua, les quals han estat les següents: 1:4, 2:3, 3:2 i 4:1.

A la figura 7 són representats els valors d'intensitat de fluorescència obtinguts, respecte al pH, per a cadascuna de les relacions dioxà: aigua utilitzades.

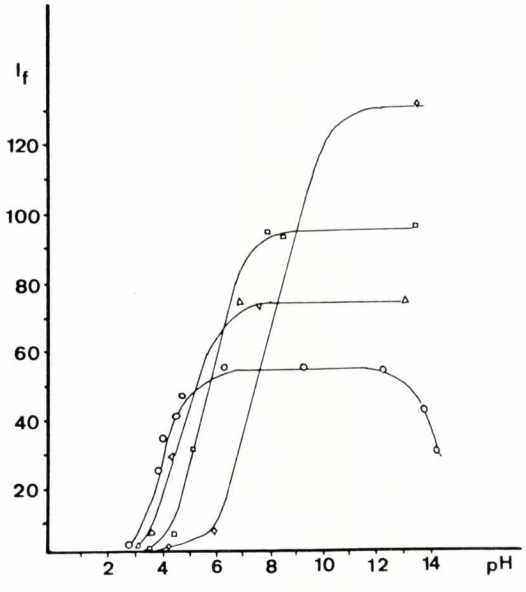


Fig. 7. Variació de la intensitat de fluorescència del reactiu amb el pH, per a diferents proporcions dioxà: aigua. $c_{reactiu} = 1.43 \cdot 10^{-6}$M; proporció dioxà: aigua: ○ – 1:4; △ – 2:3; □ – 3:2; ◇ – 4:1.

Dels resultats obtinguts, hom dedueix que, per a totes les relacions de dioxà en aigua estudiades, la fluorescència del reactiu augmenta en augmentar el pH, fins a arribar a un valor màxim constant. Per a concentracions altes d'hidròxid de sodi, de l'ordre d'1M, el valor de la intensitat de fluorescència torna a disminuir.

A pH baixos, la intensitat de fluorescència del reactiu, a les condicions de treball de l'espectrofotofluorímetre, és negligible. El pH al qual la intensitat de fluorescència comença a augmentar depèn de la relació dioxà: aigua de treball. Com més alta és la relació dioxà: aigua utilitzada, més alt ha d'ésser el pH perquè el reactiu doni un valor d'intensitat de fluorescència apreciable.

Els valors de pH als quals la fluorescència comença a ésser notable, coincideixen amb l'ordre de magnitud dels pK de dissociació àcida dels àcids carboxílics, els quals pK, d'altra banda, en medis aigua: dioxà augmenten en augmentar el contingut en dioxà.[19]

Hom pot dir, per tant, que aquest estudi de la variació de la intensitat de fluorescència amb l'acidesa posa de manifest que la forma molecular (no desprotonada) de l'àcid pamoic no és fluorescent, i que la fluorescència depèn de la forma iònica en què ambdós grups carboxil s'han desprotonat. D'altra banda, el fet que la fluorescència disminueixi en medis que contenen hidròxid de sodi a concentració superior a 1M, posa de manifest que la forma totalment desprotonada de l'àcid pamoic és més feblement fluorescent. A aquestes concentracions d'hidròxid de sodi també sofreixen desprotonació els grups hidroxil fenòlics, que tenen valors de $pK_a$ de 13.39 a 25°C i força iònica 0.1 per a l'àcid salicílic,[20] o de 13,50 a 30°C i força iònica 0.2 per a l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic.[21]

## 5. ESTABLIMENT D'UN MÈTODE ESPECTROFOTOFLUORIMÈTRIC PER A LA DETERMINACIÓ DE PETITES QUANTITATS D'ALUMINI(III)

### *5.1. Elecció de la relació dioxà: aigua de treball*

El complex de l'àcid pamoic amb l'alumini és, igual que el reactiu sol, insoluble en aigua i soluble en dioxà i en mescles dioxà: aigua. Per aquest motiu, i amb la intenció de dur a terme la determinació en un medi homogeni, hom ha decidit de treballar amb mescles dioxà: aigua.

En l'estudi de la influència de l'acidesa sobre la intensitat de fluorescència del reactiu, hom ha observat que, com més elevada és la proporció de dioxà respecte a l'aigua, més alt és el pH al qual el reactiu comença a ésser fluorescent i, per tant, una proporció alta de dioxà serà avantatjosa ja que el reactiu serà poc fluorescent als pH feblement

àcids als quals el complex és fluorescent. A més, és necessària també una proporció alta de dioxà per a mantenir tot el reactiu en solució.

Ara bé, un inconvenient de treballar amb proporcions altes de dioxà respecte a l'aigua és la poca solubilitat de les sals inorgànica en aquests medis i, com a consequència, la dificultat que plantejarà per a l'anàlisi d'alumini en mostres on hi hagi una gran concentració de sals.

