

DISTRIBUCIÓ DE LA
5-CLORO-7-iodo-8-HIDROXIQUILONEÏNA I DEL
SEU COMPLEX DE MAGNESI EN EL SISTEMA
AIGUA-CLOROFORM.
DETERMINACIÓ FLUORIMÈTRICA DE MAGNESI*

per

MERCÈ GRANADOS I JUAN

Departament de Química Analítica. Facultat de Química.
Universitat de Barcelona

SUMMARY

The distribution equilibria of 5-chloro-7-iodo-8-hydroxyquinoline (ClIOxH) and of its Mg(II) complex in the water-chloroform system have been studied. The following values of the equilibrium constants involved in these processes have been obtained: $\log K_{DR} = 4.60 \pm 0.04$; $pK_1 = 2.88 \pm 0.10$; $pK_2 = 7.67 \pm 0.07$ and $\log K_{ex} = -14.25$. The stoichiometry of the extracted complex is $Mg(ClIOx)_2$.

The main characteristics of the fluorimetric method proposed are: $\lambda_{ex} = 405$ nm and $\lambda_{em} = 528$ nm, pH = 10.0 – 10.5; the fluorescence remains stable for 2 hr.; the calibration graph is linear up to 1.01 $\mu\text{g/ml}$ and the detection limit is 0.009 $\mu\text{g/ml}$. The effect of several ions on the fluorescence of the extracs has been investigated.

* Aquest treball forma part de la memòria presentada el juny de 1984 per a accedir al Grau de Llicenciat en Ciències Químiques, i ha estat dut a terme al Departament de Química Analítica de la Facultat de Química de la Universitat de Barcelona, sota la direcció del Dr. Álvaro Izquierdo Irazu, catedràtic, i del Dr. Ramon Compañó i Beltran, professor adjunt de l'esmentat Departament.

1. RESUM

En aquest treball hom estudia la distribució de la 5-cloro-7-iodo-8-hidroxiquinoleïna (ClIOxH) i del seu complex de Mg(II) en el sistema aigua-cloroform. Han estat obtinguts els valors següents per a les constants relacionades amb aquests processos: $\log K_{DR} = 4.60 \pm 0.04$; $pK_1 = 2.88 \pm 0.10$; $pK_2 = 7.67 \pm 0.07$ i $\log K_{ex} = -14.25$. L'estequiometria del complex extret és $Mg(ClIOx)_2$.

Les principals característiques del mètode fluorimètric proposat són: $\lambda_{ex} = 405$ nm i $\lambda_{em} = 528$ nm, pH = 10.0 – 10.5; la intensitat de fluorescència es manté constant durant 2 hores; el mètode és lineal fins a 1.01 $\mu\text{g/ml}$, i el límit de detecció és 0.009 $\mu\text{g/ml}$. Ha estat estudiat l'efecte d'alguns ions sobre la intensitat de fluorescència de l'extracte.

2. INTRODUCCIÓ

L'aplicació de l'oxina com a reactiu analític per a la determinació de metalls ha estat àmpliament estudiada, i ha donat lloc a nombrosos mètodes, generalment espectrofotomètrics. Per tal d'augmentar la sensibilitat i selectivitat de l'oxina han estat estudiats diferents derivats. La 5-cloro-7-iodo-8-hidroxiquinoleïna (ClIOxH) (fig. 1) és inclosa dins el grup dels derivats halogenats de l'oxina.

G. S. Johar,¹ en un estudi sobre la reaccionabilitat de la ClIOxH, troba que aquesta té una gran capacitat de reacció amb ions metàl·lics. Com en el cas de l'oxina, els seus complexos metàl·lics són insolubles en aigua, però presenten la possibilitat d'extracció en dissolvents orgànics.

Les propietats fluorescents que tenen alguns dels complexos metàl·lics de la ClIOxH han estat aprofitades per a establir mètodes fluorimètrics de determinació d'aquesta substància,² o aplicades a la detecció de ClIOxH a cromatografia.³ Tanmateix, no existeixen referències sobre cap mètode fluorimètric de determinació de metalls amb la ClIOxH.

Aquest treball ha estat iniciat amb l'estudi de la ClIOxH com a reactiu analític, amb uns assaigs qualitius sobre les possibles reaccions fluorescents d'aquesta substància amb ions metàl·lics. Hom ha observat que el magnesi forma un complex fluorescent, extraïble en cloroform. Aquest fet, i tenint en compte l'interès que presenta la determinació de magnesi en líquids fisiològics, reactius analítics, etc., ens ha dut a establir un mètode espectrofotofluorimètric de determinació de magnesi, prèvia extracció en cloroform.

En primer lloc hom ha dut a terme un estudi sobre la distribució del reactiu en el sistema aigua-cloroform, i n'ha determinat les constants de distribució i dissociació.

