

# Determinació de concentracions de metall lliure amb AGNES

## Determination of free metal concentrations with AGNES

David Aguilar, Josep Galceran, Encarna Companys i Jaume Puy  
Universitat de Lleida. Departament de Química

**Resum:** AGNES (*absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping*) és una nova tècnica electroanalítica dissenyada per determinar concentracions de metall lliure. En aquest treball es descriuen els principis teòrics de la tècnica i quina és la metodologia necessària per analitzar diferents mostres aquoses. S'ha aplicat AGNES tant a medis sintètics (anàlisi d'àcids húmics, estudi de la solubilitat de nanopartícules de ZnO) com a medis naturals (determinació de Zn lliure en vins i mostres d'aigües de mar i rius).

**Paraules clau:** AGNES, metall lliure, especiació.

**Abstract:** AGNES (*absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping*) is a new electroanalytical technique developed for the determination of free metal ion concentrations. In this study, the theoretical principles of the technique will be presented as well as the appropriate methodology needed for the study of aqueous samples. AGNES has been applied in both synthetic systems (analysis of humic acids, study of ZnO nanoparticles dissolution) and in natural samples (determination of free Zn in wines and sea and river waters).

**Keywords:** AGNES, free metal, speciation.

## Introducció

**N**ivells elevats de metalls pesants, com Zn, Cd o Pb, en aigües naturals poden representar un perill per a la flora i la fauna que acullen. En aquests medis, els metalls es poden trobar en diferents formes: adsorbits sobre partícules, complexats amb diferents tipus de lligands com àcids húmics o carbonats o bé com a fracció lliure [1-3]. Però models hegemònics en ecotoxicologia com el *free ion activity model* (FIAM) [4] o el *biotic ligand model* [5] postulen que la fracció lliure és la biodisponible per a un organisme viu i, per tant, la que estarà relacionada amb els efectes tòxics. Per això, la mesura de les concentracions lliures de metalls pesants representa un repte analític de gran interès, ja que permet disposar d'un paràmetre important en la qualitat d'una aigua natural directament relacionat amb la toxicitat o la capacitat nutrient de l'element analitzat [6, 7].

Avui dia, existeix un nombre limitat de tècniques que poden determinar la concentració d'un ió lliure amb la selectivitat i la precisió adequades. Algunes d'aquestes són la *Donnan*

*membrane technique* (DMT) [8], la *permeation liquid membrane* (PLM) [9] o els elèctrodes selectius d'ions (ISE) [10]. Per exemple, els ISE serien ideals per determinar concentracions lliures sense pertorbar ni l'equilibri ni la composició de la mostra durant la mesura. Malauradament, els elèctrodes selectius només existeixen comercialment per a un nombre limitat de metalls (no n'existeix cap per mesurar Zn lliure [11]) i presenten problemes quan la concentració total de metall és massa baixa (inferior a  $10^{-6}$  M). D'altra banda, per trobar la concentració lliure amb tècniques voltamperomètriques, com la voltamperometria de redissolució anòdica o catòdica [12,13], sovint cal una interpretació complicada que involucra un elevat nombre de paràmetres fisicoquímics (no sempre prou ben coneguts).

AGNES (*absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping*), dissenyada i desenvolupada a la Universitat de Lleida des de l'any 2004, és una tècnica electroanalítica alternativa que permet determinar directament la concentració lliure d'alguns metalls en dissolució i que obvia les limitacions esmentades [14].

En aquest article es revisaran els fonaments de la tècnica AGNES. Es descriurà la instrumentació necessària per realitzar les mesures i les metodologies i també es presentaran diferents aplicacions en dissolucions aquoses tant sintètiques com naturals.

Correspondència: Josep Galceran  
Universitat de Lleida. Departament de Química  
Av. de Rovira Roure, 191. 25198 Lleida  
Tel.: +34 973 702 826. Fax: +34 973 238 264  
A/e: [galceran@quimica.udl.cat](mailto:galceran@quimica.udl.cat)

## Principis d'AGNES

AGNES és una tècnica electroanalítica amb dues etapes conceptuals: 1) etapa de reducció de l'ió metàl·lic  $M^{n+}$  present en la dissolució, tot acumulant-lo (en forma de  $M^0$ ) en un petit elèctrode de mercuri fins a assolir una situació especial d'equilibri; 2) etapa de redissolució, en la qual es quantifica la concentració del metall reduït [14].

En la primera etapa (preconcentració), se segueix un programa de potencials adient (per exemple, un potencial de deposició  $E_1$  aplicat durant un temps  $t_1$ ) fins a aconseguir una situació especial d'equilibri caracteritzada per: a) l'absència de gradients en els perfils de concentració (tant de  $M^{n+}$  com de  $M^0$ ) i b) un equilibri nernstià de la parella  $M^{n+}/M^0$  a la superfície electròdica. Anomenem *factor de preconcentració* o *guany*,  $Y$ , la relació de concentracions (en principi, en contacte amb la superfície electròdica) de metall reduït en l'amalgama i de metall lliure en la dissolució. Quan s'arriba a la desitjada situació d'equilibri al final de la primera etapa, la llei de Nernst permet escriure:

$$Y = \frac{[M^0]}{[M^{2+}]} = \exp\left[-\frac{nF}{RT}(E_1 - E^{0'})\right] \quad (1)$$

on  $n$  és el nombre d'electrons;  $F$ , la constant de Faraday;  $R$ , la constant dels gasos;  $T$ , la temperatura, i  $E^{0'}$ , el potencial formal estàndard (que té en compte els coeficients d'activitat de les espècies de la parella redox). Si no coneixem el potencial estàndard redox  $E^{0'}$  en un determinat medi per usar en l'equació (1), el potencial de reducció  $E_1$  que es necessita per assolir un determinat guany  $Y$  es pot calcular a partir del potencial de pic d'un polarograma de pols diferencial.