Tenint en compte tots aquests factors, hom ha escollit una relació dioxà: aigua de treball de 7:3.

### *5.2. Tècnica de preparació de les solucions de mesura*

Els assaigs han estat duts a terme amb solucions de mesurament preparades en matrassos aforats de 10 ml, en els quals l'ordre d'addició ha estat el següent: en primer lloc hom hi ha introduït un cert volum de solució d'alumini, a continuació hi han estat afegits 7 ml de dioxà a fi d'obtenir la composició del solvent ja establerta (dioxà: aigua 7:3, v:v), després, hom hi ha afegit el reactiu i la quantitat d'àcid clorhídric necessària per tal de portar a terme l'ajust del pH, i finalment ha estat arrasat amb aigua destil·lada.

### *5.3. Espectres d'excitació i de fluorescència*

A les figures 8 i 9 hom dóna els espectres d'excitació i de fluorescència corresponents a una solució del complex de l'alumini amb l'àcid pamoic i, sobreposats, els corresponents al reactiu sol, obtinguts amb les mateixes condicions de treball.

El complex presenta un màxim d'excitació característic a 379 nm i un màxim d'emissió a 508 nm, longitud d'ona a la qual el reactiu presenta una certa fluorescència, que caldrà tenir en compte. Per tant, en totes les determinacions analítiques d'alumini caldrà obtenir una mesura del blanc i restar-la de la del problema.

Els espectres d'excitació i de fluorescència corresponents al complex de l'àcid pamoic amb l'alumini presenten també un desplaçament de Stokes anormalment alt, de 6700 $cm^{-1}$. Com que en la formació del complex hom substitueix l'hidrogen hidroxílic pel metall, i la transferència protònica ja no és possible, en principi hom no hauria d'obtenir un desplaçament de Stokes anormalment alt. Ara bé, en l'estat excitat la formació d'un cicle quelat amb l'ió metàl·lic pot tenir un efecte semblant al de la transferència protònica, i això donaria lloc a aquest desplaçament de Stokes, anormalment alt en el cas dels espectres d'excitació i de fluorescència del complex.

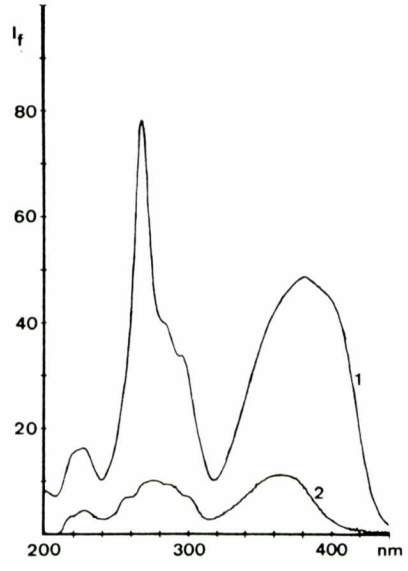


Fig. 8. Espectres d'excitació corresponents al complex (1) i al blanc (2), obtinguts a $\lambda_{em}$ = 508 nm. $c_{Al}$ = 1.18 $\mu$g/ml; $c_{reactiu}$ = $2.82 \cdot 10^{-4}$ M; dioxà: aigua = 7:3; pH = 4.70.

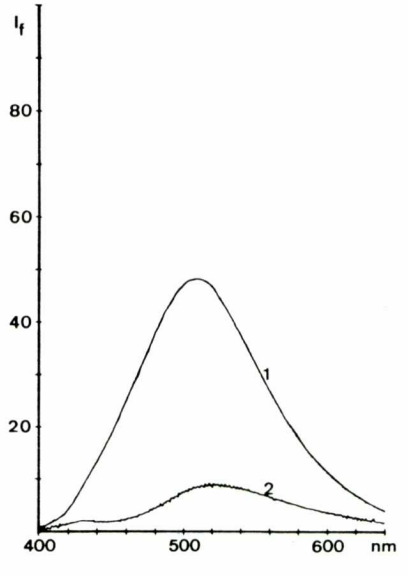


Fig. 9. Espectres de fluorescència corresponents al complex (1) i al blanc (2), obtinguts a $\lambda_{ex}$ = 379 nm. $c_{Al}$ = 1.18 $\mu$g/ml; $c_{reactiu}$ = $2.82 \cdot 10^{-4}$ M; dioxà: aigua = 7:3; pH = 4.70.

### 5.4. *Estabilitat de les solucions de complex amb el temps*

L'estudi de la variació de la intensitat de fluorescència amb el temps mostra, tal com és indicat a la taula II, que el complex es forma gairebé instantàniament i que és estable, al igual que la solució de reactiu, al llarg de les 24 hores en què ha estat estudiat.

