



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

DESARROLLO DE UN DISPOSITIVO DE MEMBRANA LÍQUIDA SOPORTADA DE FIBRA HUECA
(MLS-FH) PARA LA PRECONCENTRACIÓN DE PLOMO (II) Y METALES CONCOMITANTES DE
SOLUCIONES ACUOSAS.

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. ANA NELLY BAUTISTA FLORES



TUTOR:
DR. EDUARDO RODRÍGUEZ DE SAN MIGUEL G.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente:	Dr. Alberto Rojas Hernández
Vocal:	Dra. Martha Patricia García Camacho
Vocal:	Dra. María del Pilar Cañizares Macías
Vocal:	Dra. Ofelia Morton Bermea
Secretario:	Dra. Alma Luisa Revilla Vázquez

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TRABAJO:

Laboratorio 113, Departamento de Química Analítica, División de Estudios de Posgrado, Edificio B, Facultad de Química, UNAM, C.U.

TUTOR:

Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero.

SUSTENTANTE:

M. en C. Ana Nelly Bautista Flores

El desarrollo de esta investigación dió como resultados los siguientes trabajos:

PUBLICACIONES

Journal of Membrane Science 363 (2010) 180-187. Optimization, evaluation, and characterization of a hollow fiber supported liquid membrane for sampling and speciation of lead (II) from aqueous solutions. Ana Nelly Bautista-Flores, Eduardo Rodríguez de San Miguel, Josefina de Gyves and Jan Ake Jönsson.

Membranes 2011, 1(3), 217-231. Nickel (II) preconcentration and speciation behavior during transport from aqueous solution using a hollow-fiber permeation liquid membrane (HFPLM) device. Ana Nelly Bautista-Flores, Eduardo Rodríguez de San Miguel, Josefina de Gyves and Jan Ake Jönsson.

CONGRESOS

Presentación en la modalidad de cartel profesional en el 45° Congreso Mexicano de Química celebrado en la Riviera Maya, Q. Roo, del 18 al 22 de Septiembre, 2010. Preconcentración de Pb^{2+} y Ni^{2+} usando Membranas Líquidas Soportadas de Fibra Hueca que contienen como acarreador Kelex 100.

Se presentó en la modalidad de cartel en el “36th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry” celebrado en Roma, Via Veneto 89, Italia, del 5 al 9 de Octubre, 2010. Passive Sampling of Ni(II) Using a Kelex 100 contained hollow fiber supported liquid membrane device.

Presentación Oral en el QUIMIUNAM 2010, llevado a cabo en el auditorio “Alfonso Caso” de la Universidad Nacional Autónoma de México, celebrado del 24 al 26 de Noviembre, 2010. Preconcentración de Pb^{2+} y Ni^{2+} usando membranas líquidas soportadas de fibra hueca que contienen como acarreador Kelex 100.

Presentación en la modalidad de mesa redonda en el Primer Congreso de Posgrados, llevado a cabo en la Universidad Nacional Autónoma de México, celebrado del 18 al 20 de Mayo, 2011. Determinación de la biodisponibilidad de Pb^{2+} y Ni^{2+} en aguas usando membranas líquidas.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a las siguientes instituciones que hicieron posible la realización de este trabajo:

- Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Posgrado en Ciencias Químicas-UNAM.
- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la beca otorgada para estudios de doctorado, número de becario 215007.
- Así mismo se agradece el apoyo económico a CONACyT para el proyecto 80169.

Agradezco de manera muy especial a las siguientes personas:

- A mi tutor el Dr. Eduardo Rodríguez de San Miguel Guerrero por toda su confianza, su apoyo, pero sobre todo por su tiempo y paciencia dedicado en mi aprendizaje, su fantástica dirección académica y su valiosa amistad.
- A la Dra. Josefina De Gyves Marciniak por toda su aportación al desarrollo de este trabajo, sus muy acertados consejos y su apreciable amistad.
- A los miembros de mi comité tutor por su tiempo y todas las aportaciones realizadas a lo largo de esta investigación: Dra. María Guadalupe Albarrán Sánchez y Dra. María del Pilar Cañizares Macías.
- A los miembros de mi comité tutelar ampliado por su tiempo y comentarios realizados al trabajo: Dra. Alma Revilla Vázquez, Dr. Alberto Rojas Hernández, Dra. María del Pilar Macías, Dra. María Guadalupe Albarrán Sánchez.
- A los miembros del jurado por todas sus observaciones hechas para el realce final del trabajo.

*A mi esposo Hugo Daniel y a Gaudí por su amor, paciencia y espera.
A a mi madre, padre, hermanos, cuñadas y sobrinos, por su incondicional apoyo.
A Don Lázaro Cázares por su amistad y su confianza.
A los buenos amigos.
E infinitamente a Dios y a la Purísima Concepción por las inmensas muestras de amor y fe.*

ÍNDICE

RESUMEN.	V
INTRODUCCIÓN.	VII

<i>Capítulo</i>	<i>Contenido</i>	<i>Página</i>
I	MARCO TEÓRICO.	
1.1.	Metales y su toxicidad.	1
1.2.	Procedencia de la contaminación con metales tóxicos.	1
1.2.1.	Contaminación natural.	1
1.2.2.	Contaminación artificial.	1
1.3.	Biodisponibilidad y Especiación.	2
1.3.1.	Biodisponibilidad de metales.	2
1.3.2.	Modelos para estudios de especiación.	4
1.3.2.1.	Modelo del Ión Libre Activo.	4
1.3.2.2.	Modelo de Interacción Superficial en Agallas de Peces.	4
1.3.2.3.	Modelos del Ligante Biótico (MLB).	5
1.4.	Membranas.	7
1.4.1.	Tipos de transporte en membranas.	8
1.4.2.	Mecanismos de transporte en membranas.	8
1.4.3.	Tipos de membranas.	9
1.4.3.1.	Membranas biológicas.	9
1.4.3.2.	Membranas sintéticas.	16
1.5.	Membranas Líquidas Soportadas (MLS).	18
1.5.1.	Fundamentos de las Membranas Líquidas Soportadas.	19
1.5.2.	Generalidades de los componentes de las MLS.	19
1.5.2.1.	Soporte.	20
1.5.2.2.	Fase orgánica.	23
1.5.2.2.1.	Disolvente.	23
1.5.2.2.2.	Acarreador o extractante.	23
1.5.3.	Aplicaciones de las MLS de Fibra Hueca.	24
1.5.3.1.	Preconcentración.	25
1.5.3.2.	Especiación.	26
1.6.	Muestreo pasivo.	27
1.6.1.	Muestreo pasivo en régimen de equilibrio.	28
1.6.2.	Muestreo pasivo en régimen cinético.	28
1.7.	Agotamiento de la muestra.	29

1.8.	Plomo.	30
1.8.1.	Propiedades.	30
1.8.2.	Plomo en el medio ambiente.	30
1.8.3.	Plomo en el organismo; vías de absorción, distribución y eliminación.	31
1.8.4.	Biodisponibilidad y Bioacumulación de plomo.	32
II	OBJETIVOS E HIPÓTESIS.	
2.1.	Objetivo General.	34
2.2.	Objetivos Específicos.	34
2.3.	Hipótesis.	35
III	PARTE EXPERIMENTAL.	
3.1.	Reactivos y materiales.	36
3.2.	Instrumentación.	36
3.3.	Optimización del proceso de extracción.	36
3.4.	Desarrollo del Experimento.	37
3.4.1	Preparación de la Membrana Líquida Soportada de Fibra Hueca (MLS-FH).	37
3.4.2	Montaje del sistema.	37
3.4.3.	Cuantificación del metal.	38
3.5.	Estudios preliminares.	39
3.6.	Optimización del sistema.	39
3.6.1.	Diseño de Doehlert (DD).	39
3.6.2.	Factores mecánicos y geométricos.	39
3.6.3.	Longitud de la membrana.	40
3.6.4.	Influencia de otros compuestos en la fase donadora (muestra).	40
3.7.	Estudio de selectividad.	40
3.7.1.	Diseño de Plackett-Burman (PB) y triadas.	40
IV	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	
	Plomo.	
4.1.	Estudios preliminares.	41
4.2.	Tiempo de equilibrio.	41
4.3.	Estudio de reproducibilidad y repetibilidad.	41
4.4.	Optimización del sistema.	42
4.4.1.	Diseño de Doehlert (DD).	42
4.4.2.	Factores mecánicos y geométricos.	44

4.4.3.	Análisis de superficie de respuesta estimada.	44
4.4.4.	Longitud de la membrana.	44
4.5.	Efecto de la fase aceptora.	44
4.5.1.	Cambio de la fase aceptora.	45
4.5.2.	Variación de la concentración de la fase aceptora.	48
4.6.	Influencia de diferentes parámetros en el desarrollo del dispositivo de MLS-FH.	48
4.6.1.	Influencia del pH de la fase donadora.	48
4.6.2.	Influencia de la presencia de diferentes ligandos.	49
4.6.2.1.	Complejos hidrofílicos lábiles.	49
4.6.2.2.	Complejos hidrofóbicos inertes.	50
4.6.3.	Influencia de la concentración de plomo.	50
4.6.4.	Influencia de la temperatura.	51
4.7.	Agotamiento de la muestra y régimen de transporte.	52
4.8.	Estudio de análisis de especiación auxiliada por fraccionamiento.	53
4.9.	Estudios de selectividad.	53
4.9.1.	Diseño de Plackett-Burman (PB).	54
4.9.2.	Estudio de selectividad por triadas.	54
4.10.	Otros metales.	55
	Níquel.	
4.10.1.	Tiempo de equilibrio.	57
4.10.2.	Optimización del sistema.	57
4.10.2.1.	Diseño de Doehlert.	57
4.10.2.2.	Factores mecánicos y geométricos.	58
4.10.3.	Variación de la concentración en la fase donadora.	58
4.10.4.	Influencia de la presencia de diferentes ligandos.	59
4.10.4.1.	Complejos hidrofílicos.	59
4.10.4.2.	Complejos hidrofóbicos.	60
4.10.5.	Influencia de la temperatura.	61
4.10.6.	Influencia del pH de la fase aceptora y concentración.	61
4.10.7.	Agotamiento de la muestra y régimen de transporte.	63
4.10.8.	Estudio de análisis de especiación auxiliada por fraccionamiento.	63
V	CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.	
5.1.	Conclusión General.	64
5.2.	Conclusiones Particulares.	64
5.3.	Perspectivas.	65

VI	BIBLIOGRAFÍA.	66
VII	ANEXOS.	73
Artículo	Optimization, evaluation, and characterization of a hollow fiber supported liquid membrane for sampling and speciation of lead(II) from aqueous solutions.	Aceptado
Artículo	Nickel (II) preconcentration and speciation analysis during transport from aqueous solutions using a hollow-fiber permeation liquid membrane (HFPLM) device.	Aceptado

RESUMEN

Se desarrolló un dispositivo de Membrana Líquida Soportada de Fibra Hueca (MLS-FH) para la preconcentración de Pb(II) y otros metales concomitantes (Ni(II), Cu(II), Cd(II) y Zn(II)) de soluciones acuosas, empleando como acarreador el extractante comercial Kelex 100 y como fuerza directriz del sistema un gradiente de protones (H^+ , HCOOH).

A partir del sistema de MLS-FH desarrollado se evaluó la dependencia del factor de enriquecimiento (E^m_e) en función de varios parámetros: pH de la fase donadora, pH de la fase aceptora, concentración de acarreador, presencia de complejos lábiles y complejos inertes, influencia de la concentración de plomo, la temperatura, el volumen de muestreo y la presencia de otros metales.

Se evaluó el régimen de transporte del sistema a partir del cálculo de la energía de activación (E_a) mediante la ecuación de Arrhenius. Se encontró que la E_a para plomo es de 32.7 KJ mol^{-1} , por lo que el régimen de transporte para plomo mostró un comportamiento mixto (difusivo-cinético). Estudios análogos para níquel mostraron que para este metal la E_a es de 54.4 KJ mol^{-1} por lo que el régimen de transporte se encuentra limitado cinéticamente para este metal.

Por otra parte, se observó que el sistema de MLS-FH desarrollado permite el fraccionamiento del analito en la muestra en especies libres, lábiles e inertes. A partir del valor de E^m_e obtenido para cada una de las especies fraccionadas se realizó el análisis de especiación, mediante el cual se concluyó que el plomo en presencia de especies lábiles (NO_2^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} y CN^-) y el plomo libre (Pb (II)) podrían ser más biodisponibles que el plomo en presencia de ácido húmico (AH). Adicionalmente se encontró un efecto catalítico que acelera la velocidad de permeación del plomo cuando éste se encuentra en presencia de ligantes lábiles. En el caso del níquel se observó que la especie libre (Ni (II)) es la única especie capaz de atravesar la membrana, bajo las condiciones empleadas. Para ambos metales se estableció un régimen de operación de agotamiento insignificante del dispositivo de muestreo al utilizar grandes volúmenes de muestra.

ABSTRACT

A hollow fiber supported liquid membrane (HF-SLM) system was developed to preconcentrate lead(II) and other concomitant metals (Ni (II), Cu (II), Cd (II) and Zn (II)) from aqueous solution using the commercial extractant Kelex 100 as carrier and a proton gradient (H^+ , $HCOOH$) as driving force.

The influence of various parameters on the enrichment factor (E^{m_e}) was evaluated, among them: donor phase pH, acceptor phase pH, carrier concentration, presence of labile and inert complexes, lead concentration, temperature, sampling volume and presence of other metals.

Additionally the transport system was characterized by calculating the activation energy (E_a) using an Arrhenius-type equation. The estimated value of 32.7 KJ mol^{-1} for lead indicated the presence of a mixed diffusional-kinetic regimen. As for nickel similar studies showed a E_a value of 54.4 kJ mol^{-1} indicating that the transport system is kinetically controlled in this case.

Moreover, the HF-SLM system developed allowed the fragmentation of lead in three groups: free, labile and inert species. From the E^{m_e} value obtained for each group speciation analysis was done; it was concluded that lead in presence of labile species (NO_2^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} and CN^-) and the free ion ($Pb(II)$) may be more bioavailable than lead in the presence of humic acids (HA). Furthermore a catalyzing effect was observed that accelerates the rate of diffusion of lead in the presence of labile ligands. In the case of nickel it was observed that the free ion ($Ni(II)$) is the only species capable of crossing the membrane under the conditions employed. For both metals operation regimes of negligible depletion for the sampling device were established when large sample volumes were used.

INTRODUCCIÓN

La determinación de metales tan conocidos y utilizados como el plomo, mercurio, cadmio, níquel, vanadio, cromo, cobre, aluminio, arsénico o plata, en aguas a niveles trazas es muy importante desde el punto de vista ambiental y ecotoxicológico. Muchos de estos elementos son micronutrientes necesarios para la vida de los seres vivos y son absorbidos por las raíces de las plantas o forman parte de la dieta de los animales (ejemplos; fierro, manganeso, cobalto, níquel, cobre, zinc, molibdeno), mientras que otros son altamente tóxicos (por ejemplo, arsénico, cadmio, plomo). Además algunos de los elementos nutrientes (por ejemplo, níquel, cobre, zinc) pueden también ser tóxicos en concentraciones elevadas. Sin embargo, la biodisponibilidad y toxicidad de estos iones metálicos no puede ser predicha por la concentración total sino más bien por la concentración de sus diferentes especies químicas.¹

En los análisis de riesgos ecológicos de contaminantes químicos es importante cuantificar la concentración de las sustancias libremente disueltas en muestras acuosas para la caracterización aproximada de la fracción biodisponible. Estas mediciones son importantes porque la concentración y toxicidad de un elemento o compuesto en el cuerpo de un organismo está relacionada a la fracción biodisponible y a su forma química dentro del medio circundante. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (del inglés Environmental Protection Agency, EPA) recientemente ha incorporado dentro de su marco regulatorio el Modelo del Ligante Biótico-MLB (del inglés Biotic Ligand Model, BLM) para análisis de toxicidad de metales. El MLB incorporó elementos del Modelo de Interacción Superficial en Agallas o Branquias de peces (del inglés Gill Surface Interaction Model, GSIM) y el Modelo del Ión Libre Activo (del inglés Free Ion Activity Model, FIAM).

Los iones metálicos pueden estar en diferentes formas en el ambiente, como ión libre hidratado, como complejos solubles unidos a ligantes naturales orgánicos o inorgánicos, como complejos sólidos (precipitados de minerales y sales) o complejos superficiales adsorbidos sobre superficies de partículas y coloides. Además algunas de estas formas pueden existir en diferentes estados de oxidación dependiendo del ión metálico y condiciones ambientales³. Actualmente es aceptado que el ión metálico libre, complejos metálicos lábiles y complejos lipofílicos son las especies químicas biodisponibles capaces de provocar un efecto adverso a un organismo siendo éstos los indicadores más adecuados para estudios de biodisponibilidad, de aquí el interés en estas especies en los últimos años.

Los métodos tradicionales para realizar especiación de metales (electrodos selectivos de iones⁴¹, voltamperometría catódica o anódica^{42,43}, resinas de intercambio iónico⁴⁴, ATR-FTIR, XAFS⁴⁵) además de sus excelentes características de precisión y exactitud poseen desventajas inherentes relativas a interferencias químicas, complejidad del

dispositivo, dificultad de aplicación in situ, o necesidad de alteración de la muestra. De ahí que nuevas tecnologías emergentes hayan surgido en tiempos recientes para solventar tales limitaciones. Entre ellas encontramos a los gradientes difusivos en películas delgadas, DGT (del inglés Diffusive Gradients in Thin Films)^{46,47}, membranas de Donnan^{48,49} y dispositivos de muestreo in situ tipo “gellyfish”⁵⁰. Entre ellos las Membranas Líquidas Soportadas de Fibra Hueca, MLS-FH son consideradas una herramienta útil pues en la práctica presentan como principales ventajas que separan y preconcentran en un solo paso, simplicidad, bajo costo, eliminan los efectos matriz, el transporte a través de las MLS emula a las membranas biológicas, y el análisis de metales se puede llevar a cabo sin alterar la composición química, posibilidad de acoplamiento en línea, altos valores de factores de enriquecimiento.

El plomo es un contaminante ambiental común debido a su uso industrial, como en las plantas que procesan plomo-ácido o para producir alambre o tuberías de plomo, y en el reciclaje de metales y fundición, por mencionar algunos. El plomo presenta una amplia gama de fisiopatologías (hematológicas, gastrointestinales, neurológicas) y la exposición prolongada puede causar nefropatía crónica, hipertensión y alteraciones en la fertilidad.

Debido a lo descrito en los párrafos anteriores la determinación de plomo y estudios de especiación es un tema de gran importancia. Hasta el alcance de la revisión llevada a cabo, la literatura muestra un solo trabajo de preconcentración de plomo mediante la técnica de microextracción en fase líquida por fibra hueca (del Inglés Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction, HF-LPME) y ningún estudio ha utilizado un extractante comercial como acarreador en un dispositivo de fibra hueca para muestreo pasivo^{81,82}. Por lo tanto, en este trabajo se decidió emplear una membrana líquida soportada de fibra hueca para muestreo pasivo para la preconcentración de plomo utilizando como acarreador de la membrana el extractante comercial Kelex 100 (7 - (4-etil-1-methyloctyl)-8-hidroxiquinolina) y evaluar las influencias de las diferentes variables que afectan la permeabilidad del muestreo (pH, concentración y naturaleza de la fase aceptora; concentración del acarreador; modo de impregnación de la membrana; tiempo de muestreo; largo de la fibra hueca) y los factores ambientales relacionados con la biodisponibilidad del plomo en muestras acuosas (interferencia de cationes concomitantes, Cu (II), Cd (II), Ni (II) y Zn (II); aniones, NO₂⁻, SO₄⁻², Cl⁻, NO₃⁻, CO₃⁻², CN⁻, y materia orgánica como ácido húmico; pH, concentración y temperatura de la muestra). Al término del trabajo se espera que la MLS-FH permita la preconcentración de plomo de muestras acuosas de baja concentración a tal grado que éste puede ser medido por un equipo convencional como el espectrofotómetro de flama y permita contribuir en el análisis de especiación de este elemento.

Capítulo I

MARCO TEÓRICO

1.1. Metales y su toxicidad.

La determinación de metales tan conocidos y utilizados como el plomo, mercurio, cadmio, níquel, vanadio, cromo, cobre, aluminio, arsénico o plata, en aguas a niveles trazas es muy importante desde el punto de vista ambiental y ecotoxicológico. Sin embargo, la biodisponibilidad y toxicidad de estos iones metálicos no puede ser predicha por la concentración total sino más bien por la concentración de sus diferentes especies químicas.

Muchos de estos elementos son micronutrientes necesarios para la vida de los seres vivos y deben ser absorbidos por las raíces de las plantas o formar parte de la dieta de los animales. Pero cuando por motivos naturales o por la acción del hombre se acumulan en los suelos, las aguas o los seres vivos en concentraciones altas se convierten en tóxicos peligrosos¹.

1.2. Procedencia de la contaminación con metales tóxicos.

1.2.1. Contaminación natural.

Algunos elementos químicos, como el cadmio, cromo, cobalto, cobre, plomo, mercurio, níquel, plata y uranio, se encuentran repartidos en pequeñas cantidades por todas partes. Todos estos elementos son potencialmente tóxicos y pueden dañar a los seres vivos en concentraciones tan pequeñas como 1 mg/L. Además de ser elementos que se encuentran en la composición normal de rocas y minerales, pueden ser especialmente abundantes como resultado de erupciones volcánicas, o por fuentes de aguas termales. Algunos compuestos de estos metales pueden sufrir acumulación en la cadena trófica, lo que origina que a pesar de encontrarse en dosis muy bajas en el ambiente pueden llegar a concentrarse en plantas o animales, hasta llegar a provocar daños en la salud. Otros elementos, especialmente aluminio y hierro, son muy abundantes en las rocas y en el suelo, y también pueden ser tóxicos, pero afortunadamente se encuentran en formas químicas no solubles y es muy difícil que los seres vivos los asimilen^{1,2}.

1.2.2. Contaminación artificial.

La agricultura usaba algunos pesticidas inorgánicos como arseniatos de plomo y calcio, sulfato de cromo, etc., que eran muy tóxicos. Se han usado hasta hace no mucho tiempo, especialmente en las plagas forestales. Ahora ya no se usan, pero como son muy persistentes en el ambiente, sigue habiendo lugares con concentraciones altas de estos productos. Algo similar sucedió con el uso de alquilmercuriales para recubrir semillas que desde 1960 están prohibidos¹.

El uso de los lodos de depuradoras como abonos es, en principio, una buena idea que permite aprovechar los desechos de las plantas porque contienen una elevada cantidad de materia orgánica, magnífico nutriente para las plantas. Pero si el agua que llega a la

depuradora no es sólo urbana, sino que viene también de instalaciones industriales, es muy frecuente que contenga metales tóxicos que quedan en los lodos e intoxican las plantas y el suelo si se usan como abonos.

Los vertederos de minas y las industrias metalúrgicas son otra fuente de contaminación con metales muy importante en las zonas en las que están situadas. En los vertederos se suele producir lixiviación cuando el agua de lluvia disuelve y arrastra las sustancias tóxicas y las transporta por los ríos o contamina las aguas subterráneas.

Los automóviles contaminan especialmente en la franja de unas decenas de metros más cercanas a las carreteras y en las ciudades. La contaminación con plomo ha disminuido desde que se ha sustituido el tetraetilo de plomo por otras sustancias antidetonantes en las llamadas gasolinas sin plomo, aunque algo de plomo siguen conteniendo. Otro metal procedente de los automóviles es el zinc que es un componente de los neumáticos¹.

1.3. Biodisponibilidad y Especiación.

1.3.1. Biodisponibilidad de metales.

En los análisis de riesgos ecológicos de contaminantes químicos es importante cuantificar la concentración de las sustancias libremente disueltas en muestras acuosas para la caracterización aproximada de la fracción biodisponible. Estas mediciones son importantes porque la concentración y toxicidad de un elemento o compuesto en el cuerpo de un organismo está relacionada a la fracción biodisponible y a su forma química dentro del medio circundante. Los iones metálicos pueden estar en diferentes formas en el ambiente, como ión libre hidratado, como complejos solubles unidos a ligantes naturales orgánicos o inorgánicos, como complejos sólidos (precipitados de minerales y sales) o complejos superficiales adsorbidos sobre superficies de partículas y coloides (figura 1.1). Además algunas de estas formas pueden existir en diferentes estados de oxidación dependiendo del ión metálico y condiciones ambientales³.

El término biodisponibilidad se define como la cantidad o concentración de un elemento o compuesto que puede ser absorbido por un organismo. También se refiere a las diferentes formas en que la especie metálica está presente en el medio^{1,3,4}.

La biodisponibilidad de metales en un ambiente acuático está influenciada por factores físicos, químicos y biológicos. Factores físicos incluyen: temperatura, estado físico (sólido, líquido o gaseoso), adsorción física, oclusión en fase sólida, régimen de depósito con base al agua. Factores químicos que se incluyen en la especiación son: equilibrio termodinámico, cinética de complejación, solubilidad lipídica, y transiciones de fase como las asociadas con precipitación, co-precipitación o adsorción química. Tanto especies orgánicas como inorgánicas contribuyen a estos fenómenos. Diversos factores biológicos también modifican la biodisponibilidad como son: interacciones tróficas, adaptación bioquímica o fisiológica, utilización de micro-hábitat, tamaño y edad del animal, y características particulares de la especie².

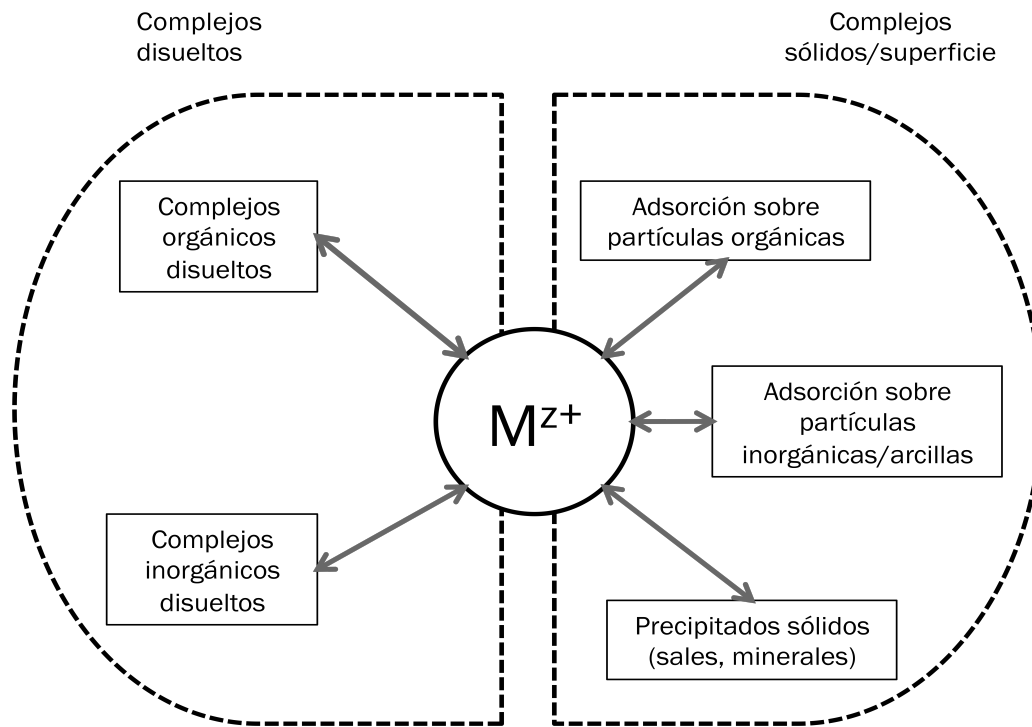


Figura 1.1. Modelo de equilibrio químico para la especiación de metales³.

Una clase de compuestos que modifican la biodisponibilidad son los ligandos. Los ligandos son aniones o moléculas que forman compuestos de coordinación o complejos con metales. Los ligandos pueden influir directamente secuestrando al metal para complejarlo, o indirectamente influyendo en la función biológica. Existe una variedad de ligandos inorgánicos en solución acuosa además de H_2O y OH^- . Los de mayor importancia son F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , NH_3 , y en aguas anóxicas HS^- y S^{2-} . El nitrato (NO_3^-) no forma fuertes complejos con los metales. La distribución de los iones metálicos entre estos ligandos depende del pH y en las concentraciones relativas de los ligandos^{1,2}.

Algunos ligandos pueden tener un papel igualmente importante, aunque aún menos evidente, e influir en la biodisponibilidad. Por ejemplo, El NH_3 y el NH_4^+ son excretados por las branquias; dado que el pKa de la reacción es 9.5, si el pH < 9.5 los iones hidrógeno son atrapados por NH_3 aumentando el pH del agua que pasa por las branquias^{1,2,4}.

Por otra parte las sustancias húmicas son mezclas de numerosos compuestos naturales orgánicos en lugar de un solo compuesto orgánico de estructura y naturaleza química específica. Las sustancias húmicas, en el papel de la formación de complejos, no están totalmente saturadas en el medio ambiente. Como resultado, los sistemas acuáticos tienen una capacidad inherente, pero variable para amortiguar los aumentos en el ion metálico libre y, en consecuencia, la disponibilidad del ion para los organismos⁴.

1.3.2. Modelos para estudios de especiación.

Bernhard, Brinckman, y Sadler⁵ señalaron que el término de especiación se ha utilizado de diferentes maneras. Desde el punto de vista biológico el término especiación describe la transformación que se lleva durante el ciclo de un elemento, se refiere a la evolución de la especie química, en este caso se recomienda emplear el término “transformación de especies”. Por otra parte el término especiación también es usada para indicar la distribución de especies en una muestra o matriz particular. En este sentido la especiación es sinónimo de “distribución de especies”. Finalmente la especiación ha sido usado frecuentemente para indicar que un método da más información sobre la forma en el cual el elemento está presente que otra técnica comúnmente aplicada, es este caso se emplea el término “análisis de especiación” cuando nos referimos a la actividad analítica de identificar (análisis cualitativo) y medir especies (análisis cuantitativo), esta última definición de especiación será el sentido que se aplicará al trabajo a desarrollar. Los estudios de especiación por si solos resultan muy complejos, con el fin de producir información sobre la especiación química de los elementos se emplea el fraccionamiento que se define como el proceso de clasificación de un analito o un grupo de analitos de una muestra, acorde a propiedades físicas (tamaño, solubilidad) o químicas (enlace, reactividad)⁵.

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (del inglés Environmental Protection Agency, EPA) recientemente ha incorporado dentro de su marco regulatorio el Modelo del Ligante Biótico-MLB (del inglés Biotic Ligand Model, BLM) para análisis de toxicidad de metales. El MLB incorporó elementos del modelo de interacción superficial en agallas o branquias de peces (del inglés Gill Surface Interaction Model, GSIM) y el modelo del ión libre activo (del inglés Free Ion Activity Model, FIAM).

1.3.2.1. Modelo del Ión Libre Activo¹.

Fue conceptualizado por Morel en 1983. El modelo propone que especies inorgánicas y el ión metálico libre interactúan con sitios de unión en la superficie celular de un organismo acuático. Asume que en el agua se establecen diversos equilibrios en solución entre M^{n+} y ML, sobre la superficie celular entre M^{n+} y M-X-Cell, y entre ML y M-X-Cell (respectivas constantes de equilibrio, K_1 , K_2 y K_3), ecuación 1:

$$[M-X-Cell]=K_1 * K_3 [-X-Cell][M^{n+}]..... \text{Ecuación 1}$$

donde (-X-Cell) es el ligante celular presente en la superficie celular, (M^{n+}) ión libre metálico, (ML) complejos metálicos. La respuesta biológica es controlada por la concentración del complejo M-X-Cell en la superficie celular. Este modelo asume un pseudo-equilibrio entre el metal unido a la superficie celular y la solución de bulto. La absorción de metal a través de la membrana celular es rápida. Otras especies se enlazan a los sitios de unión en la superficie celular y son transportados a la célula. No considera las especies que entran por difusión pasiva (especies metálicas liposolubles).

1.3.2.2. Modelo de Interacción Superficial en Agallas de Peces⁶.

Fue desarrollado por Gordon K. Pagenkopf. El modelo propone que los metales traza alteran la función de la agallas o branquias de los peces, muriendo éstos como

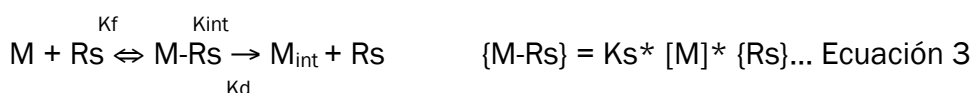
resultado de la falta de respiración, ya que en la superficie de las agallas, los peces forman complejos con especies metálicas e iones hidrógeno presentes en el agua. Además considera que la dureza del agua reduce la toxicidad (presencia de iones Ca^{2+} y Mg^{2+}) y que algunos metales trazas son más tóxicos que otros.

Pagenkopf comenta que la fisiología asociada con la acción toxicológica del metal traza es extremadamente complicada, sin embargo, señala que el modelo se basa en equilibrios competitivos para predecir cambios en la actividad de la especie metálica asociado con la superficie de la agalla, esta asociación con el ión activo influye en la acción fisiológica de las branquias. La membrana de las agalla contienen fosfolípidos, proporcionando una superficie cargada negativamente y los sitios necesarios para la formación de complejos ácido-base de Lewis con los iones metálicos. La interacción puede ser clasificada como una complejación de adsorción o absorción dependiendo de la velocidad de intercambio y si esta es reversible.

1.3.2.3. Modelo del Ligante Biótico (MLB)^{4,7}.

El modelo del ligante biótico fue desarrollado como un modelo para la toxicidad de peces y expuso que las membranas de las agallas de los peces contienen un sitio activo específico de enlace metálico, llamado ligante biótico.

El modelo propone que el metal es transferido de la solución de bulto a la vecindad del organismo (transporte de masa). Los complejos (ML) no son inertes durante el transporte, son dinámicos ya que pueden disociarse y formarse mientras éstos difunden a la superficie del organismo (ecuación 2). El metal reacciona sobre un sitio sensible de la membrana biológica, {Rs}, seguido de un transporte de interiorización (ecuación 3), pero no necesario (figura 1.2).



Donde:

[], Concentración en la solución de bulto

{ }, Concentración en la superficie

M y L, metal y ligante

Rs, sitio sensible en la membrana biológica, fisiológicamente activo.

K_f , K_d , y K_{int} , son las constantes de formación, disociación e interiorización

K_{ML} y K_s , constantes de estabilidad de las reacciones al equilibrio

M_{int} , representa el metal interiorizado a través de ligando en la membrana

La transferencia de metales a través de la membrana biológica se asume como un proceso de primer orden, tal que, el flujo de interiorización, J_{int} , puede ser directamente relacionado a cualquier especie metálica al equilibrio incluyendo al metal enlazado a los sitios sensibles del organismo {M-Rs} (ecuación 4, bases del MLB) o el ión metálico libre en la solución [M] (ecuación 5, bases del modelo del ión libre activo).

$$J_{int} = K_{int} * \{M * R_s\} \dots \dots \dots \text{Ecuación 4}$$

$$J_{int} = K_{int} * K_s * \{R_s\} * [M] \dots \dots \text{Ecuación 5}$$

La cantidad de metal enlazado al sitio activo fisiológico de la agalla causa la toxicidad. En agua dulce, el enlace metal-agalla depende del equilibrio competitivo entre el ión metálico libre, otras formas inorgánicas, complejos orgánicos y otros cationes como calcio, magnesio, sodio y protones, para el ligante biótico.

El MLB asume que la química del sistema está en equilibrio. Iones esenciales al organismo y complejos neutros no son considerados en el modelo. La membrana plasmática es el primer sitio de interacción del metal con el organismo. Sólo contiene un tipo de sitio sensible. Exista un enlace 1:1, y sólo un compuesto es transportado. El transporte de masa hacia la interface biológica no es limitado por la velocidad. La constante de disociación de $\{M-R_s\}$ tiene el mismo valor a ambos lados de la membrana. El gradiente químico (concentración o gradiente de pH) de la interface entre la solución de bulto y la membrana biológica no afecta el transporte o los sitios de interacción. La respuesta biológica es directamente proporcional al flujo de interiorización del metal, J_{int} , o la concentración de complejos superficiales, $\{M-R_s\}$.

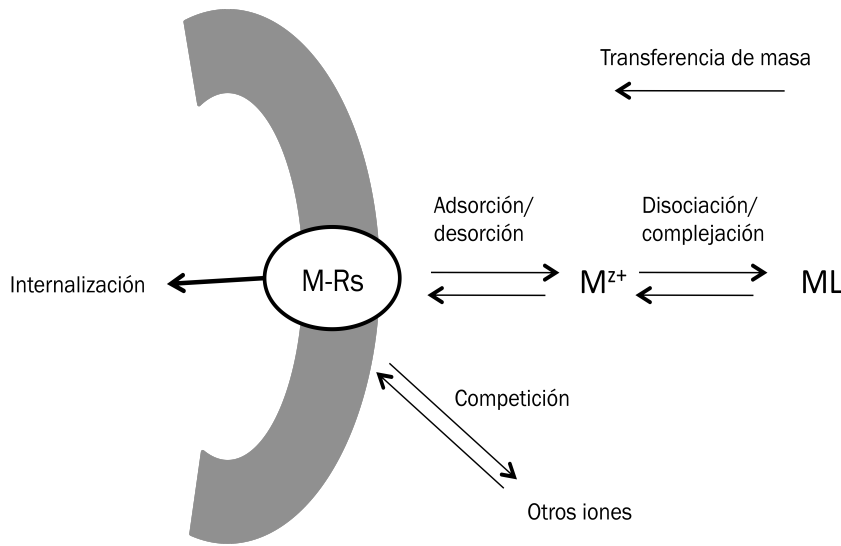


Figura 1.2. Esquema del modelo del ligante biótico⁷.

El modelo actualmente aceptado de los procesos de biodisponibilidad de metales es ilustrado en la figura 1.3. Los extremos de este modelo son (a) cuando la tasa de internalización de metal a través de una superficie de la células es relativamente lenta en comparación con la velocidad de difusión a la superficie celular, y el metal rápidamente entra en un pseudo-equilibrio con el metal en la solución de bulto (biodisponibilidad de metales bajo control termodinámico), y (b) cuando la tasa de internalización es rápida en comparación con la velocidad de difusión de las especies metálicas simples a la superficie celular. En estas condiciones hay un gradiente de

concentración alrededor de la superficie celular, y los complejos del metal se pueden disociar para contrarrestar la perturbación local para el equilibrio.

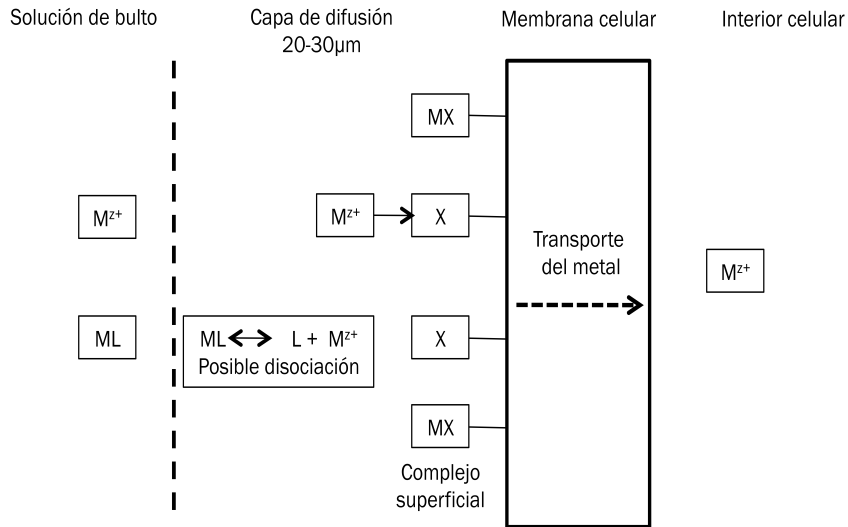


Figura 1.3. Proceso de la biodisponibilidad de metales⁴.

Conocer al respecto que si la absorción de metales por los organismos está bajo control termodinámico o cinético es crítico para determinar que procedimientos de especiación de medición deben ser empleados. Para sistemas en los que la biodisponibilidad se cree que es determinada por factores termodinámicos, la medición de las concentraciones de equilibrio del ion metálico libre (y / o de otras especies que se unen a los receptores) se recomienda. En situaciones más dinámicas, la medición de las concentraciones de metales lábiles será mejor indicador de la biodisponibilidad de metales⁸.