Com més gran sigui el guany, més sensibilitat tindrà la mesura. Però guanys més elevats demanen esperar temps més llargs per assolir les condicions d'AGNES. Per exemple, per a un elèctrode de gota penjant de mercuri (HMDE) de 140  $\mu\text{m}$  de radi, l'equilibri s'aconsegueix, aproximadament, quan  $t_1 \approx 7 Y$ . Però aquesta relació entre temps de preconcentració i guany es pot reduir utilitzant altres elèctrodes de treball, com veurem més endavant, o mitjançant programes de dos polsos en la primera etapa [15], o bé si existeix una contribució de  $M$  arribant a l'elèctrode en forma de complexos prou làbils i mòbils [16].

L'objectiu de la segona etapa és quantificar el metall acumulat en l'amalgama de mercuri, la qual cosa es fa per oxidació (buidat, redissolució o *stripping* del  $M^0$ ). Es poden implementar diversos programes d'oxidació que donen lloc a diferents variants o modalitats d'AGNES:

a) Un potencial constant de reoxidació  $E_2$  en condicions de límit de difusió. En aquesta variant, el senyal analític és la mesura del corrent en un determinat temps de reoxidació ( $t_2$ ). En principi, qualsevol corrent de resposta ( $I$ ) mesurat amb AGNES té els components següents [17]:

$$I = I_{\text{faradaic}} + I_{\text{Ox}} + I_{\text{no-anàlit}} + I_{\text{cap}} \quad (2)$$

on  $I_{\text{faradaic}}$  és el corrent faradaic degut a la reoxidació de l'anàlit,  $I_{\text{Ox}}$  és el corresponent a altres oxidants en la dissolució (com, per exemple, l'oxigen dissolt en la mostra),  $I_{\text{no-anàlit}}$  és el corrent que prové d'altres elements no-anàlits que també han estat acumulats durant la primera etapa d'AGNES i redissolts durant l'etapa d'oxidació i  $I_{\text{cap}}$  és el corrent capacitiu degut al procés de càrrega electrostàtica (tipus condensador).

Per obtenir  $I_{\text{faradaic}}$  de l'anàlit, és necessari restar un blanc a l'equació (2). Dels tipus de blancs desenvolupats, el més senzill consisteix a realitzar la mesura en una dissolució que contingui els mateixos components que la mostra, excepte l'anàlit (blanc sintètic) [14]. Un altre tipus és el blanc amb EDTA, en el qual s'aplica el mateix programa de potencials que a la mostra, però després de l'addició d'un complexant molt fort com és l'EDTA [18]. Aquest lligand fa que la concentració lliure de metall anàlit sigui negligible i, per tant, que no hi hagi component faradaic en la mesura. Finalment, hi ha el *shifted-blank* (o blanc desplaçat), en el qual s'aplica el mateix salt de potencials utilitzat durant la reoxidació de la mostra, però desplaçat a un altre interval de potencials on no hi ha acumulació o reoxidació de l'anàlit, però on s'enregistra un corrent o una càrrega capacitius semblant [19].

La variant d'AGNES que utilitza el corrent faradaic com a senyal analític es diu AGNES-I [14]. També és possible mesurar la càrrega faradaica  $Q$  acumulada durant l'etapa de preconcentració (variant AGNES-Q, que no requereix que el potencial de reoxidació estigui en el límit de difusió) [20, 21].

b) Un altre programa de reoxidació consisteix a fer un escombratge lineal de potencials (AGNELSV) [20]. Al final del proce-

diment, s'obté un pic en un diagrama  $I$  vs.  $E$ , que per integració proporciona la corresponent càrrega acumulada [22, 23].

c) La cronopotenciometria de redissolució (SCP) és un altre mètode de reoxidació en el qual s'aplica un corrent fix de redissolució  $I_s$  i es monitora l'evolució del potencial amb el temps. El senyal analític és el temps que tarda el metall a reoxidar-se (temps de transició,  $t$ ) i es pot mesurar calculant l'àrea del senyal obtingut en una representació  $dt/dE$  vs.  $E$  [17]. L'equació (3) mostra com és possible obtenir la càrrega en aquesta variant:

$$Q = I_{\text{faradaic}} \tau = (I_s - I_{\text{Ox}}) \tau \quad (3)$$

Aquesta variant, AGNES-SCP, destaca especialment per la seva capacitat d'evitar interferències d'altres ions que s'amalgamen (diferents de l'anàlit) i perquè permet estalviar-se la mesura de blancs [17].

Sigui quin sigui el programa de reoxidació aplicat, si mesurem la càrrega acumulada al final de la segona etapa d'AGNES, la combinació de les lleis de Nernst i de Faraday ens permet prescriure una proporcionalitat entre la càrrega i la concentració lliure del metall:

$$Q = \eta_Q Y [M^{2+}] \quad (4)$$

on  $\eta_Q$  és una constant que es pot obtenir a partir d'un calibratge previ [20, 21]. No és necessari conèixer el valor exacte del guany  $Y$ , ja que el calibratge compensa les imprecisions en la seva determinació.

Quan els objectius de cada etapa es compleixen, AGNES fa una mesura correcta de la concentració lliure superant dificultats (com ara l'adsorció electròdica, variacions en els règims hidrodinàmics, cinètiques homogènies i heterogènies, etc.) habituals en altres tècniques electroanalítiques [24].

## Instrumentació

La instrumentació necessària per aplicar AGNES és l'estàndard en electroanàlisi i consisteix en un potenciostat per realitzar les mesures voltamperomètriques o potenciomètriques, un elèctrode de referència (generalment, Ag/AgCl) i un elèctrode de treball de mercuri.

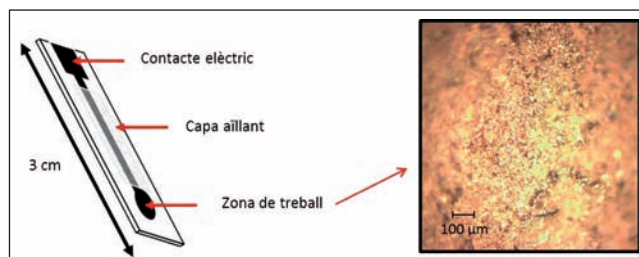


FIGURA 1. A l'esquerra, esquema d'un elèctrode serigrafat (screen printed electrode, SPE). A la dreta, imatge de la pel·lícula de mercuri dipositada a la zona de treball del SPE, fotografiada amb un microscopi òptic.