Els valors d'intensitat de fluorescència del complex que figuren a la taula II són els que hom obté un cop restat de la lectura de l'instrument el valor corresponent d'intensitat de fluorescència del blanc; i el temps que hom hi cita, es refereix al que ha transcorregut des de la preparació de les solucions.

Ha estat determinada també, la influència de la incubació a 70°C, durant 15, 30 i 60 min, sobre la intensitat de fluorescència de la solució de complex, i hom ha trobat que en cap dels casos no té lloc una variació ostensible de la intensitat de fluorescència.

TAULA II

Estabilitat de les solucions del complex respecte al temps. $c_{Al} = 0{,}473$ μg/ml; $c_{reactiu} = 2.82 \cdot 10^{-4}$ M; $c_{sulfat\ de\ quinina} = 1$ μg/ml dioxà: aigua = 7:3; pH = 4,9; $\lambda_{ex} = 379$ nm; $\lambda_{em} = 508$ nm

| temps | $If_{blanc}$ | $If_{complex}$ |
|---|---|---|
| 15m | 11.4 | 18.1 |
| 45m | 12.0 | 19.5 |
| 1h 15m | 11.5 | 19.6 |
| 1h 45m | 11.8 | 19.9 |
| 5h 15m | 12.7 | 19.6 |
| 6h 15m | 11.7 | 18.3 |
| 24h | | |

### 5.5. *Variació de la intensitat de fluorescència del complex amb el pH*

A fi d'estudiar la influència de l'acidesa sobre la intensitat de fluorescència del complex, hom ha preparat una sèrie de solucions de complex, a les quals han estat afegides quantitats variables d'àcid clorhídric $10^{-2}$ i $10^{-3}$ M, per tal d'aconseguir una gradació del pH entre els valors 3.4 i 6.

A cadascun dels resultats obtinguts, hom hi a restat el valor de la intensitat de fluorescència del blanc corresponent, i així han estat

obtinguts uns valors, representats a la figura 10, que mostren que el màxim d'intensitat de fluorescència per al complex es troba entre pH = 5.05 i pH = 5.2.

Per a ajustar el pH dins l'interval de pH òptim, hom ha pensat d'utilitzar la solució amortidora d'àcid acètic/acetat de sodi, en comptes d'utilitzar àcid clorhídric com fins ara. Però ha estat comprovat que, quan és utilitzada la solució amortidora d'àcid acètic/acetat de sodi, hom obté valors d'intensitat de fluorescència per al complex molt menors que quan és utilitzat àcid clorhídric, àdhuc després d'haver escalfat la solució. Aquesta disminució pot ésser deguda a la formació d'un complex no fluorescent entre l'acetat i l'alumini, que competeix amb el complex de l'alumini amb l'àcid pamoic, o bé, a la formació d'un complex mixt alumini-pamoat-acetat.

Altres solucions amortidores assajades, com són les d'hidrogenftalat o d'hidrogensulfit, tampoc poden ésser utilitzades a causa de l'aparició inmediata d'un precipitat en la solució de complex.

Quan el pH de les solucions és ajustat amb àcid nítric, hom obté valors anàlegs al cas de l'àcid clorhídric, i per tant, l'ajust del pH de les solucions de complex serà dut a terme amb solucions d'àcid clorhídric o àcid nítric, indistintament.

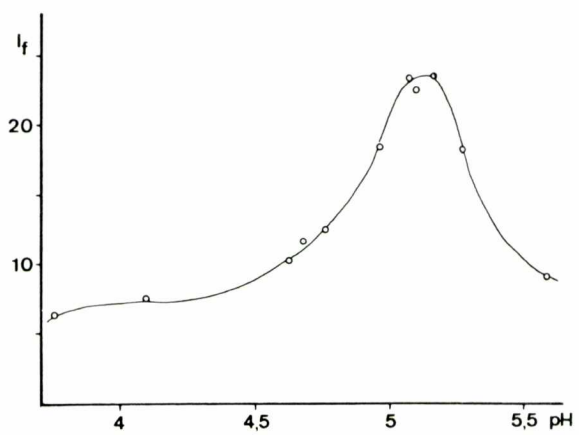


Fig. 10. Variació de la intensitat de fluorescència del complex respecte al pH. $c_{Al} = 0.473\ \mu g/ml$; $c_{reactiu} = 2.82 \cdot 10^{-4} M$; dioxà: aigua = 7:3.

### 5.6. *Variació de la intensitat de fluorescència del complex amb la quantitat de reactiu*

A fi d'estudiar la variació de la fluorescència del complex amb la quantitat de reactiu, ha estat determinada la fluorescència d'una

sèrie de solucions de complex que contenen quantitats variables de reactiu. Els mesuraments d'intensitat de fluorescència han estat confrontats amb un blanc que conté la mateixa quantitat de reactiu que la solució a mesurar.