1.4. Membranas⁹.

Una membrana se define como una barrera entre dos fases (1 y 2) y ésta puede ser permeable o semipermeable a diversas especies (figura 1.4).

La fase (1) usualmente se considera como la alimentación o donadora, mientras que la fase (2) es considerada como la de recuperación o aceptora. El transporte de una molécula o partícula de una fase a otra a través de una membrana se ve impulsado por la diferencia de potenciales, el químico y el eléctrico⁹. La eficiencia de una membrana está determinada por la selectividad, estabilidad y el flujo de la misma.

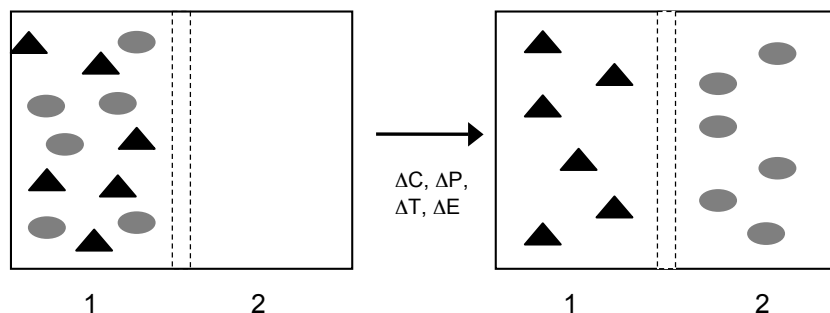


Figura 1.4. Representación del proceso del transporte en membranas, antes (izquierda) y después (derecha) del transporte⁹.

1.4.1. Tipos de transporte en membranas⁹.

Transporte pasivo: en este tipo de transporte la especie migra en función de su gradiente de concentración hasta igualar las concentraciones en ambos lados de la barrera.

Transporte activo: en este transporte la especie migra aún en contra de su gradiente de concentración, esto se debe al transporte acoplado de otra especie, que es la que provee la energía necesaria.

Transporte facilitado: en este caso la velocidad de transporte se ve aumentada por el uso de acarreadores, los cuales reaccionan con la especie migrante formando complejos sustrato-acarreador.

1.4.2. Mecanismos de transporte en membranas.

El mecanismo de transporte de un analito a través de la membrana puede ser de tres tipos: *Difusión Facilitada*, en el cual solamente una especie migra. *Co-transporte*, en este caso dos especies migran en una misma dirección. *Contra-transporte*, en él una especie migra hacia un lado mientras que otra avanza en sentido contrario (figura 1.5)⁹.

Siendo más explícito, el transporte de iones metálicos se puede llevar a cabo por los siguientes mecanismos; (a) Co-transporte de un contra-anión, (b) Contra-transporte por gradiente de protones y (c) Contra-transporte por gradiente catiónico (figura 1.6).

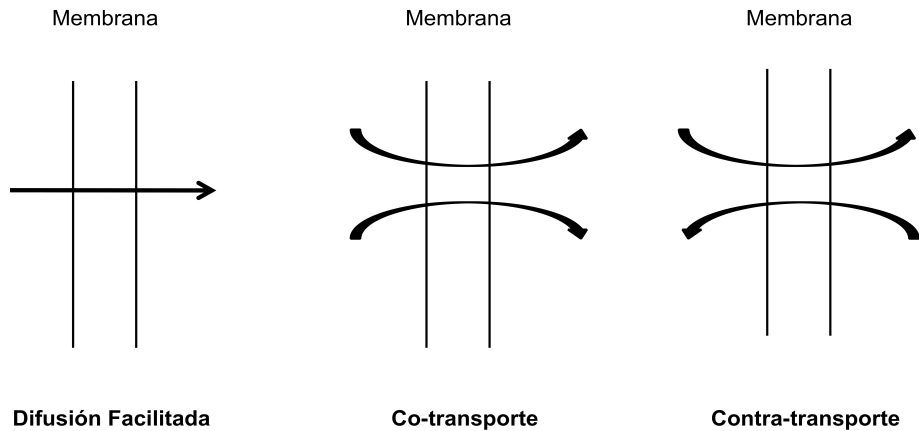


Figura 1.5. Tipos de mecanismos presentes en el transporte de membranas.

Las condiciones para cualquiera de estos mecanismos (a, b, c), deben ser cuidadosamente seleccionadas, en especial al escoger la composición de la fase aceptora. Usualmente el co-transporte no es recomendable cuando el flujo del metal depende de la composición de la fase donadora. Cuando se usa el mecanismo de contra-transporte de protones se debe tener cuidado al acondicionar el pH de la fase donadora de no variar las especies originales. Durante el transporte de especies cargadas tales como iones metálicos, la electroneutralidad se debe cumplir en todo el sistema. Dependiendo del dispositivo usado el equilibrio se alcanzará entre unos pocos minutos a unas horas. Al equilibrio la concentración en la fase aceptora es proporcional a la concentración total o al ión metálico libre en la fase donadora.

1.4.3. Tipos de membranas.

En esta sección se describe a las membranas biológicas y a las membranas sintéticas con el objetivo de mostrar las analogías que presentan en sus mecanismos de transporte.

1.4.3.1. Membranas biológicas⁹.

Cada célula viva, ya se trate de un organismo unicelular como tal o una parte de un organismo multicelular, está rodeada por una membrana biológica. En este contexto, los términos "membrana celular", "membrana plasmática", y "membrana citoplasmática" se utilizan como sinónimos. Las membranas biológicas constituyen fronteras que permiten no sólo separar sino también poner en comunicación diferentes compartimentos en el interior de la célula y a la propia célula con el exterior. Las membranas biológicas de acuerdo a su naturaleza química, pueden dejar pasar algunas moléculas con mayor facilidad que otras, por esto se dice que poseen una permeabilidad selectiva. Las membranas biológicas están constituidas por una bicapa lipídica. Cada molécula lipídica contiene un extremo hidrofóbico y otro hidrofílico. El extremo polar se sitúa en la interfase agua-membrana y la parte hidrofóbica entre éstas. Esta doble capa lipídica no es muy permeable hacia una gran variedad de moléculas. Sin embargo, inmersas entre

los fosfolípidos (lípidos más comunes) encontramos otras moléculas orgánicas como son las proteína integrales (que atraviesan a uno y otro lado de la membrana) y proteínas periféricas (que solo se hallan de un lado de la membrana).

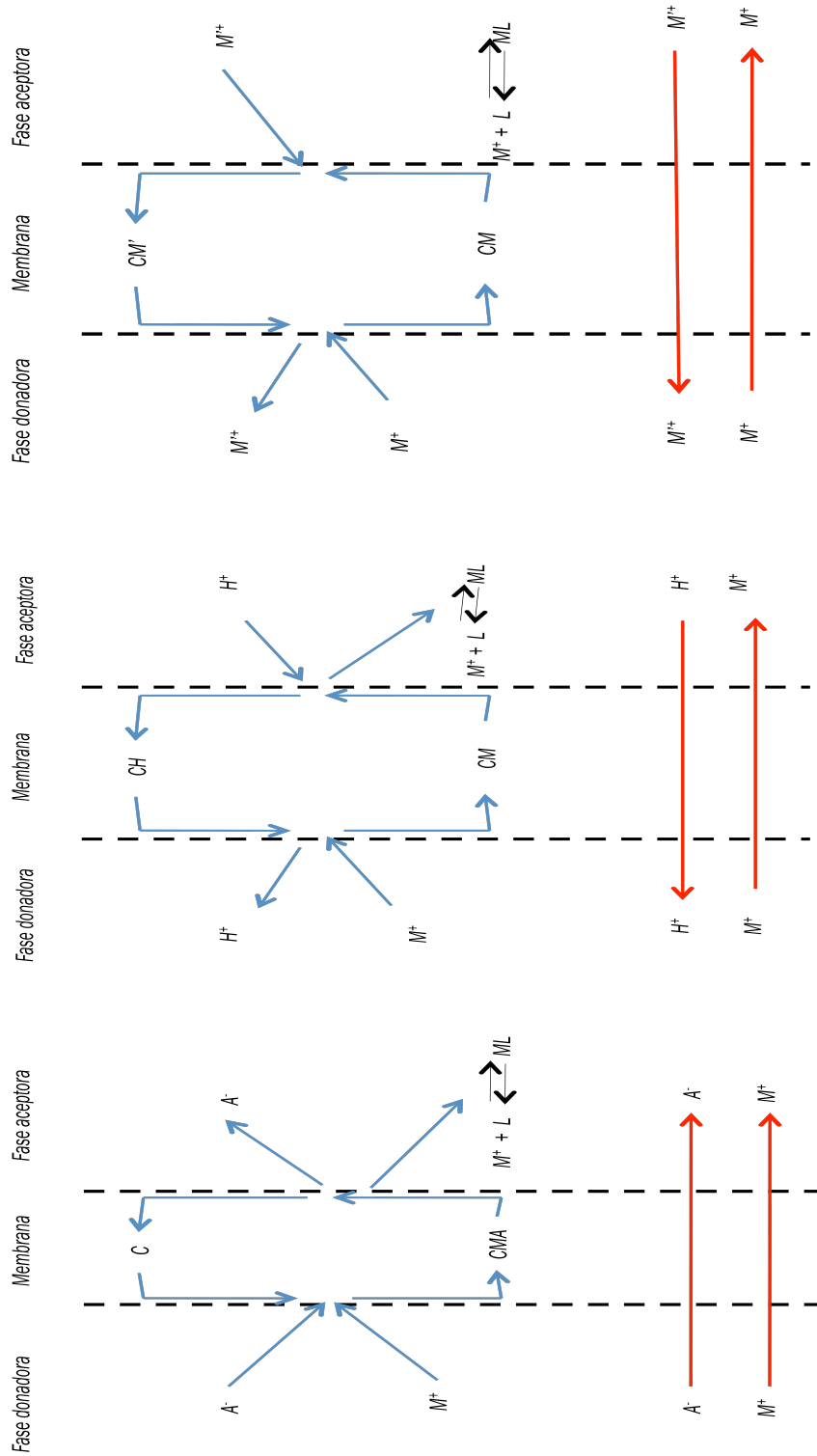


Figura 1.6. Mecanismos de transporte: Co-transporte de un contra-anión (izquierda), contra-transporte por gradiente de protones (centro) y Contra-transporte por gradiente catiónico (derecha). Simbología: C=acarreador, M^+ =ión metálico, M'^+ =contra metal-acarreador, L=ligante, ML=complejo metal-ligante, A=contra anión, H^+ =protones, M' =contra catión.

La presencia de proteínas específicas permite el transporte. Estas proteínas permiten a los solutos polares entrar a la célula, actuando éstas como un acarreador. Por lo tanto, la membrana celular consta de dos componentes principales: la bicapa lipídica que es la columna vertebral, mientras que las proteínas cuidan de las funciones específicas de transporte (figura 1.7).

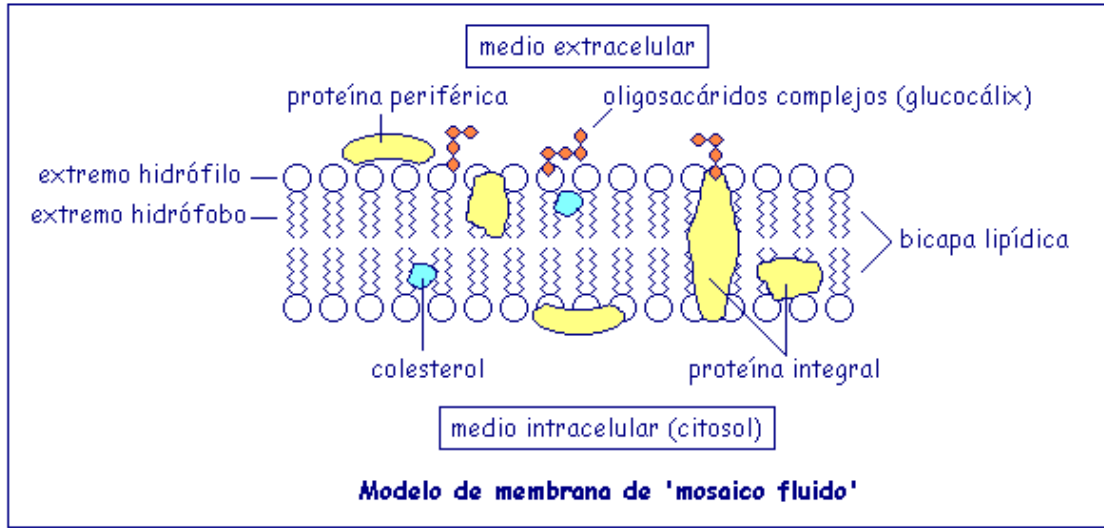


Figura 1.7. Membrana celular, modelo del mosaico fluido²⁶.

En las membranas biológicas puede ocurrir un transporte pasivo o activo (figura 1.8).

a) *Transporte Pasivo.*

Existen tres tipos de mecanismos de transporte pasivo:

- i) Difusión facilitada. La proteína permite la difusión del soluto a través de la membrana. El transporte se produce del gradiente de concentración de alta concentración hacia baja concentración.
- ii) Co-transporte. Un soluto A es transportado a través de la membrana junto a un soluto B. Ambos solutos se encuentran del mismo lado de la membrana y la fuerza directriz es la concentración de uno de los solutos (ej. B). Esto significa que el soluto A puede ser transportado aun en contra de su propio gradiente de concentración.
- iii) Contra-transporte. Dos solutos son transportados en direcciones opuestas. La fuerza directriz en este proceso es el gradiente de concentración de uno de los solutos, por lo tanto, el segundo soluto puede ser transportado aun en contra de su propio gradiente de concentración.

b) *Transporte Activo Facilitado.*

El soluto puede permear aun en contra de su gradiente de concentración, ej., de alta a baja concentración, usando una energía celular (ADP, ATP). Un ejemplo de transporte activo es la bomba de sodio y potasio, donde una molécula de ATP permite a dos iones de potasio.

En general, la interfase entre un organismo y su entorno abarca los elementos descritos en la figura 1.9⁴.

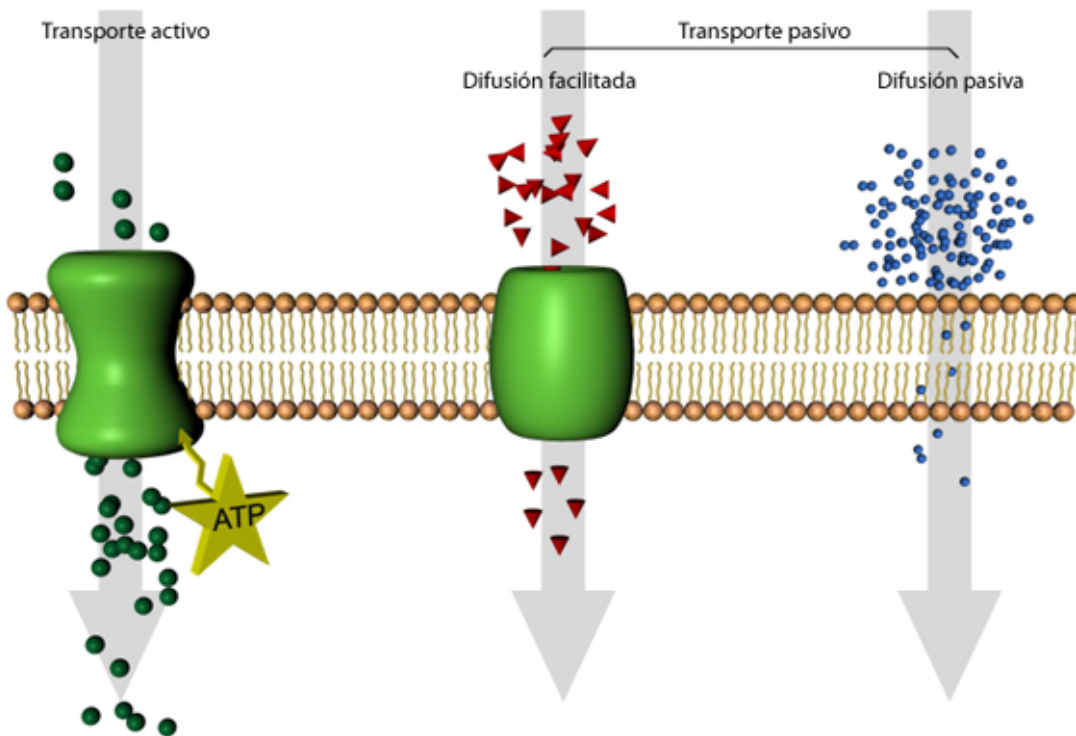


Figura 1.8. Tipos de transporte en las membranas biológicas²⁶.

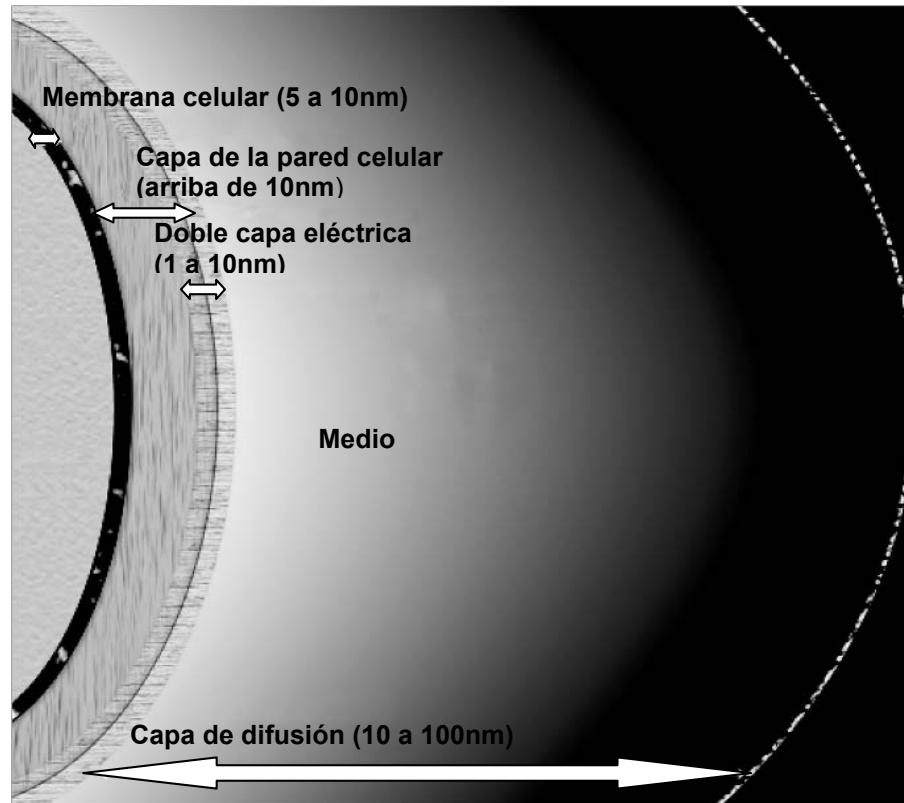


Figura 1.9. Esquema de las dimensiones típicas de las distintas capas en un organismo/medio de interfase.⁸

Como se muestra en la figura 1.10 las especies que pueden atravesar una membrana biológica son: los iones metálicos, el ión metálico hidratado, complejos metálicos neutros, especies liposolubles, moléculas o partículas grandes. En la tabla 1.1 se muestran algunos ejemplos típicos de estas especies. Cada una de ellas emplea un mecanismo diferente para penetrar la membrana. La presencia de ligandos disueltos influye en la adsorción y el transporte del metal. La esfera de hidratación alrededor del ión metálico influye en el transporte del metal a través de los canales iónicos. La endocitosis, fagocitosis y pinocitosis son tres procesos celulares por los cuales la célula introduce moléculas grandes, partículas o líquido, respectivamente, y lo hace englobándolas en una invaginación de la membrana citoplasmática, formando una vesícula que termina por desprenderse de la membrana para incorporarse en el citoplasma. Es el resultado de la osmorregulación, metabolismo y excreción. También existen canales llamados de arrastre donde la captación del metal se lleva a cabo por el movimiento de éste de un punto a otro a través del flujo de agua. Algunos iones metálicos y complejos metálicos son solubles en lípidos^{8,10,11}.

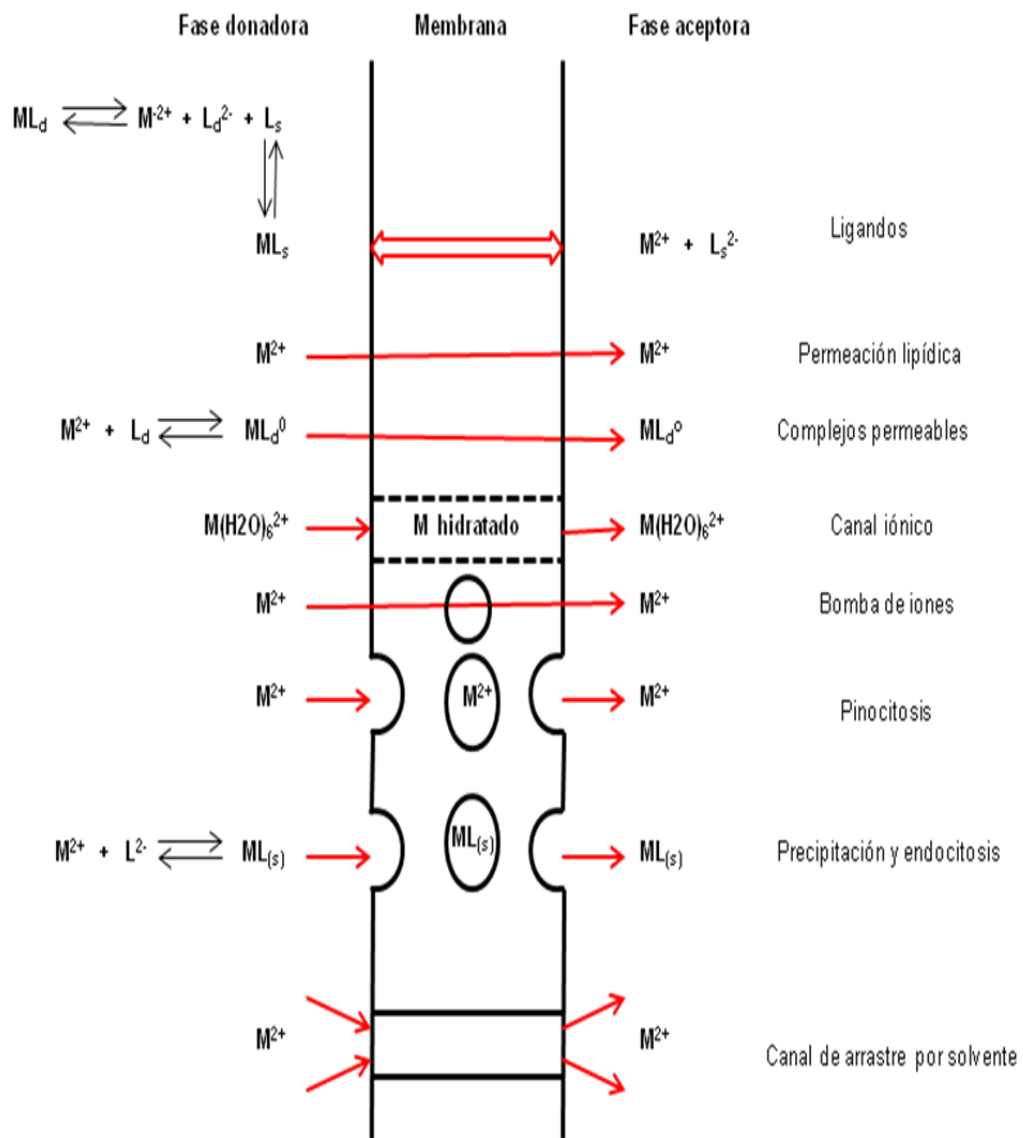


Figura 1.10. Posibles rutas de transporte de iones metálicos a través de membranas biológicas. Esta es una figura propuesta por Simkis , Taylor, Brnzonik y Gorodon¹⁰.

Tabla 1.1. Ejemplos típicos de partículas, coloides y complejos metálicos móviles en aguas. *R=alquilo; X= OH⁻ o Cl⁻; DDC= dietil tiocarbamato.

Partícula (>1mm)	Coloide (1nm-1mm)	Especies móviles (< 4nm)			
		Complejos lábiles hidrofílicos	Complejos inertes hidrofílicos	Complejos lipofílicos	Pares de iones y complejos mixtos
Metales pesados y de transición adsorbidos sobre:	Metales pesados y de transición adsorbidos sobre:	Complejos inorgánicos con carga: Cu(CO ₃) ₂ -2, CuCl ⁺	Cu-EDTA Cu/Fúlvico	Complejos inorgánicos sin carga:	Pares de iones: NaCl NaCO ⁻ R ₂ SnX* RPbX*
Ca ₂ CO ₃	Arcillas	Complejos orgánicos con ligantes hidrofílicos:		CuCO ₃	
Aluminosilicatos (arcillas)	SiO ₂ FeOOH			HgCl Zn(OH) ₂	Mezcla de complejos
SiO ₂ FeOOH	Fúlvico/Húmico Proteínas	Cu(citrato) Cu(oxalato) ₂ -2		CdCl	F-Al
Excresiones	Polisacaridos	Cu(salicilato) ₂ -2		Complejos orgánicos sin carga con ligantes lipofílicos: Cu(DDC) ₂ Cd(DDC) ₂ Pb(DDC) ₂	

Actualmente es aceptado que el ión metálico libre, complejos metálicos lábiles y complejos lipofílicos son las especies químicas biodisponibles capaces de provocar un efecto adverso a un organismo (figura 1.11)⁸.

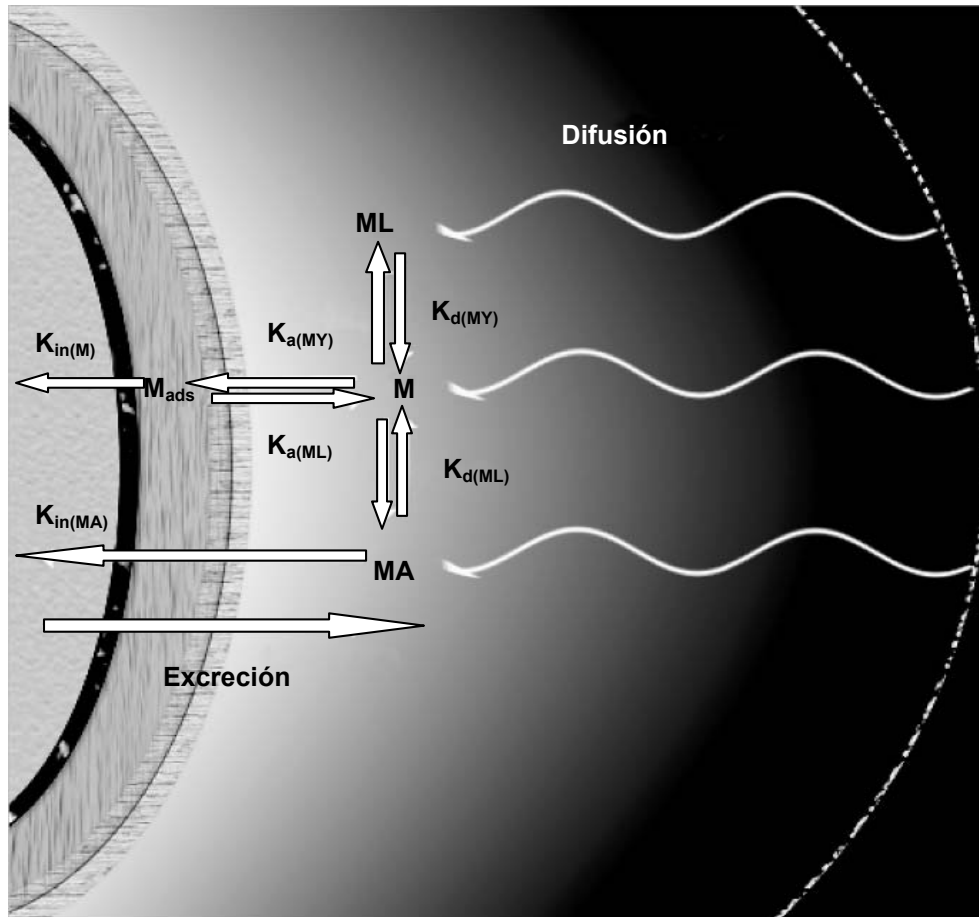


Figura 1.11. Representación esquemática de los procesos involucrados en un organismo en la transferencia de iones metálicos. M, ión metálico libre; ML, complejos lábiles hidrofílicos; MA, especies lipofílicas⁸.

1.4.3.2. Membranas sintéticas⁹.

Existe una variedad de técnicas para la elaboración de membranas. La técnica empleada depende del material usado. Las membranas sintéticas se han clasificado con base en su estructura y principio de separación. Los tres tipos de membranas básicos son:

1. Membranas porosas; poseen poros fijos de diferentes tamaños. La selectividad está determinada por el tamaño del poro de la membrana en relación al tamaño de la partícula a separar. Su principio es la discriminación entre partículas por su tamaño (figura 1.12-izquierda). Son utilizadas en microfiltración y ultrafiltración.

II. *Membranas no porosas*; están constituidas por una fase líquida o sólida (caso de membranas poliméricas) que se colocan entre otras dos fases, que por lo general son líquidas o gaseosas. La separación se debe a diferencias en solubilidad o difusión. Permiten la separación de partículas del mismo tamaño (figura 1.12-derecha). Las propiedades intrínsecas del material polimérico intervienen en la selectividad y permeabilidad.

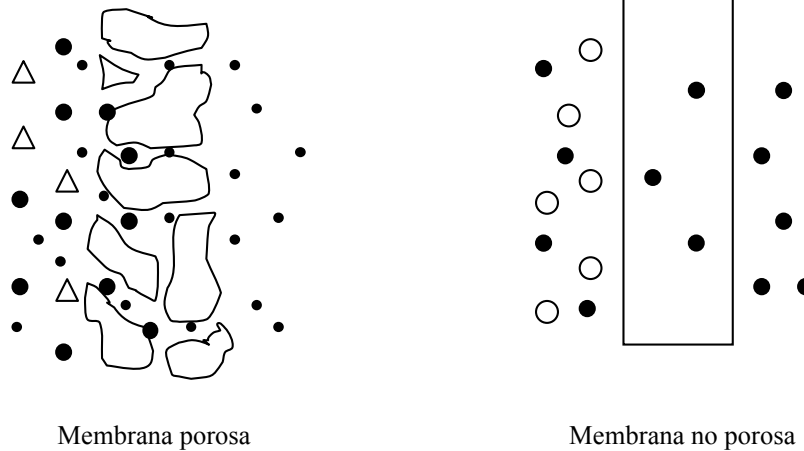


Figura 1.12. Representación de una membrana porosa (izquierda) y no porosa (derecha).

III. *Membranas líquidas.*

Las membranas líquidas se clasifican en:

Membranas líquidas no soportadas (N-MLS).

Se caracterizan porque están formadas por fases líquidas. En esta clasificación se encuentran:

Membranas líquidas de emulsión (MLE).

Este sistema originalmente parte de una fase de alimentación acuosa, una fase de membrana formada entre la fase orgánica y el acarreador y una segunda fase acuosa de recuperación (figura 1.13). La formación de la emulsión se debe a la participación de un surfactante. La fase de membrana presenta un área superficial inmensa lo que permite a este sistema un transporte rápido.

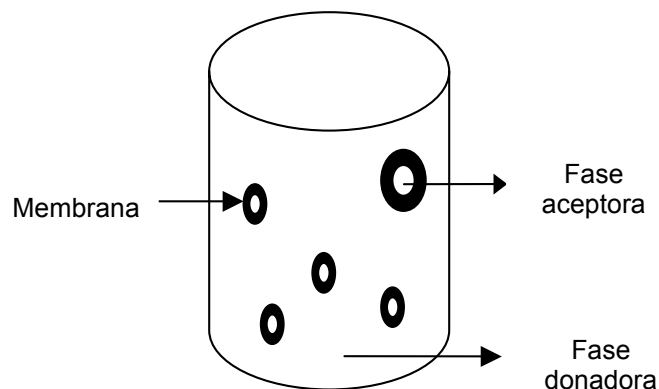


Figura 1.13 Representación de una membrana líquida de emulsión⁹.

Membranas líquidas de bulto (MLB). Estas membranas están constituidas por una fase de alimentación acuosa, una fase orgánica que contiene el acarreador que funciona como membrana líquida y a su vez separa la fase de recuperación también acuosa (figura 1.14). Las soluciones acuosas poseen diferente composición química. El acarreador modifica la permeabilidad de la especie y facilita la difusión selectiva por la membrana.

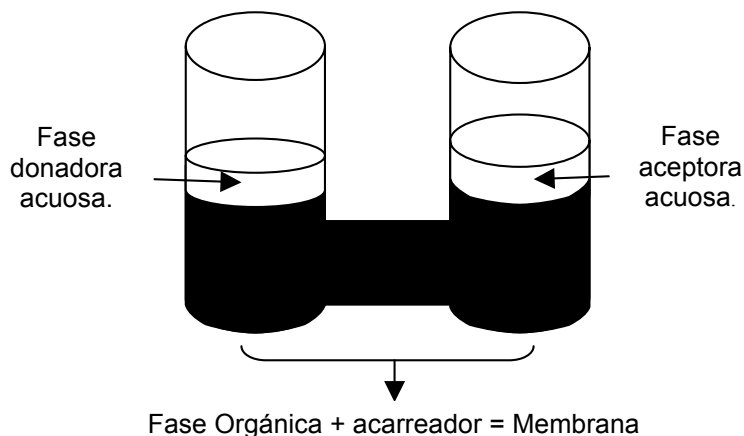


Figura 1.14. Representación de una membrana líquida de bulto⁹.

1.5. Membranas Líquidas Soportadas (MLS)^{11,13}.

También son llamadas Membranas Líquidas de Permeación, MLP, (del inglés Permeation Liquid Membrane, PLM). Se caracterizan por poseer un soporte polimérico poroso químicamente inerte e hidrofóbico.

La elaboración de las MLS consiste en impregnar el soporte polimérico con una solución orgánica que contenga el acarreador (figura 1.15) lo que permite la separación de la fase donadora y aceptora¹¹.

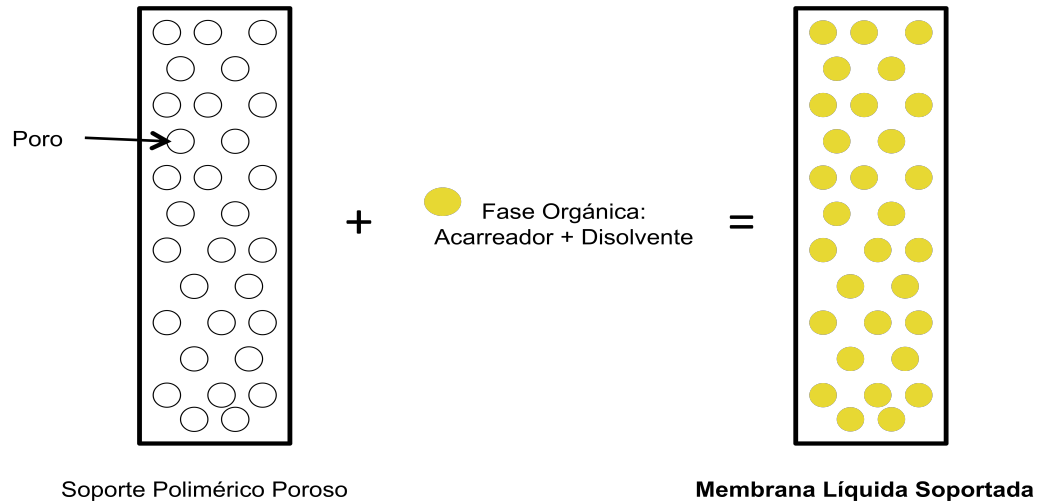


Fig. 1.15. Representación de una membrana líquida soportada.

1.5.1. Fundamentos de las Membranas Líquidas Soportadas (MLS)^{11,13}.

La técnica se basa en la complejación selectiva de iones metálicos por un ligando hidrofóbico (extractante) disuelto en un solvente inmiscible en agua e inmovilizado en los poros de un soporte inerte (membrana). El complejo metal-acarreador es transportado por difusión a través de la membrana de la fase donadora a la fase aceptora, donde el ión metálico es re-extraído ya sea por las condiciones químicas del medio o por un reacción con un ligando más fuerte que el extractante.

El transporte de metales a través de las MLS de manera general incluye los siguientes pasos:

- Difusión del ión metálico hacia la interfase membrana-fase donadora
- Formación del complejo metal-extractante en la interface de la membrana.
- Difusión del complejo metal-extractante hacia la interfase de la membrana-fase aceptora
- Liberación del ión metálico por reacción con un ligante en la fase aceptora.

1.5.2. Generalidades de los componentes de las MLS.

Los principales componentes de las MLS son: la fase donadora, la fase aceptora, la membrana (soporte) y la fase orgánica (acarreador y disolvente).

1.5.2.1. Soporte.

Las propiedades físicas y morfológicas del soporte de membrana juegan un rol importante en la estabilidad de la MLS. El diámetro del poro puede ser tan pequeño como $<0.1 \mu\text{m}$. Audunsson¹¹ observó en la extracción de aminos que al variar el tamaño del poro en el soporte, las membranas con tamaños de poro $> 3.0 \mu\text{m}$ mostraron una fuga inmediata entre la fase donadora y la fase aceptora. Soportes con diferentes geometrías pueden ser usados. Dependiendo del tipo de soporte se han desarrollado diferentes dispositivos de MLS. Los dispositivos de espiral y de fibra hueca, son más propios para aplicaciones analíticas a niveles trazas. En estos sistemas el área de superficie con respecto al volumen es alta, por lo tanto, altos flujos y tiempos cortos de análisis se pueden lograr.

MLS de hoja plana (del inglés Flat sheet).

Este sistema está formado por una membrana plana, que funciona como barrera al ser colocada entre dos compartimentos (figura 1.16-superior)^{11,14}.

MLS de plato de espiral (del inglés Spiral wound).

Este sistema está formado por una membrana plana, que funciona como barrera al ser coloca entre dos placas, las cuales poseen canales en forma de espiral. La fase donadora es introducida en una de las placas a través de los canales y la fase aceptora en la otra placa. Ambas fases se circulan a flujo constante (figura 1.16-inferior)^{11,13}.

MLS de Fibra Hueca (del inglés Hollow fiber, MLS-FH).

El sistema está compuesto por una membrana de fibra hueca. La fase aceptora se introduce en el lumen de la fibra, mientras que la fase donadora se agita en un contenedor (figura 1.17-superior) o se distribuye en el exterior de la fibra (figura 1.17 inferior)^{11,15}. En la tabla 1.2 se muestra los soportes de membrana más usados en MLS-FH.

Tabla 1.2. Soportes de membranas comúnmente usados en los dispositivos de MLS-FH. Simbología: PP, polipropileno, PTFE, politetrafluor etileno¹¹.

