

Aplicación de la Quimiometría para el aprovechamiento analítico de reactivos generales. Revisión de la incertidumbre instrumental y del Límite de Detección multivariable.

Juan Zuriarrain Ocio

TESIS DE LA UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO/EUSKAL HERRIKO UNIBERTSITATEA

QUIMICA APLICADA

Fecha de Lectura: 16/07/2010

CAPÍTULO 2

AUTOMATIZACIÓN Y TÉCNICAS DE FLUJO; VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA MSFIA PARA ANÁLISIS CINÉTICOS Y SU APLICACIÓN A LA GENERACIÓN DE REACTIVOS IN SITU.

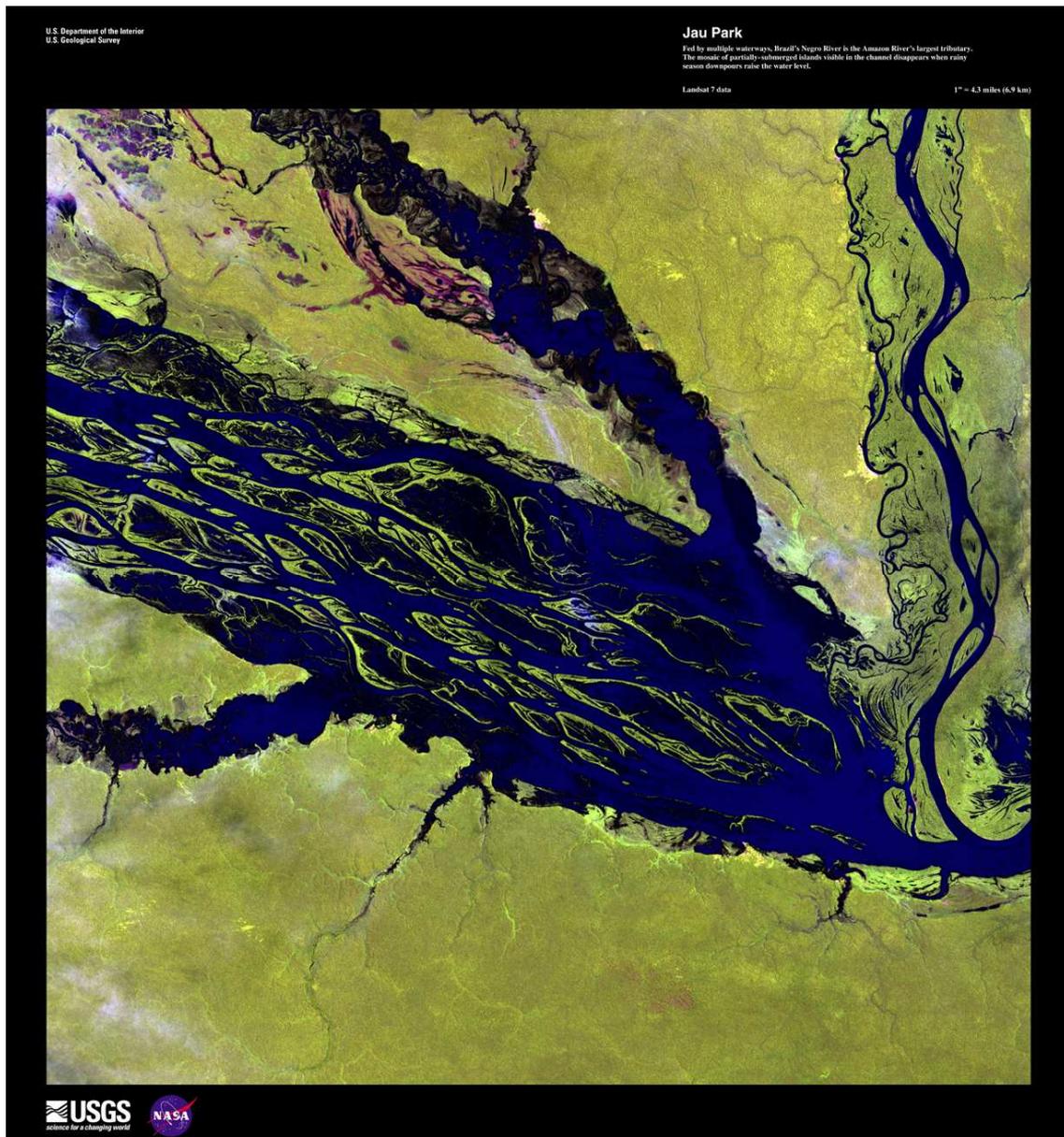


Juan Zuriarrain Ocio, 2010

<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>

<http://addi.ehu.es/handle/10810/5574>

AUTOMATIZACIÓN Y TÉCNICAS DE FLUJO; VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA MSFIA PARA ANÁLISIS CINÉTICOS Y SU APLICACIÓN A LA GENERACIÓN DE REACTIVOS IN SITU.



Alimentado por varias vías de agua, el Río Negro de Brasil, es el mayor afluente del Amazonas. El mosaico de islas parcialmente sumergidas visible en el canal desaparece cuando en la época de lluvias los aguaceros elevan el nivel del agua.

1. INTRODUCCIÓN:

El tratamiento automatizado de muestras se emplea generalmente para algunas operaciones específicas, como la disolución de la muestra y la eliminación de interferencias; en otros casos todos los pasos del procedimiento analítico están automatizados. Una de las tareas más complejas de la automatización es la preparación de muestras y reactivos. Se deben diferenciar, entonces, los llamados métodos parcialmente automatizados de los métodos que lo están completamente¹. Un método totalmente automatizado debe ser capaz de realizar todo el proceso analítico sin la intervención del analista. Algunas veces se emplea el término “*automatizados*” cuando únicamente una de las etapas de todo el proceso analítico posee esta característica. En este último caso, se imitan a menudo las operaciones que se efectuarían de manera manual, como cuando existe riesgo para el operador², cuando los reactivos son inestables³ o cuando se tienen que hacer muchos pasos rutinarios. Algunos sistemas semiautomáticos sólo automatizan la etapa de medida del procedimiento o algunos pasos químicos además de la etapa de medida.

En los métodos de flujo continuo la muestra se inserta en una corriente donde se pueden realizar varias operaciones antes de transportarla a un detector de flujo. Por consiguiente, estos sistemas se comportan como analizadores automatizados en cuanto que pueden llevar a cabo no sólo las operaciones del tratamiento de las muestras sino también el paso final de la medida. Las operaciones de tratamiento de las muestras, como adición de reactivos, dilución, incubación, mezclado, diálisis, extracción y otras muchas pueden realizarse entre el punto de inserción de la muestra y el detector⁴. Se destacan a continuación algunas de las características que hacen interesantes los sistemas en flujo⁵:

¹ Cerdà, Víctor (2008, August 4). *Flow Techniques in Analytical Chemistry Automation*. SciTopics. Retrieved February 5, 2010, from

www.scitopics.com/Flow_Techniques_in_Analytical_Chemistry_Automation.html, (visto en 2010).

² Y. Fajardo, E. Gómez, F. Garcias, V. Cerdà, M. Casas; *Multisyringe flow injection analysis of stable and radioactive yttrium in water and biological samples*; *Anal. Chim. Acta*, 539 (2005) 189-194.

³ G. Den Boef; *Unstable reagents in flow analysis*; *Anal. Chim. Acta*, 216 (1989), 289-297.

⁴ D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, S. R. Crouch; *Fundamentos de Química Analítica. 8ª Ed.*; Thomson, Madrid (2005); 191-192.

⁵ J. Ruzicka and E. H. Hansen; *Flow Injection Analysis 2nd Ed.*, Wiley & Sons, New York (1988), p. 3.

- Fáciles de miniaturizar. Se reducen las dimensiones de los tubos y de ese modo los volúmenes a tratar son menores que en sistemas como la mezcla manual.

- Fáciles de controlar en espacio y tiempo: Al usar tubos cerrados se evita la evaporación, se proporciona una ruta exactamente repetible por la que transcurrirán las distintas disoluciones, y tanto la mezcla de reactivos como la aparición de productos se produce de una forma altamente reproducible.

- Las operaciones en flujo son muy versátiles: el flujo puede pararse, ponerse de nuevo en marcha, invertirse, dividirse, etc.

- Los sistemas de flujo permiten utilizar la mayoría de los detectores y sensores que tradicionalmente se usan para la mezcla manual.

1.1. Análisis por inyección secuencial (SIA):

La técnica SIA fue introducida a principios de los años 1990 por J. Ruzicka y G. Marshall⁶ como alternativa al FIA. Una de las limitaciones iniciales en el desarrollo del SIA fue la necesidad de incorporar un ordenador para el control del sistema. Es en los últimos años, con la aparición de programas comerciales, cuando se ha ido desarrollando el SIA con mayor fuerza y ha cobrado mayor repercusión como técnica analítica⁷. La técnica comienza a citarse en algunos libros de texto^{8,9} en los que el FIA era la única técnica de flujo comentada.

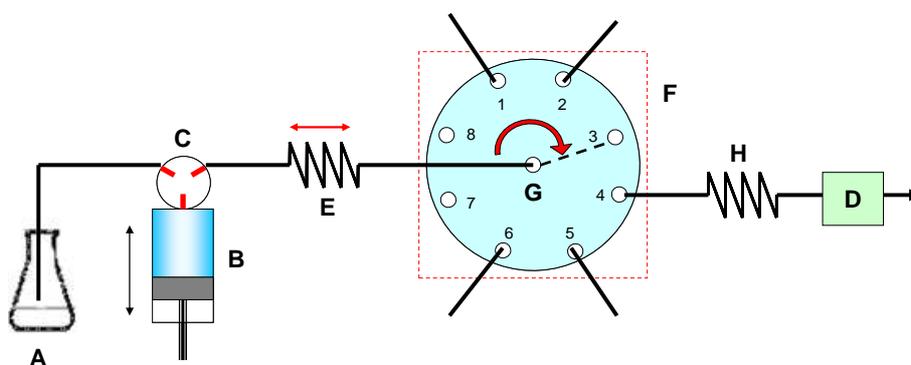


Fig. 1: Esquema del montaje de un sistema SIA. A) Depósito para disolución portadora; B) Bomba de pistón (jeringa); C) Válvula solenoide de tres vías; D) Detector; E) Bucle de almacenamiento; F) Válvula de selección; G) Puerto central; H) Bucle de reacción.

El elemento característico de la técnica SIA (Figura 1) es la válvula de selección¹⁰, con varios puertos o canales y rotatoria (Figura 1.F). El puerto central (Figura 1.G) de la válvula puede conectarse a cualquiera de los puertos restantes mediante el giro controlado a través del ordenador. También está conectado a la bomba de pistón (Figura 1.B) por uno de los canales de la válvula solenoide de tres vías (Figura 1.C); el portador (Figura 1.A) se carga en la jeringa a través de uno de ellos y se introduce al sistema por el otro. Se coloca un bucle de almacenamiento (Figura 1.E)

⁶ J. Ruzicka, G. D. Marshall; *Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays*; Anal. Chim. Acta 237 (1990), 329.

⁷ A. Economou, *Sequential-injection analysis (SIA): A useful tool for on-line samplehandling and pre-treatment*, Trends in Anal. Chem. 24 (5), 2005, 416-425.

⁸ G. D. Christian; *Analytical Chemistry*, 6th Ed.; Wiley, Inc, U.S.A. (2004); p. 673-674.

⁹ R. Kellner, J.-M. Mermet, M. Otto, M. Valcarcel, H. M. Widmer; *Analytical Chemistry. A Modern approach to analytical science*. 2nd Ed., Wiley, Weinheim (2004), 1006.