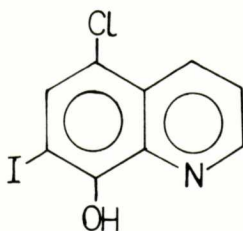


Fig. 1. 5-cloro-7-iodo-8-hidroxiquinoleïna.

A continuació hom ha estudiat el rendiment d'extracció del complex de magnesi en funció del pH, en el sistema aigua-cloroform, per tal de determinar la zona òptima per a fer les extraccions, i ha calculat la relació estequiomètrica metall: reactiu de l'espècie extreta, mitjançant el mètode del desplaçament de l'equilibri.

Finalment hom ha procedit a l'establiment de les condicions òptimes per a dur a terme la determinació fluorimètrica de magnesi, i han estat determinats els paràmetres de qualitat del mètode proposat.

3. INSTRUMENTACIÓ

Espectrofotòmetre Beckman Acta MVII amb cubetes de quars d'1 cm de camí òptic.

Espectrofotòmetre d'absorció atòmica Perkin Elmer 4000 de doble feix equipat amb làmpada de càtode buit de calci i magnesi.

Espectrofotofluorimètre Aminco SPF 500, equipat amb una làmpada d'arc de xenó de 250 W. Totes les mesures fluorimètriques han estat obtingudes amb cubetes de quars d'1 cm de camí òptic i amb l'aparell treballant en mode Ratio, amb el qual hom obté valors corregits respecte a les fluctuacions de la làmpada. Els valors de la intensitat de fluorescència han estat referits al d'una solució d'1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de sulfat de quinina en H_2SO_4 0.05 M.

Calculadora Helwett-Packard HP 9815 S.

Registre gràfic Helwett-Packard HP 7225 A.

pH-metre Radiometer PHM64, equipat amb un elèctrode combinat de vidre i calomelans saturat (GK 2401 B).

Agitador mecànic Cenco, amb bany termostatitzat.

Centrífuga Labofugue II.

4. REACTIUS

5-cloro-7-iodo-8-hidroxiquinoleïna ("Supro" Troponwerke, Köln), recristal·litzada en etanol i assecada a 70°C .

Cloroform p.a. Panreac, amb un 1% d'etanol com a estabilitzant.

Solució patró de magnesi (1.008 g/l), preparada a partir de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (Merck) i estandarditzada gravimètricament.⁴

Solució patró de sulfat de quinina (100 $\mu g/ml$) preparada per dissolució del sòlid en àcid sulfúric 0.05 M.

Tots els altres productes emprats són de qualitat r.a.

5. DISTRIBUCIÓ DE LA 5-CLORO-7-iodo-8-HIDROXIQUINOLEÏNA EN EL SISTEMA AIGUA-CLOROFORM

5.1. Establiment d'un mètode absorciomètric de determinació de ClIOxH en cloroform

Per a dur a terme l'estudi de distribució del reactiu cal conèixer la concentració d'aquest a les dues fases després d'haver assolit l'equilibri. Per aquest motiu ha estat establert un mètode espectrofotomètric de determinació de la substància a la fase orgànica.

5.1.1. Espectre del reactiu

Un dels factors que poden afectar l'espectre UV del reactiu és el pH de la fase aquosa amb la qual s'equilibra la solució clorofòrmica de reactiu. Per aquest motiu han estat obtinguts els espectres del reactiu dissolt en cloroform, cloroform saturat d'aigua, cloroform saturat amb una solució de HCl 2N i cloroform saturat amb una solució de NaOH 2N. En enregistrar els espectres d'aquestes solucions, hom observa que no varien les posicions dels màxims, ni els valors de les absortivitats. L'espectre de la ClIOxH presenta dos màxims d'absorció, un a 325 nm i l'altre a 258 nm. Les dades de les absortivitats molars són indicades a la taula I. Ambdues longituds d'ona són adequades per a dur a terme mesuraments d'absorbància; l'elecció d'una o altra dependrà de l'ordre de concentració amb el qual hom treballi.

TAULA I

$\lambda_{\text{màx.}}$ (nm)	ϵ	$\log \epsilon$
325	3.03×10^3	3.48
258	4.10×10^4	4.61

5.1.2. Estabilitat de les solucions de $ClIO_xH$ en cloroform amb el temps

Ha estat comprovat que les solucions diluïdes, de l'ordre de 10^{-4} M, són estables durant períodes llargs de temps, més de 10 dies, tant si es guarden a les fosques com si estan exposades a la llum. Les solucions més concentrades, de l'ordre de 10^{-2} M, només són estables si es mantenen a les fosques, ja que en el cas d'estar exposades a la llum, passades poques hores, comencen a descompondre's, tot alliberant iode. Heitner-Wirguin i Gancz⁵ descriuen un comportament similar per a solucions de 5,7-diiodo-8-hidroxiquinoleïna en cloroform.