En el cas de l'HMDE, el més usat amb AGNES fins avui [14]), s'usa un muntatge polarogràfic amb una cel·la que inclou també un contraelèctrode de carboni. També es poden utilitzar microelèctrodes de Ir-Hg [25], els quals, tot i presentar un elevat component capacitiu, permeten escurçar els temps de preconcentració, o el *rotating disc electrode* (RDE) [26], amb una pel·lícula de mercuri, que millora una mica els límits de detecció de la tècnica, però (per ara) ofereix una reproductibilitat limitada.

Recentment, un nou tipus d'elèctrodes serigrafats (screen printed electrodes, SPE) ha estat aplicat amb AGNES [21]. Aquests consisteixen en una làmina de poliestirè sobre la qual s'imprimeix manualment i amb tinta comercial la forma mostrada a la figura 1. En el centre d'aquests elèctrodes, s'estén una capa aïllant que deixa dues zones diferenciades: una de contacte elèctric a la part superior i una zona de treball, d'àrea  $9,6 \text{ mm}^2$ , a la part inferior. Sobre la zona de treball, es disposa una pel·lícula de mercuri on tindrà lloc el procés redox (figura 1). Els SPE són molt econòmics, permeten fer les mesures d'AGNES més ràpides ( $t_1 \approx 1,5 Y$ ) i amb una bona reproductibilitat, així com assolir límits de detecció més bons [21].

## Aplicacions d'AGNES

AGNES és una tècnica que ha estat aplicada amb èxit a diferents sistemes, tant artificials com naturals. Una selecció de les aplicacions d'AGNES en els darrers anys es descriu a continuació:

### Estudis de complexació de Zn, Cd i Pb amb àcids húmics

Els àcids húmics són un dels principals constituents de la matèria orgànica que es troba en sistemes naturals, com ara sòls, aigües superficials o aigües subterrànies, i desenvolupen un

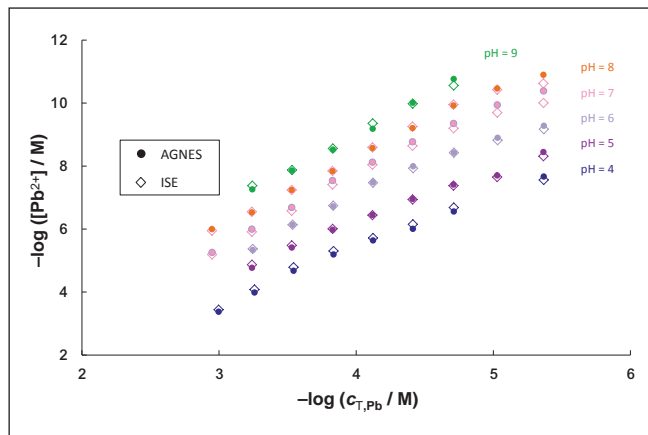


FIGURA 2. Concentració lliure de  $Pb^{2+}$  (expressada com a  $pPb = -\log[Pb^{2+}]$ ) en una dissolució sintètica que conté  $c_{HA} = 0,45 \text{ g L}^{-1}$  i  $c_{T,Pb}$  entre  $10^{-3}$  i  $4,37 \times 10^{-6} \text{ M}$  a pH entre 4 i 9 en  $0,1 \text{ M KNO}_3$ .

paper fonamental en el cicle i la biodisponibilitat dels metalls traça [6, 27]. La complexació del metall amb la matèria orgànica (per exemple, a través dels grups carboxílics i fenòlics presents en l'estructura dels àcids húmics) condiciona fortament (en sistemes ambientals) la seva concentració lliure, que és la fracció que els microorganismes són capaços d'incorporar més directament. En aquest context, AGNES ha resultat ser una eina molt útil per caracteritzar satisfactòriament la complexació d'àcids húmics amb Zn, Cd i Pb en dissolucions sintètiques [28]. Per exemple, la figura 2 mostra la determinació de Pb lliure en una dissolució amb quantitats creixents de Pb total i una concentració fixa d'àcid humic a diferents pH.

Els resultats experimentals obtinguts s'han validat amb mesures d'elèctrodes selectius d'ions (en el cas del Pb, vegeu la figura 2) i han permès descripcions acurades de la complexació en termes del model NICA-Donnan i la seva posterior conversió a espectres d'afinitat condicionals [28].

### Estudi de la solubilitat de nanopartícules de ZnO

Actualment, existeix un debat sobre si la toxicitat de les nanopartícules de ZnO és deguda a les seves propietats com a nanopartícules o a la seva relativa alta solubilitat, que genera altes concentracions d'ions  $Zn^{2+}$  lliures [29-31].

AGNES ha permès mesurar la fracció lliure de Zn provinent de la dissolució de nanopartícules de ZnO dispersades en dissolucions aquoses [32]. S'han estudiat mostres de nanopartícules de diferents mides i s'ha observat que la seva solubilitat aug-

menta a mesura que el radi primari decreix. Aquest comportament ha permès estimar, per primer cop per al ZnO, una energia superficial de  $0,32 \text{ J/m}^2$ , la qual cosa permet predir la solubilitat per a partícules d'altres radis [32].

Amb AGNES també s'ha pogut estudiar la cinètica d'alliberació de  $Zn^{2+}$  com a resposta al canvi d'algun paràmetre de la dissolució (per exemple, pH o concentració de ZnO). Atès que, en aquestes condicions, les mesures individuals d'AGNES es realitzen en pocs minuts, és possible seguir en detall la cinètica de dissolució de ZnO, que assoleix l'equilibri de dissolució en un parell d'hores. Aquesta evolució queda fora de l'abast de tècniques més lentes, com ara la DMT o la diàlisi [32].

S'han realitzat estudis que correlacionen la toxicitat per a *Daphnia magna* amb la concentració lliure de Zn mesurada amb AGNES [33], així com sobre la transformació de les nanopartícules en medis de cultiu cel·lular (Dulbecco's Modified Eagle Medium, DMEM) [34].