¹⁰ Claire E. Lenehan, Neil W. Barnett and Simon W. Lewis, *Sequential injection analysis*; Analyst, 2002, 127, 997-1020.

suficientemente largo, entre la válvula de selección y la jeringa, para que ninguno de los reactivos/muestra pueda llegar a introducirse en el interior de la jeringa. Los distintos puertos de la válvula de selección pueden estar conectados a distintos reactivos, muestras a analizar, patrones, depósito de desechos, cámaras de mezcla u otros artilugios como minicolumnas de separación, reactores de UV o de microondas, etc.

Para poner en funcionamiento el sistema, primeramente se carga la jeringa con el portador. Todos los tubos tanto de reactivos como patrones o muestras han sido cargados previamente a realizar cualquier tipo de análisis, aspirando exceso de ellos y eliminándolos posteriormente hacia un depósito de desechos. La válvula de selección se conecta con el puerto dirigido al detector (Figura 1.D), y el pistón empuja el portador hacia el sistema de forma que todo el circuito se quede cargado. Posteriormente la válvula de selección se conecta con el puerto de la muestra, y se cargan unos pocos microlitros en el bucle de almacenamiento, moviendo el pistón hacia abajo controladamente desde el ordenador de forma precisa (Figura 2.A).

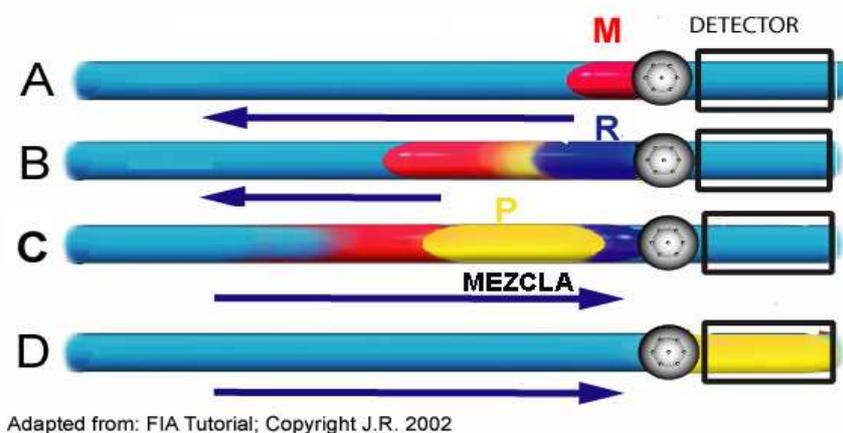


Fig. 2: Secuencia de pasos del sistema SIA. A) Se aspira la muestra (M); B) Se aspira el reactivo (R); C) Se activa el pistón de forma que impulse las disoluciones hacia el puerto del detector; D) Los productos (P) formados son monitorizados en el detector.

La jeringa permanece inmóvil durante el giro de la válvula de selección para evitar golpes de presión. Tras cargar la muestra, se aspira el reactivo con lo que el bolo de muestra y el de reactivo permanecen en contacto en el bucle de almacenamiento produciéndose algo de mezcla (Figura 2.B). Finalmente, la válvula de selección se conecta al puerto al que está unido el detector, el pistón se acciona de modo que empuje, y las disoluciones almacenadas son propulsadas a través del bucle de reacción (Figura 1.H) hacia el detector (Figura 2.C). La mezcla entre muestra y reactivo se

produce por dispersión, y al reaccionar se forman especies detectables que pueden monitorizarse en el detector (Figura 2.D).

En la bibliografía se pueden encontrar algunas de las propiedades que diferencian el SIA del FIA¹¹; entre otras, se destacan las siguientes:

- La instrumentación requerida para un sistema SIA es mucho más sencilla y robusta, dado que cuenta con un solo canal, incluso para sistemas químicos utilizados para determinaciones multicomponentes¹² mientras que en FIA se debe añadir un canal por cada reactivo.
- En SIA se sustituye la bomba peristáltica multicanal (comúnmente usada en FIA), por una bomba de pistón (jeringa), la cual es mucho más precisa y robusta.
- El consumo de muestra y reactivo se reduce drásticamente, en torno a una décima parte con respecto a FIA. Esta característica es sobre todo muy interesante cuando se utilizan reactivos muy caros, peligrosos o contaminantes, porque también se reducen así los residuos de desecho.
- Al utilizar un único canal, es sencillo implementar el rango de posibles análisis aún utilizando el mismo montaje, simplemente cambiando los reactivos utilizados.
- La válvula de selección permite que se realicen calibraciones adecuadas de forma automatizada.
- Es un método en el que la automatización se antoja esencial, dado que el manejo con precisión de los distintos elementos que componen el montaje requiere del control por ordenador.
- Como contrapartida, en general, la técnica SIA es más lenta que la de FIA¹³.

¹¹ Elo Harald Hansen; *The impact of flow injection on modern chemical analysis: has it fulfilled our expectations? And where are we going?*; Talanta 64 (2004) 1076–1083.

¹² Verónica Gómez, María Pilar Callao *Multicomponent análisis using flow systems*; Trends in Anal. Chem., 26 (8), 2007, 767-774.

¹³ FIALab Instruments; <http://www.flowinjection.com/method2.html>; (visto en 2010).

1.2. Análisis por inyección en flujo multijeringa (MSFIA):

Se trata de una alternativa introducida en 1999¹⁴. Su fundamento consiste en transferir la robustez de los métodos SIA basada en el uso de bombas de pistón (jeringas), a la técnica FIA, y así solucionar los problemas ocasionados por el uso de bombas peristálticas y de los tubos flexibles que con ellas son utilizados¹⁵.

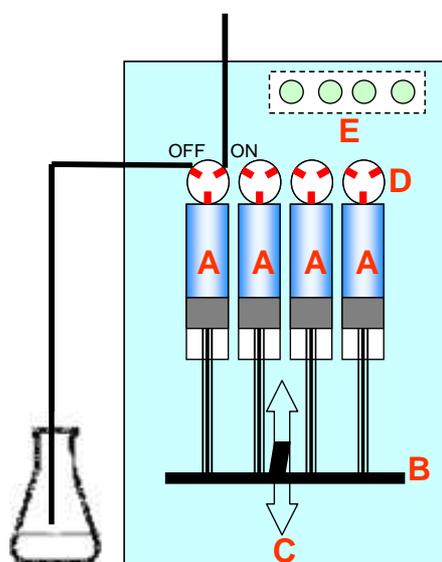


Fig. 3. Módulo de inyección multijeringa de 3ª generación.

La parte esencial de MSFIA es una bomba de pistón y automatizada (Figura 3) (Crison Instrument S.A.; Alella, Barcelona, España) a la que se incorporan hasta 4 jeringas (Figura 3.A), que pueden ser de diferentes capacidades, unidas en bloque a una misma barra (Figura 3.B), accionada por un solo motor (Figura 3.C). De esta forma todas las jeringas se mueven simultáneamente en la misma dirección tanto para aspirar como para inyectar sus disoluciones correspondientes. La cabeza de cada jeringa está conectada a una válvula solenoide de tres vías (Figura 3.D), que permite la conexión hacia el sistema (ON) o bien al depósito de reactivos (OFF) independientemente de cuál sea el movimiento del desplazamiento. El último de los prototipos diseñados (3ª generación) también posee en su parte posterior una salida analógica adicional para el control independiente de hasta 4 válvulas solenoides (Figura 3.E); Esta salida puede gobernar también otros dispositivos que funcionen con el mismo voltaje, como relés, bombas, agitadores...etc aportando nuevas y ventajosas características que lo distinguen de los sistemas de flujo precedentes. Se citan a continuación algunas de las ventajas del uso de la técnica MSFIA¹⁶:

La parte esencial de MSFIA es una bomba de pistón y automatizada (Figura 3) (Crison Instrument S.A.; Alella, Barcelona, España) a la que se incorporan hasta 4 jeringas (Figura 3.A), que pueden ser de diferentes capacidades, unidas en bloque a una misma barra (Figura 3.B), accionada por un solo motor (Figura 3.C). De esta forma todas las jeringas se mueven simultáneamente en la misma dirección tanto para aspirar como para inyectar sus disoluciones correspondientes. La cabeza de cada jeringa está conectada a una

¹⁴ V. Cerdà, J. M. Estela, R. Forteza, A. Cladera, E. Becerra, P. Altimira and P. Sitjar; *Flow techniques in water analysis*; Talanta 50 (4) 1999; 695-705.

¹⁵ V. Cerdà, *Introducción a los Métodos de Análisis en Flujo*, SCIWARE S.L., Palma de Mallorca (2006), p. 45.

¹⁶ M. Miró, V. Cerdà, J. M. Estela; *Multisyringe flow injection analysis: characterization and applications*; Trends Anal. Chem. TrAC, 21 (3) 2002, 199-210.

-
- Se reducen costes al eliminar las válvulas rotatorias del SIA. La conmutación de las válvulas solenoides es mucho más rápida, permitiendo incluso cambiar su posición durante un mismo movimiento del pistón sin causar ningún tipo de sobrepresión.
 - Se consigue la robustez del SIA, ya que los distintos líquidos están sólo en contacto con el vidrio de las jeringas y con el teflón de los tubos y los émbolos. Ahora se pueden utilizar reactivos agresivos así como disolventes que antes con los tubos de las bombas peristálticas no se podían.
 - Se ahorran reactivos en comparación con FIA, ya que solo se inyectan en el preciso momento de llevar a cabo la determinación analítica gracias a las válvulas de conmutación. Cuando no se necesitan, los reactivos son devueltos a sus depósitos en vez de enviarlos a desecho.
 - Se consiguen las elevadas frecuencias de muestreo del FIA debido a que la adición de muestra y reactivos se hace en paralelo y no hace falta almacenarlos en un bucle como se hace en SIA. Existen muy diversas configuraciones y alternativas para realizar la inyección de volúmenes precisos de muestra.
 - Ofrece mayor versatilidad que FIA debido a la gran variedad de tamaños de jeringas existentes y a que pueden colocarse con distintas combinaciones, ya que los tiempos no vienen fijados por la longitud de los tubos sino por las instrucciones dadas desde el ordenador que controla todo el sistema, al igual que ocurre en SIA. Normalmente cambiar de método analítico significa únicamente cambiar el fichero del método y cambiar las botellas de los reactivos necesarios para el mismo.
 - La versatilidad de operaciones de la metodología MSFIA puede verse aumentada cuando se acopla a otras técnicas (SIA, stopped-flow...etc.) o módulos y a diferentes técnicas de detección¹⁷.

¹⁷ B. Horstkotte, O. Elsholz, V. Cerdà; *Review on automation using multisyringe for injection analysis*; J. Flow Injection Anal., 22 (2) 2005, 99-109.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Reactivos:

Todos los reactivos utilizados fueron de calidad analítica (Scharlau, Merck o Fluka). Se emplearon sin purificación previa, y se trabajó utilizando siempre agua bidestilada.