Fibra-Hueca	Material	Diámetro de poro dp (μm)	Espesor l (μm)	Diámetro de lumen (mm)	Porosidad %
Gore-Tex TA001	PTFE	2	400	1.00	50
Mitsubishi Rayon					
FPF-190M	PP	0.16	22	0.20	45
EHF-20	PP	0.27	55	0.27	70
Akzo-Nobel (Accurel)					
Plasmaphan	PP	0.2	170	0.33	-
Q3/2	PP	0.2	100	0.60	-
S6/2	PP	0.2	-	-	-
Hoechst					
Celgard X-20	PP	0.03	25	0.40	40
Celgard X-10	PP	0.03	25	20.00	20

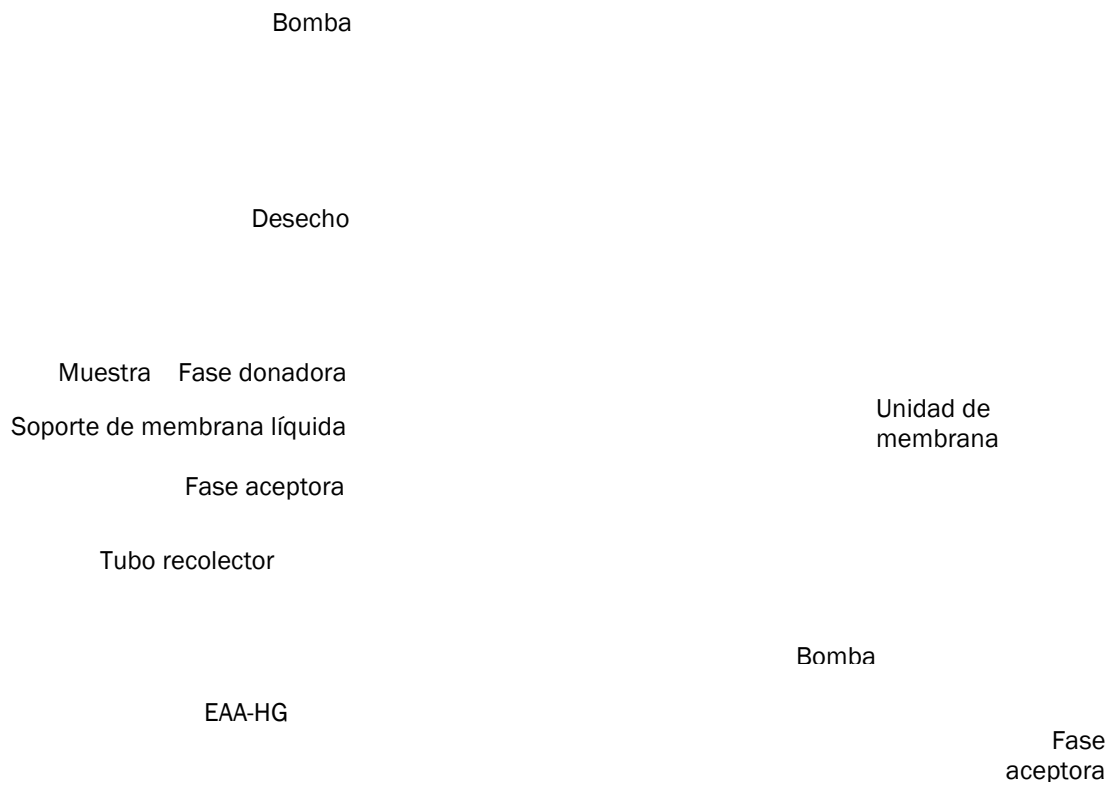
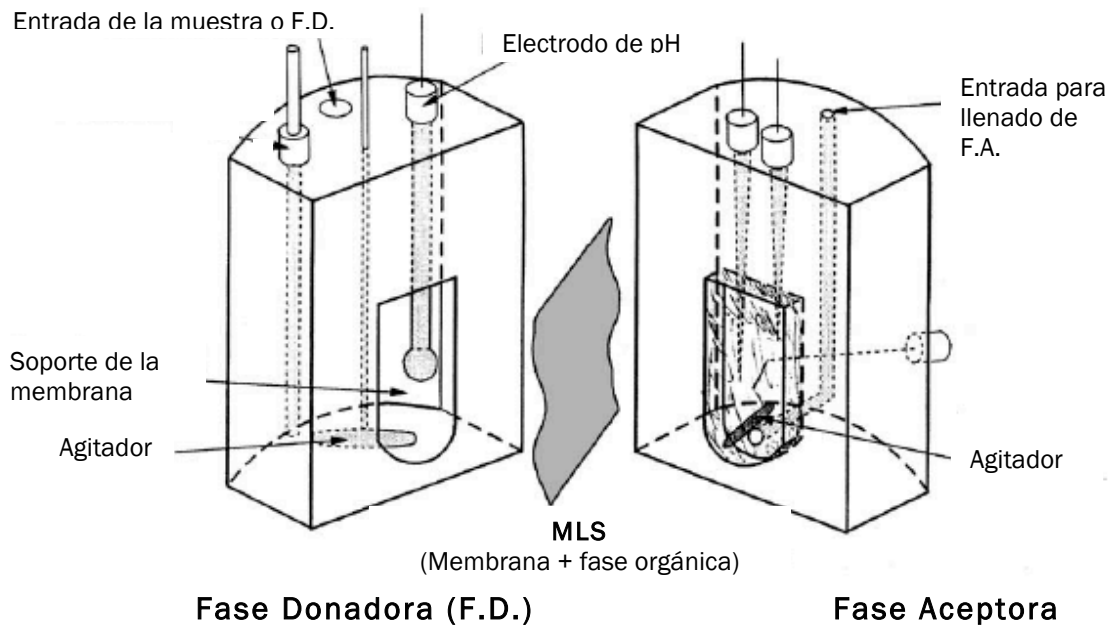


Figura 1.16. Representación de un dispositivo de MLS de hoja plana (superior) y de plato de espiral (inferior)^{11,13,14}.

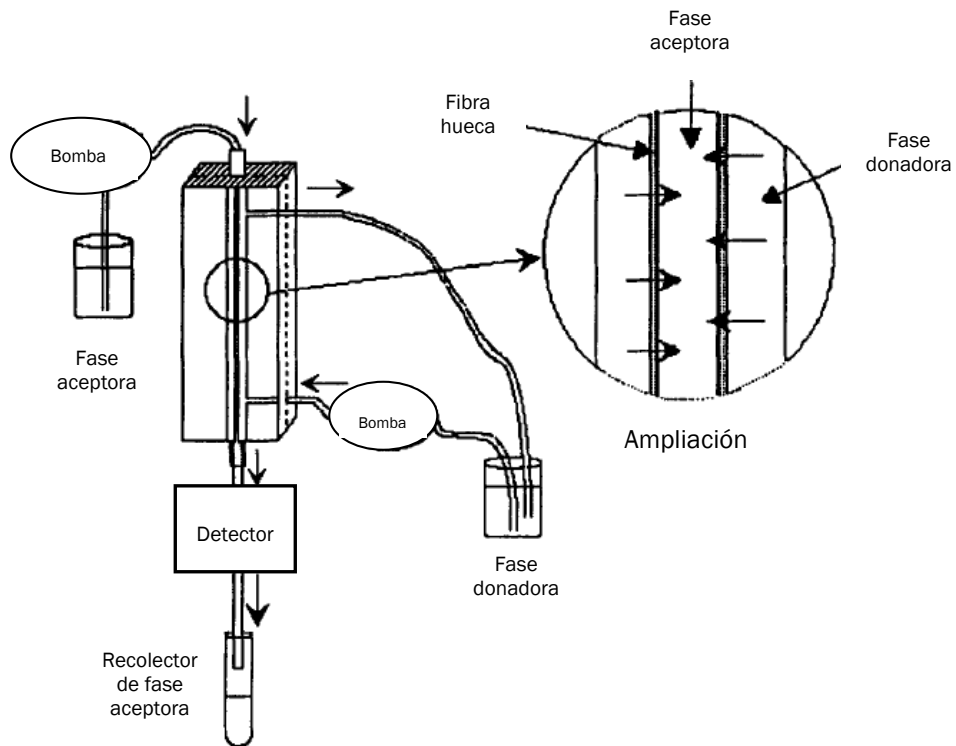
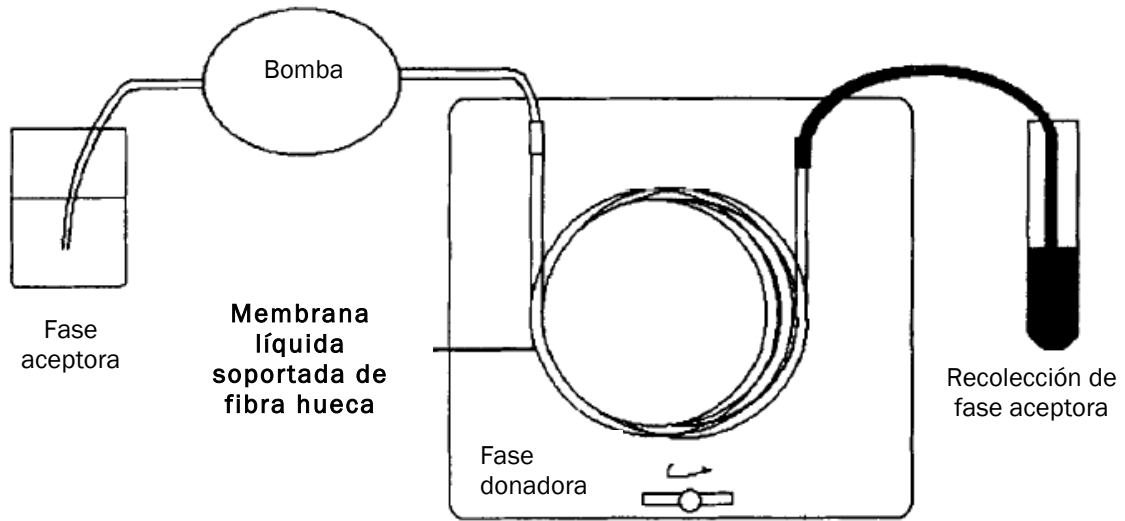


Figura 1.17. Representación dispositivos de MLS de Fibra Hueca^{11,15}.

1.5.2.2. Fase Orgánica.

1.5.2.2.1. Disolvente.

La principal función del disolvente es formar una barrera hidrofóbica entre las dos fases. El disolvente interfiere en la estabilidad de la membrana, la velocidad en la transferencia de masa y la eficiencia en la extracción. El coeficiente de difusión del analito en la membrana líquida, y a su vez, las tasas de transferencia de masa a través de ella, son inversamente proporcionales a la viscosidad del disolvente. Así que un solvente con baja viscosidad es preferible para obtener altos flujos. Sin embargo, cuando la membrana está en contacto con flujos turbulentos en la fase donadora puede deteriorarse formando una emulsión. Este efecto puede ser minimizado usando un disolvente de alta viscosidad que posea baja tensión superficial con el agua. Los disolventes volátiles deben ser evitados. El disolvente debe ser poco soluble con el agua. Algunos de los disolventes más empleados se muestran en la tabla 1.3.

Tabla 1.3. Propiedades físico-químicas de los disolventes comúnmente usados en los dispositivos de MLS (T = 25 °C)¹¹.

Solvente	Tensión superficial $\gamma \times 10^3$ (Nm ⁻¹)	Viscosidad $\eta \times 10^3$ (Kgm ⁻¹ s ⁻¹)	Tensión interfacial solvente- agua $\gamma \times 10^3$ (Nm ⁻¹)	Densidad $\rho \times 10^3$ (Kgm ⁻¹ s ⁻¹)
n-Heptano	19.6	0.382	50.8	0.689
iso-Heptano	-	0.43	32.7	0.705
Metil-ciclohexano	23.3	0.659	41.1	0.771
Tolueno	27.9	0.539	35.7	0.866
Keroseno	25.3	1.24	41.8	0.79
Nitrobenceno	43.2	1.87	25.7	1.2
n-Hexilbenceno	-	-	-	0.861
Cloro acetato de etilo	31.2	1.13	15.9	1.159
1-Octanol	27.1	7.47	8.4	0.827

1.5.2.2.2. Acarreador o Extractante.

Existe una gran variedad de acarreadores orgánicos para las MLS. Acarreadores neutros, de intercambio catiónico y de intercambio aniónico son comúnmente utilizados. Los acarreadores macro-cíclicos se caracterizan por la selectividad única a iones metálicos. En la tabla 1.4 se muestran algunos de los acarreadores empleados en sistemas MLS-FH analíticos (sistemas de preconcentración / especiación), así como las condiciones empleadas¹¹.

Tabla 1.4. Condiciones de diversos sistemas de MLS-FH reportados. Simbología: PP=polipropileno, D.E.=diámetro externo, D.I.=diámetro interno, T.P.=tamaño de poro, l=espesor, MES= ácido 4-morfolino etano sulfónico, TRIS=tris(hidroximetil) amino metano, Kelex 100=7-(4-etil-1-metil)-8-hidroxiquinolina, DEHPA=ácido bis(2-etil-hexil) fosfórico, CDTA=ácido trans-ciclohexano-diamino tetra-acético, PAR=4-(piridil-2-azo)-resorcinol.

Metal	F. donadora	Acarreador/Disolvente	Soporte de membrana	F.aceptora	Transporte
Cu Pb Cd ¹²	MES, pH=6 (LiOH)	éter 1,10didecil diaza 18-corona 6 + ácido laúrico/tolueno- hexilbenceno	Hollow Fiber Accuarel, PP q 3/2 , 21.4cm, D.E./D.I.=800/600µm, T.P.=0.2µm	CDTA, pH=6.4 NaOH	Contra cación, Na ⁺
Pb Zn ¹⁵	Fórmico/ formiato, pH=4	D2EHPA/Keroseno	Hollow Fiber Henka, PP, 12cm, D.E./D.I.=1/0.6mm, T.P. 0.2µm	HNO ₃ y HClO ₄ , 0.01M	Contra protón, H ⁺
Cu ¹⁶	Agua pura, pH=7 (NaOH)	éter 1,10didecil diaza 18-corona 6 + ácido oléico /di-hexil-éter	Hollow Fiber 280/50 Accuarel, PP, 15cm, D.E./D.I.=280/50 µm, T.P. 0.1 µm	PAR, pH=8.7 Acetato de amonio 0.1M	Contra cación, ácido oléico
Cd ¹⁷	MES, pH=6 (LiOH)	éter 1,10didecil diaza 18-corona 6 + ácido laúrico /tolueno- hexilbenceno	Hollow Fiber Accuarel, PP q 3/2 , 21.4cm, l=100µm, T.P.=0.2µm	CDTA, pH=6.4 NaOH	Contra cación, Na ⁺
Pb Cu Zn Mn Ni Cd ¹⁸	MES, TRIS, pH=6.5 (HNO ₃ , NaOH)	éter 1,10didecil diaza 18-corona 6 + D2EHPA /hexilbenceno	Hollow Fiber 50/280 Accuarel, PP, 25cm, l/D.I.=50/280 µm, T.P. 0.1 µm	Ác. cítrico, pH=3	Contra protón, H ⁺

1.5.3. Aplicaciones de las MLS-FH.

Las MLS-FH han sido aplicadas en varios campos, particularmente en la industria, clínica, farmacia y en el área ambiental. Han sido usadas, por ejemplo, en la oxigenación de sangre, separación de gases, recuperación y enriquecimientos de metales de muestras hidrometalurgias, extracción de metales nobles como el Au, remoción de metales tóxicos, contaminantes orgánicos, actínidos de aguas residuales, U de aguas subterráneas, extracción de productos farmacéuticos, separación de aminoácidos.

Por otra parte, las membranas líquidas soportadas tienen la virtud de preconcentrar a las especies tan pronto como el sistema es puesto en contacto con la solución de prueba gracias al transporte facilitado que ocurre en la membrana. Así, no se requiere de más energía que la que proporciona el co- o contra-transporte de otra especie. Estos montajes tienen el potencial de ser utilizados in situ y acoplarse a diversos dispositivos

de medición y, aunque aún se encuentran bajo desarrollo, muestran diversas ventajas: alta selectividad, mínima manipulación de muestra, fácil automatización, análisis en línea en tiempo real y capacidad de transporte de especies orgánicas e inorgánicas. Adicionalmente, con una adecuada selección de las condiciones químicas de la membrana, son capaces de discernir entre las formas libres o lipofílicas de los analitos lo que provee de información relevante para estudios de biodisponibilidad y toxicidad de químicos^{13,37,49,50}. A continuación se describe más a detalles estas dos últimas aplicaciones.

1.5.3.1. Preconcentración.

Los reportes concernientes al uso de MLS en el análisis de trazas de iones metálicos son escasos. En comparación con la aplicación en gran escala, el agotamiento del analito de la muestra no es requerido, sino que basta con un recobro reproducible y controlado de éste. Adicionalmente el acoplamiento de la MLS con el detector analítico crea diversas restricciones dependiendo de la naturaleza del detector y la compatibilidad de las soluciones del sistema de membrana con él. Pese a que estos problemas pueden resolverse, tal vez sea ésta la razón principal por la que las MLS estén aún en su etapa inicial de desarrollo pese al gran potencial analítico que representan.

Cox y colaboradores en 1986 fueron tal vez los primeros en reportar una MLS para la preconcentración de Cu(II) usando una oxima en keroseno³⁵. En sus resultados los autores encontraron factores de preconcentración, E, de 10 después de 60 minutos y hallaron que E era independiente de la concentración de Cu, resultado primordial para la aplicación de las MLS a muestras de concentración desconocida. Uto y colaboradores³⁶ en el mismo año reportaron la preconcentración de Cu(II), Cd(II) y UO_2^+ usando batocuproína, cloruro de trioctilamonio y tributilfosfato como acarreadores, respectivamente, y fueron los primeros en reportar el acoplamiento de la MLS a un detector voltamperométrico para el análisis de Cd. Ohki et al. reportaron el transporte "colina arriba" (en contra del gradiente de concentración) de Cu(II) acoplando una reacción de óxido-reducción al transporte³⁷. Papantoni et al. utilizaron un sistema de flujo con membrana para la preconcentración de Cu, Cd, Co, Ni y Zn para la medición de la concentración total de estos analitos en aguas naturales y muestras biológicas utilizando cloruro de trioctilamonio como acarreador. Los valores de F obtenidos fueron del orden de 500 después de 30 minutos. Adicionalmente dichos autores encontraron carencia de efectos memoria por la adsorción de ácidos húmicos y ausencia de bloqueo (fouling) de la membrana, requisito fundamental para la aplicación de MLS a muestras naturales³⁸. Djane y colaboradores reportaron la preconcentración de Pb(II) con D2EHPA, un extractante comercial, para el análisis total de este elemento en muestras de agua, sangre y orina, acoplando la MLS ya sea a AAS³⁹ o análisis potenciométrico²⁷. En general, la combinación de MLS con diversas técnicas instrumentales como el análisis de inyección en flujo o la espectrometría de absorción atómica³⁹, la electroforesis capilar⁴⁰, la espectrometría de absorción atómica con horno de grafito³⁹, el análisis potenciométrico²⁷ o la voltamperometría de redisolución anódica¹² ha permitido analizar diversos metales con valores de E en el rango de 50-5000 con tiempos de preconcentración entre 5 y 60 min, sugiriendo un límite de detección por

debajo de 10^{-10} mol L⁻¹. Sin embargo, en la mayoría de los sistemas mencionados la modificación química de la matriz original es necesaria como condición previa de aplicación del método (alteración del pH, adición de complejantes, etc.), lo que restringe su uso en situaciones donde la alteración de la matriz es improcedente, como lo es la especiación del sistema bajo condiciones naturales.

1.5.3.2. Especiación.

Los métodos tradicionales para realizar especiación de metales (electrodos selectivos de iones⁴¹, voltamperometría catódica o anódica^{42,43}, resinas de intercambio iónico⁴⁴, ATR-FTIR, XAFS⁴⁵) además de sus excelentes características de precisión y exactitud poseen desventajas inherentes relativas a interferencias químicas, complejidad del dispositivo, dificultad de aplicación in situ, o necesidad de alteración de la muestra. De ahí que nuevas tecnologías emergentes hayan surgido en tiempos recientes para solventar tales limitaciones. Entre ellas encontramos a los gradientes difusivos en películas delgadas, DGT (del inglés Diffusive Gradients in Thin Films)^{46,47}, membranas de Donnan^{48,49} y dispositivos de muestreo in situ tipo “gellyfish”⁵⁰. Dadas las características inherentes a las MLS, i.e., simplicidad, bajo costo, posibilidad de acoplamiento en línea, altos valores de E, estas membranas han recientemente incursionado en el campo de la especiación. Así, la problemática de improcedencia en la modificación de las condiciones químicas de la matriz para el análisis de especiación ha sido abordada por Buffle y colaboradores^{12,13,51}. Estos autores desarrollaron una MLS para especiación simultánea de trazas de Cu, Cd, Pb y Zn de aguas naturales bajo las mismas condiciones en que se encontraba la muestra y reportaron valores de E en el rango 100-3000 al utilizar un éter corona y un contra-anión lipofílico en la membrana. Tal sistema de MLS ha sido acoplado a detectores electroquímicos⁵² y de fluorescencia⁵³ exitosamente, lo que ha promovido su incorporación en dispositivos de microistemas integrados⁵⁴.

Un sistema químico de MLS similar al anterior ha sido reportado por Romero y Jönsson¹⁴ quienes empleando el modulo de membrana bajo condiciones de equilibrio, una técnica denominada ESTM (del inglés Equilibrium Sampling Through Membranes), hallaron una correlación excelente entre los resultados de especiación obtenidos usando la membrana y los resultados predichos mediante cálculos de especiación teóricos. Por otra parte, estudios de especiación de cromo en aguas superficiales utilizando dos unidades de MLS conectadas en serie con acarreadores selectivos para Cr(VI) y Cr(III) han sido reportados por Djane et al.³⁵. El método tiene la ventaja de evitar el uso de separaciones cromatográficas o intercambiadores iónicos y permite la determinación en línea directa de ambas especies y de sus complejos débilmente enlazados a partículas coloidales por GFAAS.

Esta posibilidad de realizar especiación de metales con MLS ha abierto el marco de aplicación de la técnica, haciendo factibles la comparaciones entre los resultados obtenidos entre esta nueva técnica y el análisis voltamperométrico tradicional para la especiación de Cu(II) en aguas de estuario⁵⁶ con resultados por demás prometedores.

1.6. Muestro pasivo²².

El muestreo pasivo se puede definir en su sentido muy amplio como cualquier técnica de muestreo basada en la libre circulación del analito del medio de muestra (fase donadora) a una fase aceptora en el dispositivo de muestreo, como resultado de una diferencia entre los potenciales químicos de los dos medios. El flujo neto de analito al otro medio continúa hasta que el equilibrio es establecido en el sistema o hasta que el periodo de muestreo se detiene. Dos principales regímenes de acumulación ya sea cinética o de equilibrio se pueden distinguir en el funcionamiento de un dispositivo de muestreo pasivo durante el monitoreo.

Los dispositivos empleados en el muestreo pasivo han demostrado en las pasadas dos décadas ser una herramienta útil (figura 1.8) ya que por lo general combina el muestreo, el asilamiento selectivo del analito, preconcentración y en algunos casos especiación. Los muestreadores pasivos eliminan la necesidad de un suministro de energía, evita problemas como la recolección del analito in situ y no afecta la solución de bulto o muestra por su miniaturización. La cantidad de contaminante acumulado en el dispositivo refleja la concentración con la que el dispositivo está en el equilibrio o el tiempo promedio de concentración a la que se expuso el dispositivo.

La cinética de intercambio entre un dispositivo de muestreo pasivo y la fase de agua puede ser descrita por el siguiente modelo matemático (ecuación 6):

$$C_s(t) = C_w(1 - e^{-K_1 t}) + C_s(0)e^{-K_2 t} \dots\dots\dots \text{Ecuación 6}$$

Donde $C_s(t)$ es la concentración del analito en la toma de muestras en el instante T del tiempo de exposición, C_w es la concentración del analito en el medio acuoso, y K_1 y K_2 son la constante de formación y disociación respectivamente.

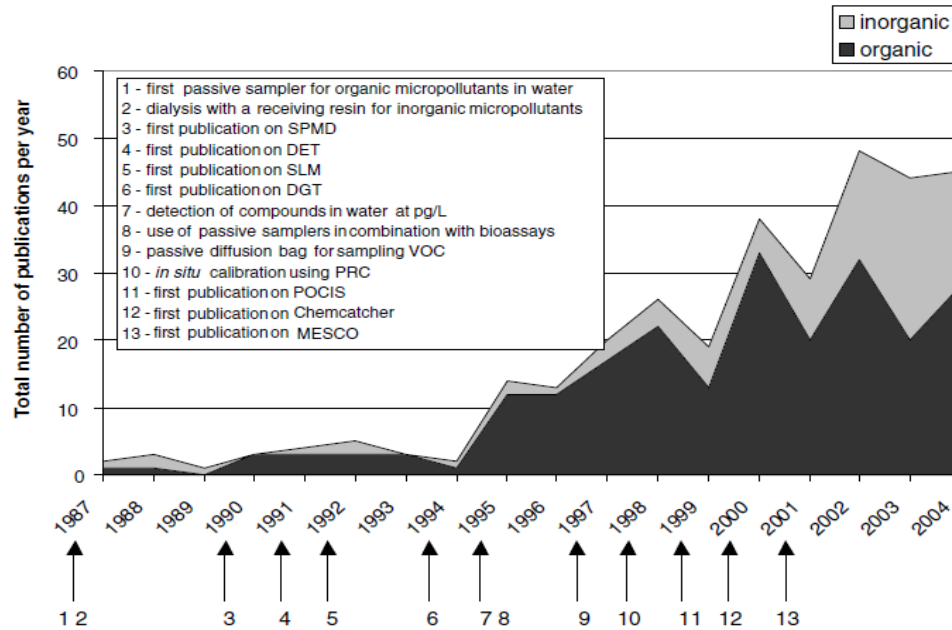


Figura 1.8. Número de publicaciones por año de muestreo pasivo.

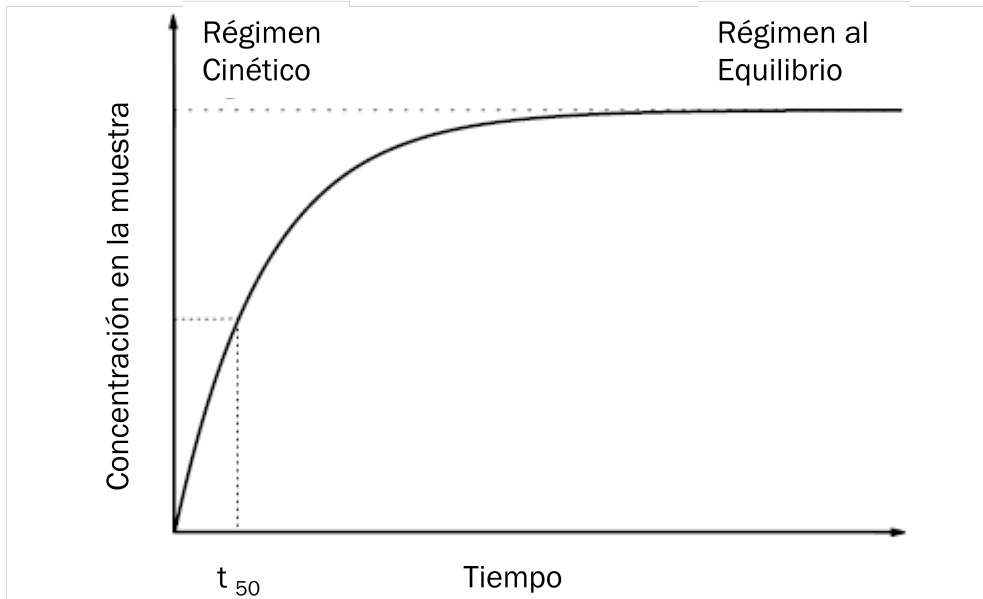


Figura 1.9. Tipos de regímenes.

1.6.1. Muestreo pasivo en régimen de equilibrio²².

En el muestreo al equilibrio el tiempo de exposición es lo suficientemente largo para permitir el establecimiento del equilibrio termodinámico entre el agua y la fase aceptora (figura 1.9). En esta situación la ecuación 6 se reduce a:

$$C_w = C_w \cdot 1 = C_w \dots\dots\dots \text{Ecuación 7}$$

El conocimiento del coeficiente de partición de eliminación de agua (K) permite la estimación de la concentración de analito disuelto. Para el muestreo pasivo al equilibrio las concentraciones estables se alcanzan después de un conocido tiempo de respuesta, la capacidad de toma de muestras se mantiene muy por debajo de la de la muestra para evitar el agotamiento durante la extracción y el tiempo de respuesta del dispositivo tiene que ser inferior a las fluctuaciones en el medio ambiente.

1.6.2. Muestreo pasivo en régimen cinético²².

En el régimen cinético la transferencia de masa es lineal, la concentración de analito varía en función del tiempo de muestreo (figura 1.9). En este régimen la ecuación 6 se reduce a:

$$C_w(t) = C_w \cdot 1 \dots\dots\dots \text{Ecuación 8}$$

La ecuación 8 se puede reorganizar a una relación equivalente:

$$t_w(t) = C_w \cdot t \dots\dots\dots \text{Ecuación 9}$$

Donde $M_s(t)$ es la masa de analito acumulado en la fase receptora después de un tiempo de exposición (t) y R_{st} la constante de proporcionalidad (velocidad de muestreo), R_s se puede interpretar como el volumen de agua limpia de analito por unidad de tiempo de exposición por el dispositivo. Cuando R_s es conocida, C_w puede calcularse a partir de la velocidad de muestreo (R_s), tiempo de exposición (t) y la cantidad del analito atrapado en la fase aceptora ($M_s(t)$). Para la mayoría de los dispositivos que operan en el modo de cinética, R_s no varía con la C_w , pero si es afectado por el flujo de agua o turbulencia, temperatura y contaminación biológica.

1.7. Agotamiento de la muestra²⁴.

Cuando se trabaja en el régimen de equilibrio es muy importante que el volumen de la muestra (fase donadora) sea suficientemente grande para evitar perturbar el equilibrio entre el analito libre y complejoado. Por lo general, un agotamiento de menos del 5% de la muestra es adoptado como un criterio de muestreo por agotamiento insignificante (del inglés Negligible Depletion)²⁵. Por lo tanto, considerando que el volumen de la fase donadora es infinita, la concentración del metal en la fase donadora es independiente de la concentración del metal en la fase aceptora, es decir, que la concentración del metal en la fase donadora es la misma en el t_0 , t_1 , t_2 , t . (como se muestra en la figura 1.20) sin importar el metal ya transportado a la fase aceptora.

Sin embargo, cuando este criterio no se mantiene, se habla entonces de un muestreo por agotamiento total (del inglés Total Depletion)¹¹, el cual significa que la concentración de metal en la fase donadora disminuye a medida que la concentración de metal en la fase aceptora aumenta en función del tiempo.

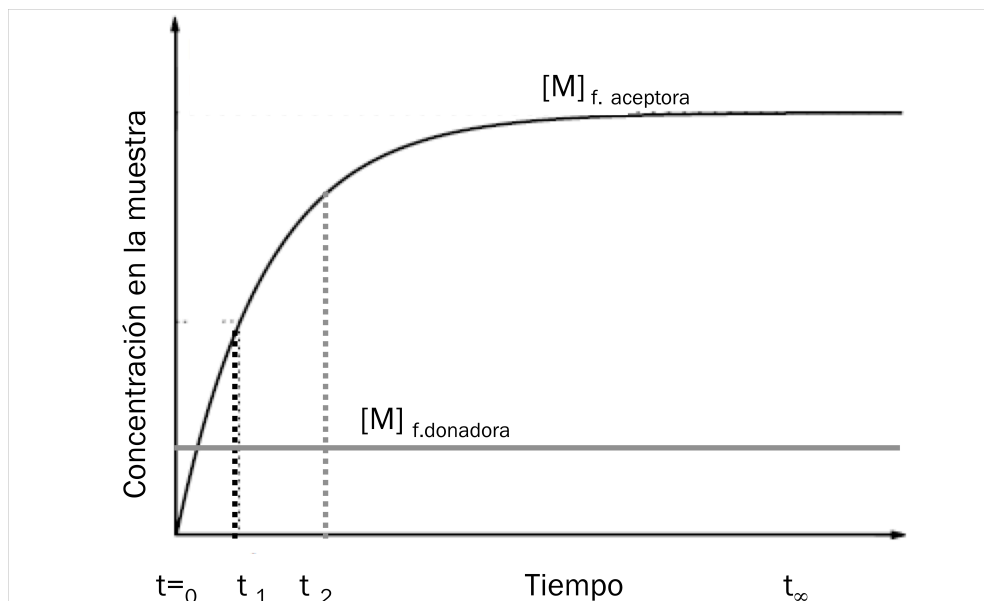


Figura 1.20. Comportamiento de agotamiento despreciable en una muestra¹¹.

1.8. Plomo.

1.8.1. Propiedades.

Elemento químico, Pb, número atómico 82 y peso atómico 207.19. El plomo es un metal pesado (densidad relativa o gravedad específica de 11.4 a 16°C (61°F)), de color azulado, que se empaña para adquirir un color gris mate. Es flexible, inelástico, se funde con facilidad, se funde a 327.4°C (621.3°F) y hierve a 1725°C (3164°F). Las valencias químicas normales son 2 y 4. Es relativamente resistente al ataque de los ácidos sulfúrico y clorhídrico. Pero se disuelve con lentitud en ácido nítrico. El plomo es anfótero, ya que forma sales de plomo de los ácidos, así como sales metálicas del ácido plúmbico. El plomo forma muchas sales, óxidos y compuestos organometálicos³⁰.

1.8.2. Plomo en el medio ambiente.

El plomo metálico, orgánico (acetato de plomo en catalizadores, tetraetilo de plomo en la extinta gasolina de plomo 97 y actualmente usado en la elaboración de perfumes) e inorgánico (antimoniato de plomo, tetraóxido de plomo empleado como pigmentos en pinturas, silicatos, carbonatos como estabilizadores de calor para plásticos y en la elaboración de vidrios y cerámicas) es liberado al ambiente de desechos peligrosos³⁰ y de operaciones de minería y fundición; su uso comercial ha permitido una amplia distribución del plomo en el ambiente y como consecuencia la exposición a la población humana. En Estados Unidos, medidas de control de la contaminación y prohibiciones en el uso de plomo en muchos productos comerciales han permitido una reducción significativa en lo que concierne a su exposición. Sin embargo, usos del pasado siguen siendo amenazas para la salud humana, como lo son la pintura con base de plomo en viviendas antiguas, suelos contaminados por el uso de gasolina con plomo, lixiviación de plomo en agua potable de las juntas soldadas con plomo en los sistemas de plomería y contaminación del suelo cerca de sitios de minería y fundición. En todo el mundo, el consumo de plomo es debido principalmente a la producción de baterías de plomo-ácido. El plomo también tiene la tasa de reciclaje más alta de cualquier metal (75%)³¹.

Las sales de plomo entran en el medio ambiente en forma de partículas. Las partículas de mayor tamaño son las que quedarán retenidas en el suelo y en las aguas superficiales, provocando su acumulación en organismos acuáticos y terrestres, y con la posibilidad de llegar hasta el hombre a través de la cadena alimenticia. Las pequeñas partículas quedan suspendidas en la atmósfera pudiendo llegar al suelo y al agua a través de la lluvia ácida.

El agua de mar contiene concentraciones traza de plomo de 2-30 pg/mL. Los ríos contienen una media de 3 a 30 ng/mL. El fitoplancton contiene aproximadamente 5-10 mg/g de plomo (en base seca), los peces de agua dulce aproximadamente 0.5-1000 ng/g, y las ostras 500 ng/g aproximadamente. La organización mundial de salud (OMS) estableció en 1995 como límite legal 50 ng/mL de plomo, este límite decreció hasta 10 ng/mL en el 2010³².

1.8.3. Plomo en el organismo; vías de absorción, distribución y eliminación.

El plomo es un metal muy importante desde el punto de vista de la salud pública. Es absorbido por inhalación, por ingestión y a través de la piel (figura 1.21)³³. La vía de ingreso, el tamaño de partícula y el tipo de compuesto de plomo (orgánico e inorgánico), determinan la concentración y la posibilidad de difusión del plomo hacia el organismo. Además de esto, la absorción del plomo depende de factores propios del organismo, tales como la edad, el estado fisiológico y la integridad de los tejidos. En el caso del plomo es de interés considerar las diferencias entre individuos o entre grupos en cuanto a factores nutricionales (calcio, hierro y proteínas), metabólicos, anatómicos, y actividad física, que puede inducir diferencias en la absorción.

En la **inhalación** del plomo ambiental, según un modelo sobre dinámica pulmonar, un 35% del total del plomo inhalado, sea éste inorgánico u orgánico, se deposita en las vías aéreas. Después de la deposición del plomo en la nasofaringe, la tráquea, los bronquios y los alvéolos, parte de las partículas inhaladas asciende por acción de los cilios, pasan al esófago y se absorben parcialmente en el tracto gastrointestinal. Las partículas restantes llegan hasta los alvéolos, son absorbidas y pasan a la sangre. El tránsito a través de las vías broncopulmonares depende del tamaño de las partículas y la solubilidad del compuesto inhalado. En cambio, la absorción del plomo depositado en las vías respiratorias terminales es rápida, extensiva y prácticamente total y es un proceso independiente de la forma química del compuesto de este metal. Las partículas que no son absorbidas, digeridas ni eliminadas en las secreciones, van a constituir depósitos de plomo en el árbol respiratorio, que es eliminado posteriormente por acción de cilios o macrófagos. Sólo entre un 35 a 50% del plomo que alcanza el tracto respiratorio inferior es absorbido y pasa al torrente sanguíneo. El hábito prolongado de fumar, facilita el paso del plomo hacia la sangre. Se estima que una concentración de 1 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de plomo en el aire inhalado determina una concentración de 1 a 2 $\mu\text{g}/100 \text{ mL}$ en la corriente sanguínea.

La **absorción gastrointestinal** es independiente de la forma química del compuesto de plomo. Sin embargo, los compuestos orgánicos son los que se absorben más extensivamente. Las rutas que sigue el plomo en el organismo son similares a los movimientos del calcio. La distribución y acumulación de plomo se conoce mediante datos de autopsia, se sabe que éste tiende a localizarse y acumularse en los huesos, lo cual refleja la exposición a largo plazo. El contenido de plomo en los huesos representa aproximadamente el 90% del contenido total corporal del metal, estimado entre 100 a 400 mg. Los tejidos blandos y la sangre (hígado, riñones y músculos estriados), que después de un tiempo establece un rápido equilibrio respecto al plomo, reflejan exposición reciente. El mecanismo tóxico del plomo está dado por tres modalidades: (a) compitiendo con los metales esenciales en sus sitios de inserción, especialmente calcio y el zinc, (b) su afinidad por los grupos sulfhidrilos (-SH) de las proteínas, alterando la forma y función de ellas, (c) alterando el transporte de iones esenciales.

La eliminación de plomo ingerido se hace principalmente por las heces, como reflejo de la pobre absorción intestinal. En cambio, la eliminación del plomo absorbido por el organismo se hace principalmente a través de la orina (75%), por las secreciones

gastrointestinales (16%) y por cabello, uñas u sudor (8%). El plomo es también excretado a través de la leche en una concentración similar a aquéllas del plasma; si bien los valores frecuentes encontrados no sobrepasan los 12 mg/L de leche, se han encontrado valores de hasta 115 mg/L de leche³³.

La **absorción cutánea** sólo tiene importancia ante el contacto con compuestos orgánicos de plomo.

Se estima que la absorción total diaria de plomo en la población no ocupacionalmente expuesta varía de 150 a 300 µg, siendo un bajo porcentaje de esto por aire inhalado y el restante por los alimentos³³.

1.8.4. Biodisponibilidad y Bioacumulación de plomo.

El plomo es más soluble en agua y es biodisponible a pH bajo, bajo contenido orgánico, y bajas concentraciones de calcio, hierro, manganeso, zinc y cadmio. El plomo es capaz de formar sulfuros insolubles de metal y puede fácilmente complejarse con ácidos húmicos. Las formas comunes de plomo disuelto son sulfato de plomo, el cloruro de plomo, hidróxido de plomo y carbonato de plomo, pero la distribución de éstas depende del pH del agua. La mayoría del plomo que entra en las aguas superficiales se precipita en el sedimento como carbonatos o hidróxidos.

La cantidad biodisponible de plomo en los sedimentos es controlada, en gran parte, por la concentración de ácido sulfuro volátiles (AVS) y materia orgánica. En los sedimentos, una parte del plomo se puede transformar en compuestos tri-metil plomo y tetra-alquil plomo a través de procesos químicos y microbianos. Los compuestos orgánicos de plomo son mucho más tóxicos para los organismos acuáticos que los compuestos de plomo inorgánicos.

El plomo se acumula por igual por los organismos acuáticos del agua a través de la exposición alimentaria³⁴. El plomo puede acumularse en altas concentraciones en una gran variedad de organismo como moluscos, crustáceos, peces, aves, mamíferos y plantas. De especial interés puede ser la acumulación de compuestos orgánicos de tipo alquílico en organismos acuáticos. La absorción y la acumulación del plomo en ciertos animales y plantas son de gran importancia por el peligro que la ingestión frecuente y prolongada de éstos por el hombre puede significar, ya que se han tenido evidencias de intoxicación por este mecanismo.