### Anàlisi de vins

El vi és una matriu complexa que conté molts compostos orgànics i inorgànics [35-37]. En la fracció inorgànica, existeixen traces de metalls pesants, com ara Fe, Zn, Mo i Cu, que influeixen en l'estabilitat, el color i la qualitat organolèptica del vi [35, 36, 38]. Per exemple, la quantitat de Zn present té relació amb la persistència del seu sabor agre [37]. AGNES ha permès determinar la concentració lliure de Zn en aquests tipus de mostres [39, 40].

La presència d'un elevat contingut d'etanol en una mostra de vi implica un increment de la viscositat, que comporta un decreixement del coeficient de difusió del  $Zn^{2+}$  [41]. A més, el coeficient d'activitat dels ions metàl·lics augmenta a causa de la disminució de la permitivitat en el medi alcohòlic respecte a un medi aquós. Considerant aquestes particularitats, s'ha desenvolupat una metodologia per aplicar AGNES a medis hidroalcohòlics. Es fa un calibratge previ en medi aquós per obtenir el factor de proporcionalitat entre corrent i concentració, el qual només depèn de la difusió dins de l'amalgama de mercuri. El guany es calcula a partir del potencial de pic d'un DPP realitzat en un medi etanòlic: equació (4). El blanc amb EDTA ha donat uns resultats excel·lents en realitzar les determinacions en vins [39].

Es van analitzar vins Raimat Abadia i Raimat Chardonnay i es va trobar que la concentració de  $Zn^{2+}$  lliure era  $4,5 \times 10^{-7}$  M i  $7,2 \times 10^{-7}$  M, respectivament (aproximadament, un 4-8 % del Zn total) [39]. En aquests estudis, es va comprovar que la formació de complexos intermetàl·lics Zn-Cu no afectava la mesura del Zn lliure [23, 39].

Recentment, s'han realitzat estudis d'AGNES en mostres de vins que han proporcionat informació sobre la seva capacitat complexant [40]. En vi negre, s'ha determinat que la concentració total de possibles setis de complexació és  $c_{T,L} = 0,0179 \pm 0,0007$  M i que la força complexant és deguda, principalment, a tartrats, si més no, quan la concentració de Zn és prou elevada. Per a concentracions de Zn més baixes, és possible la complexació amb altres lligands (probablement, polifenols i antocianines) [40].

### Determinació de $Zn^{2+}$ lliure en aigües marines

El  $Zn^{2+}$  desenvolupa un paper fonamental en l'ecosistema marí i, per tant, el fet d'analitzar l'especiació d'aquest ió té una gran importància [1, 3, 42-44]. Alguns científics han especulat que es podria augmentar el segrest de  $CO_2$  fertilitzant parts específiques de l'oceà on la concentració de Zn lliure fos el factor limitant per a les funcions fotosintètiques del fitoplàncton. Diversos mètodes electroanalítics permeten mesurar la concentració total de Zn i/o la seva fracció làbil i han ajudat a establir hipòtesis sobre l'especiació de Zn lliure en aigua de mar. Tanmateix, els resultats respecte d'això no són gaire clars: alguns autors indiquen que, especialment en mar obert, una gran proporció de Zn (>95 %) es troba complexat, principalment, amb lligands orgànics [45, 46], però en altres publicacions s'indica que la concentració lliure de Zn pot ser més elevada [47, 48].

La manca d'un mètode estàndard per determinar la fracció lliure de Zn(II) en aquests medis aquàtics va motivar el desenvolupament d'una nova metodologia d'anàlisi amb AGNES per analitzar aigües de mar [19]. En concret, es van estudiar mostres del Mediterrani provinents de les platges de Castelldefels i l'Arrabassada, a Tarragona. Totes les aigües analitzades es van recollir a 50 m de la vora de la platja i a uns 0,25 m de profunditat. En poques hores, les mostres van ser transportades al laboratori, on es van filtrar immediatament amb filtres de nitrats de cel·lulosa Millipore  $0,45 \mu m$  i es van analitzar

amb AGNES mantenint el pH (8,1-8,2) i la temperatura (21-23 °C) en els mateixos valors que els mesurats en el mar.

La metodologia desenvolupada [19] utilitza AGNES-I (amb un programa refinat en el qual l'etapa de deposició consta de dos polsos i que permet assolir l'equilibri nernstià en un temps més curt), el *shifted-blank* i l'HMDE. Prèviament a l'estudi de les mostres, és necessari calibrar el sistema amb una dissolució sintètica de  $KNO_3$  que presenti la mateixa força iònica que l'aigua de mar. Els resultats obtinguts van indicar que el percentatge de Zn lliure present en les aigües marines estava comprès entre el 13 % i el 30 % [19], en consonància amb alguns dels resultats ja publicats [47, 48].

### Mesures en aigües de rius

AGNES ha experimentat diverses millores al llarg dels últims anys que han permès que la tècnica no tan sols es pugui aplicar amb èxit a l'estudi d'aigües de rius, sinó també que aquestes mesures es puguin realitzar *on site*, és a dir, en el mateix lloc on es troba la mostra. El fet de realitzar una anàlisi *on site* comporta haver de seleccionar la instrumentació adequada per poder traslladar-la al camp. A més d'un potenciòstat portàtil i d'una cel·la polarogràfica per realitzar les mesures, els elèctrodes de treball de mercuri més indicats per a aquests estudis són els serigrafiats (SPE): molt petits, fàcilment transportables i, especialment, poden funcionar sense la necessitat d'un corrent continu de  $N_2$  (a diferència, per exemple, de l'HMDE) [49].

Les primeres mesures *on site* realitzades amb AGNES es van dur a terme al riu Gave de Cauterets al seu pas per la localitat francesa de Soulom [50]. En aquest punt, les aigües han travessat prèviament diferents zones mineres que hi aporten nivells elevats de Zn i, per tant, és interessant analitzar la corresponent contaminació de metalls pesants, en particular, de Zn(II), pel possible impacte mediambiental.