5.1.3. Estudi de la variació de l'absorbància en funció de la concentració de $ClIO_xH$

Hom ha estudiat la variació de l'absorbància amb la concentració de reactiu, per a les dues longituds d'ona corresponents als màxims (taules II i III), i ha vist que, dins els intervals estudiats, es compleix la llei de Beer.

5.2. Distribució de la $ClIO_xH$

5.2.1. Procediment d'extracció

La fase aquosa és portada al pH desitjat amb una solució amortidora adequada, i hom ajusta la força iònica a 0.1 M per addició de KCl o $NaClO_4$.

TAULA II

$\lambda = 325$ nm. Variació de l'absorbància amb la concentració de $ClIO_xH$

Concentració ($\times 10^{-5}$ M)	A
0.74	0.024
1.11	0.036
1.86	0.057
2.23	0.070
2.78	0.084
5.80	0.176
7.42	0.228
14.84	0.458
18.55	0.567
23.19	0.699

TAULA III

 $\lambda = 258$ nm. Variació de l'absorbància amb la concentració de ClIOxH

Concentració ($\times 10^{-5}$ M)	A
0.19	0.089
0.22	0.103
0.30	0.117
0.46	0.195
0.56	0.226
0.74	0.302
1.11	0.474
1.86	0.771
2.23	0.917
2.78	1.143

La fase orgànica consisteix en una solució de reactiu en cloroform saturat d'aigua i de concentració adequada, preparada per dilució d'una solució 10^{-2} M.

Hom introdueix els volums de fase orgànica i aquosa en tubs d'extracció, i són agitats mecànicament a $25^\circ \pm 0.2$ durant un temps suficient per a assolir l'equilibri. A continuació hom els centrifuga, en separa les fases, en mesura el pH de la fase aquosa i en determina l'absorbància de la fase orgànica, respecte d'un blanc preparat de la mateixa manera. La concentració de reactiu a la fase orgànica és calculada a partir d'una recta de calibratge establerta prèviament, i la concentració a la fase aquosa és calculada per diferència. Amb aquestes dades hom calcula el valor del coeficient de distribució, D, corresponent a cada pH.

$$D = \frac{[\text{ClIOxH}]_o}{\Sigma [\text{ClIOxH}]_w}$$

Quan el logaritme de D és més gran que 1, la concentració de reactiu a la fase aquosa és massa petita per a ésser calculada, amb suficient precisió, per diferència. En aquest cas hom ha seguit el procediment següent: hom duu a terme una primera extracció amb una relació de volums $V_w : V_o = 25:1$; a continuació cal fer una segona extracció, a partir de la fase aquosa de la primera extracció, amb cloroform net (la relació de volums utilitzada en aquest treball ha estat $V_w : V_o = 3:1$), mesurar l'absorbància de la fase orgànica i, a partir d'aquest valor, de la concentració de reactiu inicial i dels volums utilitzats, calcular D.

5.2.2. Temps d'agitació necessari per a assolir l'equilibri

Han estat dutes a terme 3 sèries d'experiències, a pH neutre, àcid i bàsic, i hom ha observat que, independentment del pH de la fase aquosa, un temps d'agitació de 5 minuts és suficient per a arribar a l'equilibri.

5.2.3. Distribució del reactiu en funció del pH de la fase aquosa

En tot l'interval de pH estudiat els valors de $\log D$ es mantenen per sobre d'1, la qual cosa ha obligat a procedir a una reextracció, per tal d'obtenir una bona precisió en la determinació de D . Hom ha treballat amb una concentració de reactiu a la fase orgànica inicial de 10^{-2} M.

A la figura 2 hom representa gràficament $\log D$ en funció del pH. Observem que entre pH 3.5 i 7.5 l'extracció és màxima.

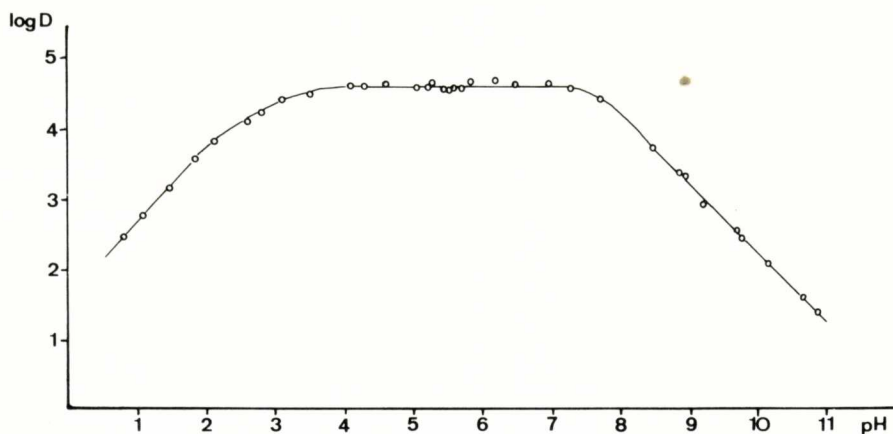


Fig. 2. Distribució de la ClIOxH en el sistema aigua-cloroform. Influència del pH de la fase aquosa.