Els resultats obtinguts són representats a la figura 11, on podem observar que, a partir d'una relació molar 1/4, els valors d'intensitat de fluorescència són independents de la concentració de reactiu, i, per tant, és suficient de treballar amb un excés molar de 4 ó 5 cops de reactiu respecte a l'alumini per a considerar que el complex ja ha estat format totalment.

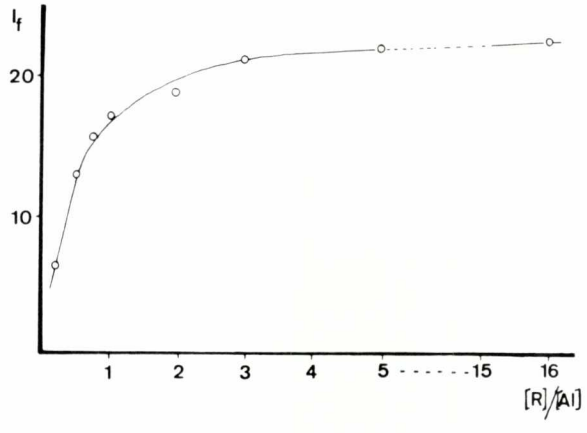


Fig. 11. Variació de la intensitat de fluorescència del complex respecte a la quantitat de reactiu. $c_{Al} = 0.473$ μg/ml; dioxà: aigua = 7:3; pH = 5.1.

## 5.7. *Variació de la intensitat de fluorescència amb la concentració d'alumini*

Hom ha mesurat la fluorescència d'una sèrie de solucions de complex, en les quals ha estat variada la concentració d'alumini entre 0.076 μg/ml i 1.7 μg/ml, i hom ha trobat que en tot aquest interval de concentracions la relació entre la intensitat de fluorescència i la concentració d'alumini és lineal. Els resultats obtinguts figurem a la taula III.

A l'efecte de millorar el límit de detecció del mètode, ha estat disminuïda la concentració de reactiu de treball, i, en aquestes condicions, ha estat estudiada la variació de la intensitat de fluorescència amb la concentració d'alumini, en l'interval de concentracions entre 0.019 i 0.076 μg/ml d'alumini. Els resultats obtinguts (taula IV) indiquen que la relació entre la intensitat de fluorescència i la concentració d'alumini és lineal en aquest interval de concentracions estudiat.

TAULA III

Variació de la intensitat de fluorescència respecte a la concentració d'alumini. $c_{reactiu} = 2.82 \cdot 10^{-4}$ M; dioxà: aigua = 7:3; pH = 4.7; $\lambda_{ex}$ = 379 nm; $\lambda_{em}$ = 508 nm; $c_{sulfat\ de\ quinina}$ = 1 μg/ml

| μg Al/ml | If | Δ If ($If_c - If_b$) |
|---|---|---|
| 0 | 6.76 | – |
| 0.076 | 9.61 | 2.85 |
| 0.11 | 10.45 | 3.69 |
| 0.38 | 17.32 | 10.56 |
| 0.57 | 24.82 | 18.06 |
| 0.76 | 33.05 | 26.29 |
| 1.33 | 52.16 | 45.40 |
| 1.7 | 61.77 | 55.01 |

TAULA IV

Variació de la intensitat de fluorescència respecte a la concentració d'alumini. $c_{reactiu} = 1.12 \cdot 10^{-5}$ M; pH = 5.1; dioxà: aigua = 7:3; $\lambda_{ex}$ = 379 nm; $\lambda_{em}$ = 508 nm; $c_{sulfat\ de\ quinina}$ = 0.04 μg/ml

| ng Al/ml | If | Δ If ($If_c - If_b$) |
|---|---|---|
| 0 | 13.4 | – |
| 19 | 16.3 | 2.9 |
| 28 | 22.6 | 9.2 |
| 33 | 27.9 | 14.5 |
| 43 | 35.1 | 21.7 |

### *5.8. Tècnica per a la determinació d'alumini*

Com a resultat d'això que acabem d'exposar, proposem el mètode següent per a la determinació espectrofotofluorimètrica d'alumini(III):

En un matràs aforat de 10 ml, hom introdueix una quantitat coneguda de solució d'alumini(III), contenint entre 0.76 i 17 μg d'ió. A continuació hi afegeix 7 ml de dioxà, i després 1 ml de solució de reactiu $2.82 \cdot 10^{-3}$ M. Hom ajusta el pH entre 5.05 i 5.2 amb àcid clorhídric $10^{-2}$ M i $10^{-3}$ M, i finalment és arrasat amb aigua destil·lada. Hom llegeix la intensitat de fluorescència a $\lambda_{ex}$ = 379 nm i $\lambda_{em}$ = 508 nm, utilitzant com a blanc una solució preparada d'igual forma, que no conté alumini.

