

Determinación espectrofluorimétrica de 2,8-diclorodibenzofurano usando un medio micelar de polioxietileno 10-lauriléter

J. Hernández García, Z. Sosa Ferrera, A. J. Bermejo Martín-Lázaro, J. J. Santana Rodríguez*

Departamento de Química, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 35017 Las Palmas, España

Recibido 26 de octubre 1993 / Aceptado 18 de marzo 1994

Resumen. En este trabajo se establece un método analítico para la determinación de 2,8-diclorodibenzofurano (DCDBF), en presencia de un medio micelar no iónico.

Se han estudiado las características espectrofluorimétricas del DCDBF en presencia de diferentes surfactantes catiónicos, aniónicos y neutros, encontrando que el polioxietileno 10-lauriléter (POLE) produce el mayor realzamiento de su fluorescencia, respecto al que se encuentra en otros medios micelares estudiados. Después de optimizar las condiciones experimentales, como la concentración de surfactante, concentración de disolvente orgánico y la temperatura, se encontró que el método presenta un límite de detección de $1.1 \text{ ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ de DCDBF y una alta selectividad cuando el DCDBF se encuentra en presencia de otros compuestos relacionados de interés medioambiental, como dibenzo-p-dioxinas policloradas, bifenilos policlorados y arocloros.

El método ha sido aplicado a la determinación de 2,8-diclorodibenzofurano en agua de mar, obteniendo excelentes porcentajes de recuperación.

Palabras clave: Espectrofluorimetría, medios micelares, 2,8-diclorodibenzofurano, polioxietileno 10-lauriléter.

Introducción

Los dibenzofuranos policlorados (PCDBFs) son compuestos de gran interés medioambiental por su toxicidad. Estas sustancias se pueden encontrar tanto en el medio atmosférico

como marino, ya que por procesos de combustión de diferentes materiales son emitidos a la atmósfera y posteriormente incorporados al medio acuático [1,2].

El análisis de PCDBFs en los diferentes tipos de muestras investigadas, requiere una separación previa de la matriz original. Una vez separados, de una mezcla compleja de muchos otros compuestos orgánicos, fundamentalmente dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDBDs) y bifenilos policlorados (PCBs), algunos de los cuales son interferentes potenciales, aquellos son medidos a concentraciones muy bajas [3].

La técnica analítica más utilizada en la determinación de PCDBFs ha sido la Cromatografía de Gases. De esta forma se han determinado PCDBFs en el medio atmosférico [4-7], en organismos marinos [8,9], sedimentos marinos [10,11] y en agua de mar [12,13]. Sin embargo, sólo se conoce un estudio realizado por Winefordner et al. [14] que incluye las características luminiscentes de otros dibenzofuranos policlorados en n-hexano e iso-octano. Estudios previos realizados por nuestro Grupo indican que los PCDBFs, si bien presentan una fluorescencia muy pequeña en un medio 2% (v/v) etanol-agua (que en adelante denominaremos medio acuoso), la presencia de diferentes surfactantes aumenta extraordinariamente la intensidad de fluorescencia de dichos compuestos [15]. Este realzamiento se podría utilizar desde el punto de vista analítico para mejorar las determinaciones de PCDBFs, fundamentalmente en muestras medioambientales. Mejoras que se refieren principalmente a la no necesidad de una extracción previa con un disolvente orgánico y a la sencillez y rapidez en la ejecución del método.

Durante muchos años, el uso de medios organizados ha sido práctica común en todos los campos de la Química Analítica por la modificación sobre la reactividad entre analitos y reactivos y para mejorar los procedimientos analíticos. Específicamente, los medios micelares se han usa-

* A quien la correspondencia debe ser dirigida.

do para mejorar la sensibilidad y selectividad de muchas determinaciones luminiscentes [16-25].

En este trabajo, se presenta un estudio de las características fluorescentes del 2,8-diclorodibenzofurano (DCDBF) en diferentes surfactantes aniónicos, catiónicos y neutros, así como en presencia de α y β -ciclodextrina y n-hexano. El realzamiento de la fluorescencia producida por el polioxietileno 10-lauriléter (POLE) se usa para el establecimiento de un nuevo método analítico para la determinación de DCDBF. Los resultados muestran que el método propuesto puede ser usado para la determinación sencilla y simple de DCDBF en muestras de agua de mar.