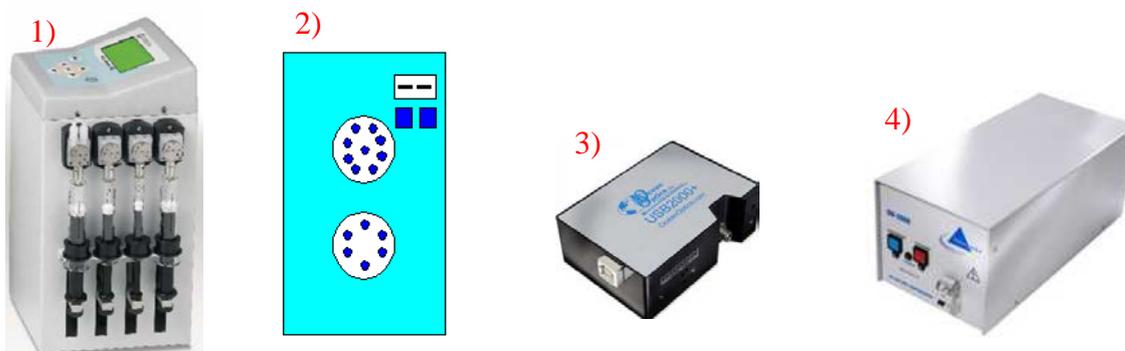
Disolución stock de ácido sulfúrico aproximadamente 1 molar, que se normaliza con NaOH, previamente valorado con ftalato ácido de potasio. A partir de esta disolución inicial y mediante diluciones adecuadas se prepararon disoluciones más diluidas.

Disoluciones stock de bromuro potásico (KBr) 1.00 mol l^{-1} , y de Bromato potásico (KBrO_3) 0.20 mol l^{-1} , ambos disueltos en ácido sulfúrico 0.222 mol l^{-1} pesando las cantidades necesarias de los sólidos.

Las disoluciones de los diferentes analitos probados se obtienen disolviendo las cantidades necesarias de los sólidos en agua bidestilada.

2.2. Instrumentacion y software:

La instrumentación para el sistema de flujo, consta de un módulo multijeringas 4S (1) y un módulo de selección/inyección VA 1+1 de la casa Crison (2), (Alella, Spain). Como instrumento de medida se empleó un detector de acoplamiento de carga (CCD) USB2000 (3) (Ocean Optics, Dunedin, Florida, USA), sin rendija de entrada, y como fuente de luz UV-Visible la DH2000 (4) (Ocean Optics). La conducción de la luz se realizó a través de fibras ópticas de $600 \mu\text{m}$ de diámetro interno.



La conducción de las distintas disoluciones se realizó a través de tubos de Teflón® de 0.8 y 1.5 mm de diámetro interno. Además se utilizaron conexiones en cruz, y una válvula solenoide de tres puertos (on/off) de TAKASAGO (Kamata, Ohta-ku, Tokyo). La lectura espectrofotométrica de las disoluciones se realiza en una cubeta de flujo (Hellma GmbH & Co; Müllheim; Germany). Los diferentes esquemas de montajes realizados se comentarán más adelante, en cada apartado correspondiente.

El control de los módulos, así como el desarrollo de los eventos se gestionan a través del programa *AutoAnalysis*¹⁸. Éste software está constituido por un módulo básico para la edición y ejecución de métodos analíticos. Desde este módulo el usuario introduce la instrumentación necesaria para desarrollar el procedimiento analítico, el cual es controlado por módulos específicos desarrollados para el sistema. Mediante la adición de otros módulos específicos permite la automatización de numerosas técnicas analíticas. Algunas de las características a destacar de este software son:

- Simplicidad en la definición de las secuencias de ejecución de las operaciones llevadas a cabo por la instrumentación.
- Capacidad de cambiar algunas de las variables (como volumen) una vez el método se ha iniciado o mantener constante otras (como el pH), dentro de un rango de valores previamente especificado, con solo añadir disoluciones ácidas o alcalinas
- Simplicidad en el tratamiento de los datos experimentales, permitiendo la aplicación de algoritmos de primera o segunda derivada, así como suavizados por medio de la metodología de Savitsky-Golay.
- La señal analítica puede ser tratada sin necesidad de ejecutar ningún otro proceso del método analítico. Así, puede restarse la señal del blanco, modificar la señal analítica multiplicándola o dividiéndola entre una cantidad, etc. durante el mismo proceso de obtención de la señal.

2.3. Procedimientos:

Se describen en esta sección dos procedimientos generales. Con uno de ellos se valida la metodología del Análisis por Inyección en Flujo con Multijeringa (MSFIA) para estudios cinéticos (estudio de la cinética de formación de bromo y generación de bromo “*in situ*”), y en el otro se emplean técnicas de flujo como el SIA, descritas en la introducción, para su aplicación a determinaciones cinéticas (uso del bromo generado

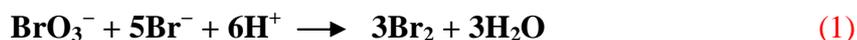
¹⁸ *Autoanalysis*; <http://130.206.130.217:8080/sciware/Autoanalysis.do>, (visto en 2010).

como reactivo para la determinación de especies orgánicas por reacciones de bromación de las mismas).

2.3.1. Validación de la metodología del Análisis por Inyección en Flujo con Multijeringa (MSFIA)

2.3.1.1. Estudio de la cinética de de formación de bromo:

Primeramente se tratará de reproducir el cálculo de una constante cinética de una reacción conocida (**Ecuación 1**) con una ley de velocidad también conocida (**Ecuación 2**), así como el cálculo de los órdenes parciales de los reactivos que toman parte en ella, utilizando para ello un montaje instrumental (**Figura 4**) consistente en la Inyección en Flujo por Multijeringa. La válvula solenoide (**Figura 4**) permanece constantemente en su posición **(1)**.



$$v = -\frac{d[\text{BrO}_3^-]}{dt} = -\frac{1}{5} \frac{d[\text{Br}^-]}{dt} = \frac{1}{3} \frac{d[\text{Br}_2]}{dt} = k_{\text{Br}} [\text{BrO}_3^-] [\text{Br}^-] [\text{H}^+]^2 \quad (2)$$

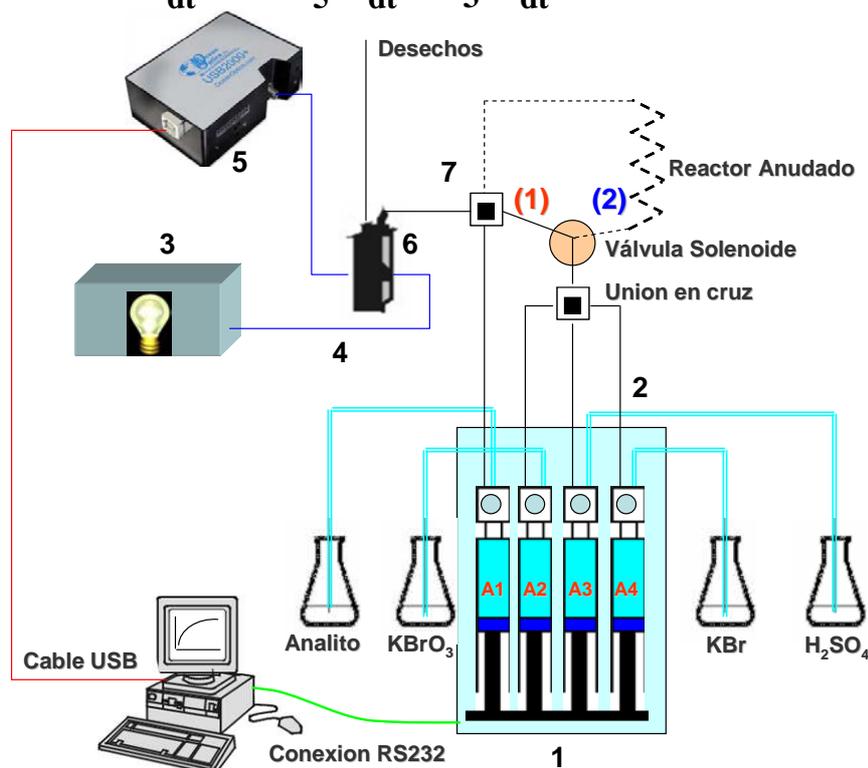
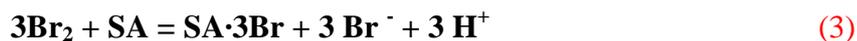


Fig. 4: Esquema del sistema de inyección en flujo Multijeringa. **1)** Módulo de Multijeringas Crison (5000 pasos), las jeringas (A1-A4) son de plástico de 10 ml, y a la salida cuentan con válvulas de conmutación de 3 vías (ver Fig.3); **2)** Los tubos utilizados en todo el montaje son de Teflón, y lo que variará es su diámetro interno: (—) 0.8 mm y (≡) 1.5 mm d.i.; **3)** Fuente de luz UV-VIS; **4)** Fibras ópticas de 600 μm de diámetro interno. **5)** Detector de acoplamiento de carga (CCD); **6)** Cubeta de medida en flujo **7)** Unión en cruz. El sistema permite dos aplicaciones diferenciadas, mediante la selección de la posición de la válvula solenoide. **(1)** Estudio de la cinética de generación de Bromo. **(2)** Reacción de Bromación.

2.3.1.2. Generación de reactivos “in situ”. La reacción bromo-ácido salicílico:

Cuando la válvula solenoide independiente se activa en la posición (2), la aplicación del montaje representado en la Figura 4 servirá, en este caso, para generar bromo, almacenarlo en el reactor anudado y utilizarlo para realizar estudios de la bromación de algún analito de interés, como el ácido salicílico (SA) (ecuación 3).



2.3.2. Sistema SIA para la generación de reactivos “in situ”

2.3.2.1. Sistema SIA para generar bromo:

En este apartado se realizará una propuesta para la formación de bromo como reactivo generado “in situ”, de manera controlada. Para ello se utilizará un montaje instrumental como el que se describe a continuación (Figura 5):

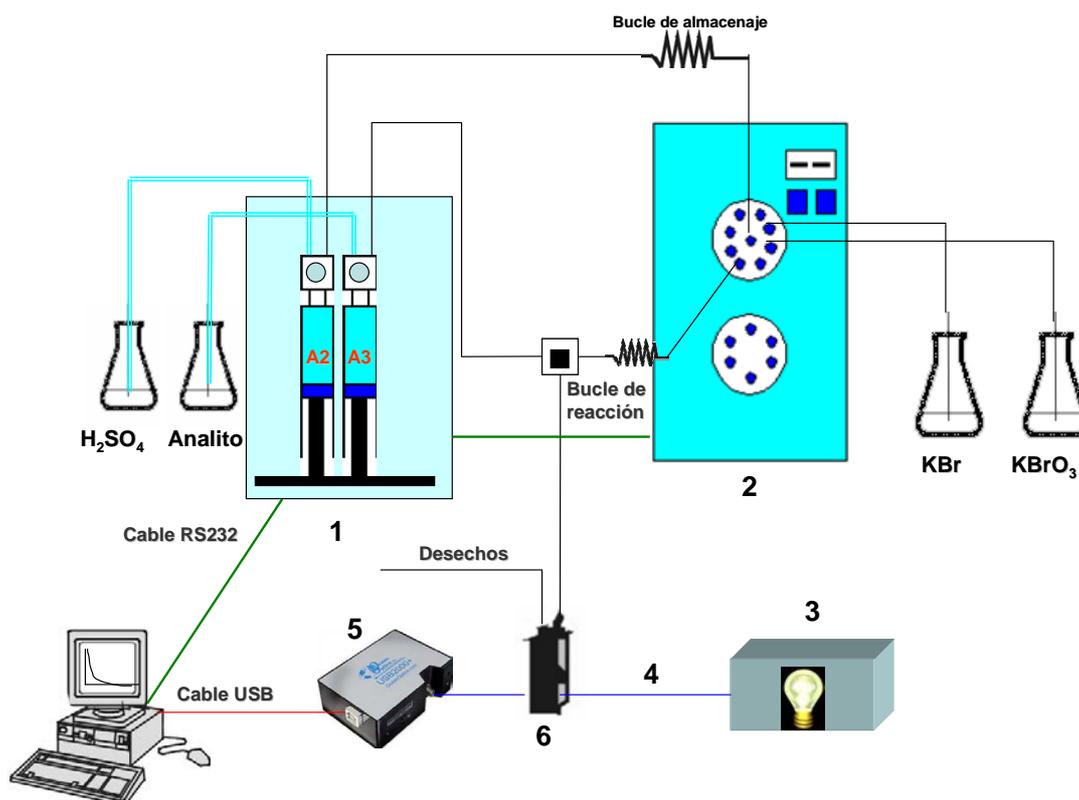


Fig. 5: Esquema del sistema de inyección en flujo secuencial (SIA). **1**) Módulo de Multijeringas Crison (5000 pasos), las jeringas son de plástico, (volumen A2=2.5 ml; A3=10ml), y a la salida cuentan con válvulas de conmutación de 3 vías (ver Fig.3), las jeringas A1 y A4 (Fig. 4) no se utilizan; **2**) Módulo de válvulas de selección-inyección; únicamente se utiliza la válvula de selección de 8 puertos; **3**) Fuente de luz UV-VIS; **4**) Fibras ópticas de 600 µm de diámetro interno; **5**) Espectrofotómetro de acoplamiento de carga (CCD); **6**) Cubeta de medida en flujo. Todos los tubos utilizados en el montaje son de Teflón (PTFE); diámetro interno de los mismos: (—) 0.8 mm y (=) 1.5 mm d.i.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Validación de la metodología del Análisis por Inyección en Flujo con Multijeringa (MSFIA)