El contingut d'alumini és determinat mitjançant una corba de calibratge, obtinguda d'una manera anàloga a partir de solucions patró d'alumini.

A continuació proposem una modificació de la tècnica descrita, per als casos en què hom parteix de mostres amb menor contingut d'alumini:

En un matràs aforat de 50 ml és introduïda una quantitat coneguda de solució d'alumini(III), contenint entre 0.95 i 2.15 $\mu$g d'ió. Després hom hi afegeix 35 ml de dioxà i 5 ml de solució de reactiu $1.12 \cdot 10^{-4}$ M. El pH és ajustat entre 5.05 i 5.2 amb àcid clorhídric $10^{-2}$ i $10^{-3}$ M, i finalment hom arrasa amb aigua destil·lada. La lectura d'intensitat de fluorescència i la determinació del contingut d'alumini són dutes a terme d'una manera anàloga a la descrita a la tècnica precedent.

## 6. PÀRAMETRES DE QUALITAT DEL MÈTODE

### *6.1. Límit de detecció*

A partir de les normes de la IUPAC,[22] ha estat determinada la quantitat mínima d'alumini detectable pel mètode en estudi, la qual hom ha trobat que és de 19 ng/ml.

### *6.2. Sensibilitat*

La sensibilitat d'un mètode fluorimètric és donada per $d(I_f)/dc$. Pel mètode establert en aquest treball, hom obté un valor de la sensibilitat de 31.70 ml/$\mu$g, al nivel de ng/ml d'alumini.

### *6.3. Precisión*

La precisió del mètode és donada, segons indiquen les normes de la IUPAC,[23] pel valor de la desviació estàndard relativa dels resultats obtinguts per a una sèrie de solucions de complex, preparades d'una forma idèntica i independentment. La desviació estàndard relativa és definida com el quocient entre la desviació estàndard i el valor mitjà.

Perl mètode en estudi, la precisió és del 8%.

### *6.4. Interferències*

Ha estat estudiada la possible interferència que pot provocar la presència d'altres elements en la determinació d'alumini segons el mètode

que proposem. Hom ha escollit, d'una banda, aquells ions metàl·lics que presenten propietats químiques anàlogues a l'alumini, i que són el beril·li, el gal·li i l'indi, i d'altra banda, aquells ions metàl·lics que com a més freqüents poden acompanyar l'alumini en mostres d'aerosols atmosfèrics, on en principi seria aplicable el mètode que proposem. Han estat assajats també aquells ions que formen part de les solucions auxiliars que hom utilitza.

En primer lloc, han estat determinats els espectres característics d'excitació i de fluorescència per als ions que també formen un complex fluorescent amb l'àcid pamoic, però emprant les condicions experimentals (pH, concentració de reactiu, composició del medi) que indica el mètode que ha estat proposat en aquest treball per a la determinació d'alumini. A la taula V figuren els valors de les longituds d'ona d'excitació i de fluorescència i de la intensitat de fluorescència trobats per a cadascun d'aquests elements. Hom ha trobat que el Ga(III) i sobretot el Be(II) formen complexos molt fluorescents.

A continuació, i per a tots els ions estudiats, ha estat determinat el límit de tolerància, en $\mu$g/ml, en una solució del complex de l'alumini amb l'àcid pamoic, que conté 0.473 $\mu$g/ml d'alumini. Hom considera que no hi ha interferència d'un ió quan provoca una desviació de la intensitat de fluorescència menor de ± 10%. En alguns casos, però, hom observa l'aparició d'un precipitat, abans que el possible ió interferent provoqui una desviació de la intensitat de fluorescència de ± 10%. La concentració d'ió, a la qual comença a aparèixer el precipitat, és considerada com a límit de tolerància per a aquest ió. A la taula VI donem els resultats obtinguts, tot especificant la concentració màxima tolerada, així com la relació molar ió interferent/alumini corresponent.

TAULA V

Propietats fluorescents d'alguns complexos metàl·lics de l'àcid pamoic assajats. $c_{\text{ió metàl·lic}} = 1$ $\mu$g/ml; $c_{\text{reactiu}} = 2.82 \cdot 10^{-4}$ M; $c_{\text{sulfat de quinina}} = 1$ $\mu$g/ml; pH = 5; dioxà: aigua = 7:3

| ió metàl·lic | $\lambda_{ex}$màx | $\lambda_{em}$màx | If |
|---|---|---|---|
| Al(III) | 379 | 508 | 47,0 |
| Be(II) | 400 | 462 | 258.5 |
| Mg(II) | 370 | 520 | 10.0 |
| Ca(II) | 370 | 520 | 11.0 |
| Ga(III) | 370 | 520 | 40.5 |