Parte experimental

Reactivos

Disoluciones patrón ($0,022 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) de 2,8-diclorodibenzofurano DCDBF, 2,3,7,8-tetraclorodibenzofurano, dibenzo-p-dioxina, 2-clorodibenzo-p-dioxina, 2,3-diclorodibenzo-p-dioxina, 1,2,4-triclorodibenzo-p-dioxina (AccuStandard, Inc.), 4,4'-diclorobifenilo, (Chem. Service), 3,4,4'-triclorobifenilo, 3,3',4,4',5-pentaclorobifenilo, 3,3',4,4',5,5'-hexaclorobifenilo (AccuStandard, Inc.), aroclor 1016, aroclor 1221, aroclor 1242, aroclor 1248 (Chem. Service), aroclor 1254 (AccuStandard, Inc.) fueron preparadas en etanol. Los surfactantes, lauril sulfato de sodio (NaLS), dodecilsulfonato de sodio (NaDDBS), bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HDTAB), bromuro de cetilpiridinio (CPB), cloruro de bencildimetilhexadecilamonio (BDMHDAC), polioxietileno 10-lauriléter (POLE), isoocitilfenoxipolietoxietanol (TX-100), α -ciclodextrina y β -ciclodextrina, fueron obtenidos de Aldrich Chemical Co.

Aparatos

Fluorímetro-fosforímetro Perkin-Elmer LS 50, provisto de una lámpara de Xe, acoplado a un ordenador Ataió 3000-SX, con el software FLDM usado en el modo de fluorescencia para la obtención de los espectros de fluorescencia y medidas de intensidad. Fueron usados un ultratermostato-cristato S-382 y células de cuarzo de 1 cm.

Procedimiento general para la determinación de DCDBF

A una alícuota que contiene entre 25,0 ng y 12,5 μg de DCDBF en un matraz aforado de 25 ml, se añaden 2 ml de disolución de POLE $2,5 \times 10^{-2} \text{ M}$, suficiente etanol para obtener una concentración final del 2% (v/v) y diluyendo, finalmente, con agua desionizada. Se mide la fluorescencia a 333 nm usando la longitud de onda de excitación a 293 nm. Las curvas de calibrado se obtuvieron de disoluciones preparadas en las mismas condiciones.

Determinación de DCDBF en agua de mar

A las muestras de agua de mar, después de verificar que no presentaban fluorescencia, le fueron añadidas cantidades variables de DCDBF y se pasaron sucesivamente a través de filtros de diferente porosidad (50, 30 y $5 \mu\text{m}$) y por radiación ultravioleta para evitar la posible interferencia de los microorganismos marinos. Los análisis fueron realizados de acuerdo al procedimiento descrito anteriormente.

Resultados y discusión

Con el fin de determinar la influencia del disolvente y de los diferentes medios micelares en los espectros de excitación y de emisión del DCDBF, se ha estudiado este com-

puesto en n-hexano, en medio al 2% (v/v) etanol-agua, y en disoluciones al 2% (v/v) etanol-agua que además contienen suficiente concentración de surfactante para asegurar una concentración mayor que su concentración micelar crítica. El DCDBF fue inicialmente disuelto en etanol para impedir la modificación de los espectros por efecto de la solubilización, posiblemente producida por el medio micelar.

Las características espectrofluorimétricas de dicho compuesto en medio acuoso, en n-hexano y en presencia de diferentes surfactantes catiónicos, aniónicos y neutros, así como en α y β -ciclodextrina, aparecen recogidos en la Tabla 1. En ella se puede observar que si bien en todos los medios estudiados el máximo de excitación del DCDBF aparece a la misma longitud de onda, el correspondiente máximo de emisión sufre un ligero desplazamiento batocrómico respecto al medio acuoso. Por otra parte, se encuentra que en todos los medios ensayados, excepto en presencia de CPB, Tx-100, NaDDBS y α -ciclodextrina, se produce un gran realzamiento de la intensidad de fluorescencia del DCDBF, respecto al medio acuoso.