3.1.1. *Estudio de la cinética de de formación de bromo:*

En estudio se empleó el montaje descrito en la **Figura 4**. Para realizar las mediciones se inyectan los reactivos KBr y KBrO₃ (en las condiciones de acidez necesarias), y se detiene el flujo¹⁹ al llegar a la cubeta de medida (**Figura 4**). Es entonces cuando se comienza a realizar la lectura en el espectrofotómetro. El seguimiento de la reacción se hace tomando el valor de absorbancia a 372 nm la cual corresponde a la banda de absorción en el visible del espectro del bromo (**Figura 6**). Aunque a la longitud de onda de 372 nm se pierde mucha sensibilidad, se gana selectividad, ya que se evita la interferencia de muchas sustancias que sólo absorben en el UV. Previamente a cada una de las medidas se registra un blanco de lectura que consiste en inyectar H₂SO₄ al sistema y detener el flujo. Ese mismo ácido nos servirá a modo de limpieza entre cada uno de los experimentos. A su vez también se registra la corriente oscura, procedimiento que consiste en apagar la emisión de luz proveniente de la fuente, y registrar la lectura.

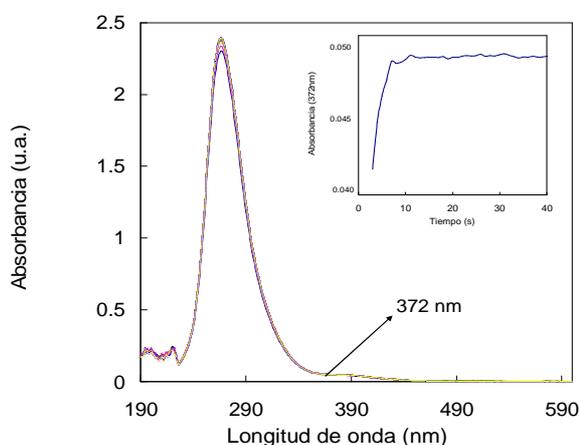


Fig. 6: Espectro de absorbancia del Bromo generado al mezclar KBr y KBrO₃, en concentraciones necesarias para formar Br₂ 10⁻⁴ mol l⁻¹. En la esquina superior derecha se puede observar el perfil de formación a 372 nm.

La metodología que se sigue es la de trabajar en condiciones de pseudo primer orden, con el fin de establecer los órdenes parciales para cada uno de los reactivos (**ecuación 1**) y finalmente dar un resultado para la constante de velocidad del sistema.

¹⁹ Para una explicación de la técnica de flujo detenido o “*stopped flow*” ver después en el apartado “Generación de reactivos “*in situ*”. La reacción bromo-ácido salicílico”.

Esto supone mantener prácticamente inalteradas las concentraciones de todas las especies reaccionantes excepto de una (especie indicadora), y el resto en concentraciones lo suficientemente altas como para que las mismas no cambien de manera apreciable a lo largo de la medida (Figura 7). De este modo, el cambio que se produce en la velocidad se debe exclusivamente al cambio en la concentración de la especie cuya concentración esté en defecto. Así, si tanto $[\text{Br}^-]_0$ como $[\text{H}^+]_0$ son mucho mayores que $[\text{BrO}_3^-]_0$:

$$v = k_{Br} [\text{BrO}_3^-][\text{Br}^-]_0[\text{H}^+]_0^2 \approx k_{obs} [\text{BrO}_3^-] \quad (4)$$

Siendo

$$k_{obs} \approx k_{Br} [\text{Br}^-]_0[\text{H}^+]_0^2 \quad (5)$$

Esta forma de trabajar se conoce como “*método del aislamiento*²⁰” y permite el cálculo de los órdenes de reacción parciales, ya sea de la especie en defecto o indicadora (BrO_3^-), o bien de los reactivos en exceso (Br^- , H^+). Con cada una de las condiciones se realizarán 3 medidas con el fin de realizar una estimación de la incertidumbre.

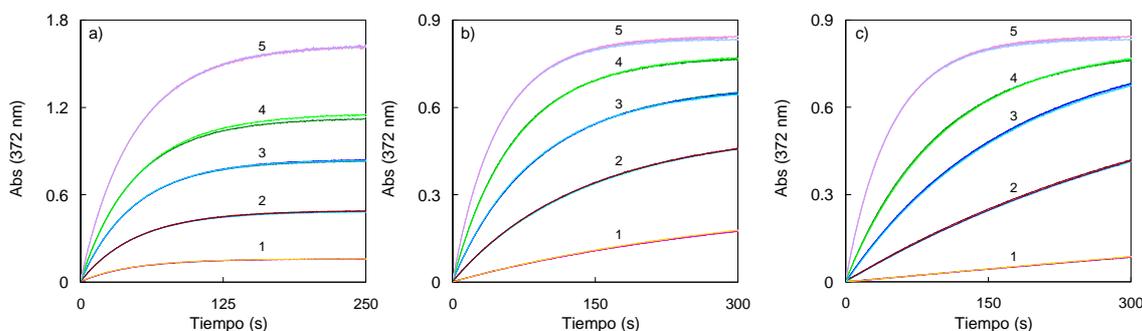


Fig. 7: Perfiles cinéticos seguidos espectrofotométricamente (372 nm) para la formación de bromo en medio ácido. Cada curva está repetida 3 veces.

a) $[\text{H}_2\text{SO}_4]_0 = 0.222 \text{ M}$; $[\text{Br}^-]_0 = 0.1 \text{ M}$; $[\text{BrO}_3^-]_0$, $\text{M} \times 10^4$; 1) 1; 2) 3; 3) 5; 4) 7; 5) 10).

b) $[\text{H}_2\text{SO}_4]_0 = 0.222 \text{ M}$; $[\text{BrO}_3^-]_0 = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{Br}^-]_0$, $\text{M} \times 10^2$; 1) 1; 2) 3; 3) 5; 4) 7; 5) 10.

c) $[\text{Br}^-]_0 = 0.1 \text{ M}$; $[\text{BrO}_3^-]_0 = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$; $[\text{H}_2\text{SO}_4]_0$, $\text{M} \times 10^2$; 1) 2.14; 2) 6.24; 3) 10.7; 4) 14.3; 5) 22.2.

²⁰ J. H. Espenson; *Chemical Kinetics and Reaction Mechanisms*, 2nd Ed; McGraw Hill, N.Y., 2002, pp 30-31.

3.1.2. Órdenes parciales respecto a los reactivos:

Para obtener las velocidades iniciales (v_0), se hace una representación de los primeros puntos de los perfiles obtenidos en la **Figura 7**. En estos intervalos de tiempo tan pequeños se puede suponer que no ha existido variación apreciable de la concentración de la especie indicadora y se puede considerar por tanto orden pseudo-cero (**Ecuación 6**). La velocidad inicial se puede calcular, entonces, mediante la pendiente de las rectas obtenidas (**Figura 8**).

$$v_0 = k_{obs} [\text{BrO}_3^-]_0 \quad (6)$$

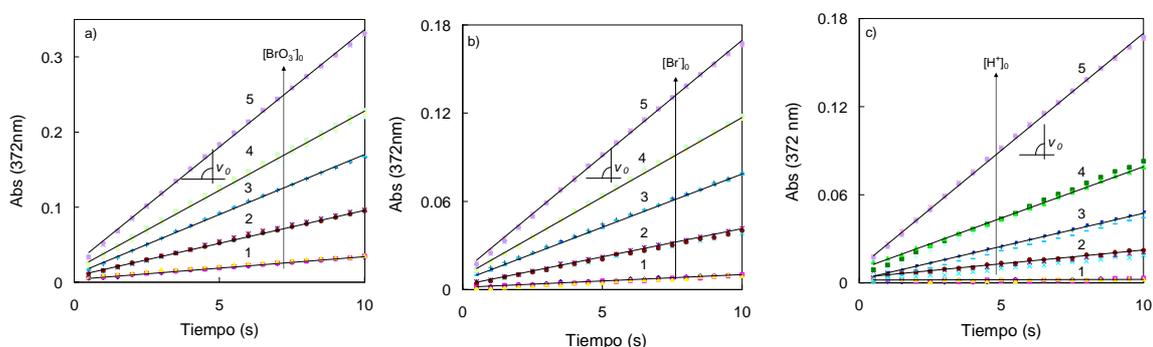


Fig. 8: Representación de los primeros instantes de los perfiles espectrofotométricos de las reacciones que se describen en la **figura 7**. Las pendientes de las rectas obtenidas, dan el valor de v_0 . Cada perfil está repetido 3 veces.

En estas condiciones, la representación de v_0 (en unidades, M s^{-1}) frente a $[\text{BrO}_3^-]_0$ deberá ser una recta en el caso de primer orden respecto a $[\text{BrO}_3^-]_0$ (**Ecuación 6** y **Figura 9**); en ese caso la pendiente es una estimación de k_{obs} (**Ecuación 6**).

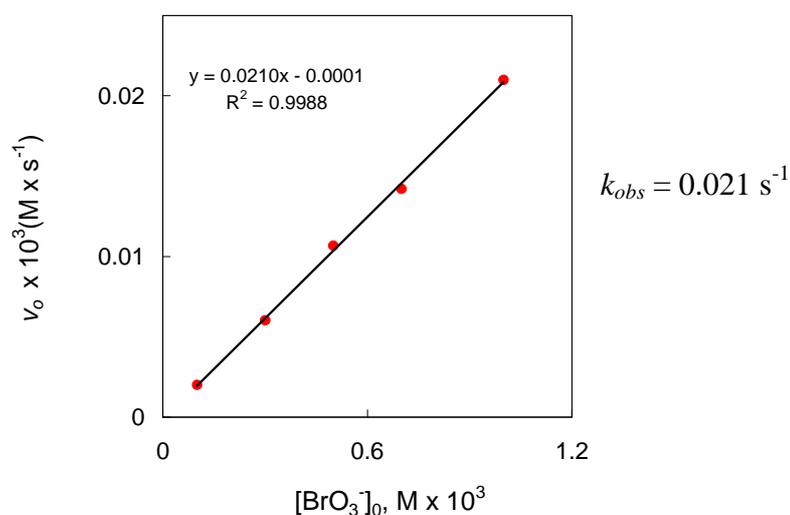


Fig. 9: Efecto de la $[\text{BrO}_3^-]$ en la velocidad inicial de formación de Bromo. El resto de las concentraciones permanece constante: $[\text{H}_2\text{SO}_4]_0 = 0.222 \text{ M}$; $[\text{Br}^-]_0 = 0.1 \text{ M}$; Cada punto es el resultado de promediar las tres repeticiones.