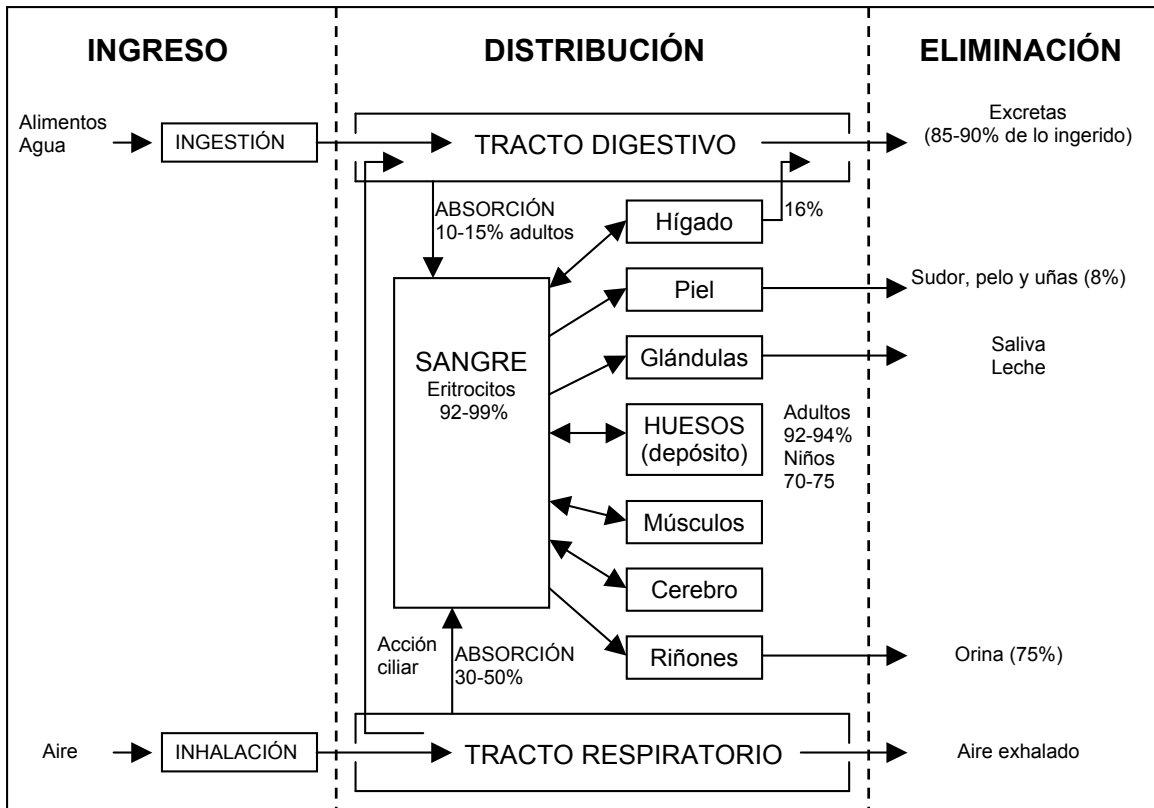


Figura 1.21 Vías de absorción, distribución y eliminación de plomo³³.

La bioacumulación de los compuestos orgánicos es rápida y alta; estos compuestos se concentran en las grasas los tejidos de los organismos acuáticos. Babukutty y Chacko y otros reportaron una fuerte correlación entre la concentración en el tejido blando de plomo en los gusanos y la fracción intercambiable de los sedimentos. En los vertebrados, el plomo es conocido por modificar la estructura y la función del riñón, hueso, sistema nervioso central y el sistema hematopoyético. Produce trastornos bioquímicos, histopatológicos, efectos neuro-psicológicos, teratogénicos y reproductivos. La inhibición de la enzima ácido delta-aminolevulínico-deshidratasa (ALAD), una enzima crítica en la formación del grupo hemo, se ha observado como un resultado de la exposición al plomo en una variedad de peces, invertebrados y aves. A concentraciones suficientemente altas, los efectos del plomo se manifiestan en los organismos acuáticos como una disminución del crecimiento, la fecundidad, y la supervivencia. Peter M. Kopittke et al., reportaron que plomo se acumulan en la pared celular y espacios intracelulares influyendo en el crecimiento de cowpea (*Vigna unguiculata*)⁵⁷. Por otra parte Vera I. Slaveykova et al., compararon el comportamiento en la biodisponibilidad de plomo entre un alga de agua dulce (*Chlorella kesslerii*) y una membrana líquida soportada, encontrando un comportamiento similar en la respuesta⁵⁸.

Capítulo II

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo General.

Utilizar membranas líquidas soportadas (MLS) como técnica de preconcentración y fraccionamiento auxiliar al análisis de especiación que permita hacer inferencias sobre la biodisponibilidad de Pb(II) y algunos metales concomitantes (Ni(II), Cu(II), Cd(II) y Zn(II)) en aguas utilizando dispositivos de muestreo pasivo basados en montaje de fibra hueca.

2.2. Objetivos Específicos.

Emplear el extractante comercial Kelex 100 como acarreador y un gradiente de protones como fuerza directriz en el sistema de membrana líquida soportada de fibra hueca.

Evaluar la dependencia del factor de enriquecimiento en función de varios parámetros: pH de la fase donadora, presencia de complejos lábiles y complejos inertes, influencia de la concentración de plomo, la temperatura y otros metales.

Determinar si el sistema trabaja bajo régimen de agotamiento total o agotamiento despreciable.

Establecer si las MLS permiten realizar análisis de especiación.

2.3. Hipótesis

Si las MLS simulan a las membranas biológicas, dado que los mecanismos de transporte externos son idénticos y existe alguna analogía en el transporte interno, los estudios con MLS pueden proporcionar información útil y favorable para el conocimiento de la captación biológica y el papel de la especiación química en la biodisponibilidad del Pb(II) y algunos cationes metálicos concomitantes en muestras acuosas de forma relativamente sencilla.

Capítulo III

PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reactivos y materiales.

Las fases donadoras de plomo y níquel fueron preparadas por dilución a partir de estándares para espectroscopia de absorción atómica (Fisher Scientific); nitrito de sodio, nitrato de potasio, carbonato de calcio, cianuro de potasio (todos Merck), sulfato de sodio (J.T.Baker) cloruro de sodio (Jalmek) y ácido húmico (Fluka) fueron usados para el estudio de influencias de aniones y materia orgánica. Como fase aceptora fueron empleados ácido fórmico (J.T. Baker) y ácido cítrico (Aldrich). Kelex 100 (7-(4-etil-1-metil-octil)-8-hidroxiquinoleína, Sherex)⁵⁹ fue empleado como acarreador disuelto en 1-hexil-benceno (Aldrich) como solvente orgánico. Ácido nítrico (J.T.Baker), hidróxido de sodio (Aldrich) y ácido 4-morfolina etensulfónico (MES, Sigma) fueron usados para ajustar el pH de la fase donadora y aceptora.

La membrana de fibra hueca de polipropileno 50/280 Accuarel (50 μm de espesor, 280 μm de diámetro interno y 0.1 μm de tamaño de poro) fue comprada (Membrane GmbH, Wuppertal, Alemania) y cortada manualmente para hacer el dispositivo. Una jeringa (BD Micro-Fine) fue empleada para llenar y purgar la fase aceptora de la fibra hueca.

3.2. Instrumentación.

Se usaron un Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Flama, Perkin Elmer 3100 (Waltham, MA, USA) y un Plasma Inductivamente Acoplado a Masas, Agilent 7500 (Santa Clara, CA, USA) para cuantificar las soluciones acuosas. Se utilizó un medidor de pH (pH211) para ajustar el pH de la fase donadora y aceptora. La purificación de agua se llevó a cabo en un purificador y desionizador Ultrapure Water System Bramsed Thermolyne 04747. Un agitador de plato orbital (IKA KS 260), un agitador Burrel 75 Wrist Action (agitador de muñeca), una placa de agitación Nuova II Thermolyne y barras magnéticas fueron usados en el estudio de efecto del modo de agitación. Para el análisis de datos se empleo el programa estadístico Statgraphics Plus 4.0 (Statcal Graphics, Rockville, MD).

3.3. Optimización del proceso de extracción.

Para el análisis de datos el factor de enriquecimiento E^M_e fue elegido como variable respuesta (ecuación 1), que se define como la concentración de metal en la fase aceptora entre la concentración de metal en la fase donadora:

$$E^M_e = \frac{C_{M_e}^{\text{aceptora}}}{C_{M_e}^{\text{donadora}}} \dots \text{Ecuación (1)}$$

3.4. Desarrollo del experimento.

El experimento desarrollado consta de tres etapas: preparación de la membrana, montaje del sistema y cuantificación, los cuales se describen en los siguientes apartados.

3.4.1. Preparación de la Membrana Líquida Soportada de Fibra Hueca (MLS-FH).

Tres modos de impregnación fueron examinados. El modo I y II se encuentran ya reportados^{18,60}. El modo III fue propuesto. La tabla 3.1 resume el procedimiento para cada uno de ellos.

Tabla 3.1. Procedimientos para la elaboración de las MLS-FH

Tipo I	Tipo II	Tipo III
1. Colocar la membrana de fibra hueca dentro de la fase orgánica durante dos minutos.	1. Colocar la membrana de fibra hueca dentro de la fase orgánica durante dos minutos.	1. Llenar el lumen de la membrana con la fase aceptora.
2. Llenar el lumen de la membrana con la fase aceptora.	2. Llenar el lumen de la membrana con la fase aceptora.	2. Cerrar la membrana por los extremos.
3. Enjuagar el exterior de la membrana con agua.	3. Cerrar la membrana por los extremos.	3. Colocar la membrana de fibra hueca dentro de la fase orgánica durante dos minutos.
4. Introducir más fase aceptora.	4. Colocar la membrana en la fase donadora.	4. Retirar la membrana de la fase orgánica y sacudir el exceso.
5. Cerrar la membrana por los extremos.		5. Colocar la membrana en la fase donadora.
6. Colocar la membrana en la fase donadora.		

3.4.2. Montaje del sistema.

Una vez elaborada la MLS-FH, ésta es introducida en 100 mL de fase donadora (a menos que se indique otro volumen) la cual se encuentra almacenada en un contenedor de vidrio cuadrado de 500 mL de capacidad. Posteriormente es puesta en agitación durante determinado tiempo (figura 3.1). Al término de éste, la membrana es retirada de la fase donadora. La fase aceptora es purgada con una jeringa y colocada dentro de un tubo de ensayo (promedio 6 µL). El tubo es pesado, diluido por peso (aforado alrededor de 1 o 2 mL), pesado nuevamente y almacenado para su posterior análisis.

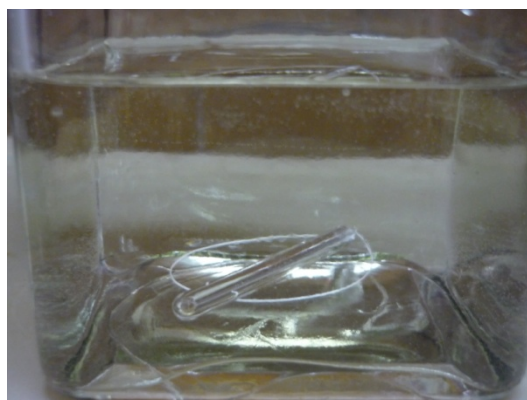
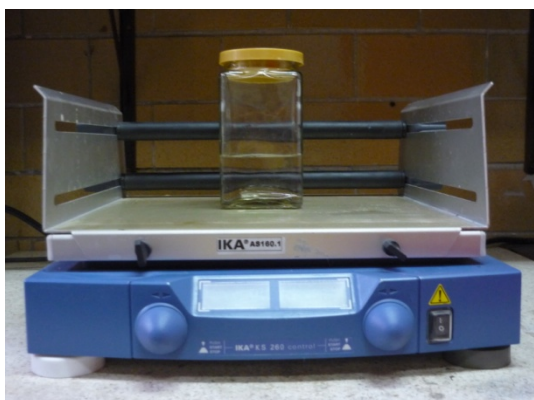


Figura 3.1. Montaje del experimento (izquierda) y MLS-FH dentro de la fase donadora (derecha).

3.4.3. Cuantificación del metal.

La cuantificación de los metales se llevó a cabo por EAA-F e ICP-MS conforme a las especificaciones del fabricante como se muestra en la tabla 3.2 y 3.3 respectivamente.

Tabla 3.2. Condiciones de trabajo para EAAF.

Metal	λ (nm)	Rendija (nm)	Flama
Pb(II)	283.3	0.7	Aire-acetileno
Ni(II)	352.5	0.2	Aire-acetileno
Cu (II)	216.5	0.2	Aire-acetileno
Cd (II)	228.8	0.7	Aire-acetileno
Zn (II)	213.9	0.7	Aire-acetileno

Tabla 3.3. Condiciones de trabajo para ICP-MS.

Condiciones del plasma			Lentes		Parámetros del Q-Pole		
RF potencia:	1500	W	Extracto 1:	186.7	V	Ganancia AMU:	125
RF Matching:	1.7	V	Extracto 2:	-159	V	AMU Offset:	126
Smpl Depth:	3.2	mm	Einzel 1,3:	-153	V	Ganancia del eje:	0.99992
Antorcha-H:	-0.07	mm	Einzel 2:	19	V	Eje de compensación:	0
Antorcha-V:	-0.7	mm	Omega:	-42	V	Voltaje QP:	1.5 V
Gas acarreador:	0.93	L/min	Omega (+):	6.8	V		
Gas de ajuste:	0	L/min	Omega (-):	4.6	V	Detector Parameters	
Gas opcional:		%	QP Foco:	7.9	V	Discriminador:	13.5 mV
Bomba peristáltica1:	0.1	rps	Placa de voltaje:	-37.1	V	Analógico HV:	1470 V
Bomba peristáltica2:		rps				Pulso HV:	970 V
S/C Temperatura:	2	degC					

3.5. Estudios preliminares.

En la primera etapa de proyecto se emplearon las condiciones que se muestran en la tabla 3.4, la cuales serán discutidas en la sección 4.1. Bajo estas condiciones se determinó lo siguiente:

- a) El tiempo en el que el sistema alcanza el equilibrio.
- b) Se estudio la reproducibilidad y repetibilidad del sistema empleando celdas únicas y celdas individuales. Se entenderá como celda única al hecho de colocar tres membranas en un solo contenedor de solución donadora, y como celdas individuales colocar una membrana en un contenedor de solución donadora.

Tabla 3.4. Condiciones preliminares para estudios de plomo.

Fase donadora	Membrana	Fase aceptora
$[M^{++}] = 10^{-6}$ mol/L	Kelex 0.03 mol/L/HB	[Ácido Fórmico] = 0.01 mol/L,
[MES] = 0.01 mol/L, pH = 7.0	15 cm FH	pH = 3.0

3.6. Optimización del sistema.

Para llevar a cabo la optimización del sistema se decidió utilizar un Diseño de Doehlert. A partir del programa Statgraphics los datos obtenidos del experimento de Doehlert fueron analizados mediante un diagrama de Pareto y un análisis de superficie de respuesta estimada, para conocer las variables que influyen en el sistema y determinar las condiciones optimas del mismo.

3.6.1. Diseño de Doehlert (DD)^{61,62}.

A partir del Diseño de Doehlert empleado se estudió el efecto simultáneo de tres diferentes factores: concentración de acarreador, pH de la fase donadora y fase aceptora. La concentración de Kelex 100 se varió de 0.012 mol/L a 0.047 mol/L (usando siete niveles), el pH de la solución aceptora se varió en el intervalo de 1.0 a 5.0 (usando 5 niveles) y el pH de la fase donadora se varió en el intervalo de 5.6 a 7.4 (usando tres niveles).

3.6.2. Factores mecánicos y geométricos.

A partir del mejor resultado de los 13 experimentos proporcionados por Doehlert se evaluaron factores mecánicos y geométricos de operación. El primero variando el tipo de agitación para comprobar que los sistemas estaban trabajando al equilibrio, empleando los siguientes mecanismos: 1) Barra magnética 2) Agitador de muñeca 3) Plato orbital. El segundo variando la forma del contenedor, para ello se empleó un contenedor de forma circular y uno de forma cuadra.

3.6.3. Longitud de la membrana.

Por otra parte, se evaluó el efecto de la longitud de la membrana (15, 25 y 100 cm) sobre el factor de enriquecimiento, para ello se emplearon las condiciones óptimas del sistema determinadas a partir del análisis de superficie de respuesta.

3.6.4. Influencia de otros compuestos en la fase donadora (muestra).

Se evaluó la permeabilidad de ión metálico en presencia de otros iones metálicos tales como Cu (II), Cd (II), Ni (II) y Zn (II) y aniones como NO₂⁻, SO₄⁻², Cl⁻, NO₃⁻, CO₃⁻², CN⁻. Además ácido húmico como materia orgánica.

3.7. Estudio de selectividad.

3.7.1. Diseño de Plackett-Burman (PB)^{61,63} y triadas.

Para evaluar la selectividad de la membrana se empleó un diseño factorial fraccional desarrollado por Robin Plackett y Peter Burman ortogonal a dos niveles, disponible para cualquier número de ensayos que fuera múltiplo de 4; existen diseños para n= 8, 12, 20, 24, 28, 36, etc. ensayos. Arreglos de este tipo se denominan matrices ortogonales y se representan por L_n. El diseño de PB empleado fue el de 8 ensayos (PB₈, tabla 3.6) llamado también matriz ortogonal L₈, empleado para el análisis de 7 factores. Por otra parte se empleó un estudio de selectividad por triadas, el cual consistió en poner en contacto al plomo y otros dos iones metálicos, es decir colocando tres iones en la solución.

Tabla 3.6 Diseño de Packett y Burman PB₈. Simbología: el signo + indica la presencia del metal en el ensayo (nivel alto), y el signo menos la ausencia del metal en el ensayo (nivel bajo).

Núm. de ensayos	Factores						
	Ninguno	Cu	Ni	Cd	Co	Zn	Cr
1	+	+	+	-	+	-	-
2	+	+	-	+	-	-	+
3	+	-	+	-	-	+	+
4	-	+	-	-	+	+	+
5	+	-	-	+	+	+	-
6	-	-	+	+	+	-	+
7	-	+	+	+	-	+	-
8	-	-	-	-	-	-	-

Capítulo IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Plomo.

4.1. Estudios preliminares.

Kelex 100 fue seleccionado como acarreador ya que es un extractante selectivo y posee la habilidad para intercambiar protones. También se encuentra reportado que plomo es extraído por Kelex 100 a partir de pHs mayores a 6⁵⁹. El acarreador fue disuelto en n-hexil-benceno por su estabilidad¹⁸. Por otra parte, considerando que el intervalo de pH de aguas conocidas como dulces es de 5.5 a 7.5, en una primera aproximación se decidió fijar el pH de la fase donadora en 7.0 y fue amortiguada con MES debido a que éste es un amortiguador biológico y se encuentra reportado que no establece interacciones con metales⁶⁴. Se empleó como fase aceptora ácido fórmico 0.01 mol/L (pKa=3.75) considerando que éste proporcionará el gradiente de protones para el sistema. Con estos dos parámetros establecidos se realizó un barrido de la concentración de Kelex en la membrana en un intervalo de 0.015 mol/L a 0.2 mol/L. Se encontró que el acarreador es útil en el intervalo de 0.03 mol/L a 0.045 mol/L, porque a valores por arriba o por debajo de este intervalo los valores del factor de enriquecimiento son pequeños y la cinética es irregular. Con base a este resultado se decidió trabajar con la concentración de 0.03 mol/L de Kelex 100 en lo sucesivo. En la tabla 4.1 se resumen las condiciones preliminares de trabajo para el sistema de plomo.

Tabla 4.1. Condiciones preliminares para la preconcentración de plomo.

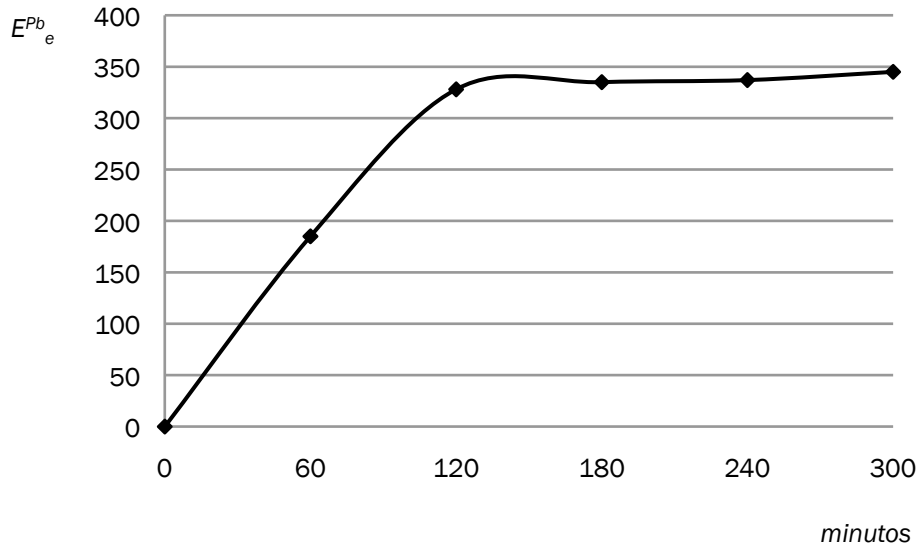
Fase donadora	Membrana	Fase aceptora
[Pb ⁺⁺]=10 ⁻⁶ mol/L [MES]=0.01mol/L, pH=7.0	Kelex 0.03mol/L/HB 15 cm FH	[Ac.Fórmico]=0.01mol/L, pH=3.0

4.2. Tiempo de equilibrio.

Una vez establecidas las condiciones preliminares (tabla 4.1) el primer parámetro evaluado fue el tiempo en el que el sistema alcanza el equilibrio. Se observó que éste se alcanzó a los 120 minutos (gráfica 4.1); bajo estas condiciones se obtuvo un factor de enriquecimiento de $E^{Pb_e} = 381 \pm 48$ (n=12). Por lo tanto se decidió llevar a cabo los demás experimentos en un tiempo de 120 minutos.

4.3. Estudio de reproducibilidad y repetibilidad.

Respecto a los estudios de reproducibilidad y repetibilidad del sistema empleando celdas únicas y celdas individuales, se observó que los valores de E^{Pb_e} para cada uno de los casos fueron 388 ± 33 y 394 ± 40 respectivamente. Por lo que se decidió montar el experimento en celdas únicas es decir tres membranas en un solo contenedor ya que el valor del factor de enriquecimiento no es modificado.



Gráfica 4.1. Tiempo de equilibrio de plomo obtenido bajo condiciones preliminares (tabla 4.1). Fase donadora $[Pb(II)]=1 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 7 con NaOH, Vol. 100 mL; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 3 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno.

4.4. Optimización del sistema.

4.4.1. Diseño de Doehlert (DD).

En la tabla 4.2 se muestran los 13 experimentos propuestos por el programa Statgraphics Plus 4 para estudiar el efecto simultáneo de tres diferentes factores (pH de la fase donadora, concentración de acarreador y pH de la fase aceptora), los cuales se identifican con las letras A-M. La relación entre el valor codificado y el valor real (tabla 4.2) es dado por la siguiente ecuación (ecuación 1).

$$C_i = [(X_i - X_i^0) / \Delta X_i] \theta \dots\dots\dots \text{Ecuación 1}$$

donde C_i es el valor codificado para el factor i , X_i es el valor real en un experimento, X_i^0 es el valor real al centro del experimento, ΔX_i es el intervalo de la variación del valor real, θ es el límite del valor codificado para cada valor.

Con base a los experimentos de la tabla 4.2 se obtuvieron los valores de la tabla 4.3. El mayor factor de enriquecimiento se obtuvo en el experimento L, logrando un aumento en el valor de E^{Pb_e} de 381 a 542. Posteriormente los resultados del experimento de Doehlert fueron procesados mediante un tratamiento matemático a través del programa Statgraphics y se obtuvo el gráfico de Pareto (gráfica 4.2). Como se observa en el gráfico la concentración del acarreador (B:Kelex) y las interacciones entre las variables (excepto AA) no influyen en la respuesta del dispositivo de membrana, mientras que el pH de la fase aceptora y el pH de la fase donadora está influyendo en la respuesta.

Tabla 4.2. Variables codificadas y descodificadas (en paréntesis) para el Diseño de Doehlert.

Exp	pH de la F.D.	[Kelex 100]=mol/L	pH de la F.A.
A	0.0 (6.6)	0.0 (0.03)	0.0 (3)
B	0.0 (6.6)	0.0 (0.03)	1.0 (5)
C	0.0 (6.6)	0.866 (0.047)	0.5 (4)
D	0.817 (7.4)	0.289 (0.035)	0.5 (4)
E	0.0 (6.6)	0.0 (0.03)	-1.0 (1)
F	0.0 (6.6)	-0.866 (0.012)	-0.5 (2)
G	-0.817 (5.7.)	-0.289 (0.024)	-0.5 (2)
H	0.0 (6.6)	-0.866 (0.047)	0.5 (4)
I	-0.817 (5.7.)	-0.289 (.024)	0.5 (4)
J	0.0 (6.6)	0.866 (0.047)	-0.5 (2)
K	-0.817 (5.7.)	0.0 (0.03)	0.0 (3)
L	0.817 (7.4)	0.289 (0.035)	-0.5 (2)
M	0.817 (7.4)	-0.577 (0.018)	0.0 (3)

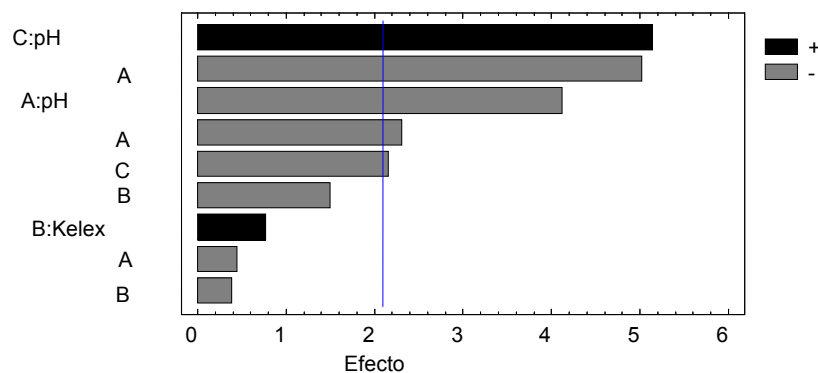
Tabla 4.3. Resultados del Diseño de Doehlert para plomo.

Exp	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
E ^{Pb_e}	388	27	103	160	106	338	66	71	46	432	137	542	433

La ecuación que describe la dependencia de los factores sobre la variable respuesta es:

$$E^{Pb_e} = 350.3 - 144.6pH_{aceptora} + 180.6pH_{donadora} - 303.9pH_{aceptora}^2 - 221.5pH_{aceptora}pH_{donadora} - 102.7pH_{donadora}^2$$

Gráfico de Pareto de



Gráfica 4.2. Gráfico de Pareto. Análisis de resultados de plomo, variables independientes e interacciones.

4.4.2. Factores mecánicos y geométricos.

A partir del experimento L del diseño de Doehlert se evaluaron factores mecánicos, geométricos y la longitud de la membrana.

Se decidió someter el sistema en agitación mediante los siguientes factores mecánicos; 1) Barra magnética 2) Agitador de muñeca 3) Plato orbital. Los resultados obtenidos demostraron que el sistema de plomo se encuentra al equilibrio a los 120 minutos, ya que los tres mecanismos empleados dieron valores similares de E^{Pb_e} 567, 594 y 575 respectivamente. Por cuestiones prácticas, tales como preservar la estabilidad de la fase orgánica en el poro de la membrana, así como emular el movimiento del agua en la naturaleza se decidió emplear la agitación con plato orbital.

Respecto al factor geométrico se observó que en el contenedor cuadrado ($E^{Pb_e} = 623 \pm 83$, $n=11$) hubo un aumento de E respecto al contenedor circular ($E^{Pb_e} = 477 \pm 41$, $n=5$). Esto se le atribuye que debido a la forma cuadrada del contenedor permite un mayor contacto de la fase donadora con la membrana.

4.4.3. Análisis de superficie de respuesta estimada.

De los resultados obtenidos del diseño de Doehlert mediante el programa de Statgraphics se realizó un análisis de superficie de respuesta estimada (gráfica 4.3) y se obtuvieron las **condiciones óptimas** (ver tabla 4.4) mediante las cuales el dispositivo desarrollado funciona adecuadamente. Por lo tanto, todos los demás experimentos se realizaron bajo estas condiciones de trabajo a menos que se indique lo contrario.

Tabla 4.4. Condiciones óptimas para el sistema de plomo.
Variables codificadas y descodificadas (en paréntesis).

pH de la F.D.	[Kelex 100]=mol/L	pH de la F.A.
0.0 (6.6)	0.0 (0.03)	-0.4 (2.2)

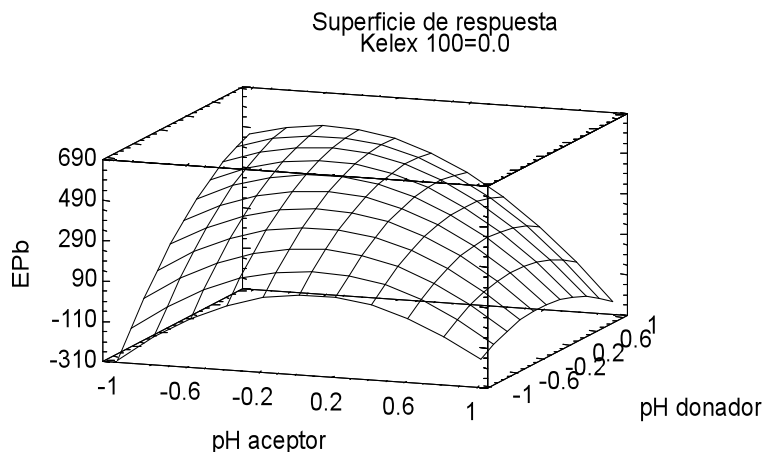
4.4.4. Longitud de la membrana.

A partir de las condiciones óptimas (tabla 4.4) se evaluó lo largo de la membrana de 15, 25 y 100 cm. Los valores obtenidos fueron: 577 ± 75 ($n=3$), 532 ± 49 ($n=3$) y 469 ± 45 ($n=3$), respectivamente. E^{Pb_e} es independiente de esta variable, porque aunque aumentó el área de la membrana, también aumenta el volumen. Por cuestiones de simplicidad y manipulación se decidió trabajar con la membrana de 15 cm.

4.5. Efecto de la fase aceptora.

En vista que en el diagrama de Pareto se observó que una variable que influye en la preconcentración de plomo es el pH de la fase aceptora y considerando que el mecanismo de transporte del sistema es de contra transporte, donde la fuerza directriz es el gradiente de protones y la formación de complejos de plomo con el ligando de la

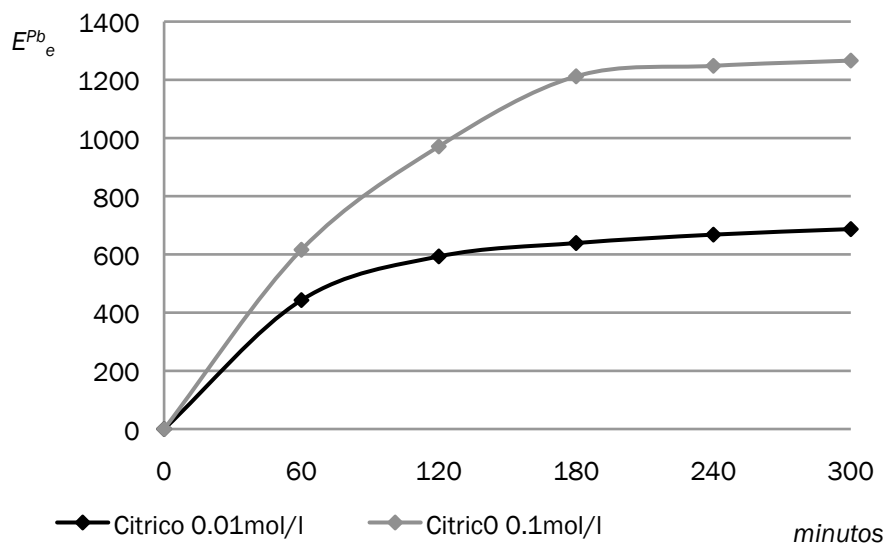
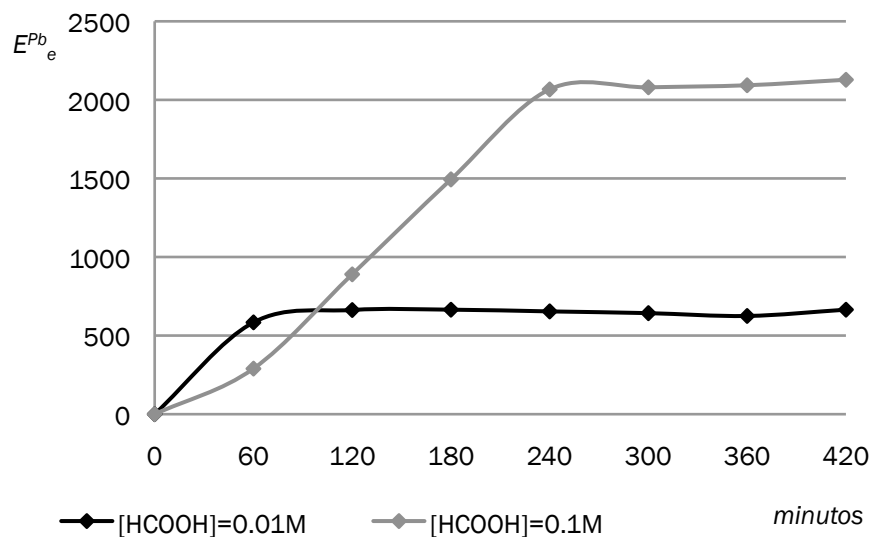
fase aceptora, se espera que manteniendo la concentración de protones y de ligante lo más alto posible la preconcentración del plomo aumentará. Por lo tanto, se decidió llevar a cabo el experimento consistente en cambiar la composición de la fase aceptora a ácido cítrico.



Gráfica 4.3. Diagrama de superficie de respuesta estimada. Análisis de resultados de E en función del pH fase aceptora “vs” pH fase donadora.

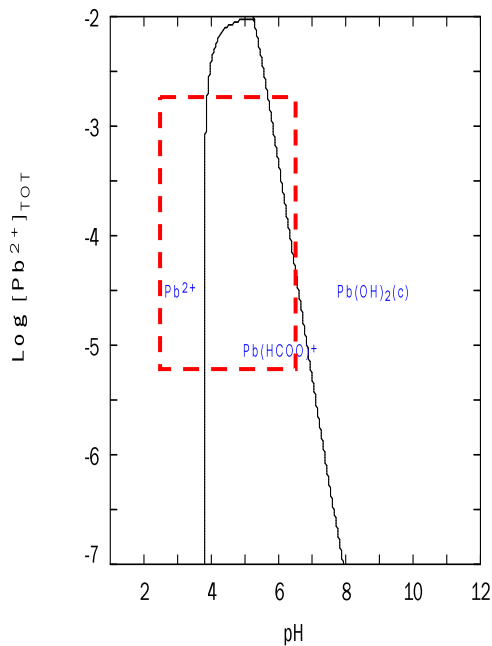
4.5.1. Cambio de la fase aceptora.

Como se observa en la gráfica 4.4 el aumento en la concentración de la fase aceptora favorece el factor de enriquecimiento del analito sin importar el ligante empleado (ácido fórmico o cítrico). Se observa que si se considera a ambos ligandos a una concentración 0.01 mol/L la respuesta es similar, sin embargo, a concentración 0.1 mol/L la respuesta de formiato es mejor que citrato, aunque se esperaba que con el citrato el factor de enriquecimiento aumentara debido a que éste forma más complejos que el formiato en el intervalo de trabajo empleado como se puede observar en la gráfica de predominios de especies [ver gráfica 4.5, el recuadro punteado en rojo representa en el eje de las “x” el intervalo de pH inicial (2.2) y el pH final (5.2) de la fase de recuperación, por otra parte, el eje de las “y” representa la concentración de metal inicial en la fase de alimentación (inferior) y la concentración de metal en la fase de recuperación al final del proceso (superior)]. Este estudio permite resaltar el importante papel que desempeña la fase aceptora en el sistema. La diferencia entre estos ligandos no se atribuye a cuestiones de equilibrio químico sino a efectos cinéticos (más adelante se retomará este punto). Por lo tanto, estos resultados indican que el ácido fórmico es una buena opción como fase aceptora.

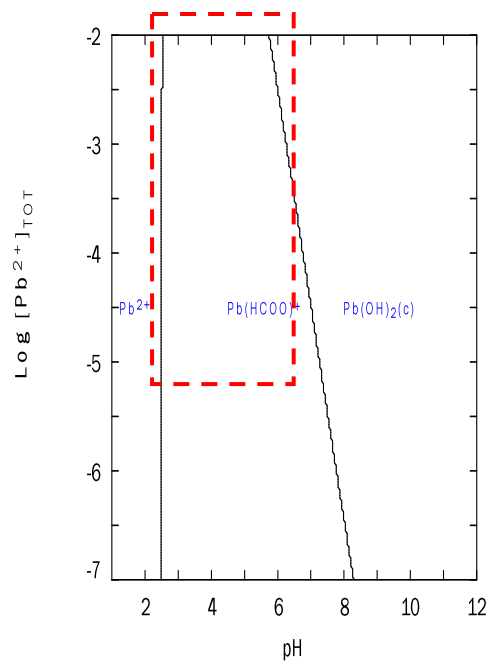


Gráfica 4.4. Cinética de equilibrio de plomo empleando ácido fórmico (arriba) y ácido cítrico (abajo) como fase aceptora. Condiciones: Fase donadora $[Pb(II)]=9.77 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH, Vol. 100 mL; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L y 0.1mol/L, $[Cítrico]=0.01$ mol/L y 0.1mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno.

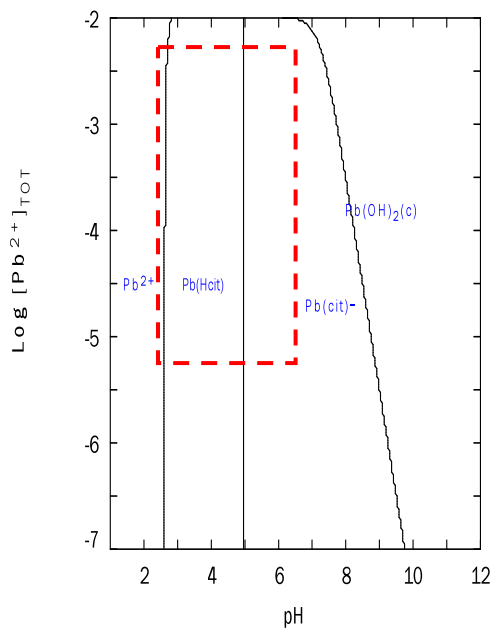
$[\text{HCOO}^-]_{\text{TOT}} = 10.00 \text{ mM}$



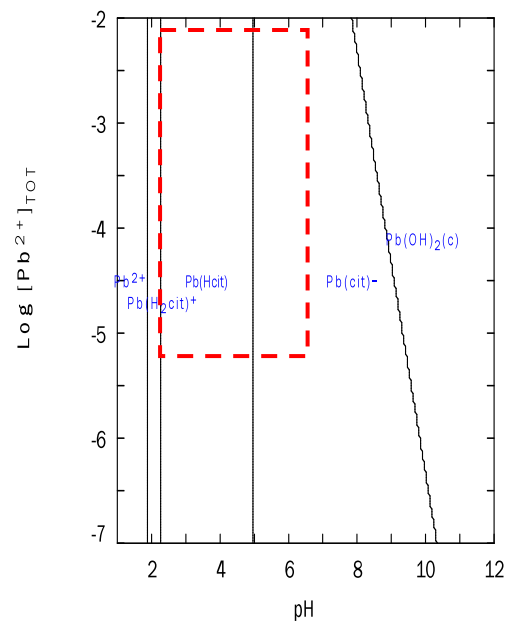
$[\text{HCOO}^-]_{\text{TOT}} = 100.00 \text{ mM}$



$[\text{cit}^{3-}]_{\text{TOT}} = 10.00 \text{ mM}$



$[\text{cit}^{3-}]_{\text{TOT}} = 100.00 \text{ mM}$



Grafica 4.5. Diagramas de Predominio de especies de plomo en la fase aceptora (A-D). Condiciones: Fase donadora $[\text{M}] = 9.77 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $[\text{MES}] = 0.01 \text{ mol/L}$, pH ajustado a 6.6 con NaOH, Vol. 100 mL; Fase aceptora $[\text{HCOOH}] = 0.01 \text{ mol/L}$ y 0.1 mol/L , $[\text{Cítrico}] = 0.01 \text{ mol/L}$ y 0.1 mol/L , pH ajustado a 2.2 con HNO_3 ; Membrana Kelex 100 0.03M disuelto en n-hexil-benceno.