De acuerdo con los resultados anteriores se ha escogido el POLE como el surfactante más idóneo para el estudio analítico del DCDBF. En este medio, el analito presenta un espectro de excitación ($\lambda_{em}=333 \text{ nm}$) con un máximo a 293 nm, mientras que el espectro de emisión ($\lambda_{ex}=293 \text{ nm}$) presenta un máximo a 333 nm y otro pico de mediana intensidad a 321 nm (Fig. 1).

El espectro del DCDBF en POLE es similar al obtenido para dicho dibenzofurano disuelto en n-hexano. Esto parece confirmar que el DCDBF es solubilizado en el interior de las micelas de POLE correspondiente a la parte hidrofóbica.

Tabla 1. Características fluorescentes de DCDBF en diferentes medios.

Medio	$\lambda_{exc}^a(\text{nm})$	$\lambda_{em}^a(\text{nm})$	I_f^b
Acuoso	295	329	48
30% etanol	291	<u>332,321</u>	840
n-hexano	293	<u>332,321</u>	428
POLE	293	<u>333,321</u>	917
BDMHDAC	293	<u>333,321</u>	763
HDTAB	293	<u>333,321</u>	556
NaLS	293	<u>333,321</u>	640
CPB	297	<u>332,321</u>	64
Tx-100	---	---	---
NaDDBS	---	---	---
α -ciclodextrin	294	<u>330,321</u>	94
β -ciclodextrin	291	<u>333,321</u>	320

(a) En todos los casos las longitudes de onda están en un intervalo de $\pm 2 \text{ nm}$.

(b) Se utiliza una concentración de $471,0 \text{ ng ml}^{-1}$ de DCDBF en todos los casos, unas rendijas de 5 nm y una concentración de surfactante de $2,0 \times 10^{-3} \text{ M}$, excepto para el NaLS en que se utilizó $2,0 \times 10^{-2} \text{ M}$.

(c) Se observa alta interferencia del surfactante.

Los valores subrayados se refieren a la longitud de onda de máxima emisión.

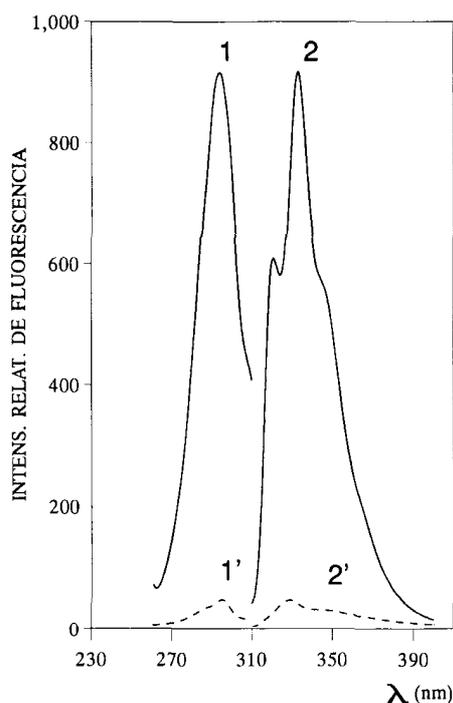


Fig. 1. Comportamiento fluorescente de DCDBF en presencia de POLE, 1 (EXC.), 2 (Em.) y medio acuoso, 1' (Exc.), 2' (Em.).
 $C_{DCDBF}: 1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$, $C_{POLE}: 2,0 \times 10^{-3} \text{ M}$

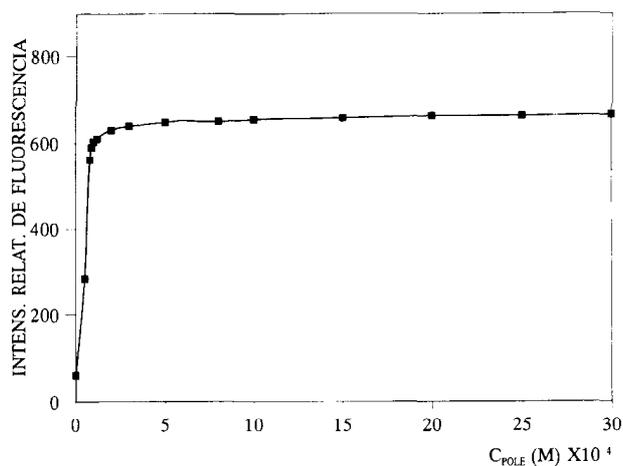


Fig. 2. Efecto de la concentración de POLE sobre la intensidad relativa de fluorescencia de DCDBF.
 $C_{DCDBF}: 1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$