La metodologia d'anàlisi utilitzada consta dels aspectes següents:

- Es va utilitzar la SCP com a segona etapa d'AGNES, molt útil per a l'estudi de dissolucions multicontaminades.
- La baixa conductivitat de les aigües analitzades pot afectar les mesures voltamperomètriques a causa de la caigu-

da òhmica en la dissolució. A altes forces iòniques, l'aplicació d'una diferència de potencial entre els elèctrodes fa que la caiguda de potencial es localitzi entre l'elèctrode de treball i la dissolució adjacent. Però, quan la resistència de la mostra és elevada, el potencial (nominal) aplicat es distribueix entre la caiguda de potencial en la interfase de l'elèctrode més la caiguda òhmica a través de la dissolució. La no-coincidència de potencial nominal i real pot impactar en les tècniques electroanalítiques. Afortunadament, en AGNES (amb dissolucions purgades), s'assoleix una situació d'equilibri nernstià i absència de gradients al final de la primera etapa. En aquest moment, el flux de corrent és negligible, per la qual cosa el potencial nominal i el real coincideixen. L'impacte de la baixa força iònica en AGNES s'ha discutit a [51].

- c) En realitzar les mesures *on site*, es va obviar el transport de bombones de  $N_2$  al camp i, per això, totes les mesures es van realitzar amb les mostres sense desoxigenar. En aquestes condicions, durant l'etapa de deposició, l'oxigen dissolt es redueix a  $H_2O$  o  $H_2O_2$ , la qual cosa comporta un increment del pH prop de l'elèctrode de treball respecte del pH en el si de la dissolució i un canvi en l'especiació local [52]. La presència d'oxigen impedeix assolir una absència de gradients al final de l'etapa de preconcentració d'AGNES, però, en canvi, s'obté un estat estacionari en el qual la concentració del metall a la superfície de l'elèctrode és molt més petita que en el si de la dissolució.

En treballar amb dissolucions no desoxigenades, al final de la primera etapa d'AGNES, el corrent residual no és negligible i la caiguda òhmica resultant pot fer que el guany realment aplicat no es correspongui amb el prescrit. Per evitar aquest problema, conjuntament amb el canvi d'especiació local, es realitza el calibratge de la tècnica en una dissolució de riu sintètica que tingui unes característiques molt semblants a la mostra natural. D'aquesta forma, s'assegura que els canvis deguts a la presència d'oxigen siguin semblants tant en el calibratge com en la mesura de la mostra. No és necessari conèixer el guany aplicat, només cal aplicar el mateix potencial nominal a totes les dissolucions.

Les mesures *on site* realitzades (maig de 2012) van indicar que la concentració lliure de Zn en aigües del Gave de Caurets (Soulom) era  $136 \mu\text{mol L}^{-1}$ , el 55 % del Zn total.

Aquests resultats concorden amb estimacions teòriques realitzades amb Visual Minteq i amb posteriors mesures fetes al

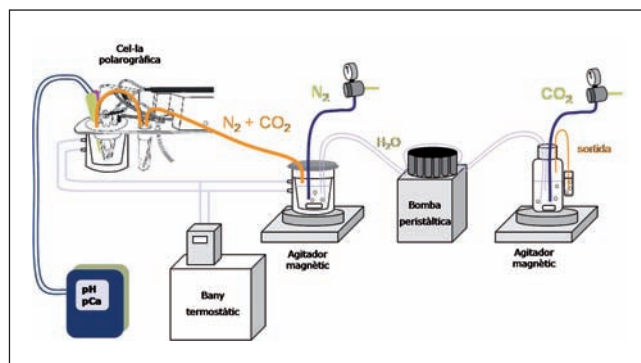


FIGURA 3. Esquema del dispositiu per ajustar el pH d'una mostra natural sense alterar-ne l'especiació tot eliminant l'oxigen amb una barreja de  $N_2$  i  $CO_2$ .

laboratori, on les mostres eren purgades amb una barreja de  $N_2/CO_2$  per fixar el pH de la mostra sense pertorbar l'especiació dels carbonats. A la figura 3 es mostra l'esquema del dispositiu de  $N_2$  i  $CO_2$  que permet ajustar el pH de mostres naturals [22].

## Conclusions

AGNES (*absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping*) és una tècnica electroanalítica desenvolupada per poder determinar directament la concentració lliure de metalls pesants d'interès mediambiental, com ara Zn, Cd o Pb. Consisteix en dues etapes: una primera de deposició, en la qual s'aplica un potencial per tal de preconcentrar el metall reduït en una amalgama de mercuri fins a assolir l'equilibri amb la dissolució, i una segona etapa de redissolució, en la qual es mesura la concentració del metall acumulat dins de l'amalgama. L'elèctrode de treball més utilitzat en AGNES ha estat l'HMDE, amb el qual s'han obtingut molts bons resultats, corroborats amb altres mètodes, com els elèctrodes selectius d'ions (per a Pb i Cd), models teòrics (programari Visual Minteq) i altres tècniques, com ara *scanned stripping chronopotentiometry* [53], *resin titration* [16], DMT [54], etc.

Amb els anys, AGNES ha resultat ser una tècnica molt versàtil que ha anat evolucionant tot donant resposta a les necessitats suscidades per nous sistemes. Destaca la introducció del *shifted-blank*, ideal quan és complicat preparar un blanc sintètic d'una mostra natural; la implementació de dos polsos de reducció per escurçar els temps de deposició, o la SCP com a etapa de redissolució per tal d'evitar interferències metàl·liques. Així, AGNES s'ha aplicat satisfactòriament

tant a mostres sintètiques (determinació de la complexació de metalls pesants per àcids húmics i altres fraccions de matèria orgànica dissolta [55], extractes de sòls [54], estudi de la dissolució de nanopartícules de ZnO i de *quantum dots* [56]) com naturals (mesura de Zn lliure en aigües de mar i en vins). Més recentment, l'ús d'elèctrodes serigrafiats amb AGNES ha resultat clau per poder millorar els límits de detecció i per poder realitzar, per primera vegada, determinacions *on site* sense la necessitat de desoxigenar la mostra. D'aquesta manera, s'ha aconseguit mesurar amb èxit el Zn lliure present al Besòs [22] i a diferents rius dels Pirineus.

Avui dia, AGNES continua abordant nous reptes i es treballa en la possible aplicació de la tècnica sense la necessitat d'un calibratge previ, en la mesura d'altres metalls, com ara Sn, Cu o In, així com en la possibilitat d'usar també elèctrodes de bismut.