Teniendo en cuenta las concentraciones de ácido y Br^- utilizadas (**Figura 9**) y la **Ecuación 5**, puede obtenerse para la constante de velocidad verdadera, k_{Br} , un valor:

$$k_{Br} = 3.90 \pm 0.08 \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

Por otra parte, y de acuerdo con la **ecuación 5**, la representación de k_{obs} , obtenida anteriormente, frente a $[\text{Br}^-]_0$ o frente a $[\text{H}^+]_0^2$, deberá ser una línea recta en ambos casos si el orden de reacción ha de ser uno y dos respectivamente (**Figura 10**). Estos valores de k_{obs} se calculan variando $[\text{Br}^-]_0$ y $[\text{H}^+]_0$, de una en una. Pero en cada caso tiene que ser $[\text{BrO}_3^-] \ll [\text{Br}^-]_0$ y $[\text{H}^+]_0$ para poder aplicar la **ecuación 6** y calcular k_{obs} a través de representaciones similares a la **Figura 8**.

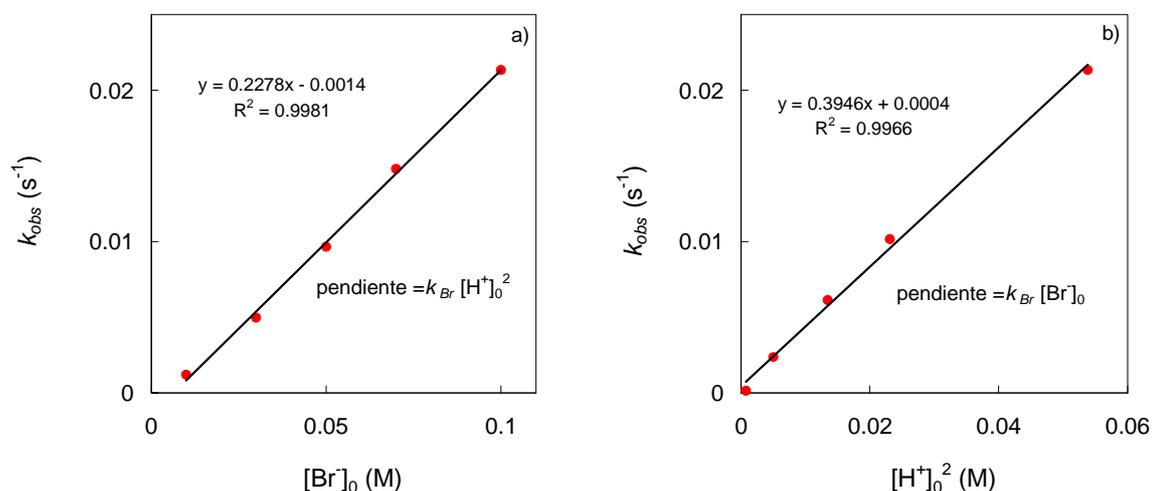


Fig. 10: Confirmación de los órdenes parciales de reacción tanto para el bromuro (a) como para la acidez (b), que son uno y dos respectivamente.

La linealidad de las representaciones en las **Figuras 9** y **10** confirma los órdenes de reacción indicados en la **ecuación 2**. En ambos casos, del valor de la pendiente puede deducirse un valor para k_{Br} , ya que se están haciendo representaciones de la **Ecuación 5**. De la **Figura 10.a** se deduce un valor de $k_{Br} = 4.2 \pm 0.1 \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$ y de la **Figura 10.b** se deduce un valor de $k_{Br} = 4.0 \pm 0.1 \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$. A partir de los valores experimentales encontrados para k_{Br} con las variaciones de $[\text{BrO}_3^-]_0$, $[\text{Br}^-]_0$ y $[\text{H}^+]_0$ se puede calcular el valor promedio siguiente:

$$k_{Br} = 4.0 \pm 0.2 \text{ M}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

3.1.3. Cálculo de la constante de velocidad (k_{Br}) usando todo el perfil cinético (método integral).

El valor anterior calculado para k_{Br} ha hecho uso de la velocidad inicial; es lo que se llama un tratamiento *diferencial* de los datos experimentales. Si la expresión de velocidad (**Ecuación 2**) está formulada correctamente, la constante de velocidad, k_{Br} , debe ser una constante verdadera, es decir no debe depender de las concentraciones de especies que aparezcan en la ley de velocidad. Será independiente del tiempo, aunque dependerá de la temperatura.

Para seguir un tratamiento *integral* y poder utilizar la mayor parte del perfil cinético, en la bibliografía²¹ se encuentra la expresión integrada para una reacción del tipo: $aA \rightarrow bB$:

$$\ln(b[A]_0 - a[B]) = \ln(b[A]_0) - ak t \quad (7)$$

En el presente caso, en gran defecto de BrO_3^- , aplicando esta expresión a la **Ecuación 2**, se tiene

$$\ln(3[\text{BrO}_3^-]_0 - [\text{Br}_2]) = \ln(3[\text{BrO}_3^-]_0) - k_{obs} t \quad (8)$$

(Siendo $k_{obs} = k_{Br} [\text{Br}^-]_0 [\text{H}^+]_0^2$ y donde $[\text{Br}_2]$ representa la concentración de bromo a un tiempo “ t ” cualquiera.

Teniendo en cuenta que $3[\text{BrO}_3^-]_0 = [\text{Br}_2]_\infty$, también, puede escribirse como:

$$[\text{Br}_2]_\infty - [\text{Br}_2]_t = [\text{Br}_2]_\infty e^{-k_{obs} t} \quad (9)$$

(Donde $[\text{Br}_2]_\infty$ representa la concentración de bromo generado cuando se alcanza el equilibrio y $[\text{Br}_2]_t$ es la $[\text{Br}_2]$ al tiempo “ t ”).

²¹ J. H. Espenson; *Chemical Kinetics and Reaction Mechanisms*; McGraw Hill, N.Y., 1981, p 13.

En este caso, la medida experimental es la absorbancia de la disolución a 372 nm, que como ya se mencionó se debe exclusivamente al bromo (**Figura 6**):

$$abs_{\infty} - abs_t = abs_{\infty} e^{-k_{obs}t} \quad (10)$$

(Siendo abs_t la absorbancia experimental en un tiempo cualquiera, y $abs = \epsilon l c_{Br_2}$).

Y tomando logaritmos en ambos lados de la ecuación, queda la siguiente expresión:

$$\ln(abs_{\infty} - abs_t) = \ln abs_{\infty} - k_{obs} t \quad (11)$$

La siguiente figura (**Figura 11**) muestra una representación de la **ecuación 11** para diferentes concentraciones iniciales de bromato utilizadas (**Figura 7.a**). De la pendiente de las rectas se obtiene k_{obs} por regresión lineal, y a partir de la misma, la constante de velocidad k_{Br} teniendo en cuenta los valores de $[Br^-]_0$ y $[H^+]_0$ (**Ecuación 5**).

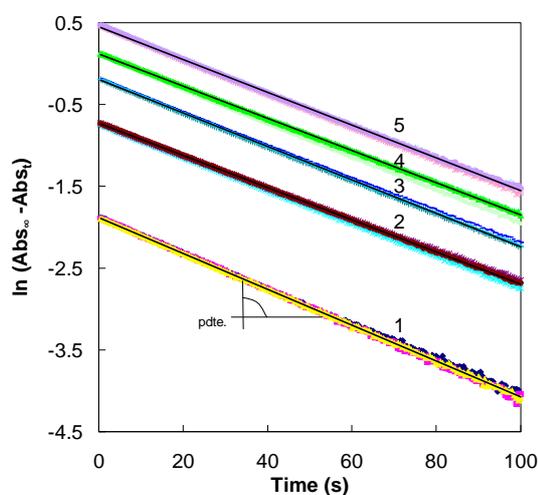


Fig. 11: Representación de la **Ecuación 11** con los datos de la **Figura 7.a**; $[Br^-] = 0.1$ M; $[H_2SO_4] = 0.222$ mol l^{-1} ; $[BrO_3^-]_0$, M $\times 10^4$; 1) 1; 2) 3; 3) 5; 4) 7; 5) 10. En cada línea se representan 3 réplicas.

Sacando la media de los valores de las pendientes (k_{obs}) obtenidas, se obtiene una estimación del valor de k_{Br} (**Tabla 1**).

Tabla 1: Valores experimentales de las constantes de velocidad (\pm desviación estándar) obtenidos para k_{obs} . y deducidos para k_{Br} .

$[\text{BrO}_3^-]$, M x 10^4	k_{obs} , x 10^2	k_{Br} , $\text{l}^{-3} \text{mol}^{-3} \text{s}^{-1}$
1	2.19 ± 0.04	4.03 ± 0.07
3	1.97 ± 0.04	3.62 ± 0.07
5	2.03 ± 0.02	3.75 ± 0.05
7	1.99 ± 0.05	3.66 ± 0.09
10	2.02 ± 0.02	3.71 ± 0.04
		$k_{Br} = 3.8 \pm 0.2 \text{ l}^{-3} \text{mol}^{-3} \text{s}^{-1}$

Se aprovechan el resto de experiencias realizadas con las otras condiciones (Figura 7, b y c), para obtener otras estimaciones de la constante cinética de reacción, k_{Br} . En general no se esperó hasta el final de la reacción para conocer el valor abs_{∞} sin embargo, su valor es estrictamente necesario para hacer las representaciones de la Figura 11 y así calcular k_{obs} . y deducir k_{Br} . En estos casos en los que abs_{∞} es desconocida, pueden utilizarse algunas herramientas numéricas bien conocidas que permiten realizar representaciones de primer orden (Figura 11) y calcular los valores de k_{obs} . El método más comúnmente usado para la evaluación de constantes de primer orden es el de Guggenheim²².

Si se toma la Ecuación 11 para un tiempo $t + \Delta t$ (donde “ Δt ” es un incremento constante de tiempo):

$$abs_{\infty} - abs_{t+\Delta t} = abs_{\infty} e^{-k_{obs} \cdot (t+\Delta t)} \quad (12)$$

y el resultado se resta de la propia Ecuación 11, se obtiene:

$$abs_{t+\Delta t} - abs_t = abs_{\infty} e^{-k_{obs} \cdot t} (1 - e^{-k_{obs} \cdot \Delta t}) \quad (13)$$

Tomando logaritmos:

$$\ln(abs_{t+\Delta t} - abs_t) = \ln(abs_{\infty}) - k_{obs} \cdot t + \ln(1 - e^{-k_{obs} \cdot \Delta t}) \quad (14)$$

²² C. F. Bernasconi; *Investigation of Rates and Mechanisms of Reactions (Part 1)*; New York, (1986); Cap 3; pp. 181-182.