TAULA VI

Establiment del límit de tolerància. $c_{Al} = 0.473$ μg/ml; $c_{reactiu} = 2.82 \cdot 10^{-4}$ M; dioxà: aigua = 7:3; pH = 5.05-5.1; $\lambda_{ex} = 379$ nm; $\lambda_{em} = 508$ nm; $c_{sulfat\ de\ quinina} = 1$ μg/ml

| ió interferent | límit de tolerància (μg/ml) | relació molar ió interf./Al |
|---|---|---|
| Be(II) | < 0.1 | < 0.5 |
| Ga(III) | < 0.1 | < 0.07 |
| In(III) | 1.0 | 0.45 |
| K(I) | 3900* | 5000* |
| Ca(II) | 1.0 | 1.25 |
| Mg(II) | 0.2 | 0.4 |
| Pb(II) | 13.0 | 3.0 |
| Cu(II) | 2.5 | 2.0 |
| Hg(II) | 0.2 | 0.05 |
| Fe(III) | 5.0 | 4.5 |
| Mn(II) | 0.25 | 0.23 |
| Zn(II) | 1.0 | 0.8 |
| $NH_4^+$ | 500* | 1400* |
| $Cl^-$ | 3550* | 5000* |
| $NO_3^-$ | 500* | 403* |

*No n'han estat assajades concentracions superiors, bé que hom no ha arribat al límit de tolerància.

Les interferències més comunes són les dels cations Be(II), Ga(III), Mg(II), Mn(II) i Hg(II).

## 7. DETERMINACIÓ DE L'ESTEQUIOMETRIA DEL COMPLEX I CÀLCUL APROXIMAT DE LA SEVA CONSTANT D'ESTABILITAT

Ha estat determinada l'estequiometria del complex de l'alumini amb l'àcid pamoic, aplicant el mètode de les variacions contínues[13] i el de la raó molar.[14]

### *7.1. Mètode de les variacions contínues*

El mètode de les variacions contínues es basa en mesurar la fluorescència d'una sèrie de solucions de complex, en les que la suma de les

concentracions d'alumini i de reactiu s'ha mantingut constant i s'ha anat variant la concentració d'ambdós. Per a cada concentració de reactiu diferent, s'ha preparat la solució de blanc corresponent, i la mesura de fluorescència pel complex és l'obtinguda respecte la d'aquest blanc. A la figura 12 es representen els valors d'intensitat de fluorescència obtinguts per a cada relació $c_{Al}/c_{Al} + c_{reactiu}$ utilitzada, i s'observa un màxim quan aquesta relació és aproximadament 0.5, que correspon a una relació estequiomètrica 1:1 alumini:reactiu.

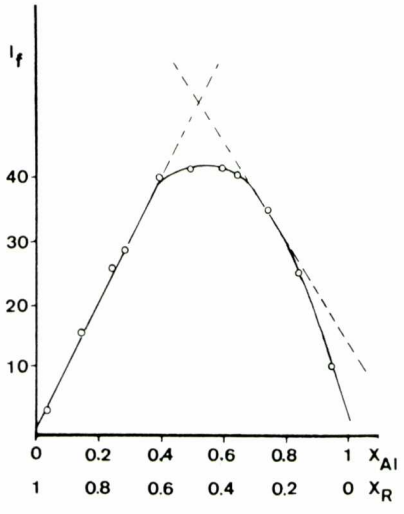


Fig. 12. Mètode de les variacions contínues. $c_{Al} + c_{reactiu} = 8.76 \cdot 10^{-5}$M; dioxà: aigua = 7:3; pH = 5.03.

## 7.2. *Mètode de la raó molar*

Hom ha preparat una sèrie de solucions de complex que contenen totes la mateixa concentració d'alumini i una concentració variable de reactiu, i n'ha estat mesurada la intensitat de fluorescència. A cadascun dels valors d'intensitat de fluorescència obtinguts, li ha estat restat el valor d'intensitat de fluorescència d'una solució de blanc amb la mateixa concentració de reactiu que la solució de complex corresponent, i els valors trobats són representats a la figura 13. La intersecció dels dos segments rectilinis, obtinguts mitjançant un estudi de regressió lineal dels punts, coincideix amb una relació molar alumini/reactiu d'1/1. Aquest resultat coincideix amb l'obtingut en l'experiment

anterior, i al complex que es forma hom li pot assignar l'estequiometria 1:1 alumini:reactiu.