5.2.4. Efecte de la concentració de reactiu sobre el coeficient de distribució

Han estat dutes a terme extraccions partint d'una solució de reactiu 5×10^{-3} M. El pH de la fase aquosa ha estat de 6.51. El valor de $\log D$ trobat, 4.62, coincideix amb el que hom obté, per aquest valor de pH, quan parteix d'una solució 10^{-2} M. D'aquí hom pot deduir que no es

produeixen fenòmens d'associació molecular a la fase orgànica en aquest interval de concentracions.

5.2.5. Determinació de la constant de distribució

El reactiu en estudi pot existir en fase aquosa en forma protonada, molecular o aniònica, dependent del pH del medi. Suposant que hom només extregui l'espècie molecular i tenint en compte que no es produeix polimerització a la fase orgànica, el coeficient de distribució pot ésser expressat com:

$$D = \frac{[\text{ClIO}_x\text{H}]_o}{[\text{ClIO}_x\text{H}_2^+]_w + [\text{ClIO}_x\text{H}]_w + [\text{ClIO}_x^-]_w} \quad (1)$$

A la zona de pH on l'espècie predominant a la fase aquosa és la forma molecular, els termes $[\text{ClIO}_x\text{H}_2^+]_w$ i $[\text{ClIO}_x^-]_w$ del denominador són negligibles i l'equació (1) queda:

$$D = \frac{[\text{ClIO}_x\text{H}]_o}{[\text{ClIO}_x\text{H}]_w} = K_{DR} \quad (2)$$

De l'equació (2) hom dedueix que a la zona on l'espècie predominant a la fase aquosa és la molecular, el valor del coeficient de distribució coincideix amb la constant de distribució, K_{DR} , i és independent del pH.

Per tal d'obtenir el valor de K_{DR} , han estat fetes 7 determinacions a pH 5.53, valor de pH comprès a la zona on D és independent del pH. Ha estat obtingut per a K_{DR} un valor de 4.55 ± 0.03 .

5.2.6. Càlcul de les constants de dissociació

Per a una substància com la que és objecte d'aquest estudi cal considerar els equilibris àcid-base següents:



Substituint a l'equació (1), hom arriba a l'expressió:

$$D = \frac{K_{DR}}{\frac{[H^+]}{K_1} + 1 + \frac{K_2}{[H^+]}} \quad (5)$$

Quan $\text{pH} < \text{p}K_2 - 2$, la concentració de la forma aniònica a la fase aquosa és negligible i l'equació (5) es redueix a:

$$D = \frac{K_{DR}}{\frac{[H^+]}{K_1} + 1} \quad (6)$$

De la mateixa manera, quan $\text{pH} > \text{p}K_1 + 2$, la concentració de la forma protonada a la fase aquosa és negligible i l'equació (5) queda simplificada a:

$$D = \frac{K_{DR}}{1 + \frac{K_2}{[H^+]}} \quad (7)$$

Per al càlcul de les constants de dissociació s'ha seguit el procediment d'ajust de corbes proposat per Dyrssen.⁶

En aquest mètode hom defineix les variables normalitzades

$$D^* = \frac{D}{K_{DR}} \quad \text{i} \quad u = \frac{[H^+]}{K_1}$$

Substituint a l'equació (6), hom obté:

$$D^* = \frac{1}{1 + u}$$

Són representats gràficament, i per separat, $\log D$ en funció del pH i $\log D^*$ en funció de $\log u$. Hom superposa ambdues gràfiques, i un cop aconseguit el millor ajust entre elles, el valor de pH que correspon a $\log u$ igual a zero coincideix amb $\text{p}K_1$. Per al càlcul de $\text{p}K_2$ hom segueix un procediment anàleg.

En les condicions de millor ajust hom obté els valors $\text{p}K_1 = 2.90 \pm 0.05$ i $\text{p}K_2 = 7.70 \pm 0.05$.

5.2.7. Optimització de les constants de distribució i dissociació mitjançant el programa Letagrop

Ha estat aplicat el programa Letagrop, en la seva versió de distribució,⁷ per tal d'optimitzar els valors de les constants de distribució i dissociació calculats anteriorment.

A la taula IV hom dona els valors obtinguts amb el programa Letagrop i els trobats a la bibliografia.