Dado que Δt es constante, la **Ecuación 14** corresponde a una línea recta, cuya pendiente proporciona la constante de velocidad de reacción k_{obs} . Modificando la $[\text{Br}^-]_0$, siempre en gran exceso, y manteniendo la acidez y la $[\text{BrO}_3^-]_0$, aunque ésta última siempre en defecto, la representación de primer orden expresada por la **Ecuación 14** genera líneas rectas cuya pendiente depende de la concentración de $[\text{Br}^-]_0$ (**Figura 12.a**). Representando las k_{obs} frente a la concentración de $[\text{Br}^-]_0$ se obtiene una recta cuya pendiente es, $k_{Br} [\text{H}^+]_0^2$ (**Figura 12.b**), a partir de la cual se calcula k_{Br} .

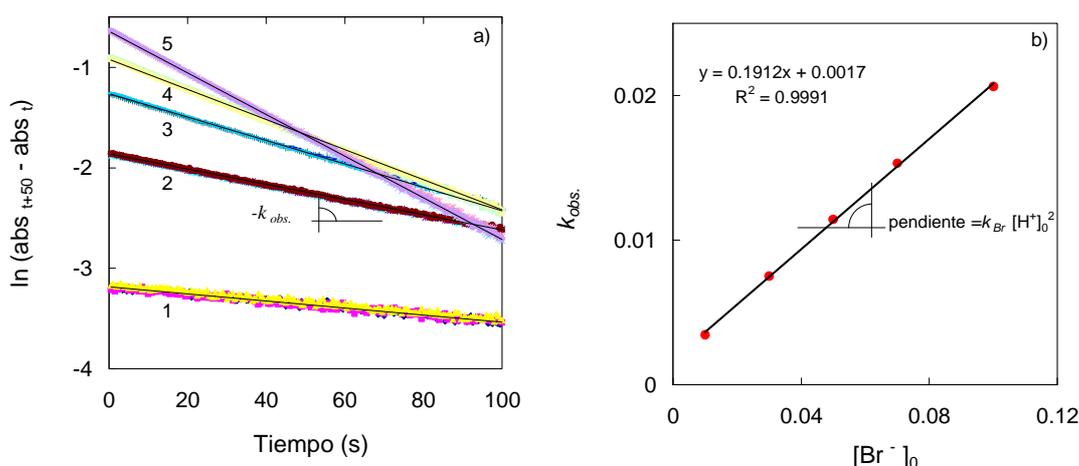


Fig. 12: a) Aplicación del método Guggenheim a los datos de la **Figura 7.b** para un $\Delta t = 50$ s. b) Representación de las k_{obs} obtenidas en la parte a) respecto a las concentraciones iniciales de bromuro, siendo el ácido y el bromato constantes: $[\text{H}_2\text{SO}_4] = 0.222$ M, $[\text{BrO}_3^-] = 5 \times 10^{-4}$ M; $[\text{Br}^-]$, M $\times 10^2$, 1) 1; 2) 3; 3) 5; 4) 7; 5) 10.

De la pendiente de la recta obtenida en **Figura 12.b** se obtiene una estimación de la k_{Br} .

$$\text{Pendiente} = k_{Br} [\text{H}^+]_0^2 = 0.191 \pm 0.003 \quad (15)$$

Por lo tanto de aquí se deduce que:

$$k_{Br} = 3.55 \pm 0.06 \text{ l}^3 \text{ mol}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

Si se aplica esta misma metodología para el caso en el que se mantienen las concentraciones de bromato y bromuro constantes (bromato en defecto y bromuro en gran exceso), y se varía la concentración de ácido para cada uno de los experimentos (**Figura 7.c**), se obtiene una situación similar a la del caso anterior (**Figura 13.a**), pero en este caso el valor de las pendientes dependerá exclusivamente de la concentración inicial de ácido $[\text{H}^+]_0$ (**Figura 13.b**).

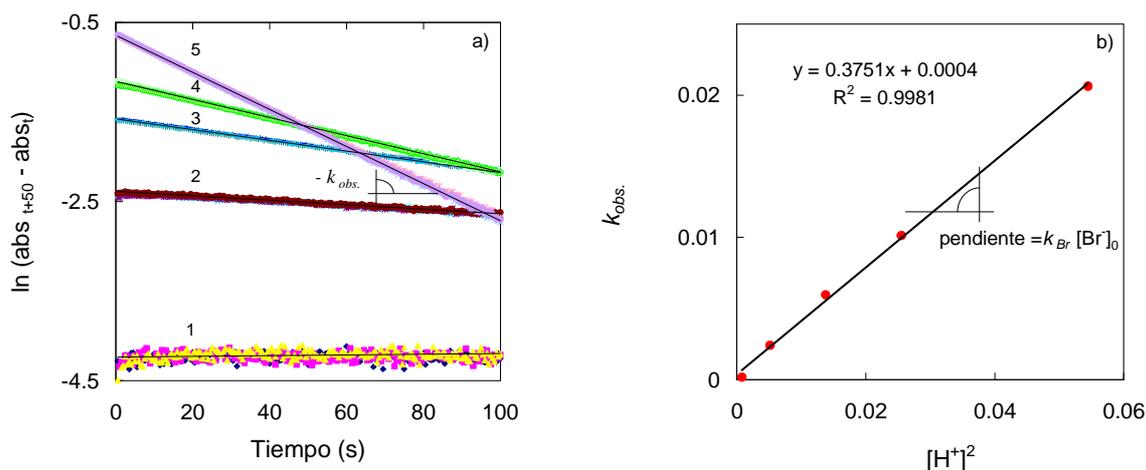


Fig. 13: a) Aplicación del método Guggenheim a los datos de la **Figura 7.c** para un $\Delta t = 50$ s. b) Representación de los valores de k_{obs} obtenidas en la parte a) respecto a las concentraciones iniciales de $[\text{H}^+]^2$ manteniendo las concentraciones iniciales de bromato y bromuro constantes: $[\text{Br}^-]_0 = 0.1$ M; $[\text{BrO}_3^-]_0 = 5 \times 10^{-4}$ M; $[\text{H}_2\text{SO}_4]_0$, M $\times 10^2$; 1) 2.14; 2) 6.24; 3) 10.7; 4) 14.3; 5) 22.2.

En este caso la pendiente da el valor de:

$$\text{Pendiente} = k_{Br} [\text{Br}^-] = 0.375 \pm 0.009 \quad (16)$$

Y por tanto de aquí se deduce que:

$$k_{Br} = 3.75 \pm 0.09 \text{ l}^3 \text{ mol}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

Con este último valor y tomando, también, los dos anteriores se hace un promedio y se calcula un valor promedio final para la estimación que se obtiene de la constante k_{Br} por el tratamiento *integral*.

	k_{Br}
1)	3.8 ± 0.2
2)	3.55 ± 0.06
3)	3.75 ± 0.09
$k_{Br} = 3.7 \pm 0.2 \text{ l}^3 \text{ mol}^{-3} \text{ s}^{-1}$	

Considerando los resultados obtenidos por los tratamientos *diferencial* e *integral* se obtiene finalmente un valor para k_{Br} :

$$k_{Br} = 3.8 \pm 0.3 \text{ l}^3 \text{ mol}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

El valor obtenido se puede comparar con otros valores dados en la bibliografía que se recogen en la siguiente tabla, reproducida del trabajo de Carlos Eduardo S. Côrtes and Roberto B. Faria²³.

μ (mol L ⁻¹)	k_{Br} (L ³ mol ⁻³ s ⁻¹)	Electrolito Principal	Ref.
0.106	3.59	HClO ₄ , NaClO ₄	4
0.16	2.75	HBr, Mg(ClO ₄) ₂	5
0.19	1.68	H ₂ SO ₄	3
0.2	1.92 ± 0.12	HClO ₄ , NaClO ₄	*
0.2	3.18	HClO ₄ , NaClO ₄	4
0.23	3.22	HBr, NaClO ₄	8
0.25	2.35	HBr, Mg(ClO ₄) ₂	5
0.25	3	NaClO ₄	10
0.51	2.42	HClO ₄ , NaClO ₄	4
0.55	2.83 ± 0.08	HClO ₄ , NaClO ₄	*
0.55	2.96	HBr, NaClO ₄	8
0.54	1.1	H ₂ SO ₄	3
0.64	1.55	HBr, Mg(ClO ₄) ₂	5
0.81	1.37	HBr, Mg(ClO ₄) ₂	5
0.81	2.4	HClO ₄ , NaClO ₄	4
0.91	1.05	HBr	1
1	1.18	HBr, Mg(ClO ₄) ₂	5
1	2.8	NaClO ₄	10
1	2.79	HBr, NaClO ₄	8
1.05	2.76 ± 0.36	HClO ₄ , NaClO ₄	*
1.05	3.24 ± 0.18	HClO ₄ , NaClO ₄	*(a)
3	38.7	NaClO ₄	10
3	17.9(b)	NaH ₂ PO ₄ /H ₃ PO ₄ buffer	9
3	4.29	HBr, NaClO ₄	8
3.5	4.07 ± 0.40	HClO ₄ , NaClO ₄	*

(a) Resultados con flujo detenido;

*.En las referencias donde aparece esta marca, el valor de k_{Br} que se da se ha recalculado en el trabajo recopilatorio.

- Judson, W.; Walker, J. W. J. Chem. Soc. 1898, 73, 410.
- Bray, W. C.; Davis, P. R. J. Am. Chem. Soc. 1930,52, 1427.
- Young, H. A.; Bray, W. C. J. Am. Chem. Soc. 1932,54, 4284.
- Bray, W. C.; Liebhafsky, H. A. J. Am. Chem. Soc.1935, 57, 51.
- Domínguez, A.; Iglesias, E. Langmuir 1998, 14, 2677.
- Rábai, Gy.; Bazsa, Gy.; Beck, M. T. Int. J. Chem. Kinet. 1981, 13, 1277.
- Burgos, F. S.; Graciani, M. del M.; Muñoz, E.; Moya, M. L.; Capitán, M. J.; Galán, M.; Hubbard, C.D. J. Sol. Chem. 1988, 17, 653.

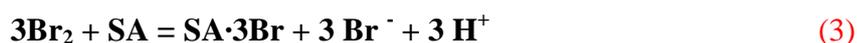
Teniendo en cuenta que en las experiencias realizadas no se ha ajustado la fuerza iónica, y que el valor de la misma oscila entre 0.1, y 0.3, debería encontrarse un valor comparable a los valores que aparecen al inicio de la anterior tabla ($\mu = 0.1 - 0.25$) los

²³ Carlos Eduardo S. Côrtes and Roberto B. Faria, *Revisiting the Kinetics and Mechanism of Bromate-Bromide Reaction*; J. Braz. Chem. Soc., 12 (6), 2001, 775-779.

cuales oscilan entre 1.68 y 3.59. El valor encontrado ($k_{Br} = 3.8 \pm 0.3 \text{ l}^3 \text{ mol}^{-3} \text{ s}^{-1}$) es comparable a los que se dan en la bibliografía y, así, puede decirse que la técnica MSFIA puede considerarse una nueva herramienta para la determinación experimental de parámetros cinéticos de reacción (constantes de velocidad, etc.), aunque, obviamente, se requieren más pruebas de validación.