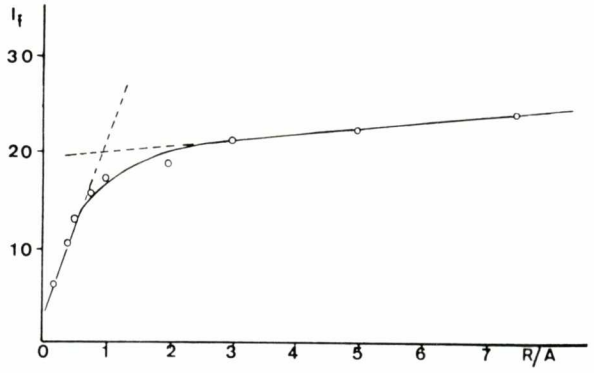


Fig. 13. Mètode de la raó molar. $c_{Al}$ = 0.473 μg/ml; dioxà aigua = 7:3; pH = 5.1.

### 7.3. *Avaluació aproximada de la constant de formació del complex*

A partir dels resultats obtinguts en el mètode de les variacions contínues, i aplicant el mètode de Likussar i Boltz,[15] ha estat calculada una constant de formació aproximada del complex. Les línies generals del mètode són les següents:

Primerament hom defineix el concepte d'escala normalitzada, que consisteix a dividir les intensitats de fluorescència experimentals per un terme de màxima intensitat de fluorescència, que és la que dóna una solució que conté un excés de lligand i una concentració de metall, $(c_M)_{màx}$, que correspon al punt estequiomètric de la figura 12. La variable normalitzada, "y", és, doncs:

$$y = \frac{If_c - If_b}{(If_c)_{màx} - (If_b)_{màx}} = \frac{\Delta\ If}{(\Delta\ If)_{màx}} \qquad (1)$$

Hom considera l'equació general de formació del complex:

$$mM + nR \rightleftharpoons M_n\ R_n$$

amb una constant de formació:

$$K_f = [M_m\ R_n] \cdot [M]^{-m} \cdot [R]^{-n} =$$

$$= [M_m\ R_n] \cdot (c_M - m\,[M_m\ R_n])^{-m} \cdot (c_R - n\,[M_m\ R_n])^{-n} \qquad (2)$$

En aquesta equació, $c_M$ i $c_R$ són la concentració total de metall i de lligand, respectivament.

El valor de la intensitat de fluorescència normalitzada pot ésser relacionat amb la concentració de complex, i hom arriba a:

$$y = \frac{\Delta \text{ If}}{(\Delta \text{ If})_{màx}} = \frac{[M_m R_n]}{[M_m R_n]_{màx}} \qquad (3)$$

La substitució d'aquesta equació en l'equació (2) dóna lloc a l'expressió següent per a la $K_f$:

$$K_f = (m + n/k)^{m + n-1} \cdot y \cdot [(m + n) \cdot X\text{-}my]^{-m} \cdot [(m + n)(1\text{-}X)\text{-}ny]^{-n} \qquad (4)$$

on:

$$k = c_M + c_R \text{ i } X = c_M/k.$$

En aquesta última expressió de $K_f$, m, n i $K_f$ tenen valors definits en el sistema metall-complex donat, mentre que k, X i y són obtingudes experimentalment.

Com que l'equacio (4) és aplicada al punt de $y_{màx}$, per a trobar el màxim del mètode de les variacions contínues l'equació s'ha de derivar, i igualar la primera derivada a zero. Hom obté l'expressió $X_{màx} = m/$

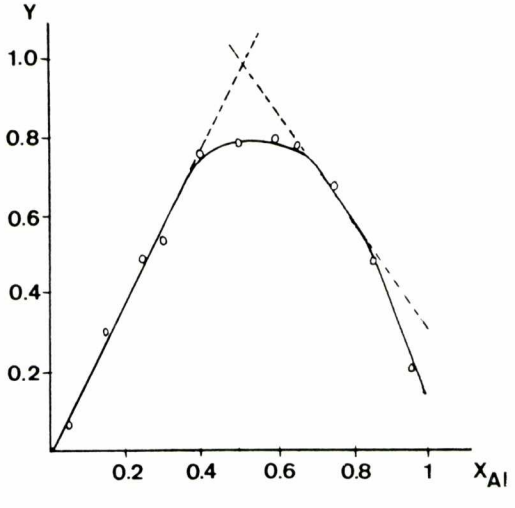


Fig. 14. Mètode de les variacions contínues aplicant-hi el concepte de l'escala normalitzada.

$m + n$, i la substitució a l'equacio (4) de X i y per $X_{màx}$ i $y_{màx}$ dòna:

$$K_f = [(m + n)/k]^{(m + n-1)} \cdot m^{-n} \cdot n^{-n} \cdot y_{màx} \cdot (1-y_{màx})^{-(m + n)} \qquad (5)$$

A la figura 14 és representada y en funció de la fracció molar de metall, X. Hom obté un màxim al qual correspon un valor d'ordenades $y_{màx} = 0.79$ i un valor d'abscisses $X_{màx} = 0.5$. Coneguts $m = n = 1$, $k = 8.76 \cdot 10^{-5}$ i $y_{màx} = 0.79$, hom pot aplicar ja l'equació (5), i obté el resultat següent: $\log K_f = 5.60$.