4.5.2. Variación de la concentración de la fase aceptora.

Con base al resultado anterior se decidió variar la concentración del ácido fórmico. La tabla 4.5 muestra los resultados de variar la concentración de ácido fórmico de 0.01 a 1.5 mol/L. Se observa que por debajo de 0.1 mol/L el factor de enriquecimiento aumenta a medida que aumenta la concentración del ácido fórmico como se esperaba debido al aumento en la formación de complejos ($\log \beta_1 = 1.23$, $\log \beta_2 = 2.01$ y $\log \beta_3 = 1.8$). Sin embargo, después de 0.1 mol/L el factor de enriquecimiento disminuye continuamente. Este comportamiento se atribuye al hecho que el sistema a esas concentraciones aún no se encuentra en un régimen de equilibrio, es decir, que se requiere más tiempo de muestreo para llegar a este régimen. Este hecho se corroboró empleando una solución de ácido fórmico 1.0 mol/L y muestreándola al cabo de 420 minutos y se obtuvo un $E^{Pb_e} = 260$, el cual es mayor que el alcanzado a los 120 minutos para esta misma concentración ($E^{Pb_e} = 44$, tabla 4.5).

Tabla 4.5. Influencia de la concentración del ácido fórmico sobre E^{Pb_e} .

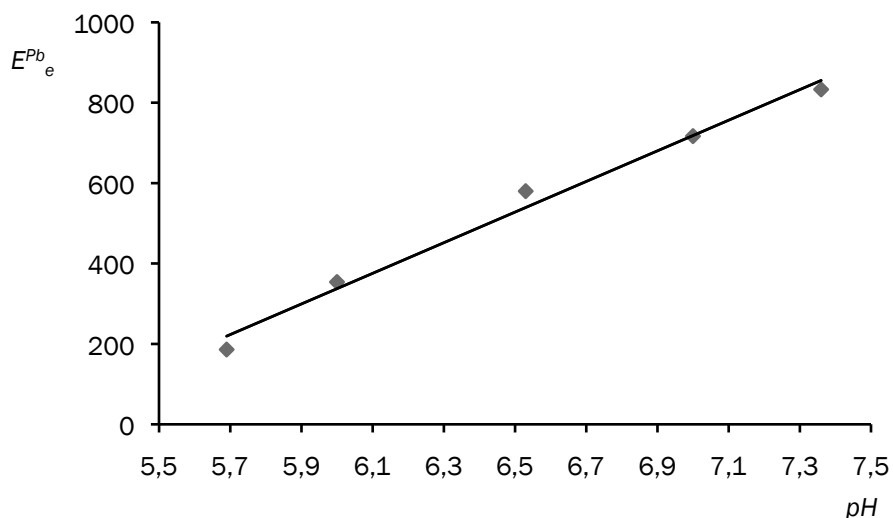
[HCOOH]=mol/L	$E^{Pb_e} (n=3)$
0.01	544 \pm 106
0.03	834 \pm 347
0.05	917 \pm 102
0.1	936 \pm 92
0.3	536 \pm 104
0.5	210 \pm 74
1.0	44 \pm 6
1.5	42 \pm 5

4.6. Influencia de diferentes parámetros en el desarrollo del dispositivo de Membrana Líquida Soportada de Fibra Hueca.

Los siguientes experimentos se llevaron a cabo considerando los posibles factores ambientales que puedan modificar la respuesta del dispositivo de muestreo, tales como: pH de la fase donadora, presencia de otros iones metálicos, presencia de complejos lábiles hidrofílicos o complejos inertes hidrofóbicos, influencia de la concentración de plomo e influencia de la temperatura.

4.6.1. Influencia del pH de la fase donadora.

Para evaluar este parámetro se varió el pH de la fase donadora en un intervalo de 5.7 a 7.4, bajo las siguientes condiciones experimentales; Fase donadora $[Pb(II)] = 3.4 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES] = 0.01$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH] = 0.01$ mol/L, pH ajustado a 3.0 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno. Con base a los resultados obtenidos se observó una dependencia lineal en el intervalo de pH estudiado (gráfica 4.6). Estos resultados permiten confirmar el resultado mostrado en el diagrama de Pareto (gráfica 4.2) obtenido a partir del experimento de Doehlert, donde el pH de la fase donadora es una de las variables que influyen en el factor de enriquecimiento.



Gráfica 4.6. Influencia del pH de la fase donadora sobre E^{Pb_e} .

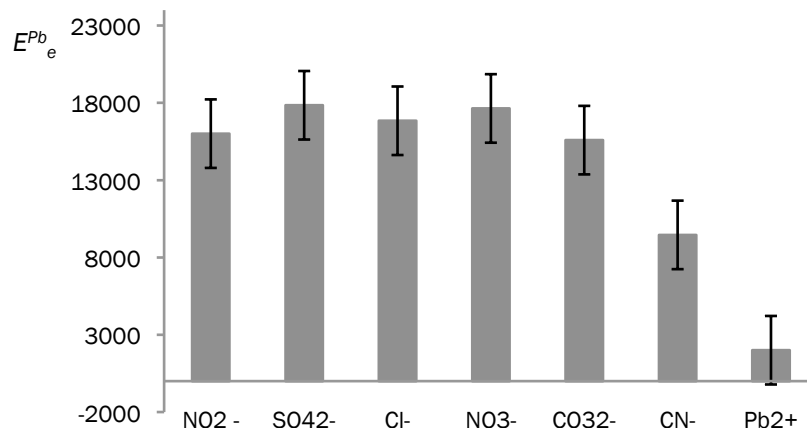
4.6.2. Influencia de la presencia de diferentes ligandos.

4.6.2.1. Complejos hidrofílicos lábiles.

Como se mencionó en el marco teórico el ion libre de plomo es la especie transportada por el acarreador a través de la membrana. Sin embargo, las especies lábiles tienen la habilidad de disociarse y recombinarse en solución, haciendo posible que durante su transporte puedan disociarse en la interface de la fase donadora-membrana y contribuir al flujo total de plomo. Por lo anterior, se decidió agregar diferentes aniones inorgánicos, los cuales pueden estar presentes en el agua (NO_2^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} y CN^-) y son capaces de formar complejos lábiles con el plomo y evaluar su contribución en la permeabilidad de la membrana. Para este estudio se agregaron 50 mg/L a la fase donadora de cada uno de estos iones (excepto CN^- 5 mg/L), estos valores se decidieron con base a los valores referidos en la Norma Oficial Mexicana⁷⁸, Organización Mundial de la Salud (OMS)⁷⁹ y la Unión Europea (UE)⁸⁰.

Como se observa en la gráfica 4.7 hubo un aumento considerable en el factor de enriquecimiento en comparación cuando el sistema no contiene aniones. El alto valor de E^{Pb_e} alcanzado para cada anión se atribuye a la rápida velocidad de intercambio de las moléculas de agua de la especie $Pb-H_2O$ ($K_{H_2O}=7 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$)⁶⁸ y la formación de los complejos lábiles formados con los aniones presentes en solución. Por otra parte, bajo estas condiciones de trabajo el máximo factor de enriquecimiento teórico es de aproximadamente 17,000. Con base a estos resultados se puede decir que en presencia de estos aniones casi todo el plomo es preconcentrado en la membrana, lo que indica que el sistema está trabajando en régimen de agotamiento total.

El efecto catalítico observado ha sido reportado previamente en sistemas de extracción líquido-líquido bajo el nombre “catálisis por el ligante”, y es caracterizado por una aceleración en la velocidad de formación del complejo con el ligante principal por la presencia de un ligante adicional que forma un complejo de menor estabilidad con respecto al ligante principal⁷⁶.



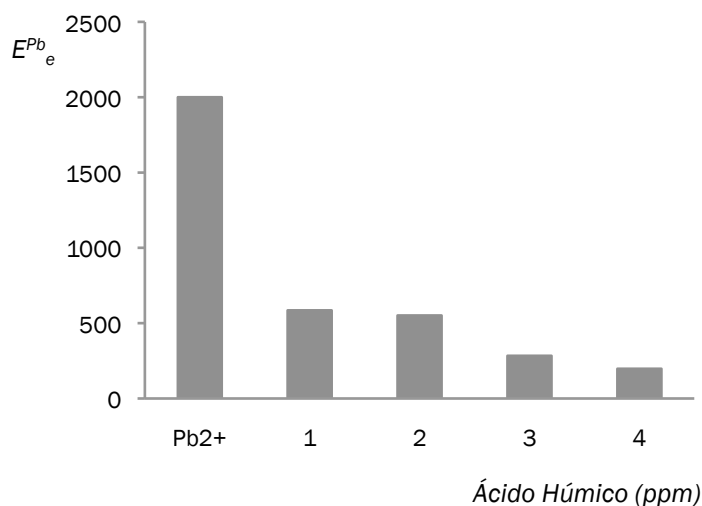
Gráfica 4.7. Influencia de aniones inorgánicos sobre E^{Pb_e} . Fase donadora $[Pb(II)]=3.1 \times 10^{-7}$ mol/L, $[anión]=50$ mg/L (excepto $[CN^-]=5$ mg/L), $[MES]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.1$ mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.03 mol/L disuelto en n-hexilbenceno; tiempo de muestreo 300 minutos.

4.6.2.2. Complejos hidrofóbicos inertes.

La bibliografía reporta que la Materia Orgánica Disuelta (MOD) en el agua forma fuertes complejos con los metales disminuyendo por tanto su biodisponibilidad. El Carbono Orgánico Disuelto (COD) se encuentra alrededor de 2 a 15 mg en agua potable y de 1 a 20mg/L en aguas naturales^{19,74}. Para llevar a cabo este estudio se empleó como representante de MOD ácido húmico (AH) a diferentes concentraciones. Como se observa en la gráfica 4.8 efectivamente a medida que el contenido de ácido húmico aumenta el E^{Pb_e} disminuye, indicando este hecho la formación de complejos estables debido a la presencia de este ligante que no pueden permear a través de la membrana.

4.6.3. Influencia de la concentración de plomo.

Se evaluó la influencia de la concentración de plomo sobre E^{Pb_e} , los resultados obtenidos muestran un aumento de E^{Pb_e} a medida que la concentración de plomo disminuye (tabla 4.6). Con base a la ecuación (I) del capítulo III se observa que la $C^{M_{Fase\ donadora}}$ es inversamente proporcional a E^{M_e} , por lo tanto, los valores de E^{Pb_e} son los esperados. Además, este efecto ya ha sido observado por otros autores⁶⁸.



Gráfica 4.8. Influencia de ácido húmico sobre E^{Pb_e} . Fase donadora [Pb(II)]= 1.2×10^{-6} mol/L, [MES]=0.1 mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora [HCOOH]=0.1 mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO₃; Membrana Kelex 0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno; tiempo de muestreo 300 minutos.

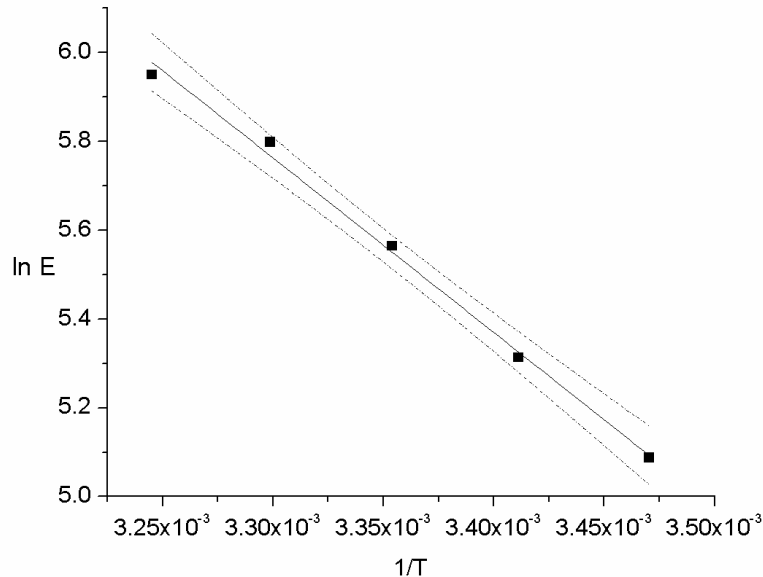
Tabla 4.6. Influencia de la concentración de plomo sobre E^{Pb_e} . Fase donadora [MES]=0.01 mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora [HCOOH]=0.01 mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO₃; Membrana Kelex 0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno; tiempo de muestreo 120 minutos.

[Pb(II)]=mol/L	E^{Pb_e} (n=3)
7.4×10^{-6}	580 ± 78
7.2×10^{-7}	1490 ± 211
4.6×10^{-8}	3350 ± 487
1.9×10^{-9}	12340 ± 998
1.0×10^{-10}	16680 ± 1115

4.6.4. Influencia de la temperatura.

Se evaluó el efecto de la temperatura en la fase donadora en un rango de 15 a 35°C (gráfica 4.9). Se observó un incremento lineal en el factor de enriquecimiento a medida que la temperatura aumentó. Esto se le atribuye al aumento en la movilidad de la especie migrante o bien un aumento en la velocidad de la reacción química. La ecuación 2 describe dicha dependencia ($r^2=0.994$):

$$E^{Pb_e}(K) = -3136.9 + 11.4T \dots\dots\dots \text{Ecuación 2}$$



Gráfica 4.9. Gráfico de Arrhenius mediante el cual se evaluó la energía de activación (E_a) del sistema.

A partir de la ecuación de Arrhenius es posible obtener el valor de la energía de activación (E_a , que se define como la mínima cantidad de energía que se requiere para iniciar una reacción química) a partir de la pendiente obtenida al graficar $\ln E$ vs $1/T$. Se sabe que valores de E_a menores a 20 KJ mol^{-1} indica que el proceso es físico, para valores de E_a mayores a 40 KJ mol^{-1} se atribuye a procesos químicos⁷⁷. El valor obtenido para este proceso fue de 32.7 KJ mol^{-1} . Con base a este valor es factible que el transporte se rija bajo los dos modelos por una parte sea por difusión y por otro cinético.

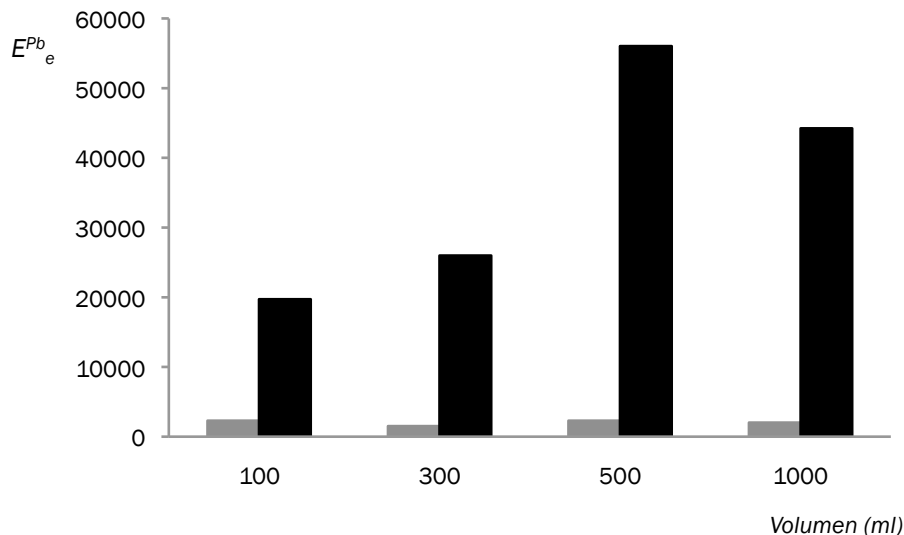
4.7. Agotamiento de la muestra y régimen de transporte.

Con objeto de evaluar la cantidad de plomo perdido en la fase donadora y así conocer si el sistema trabaja bajo agotamiento total o agotamiento despreciable, se varió el volumen de fase donadora. Como se observa en el gráfico 4.10 el factor de enriquecimiento no varió (barras color gris) en ausencia de complejantes inorgánicos. Hay una pérdida de analito del 60% cuando el volumen es de 100 mL, mientras que para un volumen de 1000 mL la pérdida del analito es del 6%.

Por otra parte, se llevó a cabo este mismo experimento pero en presencia de sulfato como ligante lábil (barras color negro). El factor de enriquecimiento aumentó (gráfica 4.10), confirmando nuevamente que la presencia de especies lábiles aumenta el factor de enriquecimiento (ver punto 4.5.2.1). La pérdida de analito es de 98% en 100 mL y del 22% en 1000 mL.

En ambos casos se puede observar que a medida que el volumen de fase donadora (muestra) es mayor, la pérdida de analito es menor, haciendo que el sistema pase de un agotamiento total a un agotamiento despreciable. Por lo tanto, se puede suponer que al

probar el dispositivo de MLS-FH en un cuerpo de agua (lago, rio, presa, etc.) el dispositivo trabajará bajo agotamiento despreciable, lo que significa que la muestra no será perturbada, es decir, que las especies presentes en la fase donadora son las especies que se miden con el dispositivo en el caso de estudios de especiación. En el caso de estudios de preconcentración indica que la concentración de analito presente en la fase aceptora se corresponde con la presente en la fase donadora.



Gráfica 4.10. Influencia de la variación de volumen sobre E^{Pb_e} . Fase donadora $[Pb(II)]=3.1 \times 10^{-7}$ mol/L, $[SO_4^{2-}]=50$ mg/L, $[MES]=0.1$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.1$ mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.03mol/L disuelto en n-hexil-benceno; tiempo de muestreo 300 minutos. (barras gris sin sulfato, barras negras con sulfato).

4.8. Estudio de análisis de especiación auxiliado por fraccionamiento.

A partir del dispositivo de MLS-FH de plomo desarrollado se clasificó la muestra por grupo de analitos (ión libre, especie lábil e inerte) con base a su reactividad, dicho fraccionamiento permitió llevar a cabo un análisis de especiación cualitativo ya que es posible discernir entre plomo libre, plomo unido a especies lábiles y plomo inerte, esto con base a los valores de E^{Pb_e} obtenido en cada uno de los casos ($E^{Pb_e}= 544, 16,000$ y <400 respectivamente).

4.9. Estudios de selectividad.

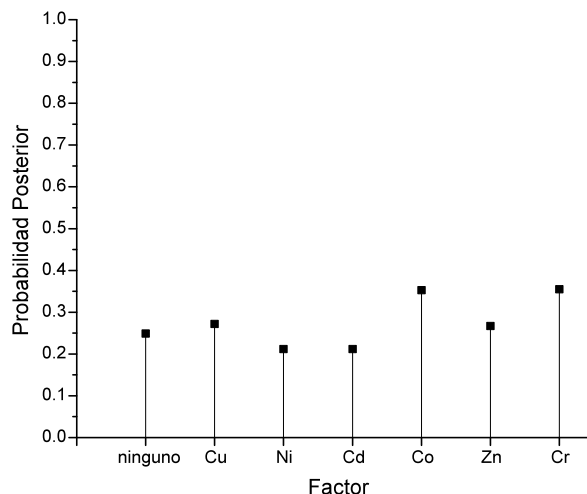
El dispositivo de MLS-FH desarrollado para plomo fue puesto a prueba con otros metales de forma individual, tales como: Cd, Ni, Cu, Zn, Co y Cr. En la tabla 4.7 se muestran los factores de enriquecimiento obtenidos para cada uno de los casos. Como se puede observar Cu y Zn también pueden ser preconcentrados por el dispositivo en las condiciones para plomo pero en una menor proporción.

Tabla 4.7. Factores de enriquecimiento para diferentes metales. Fase donadora $[M(II)]=1.0 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.03M disuelto en n-hexil-benceno; tiempo de muestreo 120 minutos.

Metal	E^{m_e}
Pb	622
Cd	3
Ni	0
Cr	0
Co	0
Cu	118
Zn	193

4.9.1. Diseño de Plackett-Burman (PB).

Los resultados obtenidos del experimento del diseño de Pb, fueron analizados a través del programa BsMD en lenguaje R basado en el código mdopt de Daniel Meyer, mediante un análisis Bayesiano. La gráfica de probabilidad (gráfica 4.11) muestra que ninguno de los factores tiene efecto significativo sobre E^{Pb_e} . Por otra parte, se realizó el cálculo de entropía (medida del grado de uniformidad de las probabilidades) y se obtuvo un valor de 1.73. Considerando que cuando no existe efecto, el valor de la entropía calculado es 1.79, se confirma que la presencia de estos metales no influye en la respuesta del dispositivo.



Gráfica 4.11 Gráfica de probabilidad posterior a partir de un análisis Bayesiano.

4.9.2. Estudio de selectividad por triadas.

Paralelo al estudio de Plackett-Burman se llevaron a cabo los estudios de selectividad por triadas: 1) Pb “vs” Ni-Cd y 2) Pb “vs” Cu-Zn. La tabla 4.8 muestra los resultados obtenidos. Como se puede observar el dispositivo sigue preconcentrando plomo en presencia de otros metales, obteniendo valores iguales que cuando éste se encuentra solo en solución. En la primera triada se confirma nuevamente que Cd y Ni, no se

preconcentran en las condiciones experimentales. Por otra parte, en la segunda triada se observa que Cu y Zn nuevamente se preconcentran. El hecho de que Pb mantenga los valores de E^{Pb_e} en presencia de los otros metales confirma nuevamente que la presencia de estos metales no presenta algún efecto en la respuesta del dispositivo.

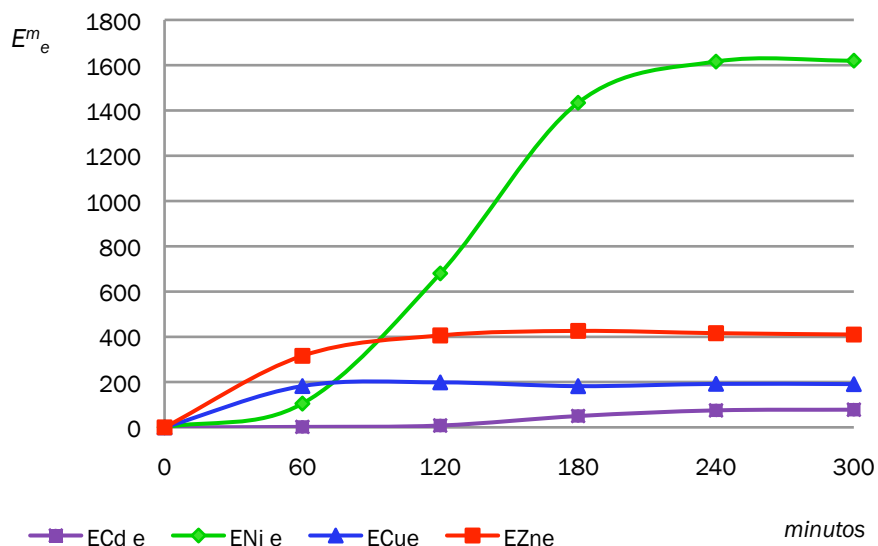
Tabla 4.8. Estudios de selectividad por triadas. Fase donadora $[M(II)]=1.0 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.03mol/L disuelto en n-hexil-benceno; tiempo de muestreo 120 minutos.

Triada	Metal	E^{m_e}
1	Pb	544
	Cd	5
	Ni	0
2	Pb	553
	Cu	68
	Zn	406

4.10. Otros metales.

Con base a los resultados anteriores, se decidió modificar las condiciones de la fase aceptora, para Cd, Ni, Cu y Zn con el objetivo de encontrar las condiciones en los que éstos pudieran ser preconcentrados. Las condiciones empleadas se muestran al pie del gráfico 4.12. En el caso del cadmio y níquel el pH de la fase aceptora se ajustó a pH 7, porque se encuentra reportado que el Kelex 100 extrae cadmio a partir de valores de pH 7⁵⁹, mientras que en el caso del níquel se encuentra reportada que su migración es mejor a pH mayores de 7.8 empleando como acarreador ácido bis(e-etil-hexil) fosfórico (D_2EHPA)⁶⁶. Por otra parte A. Aouarram et al., reportan que a pH mayores a 9 hay mayor permeabilidad de níquel empleando como acarreador 2-hidroxibenzaldehído- N-etiltiosemicarbazona (2-HBET)⁶⁷. En el caso del níquel no aumentamos más el pH de la fase aceptora ya que se pretende emplear estos dispositivos en aguas naturales cuyo intervalo de pH es de 5.5 a 7.5.

Como se puede observar en la gráfica 4.12 Cd, Cu y Zn alcanzan el equilibrio a los 120 minutos, mientras que Ni lo alcanza a los 240 minutos. Con el fin de llevar más a fondo el estudio de una posible preconcentración selectiva de otro metal en función de las condiciones del dispositivo (concentración de extractante y composición de la fase aceptora) se decidió realizar experimentos con el catión níquel. Esto porque se encuentra reportado que los cationes Pb y Ni representan a los dos extremos¹⁶ en términos de fuerza de enlace, de la capacidad de complejación de metales pesados con MOD y puede ser así interesante comparar el desempeño del dispositivo de FH-MLS para ambos iones.



Gráfica 4.12. Tiempo de equilibrio de Cd, Ni, Cu y Zn.

Tiempo de equilibrio para Cd. Fase donadora $[Cd]=9.16 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH 7 ajustado con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 4 con NaOH; Membrana [Kelex 100]=0.03 mol/L en n-hexil-benceno.

Tiempo de equilibrio para Ni. Fase donadora $[Ni]=6.61 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH 7 ajustado con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 1 con HNO_3 ; Membrana [Kelex 100]=0.03 mol/L en n-hexil-benceno.

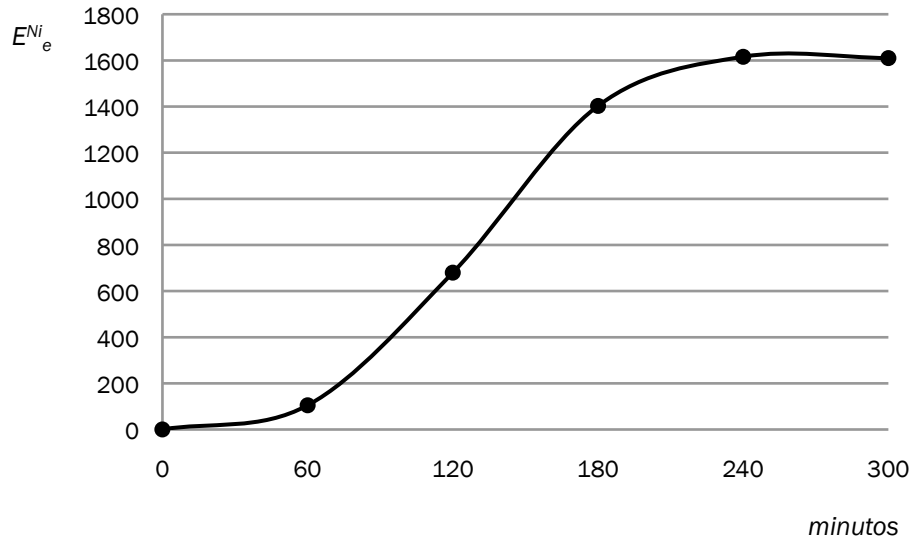
Tiempo de equilibrio para Cu: Fase donadora $[M]=9.77 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 2.2 con HNO_3 ; Membrana [kelex 100]=0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno.

Tiempo de equilibrio para Zn: Fase donadora $[M]=7.11 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 3 con HNO_3 ; Membrana [Kelex 100]=0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno.

Níquel.

4.10.1. Tiempo de equilibrio.

Como ya se mencionó el tiempo de equilibrio para níquel se alcanzó a los 240 minutos (gráfica 4.13). Así se decidió trabajar hasta los 300 minutos en los siguientes experimentos.



Gráfica 4.13. Tiempo de equilibrio para Ni. Fase donadora $[Ni] = 6.6 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES] = 0.01$ mol/L, pH 7 ajustado con NaOH, Vol. 100 mL; Fase aceptora $[HCOOH] = 0.01$ mol/L, pH ajustado a 1 con HNO_3 ; Membrana $[Kelex\ 100] = 0.03$ mol/L en n-hexil-benceno.

4.10.2. Optimización del sistema.

4.10.2.1. Diseño de Doehlert.

A partir del Diseño de Doehlert (ver punto 3.8.1 y tabla 4.2) se encontró que el mejor factor de preconcentración se obtiene bajo las condiciones del experimento F (tabla 4.9). Se observó en el gráfico de Pareto (gráfica 4.14) que el sistema para níquel está influenciado por el pH de la fase donadora y sus interacciones (BB y CC). Con base a los resultados obtenidos del diseño de Doehlert se decidió trabajar con las condiciones del experimento F en lo sucesivo (tabla 4.10).

La ecuación que describe la dependencia de los factores sobre la variable respuesta es:

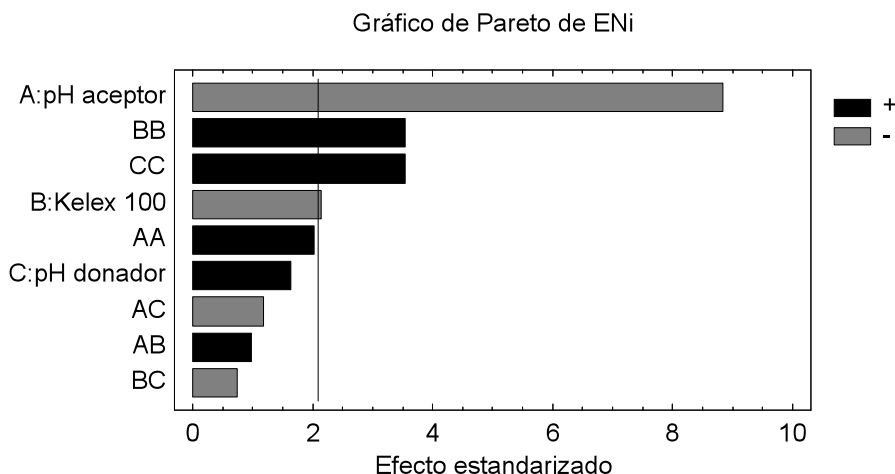
$$E_e^{Ni} = 138.86 - 246.563pH_{aceptora} + 164.43Kelex^2 + 141.306pH_{donador}^2$$

Tabla 4.9. Resultados del diseño de Doehlert para níquel.

Exp	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
E_e^{Ni}	80	53	53	74	351	521	358	152	89	441	270	446	373

Tabla 4.10. Condiciones óptimas para el sistema de níquel.
Variables codificadas y descodificadas (en paréntesis).

pH de la F.D.	[Kelex 100]=mol/L	pH de la F.A.
0.0 (6.6)	-0.866 (0.012)	-0.5 (2.0)



Gráfica 4.14. Gráfico de Pareto. Análisis de resultados de níquel, variables independientes e interacciones.

4.10.2.2. Factores mecánicos y geométricos.

A partir del experimento F del diseño de Doehlert se evaluaron factores mecánicos y geométricos. Se sometió el sistema de níquel a los tres factores mecánicos empleados para plomo; 1) Barra magnética 2) Agitador de muñeca 3) Plato orbital. Los resultados obtenidos demuestran que el sistema de níquel se encuentra al equilibrio a los 300 minutos, ya que los tres mecanismos empleados dieron valores similares de $E^{Ni_e} = 446 \pm 6$, 657 ± 6 y 543 ± 9 , respectivamente. Con base a estos resultados y por cuestiones prácticas se decidió emplear la agitación con plato orbital.

Respecto al factor geométricos se observó que en el contenedor cuadrado ($E=543 \pm 9$) hubo un aumento de E respecto al contenedor circular ($E=467 \pm 33$). Este experimento permite confirmar la teoría propuesta para plomo (ver sección 4.4.2).

4.10.3. Variación de la concentración en la fase donadora.

Se varió la concentración de níquel en la fase donadora en un intervalo de 8×10^{-5} a 2.5×10^{-7} mol/L. Como se observa en la tabla 4.10 a medida que disminuye la concentración de níquel aumenta el factor de enriquecimiento. Estos resultados coinciden con los obtenidos por el plomo y lo ya reportado en la literatura.

Tabla 4.11. Influencia de la concentración de níquel sobre E^{Ni_e} . Fase donadora [MES]=0.01 mol/L, pH 6.6 ajustado con NaOH, Vol. 100 mL; Fase aceptora [HCOOH]=0.01 mol/L, pH ajustado a 2.0 con HNO₃; Membrana Kelex 0.012 mol/L disuelto en n-hexil-benceno, tiempo de muestreo 300 minutos.

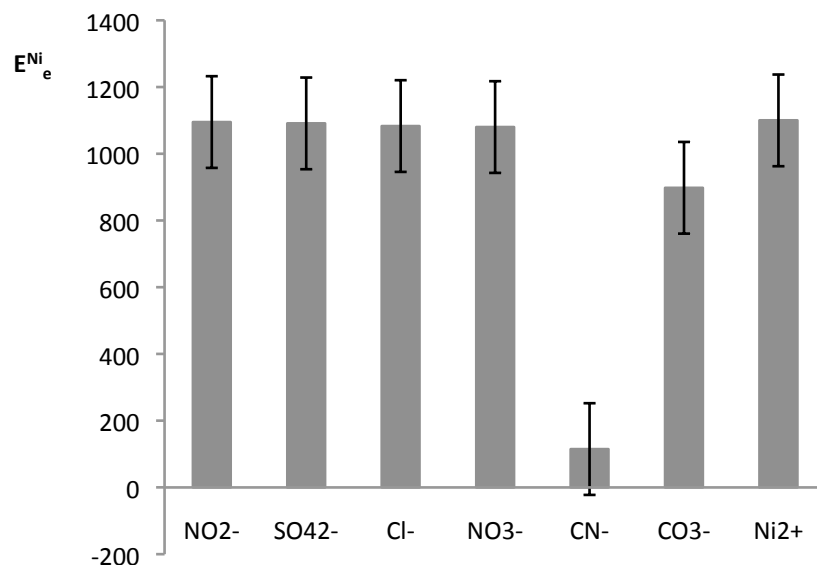
[Ni(II)]=mol/L	E^{Ni_e} (n=3)
8.0×10^{-5}	117 \pm 6
1.2×10^{-5}	404 \pm 68
5.5×10^{-6}	1295 \pm 57
2.5×10^{-6}	1584 \pm 221
6.6×10^{-7}	3532 \pm 198
2.5×10^{-7}	4241 \pm 488

4.10.4. Influencia de la presencia de diferentes ligandos.

4.10.4.1. Complejos hidrofílicos .

La gráfica 4.15 muestra la influencia de varios aniones inorgánicos sobre E^{Ni_e} . Se puede observar que el factor de enriquecimiento es del mismo orden en ausencia o presencia de ligandos (excepto CN⁻). Esto es indicativo de una cinética lenta de complejación del níquel con los ligandos, lo cual ha sido previamente observado¹⁸. Realizando un análisis similar a plomo en el caso del níquel la constante de velocidad de intercambio de las moléculas de agua Ni-H₂O ($K_{H_2O} = 3 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$)⁷ y la formación de los complejos lábiles con los aniones presentes en la solución es mucho menor a plomo, lo que explica la escasa variación en el factor de enriquecimiento. Por otra parte, la cantidad de analito perdido en la fase donadora es del 10 y 15% para NO₂⁻ y CO₃²⁻ respectivamente, para los demás aniones es menor al 5%. Por lo tanto, de manera general se puede decir que el sistema está trabajando bajo un régimen de agotamiento despreciable.

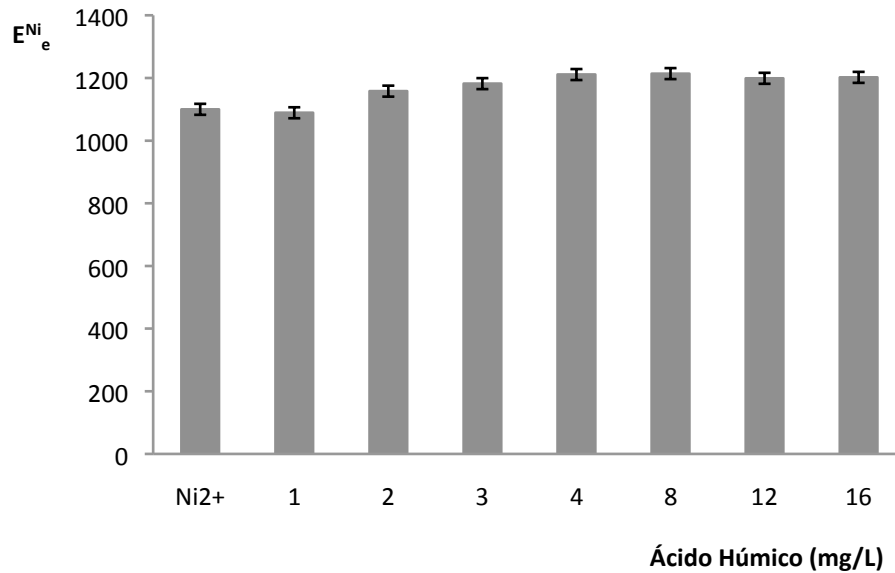
Por otra parte, teniendo en cuenta el mecanismo de Eigen, en el cual la formación de un complejo de esfera exterior es limitado por la velocidad de pérdida de agua del centro de la esfera de coordinación del metal⁶⁹, y el bajo valor de la constante de intercambio de agua-níquel ($K_{H_2O} = 3 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$)^{68,73} se espera una cinética lenta de complejación. Esto está de acuerdo con estudios que indican que la lenta cinética de formación de complejos puede influir en su especiación en los sistemas naturales⁷¹. La reducción en el valor de E^{Ni_e} es entonces explicado acorde con los valores de constantes de formación de los diferentes complejos () en donde se observa que cianuro forma un complejo inerte en el sistema. En cuanto éste, la formación del complejo níquel-cianuro se ha reportado que reduce considerablemente la toxicidad de los cianuros y níquel en altas concentraciones en pH alcalino, aunque en concentraciones más bajas y el pH ácido, soluciones de níquel-cianuro aumentó la toxicidad por más de 1000 veces, debido a la disociación del complejo metalocianuro para formar cianuro de hidrógeno⁷².



Gráfica 4.15. Influencia de aniones inorgánicos. Fase donadora [Ni]= 6.2×10^{-6} mol/L, [anión]=50mg/L (excepto [CN⁻]=5 mg/L), [MES]=0.01 mol/L, pH ajustado a 6.6 con NaOH, Vol. 250 mL; Fase aceptora [HCOOH]=0.01 mol/L, pH ajustado a 2 con HNO₃; Membrana Kelex 0.012mol/L disuelto en n-hexil-benceno; tiempo de muestreo 300minutos.

4.10.4.2. Complejos hidrofóbicos.

El análisis de los experimentos de la gráfica 4.16 muestra que el factor de preconcentración de níquel no se vio afectado a medida que el contenido de ácido húmico (AH) aumentó (en el intervalo de 1 a 16 mg/L). Aunque es conocido que en presencia de materia orgánica disminuye la biodisponibilidad de los metales en sistema acuáticos^{67,74,75}, en el caso del níquel se han reportado que para valores de 1 a 30 mg/L de Ni expuesto durante 48 horas la *H.azteca* no presentó ningún efecto⁷⁴. Por otra parte, también se tiene reportado que el grado disociación del complejo Ni-AH depende del pH, ya que existe diferentes AH con numerosos valores de pKa⁷⁵. Por lo que es factible que sean requeridas concentraciones mayores de ácido húmico para causar una reducción importante en el factor de preconcentración.



Gráfica 4.16. Influencia de ácido húmico. Fase donadora [Ni] = 6.2×10^{-6} mol/L, [MES] = 0.01 mol/L, pH 6.6 ajustado con NaOH, Vol. 250 mL; Fase aceptora [HCOOH] = 0.01 mol/L, pH ajustado a 2 con HNO₃; Membrana [Kelex 100] = 0.012 mol/L en n-hexil-benceno, tiempo de muestreo 300 minutos.