## Agraïments

El desenvolupament d'AGNES ha estat possible gràcies a un extensíssim nombre d'investigadors (des de professors visitants fins a estudiants de doctorat, passant per personal temporal i fix de la Universitat de Lleida). També agraïm diversos finançaments de la Comissió Europea, del Ministeri d'Economia i Competitivitat i de la Generalitat de Catalunya.

## Referències i altres fonts

- [1] BUFFLE, J.; HORVAI, G. *In situ monitoring of aquatic systems. Chemical analysis and speciation: IUPAC series on analytical and physical chemistry of environmental systems*. Chichester: John Wiley & Sons, 2000.
- [2] ANDERSON, M. A.; MOREL, F. M. M.; GILLARD, R. L. L. «Growth limitation of a coastal diatom by low zinc ion activity». *Nature*, núm. 276 (1978), p. 70-71.
- [3] SUNDA, W. G.; HUNTSMAN, S. A. «Feedback interactions between zinc and phytoplankton in seawater». *Limnol. Oceanogr.*, núm. 37 (1992), p. 25-40.
- [4] MOREL, F. M. M. *Principles of aquatic chemistry*. Nova York: John Wiley & Sons, 1983.
- [5] CAMPBELL, P. G. C.; ERRECALDE, O.; FORTIN, W. C.; HIRIART-BAER, B.; VIGNEAULT, B. «Metal bioavailability to phytoplankton — applicability of the biotic ligand model». *Comp. Biochem. Physiol. C*, núm. 133 (2002), p. 189-206.
- [6] CAMPBELL, P. G. C. *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. Chichester: John Wiley & Sons, 1995, p. 45-102.
- [7] TESSIER, A.; BUFFLE, J.; CAMPBELL, P. G. C. *Chemical and biological regulation of aquatic systems*. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994, p. 197.
- [8] KALIS, E. J. J.; WENG, L.; TEMMINGHOFF, E. J. M.; RIEMSDIJK, W. H. van. «Measuring free metal ion concentrations in multicomponent solutions using the Donnan membrane technique». *Anal. Chem.*, núm. 79 (2007), p. 1555-1563.
- [9] PARTHASARATHY, N.; BUFFLE, J. «Capabilities of supported liquid membranes for metal speciation in natural waters: application to copper speciation». *Anal. Chim. Acta*, núm. 284 (1994), p. 649-659.
- [10] BUHLMANN, P.; PRETSC, E.; BAKKER, E. «Carrier-based ion-selective electrodes and bulk Optodes. 2. Ionophores for potentiometric and optical sensors». *Chem. Rev.*, núm. 98 (1998), p. 1593-1687.
- [11] FAKHARI, A. R.; SHAMSIPUR, M.; GHANBARI, K. «Zn(II)-selective membrane electrode based on tetra(2-aminophenyl) porphyrin». *Anal. Chim. Acta.*, núm. 460 (2002), p. 177-183.
- [12] MARQUES, A. L. B.; CHIERICE, G. O. «Elimination of the copper — zinc interference in anodic stripping voltammetry by addition of a complexing agent». *Talanta*, núm. 38 (1991), p. 735-739.
- [13] CHA, K. W.; PARK, C. I.; PARK, S. H. «Simultaneous determination of trace uranium(VI) and zinc(II) by adsorptive cathodic stripping voltammetry with aluminon ligand». *Talanta*, núm. 52 (2000), p. 983-987.
- [14] GALCERAN, J.; COMPANYYS, E.; PUY, J.; CECILIA, J.; GARCÉS, J. L. «AGNES: a new electroanalytical technique for measuring free metal ion concentration». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 566 (2004), p. 95-109.
- [15] COMPANYYS, E.; CECILIA, J.; CODINA, G.; PUY, J.; GALCERAN, J. «Determination of Zn(II) concentration with AGNES using different strategies to reduce the deposition time». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 576 (2005), p. 21-32.
- [16] ALBERTI, G.; BIESUZ, R.; HUIDOBRO, C.; COMPANYYS, E.; PUY, J.; GALCERAN, J. «A comparison between the determination of free Pb(II) by two techniques: absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping and resin titration». *Anal. Chim. Acta*, núm. 599 (2007), p. 41-50.
- [17] PARAT, C.; AUTHIER, L.; AGUILAR, D.; COMPANYYS, E.; GALCERAN, J.; POTIN-GAUTIER, M. «Direct determination of free metal concentration by implementing stripping chronopotentiometry as

the second stage of AGNES». *Analyst*, núm. 136 (2011), p. 4337-4343.