TAULA IV

Constants de distribució i dissociació de la ClOxH

	log K _{DR}	pK ₁	pK ₂
Letagrop	4.60 ± 0.04	2.88 ± 0.10	7.67 ± 0.07
Bibliografia (8)	3.88 ± 0.1	2.7	7.9

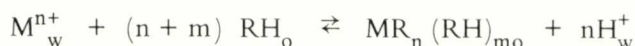
6. DISTRIBUCIÓ DEL COMPLEX DE MAGNESI EN EL SISTEMA AIGUA-CLOROFORM

6.1. Tècnica experimental

Hom introdueix en tubs d'extracció la fase aquosa que conté magnesi i la fase orgànica que conté el reactiu. Després d'agitar-ho mecànicament durant 10 minuts, temps suficient per a assolir l'equilibri, hom ho centrifuga i en separa les fases. Hom determina la concentració de metall a la fase aquosa, mitjançant espectrofotometria d'absorció atòmica, a partir de rectes de calibratge establertes prèviament per a cada tipus de solució amortidora; finalment hom en mesura el pH.

6.2. Distribució del complex

L'extracció d'ions metàl·lics amb lligands àcids, suposant que només són extretes espècies mononuclears, pot ésser expressada de forma general segons l'equilibri:



essent la constant d'extracció:

$$K_{\text{ex}} = \frac{[\text{MR}_n (\text{RH})_m]_o [\text{H}^+]_w^n}{[\text{M}^{n+}]_w [\text{RH}]_o^{(n+m)}} \quad (8)$$

Quan l'única espècie que hom extreu és $\text{MR}_n (\text{RH})_m$ i el metall a la fase aquosa està majoritàriament com a M^{n+} , el coeficient de distribució i la constant d'extracció estan relacionats per l'equació:

$$\log D = \log K_{\text{ex}} + n \text{pH} + (n + m) \log [\text{RH}]_o \quad (9)$$

Com podem observar, a partir de l'equació (9) els pendents de les representacions de $\log D$ en funció del pH, a $[\text{RH}]_o$ constant, i $\log D$ en funció de $[\text{RH}]_o$ a pH constant, corresponen als coeficients n i $n + m$ respectivament.

6.2.1. Distribució del complex en funció de la concentració de metall

La figura 3 mostra els valors de $\log D$ obtinguts en anar variant la concentració de magnesi inicial. El fet que el coeficient de distribució sigui independent de la concentració de metall demostra que només es formen espècies mononuclears.

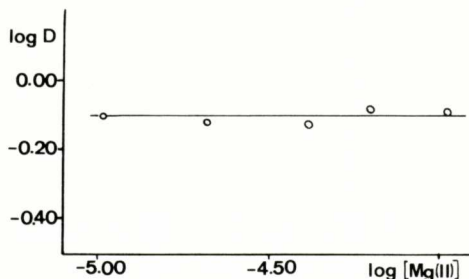


Fig. 3. Distribució del complex de magnesi en el sistema aigua-cloroform. Influència de la concentració de magnesi. $C_{\text{RH}}: 10^{-2}$ M; pH: 9.20.

6.2.2. Influència del pH de la fase aquosa sobre l'extracció del complex

La figura 4 mostra el rendiment d'extracció en funció del pH de la fase aquosa. Els resultats indiquen que el complex no comença a ésser extret fins a pH 7 i que per sobre de pH 10 l'extracció és quantitativa.

Per tal de calcular el valor n de l'equació (9), ha estat representat

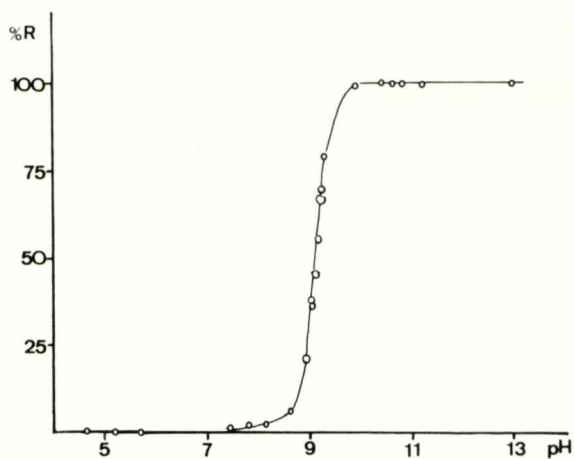


Fig. 4. Rendiment d'extracció del complex de magnesi en el sistema aigua-clorofom en funció del pH. C_{Mg} : $2 \mu\text{g/ml}$; C_{RH} : 10^{-2} M .

$\log D$ en funció del pH (fig. 5.a). Hom obté una recta de pendent 2.00; per tant n val 2.

6.2.3. Efecte de la concentració de reactiu sobre l'extracció del complex

A la figura 5 hom mostra la representació de $\log D$ en funció de $\log [\text{ClOxH}]_0$. Aquesta sèrie d'extraccions ha estat duta a terme a pH

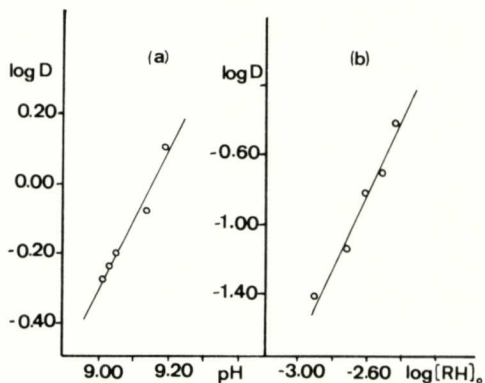


Fig. 5. (a) Distribució del complex de magnesi. Influència del pH. C_{Mg} : $2 \mu\text{g/ml}$; C_{RH} : 10^{-2} M .