Optimización de condiciones

Dada la gran influencia que sobre la intensidad de fluorescencia ejerce el ambiente químico donde se encuentra el fluoróforo, es necesario optimizar variables como la concentración de surfactante, concentración de disolvente orgánico y temperatura.

Influencia de la concentración de POLE. Con objeto de determinar la concentración idónea de surfactante que asegure la concentración micelar crítica del mismo, es

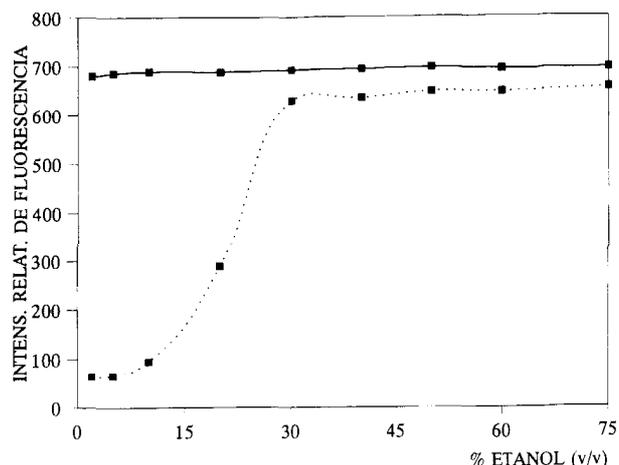


Fig. 3. Efecto del etanol sobre la intensidad relativa de fluorescencia de DCDBF en medio micelar (—) y en medio acuoso (-----).
 $C_{DCDBF}: 1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$, $C_{POLE}: 2,0 \times 10^{-3} \text{ M}$

necesario, realizar un estudio acerca de la influencia del mismo en la intensidad de fluorescencia de disoluciones de DCDBF. Para ello se mide la fluorescencia de distintas disoluciones acuosas en las que se ha ido variando la concentración de POLE. La intensidad de fluorescencia relativa del DCDBF se incrementa bruscamente con el aumento de la concentración de surfactante, hasta que se hace constante para $C_{POLE} \geq 2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ (Fig. 2). La extrapolación de los dos tramos de diferente pendiente que se observan en dicha figura da una intersección en $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$, valor muy cercano al correspondiente a la concentración micelar crítica del surfactante en agua [26], lo que confirma que los cambios observados en la fluorescencia del DCDBF están directamente relacionados con la formación de un sistema micelar. Este nuevo sistema disminuye la facilidad de movimiento de las moléculas de fluoróforo y reduce el efecto quenching del oxígeno o de otras especies que hacen que los procesos de desactivación no-radiativos estén menos favorecidos y por tanto exista un realzamiento de la fluorescencia.

Influencia del porcentaje de etanol. En la Figura 3 se observa que en presencia de surfactante, se obtienen altas intensidades de fluorescencia a bajos porcentajes de etanol, manteniéndose constante a medida que aumenta la cantidad de disolvente orgánico. Este comportamiento difiere notablemente al que presentan otros analitos orgánicos como PAHs [27] y PCBs [23, 25] en presencia del mismo surfactante, donde se produce una disminución de la intensidad de fluorescencia a altas concentraciones de etanol. El hecho de que a porcentajes altos de etanol se produzca una destrucción del medio micelar, hecho contrastado por diferentes autores [28, 29], nos hace pensar que el comportamiento anómalo del DCDBF y de otros dibenzofuranos policlorados [15], se debe a algún otro mecanismo todavía no descrito en la bibliografía y en el que debe jugar un papel importante la estructura del analito.

Sin embargo, en medio acuoso se produce un aumento considerable de la fluorescencia con el porcentaje de etanol hasta aproximadamente un 30%, manteniéndose constante a partir de este valor.