## 8. AVANTATGES I DESAVANTATGES DEL METODE PROPOSAT EN FRONT DEL QUE UTILITZA L'ÀCID 3-HIDROXI-2-NAFTOIC[1]

Els dos mètodes tenen un límit de detecció i una precisió del mateix ordre, mentre que la sensibilitat és tres vegades més gran per al mètode que utilitza l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic com a reactiu analític, que per al mètode descrit en aquest treball.

Un gran avantatge del mètode proposat en aquest treball és la gran estabilitat del complex format (durant les 24 hores en què ha estat estudiat). En canvi, el complex de l'alumini amb l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic és molt menys estable, ja que la intensitat de fluorescència augmenta fins 30 minuts després de preparada la solució de complex, moment en què el valor d'intensitat de fluorescència passa per un màxim, i disminueix després d'una forma contínua amb el temps, la qual cosa obliga a fer el mesurament de fluorescència en un temps preestablert, curt i igual per a totes les mostres.

Quant a les interferències, cal destacar el fet que el Fe(III), que és una interferència del mètode que utilitza l'àcid 3-hidroxi-2-naftoic, àdhuc en concentracions molt baixes, pot ésser present en quantitats notables, sense provocar interferència, quan hom aplica el mètode que utilitza l'àcid pamoic com a reactiu. Ara bé, altres cations, com són Mn(II), Mg(II) i Ca(II), que no interfereixen en el mètode descrit per Kirkbright, són, en canvi, una interferència en el mètode que ha estat establert en aquest treball.

BIBLIOGRAFIA


1. G. F. KIRKBRIGHT, T. S. WEST, C. WOODWARD. Anal. Chem. *37* (1), 137-43, (1965).
2. FOSTER DEE SNELL: "Photometric and Fluorometric Methods of Analysis. Metalls". Part 1. Novar York, Wiley, (1978).
3. A. I. CHERKESOV. Doklady Akad. Nauk. SSSR. (118), 309-11, (1958).
4. D. B. GLADILOVICH, N. N. GRIGOR'EV, K. P. STOLYAROV. Vestn. Leningr. Univ., Fiz., Khim. *22* (4), 130-4, (1976).
5. D. B. GLADILOVICH, N. N. GRIGOR'EV, K. P. STOLYAROV. Vestn. Leningr. Univ., Fiz., Khim. (1), 120-7, (1977).
6. D. B. GLADILOVICH, N. N. GRIGOR'EV, K. P. STOLYAROV. Zh. Anal. Khim. *33* (9), 1763-70 (1978).
7. D. B. GLADILOVICH, N. N. GRIGOR'EV, K. P. STOLYAROV. Vestn. Leningr. Univ., Firz, Khim. (3), 109-113, (1978).
8. N. M. ALYKOV, A. I. CHERKESOV. Zh. Anal. Khim. *30* (2), 225-31, (1975).
9. H. WULLEN, E. STAINIER, M. LUYCKX. J. Pharm. Belg. *21* (7-8), 409-23, (1966).
10. J. GARGALLO. Tesi Doctoral.
11. J. DUÑACH, E. CASASSAS. Comunicació presentada a les "1$^{as}$ Jornadas de Análisis Instrumental (1$^{as}$ J.A.I.), Barcelona (1975).
12. J. DUÑACH, E. CASASSAS. Comunicació presentada a la reunió de la Société de Chimie Physique, Bellaterra, (1975). (*compte rendu* publicat a J. Chim. Phys., *72,* 959, (1975)).
13. P. JOB. Ann. Chim. (París). *9,* 113, (1928).
14. J. H. YOE, A. JONES. Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. *16,* 111, (1944).
15. W. LIKUSSAR, D. F. BOLTZ. Anal. Chem. *43* (10), 1265-72, (1971).
16. HERCULES: "Fluorescence and Phosphorescence Analysis". Interscience Publishers. Pag. 109, (1966).
17. K. HIROTA. Z. Physik. Chem. *35,* 222-33, (1962).
18. A. WELLER: "Progress in Reaction Kinetics". Pag. 188-214, (1961).
19. KWAN-KIT MUI, W.A.E. MCBRYDE. Canad. J. Chem. *52,* 1821, (1974).
20. R. TAULÉ. En preparació.
21. S. G. SCHULMAN, H. GERSHON. J. Inorg. Nucl. Chem. *31,* 2467, (1969).
22. I.U.P.A.C.: "Compendium of Analytical Nomenclature". Pag. 133, (1977).
23. I.U.P.A.C.: "Compendium of Analytical Nomenclature". Ed. Pergamon Press. Pag. 9, (1978).