(b) Distribució del complex de magnesi. Influència de la concentració de reactiu. C_{Mg} : $1 \mu\text{g/ml}$; pH: 9.05.

9.05. Tenint en compte l'elevat valor del coeficient de distribució del reactiu a aquest pH, hom ha considerat com a concentració de reactiu a la fase orgànica a l'equilibri, la seva concentració inicial. Pel mateix motiu, i a causa de l'excés de lligand present, no ha estat tingut en compte el reactiu que està formant part del complex. La línia recta de la fig. 5.b té un pendent 2.06, de manera que $n + m = 2$, i en conseqüència $m = 0$.

A partir de tots aquests resultats, hom conclou que la composició del complex extret és $Mg(ClOx)_2$.

6.2.4. Càlcul de la constant d'extracció del complex

La constant d'extracció del complex pot ésser calculada, segons l'equació (9), a partir de l'ordenada a l'origen de les rectes obtingudes en representar $\log D$ en funció del pH i $\log D$ en funció de $\log [ClOxH]_0$.

El valor mitjà obtingut a partir de les dues gràfiques és $\log K_{ex} = -14.25$.

7. ESTABLIMENT D'UN MÈTODE ESPECTROFOTOFLUORIMÈTRIC DE DETERMINACIÓ DE MAGNESI, PREVIA EXTRACCIÓ EN CLOROFORM

7.1. Tècnica experimental

Hom introdueix en tubs d'extracció 10 ml de solució aquosa de magnesi de pH regulat amb una solució amortidora, i de força iònica 0.1 M, i 10 ml de solució de reactiu en cloroform. Hom els agita durant 10 minuts dins un bany termostàtic a $25^\circ \pm 0.2$. Hom separa les dues fases, la fase orgànica és assecada amb Na_2SO_4 anhidre i hom en mesura la intensitat de fluorescència.

Simultàniament hom fa el mateix per a un blanc, que és preparat de la mateixa manera que el complex.

El valor d'intensitat de fluorescència que hom dona per al complex, és l'obtingut per diferència entre els corresponents al complex i al blanc.

7.2. Espectres d'excitació i d'emissió del complex de magnesi

Per a obtenir els espectres d'excitació i fluorescència hom ha treballat a pH 10.10, ajustat amb solució amortidora d' NH_3-NH_4Cl . A la

figura 6 han estat representats, superposats, els espectres del complex i del blanc. El complex presenta un màxim d'excitació a 405 nm i un màxim d'emissió a 528 nm. D'altra banda observem que el blanc presenta una petita intensitat de fluorescència a la longitud d'ona corresponent al màxim del complex.

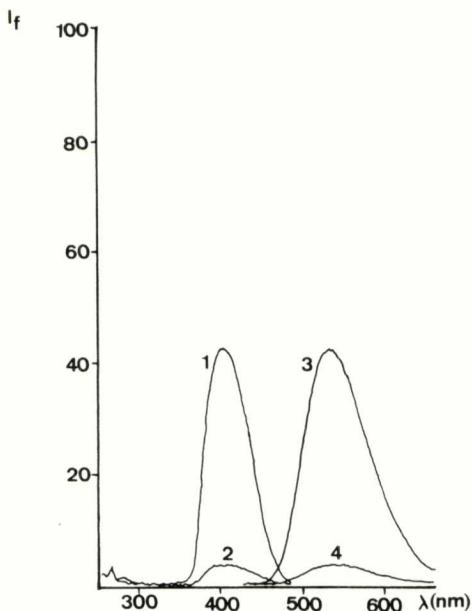


Fig. 6. Espectres d'excitació (1,2) i emissió (3,4), corresponents al complex i al blanc. C_{Mg} : $0.403 \mu\text{g/ml}$; C_{RH} : 10^{-2} M ; pH: 10.10.

7.3. Variació de la intensitat de fluorescència del complex amb el pH

La intensitat de fluorescència presenta un màxim a pH entre 10.0 i 10.5 (fig. 7), quan el pH de la fase aquosa és ajustat amb $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$. Quan la solució amortidora utilitzada és $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$, la intensitat de fluorescència del complex és molt més baixa, per a un mateix pH, que la que hom obté amb una solució de $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$, malgrat que el rendiment d'extracció és del 100% en ambdós casos. Aquest fet fa pensar que l'espècie extreta no és la mateixa en tots dos casos, i que l'anió fosfat deu tenir algun paper en la formació del complex.