4.10.5. Influencia de la temperatura.

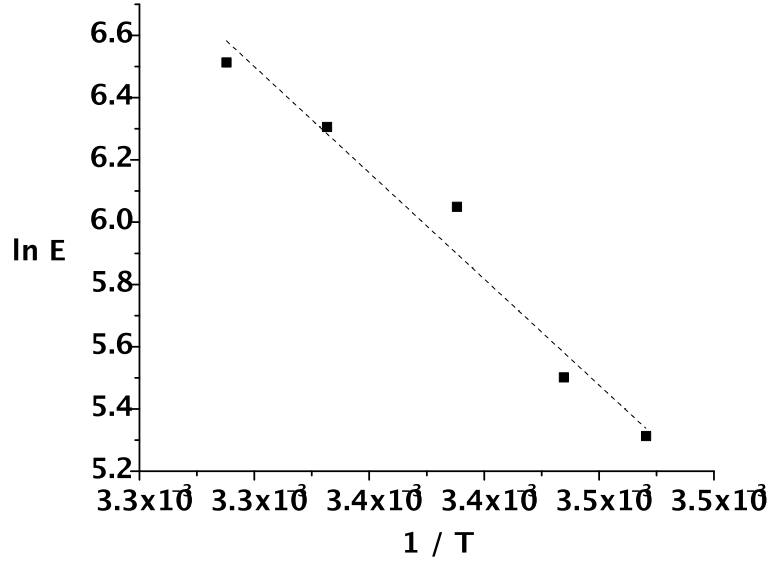
Como en el caso del plomo se observó (gráfica 4.17) el mismo efecto atribuido al aumento de temperatura y explicado con base en el aumento a la movilidad de la especie migrante o el aumento en la velocidad de la reacción química. La ecuación 3 describe dicha dependencia ($r^2=0.992$):

$$E^{Ni_e}(K) = -8617.3 + 30.5T \dots\dots\dots \text{Ecuación 3}$$

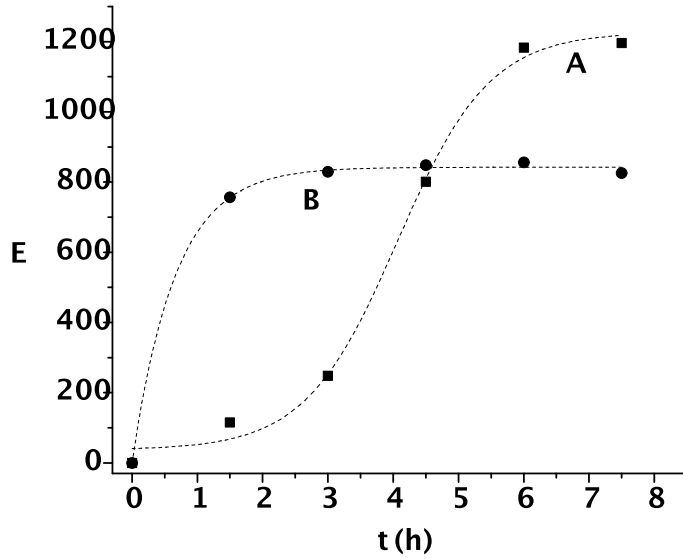
La energía de activación para níquel es de 54.4 kJ mol^{-1} , indicando que la permeación puede estar controlada por un régimen cinético, es decir que uno o más de los pasos químicos del mecanismo de reacción es determinante de la velocidad.

4.10.6. Influencia del pH de la fase aceptora y concentración.

Como ya se había indicado en el análisis de Pareto la fase aceptora influye en el factor de enriquecimiento. Teniendo en cuenta la estequiometría de intercambio entre el H⁺ y Ni(II), y la cantidad de protones en la fase aceptora, se esperarían valores de E^{Ni_e} mayores a los obtenidos. Considerando que el análisis de la E_a indica un régimen cinético, se piensa que la resistencia al transporte se encuentra en el proceso de re-extracción. Para confirmar la teoría se varió la concentración de ácido fórmico así como el pH de la fase donadora. Como se observa en la gráfica 4.18, al tener mayor gradiente de pH hay un mayor factor de enriquecimiento, por otra parte, al aumentar la concentración el equilibrio se alcanza más rápidamente.



Gráfica 4.17. Gráfico de Arrhenius mediante el cual se evaluó la energía de activación (E_a) del sistema.



Gráfica 4.18. Influencia de la fase aceptora sobre E^{Ni_e} . Fase donadora $[Ni(II)]=6.6 \times 10^{-6}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH 6.6 ajustado con NaOH, Vol. 100 mL; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 1.0 (A) con HNO_3 ; $[HCOOH]=0.1$ mol/L, pH ajustado a 2 (B) con HNO_3 Membrana Kelex 0.03 mol/L disuelto en n-hexil-benceno, tiempo de muestreo 300 minutos.

4.10.7. Agotamiento de la muestra y régimen de transporte.

Como se observa en el gráfico 4.19 el factor de enriquecimiento no varió. En este caso hubo un agotamiento del 12% cuando el volumen es de 100 mL, mientras que para los demás volúmenes no hubo pérdida. Confirmando nuevamente la hipótesis que a medida que el volumen de muestra aumenta el sistema trabaja bajo agotamiento despreciable.

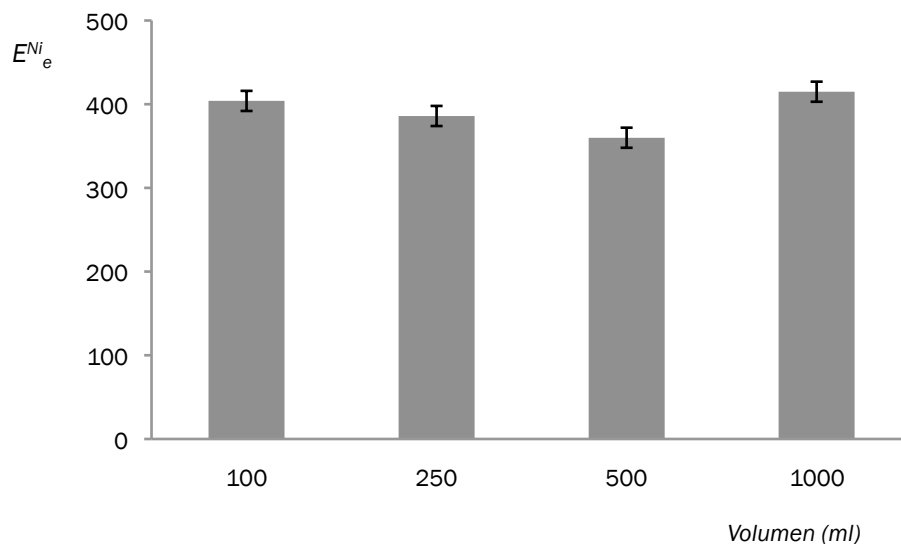


Tabla 4.19. Influencia de la variación del volumen de la fase donadora sobre E_e^{Ni} . Fase donadora $[Ni(II)]=1.2 \times 10^{-5}$ mol/L, $[MES]=0.01$ mol/L, pH 6.6 ajustado con NaOH; Fase aceptora $[HCOOH]=0.01$ mol/L, pH ajustado a 2.0 con HNO_3 ; Membrana Kelex 0.012 mol/L disuelto en n-hexil-benceno, tiempo de muestreo 300 minutos.

4.10.8. Estudios de análisis de especiación auxiliada por fraccionamiento.

Los resultados obtenidos en el caso del níquel no permiten llevar a cabo este estudio. Sin embargo, sí se puede decir que bajo las condiciones de trabajo el níquel libre es la única especie capaz de atravesar la membrana, es decir, que el níquel libre es un ión biodisponible.

Capítulo V

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1. Conclusión General.

Se desarrolló un dispositivo de Membrana Líquida Soportada de Fibra Hueca (MLS-FH) el cual permitió preconcentrar Pb(II) y algunos metales concomitantes (Ni(II), Cu(II), Cd(II) y Zn(II)). Además en el caso del Pb(II) evaluar su biodisponibilidad en muestras acuosas, a partir del fraccionamiento de la muestra en especies libres, lábiles e inertes. Mientras tanto en el caso de Ni(II) los resultados mostraron analogías con otros estudios de biodisponibilidad reportados usando bioensayos. Por lo tanto, las MLS-FH pueden ser una herramienta útil para simular el proceso de captación de metales en las membranas biológicas.

5.2. Conclusiones Particulares.

- Se desarrolló un dispositivo de MLS-FH, empleando como acarreador comercial Kelex 100 y ácido fórmico como fuerza directriz del sistema.
- Al término del trabajo desarrollado se concluyó en el caso del plomo que el valor E^{Pb_e} se ve influenciado por la presencia de complejos lábiles e inertes. Además que la respuesta del dispositivo depende fuertemente de la composición y concentración de la fase aceptora. Se obtuvieron valores de E^{Pb_e} nunca antes reportados del orden de los 55,000.
- Por otra parte en el caso del níquel el valor de E^{Ni_e} no es influenciado por la presencia de complejos lábiles y ácidos húmicos. Sin embargo, la respuesta del dispositivo depende fuertemente de la composición y concentración de la fase aceptora. Se obtuvieron valores de E^{Ni_e} del orden de los 4200.
- A partir de los experimentos de la influencia de la temperatura se obtuvieron los valores de la energía de activación (E_a) para plomo y níquel. En el caso del plomo la E_a fue de 32.7 KJ/mol, lo cual permite inferir que el sistema presenta un régimen mixto: difusión y reacción química. Por otra parte la E_a calculada para níquel fue de 56.7 KJ/mol concluyendo que en este caso el sistema presenta un régimen de reacción química.
- La capacidad de preconcentración del dispositivo de MLS-FH es suficiente para su aplicación en el monitoreo de concentraciones extremadamente bajas y medir en un equipo convencional como el EAAF en muestras sintéticas y bajo las condiciones empleadas en el trabajo.
- A partir de la variación de volumen se pudo concluir que el sistema tiende al agotamiento despreciable, permitiendo así estudios de especiación.

- Respecto a los estudios de biodisponibilidad se concluyó que a partir de los valores de E^{Pb_e} se puede discernir entre plomo libre, plomo lábil y plomo inerte de manera cualitativa. En el caso del níquel se concluye que el níquel libre es la única especie que difunde a través de la membrana bajo las condiciones empleadas ya que los valores de E^{Ni_e} no varían.

5.3. Perspectivas.

- Desarrollar el dispositivo de MLS-FH para Zn, Cd y Cu.
- Profundizar en el estudio del comportamiento del cianuro sobre Pb y Ni.
- Realizar la calibración de los dispositivos desarrollados.
- Aplicar a muestras reales.
- Realizar bioensayos que permitan correlacionar la información obtenida con la predicha por estas técnicas.

Capítulo VI BIBLIOGRAFÍA

- [1] Graeme E. Batley, Simon C. Apte and Jennifer L. Stauber, Speciation and Bioavailability of Trace Metals in Water: Progress since 1982, *J. Chem.* 57, (2004), 903.
- [2] Jerry L. Hamelink, Peter F. Landrum, Harold L. Bergman, William H. Benson, Bioavailability; Physical, Chemical and Biological Interactions, SETAC, special publications series, Lewis Publishers, 1992.
- [3] Paquin, Farley, Santore, Kavvas, Mooney, Winfield, Wu, Di Toro, Metals in Aquatic Systems: A Review of Exposure Bioaccumulation, and Toxicity Models. Metals and the Environment Series, SETAC Press, 2003.
- [4] Vera I. Slaveykova and Kevin J. Wilkinson, Predicting the Bioavailability of Metals and Metal Complexes: Critical Review of the Biotic Ligand Model, *Environ. Chem.* 2, (2005) 9.
- [5] Douglas M. Templeton, Freek Ariese, Rita Cornelis, Lars-Göran Danielsson, Herbert Muntau, Herman P. Van Leeuwen and Ryszard Lobinski, Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches, *Pure. Appl. Chem.*, Vol. 72, No. 8, (2000) 1453.
- [6] Gordon K. Pagenkopf, Gill Surface Interaction Model for Trace-Metal Toxicity to Fishes: Role of Complexation, pH, and Water Hardness, *Environ. Sci. Technol.*, Vol 17, No 6, 1983.
- [7] Dominic M. Di Toro, Herbert E. Allen, Harold L. Bergman, Joseph S. Meyer, Paul R. Paquin and Robert C. Santore, Biotic Ligand Model of the Acute Toxicity of Metals. 1. Technical Basis, *Environ. Toxicol. and Chem.*, Vol. 20, No. 10, (2001) 2383.
- [8] Herman P. Van Leewen and Wolfgang Köster, Physicochemical Kinetics and Transport at Biointerfaces, IUPAC Series on analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems, Volumen 9, 2004.
- [9] Mulder Marcel, Basic principles of Membrane Technology, Ed. Kluwer Academic Publisher, Holanda 1991.
- [10] Jerry L. Hamelink, Peter F. Landrum, Harold L. Bergman and William H. Benson, Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions, SETAC Special Publication Series, 1994.
- [11] J. Buffle and N. Parthasarathy, In Situ Monitoring of Aquatic Systems, Chemical Analysis and Speciation, IUPAC Series on analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems, Volume 6, 2000.
- [12] N. Parthasarathy, M. Pelletier, J. Buffle, Hollow fiber based supported liquid membrane: a novel analytical system for trace metal analysis, *Anal. Chim. Acta* 350, (1997) 193.

- [13] Nalini Parthasarathy, Michel Pelletier, Jacque Buffle, Permeation liquid membrane for trace metal speciation in natural waters, transport of liposoluble Cu(II) complexes, *J. Chromatogr. A*, 1025 (2004) 33.
- [14] Roberto Romero, Jan Ake Jönsson, Determination of free copper concentrations in natural waters by using supported liquid membrane extraction under equilibrium conditions, *Anal. Bioanal. Chem* 381 (2005) 1452.
- [15] Andreu Rosell, Cristina Palet, Manuel Valiente, Solvent impregnated hollow fibre for a selective preconcentration of Pb(II) in an on-line determination by flame atomic absorption spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 370 (1998) 141.
- [16] Roberto Romero, Jing-fu Liu, Philipp Mayer and Jan °Ake Jönsson, Equilibrium Sampling through Membranes of Freely Dissolved Copper Concentrations with Selective Hollow Fiber Membranes and the Spectrophotometric Detection of a Metal Stripping Agent, *Anal. Chem.* 77 (2005) 7605.
- [17] Stéphane Bayen, Isabelle Worms, Nalini Parthasarathy, Kevin Wilkinson, Jacques Buffle, Cadmium bioavailability and speciation using the permeation liquid membrane, *Anal. Chim. Acta* 575 (2006) 267.
- [18] Eduardo Rodríguez de San Miguel, Jing-fu Liu, Philipp Mayer and Jan °Ake Jönsson, Multivariate Analysis of Selected Metal Ion Transport through a Hollow-Fiber Supported Liquid Membrane Device used for Passive Sampling Monitoring, *Solvent Extr. Ion Exch.* 26 (2008) 602.
- [19] J. Michalowski, P. Halaburda, A. Kojlo, Determination of humic acid in natural waters by flow injection analysis with chemiluminescence detection, *Anal. Chim. Acta* 483 (2001) 143.
- [20] P. Salaun, N. Parthasarathy, G. Lagger, M. ;artin, P. Thiébau, M. Koudelka, H.P. van Leeuwen and J. Buffle, Development of permeation liquid membranes systems for in situ trace metal speciation in water, *Chemical speciation and reactivity in water chemistry and water technology: a symposium in honor of James J. Morgan*, 2000.
- [21] Jan °Ake Jönsson, Sampling and Ample preparation in field and laboratory, Chapter 15, *Liquid membrane techniques*, *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier Science, 2002.
- [22] Branislav Vrana, Grham A. Mills, Ian J. Allan, Ewa Dominiak, Katarina Svensson, Jesper Knutsson, Gregory Morrison, Richard Greenwood, *Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water*, *TrAC*, Vol. 24, No. 10 (20059).
- [23] R. Greenwood, G. Mills, B. Vrana, *Passive Sampling Techniques in environmental monitoring*, *Comprehensive Analytical Chemistry Vol 48*, Wilson & Wilson's.

- [24] Xialin Hu, Jingfu Liu, Jan A Jönsson and Guibin Jiang, Development of negligible depletion hollow fiber-protected liquid-phase microextraction for sensing freely dissolved triazines, *Environ. Toxicol. Chem.*, Vol 28 No.2 (2009) 231.
- [25] Mayer P. Tolls J. Hermens JLM, Mackay D., Equilibrium sampling device, *Environ. al Sci. Technol.* 37 (2003) 184A.
- [26] <http://portales.educared.net>
- [27] Djane N.-K., Armalis S., Ndungu K., Johansson G., Mathiasson L. Supported liquid membrane coupled on-line to potentiometric stripping analysis at a mercury-coated reticulated vitreous carbon electrode for trace metal determination in urine, *Analyst*, 123 (1998) 393.
- [28] Malcus F., Djane N.-K., Johansson G., Mattiasson L. Automated trace enrichment and determination of metals using a combination of supported liquid membrane for sample pretreatment and graphite furnace atomic absorption spectroscopy for the determination, *Anal. Chim. Acta*, 327 (1996) 295.
- [29] Kuban P., Buchberger W., Haddad P. R.. Determination of metalocyanides by capillary electrophoresis after concentration on supported liquid membrane, *J. Chromatogr. A.*, 770 (1997) 329.
- [30] <http://www.lenntech.es>
- [31] Astrid Rigel, Helmut Rigel and Roland K. O. Sigel, *Metal ions in life sciences, Neurodegenerative Diseases and Metal Ions, Volume 1*, Wiley, 2006.
- [32] Kars Landner and Rudolf Reu, *The Metals in Society and in the Environment, Environ. Pollut., Volume 8, r*, Kliwer Adademic Publishers, 2005.
- [33] J.A. Martí Mercadal, H. Desoille, *Medicina del Trabajo*, 2da edición, 1993, MASSON, S.A.
- [34] www.epa.gov/waterscience/cs/biotesting/Chem-5 Publications: Bioaccumulation Testing and Interpretation for the Purpose of Sediment Quality Assessment. February 2000; EPA 823-R-00-001.
- [35] Cox, J.A., Bhatnagar A., Francis R.W., Evaluation of coupled transport across a liquid membrane as an analytical preconcentration technique, *Talanta*, 33 (1986) 713.
- [36] Uto M., Yoshida H., Sugawara M., Umezawas Y., Uphill transport membrane electrodes, *Anal. Chem*, 58 (1986) 1798.
- [37] Ohki A., Takeda T., Tagaki M., Ueno K., Batho-cuproine mediated copper transport through liquid membrane driven by redox potential, *J. Membrane Sci.*, 15 (1983) 231.

- [38] Papantoni M., Djane N.-K., Ndungu, K., Jönsson J.-Å., Mathiasson L., Trace enrichment of metals using a supported liquid membrane technique, *Analyst* 120 (1995) 1471.
- [39] Malcus F., Djane N.-K., Johansson G., Mattiasson L., Automated trace enrichment and determination of metals using a combination of supported liquid membrane for sample pretreatment and graphite furnace atomic absorption spectroscopy for the determination, *Anal. Chim. Acta*, 327 (1996) 295.
- [40] Kuban P., Buchberger W., Haddad P. R., Determination of metalocyanides by capillary electrophoresis after concentration on supported liquid membrane, *J. Chromatogr. A.*, 770 (1997) 329.
- [41] Yoshimoto, S., Mukai H., Kitano T., Sohrin Y., Copper(II)-selective membrane electrode based on hydrotris(3-isopropylpyrazolyl)methane in a poly(vinyl chloride) matrix, *Anal. Chim. Acta*, 494 (2003) 207.
- [42] Sauvé S., Norvell W.A., McBride M., Hendershot W., Speciation and complexation of cadmium in extracted soil solutions, *Environ. Sci. Technol.* 34 (2000) 291.
- [43] Kogut M.B., Voelker B.M., Strong copper-binding behavior of terrestrial humic substances in seawater, *Environ. Sci. Technol.* 35, (2001) 1149.
- [44] Liu Y., Ingle J.D., Automated two-column ion exchange system for determination of the speciation of trace metals in natural waters, *Anal. Chem.* 61 (1989) 525.
- [45] Strathmann T.J., Myneni S.C., Speciation of aqueous Ni(II)-carboxylate and Ni(II)-fulvic acid solutions: combined ATR-FTIR and XAFS analysis, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68 (2004) 3441.
- [46] Zhang H., Davison W., Performance characteristics of diffusion gradient in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solutions, *Anal. Chem.* 67 (1995) 3391.
- [47] Zhang H., Davison W., Direct in situ measurement of labile inorganic and organically bounded metal species in synthetic solutions and natural waters using diffusive gradients in thin films, *Anal. Chem.* 72 (2000) 4447.
- [48] Temminghoff E.J.M., Plette A.C.C., Van Eck R., Van Riemsdijk W.H., Determination of the chemical speciation of trace metals in aqueous systems by the Wageningen Donnan Membrane technique, *Anal. Chim. Acta* (2000) 417.
- [49] Nolan A.L., McLaughlin M.J., Mason S.D., Chemical speciation of Zn, Cd, Cu, and Pb in pore waters of agricultural and contaminated soils using Donnan dialysis, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 90.

- [50] Senn D.B., Griscom S.B., Lewis C.G., Galvin J.P., Chang M.W., Shine J.P., Equilibrium-based sampler for determining Cu^{2+} concentrations in aquatic ecosystems, *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 3381.
- [51] Guyon F., Parthasarathy N., Buffle J., Permeation liquid membrane metal transport: studies of complex stoichiometries and reactions in Cu(II) extraction with the mixture 22DD-laurate in toluene/phenylhexane, *Anal. Chem.* 72 (2000) 1328.
- [52] Keller O.C., Buffle J., Voltammetric and reference microelectrodes with integrated microchannels for flow through microvoltammetry. 2. Coupling the microcell to a supported liquid membrane preconcentration technique, *Anal. Chem.* 72 (2000) 943.
- [53] Ueberfeld J., Parthasarathy N., Zbinden H., Gisin N., Buffle J., Coupling fiber optics to a permeation liquid membrane for heavy metal sensor development, *Anal. Chem.* 74 (2002) 664.
- [54] Salaun P., Buffle J., Integrated microanalytical system coupling permeation liquid membrane and voltammetry for trace metal speciation. Theory and applications, *Anal. Chem.* 76 (2004) 31.
- [55] Djane N.-K., Ndung'u K., Johnsson C., Sartz H., Tornstrom T., Mathiasson L., Chromium speciation in natural waters using serially connected supported liquid membranes, *Talanta*, 48 (1999) 1121.
- [56] Ndungu K., Hurst MP, Bruland KW., Comparison of copper speciation in estuarine water measured using analytical voltammetry and supported liquid membrane techniques, *Env. Sci. Technol.* 39 (2005) 3166.
- [57] Peter M. Kopittke, Colin J. Asher, Rosemary A. Kopittke, Neal W. Menzies, Toxic effects of Pb^{2+} on growth of cowpea (*Vigna unguiculata*), *Environ. Pollut.* 150 (2007) 280.
- [58] Vera I. Slaveykova, Nalini Parthasarathy, Jacques Buffle, Kevin J. Wilkinson, Permeation liquid membrane as a tool for monitoring bioavailable Pb in natural waters, *Sci.Total Environ.* 328 (2004) 55.
- [59] J.C. Aguilar, M. Sánchez-Castellanos, E. Rodríguez de San Miguel, J. de Gyves, Cd(II) and Pb(II) extraction and transport modeling in SLM and PIM systems using Kelex 100 as carrier, *J.Membr. Sci.* 190 (2001) 107.
- [60] Romero, R., Liu J-f., Mayer P., Jönsson J.A., Equilibrium sampling through membranes and the spectrophotometric detection of a metal stripping agent, *Anal. Chem.* 77, (2005) 7605.
- [61] George E. Box, William G. Hunter, J. Stuart Hunter, *Estadística para Investigadores. Diseño Innovación y descubrimiento*, 2da edición, Ed. REVER TE, Barcelona 2008.

- [62] Ferreira, S.L.C.; dos Santos, W.N.L.; Quintella, C.M.; Neto, B.B.; Bosque- Sendra, J.M. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry– review. *Talanta* 63 (2004) 1061.
- [63] Douglas C. Montgomery, *Diseño y Análisis de Experimento*, 2da. Edición, Limusa Wiley, 2006.
- [64] Daniel G. Straen and Donald L. Sparks, Effects of Soil Organic Matter on the Kinetics and Mechanisms of Pb(II) Sorption and Desorption in Soil, *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 64 (2000) 144.
- [65] F.M.M. Morel, J.G. Hering, *Principles and Applications of Aquatic Chemistry*, Wiley, New York, 1993.
- [66] Stéphane Bayen, Kevin J. Wilkinson and Jacques Buffle, The permeation liquid membrane as a sensor for free nickel in aqueous samples. *Analyst* 132 (2007) 262.
- [67] A. Aouarram, M.D. Galindo-Riaño, M. García-Vargas, M. Stitou, F. El Yousfi, A permeation liquid membrane system for determination of nickel in seawater, *Talanta* 71 (2007) 165.
- [68] Jan Rydberg, Claude Masikas, Gregor y R. Choppin, Marcol Dekker, *Principles and Practices of Solvent Extraction*, 1992.
- [69] Eigen, M.; Wilkins, R. G. In *Mechanisms of Inorganic Reactions*; ACS Symposium Series 49; American Chemical Society: Washington, DC, USA, 1965; pp 55-80.
- [70] Hering, J. G.; Morel, F. M. M. In *Aquatic Chemical Kinetics Reaction Rate of Processes in Natural Waters*; Stumm, W., Ed.; John Wiley & Sons: New York, USA, 1990.
- [71] Xue, H. B.; Jansen, S.; Prasch, A.; Sigg, L. Nickel Speciation and Complexation Kinetics in Freshwater by Ligand Exchange and DPCSV. *Environ. Sci. Technol.* 35 (2001) 539.
- [72] Towill, L.E.; Drury, J.S.; Whitfield, B.L.; Lewis, E.B.; Galyan, E.L.; Hammons, A.S. *Reviews of the environmental effects of pollutants: V. Cyanide*. US Environ. Prot. Agen. Rep. 600/1-78-027 (1978) 1.
- [73] Ferreira, S.L.C.; dos Santos, W.N.L.; Quintella, C.M.; Neto, B.B.; Bosque- Sendra, J.M. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry– review. *Talanta* 63 (2004) 1061.
- [74] Lorne E. Doig, Karsten Liber, Influence of dissolved organic matter on nickel bioavailability and toxicity to *Hyalella azteca* in water-only exposures, *Aquat. Toxicol.* 76 (2006) 203.
- [75] J.W. Guthrie, R. Mandal, M.S.A. Salam, N.M. Hassan, J. Murimboh, C.L. Chakrabarti, M.H. Back, D.C. Grégoire, Kinetic studies of nickel speciation in model solutions of a well-

characterized humic acid using the competing ligand exchanged method, Anal. Chim. Acta 480 (2003) 157.

[76] I.P. Alimarin, Yu. A. Zolotov and V.A. Bodnya, Extraction Kinetics of Metal Chelates, Pure and Applied Chemistry 25(4) (1971) 667.

[77] Z. Lazarova, L. Boyadzhiev, Kinetic aspects of copper (II) transport across liquid membrane containing LIX-860 as carrier, J. Membr. Sci. 78 (1993) 239-245.

[78] NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-001-SEMARNAT-1996, QUE ESTABLECE LOS LIMITES MÁXIMOS PERMISIBLES DE CONTAMINANTES EN LAS DESCARGAS DE AGUAS RESIDUALES EN AGUAS Y BIENES NACIONALES.

[79] www.who.int, Organización Mundial de la Salud, OMS (del inglés World Health Organization WHO).

[80] www.europea.eu/legislation

[81] Francisco Pena-Pereira, Isela Lavilla, Carlos Bendicho, Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review, Spectrochim. Acta B64 (2009) 1.

[82] Shayessteh Dadfarnia, Ali Mohammad Haji Shabani, Recent development in liquid phase mixroextraction for determination of trace level concentration of metals- A review, Anal. Chim. Acta 658 (2010) 107.

Capítulo VII ANEXOS



Optimization, evaluation, and characterization of a hollow fiber supported liquid membrane for sampling and speciation of lead(II) from aqueous solutions

Ana Nelly Bautista-Flores^{a,b}, Eduardo Rodríguez de San Miguel^{a,*}, Josefina de Gyves^a, Jan Åke Jönsson^c

^a Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, UNAM, Ciudad Universitaria, 04360 México, D.F., Mexico

^b Química Industrial, Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz, Av. Universidad Tecnológica Lote Grande #1, 93770 Nanchital, Veracruz, Mexico

^c Department of Organic/Analytical Chemistry, Lund University, P.O. Box 124, SE-221 00 Lund, Sweden

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 May 2010

Received in revised form 15 July 2010

Accepted 16 July 2010

Available online 24 July 2010

Keywords:

Lead

Passive sampling

Speciation

Hollow fiber

ABSTRACT

Hollow fiber supported liquid membrane sampling and speciation of lead(II) from aqueous solution using a selective carrier (Kelex 100) is studied. An optimization of different variables affecting permeation performance (chemical conditions of the sampling module – pH, concentration and nature of the acceptor phase, extractant concentration; membrane impregnation form; sampling time; and hollow fiber length) and an evaluation of those that influence the performance of the device under sampling conditions (sample pH; interfering cations – Cu(II), Cr(VI), Co(II), Cd(II), Ni(II), and Zn(II); anions – NO₂⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻, CO₃²⁻, CN⁻, and organic matter – humic acids; lead concentration; and sample temperature) are reported.

Kelex 100 concentration within the range 12–47 mmol dm⁻³, acceptor solution pH 2.2, hollow fiber length within the range 15–100 cm, and impregnation using mode III were found as optimal conditions for operation of the device. A linear equation described well the dependency of enrichment factor on sample pH in the 5.7–7.0 interval, the presence of 1 × 10⁻⁶ mol dm⁻³ of Cu(II), Cr(VI), Co(II), Cd(II), Ni(II), or Zn(II) did not interfere in Pb(II) enrichment factor, 50 mg dm⁻³ of anions capable of forming labile complexes (NO₂⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻, CO₃²⁻) and 5 mg dm⁻³ of CN⁻ produced a catalyzing effect in the permeation rate, which increased as lead concentration diminished. The presence of strong humic acid inert complexes in the donor phase caused a reduction in the enrichment factor, which additionally increases linearly as temperature increases. The possibilities for using the hollow fiber device for lead speciation in terms of permeation of free and labile species and rejection of inert complexes are discussed on the basis of such analyses. Composition–performance relationships for sampling module characterization and evaluation are analyzed as well.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The determination of metal ion concentrations in waters at trace levels is highly important from an environmental and ecotoxicological point of view. Some of them (e.g., Fe, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Mo) are nutrients for plants and animals and play an essential role in enzyme activity, while others are highly toxic (e.g., As, Cd, Hg, Pb). Additionally, some of the nutrient elements (e.g., Ni, Cu, Zn) may also be toxic at elevated concentrations. However, the bioavailability and toxicity of these metal ions cannot be predicted by total – or analytical – concentrations, but rather by the concentrations of their various chemical species [1]. In spite of the fact that good correlations have been found in a number of cases between metal

uptake and free metal ion concentrations, as predicted by the Free Ion Activity Model (FIAM) or the Biotic Ligand Model (BLM), under specific conditions often closer to natural ones, it is observed that FIAM or BLM are not obeyed and that labile complex species can contribute to the bio-uptake process [2,3]. In fact the free metal ion, the neutral complexes or the dynamic labile and mobile species have been found to be the most appropriate indicators of bioavailability [1,4], and for this reason the determination of labile species of metal ions is an expanding area of concern and research now-a-days.

Some experimental methods for measuring either free or labile metal concentrations in solution include: the Donnan membrane technique (DMT) [5], in situ sampling device “gellyfish” [6], Chemcatcher [7], diffusion gradients in thin-film gels (DGT) [8], flow-through permeation liquid membrane (FTPLM) [9], hollow fiber supported or permeation liquid membranes (HFSLM or HFPLM) [10,11] and stabilized liquid membrane device (SLMD) [12]. Among them the permeation liquid membrane (PLM) tech-

* Corresponding author. Tel.: +52 55 56223792; fax: +52 55 56223723.

E-mail addresses: erdsmsg@yahoo.com.mx, erdsmsg@servidor.unam.mx (E. Rodríguez de San Miguel).

nique has been reported as a powerful tool [1,4,13,14]. In practice, the major advantages of PLMs are that separation and pre-concentration of metals can be achieved in one step, metal analysis in the strip solution eliminates matrix effects, transport through PLM mimics biological membranes, and metal analysis can be performed without disturbing the chemical composition and speciation of the sample when specific conditions are used, i.e., negligible depletion passive sampling techniques for monitoring are employed [1].

Lead is a common environmental pollutant due to its common industrial use, such as in plants that process lead-acid batteries or produce lead wire or pipes, and in metal recycling and foundry companies. Lead exposure can occur from contact with lead in air, household dust, soil, water, and commercial products (e.g., paint chips, folk remedies, cosmetics, food supplements, and food preparation utensils) and it can end up in groundwater and surface water from the atmosphere or soil. Lead presents a wide pathophysiological spectrum as it causes hematological, gastrointestinal, and neurological dysfunction and prolonged exposure may also cause chronic nephropathy, hypertension, and reproductive impairment. Lead inhibits enzymes; alters cellular calcium metabolism; stimulates synthesis of binding proteins in kidney, brain, and bone; and slows nerve conduction [15]. Because of this its determination and speciation are a matter of high relevance. However, as far as we know, in the literature only one work concerning lead(II) pre-concentration using the PLM related technique denominated hollow fiber liquid phase microextraction (HF-LPME) has been reported [16,17]. Furthermore, in such work attention was focused in determining analytical concentrations, rather than labile fractions, using a total depletion technique. Reports concerning the evaluation of negligible depletion techniques in passive sampling devices are scarcely found, despite that pre-concentration factors as high as 3000–4000 have been reported with such systems and transport has been observed to be dependent on the chemical species of the ion [9,10,18]. Nevertheless, the major disadvantages of the available systems are the employment of expensive extractants in three-component mixtures [9,10,13,18] and, the fact that the roles played by the chemical speciation of lead and the influence of the acceptor solution in permeation performance have barely been considered. To the best of our knowledge, no study using a passive sampling device with a hollow fiber configuration and exclusively one extractant has been reported up to now for lead(II) pre-concentration and speciation. Thus, in this work the permeation of this metal ion through a HFPLM is studied employing the carrier Kelex 100 (7-(4-ethyl-1-methyloctyl)-8-hydroxyquinoline). The influences of different variables that affect the permeation properties of the sampling module and the environmental factors related with the chemical speciation of the metal ion are analyzed to extract bioavailable fractions of lead in aqueous samples. An attempt to disclose composition–performance relationships for sampling module evaluation and characterization is performed as well.

2. Experimental

2.1. Reagents and apparatus

Lead(II) donor solutions were prepared by dilution from an atomic spectroscopy standard (Fisher Scientific, Waltham, MA, USA); nickel nitrate, cobalt nitrate, copper nitrate, zinc oxide, potassium dichromate, and cadmium nitrate (all Sigma Aldrich Corporation, A.R. grade, St. Louis, MO, USA) were employed as interfering metals; sodium nitrite (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), sodium sulfate (Mallinckrodt Baker, Lopatcong Township, NJ, USA), sodium chloride (Jalmek Científica, San Nicolás de los Garza, Mon-

terrey, Mexico), potassium cyanide (Merck), potassium nitrate (Merck), calcium carbonate (Merck) and humic acid (ash ~ 20, Fluka (Aldrich)) were used when the influences of inorganic anions and organic matter were studied. Formic acid (Mallinckrodt) and citric acid (Aldrich) were employed as acceptor solutions. 7-(4-Ethyl-1-methyloctyl)-8-hydroxyquinoline (Kelex 100, Sherex Chemical Co. Inc., Dublin, OH, USA) was employed as carrier dissolved in 1-phenylhexane (Aldrich) as organic solvent.

50/280 Accurel PP polypropylene hollow fiber tubing (50 μm wall thickness, 280 μm inner diameter and 0.1 μm pore size) was purchased from Membrana GmbH (Wuppertal, Germany) and manually cut into pieces to make the membrane devices. BD Micro-Fine Syringes were employed to fill and withdraw the acceptor solution from the hollow fiber. Nitric acid (J.T. Baker), sodium hydroxide (Aldrich), and 4-morpholine ethanesulfonic acid (MES, Sigma, pH 5.5–6.7) were used to adjust the pH of the solutions.

A 3100 Perkin Elmer Atomic Absorption Spectrometer (Waltham, MA, USA) and a 7500 Agilent ICP-MS spectrometer (Santa Clara, CA, USA) allowed metal quantification in the aqueous solutions. A pH 211 Microprocessor pH Meter was used to adjust the pH of the donor and acceptor solutions using a 3 in 1 combo w/RJ electrode. An IKA KS 260 control S1 orbital shaker (Wilmington, NC, USA) and a Burrell 75 wrist-action shaker (Pittsburgh, PA, USA) were used.

Statgraphics Plus 4.0 (Statistical Graphics, Rockville, MD, USA) was used for data analysis.

2.2. Membrane preparation

Three different modes (I, II, and III) were investigated. Modes I and II are reported elsewhere [11,18,19]. The first mode consists of the following sequence of steps: (i) filling the lumen of the hollow fiber with the acceptor solution, (ii) dipping the hollow fiber into the solvent to form the liquid membrane, (iii) rinsing the outer surface with water and the inner surface with acceptor solution, (iv) joining the ends of the module with aluminum foil and inserting into a small glass piece which acts as an anchor. For mode II the sequence was modified as: (ii), (i), (iii) and (iv). In mode III the sequence used was: (i), (iv), (ii) and finally the membrane was retracted from the organic phase and shaken manually to remove its excess. Once the HFPLM devices were ready, they were immersed into 100 cm^3 of donor solution with fixed composition using a 500 cm^3 recipient with rectangular shape and shaken for stated times, except in those experiments in which the volume of the source solution was varied as further described.

2.3. Analysis procedure

After performing the sampling experiments, the hollow fiber module was removed, the acceptor solution flushed out with the syringe and introduced into a small test tube, weighted, diluted by weight (about 1–2 cm^3), and collected for further analysis by FAAS or ICP-MS.

2.4. Optimization of the extraction process

For optimization of the extraction parameters the enrichment factor, E ($E = c_{\text{acceptor}}/c_{\text{donor}}$ [11]), was selected as response variable.

3. Results and discussion

3.1. Optimization of system parameters

3.1.1. Selection of the organic phase

Two points were considered in carrier selection: (i) the use of a selective extractant and (ii) its ability to exchange protons, so

Table 1
Doehlert matrix employed for studying the simultaneous effect of three variables on the E value of the sampling module. Coded and real values (in parenthesis) of the variables are indicated.

Experiment	Acceptor pH (A)	[Kelex 100] _{tot} (mmol dm ⁻³) (B)	Donor pH (C)
1	0(3)	0(30)	0(6.6)
2	1(5)	0(30)	0(6.6)
3	0.5(4)	0.866(47)	0(6.6)
4	0.5(4)	0.289(35)	0.817(7.4)
5	-1(1)	0(30)	0(6.6)
6	-0.5(2)	-0.866(12)	0(6.6)
7	-0.5(2)	-0.289(24)	-0.817(5.7)
8	0.5(4)	-0.866(12)	0(6.6)
9	0.5(4)	-0.289(24)	-0.817(5.7)
10	-0.5(2)	0.866(47)	0(6.6)
11	0(3)	0(30)	-0.817(5.7)
12	-0.5(2)	0.289(35)	0.817(7.4)
13	0(3)	-0.577(18)	0.817(7.4)

that the driving force for permeation could be related to the pH gradient between the acceptor and donor phases. Kelex 100 was a good choice due to its well-known extraction capabilities for lead in solvent extraction and liquid membrane systems [20] and excellent performance for speciation purposes [21]. 1-Phenylhexane was selected as solvent for Kelex 100 due to the long liquid membrane lifetime that this solvent has showed [9,10].

3.1.2. Membrane impregnation mode

Reproducibility using modes I and II was difficult to achieve in preliminary experiments. With mode III it considerably improved. An enrichment factor of 381 ± 48 ($n=12$) was obtained under selected conditions (donor solution: [Pb(II)]= 3.2×10^{-6} mol dm⁻³, [MES]=0.01 mol dm⁻³, pH 7.0; acceptor solution: [HCOOH]_{tot}=0.01 mol dm⁻³, pH 3; organic phase: [Kelex 100]_{tot}=0.03 mol dm⁻³; hollow fiber length: 15 cm; sampling time: 120 min). For mode III, reproducibility was corroborated measuring E values in two different sampling modes: (i) one single module was introduced into one container, and the procedure was repeated three times, (ii) three equal modules were introduced into one container at the same time. E values were 388 ± 33 and 394 ± 40 , respectively. No significant differences were observed. To assure no dependence of E on agitation form, pre-concentration experiments using orbital shaking (IKA KS 260 at 13.613 s^{-1} (130 rpm)), wrist-action shaking (Burrel 75) and magnetic stirring (stirring bar) were compared. Although no significant differences were distinguished, it was observed that wrist-action shaking promoted a less stable organic phase within the membrane module due to the extreme convective force which competes with the capillary force that maintains the organic phase within the pores of the membrane.