3.1.4. Generación de reactivos “in situ”. La reacción bromo-ácido salicílico:

Un complemento para la validación de la MSFIA para estudios cinéticos puede ser su uso en la generación de reactivos “in situ” y su posterior uso en reacciones de cinética lenta, por la modalidad de flujo detenido²⁴ (“stopped flow”²⁵). A estos efectos se exponen a continuación algunos resultados obtenidos para la reacción entre bromo y ácido salicílico²⁶. La reacción global puede representarse por:



La reacción de los tres bromos con SA no es de golpe, sino que se hace de uno en uno, y aunque la velocidad de reacción de entrada del primer bromo en el SA es muy elevada, posteriormente la reacción se va frenando. No obstante, la reacción es difícil de seguir con los métodos más sencillos, ya que su velocidad se mantiene siempre muy alta. A continuación se exponen algunos resultados experimentales obtenidos utilizando el montaje que se describe en la **Figura 4**, con la particularidad de que en este caso la válvula solenoide se encuentra en la posición **(2)**, es decir, accionada.

²⁴ Flujo detenido: Se trata de una técnica por la que dos reactivos o más son inyectados simultáneamente hacia una cámara de mezcla, en la que comenzarán a reaccionar. En el método clásico la disolución resultante se traslada rápidamente a través de una celda de medida para finalizar en una jeringa de parada. Al llenarse la jeringa de parada, se desplaza su émbolo hasta un tope, y entonces se acciona la adquisición de datos por parte del instrumental de medida. El progreso de la reacción sigue monitorizando los cambios de la propiedad medida, bien sea del reactivo o del producto de reacción. El tiempo que tardan los reactivos o productos en llegar hasta la zona de medida se conoce como “tiempo muerto” que suele ser del orden de milisegundos, lo que permite medir reacciones con tiempos de vida media de ése orden. El método MSFIA es una forma de mezcla algo más lenta que la tradicional y no llega a ser aplicable a reacciones tan rápidas como aquella, pero sí a reacciones que no pueden seguirse por simple mezcla manual, como, por ejemplo, la formación de bromo por técnica diferencial.

²⁵ A. D. McNaught and A. Wilkinson; *IUPAC Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition*; (1997); www.goldbook.iupac.org (visto en 2010).

²⁶ G. López-Cueto, M. Ostra, C. Ubide; *The acetylsalicylic acid – bromine system for multicomponent kinetic determinations*; *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002), 915.

Al activar dicha válvula, el sistema permite que la reacción de formación de bromo se desarrolle por completo en el reactor anudado, de suficiente longitud, para que de ese modo se tenga todo el bromo formado en el punto de convergencia con el analito.

Al ponerse en marcha el procedimiento, se inyectan hacia el sistema las disoluciones desde las jeringas A1, A2 y A4 (Figura 4). El bromato (disuelto en ácido) reacciona con el bromuro (también disuelto en ácido) a través del reactor anudado, y todo el bromo llega ya formado a la unión en cruz, donde se mezclará con el analito (SA), y al llegar a la cubeta de medida y detener el flujo, se puede seguir el perfil de reacción ($\text{Br}_2 + \text{SA}$) a través de la disminución de la banda del bromo a 372 nm.

La mezcla Br_2 -SA se produce en la unión en cruz ((7) en Figura 4) y para tomar las medidas espectroscópicas el flujo se detiene en la cubeta de flujo ((6) en Figura 4), inmediatamente después de la mezcla. De ese modo sólo se pierden algunos instantes al inicio de la reacción y puede adquirirse el perfil cinético de la misma (Figura 14).

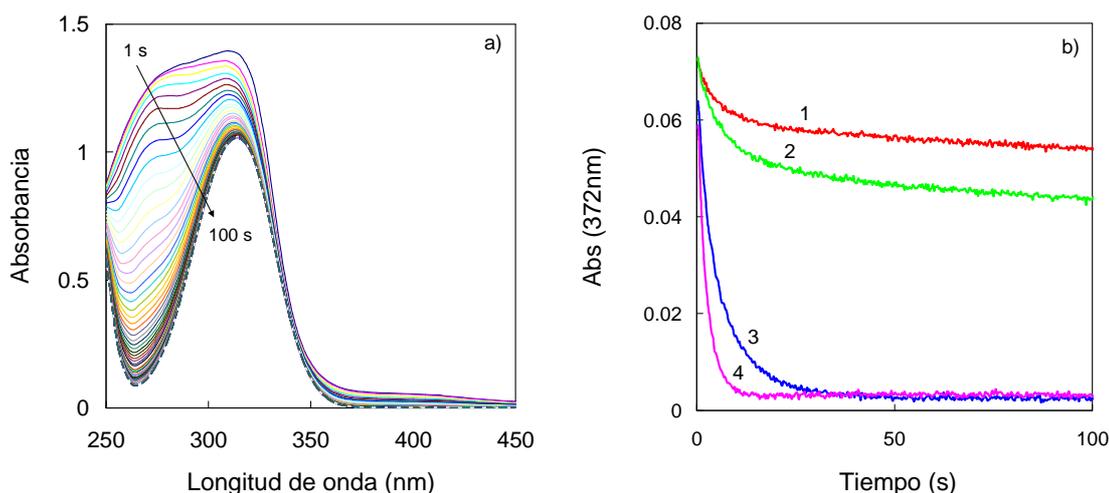


Fig. 14: Reacción entre bromo (generado in-situ) y ácido salicílico a) espectros adquiridos a diferentes tiempos (desde 1 hasta 100 s) para una concentración de $\text{SA}=10^{-3}$ M. b) perfiles cinéticos adquiridos a 372 nm. $[\text{SA}]$, M; 1) 5×10^{-5} 2) 10^{-4} , 3) 5×10^{-4} y 4) 10^{-3} .

Los perfiles cinéticos de la Figura 14.b dependen de la concentración y podrían trabajarse con fines cuantitativos²⁷.

²⁷ Las técnicas de inyección en flujo disminuyen la velocidad de reacción si se utilizan condiciones en las que la mezcla no es inmediata; en ese caso no será útil con fines de estudios cinéticos fundamentales, pero si la mezcla es reproducible, será útil con fines analíticos, así se pueden usar reacciones que transcurren a velocidades muy rápidas.

3.2. Sistema SIA para la generación de bromo “in situ”

El montaje instrumental empleado es el que se describió anteriormente (Figura 5), en el que se pueden apreciar dos elementos diferenciados, por un lado, aquél por el que se generará el bromo (in situ), y por otro, aquél por el que la muestra de interés (o analito) será inyectado. El primer proceso es el que está sujeto a optimización, para conseguir bromo en condiciones adecuadas de cantidad, rapidez, etc. así como el mínimo consumo de reactivos.

El empleo de este sistema instrumental necesita previamente una etapa de optimización, antes de la aplicación concreta. Para la etapa de optimización se emplea un indicador coloreado (Azul de bromotimol en NaOH 0.1 mol l⁻¹). Mediante la inyección en el sistema de este indicador, se optimizan las cantidades mínimas necesarias para que posteriormente por dispersión de los reactivos se genere bromo.

Para la generación de bromo se utiliza la técnica conocida como Sandwich¹⁵, de forma que por dispersión se consiga que todo el bromato reaccione con el bromuro según la secuencia de aspiración siguiente:

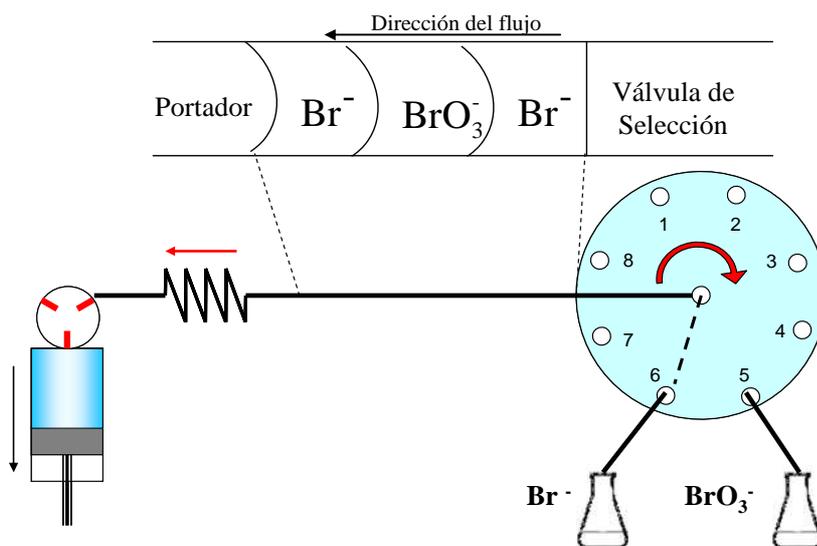


Fig. 15: Técnica del sandwich. La válvula de selección gira hasta posicionarse en el puerto 6, y mediante un movimiento del émbolo de la jeringa hacia abajo, se carga primeramente la cantidad deseada de Br⁻; Tras realizar una breve parada de tiempo para evitar sobrepresiones, la válvula de selección gira nuevamente para colocarse en el puerto 5, y desplazándose el émbolo hacia abajo se carga la cantidad necesaria de BrO₃⁻; Finalmente repitiendo una breve parada, la válvula gira y se coloca en la posición 6 para cargar por último una nueva cantidad de Br⁻.

Para calcular los volúmenes de cada uno de los reactivos que se emplean, previamente se calcula el valor de $S_{1/2}$, que representa el volumen de muestra inyectado para el que se consigue que la altura del pico, sea la mitad de la del que correspondería a la muestra sin diluir, es decir, que su coeficiente de dispersión sea $D = 2$.

Se puede establecer la relación entre los volúmenes de muestra inyectados y el coeficiente de dispersión que se obtiene, o bien, el valor de la absorbancia que producen²⁸:

$$-\log\left(1 - \frac{\text{Abs}}{\text{Abs}_{\text{max.}}}\right) = \frac{0.693}{2.303 S_{1/2}} S \quad (17)$$

Donde S es el volumen de muestra inyectado, y $\text{Abs}_{\text{máx.}}$ el valor de la absorbancia de la muestra sin diluir.

Inyectando diferentes volúmenes de Azul de Bromotimol (AB) al sistema para su detección, se obtienen los perfiles dados en la **Figura 16.a**, que utilizados según la **ecuación 17** permiten deducir la representación que se da en la **Figura 16.b**.

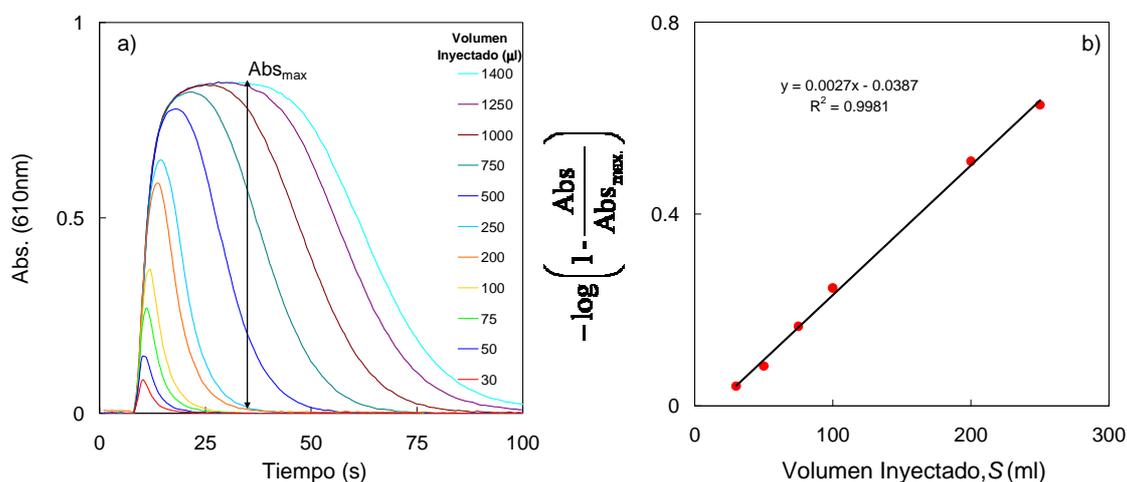


Fig. 16: a) Picos obtenidos al inyectar diferentes volúmenes de Azul de Bromotimol en NaOH 0.1 M (NaOH 0.1 M como portador). b) Representación de la **Ecuación 17**, aplicada a los datos de la parte a) de esta misma figura.