Els espectres d'excitació i fluorescència del complex de magnesi, quan la solució amortidora és $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$, estan lleugerament desplaçats cap a longituds d'ona més baixes, respecte als que hom obté

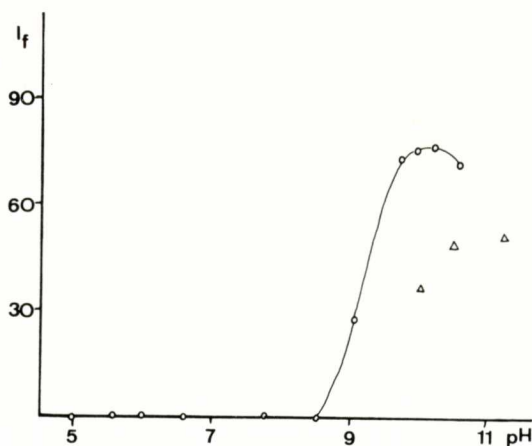


Fig. 7. Variació de la intensitat de fluorescència amb el pH de la fase aquosa. λ_{ex} : 405 nm; λ_{em} : 528 nm; C_{Mg} : 0.806 $\mu\text{g/ml}$; C_{RH} : 10^{-2} M; Δ : pH regulat amb solució amortidora de $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaOH}$.

quan treballa amb $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$, essent les longituds d'ona dels màxims d'excitació i emissió de λ_{ex} : 400 nm i λ_{em} : 525 nm.

A partir d'aquests resultats hom ha decidit de dur a terme l'estudi de fluorescència a pH entre 10.0 i 10.5, regulat amb $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$.

7.4. Estabilitat de les solucions de complex amb el temps

En aquest estudi han estat considerats dos casos diferents: la variació de la intensitat de fluorescència quan la solució de complex està exposada contínuament a la radiació d'excitació (405 nm), i la variació quan és guardada a les fosques i només és exposada a la radiació d'excitació en el moment del mesurament. A la taula V mostrem els resultats obtinguts, els quals indiquen que la intensitat de fluorescència del complex contínuament exposat a la radiació es manté estable durant 30 minuts, mentre que si el complex és preservat de la llum, la intensitat de fluorescència es manté constant durant més de 2 hores.

7.5. Variació de la intensitat de fluorescència amb la concentració de reactiu

Han estat dutes a terme una sèrie d'extraccions mantenint constant la concentració de magnesi i variant la concentració de reactiu, de forma que la relació molar magnesi: reactiu variï des d'1:1 a 1:300.

TAULA V

Estabilitat de les solucions de complex amb el temps.
 C_{Mg} : 1.008 $\mu\text{g/ml}$; C_{RH} : 10^{-2} M; pH: 10.10; λ_{ex} : 405 nm; λ_{em} : 528 nm.

Temps	I_f Solució exposada a la radiació de 405 nm.	I_f Solució preservada de la llum.
0	97.4	97.4
5 minuts	96.4	97.8
10 minuts	94.6	94.9
15 minuts	95.6	95.6
30 minuts	95.6	97.1
1 hora	91.3	95.9
2 hores	84.8	95.9
3 hores	77.8	91.7
4 hores	74.9	88.8
1 dia		72.0
4 dies		48.3

La representació del valor de la intensitat de fluorescència en funció de la relació molar magnesi: reactiu (fig. 8) mostra la necessitat de treballar amb una relació molar igual o superior a 1:150, a partir de la qual els valors d'intensitat de fluorescència són independents de la concentració de reactiu.

7.6. Variació de la intensitat de fluorescència amb la concentració de magnesi

Han estat preparades solucions de complex de magnesi, variant la concentració de metall entre 0.020 $\mu\text{g/ml}$ i 1.601 $\mu\text{g/ml}$. Els resultats obtinguts són indicats a la taula VI. Hom observa que fins 1.008 $\mu\text{g/ml}$ de Mg(II) la relació entre la concentració de magnesi i la intensitat de fluorescència és lineal, i que per sobre d'aquesta concentració es perd aquest comportament.

7.7. Tècnica per a la determinació de magnesi

Hom introdueix en un tub d'extracció un volum de solució que contingui entre 0.2 i 10 μg de magnesi, hi addiciona NaClO_4 per ajustar la

força iònica a 0.1 M, i completa el volum fins a 10 ml amb solució amortidora de $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ per tal de tenir un pH entre 10.0 i 10.5. A continuació hom introdueix 10 ml de solució 10^{-2} M de reactiu en cloroform. Hom ho agita mecànicament durant 10 minuts a 25° , en separa les fases, la fase orgànica és assecada amb Na_2SO_4 anhidre i hom mesura la intensitat de fluorescència a λ_{ex} : 405 nm i λ_{em} : 528 nm. Hom mesura també la intensitat de fluorescència d'un blanc sotmès al mateix tractament. La concentració de magnesi és determinada per referència a una corba de calibratge preparada de la mateixa manera, a partir de solucions amb un contingut de magnesi conegut.