Una explicación posible de estos resultados experimentales, implica la existencia, en la región de alta polaridad (porcentajes de etanol inferiores al 30%), de transferencia de carga electrónica entre las moléculas del sistema, lo que lleva consigo una disminución de la desactivación por fluorescencia. Al disminuir la polaridad del disolvente, este efecto decrece, aumentando consiguientemente la fluorescencia del sistema [30]. Por otra parte, la velocidad de los procesos de desactivación por conversión interna aumentan con la polaridad del disolvente [31], lo que ayudaría a explicar todavía más el comportamiento experimental observado.

Influencia de la temperatura y estabilidad con el tiempo. El estudio de la influencia de la temperatura en la intensidad relativa de fluorescencia se realizó variando la misma entre 15 y 75 °C.

Los resultados experimentales obtenidos indican una disminución lineal de la intensidad relativa de fluorescencia al aumentar la temperatura, presentando un coeficiente de variación de 3,94 u.r.f./°C. Este efecto inhibitor puede deberse a una desactivación no fluorescente de las moléculas, producida por un aumento del número de colisiones entre ellas con el incremento de la temperatura.

También se ha comprobado que la intensidad relativa de fluorescencia del DCDBF permanece constante durante una hora en todo el rango de temperaturas estudiado.

Parámetros analíticos

Para el establecimiento del rango de linealidad entre la intensidad relativa de fluorescencia y la concentración de DCDBF, se prepararon dos series de disoluciones que cubren el rango de concentraciones comprendido entre 1,0 y 500,0 ng.ml⁻¹. La representación de las intensidades relativas de fluorescencia frente a las concentraciones de DCDBF conducen a rectas con altos coeficientes de correlación. El estudio de la precisión del método propuesto para la determinación de DCDBF se realizó preparando en cada caso 11 muestras con una concentración de DCDBF de 20,0 y 265,0 ng.ml⁻¹, respectivamente y se midieron sus intensidades de fluorescencia. Los resultados obtenidos se encuentran recogidos en la Tabla 2.

El límite de detección del método se determinó haciendo uso de la definición propuesta por Long y Winefordner [32]: el límite de detección, expresado como la concentración, C_L, que se deriva de la medida más pequeña, X_L, que puede ser detectada con razonable certeza, viene dado por la ecuación:

$$C_L = \frac{K [S_B^2 + S_i^2 + (i/m)^2 S_m^2]^{1/2}}{m}$$

donde **m** e **i** son respectivamente la pendiente y la ordenada en el origen de la recta correspondiente al intervalo de concentración más bajo; **S_B**, **S_i** y **S_m** son la desviaciones estándar del blanco, de la ordenada en el origen y de la pendiente, respectivamente; y **K** es un factor numérico escogido de acuerdo con el nivel de confianza deseado.

Para dicho cálculo se prepararon 11 muestras del blanco y se midió su intensidad de fluorescencia en las condiciones experimentales en que se realizó la curva de calibrado 1.0-40.0 ng.ml⁻¹, obteniéndose un valor de 1,1 ng.ml⁻¹. Dicho valor es comparable y en algunos casos mejor, a los obtenidos para otros compuestos de la misma familia utilizando otras técnicas luminiscentes como la fosforimetría a baja temperatura y la fosforimetría a temperatura ambiente en superficie sólida, teniendo en cuenta que en estos estudios los límites de detección fueron determinados sin tener en cuenta los errores inherentes a los parámetros de la curva de calibrado [14].

Tabla 2. Características analíticas del método, en la determinación de DCDBF, usando POLE como medio micelar.

RDL ^a (ng ml ⁻¹)	Pendiente ^b (lg-1g)	Coficiente de Correlación	DSR %
1,0-40,0	1,06	0,999	1,6
40,0-500,0	1,04	0,999	0,7

(a) Rango Dinámico Lineal obtenido usando 8 concentraciones diferentes de analito; (b) Pendiente calculada de la curva lg fluorescencia frente a lg concentración; (c) Desviación Standard Relativa.