In view of the results described above conditions established for further experiments were: membrane module impregnation using mode III, sampling procedure using three equal modules in one container and orbital shaking.

3.1.3. Sampling time

The effect of extraction time was measured within the range of 10–300 min using extractant concentrations from 0.015 to 0.200 mol dm⁻³ and the conditions reported above. After a linear increase in the enrichment factor with time a constant value of E was achieved after 120 min of sampling for all extractant concentrations, thus this time was selected to perform most of the experiments. As for extractant concentrations a decrease in the enrichment factor above 60 mmol dm⁻³ of Kelex 100 was found, probably due to the increase in the viscosity of the organic phase which produces a reduction in the mobility of the migrating species. Therefore, the following experiments were performed with organic phase concentrations below this value.

3.1.4. Hollow fiber length

For given conditions (donor solution: [Pb(II)]= 7×10^{-6} mol dm⁻³, [MES]=0.01 mol dm⁻³, pH 6.6; acceptor solution: [HCOOH]_{tot}=0.01 mol dm⁻³, pH 2.2; [Kelex 100]_{tot}=0.03 mol dm⁻³, $t=120$ min), the E values for 15, 25, and 100 cm were (mean \pm sd): 577 ± 75 , 532 ± 49 , 469 ± 45 , respectively. As E was independent of this variable, as expected for the concurrent increase in membrane area and acceptor volume with the increase in length, a 15 cm device length was chosen along the work for simplicity in the manipulation of the sampling device.

3.1.5. Effect of pH gradient and extractant concentration

Once some parameters (membrane preparation mode, sampling time, and practical range of extractant concentrations) had been defined a Doehlert experimental design [22] was employed to examine the simultaneous effect of three different factors: extractant concentration, and pH of the acceptor and donor solutions (Table 1). At this point more emphasis (more factor levels) was given to the intrinsic properties of the module (carrier concentration and acceptor pH) than to sampling conditions (donor pH), because the latter variable was to be further analyzed. Kelex 100 concentrations were varied within the range 12–47 mmol dm⁻³ according to the experimental results discussed in the previous section (using seven levels), the acceptor solution pH was varied in the 1.0–5.0 interval (using five levels) and the donor solution pH in the 5.6–7.4 interval (using three levels) according to the plan indicated in Table 1. The relationship between coded and real values in the table is given by

$$C_i = \left\{ \frac{X_i - X_i^0}{\Delta X_i} \right\} \theta \quad (1)$$

where C_i is the coded value for the level of factor i , X_i is its real value in an experiment, X_i^0 is the real value at the center of the experimental domain, ΔX_i is the step of variation of the real value, and θ is the coded value limit for each factor.

After performing the experiments and measuring the response the pareto chart (Fig. 1) showed no dependence of the enrichment factor on Kelex 100 concentrations, but a strong influence from both the donor and acceptor pH values of the aqueous solutions. An interaction between the pH values of both solutions was noticed, as expected due to the influence of the pH gradient on extraction performance. Additionally quadratic interaction terms related to the pH terms were noticed indicating optimal ranges, although the quadratic donor pH term has just a slight contribution. The codified equation describing the dependency of the factors on the response variable is

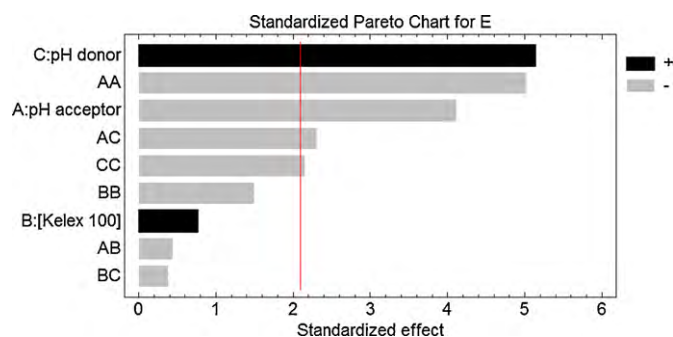


Fig. 1. Standardized pareto chart obtained after analysis of the enrichment factor (95% confidence interval) following the experimental plan shown in Table 1.

$$E = 350.3 - 144.6 \text{pH}_{\text{acceptor}} + 180.6 \text{pH}_{\text{donor}} - 303.9 \text{pH}_{\text{acceptor}}^2 - 221.5 \text{pH}_{\text{acceptor}} \text{pH}_{\text{donor}} - 102.7 \text{pH}_{\text{donor}}^2 \quad (2)$$

The ANOVA and the normal probability plot of the effects confirmed the above conclusions while the analysis of residuals showed a random pattern confirming the validity of the model. With the help of Eq. (2) the contours of the estimated response surface (Fig. 2) were obtained. It was found that the highest lead extraction was achieved when donor pH solution was 6.6 and acceptor pH solution was about 2.2, thus, most of the further experiments were performed under these conditions maintaining constant Kelex 100 concentration at 0.03 mol dm^{-3} .

3.1.6. Effect of the acceptor solution

Since the permeation process through the hollow fiber module obeys a counter-transport mechanism, where the driving force is the proton gradient coupled to lead complexation by the ligand present in the acceptor phase, it is expected that maintaining this force as high as possible will favor lead permeation. Accordingly, changes in the nature and concentration of the complexing ligand should affect permeation. In order to evidence these effects, the kinetic profiles of two different complexing agents, formic and citric acids at two different concentrations (0.01 and 0.10 mol dm^{-3}), were evaluated (Fig. 3). No attempt was done to buffer the systems due to the proton concentration excess respect to lead concentration in the source phase (neutrality conditions established the exchange of two protons per lead ion). Under these conditions, according to the acceptor solution chemistry and the reactions responsible for permeation (Fig. 4), several parameters such as lead concentration, pH, and degree of complexation of the analyte, α [1,23], vary simultaneously in the acceptor phase. Using the Medusa software [24] the predominance diagrams for Pb(II) species

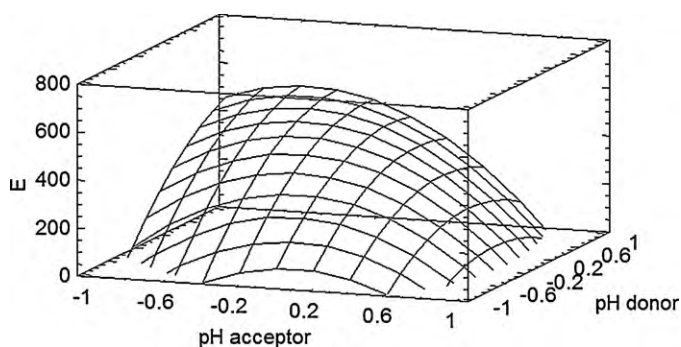


Fig. 2. Estimated response surface of the enrichment factor showing the dependence on the acceptor and donor pH values ($[\text{Kelex } 100]_{\text{tot}} = 0$ (coded value), 30 mmol dm^{-3} (real value)).

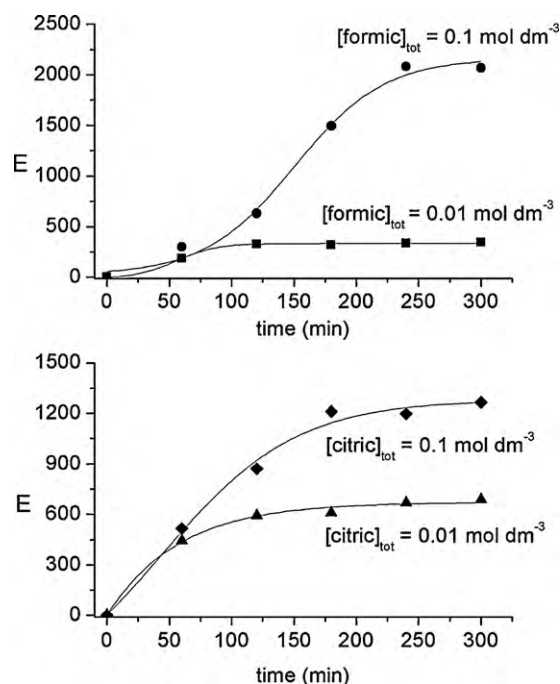


Fig. 3. Kinetic profiles of the enrichment factor using formic and citric acids as acceptor solutions. Donor solution: $[\text{Pb(II)}] = 7 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, $[\text{MES}] = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, pH 6.6; acceptor solution initial pH 2.2; $[\text{Kelex } 100]_{\text{tot}} = 0.03 \text{ mol dm}^{-3}$.

under the different experimental conditions employed in Fig. 3 were obtained. It was observed that the increase in the complexing agent concentration impacts favorably in the fraction of analyte associate with the ligand, regardless if formic or citrate ions are used and the final pH of the acceptor solution, as observed in Fig. 3. These facts remark the important role on permeation played by the ligand. However, in spite of the superior complexation capacity of citrate over formiate at initial pH of 2.2 and fixed ligand concentration (Fig. 4), it did not perform much better than formiate, especially at the higher concentration. Consequently, the difference observed between both the acids is not attributable to chemical equilibrium considerations but to kinetics effects. These results indicate that formic acid is a good choice as an acceptor phase.

The effect of varying the concentration of formic acid in the acceptor solution from 0.01 to 1.50 mol dm^{-3} is reported in Table 2. It is observed that below 0.1 mol dm^{-3} the enrichment factor increases with formic acid concentration, as expected because of the increase in the complexing effect; however, after a maximum value is attained at 0.1 mol dm^{-3} , it continuously decreases. This behavior should be related to kinetic effects in the system because not only the proton reservoir but also the complexing capacity increases with the increase in formic concentration. In this form data from Table 2 can be rationalized considering an increase in

Table 2
Influence of formic acid concentration on lead enrichment factor (sampling time: 120 min). Initial acceptor pH 2.2.

$[\text{HCOOH}]_{\text{tot}}$ (mol dm^{-3})	E
0.01	544
0.03	834
0.05	917
0.10	936
0.30	536
0.50	210
1.00	44
1.50	42

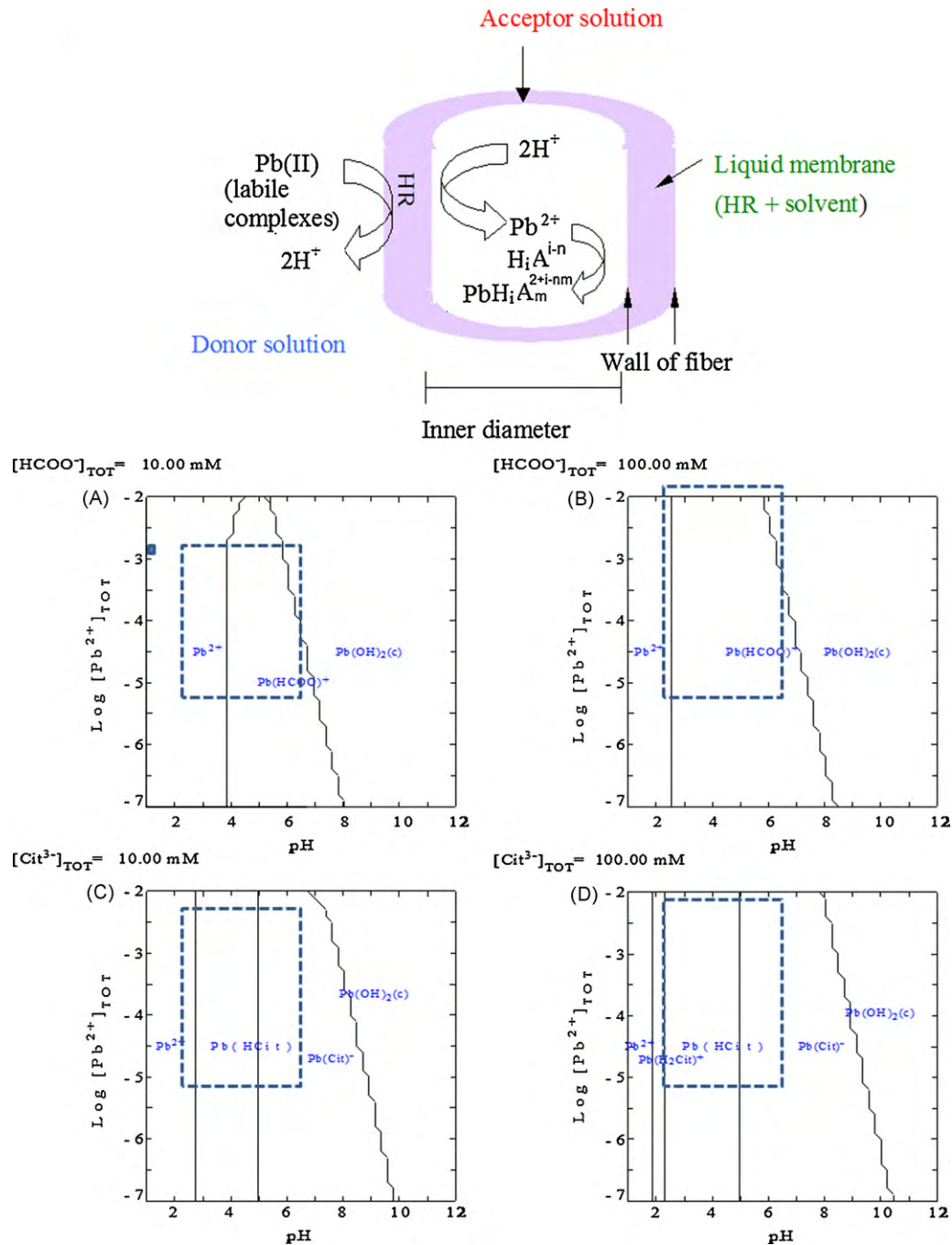


Fig. 4. Schematic representation of Pb(II) permeation mechanism (upper) and predominance diagrams for lead species in the acceptor phase (A–D, lower) according to the chemical conditions stated in Fig. 3 indicating the regions (dot rectangles) in which the pH and lead concentration variables may vary during transport. For the marked regions only $E > 1$ values were considered. HR stands for Kelex 100, H_iA^{i-n} for formic or citric acids, and $PbH_iA_m^{2+i-nm}$ for lead complexes with such acids.

the time needed to establish a stationary regimen in E with the increase in formic acid concentration in the acceptor solution, i.e., longer sampling times are required to reach this regimen as formic acid concentration increases. This conclusion is supported by the fact that setting at 420 min the sampling time for 1 mol dm^{-3} of formic acid, E reached a value of 260.

Finally with regard to the pH change in the acceptor solution, it can be deduced from the E values obtained in Fig. 3 that the proton gradient did not completely vanished since considering both the stoichiometry of exchange between H^+ and Pb(II) and the proton reservoir amount, much higher E values would be expected in the case of total exchange (see Section 3.3.1).

3.2. Evaluation of module performance

3.2.1. Influence of donor pH

Calibration of the sampling device requires knowledge of the dependence of the enrichment factor on sample pH. To perform a more detailed analysis of this parameter in terms of its real values and confirm the conclusions obtained from the Doehrlert experimental design pointed out above, E was measured as a function of donor pH in a region in which the response shows nearly a linear behavior (code value of the acceptor solution < -0.2 in Fig. 2) in the following conditions: $[Pb(II)] = 3.4 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, $[MES] = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, $[HCOOH]_{tot} = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$, pH 3; [Kelex

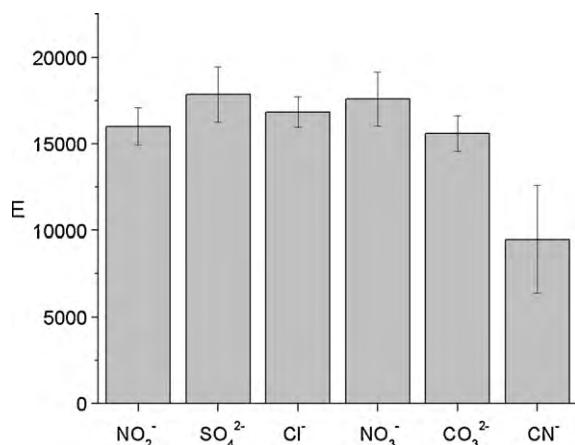


Fig. 5. Influence of inorganic anions on E . Donor solution: $[\text{Pb(II)}] = 3.1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$, $[\text{anions}] = 50 \text{ mg dm}^{-3}$ (except $[\text{CN}^-] = 5 \text{ mg dm}^{-3}$), $[\text{MES}] = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 6.6; acceptor solution: $[\text{HCOOH}]_{\text{tot}} = 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 2.2; $[\text{Kelex 100}]_{\text{tot}} = 0.03 \text{ mol dm}^{-3}$; sampling time: 300 min.

$100]_{\text{tot}} = 0.03 \text{ mol dm}^{-3}$. It was found that the linear equation (3) ($r^2 = 0.9976$):

$$E = -808.9 + 148.5 \text{ pH} \quad (3)$$

described well such dependency in the 5.7–7.0 pH interval, while a second order polynomial function fits well experimental results up to pH 7.7.

3.2.2. Influence of concomitant metal ions

The influence of $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ of Cu(II), Zn(II), Ni(II), Cd(II), Co(II), or Cr(VI) on Pb(II) enrichment factor was analyzed to evaluate the possible interference of these elements under optimized lead transport conditions (donor solution: pH 6.6; acceptor solution: $[\text{HCOOH}]_{\text{tot}} = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 2.2; sampling time: 120 min). Once the one-way ANOVA was performed, no significant effect of these ions was observed (p -value: 0.2027, $\alpha = 0.05$).

3.2.3. Influence of the presence of different ligands

3.2.3.1. Hydrophilic labile complexes. Although the free metal ion may be the only species transported by the carrier across the membrane, labile complexes, i.e., those which can dissociate and recombine many times during their transport in the source diffusion layer can dissociate at the interface and contribute to the overall flux. For such reason experiments with different inorganic anions (NO_2^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} , and CN^-) capable of forming complexes of different strengths with the target cation were conducted to evaluate their contribution to permeation. From Fig. 5 a notorious increase in E is observed in comparison with the values previously obtained. As the maximum value of the enrichment factor considering total depletion of lead is about 17 000, a disturbing effect is clearly noticed in the solution with the presence of such anions as the metal content in the donor solution practically totally decreases, i.e., the negligible depletion condition is not obeyed. This fact indicates an enhancement in the extraction rate of lead due to both the fast water-exchange kinetics of this ion ($k_{\text{water}} = 7 \times 10^9 \text{ s}^{-1}$ [25]) and the formation of rather labile complexes with the anions present in solution that should catalyze the exchange of water molecules. A similar enhancement in the extraction rate of iron(III) when chloride ions were added to the aqueous phase has been observed in solvent extraction with β -diketones and attributed to the faster formation of the metal-extractant aqueous complex when iron-chloride complexes were preformed in the aqueous phase [26]. This dependence of the sampling rate of lead on the presence of different anions has been previously observed

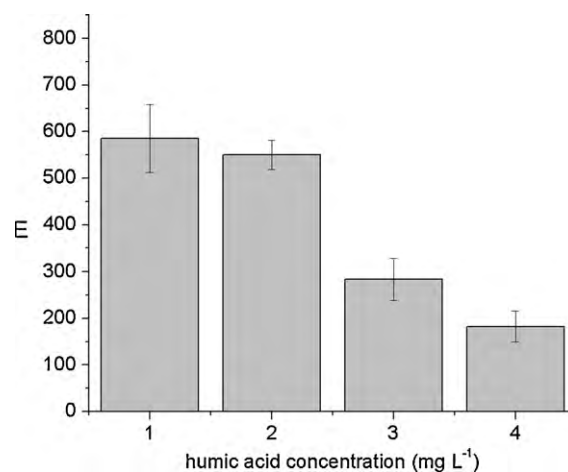


Fig. 6. Influence of humic acid complexes on E . Donor solution: $[\text{Pb(II)}] = 1.2 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, $[\text{MES}] = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 6.6; acceptor solution $[\text{HCOOH}]_{\text{tot}} = 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 2.2; $[\text{Kelex 100}]_{\text{tot}} = 0.03 \text{ mol dm}^{-3}$; sampling time: 300 min.

in a system which uses as carrier a mixture of a crown ether and a commercial organophosphorous compound [18].

3.2.3.2. Hydrophobic inert complexes. As dissolved natural organic material (NOM), which is found in drinking water sources at levels generally between 2 and 15 mg of dissolved organic carbon (DOC) per liter [27–30], may be present in real samples, the effect of the occurrence of strong complexes in the donor phase was studied using humic acid at different concentrations as model compound (Fig. 6). Results indicated negligible depletion of the metal ion (<0.3%) and a reduction in the enrichment factor with the increase in humic acid concentration, as expected for the strong masking effect of this ligand. This result agrees with the previously reported observations in similar systems [18,31,32].

3.2.4. Influence of lead concentration

Table 3 collects the results obtained when studying the influence of the concentration of the target ion on its enrichment. An increase in E with the decrease in lead concentration up to a point in which the metal ion is in a high extent depleted from the solution was observed. This increase in E with the decrease in lead concentration agrees with previously reported observations in a similar system that employs a mixture of two extractants [18] and points out once again towards the kinetically controlled regimen governing lead sampling which is strongly affected by variations in sample composition.

3.2.5. Influence of temperature

The influence of the temperature of the donor phase was studied within the 15–35 °C (288.15–308.15 K) range (donor solution: $[\text{Pb(II)}] = 4.5 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$, $[\text{MES}] = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 7; acceptor solution: $[\text{HCOOH}]_{\text{tot}} = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 3). A linear

Table 3

Influence of lead concentration on its enrichment factor. Donor solution: $[\text{MES}] = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 6.6; acceptor solution $[\text{HCOOH}]_{\text{tot}} = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 2.2; $[\text{Kelex 100}]_{\text{tot}} = 0.03 \text{ mol dm}^{-3}$; sampling time: 120 min.

$[\text{Pb(II)}] (\text{mol L}^{-1})$	E
7.4×10^{-6}	580
7.2×10^{-7}	1490
4.6×10^{-8}	3350
1.9×10^{-9}	12 340
1×10^{-10}	16 680

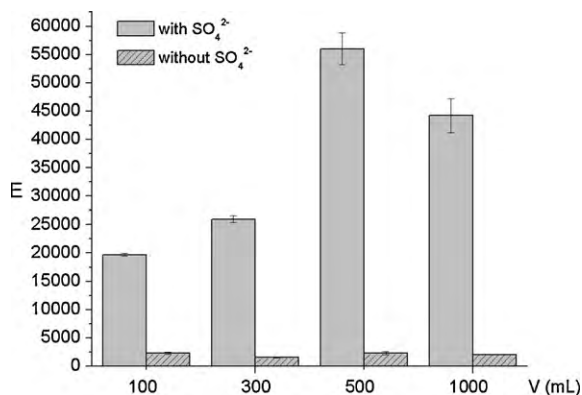


Fig. 7. Influence of sample volume on E in the presence and absence of labile complexes. Donor solution: $[Pb(II)] = 3.1 \times 10^{-7} \text{ mol dm}^{-3}$, $[\text{sulfate}] = 50 \text{ mg dm}^{-3}$, $[\text{MES}] = 0.01 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 6.6; acceptor solution: $[\text{HCOOH}]_{\text{tot}} = 0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ at pH 2.2; $[\text{Kelex 100}]_{\text{tot}} = 0.03 \text{ mol dm}^{-3}$; sampling time: 300 min.

increase in E as temperature increases was observed. The equation describing such dependency is ($r^2 = 0.994$):

$$E_e^{\text{Pb}}(K) = -3136.9 + 11.4T \quad (4)$$

This behavior may be explained considering rather an increase in the mobility of the migrating species or an increase in the rate of the chemical reactions responsible for permeation as temperature increases. In order to further characterize the transport regime involved an evaluation of the activation energy was performed in the following section.

3.3. Characterization of permeation through the sampling module

3.3.1. Passive sampling, speciation, and conditions for negligible depletion

The increase in the maximum value of E attained in the presence of weak complexing ligands (labile complexes) at constant lead concentration, e.g., $7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, in comparison to the maximum value of E obtained in the presence of free ionic species of lead, i.e., Pb^{2+} , may be related to a change in the rate-determining step in the permeation regimen. Through this change the transport kinetics control is displaced from the donor to the acceptor phase, making the role that the latter phase has in the overall permeation process more important. As shown above the presence of strong complexing ligands in the donor phase (inert complexes) causes a reduction in E in comparison to the maximum value of E obtained with Pb^{2+} which is proportional to ligand concentration. In this form it is interesting to point out that the system is able to make a clear distinction between free, labile species and inert complexes of lead based on the maximum values of E that the module can attain allowing speciation capabilities. To the best of our knowledge varying the flow rate and hence the diffusion layer thickness in the donor solution in a flow-through PLM is the only reported method to differentiate between complexes of different labilities in PLMs [3] so that the developed system represents an interesting alternative to perform such discrimination based on a different approach. To evaluate the impact of the catalyzing effect in terms of the amount of lead depleted from the source solution, experiments in which the volume of this phase was varied were performed. As observed from Fig. 7, no variation in E was observed when the source volume varied between 100 and 1000 cm^3 in a system containing the analyte in the absence of weak complexing ligands. Sample depletion ranged from 60% (100 cm^3) to 6% (1000 cm^3). In the presence of a representative ligand, sulfate, E increases due to the increase in sampling rate promoted by the catalyzing effect as seen in the same figure. Sample

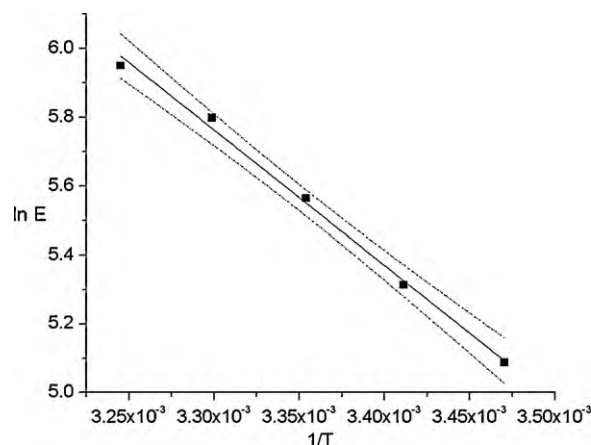


Fig. 8. Arrhenius plot from which the activation energy, E_a , of the permeation process was evaluated (dot lines stand for 95% confidence interval).

depletion diminishes from 98% (100 cm^3) to 22% (1000 cm^3) indicating clearly that negligible depletion conditions should only be established until proton gradient vanishes, i.e., as sample volume increases and the amount of analyte is no longer the limiting factor but the driving force of the process, e.g., when the module is operated in lakes, rivers, etc. Under such conditions the maximum enrichment factor value that the sample module can attain will be observed.

3.3.2. Transport regime

Lead concentration in the acceptor solution is related to its flux through the membrane according to the equation:

$$J_{\text{acceptor}} = PC_{\text{acceptor}} \quad (5)$$

where P is the permeability coefficient [33].

Combining Eq. (5) with the definition of E gives:

$$E = \frac{C_{\text{acceptor}}}{C_{\text{donor}}} = \frac{J_{\text{acceptor}}}{PC_{\text{donor}}} = \frac{J_{\text{acceptor}}}{k} \quad (6)$$

In the above equation k is a constant term due to the fact that negligible depletion of the metal can occur under given experimental conditions (as demonstrated before) and that there is no variation in P because of the low concentration of lead in the donor phase [33]. Thus taking into account Eq. (6) it is possible to fit the dependency of E on temperature to an Arrhenius-type equation [34]:

$$J_{\text{acceptor}} = J_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) = kE \quad (7)$$

where E_a is the apparent activation energy, R the universal gas constant ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T the temperature in Kelvin, and J_0 is the pre-exponential factor. From Fig. 8 a value of 32.7 kJ mol^{-1} for E_a was calculated. As in general the activation energy of a physical process is less than 20 kJ mol^{-1} while that of a chemical process exceeds 40 kJ mol^{-1} [35] the value obtained suggests that the permeation rate might be controlled by a mixed diffusional-kinetic regime, i.e., one or more of the chemical steps of the reaction mechanism proceed with a velocity that is comparable with that of the diffusional processes through the interfacial films and the membrane.

4. Conclusions

Lead(II) passive sampling from aqueous solutions using a hollow fiber supported liquid membrane device containing the selective carrier Kelex 100 was successfully achieved. Optimal conditions for operation of the device were observed when the hollow fiber was

impregnated using mode III, Kelex 100 concentration was within the 12–47 mmol dm⁻³ range and the acceptor pH solution was 2.2. No influence of the length of the fiber on the enrichment factor *E* was observed within the range 15–100 cm. The response of the system strongly depended on the composition (formic or citric acid) and concentration of the acceptor phase. An increase in the time needed to establish a stationary regimen in *E* with the increase in formic or citric acid concentrations in the acceptor solution was noticed in both cases with an increase in *E* as concentration increases. As for evaluation of module performance, a linear equation described well the dependency of sample pH on *E* in the 5.7–7.0 interval, the presence of 1 × 10⁻⁶ mol dm⁻³ of Cu(II), Cr(VI), Co(II), Cd(II), Ni(II), or Zn(II) did not interfere in Pb(II) enrichment factor, 50 mg dm⁻³ of anions capable of forming labile complexes (NO₂⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻, CO₃²⁻) and 5 mg dm⁻³ of CN⁻ produced a catalyzing effect in the permeation rate, which increases as lead concentration diminishes, and the presence of strong humic acid inert complexes in the donor phase caused a reduction in *E*, which additionally increases linearly as temperature increases. The system pre-concentrates lead with *E* values high enough for its use in the monitoring of extremely low concentrations with conventional equipment, as FAAS. Furthermore results showed that system's respond depends on the chemical species present in the sample differentiating among free, labile and inert complexes of lead based on the maximum value of *E* allowing it to be used for speciation purposes; however, calibration of the device may be difficult to achieve due to the mixed diffusional-kinetic regime governing lead permeation (calculated activation energy 32.7 kJ mol⁻¹) which is strongly affected by variations in sample composition. As speciation-based models for predicting metal flux through PLM in pH-driven systems which consider such counter-transport of protons have not yet been developed, further work is required in this area.

Acknowledgements

Authors wish to thank financial support provided by CONACYT project 80169. A.N. Bautista-Flores expresses her gratitude to CONACYT for the Ph.D. scholarship.

References

- [1] J. Buffle, N. Parthasarathy, N.-K. Djane, L. Matthiasson, Permeation liquid membranes for field analysis and speciation of trace compounds in waters, in: J. Buffle, G. Horvai (Eds.), *In Situ Monitoring of Aquatic Systems: Chemical Analysis and Speciation*, IUPAC Series in Analytical and Physical Chemistry of Environmental System, vol. 6, John Wiley & Sons, Chichester, 2000.
- [2] E. Tipping, S. Lofts, A.J. Lawlor, Modelling the chemical speciation of trace metals in the surface waters of Humber system, *Sci. Total Environ.* 210/211 (1998) 63–77.
- [3] P. Gunkel-Grillon, J. Buffle, Speciation of Cu(II) with a flow-through permeation liquid membrane: discrimination between free copper, labile and inert Cu(II) complexes, under natural water conditions, *Analyst* 133 (2008) 954–961.
- [4] N. Parthasarathy, M. Pelletier, J. Buffle, Permeation liquid membrane for trace metal speciation in natural waters. Transport of liposoluble Cu(II) complexes, *J. Chromatogr. A* 1025 (2004) 33–40.
- [5] A.L. Nolan, M.J. McLaughlin, S.D. Mason, Chemical speciation of Zn, Cd, Cu, and Pb in pore waters of agricultural and contaminated soils using Donnan dialysis, *Environ. Sci. Technol.* 37 (2003) 90–98.
- [6] D.B. Senn, S.B. Griscom, C.G. Lewis, J.P. Galvin, M.W. Chang, J.P. Shine, Equilibrium-based sampler for determining Cu²⁺ concentrations in aquatic ecosystems, *Environ. Sci. Technol.* 38 (2004) 3381–3386.
- [7] L.B. Persson, G.M. Morrisson, J.-U. Friemann, J. Kingston, G. Mills, R. Greenwood, Diffusional behaviour of metals in a passive sampling system for monitoring aquatic pollution, *J. Environ. Monit.* 3 (2001) 639–645.
- [8] H. Zhang, W. Davison, Direct in situ measurements of labile inorganic and organically bound metal species in synthetic solutions and natural waters using diffusive gradients in thin films, *Anal. Chem.* 72 (2000) 4447–4457.
- [9] V.I. Slaveykova, N. Parthasarathy, J. Buffle, K.J. Wilkinson, Permeation liquid membrane as a tool for monitoring bioavailable Pb in natural waters, *Sci. Total Environ.* 328 (2004) 55–68.
- [10] N. Parthasarathy, M. Pelletier, J. Buffle, Hollow fiber based supported liquid membrane: a novel analytical system for trace metal analysis, *Anal. Chim. Acta* 350 (1997) 183–195.
- [11] R. Romero, J.-f. Liu, P. Mayer, J.Á. Jönsson, Equilibrium sampling through membranes of freely dissolved copper concentrations with selective hollow fiber membranes and the spectrophotometric detection of a metal stripping agent, *Anal. Chem.* 77 (2005) 7605–7611.
- [12] W.G. Brumbaugh, J.D. Petty, J.N. Huckins, S.E. Manahan, Stabilized liquid membrane device (SLMD) for passive, integrative sampling of labile metals in water, *Water Air Soil Pollut.* 133 (2002) 109–119.
- [13] N. Parthasarathy, M. Pelletier, J. Buffle, Transport of lipophilic ligands through permeation liquid membrane in relation to natural water analysis, *J. Membr. Sci.* 309 (2008) 182–188.
- [14] S. Bayen, J.K. Wilkinson, J. Buffle, The permeation liquid membrane as a sensor for free nickel in aqueous samples, *Analyst* 132 (2007) 262–267.
- [15] G. Lockitch, Perspectives on lead toxicity, *Clin. Biochem.* 26 (1993) 371–381.
- [16] F. Pena-Pereira, I. Lavilla, C. Bendicho, Miniaturized preconcentration methods based on liquid-liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: a review, *Spectrochim. Acta B* 64 (2009) 1–15.
- [17] S. Dadfarnia, A.M.H. Shabani, Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals—a review, *Anal. Chim. Acta* 658 (2010) 107–119.
- [18] E. Rodríguez de San Miguel, J.-f. Liu, P. Mayer, J.Á. Jönsson, Multivariate analysis of selected metal ion transport through a hollow-fiber supported liquid membrane device used for passive sampling monitoring, *Solvent Extr. Ion Exch.* 26 (2008) 602–623.
- [19] J.-f. Liu, J.Á. Jönsson, Equilibrium sampling through membranes of freely dissolved chlorophenols in water samples with hollow fiber supported liquid membrane, *Anal. Chem.* 77 (2005) 4800–4809.
- [20] J.C. Aguilar, M. Sánchez-Castellanos, E. Rodríguez de San Miguel, J. de Gyves, Cd(II) and Pb(II) extraction and transport modeling in SLM and PIM system using Kelex 100 as carrier, *J. Membr. Sci.* 190 (2001) 107–118.
- [21] H. Matsumiya, R. Ohkouchi, M. Hiraide, A water-in-oil emulsion containing Kelex-100 for the speciation analysis of trace heavy metals in water, *Anal. Chim. Acta* 556 (2006) 438–443.
- [22] S.L.C. Ferreira, W.N.L. dos Santos, C.M. Quintella, B.B. Neto, J.M. Bosque-Sendra, Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry—review, *Talanta* 63 (2004) 1061–1067.
- [23] A. Ringbom, *Complexation in Analytical Chemistry. A Guide for the Critical Selection of Analytical Methods Based on Complexation in Analytical Chemistry*, Interscience Publisher, USA, 1963.
- [24] I. Puigdomenech, MEDUSA (Make Equilibrium Diagrams Using Sophisticated Algorithms) Software. Inorganic Chemistry, Royal Institute of Technology, Stockholm, Sweden, 2004.
- [25] F.M.M. Morel, J.G. Hering, *Principles and Applications of Aquatic Chemistry*, Wiley, New York, 1993.
- [26] P.R. Danesi, R. Chiarizia, C.F. Coleman, The kinetics of metal solvent extraction, *Crit. Rev. Anal. Chem.* 10 (1980) 1–125.
- [27] C. Hepplewhite, G. Newcombe, D.R.U. Knappe, NOM and MIB, who wins in the competition for activated carbon adsorption sites? *Water Sci. Technol.* 49 (2004) 257–265.
- [28] J. Michałowski, P. Hałaburda, A. Kojło, Determination of humic acid in natural waters by flow injection analysis with chemiluminescence detection, *Anal. Chim. Acta* 438 (2001) 143–148.
- [29] G. Baratti Magdaleno, N. Coichev, Chemiluminescent determination of humic substances based on the oxidation by peroxymonosulfate, *Anal. Chim. Acta* 552 (2005) 141–146.
- [30] L.E. Doing, K. Liber, influence of dissolved organic matter on nickel bioavailability and toxicity to *Hyalella azteca* in water-only exposures, *Aquat. Toxicol.* 76 (2006) 203–216.
- [31] T. Trti-Petrovi, J.Á. Jönsson, Application of SLM extraction for investigation of metal-humic acid bindings, *Desalination* 148 (2002) 247–251.
- [32] K. Ndungu, M.P. Hurst, K.W. Bruland, Comparison of copper speciation in estuarine water measured using analytical voltammetry and supported liquid membrane techniques, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 3166–3175.
- [33] P.R. Danesi, Separation of metal species by supported liquid membranes, *Sep. Sci. Technol.* 19 (1984–1985) 857–894.
- [34] M.D. Kurkuri, T.M. Aminabhavi, Polyacrylonitrile-g-poly(vinyl alcohol) membranes for the pervaporation separation of dimethyl formamide and water mixtures, *J. Appl. Polym. Sci.* 91 (2004) 4091–4097.
- [35] I.-H. Lee, Y.-J. Wang, J.-M. Chern, Extraction kinetics of heavy metal-containing sludge, *J. Hazard. Mater.* B123 (2005) 112–119.

Article

Nickel (II) Preconcentration and Speciation Analysis During Transport from Aqueous Solutions Using a Hollow-fiber Permeation Liquid Membrane (HFPLM) Device

Ana Nelly Bautista-Flores ¹, Eduardo Rodríguez de San Miguel ^{2,*}, Josefina de Gyves ² and Jan Åke Jönsson ³

¹ Química Industrial, Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz, Av. Universidad Tecnológica Lote Grande #1, Nanchital 93770, Veracruz, Mexico; E-Mail: bafa27@hotmail.com

² Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, UNAM, Ciudad Universitaria, México 04510, D.F., Mexico; E-Mail: degyves@unam.mx

³ Center for Analysis and Synthesis, Department of Chemistry, Lund University, P.O. Box 124, Lund, SE-221 00, Sweden; E-Mail: Jan_Ake.Jonsson@organic.lu.se

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: erdsmg@unam.mx; Tel.: +525-556-223-792; Fax: +525-556-223-723.

Received: 23 May 2011; in revised form: 27 July 2011 / Accepted: 12 August 2011 /

Published: 18 August 2011

Abstract: Nickel (II) preconcentration and speciation analysis using a hollow fiber supported liquid membrane (HFSLM) device was studied. A counterflow of protons coupled to complexation with formate provided the driving force of the process, while Kelex 100 was employed as carrier. The influence of variables related to module configuration (acceptor pH and carrier concentration) and to the sample properties (donor pH) on the preconcentration factor, E, was simultaneously studied and optimized using a 3 factor Doehlert matrix response surface methodology. The effect of metal concentration was studied as well. Preconcentration factors as high as 4240 were observed depending on the values of the different variables. The effects of the presence of inorganic anions (NO_2^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} , CN^-) and dissolved organic matter (DOM) in the form of humic acids were additionally considered in order to carry out a speciation analysis study. Nickel preconcentration was observed to be independent of both effects, except when cyanide was present in the donor phase. A characterization of the transport regime was performed through the analysis of the dependence of E on the temperature. E increases with the increase in temperature according to the equation $E(K) = -8617.3 + 30.5T$ with

an activation energy of 56.7 kJ mol^{-1} suggesting a kinetic-controlled regime. Sample depletion ranged from 12 to 1.2% depending on the volume of the donor phase (100 to 1000 mL, respectively).