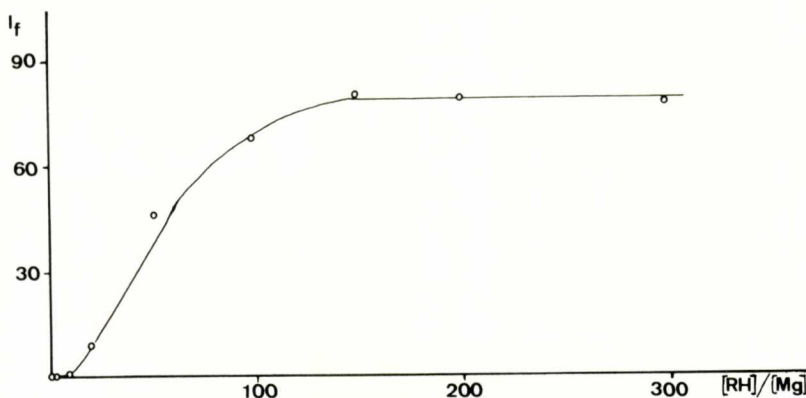


Fig. 8. Variació de la intensitat de fluorescència amb la concentració de reactiu. λ_{ex} : 405 nm; λ_{em} : 528 nm; C_{Mg} : 0,806 $\mu\text{g/ml}$; pH: 10.17.

7.8. Paràmetres de qualitat

A fi d'establir el límit de detecció, han estat dutes a terme extraccions de nou blancs idèntics. Prenent com a límit de detecció 3 vegades la desviació estàndard de les mesures del blanc, tal com recomana la IUPAC,¹¹ hom ha arribat a un valor de 0.009 $\mu\text{g/ml}$.

La sensibilitat del mètode, que és donada per dI_f/dC , és de 93.39 ml/ μg .

La precisió del mètode és donada, segons les normes de la IUPAC,¹¹ per la desviació estàndard relativa d'una sèrie de mesuraments fets amb mostres idèntiques. Hom ha calculat la precisió per a dues concentracions de magnesi diferents, 1.008 i 0.504 $\mu\text{g/ml}$, i en ambdós casos ha estat obtingut un valor de 0.5%.

TAULA VI

Variació de la intensitat de fluorescència amb la concentració de magnesi.
 $C_{RH}: 10^{-2}$ M; pH: 10.07; λ_{ex} : 405 nm; λ_{em} : 528 nm.

$\mu\text{g Mg/ml}$	I_f
0.020	1.7
0.040	5.4
0.081	7.6
0.101	9.6
0.202	19.7
0.403	40.6
0.604	59.0
0.806	74.0
1.008	94.9
1.371	121.7
1.612	130.3

7.9. *Estudi d'interferències*

S'ha estudiat la interferència que poden produir alguns ions metàl·lics en la determinació de magnesi mitjançant el mètode establert. Han estat assajats aquells ions que l'estudi qualitatiu mostrà que formen complexos fluorescents amb el reactiu, i d'altres que, com a més freqüents, poden acompanyar el magnesi en les mostres on aquest hagi d'ésser determinat. Hom ha trobat que Al(III), Be(II), Zn(II) i Ga(III) interfereixen quan es troben a la mateixa concentració que el magnesi. Quant al Fe(III), hem vist que fins a una relació Fe:Mg 10:1 no interfereix; per al Ca(II), en presència de tartrat, el seu límit de tolerància se situa a 100:1; Ba(II) i Sr(II) no són interferents en una proporció 50:1. Finalment ha estat comprovat que ClO_4^- , NO_3^- , Cl^- , NH_4^+ i els metalls alcalins no interfereixen, àdhuc a concentracions elevades.

BIBLIOGRAFIA

1. JOHAR, G.S.; Labdev J. Sci. Tech. 8-A, 150 (1970).
2. TSUGI, A., KINOSHITA, T., INUMA, F.; Chem. Pharm. Bull. 19, 2209 (1971).
3. MIURA, K.M., NAKAMURA, H., TANAKA, H., TAMURA, Z.; J. Chromatogr. 210, 526 (1981).

4. VOGEL'S. "Textbook of Quantitative Inorganic Analysis". 4^a Ed. Longmans, Londres.
5. HEITNER-WIRGUIN, C., GANCZ, M.; *Talanta*, 14, 671 (1967).
6. DYRSSEN, D.; *Acta Chem. Scand.* 11, 1771 (1957).
7. HAY LIEM, D.; *Acta Chem. Scand.* 25, 1521 (1971).
8. DYRSSEN, D., DYRSSEN, M., JOHANSON, E.; *Acta Chem. Scand.* 10, 341 (1956).
9. JOB, P.; *Anna. Chim. (París)*. 9, 113 (1928).
10. YOE, J.H., JONES, A.; *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.* 16, 111 (1944).
11. IUPAC. "Compendium of Analytical Nomenclature". Ed. Pergamon Press. Nova York (1978).