- [18] COMPANYS, E.; NAVAL-SÁNCHEZ, M.; MARTÍNEZ-MICHAEL, N.; PUY, J.; GALCERAN, J. «Measurement of free zinc concentration in wine with AGNES». *J. Agric. Food Chem.*, núm. 56 (2008), p. 8296-8302.
- [19] GALCERAN, J.; HUIDOBRO, C.; COMPANYS, E.; ALBERTI, G. «AGNES: a technique for determining the concentration of free metal ions. The case of Zn(II) in coastal Mediterranean seawater». *Talanta*, núm. 71 (2007), p. 1795-1803.
- [20] GALCERAN, J.; CHITO, D.; MARTÍNEZ-MICHAEL, N.; COMPANYS, E.; DAVID, C.; PUY, J. «The impact of high Zn(O) concentrations on the application of AGNES to determine free Zn(II) concentration». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 638 (2010), p. 131-142.
- [21] PARAT, C.; AGUILAR, D.; AUTHIER, L.; POTIN-GAUTIER, M.; COMPANYS, E.; GALCERAN, J. «Determination of free metal ion concentrations using screen-printed electrodes and AGNES with the charge as response function». *Electroanal.*, núm. 23 (2011), p. 619-627.
- [22] ZAVARISE, F.; COMPANYS, E.; GALCERAN, J.; ALBERTI, G.; PROFUMO, A. «Application of the new electroanalytical technique AGNES for the determination of free Zn concentration in river water». *Anal. Bioanal. Chem.*, núm. 397 (2010), p. 389-394.
- [23] CHITO, D.; GALCERAN, J.; COMPANYS, E. «The impact of inter-metallic compounds Cu<sub>x</sub>Zn in the determination of free Zn<sup>2+</sup> concentration with AGNES». *Electroanal.*, núm. 22 (2010), p. 2024-2033.
- [24] GALCERAN, J.; LAO, M.; DAVID, C.; COMPANYS, E.; REY-CASTRO, C.; SALVADOR, J.; PUY, J. «The impact of electrodic adsorption on Zn, Cd and Pb speciation measurements with AGNES». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 722-723 (2014), p. 110-118.
- [25] HUIDOBRO, C.; COMPANYS, E.; PUY, J.; GALCERAN, J.; PINHEIRO, J. P. «The use of microelectrodes with AGNES». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 606 (2007), p. 134-140.
- [26] ROCHA, L. S.; COMPANYS, E.; GALCERAN, J.; CARAPUÇA, H. M.; PINHEIRO, J. P. «Evaluation of thin mercury film rotating disk electrode to perform absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping (AGNES) measurements». *Talanta*, núm. 80 (2010), p. 1881-1887.
- [27] GALCERAN, J.; LEEUWEN, H. P. van. *Physicochemical kinetics and transport at chemical-biological surfaces: IUPAC Series on Analytical and Physical Chemistry of Environmental Systems*. Chichester: John Wiley & Sons, 2004, p. 147-203.
- [28] COMPANYS, E.; PUY, J.; GALCERAN, J. «Humic acid complexation to Zn and Cd determined with the new electroanalytical technique AGNES». *Environ. Chem.*, núm. 4 (2007), p. 347-354.

[29] SCHMID, G. *Nanoparticles: From theory to applications*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 2003.

- [30] NAVARRO, E.; BAUN, A.; BEHRA, R.; HARMANN, N. B.; BILSER, J.; MIAO, A. J.; QUIGG, A.; SANTSCHI, P. H.; SIGG, L. «Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants and fungi». *Ecotoxicology*, núm. 17 (2008), p. 372-386.
- [31] FRANKLIN, N. M.; ROGERS, N. J.; APTE, S. C.; BATLEY, G. E.; GADD, G. E.; CASEY, E. «Comparative toxicity of nanoparticulate ZnO, bulk ZnO and ZnCl<sub>2</sub> to a freshwater microalgae (*Pseudokirchneriella subcapitata*): the importance of particle solubility». *Environ. Sci. Technol.*, núm. 41 (2007), p. 8484-8490.
- [32] DAVID, C. A.; GALCERAN, J.; REY-CASTRO, C.; PUY, J.; COMPANYS, E.; SALVADOR, J.; MONNE, J.; WALLACE, R.; VAKOUROV, A. «Dissolution kinetics and solubility of ZnO nanoparticles followed by AGNES». *J. Phys. Chem. C*, núm. 116 (2012), p. 11758-11767.
- [33] ADAM, N.; SCHMITT, C.; GALCERAN, J.; COMPANYS, E.; VAKOUROV, A.; WALLACE, R.; KNAPEN, D.; BLUST, R. «The chronic toxicity of ZnO nanoparticles and ZnCl<sub>2</sub> to *Daphnia magna* and the use of different methods to assess nanoparticle aggregation and dissolution». *Nanotoxicology*, núm. 8 (2014), p. 709-717.
- [34] MU, Q. S.; DAVID, C.; GALCERAN, J.; REY-CASTRO, C.; KRZEMINSKI, L.; WALLACE, R.; BAMIDURO, F.; MILNE, S. J.; HONDOW, N. S.; BRYDSON, R.; VIZCAY-BARRERA, G.; ROUTLEDGE, M. N.; JEUKEN, L. J. C.; BROWN, A. P. «Systematic investigation of the physicochemical factors that contribute to the toxicity of ZnO nanoparticles». *Chem. Res. Toxicol.*, núm. 27 (2014), p. 558-567.
- [35] KARADJOVA, I.; IZGI, B.; GUCER, S. «Fractionation and speciation of Cu, Zn and Fe in wine samples by atomic absorption spectrometry». *Spectrochim. Acta B*, núm. 57 (2002), p. 581-590.
- [36] NICOLINI, G.; LARCHER, R.; PANGRAZZI, P.; BONTEMPO, L. «Changes in the contents of micro- and trace-elements in wine due to winemaking treatments». *Vitis*, núm. 43 (2004), p. 41-45.
- [37] PEREIRA, C. F. «The importance of metallic elements in wine — A literature survey». *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, núm. 186 (1988), p. 295-300.
- [38] POHL, P. «What do metals tell us about wine». *TrAC, Trends Anal. Chem.*, núm. 26 (2007), p. 941-949.
- [39] COMPANYS, E.; NAVAL-SÁNCHEZ, M.; MARTÍNEZ-MICHAEL, N.; PUY, J.; GALCERAN, J. «Measurement of free zinc concentration in wine with AGNES». *J. Agric. Food Chem.*, núm. 56 (2008), p. 8296-8302.
- [40] CHITO, D.; GALCERAN, J.; COMPANYS, E.; PUY, J. «Determination of the complexing capacity of wine for Zn using the absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping technique». *J. Agric. Food Chem.*, núm. 61 (2013), p. 1051-1059.