Keywords: nickel; preconcentration; speciation analysis; bioavailability; permeation liquid membrane; hollow fiber

1. Introduction

Nickel is an essential metal for plants and some animals, and it is widely distributed in the environment. This element enters aquatic ecosystems by dissolution of rocks and soils, atmospheric precipitation and biological cycles. Also, the high consumption of nickel products in industrial activities (electroplating, stainless steel manufacture, and nickel–cadmium batteries) and the disposal of residual waters lead inevitably to environmental pollution with this metal ion. Human exposure to nickel occurs primarily via inhalation and ingestion, being common among metallurgy workers. The accumulation of nickel in the body through chronic exposure can lead to lung fibrosis, cardiovascular and kidney diseases; the most serious concern is related to carcinogenic activity [1].

Natural waters (pristine streams, rivers and lakes) contain $0.2\text{--}10 \mu\text{g L}^{-1}$ total dissolved nickel and surface water near mines and smelters contains up to 6.4 mg L^{-1} . Coastal, bay and estuary waters contain nickel concentrations from about 0.20 to $5.3 \mu\text{g L}^{-1}$ and ocean surface water contains $0.15\text{--}0.93 \mu\text{g L}^{-1}$ [2]. However, these concentrations tend to increase due to contamination; for example, the concentration of nickel in the Mersey estuary in Ukraine has been reported between 0.59 and $13.5 \mu\text{g L}^{-1}$ [3]. In spite of the determination of total metal concentrations being a common practice, nowadays it is accepted that the bioavailability and toxicity of metal ions cannot be predicted from this parameter alone, but rather from the concentration of several chemical species and the free ion [4]. Therefore, speciation studies of metal ions are highly important to understand their ecotoxicological impact. Concerning speciation studies, it is important to distinguish two different concepts related to the speciation of the elements: speciation and speciation analysis. Speciation refers to the distribution of an element among defined chemical species while speciation analysis refers to analytical activities oriented to identify and/or measuring species [5].

Several techniques have been developed for speciation studies of nickel in aqueous solutions; among them competing ligand-exchange methods [6–8], ion exchange [9], diffusion gradients in thin films [8,10,11], capillary electrophoresis [12], and membrane-based techniques (ultrafiltration [11], Donnan membrane technique [8,13], and liquid membranes [8,14,15]). The latter techniques offer excellent performance using simple equipment and the reliability of their results for some metal ions and organic pollutants has been favorably compared with bioavailability tests using model microorganisms [16,17].

Supported liquid membranes (SLM), also named permeation liquid membranes (PLM) to emphasize the transport process rather than their implementation in a defined set-up, were developed within the hydrometallurgical industry and can also be used for the simultaneous separation and enrichment of metals in analytical methods. Their use as preconcentration devices for metal ions has

been well documented [18]. In this context, Aouarram *et al.* [19] have reported a bulk SLM system that, under optimal conditions, showed an average preconcentration yield for real seawater samples of $98 \pm 5\%$, with a nickel preconcentration factor of 20.83 and metal concentrations ranging between 2.8 and $5.4 \mu\text{g L}^{-1}$ using a synthesized carrier. Moreover, Domínguez-Lledó *et al.* [2] have reported a bulk SLM system using pyridine-2-acetaldehyde benzoylhydrazone as carrier for nickel. The preconcentration was achieved through pH control of source and receiving solutions via a counterflow of protons. High transport efficiencies ($101.2 \pm 1.8\%$ – $99.7 \pm 4.2\%$) were obtained in a receiving phase of 0.31 mol L^{-1} nitric acid after 9–13 h depending on sample salinity. Furthermore, special characteristics of SLM systems, e.g., tunable selectivity by incorporating different complexing ligands in the membrane, lability control by changing the hydrodynamic conditions, the possibility of coupling the SLM devices to different types of detectors for *in-situ* monitoring, and their high tolerance to fouling in high dissolved organic matter (DOM) matrices [20–23], make them suitable for the study of trace metal speciation in natural waters as well.

Bayen *et al.* selected a mixture containing 1,10-didecyl-1,10-diaza-18-crown-6 ether (22DD) and di(2-ethylhexyl) phosphoric acid (D2EHPA) in toluene/phenylhexane as the optimized organic phase in order to determine free Ni^{2+} in the presence of Ni complexes in a flat PLM [14]. This PLM system was shown to be a reliable tool to measure free nickel concentrations down to 10^{-7} M . In another work [24] a mixture of 1,10-dibenzyl-1,10-diaza-18-crown-6 and bis(2-ethylhexyl) phosphate dissolved in hexylbenzene was used for passive sampling of ppb levels of Pb(II), Cu(II), Zn(II), Mn(II), Ni(II), and Cd(II) in water. The target ions were simultaneously transported and preconcentrated into a citric acid acceptor solution within the lumen of a hollow fiber with enrichment factors of 5 to 4000. Nickel showed the lowest enrichment factors. To the best of our knowledge, only the latter study has been reported up to now for the preconcentration and speciation analysis of nickel through an SLM in a hollow fiber configuration in spite of the excellent performance characteristics of these devices.

Consequently, in the present work Ni(II) transport through a hollow fiber permeation liquid membrane (HFPLM) device is studied employing the carrier Kelex 100 (7-(4-ethyl-1-methyloctyl)-8-hydroxyquinoline). This extractant was selected due to its excellent extraction performance towards Ni in solid-phase extraction cartridges [25], together with its ability to exchange protons, so that the driving force for permeation could be related to the pH gradient between the acceptor and donor phases. Proton-driven systems have shown advantages over sodium-driven ones in Estuarine Water samples with high sodium concentrations [20]; however, few reports concerning the feasibility of use and performance of such systems exist in the actual literature. The influence of different variables that affect the transport properties of the sampling module including some environmental factors are evaluated to contribute in the understanding of the methodological approach for speciation analysis with HFPLM devices.

2. Results and Discussion

2.1. Pertraction Time

Using preliminary established conditions (donor phase: $6.6 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ Ni(II) at pH 7 adjusted with 0.01 mol L^{-1} MES; acceptor phase: 0.01 mol L^{-1} HCOOH at pH 1; membrane phase: 0.03 mol L^{-1}

Kelex 100 in n-hexyl-benzene; orbital shaking) the time-depending profile of the preconcentration factor, E , defined as $E = [\text{Ni(II)}]_{\text{acceptor}}/[\text{Ni(II)}]_{\text{donor}}$, was measured. It was observed that after 240 min a constant value was obtained and further experiments were performed using 300 min of pertraction time.

2.2. Optimization of Module Intrinsic Parameters

As the HFSLM device is expected to operate in conditions where the donor solution phase is not under experimental control, e.g., sampling of natural environments as rivers and lakes, the intrinsic variables of the module that can actually be beforehand conditioned are the membrane phase and acceptor solution compositions. However, it is important that under the selected values of these variables the device works properly for different donor pH values. Thus, to simultaneously evaluate the effect of both the experimentally-controlled (carrier concentration and acceptor pH) and the environmentally-imposed (donor pH) variables, an analysis and optimization procedure, using a three-variable Doehlert matrix response surface methodology, were carried out [26]. Response surface methodology is a collection of mathematical and statistical techniques based on the fit of a polynomial equation to the experimental data, which must describe the behavior of a data set with the objective of making statistical previsions. It can be well applied when a response or a set of responses of interest are influenced by several variables. The objective is to simultaneously optimize the levels of these variables to attain the best system performance [27]. Doehlert is a second-order experimental design which defines a specific set of combinations for the levels of variables (design matrix) that must be applied experimentally to obtain the response. For studying the effect of three variables, a plausible experimental matrix including 5, 7, and 3 levels for the variables is shown in Table 1 using coded values. Coding is a simple linear transformation of the original measurement scale that enables simplification in data treatment and evaluation. The relationship between coded and real values of the variables is given by:

$$C_i = \left\{ \frac{X_i - X_i^0}{\Delta X_i} \right\} \theta \quad (1)$$

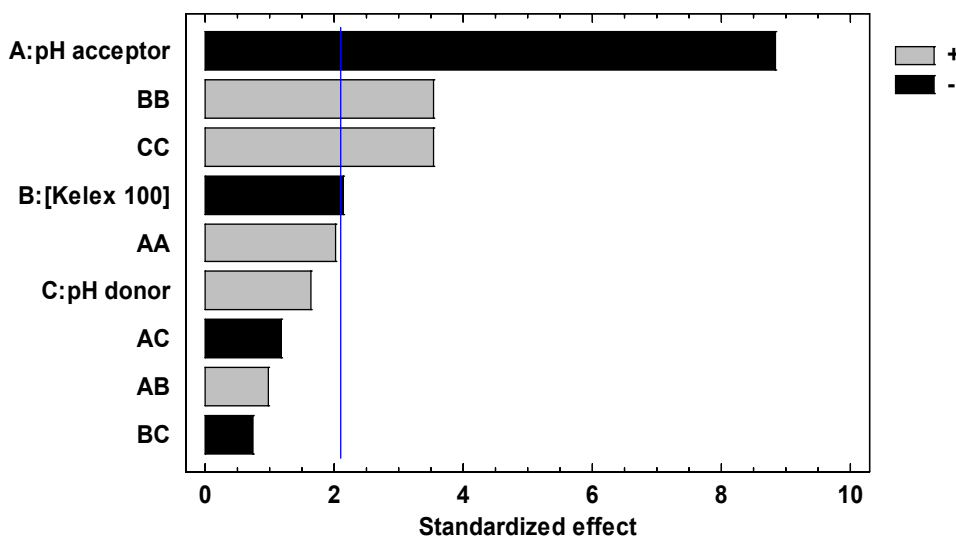
where C_i is the coded value for the level of factor i , X_i is its real value in an experiment, X_i^0 is the real value at the center of the experimental domain, ΔX_i is the step of variation of the real value, and θ is the coded value limit for each factor [26]. The acceptor pH was varied in the 1.0–5.0 interval (column A, coded values from -1 to 1), Kelex 100 concentrations were varied in the range 12–47 mmol L⁻¹ (column B, coded values from -0.866 to 0.866), and the donor phase was varied in the 5.6–7.4 interval (column C, coded values from -0.817 to 0.817).

After performing the 13 experiments of the Doehlert matrix in the specified coded levels of the three variables in duplicate, and measuring E as response, the pareto chart (Figure 1) and ANOVA analysis (not shown) indicated that all variables significantly contributed to E . According to the figure, at least three effects (A, BB, and CC) are higher than the experimental error denoted by the vertical line indicating its 95% confidence interval.

Table 1. Doehlert matrix employed for studying the simultaneous effect of the acceptor pH, donor pH, and Kelex 100 concentration on Ni(II) enrichment factor, E.

Experiment	(A) acceptor pH	(B) [Kelex 100]	(C) donor pH
1	0	0	0
2	1	0	0
3	0.5	0.866	0
4	0.5	0.289	0.817
5	-1	0	0
6	-0.5	-0.866	0
7	-0.5	-0.289	-0.817
8	0.5	-0.866	0
9	0.5	-0.289	-0.817
10	-0.5	0.866	0
11	0	0.577	-0.817
12	-0.5	0.289	0.817
13	0	-0.577	0.817

Figure 1. Pareto chart showing the main effects (A: acceptor pH) and interactions of the variables (BB: Kelex 100 concentration, and CC: donor pH) that significantly contribute to E, according to the results of the experimental design matrix shown in Table 1.



In Figure 1, A stands for the effect of the acceptor pH, while BB and CC represent interaction terms that give rise to Kelex 100 concentration and donor pH quadratic terms in the fitted coded modeling equation:

$$E = 138.9 - 246.6pH_{acceptor} + 164.4 [Kelex\ 100]^2 + 141.3pH_{donor}^2 \quad (2)$$

The pH of the acceptor solution contributes as a main effect (linear term) and its increment tends to decrease the E value, according to what is expected, taking into account the reduction in the transport driving force. As for Kelex 100 concentration and the pH of the donor solution, these variables strongly interact within themselves (quadratic terms), as previously discussed, and their effects cause

an increase in E. Numerical analysis performed to find optimal conditions for maximizing E resulted in the coded values of -1 ($\text{pH} = 1$) for the acceptor pH, -0.77 (10.7 mmol L^{-1}) for Kelex 100 concentration and 0.817 ($\text{pH} = 7.4$) for the donor pH. Nonetheless, in the following experiments the pH of the acceptor phase was maintained at a value of 2.0 with the aim of avoiding high depletion of the donor phase (see below), and carrier concentration was set at 12 mmol L^{-1} , which is close to the recommended value, and represents a good compromise to sample at different pH values of the donor phase.

2.3. Hydrodynamic Conditions

The influence of different hydrodynamic regimens on E was evaluated using three different agitation forms: orbital shaking, stirring, and wrist-action shaking. The obtained values of 544 , 657 , and 447 , respectively, showed a slightly lower value when using the wrist-action shaking; however the strong shear force produced by this operation mode tend to compete with the capillary forces that maintain the organic phase within the pores of the HFSLM, making it unstable. For this reason further experiments were performed using orbital shaking. Additionally, this mode more likely reproduces the environmental situation where the module is expected to operate.

2.4. Nickel Concentration in the Donor Phase

The results of the variation of metal ion content in the donor solution are shown in Table 2. As observed, the decrease in metal content increases E. This result compares to those observed in similar systems using Ni(II) and other metal ions [24,28] and may be related to kinetics effects governing metal ion transport.

Table 2. Influence of nickel concentration on its enrichment factor. Donor phase: 0.01 mol L^{-1} MES, $\text{pH} 6.6$; acceptor phase: 0.01 mol L^{-1} HCOOH, $\text{pH} = 2$; membrane phase: 0.012 mol L^{-1} Kelex 100; 300 min of sampling time ($n = 3$).

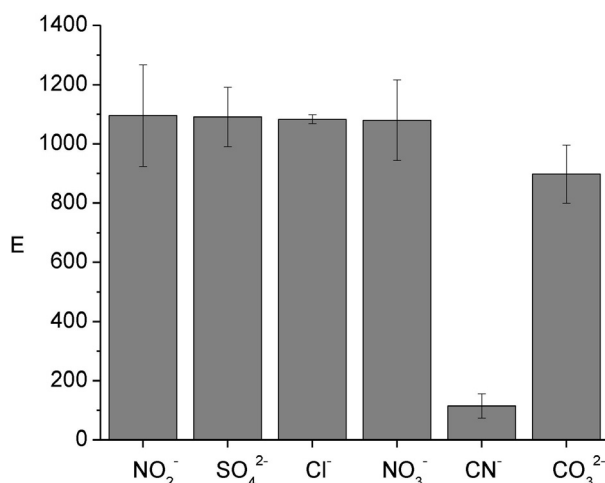
Ni(II) mol L ⁻¹	E
8.0×10^{-5}	120
1.2×10^{-5}	400
5.5×10^{-6}	1300
2.5×10^{-6}	1580
6.6×10^{-7}	3530
2.5×10^{-7}	4240

2.5. Presence of Inorganic Ions in the Donor Phase

To evaluate how E is affected by inorganic ions in the donor phase experiments in the presence of 50 mg L^{-1} of NO_2^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} and 5 mg L^{-1} of CN^- were carried out. From Figure 2 it is observed that E remains constant for all ions, except CN^- , which decreases E considerably. Taking into account the Eigen mechanism, in which formation of an outer-sphere complex is followed by the rate-limiting loss of inner-sphere coordination water of the metal [29,30], and the low value of the water exchange constant of nickel ($k = 3 \times 10^4 \text{ s}^{-1}$, [31]), a low complexation kinetics of the metal ion

is expected. Such behavior is likely to influence its speciation in natural systems [7]. However, once equilibrium is reached, the difference in the complexation constants values is responsible for the observed behavior (SO_4^{2-} , $\log \beta_1 = 2.32$; Cl^- , $\log \beta_1 = -0.21$; NO_3^- , $\log \beta_1 = -0.30$, $\log \beta_2 = -0.60$; CN^- , $\log \beta_4 = 30.22$ [32]). Clearly, cyanide forms the strongest complex of the studied anions reducing the E value due to the masking effect toward nickel, *i.e.*, it behaves as an inert complex in the system. Additional experiments also showed that the increase in cyanide content further reduces the enrichment factor. The formation of the nickel-cyanide complex has been reported to markedly reduce the toxicity of both cyanide and nickel at high concentrations in alkaline pH although at lower concentrations and acidic pH, nickel-cyanide solutions increased in toxicity by more than 1000 times, owing to dissociation of the metalocyanide complex to form hydrogen cyanide [33].

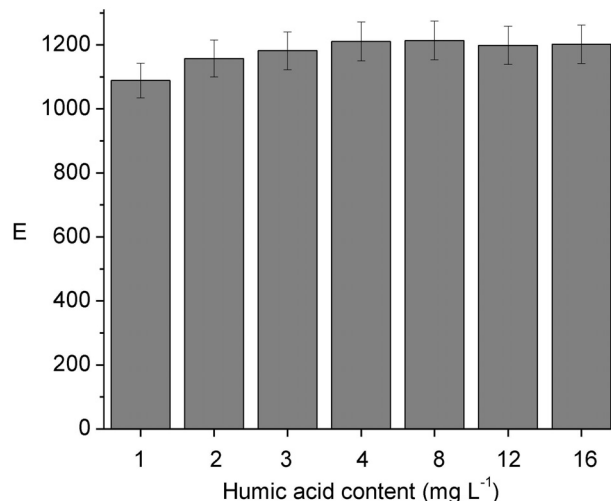
Figure 2. Influence of 50 mg L^{-1} of NO_2^- , SO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} and 5 mg L^{-1} of CN^- on the enrichment factor. Donor phase: $6.2 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ Ni(II), 0.01 mol L^{-1} MES, pH 6.6; acceptor phase: 0.01 mol L^{-1} HCOOH, pH = 2; membrane phase: 0.012 mol L^{-1} Kelex 100; 300 min of sampling time (n = 3).



2.6. Presence of Dissolved Organic Matter (DOM)

The influence of DOM on E was evaluated using humic acid (HA) as a model compound. Results from Figure 3 show no variation of E with the increase in HA concentration up to a value of 16 mg L^{-1} , which is in the upper limit to be found in drinking water sources [34–37]. Considering the lowest bonding strength to organic matter reported for Ni in comparison to other metal ions like Pb, Zn, Cu, and Cd [38] this result makes sense. Furthermore, although a decrease in the dissociation rate of Ni(II)–HA complexes is expected as the $[\text{Ni(II)}]/[\text{HA}]$ mole ratio decreases according to Guthrie *et al.* [6], the dissociation is highly dependent on pH, due to the different acid groups in HA with numerous pKa values. The absence of variation of E on the humic acid concentration also agrees with the reported evidence that increasing dissolved organic content (from approximately 1 to 30 mg L^{-1}) had no effect on the 48 h Ni LC₅₀ for H. Azteca [37].

Figure 3. Influence of DOM in the form of humic acids at variable concentrations on the enrichment factor. Donor phase: 6.2×10^{-6} mol L⁻¹ Ni(II), 0.01 mol L⁻¹ MES, pH 6.6; acceptor phase: 0.01 mol L⁻¹ HCOOH, pH = 2; membrane phase: 0.012 mol L⁻¹ Kelex 100; 300 min of sampling time.



2.7. Influence of Temperature

Temperature was varied in the 15–35 °C (288.15–308.15 K) range and its effect on E evaluated. The linear equation describing the found dependence is:

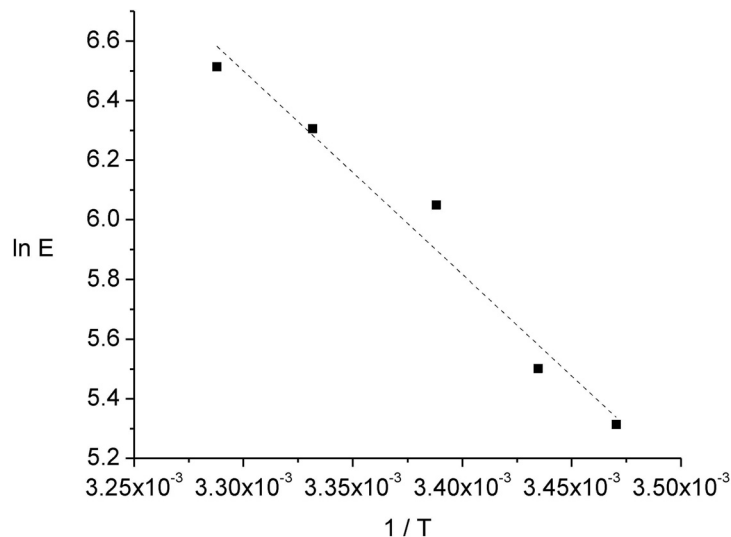
$$E(K) = -8617.3 + 30.5T \quad (r^2 = 0.992) \quad (3)$$

Equation (3) indicates an increase in E with the increase in temperature. This behavior may be explained considering an increase in the mobility of the migrating species or an increase in the rate of the chemical reactions responsible for permeation as temperature increases. To bring light upon the type of transport regime, experimental results were fitted to an Arrhenius-type equation [28,39]:

$$J_{\text{acceptor}} = J_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) = kE \quad (4)$$

where J_{acceptor} is the nickel flux entering the acceptor solution, J_0 a pre-exponential factor, E_a the apparent activation energy, R the universal gas constant ($8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), and T the temperature in Kelvin. As E is directly proportional to J_{acceptor} by the k constant [28], the E_a value can be computed at once from the $\ln E$ vs. $1/T$ plot. From Figure 4 a value of 56.7 kJ mol^{-1} was calculated. As in general the activation energy of a physical process is less than 20 kJ mol^{-1} while that of a chemical process exceeds 40 kJ mol^{-1} [40] the obtained value suggests that the permeation rate might be controlled by a kinetic regime, *i.e.*, one or more of the chemical steps of the reaction mechanism (metal dehydration, complexation/decomplexation with the carrier) is rate-determining.

Figure 4. Arrhenius-type plot from which the activation energy of the permeation process, E_a , was evaluated. Donor phase: $6.7 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ Ni(II), 0.01 mol L^{-1} MES, pH 6.6; acceptor phase: 0.01 mol L^{-1} HCOOH, pH = 2; membrane phase: 0.012 mol L^{-1} Kelex 100; 300 min of sampling time.



2.8. Influence of the Acceptor Solution pH and Concentration

Although previous results have already shown that the pH of the acceptor solution exerts a significant influence on E , due to the stagnant nature of this phase it is likely that the principal transport resistance may be related to the back-extraction rate in the kinetic regime pointed out above. This statement is also supported considering both the stoichiometry of interchange between H^+ and Ni(II) and the proton reservoir amount, which would lead to much higher E values than those observed, indicating a limitation in the proton exchange mechanism in the acceptor phase. To further confirm this assumption the kinetic profiles of E at two acceptor solution pH values and formic acid concentrations are compared in Figure 5. It is clearly observed that both the time-dependant profile of E and the maximum E value differ in each condition. As expected, an increase in the pH gradient between the acceptor and donor phases increases the enrichment; on the other hand, the increase in the complexing agent concentration in the acceptor phase favors a faster initial migration of the cation.

2.9. Sample Depletion

To be able to use the HFSLM device without disturbing the chemical composition of the sample it is important to assure its negligible depletion [4]. Results shown in Figure 6 indicate that E remains constant independent of the sample volume; sample depletion percents ranging from 12 (100 cm^3) to 1.2 (1000 cm^3) were evaluated from the analysis of the donor and acceptor pH compositions after sampling. These results ensure negligible depletion conditions (<5%) when the module is operated in lakes, rivers, etc.

Figure 5. Influence of the composition of the acceptor solution on the enrichment factor. Donor phase: 6.6×10^{-6} mol L⁻¹ Ni(II), 0.01 mol L⁻¹ MES, pH 6.6; membrane phase: 0.012 mol L⁻¹ Kelex 100; acceptor phase: 0.01 mol L⁻¹ HCOOH, pH = 1 (A), and 0.1 mol L⁻¹ HCOOH, pH = 2 (B).

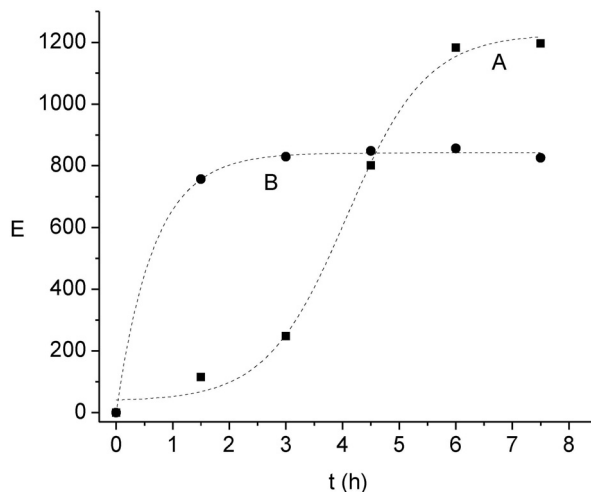
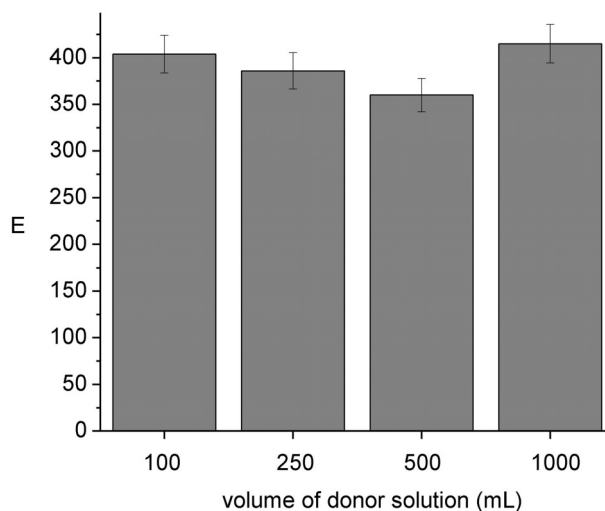


Figure 6. Influence of the sampling volume on the enrichment factor. Donor phase: 1.2×10^{-5} mol L⁻¹ Ni(II), 0.01 mol L⁻¹ MES, pH 6.6; acceptor phase: 0.01 mol L⁻¹ HCOOH, pH = 2; membrane phase: 0.012 mol L⁻¹ Kelex 100; 300 min of sampling time.



3. Experimental Section

3.1. Reagents and Apparatus

Nickel(II) donor solutions were prepared by dilution from an atomic spectroscopy standard (Fisher Scientific, Waltham, MA, USA); sodium nitrite (Merck, Darmstadt, Germany), sodium sulfate (Mallinckrodt Baker, Lopatcong Township, NJ, USA), sodium chloride (Jalmek Científica, San Nicolás de los Garza, Monterrey, Mexico), potassium cyanide (Merck), potassium nitrate (Merck), calcium carbonate (Merck) and humic acid (ash~20, Fluka (Sigma Aldrich Corporation, St. Louis, MO, USA)) were used when the influences of inorganic anions and organic matter were studied.

Formic acid (Mallinckrodt Baker) was employed as acceptor solution. 7-(4-Ethyl-1-ethylocty)-8-hydroxyquinoline (Kelex 100, Sherex Chemical Co. Inc, Dublin, OH, USA) was employed as carrier, *i.e.*, organic ligand for Ni complexation in the membrane phase, dissolved in 1-phenylhexane (Sigma Aldrich Corporation) as organic solvent.

50/280 Accurel PP polypropylene hollow fiber tubing (50 μm wall thickness, 280 μm inner diameter and 0.1 μm pore size) was purchased from Membrana GmbH (Wuppertal, Germany) and manually cut into 15 cm-long pieces to make the membrane devices. BD Micro-Fine Syringes were employed to fill and withdraw the acceptor solution from the hollow fiber. Nitric acid (Mallinckrodt Baker), sodium hydroxide (Sigma Aldrich Corporation), and 4-morpholine ethanesulfonic acid (MES, Sigma Aldrich Corporation, pH 5.5–6.7) were used to adjust the pH of the donor solutions. Deionized water was obtained from a Milli-Q Gradient water system (Millipore, Billerica, MA, USA) and was used to prepare all solutions and to rinse all glassware after cleaning it with nitric acid for several days.

A 3100 Perkin Elmer Atomic Absorption Spectrometer (Waltham, MA, USA) allowed metal quantification in the aqueous solutions. A 211 Microprocessor pH Meter was used to adjust the pH of the donor and acceptor solutions using a 3 in 1 combo w/RJ electrode. An IKA KS 260 control S1 orbital Shaker, a Burrell 75 wrist-action shaker and a Nuova II Thermolyne stirring plate were used. Statgraphics Plus 4.0 (Statistical Graphics, Rockville, MD, USA) was employed for data analysis.

3.2. Membrane Preparation and Experimental Set-Up

SLMs were impregnated using the following sequence of steps: (i) filling the lumen of the hollow fiber with the acceptor solution, (ii) joining the ends of the module with aluminum foil and inserting into a small glass piece which acts as an anchor, (iii) dipping the hollow fiber into the solvent to form the liquid membrane, and (iv) the membrane was retracted from the organic phase and shaken manually to remove its excess. The pH of the formic acid (Mallinckrodt Baker) solutions employed as acceptor phases were fixed using nitric acid or sodium hydroxide as required, while that of the donor solution was buffered using 0.01 mol L⁻¹ MES. Once the HFPLM devices were ready, they were immersed into 100 mL of donor solution (prepared 24 h before) with fixed composition using a 500 mL recipient with rectangular shape and shaken for stated times, except in those experiments in which the volume of the source solution was varied as indicated in the text. Initial nickel concentrations were selected so that the analysis procedure of the solutions could be performed using F-AAS.

3.3. Analysis Procedure

After performing the sampling experiments, the hollow fiber module was removed, the acceptor solution flushed out with the syringe and introduced into a small test tube, weighted, diluted by weight (about 1–2 mL), and collected for further analysis by FAAS.

4. Conclusions

Nickel(II) preconcentration using a HFSLM device containing Kelex 100 as carrier and formic acid/nitric acid as acceptor phase was satisfactorily achieved. Preconcentration factors, *E*, as high as 4240, were observed depending on the experimental parameters (acceptor pH, carrier concentration,

pH of the donor phase, and nickel concentration). E was independent of the presence of 50 mg L⁻¹ of NO₂⁻, SO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻, and CO₃²⁻; although 5 mg L⁻¹ of CN⁻ diminished considerably its value. Furthermore, in the presence of up to 16 mg L⁻¹ of humic acids a constant value of E was obtained. It was observed that the increase in temperature increases E according to the equation $E(K) = -8617.3 + 30.5T$, due to the enhancement in the rate of the chemical reactions responsible for permeation. The transport process was characterized to be under kinetic control with activation energy of 56.7 kJ mol⁻¹. The stagnant nature of the acceptor phase suggests that the back-extraction kinetics play a major role, as it was confirmed in experiments in which the composition of this phase was varied. Sample depletion ranged from 12 to 1.2% depending on the volume of the donor phase (100 to 1000 cm³, respectively); accordingly, negligible depletion is expected when sampling natural samples, e.g., lakes and rivers, making the HFSLM device useful for nickel speciation analysis. Further work aimed to evaluate the analytical performance characteristics of the method and its validation is needed before applying the procedure to natural samples.

Acknowledgements

Authors wish to thank financial support provided by CONACYT project 80169. A.N. Bautista-Flores expresses her gratitude to CONACYT for the Ph.D. scholarship. E. Rodríguez de San Miguel gratefully acknowledges the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA, UNAM) of México for sabbatical financing at Lund University.

References and Notes

1. Ilic, V.; Bojanic, V.; Jovic, B. Epidemiological and pathogenetic aspects of nickel poisoning. *Acta Med. Median.* **2007**, *46*, 37–44.
2. Domínguez-Lledó, F.C.; Galindo-Riaño, M.D.; Díaz-López, I.C.; García-Vargas, M.; Granado-Castro, M.D. Applicability of a liquid membrane in enrichment and determination of nickel traces from natural waters. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *389*, 653–659.
3. Martino, M.; Turner, A.; Nimmo, M. Distribution, speciation and particle-water interactions of nickel in the Mersey Estuary, UK. *Mar. Chem.* **2004**, *88*, 161–177.
4. Buffle, J.; Parthasarathy, N.; Djane, N.-K.; Matthiasson, L. Permeation liquid membranes for field analysis and speciation of trace compounds in waters. In *in Situ Monitoring of Aquatic Systems: Chemical Analysis and Speciation (Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems)*; Buffle, J., Horvai, G., Eds.; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 2000; Volume 6, pp. 407–493.
5. Templeton, D.M.; Ariese, F.; Cornelis, R.; Danielsson, L.-G.; Muntau, H.; van Leeuwen, H.P.; Łobiński, R. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1453–1470.

6. Guthrie, J.W.; Mandal, R.; Salam, M.S.A.; Hassan, N.M.; Murimboh, J.; Chakrabarti, C.L.; Back, M.H.; Grégoire, D.C. Kinetic studies of nickel speciation in model solutions of a well-characterized humic acid using the competing ligand exchange method. *Anal. Chim. Acta* **2003**, *480*, 157–169.
7. Xue, H.B.; Jansen, S.; Prash, A.; Sigg, L. Nickel speciation and complexation kinetics in freshwater by ligand exchange and DPCSV. *Environ. Sci. Technol.* **2001**, *35*, 539–546.
8. Sigg, L.; Black, F.; Buffle, J.; Cao, J.; Cleven, R.; Davison, W.; Galceran, J.; Gunkel, P.; Kalis, E.; Kistler, D.; *et al.* Comparison of analytical techniques for dynamic trace metal speciation in natural freshwaters. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 1934–1941.
9. Cantwell, F.F.; Nielsen, J.S.; Hrudey, S.E. Free nickel ion concentration in sewage by an ion exchange column-equilibration method. *Anal. Chem.* **1982**, *54*, 1498–1503.
10. Ernstberger, H.; Zhang, H.; Tye, A.; Young, S.; Davison, W. Desorption kinetics of Cd, Zn, and Ni Measured in soils by DGT. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 1591–1597.
11. Forsberg, J.; Dahlqvist, R.; Gelting-Nyström, J.; Ingri, J. Trace metal speciation in brackish water using diffusive gradients in thin films and ultrafiltration: Comparison of techniques. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 3901–3905.
12. Carbonaro, R.F.; Stone, A.T. Speciation of Chromium(III) and Cobalt(III) (Amino)carboxylate complexes using capillary electrophoresis. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 155–164.
13. Kalis, E.J.J.; Weng, L.; Dousma, F.; Temminghoff, E.J.M.; van Riemsdijk, W.H. Measuring free metal ion concentrations *in situ* in natural waters using the donnan membrane technique. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 955–961.
14. Bayen, S.; Wilkinson, K.J.; Buffle, J. The permeation liquid membrane as a sensor for free nickel in aqueous samples. *Analyst* **2007**, *132*, 262–267.
15. López-López, J.A.; Mendiguchía, C.; Pinto, J.J.; Moreno, C. Liquid membranes for quantification and speciation of trace metals in natural waters. *Trends Anal. Chem.* **2010**, *29*, 645–653.
16. Slaveykova, V.I.; Parthasarathy, N.; Buffle, J.; Wilkinson, K.J. Permeation liquid membrane as a tool for monitoring bioavailable Pb in natural waters. *Sci. Total Environ.* **2004**, *328*, 55–68.
17. Gourlay, C.; Miege, C.; Noir, A.; Ravelet, C.; Garric, J.; Mouchel, J.-M. How accurately do semi-permeable membrane devices measure the bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna*? *Chemosphere* **2005**, *61*, 1734–1739.
18. Dadfarnia, S.; Haji Shabani, A.M. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals—A review. *Anal. Chim. Acta* **2010**, *658*, 107–119.
19. Aouarram, A.; Galindo-Riaño, M.D.; García-Vargas, M.; Stitou, M.; El Yousfi, F. A permeation liquid membrane system for determination of nickel in seawater. *Talanta* **2007**, *71*, 165–170.
20. Ndungu, K.; Hurst, M.P.; Bruland, K.W. Comparison of copper speciation in estuarine water measured using analytical voltammetry and supported liquid membrane techniques. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 3166–3175.
21. Salaun, P.; Buffle, J. Integrated microanalytical system coupling permeation liquid membrane and voltammetry for trace metal speciation. Theory and applications. *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 31–39.

22. Ueberfeld, J.; Parthasarathy, N.; Zbinden, H.; Gisin, N.; Buffle, J. Coupling fiber optics to a permeation liquid membrane for heavy metal sensor development. *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 664–670.
23. Chimuka, L. Speciation studies of metal ions in environmental and biological media using supported liquid membrane extraction. *LCGC Eur.* **2004**, *17*, 396–401.
24. Rodríguez de San Miguel, E.; Liu, J.-F.; Mayer, P.; Jönsson, J.Å. Multivariate analysis of selected metal ion transport through a hollow-fiber supported liquid membrane device used for passive sampling monitoring. *Solvent Extr. Ion Exch.* **2008**, *26*, 602–623.
25. Matsumiya, H.; Ohkouchi, R.; Hiraide, M. A water-in-oil emulsion containing Kelex-100 for the speciation analysis of trace heavy metals in water. *Anal. Chim. Acta* **2006**, *556*, 438–443.
26. Ferreira, S.L.C.; dos Santos, W.N.L.; Quintella, C.M.; Neto, B.B.; Bosque-Sendra, J.M. Doehlert matrix: A chemometric tool for analytical chemistry—Review. *Talanta* **2004**, *63*, 1061–1067.
27. Bezerra, M.A.; Erthal Santelli, R.; Padua Oliveira, E.; Silveira Villar, L.; Escaleira, L.A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta* **2008**, *76*, 965–977.
28. Bautista-Flores, A.N.; Rodríguez de San Miguel, E.; de Gyves, J.; Jönsson, J.Å. Optimization, evaluation, and characterization of a hollow fiber supported liquid membrane for sampling and speciation of lead(II) from aqueous solutions. *J. Membr. Sci.* **2010**, *363*, 180–187.
29. Eigen, M.; Wilkins, R.G. The kinetics and mechanism of formation of metal complexes. In *Mechanisms of Inorganic Reactions*; ACS Symposium Series 49; American Chemical Society: Washington, DC, USA, 1965; pp. 55–80.
30. Hering, J.G.; Morel, F.M.M. Reaction rates of processes in natural waters. In *Aquatic Chemical Kinetics Reaction Rate of Processes in Natural Waters*; Stumm, W., Ed.; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 1990; pp. 145–171.
31. Morel, F.M.M.; Hering J.G. *Principles and Applications of Aquatic Chemistry*; John Wiley & Sons: New York, NY, USA, 1993; pp. 98–156.
32. Smith, R.M.; Martell, A.E. *Critical Stability Constants. Volume 4: Inorganic Complexes*; Plenum Press: New York, NY, USA, 1976.
33. Towill, L.E.; Drury, J.S.; Whitfield, B.L.; Lewis, E.B.; Galyan, E.L.; Hammons, A.S. *Reviews of the Environmental Effects of Pollutants: V. Cyanide*; EPA-600/1-78-027. U.S. Environmental Protection Agency: Washington, DC, USA, 1978; pp. 1–191.
34. Hepplewhite, C.; Newcombe, G.; Knappe, D.R.U. NOM and MIB, who wins in the competition for activated carbon adsorption sites? *Water Sci. Technol.* **2004**, *49*, 257–265.
35. Michałowski, J.; Hałaburda, P.; Kojło, A. Determination of humic acid in natural waters by flow injection analysis with chemiluminescence detection. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *438*, 143–148.
36. Magdaleno, G.B.; Coichev, N. Chemiluminescent determination of humic substances based on the oxidation by peroxymonosulfate. *Anal. Chim. Acta* **2005**, *552*, 141–146.
37. Doing, L.E.; Liber, K. Influence of dissolved organic matter on nickel bioavailability and toxicity to *Hyalella Azteca* in water-only exposures. *Aquat. Toxicol.* **2006**, *76*, 203–216.
38. Smith, S.R. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environ. Int.* **2009**, *35*, 142–156.

39. Kurkuri, M.D.; Aminabhavi, T.M. Polyacrylonitrile-g-poly(vinyl alcohol) membranes for the pervaporation separation of dimethyl formamide and water mixtures. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *91*, 4091–4097.
40. Lee, I.-H.; Wang, Y.-J.; Chern, J.-M. Extraction kinetics of heavy metal-containing sludge. *J. Hazard. Mater.* **2005**, *B123*, 112–119.

© 2011 by the authors; licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution license (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/>).