De la pendiente de la recta obtenida, se deduce en este caso el valor de:

$$S_{1/2} = 111 \mu\text{l}$$

Este es el valor del volumen de disolución de bromuro que debe inyectarse para la técnica del sandwich, mientras que para el bromato, se empleará la mitad del volumen calculado. A continuación (**Figura 16.a**) se representa una simulación, empleando AB y NaOH 0.1 M, de cómo cada bolo aspirado y después inyectado, da señal al llegar al

²⁸ J. Ruzicka and E. H. Hansen; *Flow Injection Analysis 2nd Ed.*, Willey & Sons, New York (1988), p. 26.

detector, y se produce el máximo solapamiento de los mismos, empleando un mínimo volumen. De este modo se sabe que la futura mezcla de los reactivos (bromato y bromuro) será efectiva, consumiendo una mínima cantidad de los mismos. La **Figura 16.b** muestra el bromo generado experimentalmente siguiendo las condiciones de la **Figura 16.a**.

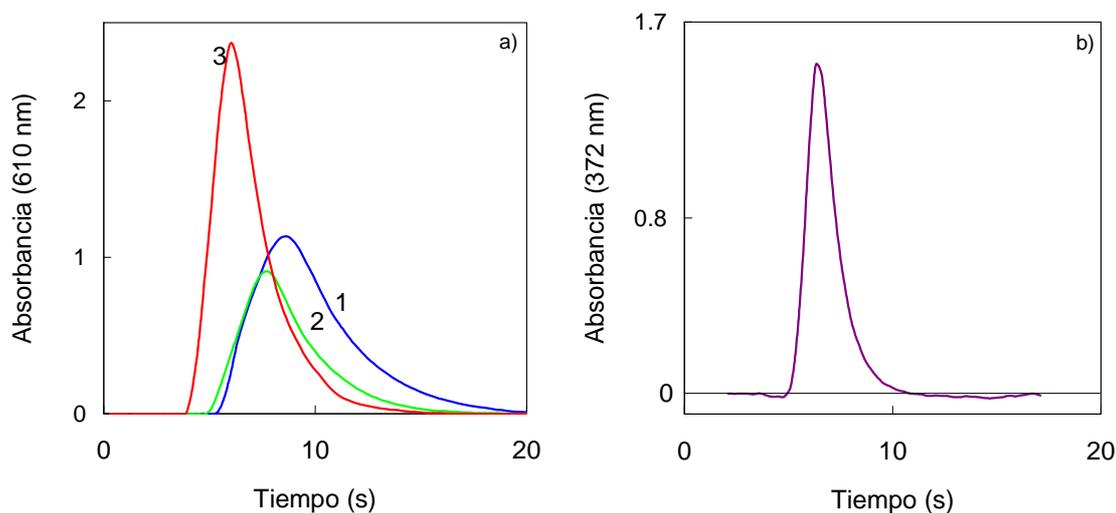


Figura 17: a) Picos obtenidos al inyectar AB, mediante distintas secuencias de carga, simulando los perfiles de los reactivos en el “sandwich”: 1) perfil que desarrollaría el bromuro aspirado en primer lugar. 2) perfil que desarrollaría el bromato aspirado después del bromuro (en segundo lugar) 3) perfil que desarrollaría el bromuro aspirado en último lugar. b) perfil de bromo generado al mezclar bromuro 0.3 M, con bromato 3.74×10^{-3} M en H_2SO_4 0.9 M.

La técnica de medida será la de flujo detenido es decir una vez que el bromo llega con su perfil completamente desarrollado al punto de medida, se detiene el flujo y se comienza la lectura; De este modo a su vez se comprueba que la reacción de generación del bromo ha llegado al equilibrio. En la siguiente figura se describe como se han probado diferentes parámetros tanto de flujo, como de concentración de producto final. Se eligió un caudal de 37.5 ml/s (**Figura 18.a**) ya que para una misma concentración de reactivos la generación de bromo es más rápida. Se escogió una concentración de bromato BrO_3^- de 3.74×10^{-3} M dado que de ese modo se consigue la mayor concentración de Bromo generado (**Figura 18.b**), de acuerdo con las **Ecuaciones 1 y 2**. Finalmente se escogió la concentración de H_2SO_4 0.9 M, para que la generación del bromo fuese rápida.

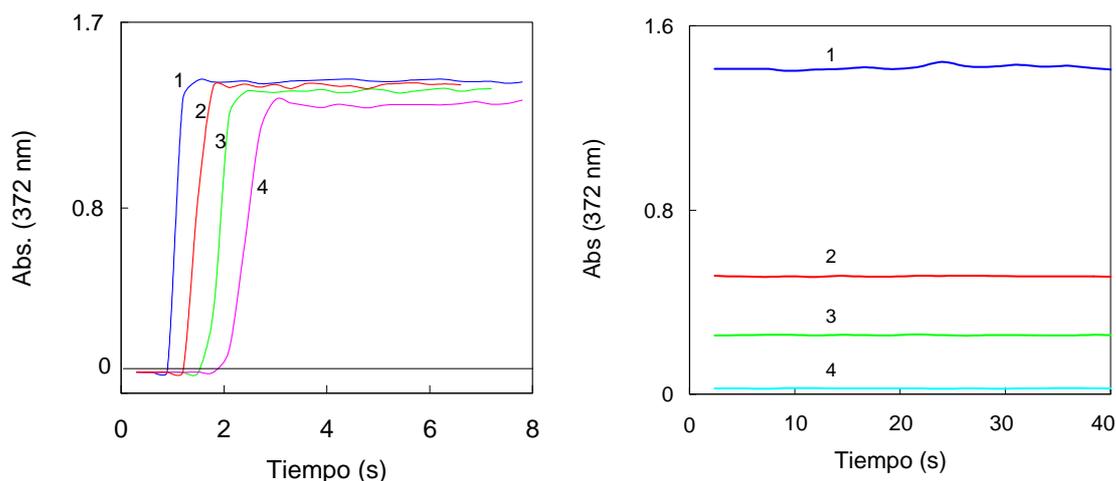


Figura 18: a) Perfiles SIA obtenidos al generar bromo y detener el flujo como se ha descrito en el texto para diferentes caudales de inyección 1) 37.5 ml/s; 2) 30 ml/s; 3) 15 ml/s; 4) 10 ml/s. b) Lectura a 372 nm del bromo generado al mezclar bromuro 0.3 M con diferentes concentraciones de bromato en H_2SO_4 0.9 M. $[\text{BrO}_3^-]$, $\text{M} \times 10^4$; 1) 37.4; 2) 12.0; 3) 5.98; 4) 0.748.

3.2.1. Sistema SIA para aplicaciones cinéticas con bromo generado “in situ”:

Una vez conseguido el anterior objetivo, se emplea el mismo sistema de generación del bromo *in situ* (Figura 5), para hacerlo reaccionar con el analito proveniente de otro canal (Figura 5, A3), y así demostrar que puede utilizarse como método cinético de análisis.

Cuando se mide la reacción Bromo + SA existe dilución por suma de caudales. En este caso, se inyectan 0,35 ml a través de la jeringa A2 (Figura 5) que es de 2.5 ml. Con el mismo movimiento se adicionarán 1.4 ml de SA con la jeringa (Figura 5, A3) de 10 ml. Luego la dilución del Bromo es de 1/5 mientras que la de SA es de 4/5.

Utilizando el montaje descrito en la Figura 5, y tomando los volúmenes calculados en el apartado anterior, se realiza la siguiente secuencia de carga, en el bucle de almacenaje.

Bromuro (111 μl) – Bromato (56 μl) – Bromuro (111 μl)

Posteriormente se inyecta hacia el sistema, mediante las jeringas de reactivo y muestra (A2 y A3 respectivamente en la Figura 5), se detiene la inyección y se comienza a adquirir datos mediante el espectrofotómetro, durante el tiempo que sea preciso.

Se ha realizado esta experiencia con distintas concentraciones de analito (ácido salicílico), y se han registrado los valores de absorbancia (Figura 19) a 372 nm que es la longitud de onda de la banda visible del espectro del bromo (ver Figura 6), donde no absorbe ni el analito, ni sus productos de reacción.

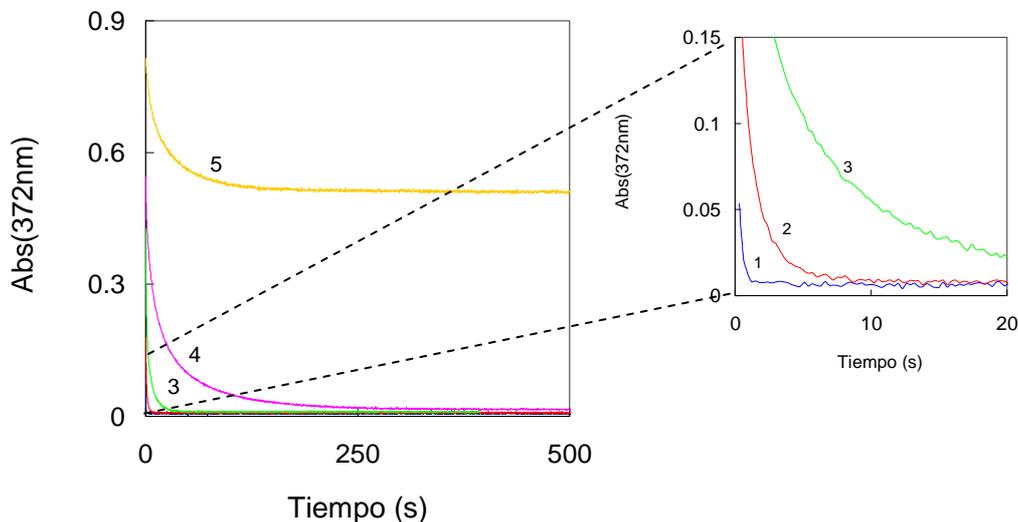


Figura 19: Perfiles la reacción entre el Bromo (generado in-situ) y Ácido Salicílico 1) 9.97×10^{-3} M, 2) 4.99×10^{-3} M, 3) 2.59×10^{-3} M, 4) 2.02×10^{-3} M y 5) 1.2×10^{-3} M. El bromo se genera por la mezcla mediante inyección secuencial de Bromuro (0.3 M) y Bromato 3.74×10^{-3} M, en ácido sulfúrico 0.9 M.

Como puede verse en la Figura 19 los perfiles de reacción responden a los cambios de concentración del SA, por lo que bien pueden ser utilizadas para su posible determinación.

El tratamiento de los perfiles de reacción con fines analíticos puede realizarse por métodos clásicos (velocidad inicial, señal a tiempo fijo, etc.) o bien por métodos multivariantes utilizando señales a varias longitudes de onda.

4. CONCLUSIONES

- La técnica MSFIA puede ser aprovechada de una forma sencilla para estudios fundamentales de la cinética de reacción de sistemas que transcurren a velocidades más rápidas de las permitidas para la mezcla manual.
- MSFIA, al igual que SIA, son técnicas muy adecuadas para la generación y uso “*in situ*”, de pequeñas cantidades de reactivos de carácter peligroso, contaminante, etc.