- [41] ARÉVALO, A.; ACOSTA, J. «Polarographic study of Zn(Hg)-Zn<sup>2+</sup>. 1. Limiting current in presence of KOH and NaClO<sub>4</sub>». *Anal. Quim.*, núm. 70 (1974), p. 478-483.
- [42] MOREL, F. M. M.; REINFELDER, J. R.; ROBERTS, S. B.; CHAMBERLAIN, C. P.; LEE, J. G.; YEE, D. «Zinc and carbon co-limitation of marine phytoplankton». *Nature*, núm. 369 (1994), p. 740-742.
- [43] BRAND, L. E.; SUNDA, W. G.; GUILLARD, R. L. L. «Limitation of marine phytoplankton reproductive rates by zinc, manganese and iron». *Limnol. Oceanogr.*, núm. 28 (1983), p. 1182-1198.
- [44] ELLWOOD, M. J.; BERG, C. M. G. van den. «Zinc speciation in the Northeastern Atlantic Ocean». *Mar. Chem.*, núm. 68 (2000), p. 295-306.
- [45] BRULAND, K. W. «Complexation of zinc by natural organic ligands in the central North Pacific». *Limnol. Oceanogr.*, núm. 34 (1989), p. 269-285.
- [46] DONAT, J. R.; BRULAND, K. W. «A comparison of two voltammetric techniques for determining zinc speciation in North-east Pacific Ocean waters». *Mar. Chem.*, núm. 28 (1990), p. 301-323.
- [47] BERG, C. M. G. van den; DHARMVANI, S. «Organic complexation of zinc in estuarine interstitial and surface water samples». *Limnol. Oceanogr.*, núm. 29 (1984), p. 1025-1036.
- [48] HIROSE, K.; DOKIYA, Y.; SUGIMURA, Y. «Determination of conditional stability constants of organic copper and zinc complexes dissolved in seawater using ligand exchange method with EDTA». *Mar. Chem.*, núm. 11 (1982), p. 343-354.
- [49] PARAT, C.; AUTHIER, L.; BETELU, S.; PETRUCCIANI, N. «Determination of labile cadmium using a screen-printed electrode modified by a microwell». *Electroanal.*, núm. 19 (2007), p. 403-406.
- [50] PARAT, C.; AUTHIER, L.; CASTETBON, A.; AGUILAR, D.; COMPANYS, E.; PUY, J.; GALCERAN, J.; POTIN-GAUTIER, M. «Free Zn<sup>2+</sup> determination in natural freshwater of the Pyrenees: towards on-site measurements with AGNES». *Sci. Total Environ.* (2014). [Enviat]
- [51] AGUILAR, D.; PARAT, C.; GALCERAN, J.; COMPANYS, E.; PUY, J.; AUTHIER, L.; POTIN-GAUTIER, M. «Determination of free metal ion concentrations with AGNES in low ionic strength media». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 689 (2013), p. 276-283.
- [52] AGUILAR, D.; GALCERAN, J.; COMPANYS, E.; PUY, J.; PARAT, C.; AUTHIER, L.; POTIN-GAUTIER, M. «Non-purged voltammetry explored with AGNES». *Phys. Chem. Chem. Phys.*, núm. 15 (2013), p. 17510-17521.
- [53] DOMINGOS, R. F.; HUIDOBRO, C.; COMPANYS, E.; GALCERAN, J.; PUY, J.; PINHEIRO, J. P. «Comparison of AGNES (absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping) and SSCP (scanned stripping chronopotentiometry) for trace metal speciation analysis». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 617 (2008), p. 141-148.
- [54] CHITO, D.; WENG, L.; GALCERAN, J.; COMPANYS, E.; PUY, J.; RIEMSDIJK, W. H. van; LEEUWEN, H. P. van. «Determination of free Zn<sup>2+</sup> concentration in synthetic and natural samples with AGNES (absence of gradients and Nernstian equilibrium stripping) and DMT». *J. Electroanal. Chem.*, núm. 421-422 (2012), p. 238-244.
- [55] PERNET-COUDRIER, B.; COMPANYS, E.; GALCERAN, J.; MOREY, M.; MOUCHEL, J. M.; PUY, J.; RUIZ, N.; VARRAULT, G. «Pb-binding to various dissolved organic matter in urban aquatic systems: key role of the most hydrophilic fraction». *Geochim. Cosmochim. Ac.*, núm. 75 (2011), p. 4005-4019.
- [56] DOMINGOS, R. F.; SIMON, D. F.; HAUSER, C.; WILKINSON, K. J. «Bioaccumulation and effects of CdTe/CdS quantum dots on *Chlamydomonas reinhardtii* – nanoparticles or the free ions?». *Environ. Sci. Technol.*, núm. 45 (2011), p. 7664-7669.



D. Aguilar



J. Galceran



E. Companys



J. Puy

**David Aguilar** és actualment enginyer de recerca al CNRS - Legos Laboratoires (Tolosa de Llenguadoc, França), on treballa en el desenvolupament de nous elèctrodes que permetin la mesura electroquímica *in situ* de silicats i fosfats en aigües de mar. Es va llicenciar en química (2005) i va realitzar el doctorat (2009) a la Universitat de Saragossa, centrat en l'obtenció i la caracterització analítica de compostos orgànics i organometàl·lics. Entre el 2009 i el 2013, va gaudir d'un contracte postdoctoral en el grup d'Electroquímica de la Universitat de Lleida (UdL), on, conjuntament amb la Universitat de Pau (França), va col·laborar en un projecte europeu INTERREG orientat a la mesura de la concentració lliure de metalls pesants en aigües de rius dels Pirineus mitjançant la tècnica electroanalítica AGNES. El novembre de 2013, va obtenir el premi a la millor presentació del simposi *Metodologia analítica i medi ambient*, atorgat per la Societat Catalana de Química en el marc de la VIII Trobada de Joves Investigadors dels Països Catalans.

**Josep Galceran Nogués** ha estat professor de secundària a Tremp, la Seu d'Urgell i Balaguer. Ha realitzat estades postdoctorals a Oxford, Southampton i Ginebra. És catedràtic de química física a la UdL. Treballa en la modelització de la complexació, en l'estudi de fenòmens de transport amb reacció (incloses les nanopartícules) i en el desenvolupament de tècniques emergents per especiació i biodisponibilitat.

**Encarna Companys Ferran** és enginyera agrònoma i doctora per la UdL (2003). Des de l'any 2009, és professora agregada a la UdL. La seva recerca se centra en l'estudi de l'aplicació de tècniques analítiques per a la determinació de l'especiació i la biodisponibilitat de metalls en sistemes agroalimentaris i ambientals.

**Jaume Puy Llorens** és doctor en química per la Universitat de Barcelona (1985). És catedràtic de química física i coordinador del grup de Físicoquímica Ambiental de la UdL. Centra el seu àmbit de treball en la identificació i la caracterització dels processos ambientals rellevants per a la biodisponibilitat.