Tabla 3. Efecto de la presencia de diferentes PCDBDs, PCBs y arocloros sobre la determinación espectrofluorimétrica de DCDBF usando POLE como medio micelar.

Relación tolerada ^a	Interferentes añadidos
100	Dibenzo-p-dioxina, 2-PCDBD, 2,3-PCDBD, 1,2,4-PCDBD Aroclor 1016, Aroclor 1242, Aroclor 1248, Aroclor 1254, 2,2',5,5'-PCB, 2,2',4,5,5'-PCB, 2,2',4,4',5-PCB, 2,3,3',4,4',5-PCB, 2,2',3,3',4,4',5,5'-PCB, 3,3',4,4',5-PCB, 3,3',4,4',5,5'-PCB,
5	4,4'-PCB, 3,3',4-PCB, 3,3',4,4'-PCB
1	

(a) ng ml⁻¹ Interferente/ng ml⁻¹ DCDBF

- Lázaro A. y Santana Rodríguez J.J.; *Anal. Chim. Acta*, (1994), 290, 146.
24. Von Wandruszka R.; *Critical Reviews in Anal. Chem.*, (1992), 23(3), 187.
25. Hernández García J., Sosa Ferrera Z., Bermejo Martín-Lázaro A. y Santana Rodríguez J.J.; *Anal. Letters*, (1994), 27 (7), 1355.
26. Singh H., Hinze W.L.; *Anal. Lett.*, (1982), 15(A3), 221.
27. Bermejo Martín-Lázaro A.J.; Tesis Doctoral, Universidad de Las Palmas de G.C.
28. Hernández Hernández F., Medina Escriche J., Gasco Andreu M.T., *Talanta*, (1986), 33, 537.
29. Ayala J.H., Afonso A.M., González Díaz V., *Mikrochim. Acta*, (1991), I, 171.
30. Guilbault G.G., "Practical Fluorescence" 2ª Edición, Marcel Dekker, Inc., 1990. .
31. Kosower E.M., *Acc. Chem. Res.*, (1982), 15, 259.
32. Long G.L., Winefordner J.D.; *Anal. Chem.*, (1983), 55, 712A.
33. Zebühr Y., Näf C., Bandh C., Bronan C., Ishaq R. and Petersen H.; *Chemosphere*, (1993), 27(7), 1211

Interferencias

Dado que los PCDBFs, PCDBDs, PCBs y Arocloros se encuentran, normalmente juntos, en muestras medioambientales [33], se ha realizado un estudio para evaluar las posibles interferencias en la determinación del DCDBF, de estos compuestos de interés toxicológico y medioambiental. Con este fin se ha medido la intensidad de fluorescencia de disoluciones micelares del DCDBF que contienen el interferente en distintas relaciones de concentración. Los resultados de este estudio se muestran en la Tabla 3, donde se puede reseñar la aceptable selectividad del método respecto a los compuestos antes mencionados.

Aplicaciones

El método desarrollado se ha aplicado a la determinación del DCDBF en agua de mar procedente de la isla de Gran Canaria (Islas Canarias), a la que previamente se añadieron distintas cantidades de dicho dibenzofurano, así como los interferentes estudiados en las máximas relaciones permitidas. Los resultados obtenidos se encuentran reflejados en la Tabla 4, donde se puede apreciar la gran concordancia entre las concentraciones añadidas y las encontradas.

Conclusiones

El estudio del DCDBF en presencia de diferentes surfactantes catiónicos, aniónicos y neutros revela que el POLE produce un gran incremento de la fluorescencia de este compuesto en solución acuosa (2% (v/v) etanol-agua). Este realzamiento se debe a la formación de micelas en estas soluciones, cuando se usa una concentración del surfactante superior a la concentración micelar crítica.

El uso de POLE como realzador de la fluorescencia nos permite establecer un método sencillo y de bajo coste para la determinación de DCDBF en agua de mar, utilizando un medio acuoso. Si bien algunos otros dibenzofuranos policlorados, sobre todo los tri y tetraclorados interfieren en la

Tabla 4. Determinación de DCDBF en agua de mar procedente de la isla de Gran Canaria (Islas Canarias).

DCDBF añadido (ng.ml ⁻¹)	DCDBF encontrado* (ng.ml ⁻¹)	DCDBF añadido* (ng.ml ⁻¹)	DCDBF encontrado* (ng.ml ⁻¹)
400.0	404.1	40.0	37.6
350.0	354.4	28.0	27.4
300.0	295.2	24.0	22.2
250.0	247.7	22.0	21.4
200.0	198.4	20.0	18.2
150.0	152.8	18.0	17.2
100.0	102.8	12.0	11.9
80.0	78.5	10.0	8.6
60.0	62.3	6.0	5.9
50.0	51.8	4.0	3.0

(*) Media de tres determinaciones

determinación del DCDBF, éste se puede determinar con gran precisión en presencia de Dibenzo-p-dioxinas policloradas, Bifenilos policlorados y Arocloros, que normalmente se encuentran juntos al primero en muestras medioambientales. Ello permite utilizar el método propuesto como complementario a los ya existentes, sobre todo en lo que se refiere a la monitorización y control rápido de la contaminación existente en muestras medioambientales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado con fondos procedentes de la Dirección General de Investigación Científica y Técnica (D.G.I.C.Y T.) (Ministerio de Educación y Ciencia). Proyecto No. PB91-0285.

Bibliografía

- Fletcher C.L., Mckay W.A.; *Chemosphere*, (1993), 26(6), 1041.
- Ballschmiter K., Bacher R., Menzel A., Fischer R., Reihle U., Swerev M.; *J. of High Resolution Chromatography*, (1992), 15, 260.
- Clement R.E.; *Anal. Chem.*, (1991), 63(23), 1130A.
- König K., Theisen J., Günther W.J., Liebl K.H., Büchen M.; *Chemosphere*, (1993), 26(5), 851.
- Koester C.J., Hites R.; *Environ. Sci. Technol.*, (1992), 26(3), 502.
- Piispanen W.H., Czuczwa J.; *Environ. Sci. Technol.*, (1992), 26(9), 1841.
- Bacher R., Swerev M., Ballschmiter K.; *Environ. Sci. Technol.*, (1992), 26(8), 1649.
- Kuehl D. W., Butterworth B. C., Libal J., Marquis P.; *Chemosphere*, (1991), 22(9), 849.
- Williams L.L., Giesy J.P., DeGalan n., Verbrugge D.A., Tillitt D.E., Ankley G.T.; *Environ. Sci. Technol.*, (1992), 26(6), 1151.
- Knutzen J., Oehme M.; *Chemosphere*, (1989), 19, 1897.
- Hashimoto S., Wakimoto T., Tatsukawa R.; *Chemosphere*, (1990), 21, 825.
- Broman D., Naf C., Rolff C., Zebühr Y.; *Environ. Toxicol. Chem.*, (1992), 11, 331.
- Oehme M., Ryg M., Furst C., Meemken H.A., Groebel W.; *Chemosphere*, (1990), 21, 519.
- Khasawneh I. M., Winefordner J. D.; *Talanta*, (1988), 35, 267.
- Sosa Ferrera, Z., Hernández García J., Bermejo Martín-Lázaro A., Santana Rodríguez J.J.; Datos pendientes de publicación.
- Gratzel M., Thomas J.K.; "Modern Fluorescence Spectroscopy", Plenum Press, New York, 1979.
- Hinze W.L., Singh H.N., Baba Y., Harvey N.G.; *Trends. Anal. Chem.*, (1984), 3, 193.
- Howard J.H., Fazio T.; *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, (1980), 63, 1077.
- Pelizzetti E., Pramauro E.; *Anal.Chim. Acta*, (1985), 196, 1.
- Santana Rodríguez J.J., Sosa Ferrera Z., Afonso Perera A, González Díaz V.; *Anal. Chim. Acta*, (1991), 255, 107.
- Bermejo Martín-Lázaro A., Hernández García J., Santana Rodríguez J.J.; *Fresenius J. Anal. Chem.*, (1992), 343, 509.
- Santana Rodríguez J.J., Gunshefski M.A., Winefordner J.D.; *Talanta*, (1992), 39, 195.
- Hernández García J., Betancort Rodríguez J.R., Bermejo Martín-