

Tesis de Maestría en Química

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Autor: Lic. Pablo Ismael González Cazzola

Año 2019



Directores: Prof. Dr. Moisés Knochen y Prof. Dr. Nicolás Pérez

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tesis de maestría en química

Autor: Lic. Pablo Ismael González Cazzola

Orientadores: Prof. Dr. Moisés Knochen y Prof. Dr. Nicolás
Pérez

Agosto de 2019

Grupo de Instrumentación y Automatización en Química Analítica –
Química Analítica – Departamento Estrella Campos – Facultad de
Química – Udelar, Montevideo, Uruguay



Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



ACTA DEFENSA DE TESIS

RG-SGC-039

v.01
2015/08/20

FECHA	Lunes 12 de agosto de 2019		
CARRERA	MAESTRIA		
PLAN	2004		
	LUGAR	FECHA	HORA
EXAMEN			
DIRECTORES DE TESIS Dr. Moisés Knochen Dr. Nicolás Pérez			
TRIBUNAL Dra. Florencia Tissot Dr. Eduardo Méndez Dr. Leonardo Barboni			
ESTUDIANTE		CALIFICACIÓN	
APELLIDO Y NOMBRE	Cédula de Identidad	NUMERO	SIMBOLO
Pablo Ismael González Cazzola	3.923.923-4	12	EXCELENTE
NOMBRE DE TESIS: " Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales"			

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



PROGRAMA DE DESARROLLO DE LAS CIENCIAS BÁSICAS
Ministerio de Educación y Cultura - Universidad de la República

ACTA. En Montevideo a los doce días del mes de agosto de 2019, se reúne en la Facultad de Química el Tribunal que entendió en la defensa de tesis de Maestría en Química que postula el Lic. Pablo González Cazzola, cuyo título es “Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales”.

Asisten todos sus integrantes: Dres. Florencia Tissot, Leonardo Barboni, Eduardo Méndez (Presidente del Tribunal), Nicolás Pérez y Moisés Knochen (Directores de tesis).

El Tribunal habiendo analizado la tesis en profundidad considera que:

El trabajo presenta una exhaustiva recopilación de antecedentes bibliográficos.

Es un trabajo de excelente calidad científica, desarrollado con recursos y medios técnicos adecuados. La temática abordada es de gran interés nacional en la actualidad, siendo un aporte significativo al monitoreo de la calidad de los recursos hídricos.

Los objetivos, el desarrollo, los resultados obtenidos y las conclusiones han sido presentados de forma adecuada en el manuscrito.

Asimismo se destaca la difusión de los resultados obtenidos mediante dos publicaciones en revistas internacionales indexadas y medios idóneos de difusión científica.

También se destaca el carácter multidisciplinario del trabajo incorporando temas que fueron abordados por el estudiante de manera autodidacta como el desarrollo de la plataforma electrónica y de software.

La presentación fue realizada utilizando medios audiovisuales adecuados, destacándose la claridad de la exposición.

Posteriormente respondió con solidez las preguntas del Tribunal lo que indica la excelente formación alcanzada.

Por lo anterior, el tribunal le otorga la calificación de EXCELENTE.

Dra. Florencia Tissot

Dr. Eduardo Méndez

Dr. Leonardo Barboni

Dr. Moisés Knochen

Dr. Nicolás Pérez

ÁREA QUÍMICA

Facultad de Química. Av. General Flores 2124, Montevideo 11800, URUGUAY

Teléfonos: (+598) 29242338. Fax: (+598) 29241906.

Página web: www.pedeciba.edu.uy/quimica

Correo electrónico: lsegredo@fq.edu.uy – gabig@fq.edu.uy

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Agradecimientos:

- ❖ A mis orientadores de tesis los Profesores Dr. Moisés Knochen y Dr. Nicolás Pérez por su infinita paciencia, disposición y por sobre todas las cosas por la gran cantidad de conocimientos que me han regalado a lo largo de esta etapa.
- ❖ A mis compañeros/as de la Cátedra de Química Analítica por el compañerismo y por los aportes directos e indirectos que me han ofrecido.
- ❖ A mis compañeros/as del Departamento de Química y Toxicología del Poder Judicial, por su compañerismo también y por el apoyo que me han brindado con este trabajo.
- ❖ A los familiares y amigos que me brindaron su apoyo.
- ❖ Especial agradecimiento a Aparicio y Graciela por permitirme hacer la evaluación en campo del instrumento construido dentro de su predio.
- ❖ Y por último, a mis mascotas, esos compañeros de vida fieles e invaluableles que me brindan su amor incondicional.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla de Contenido

RESUMEN.....	13
1. MARCO DE REFERENCIA	16
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivos generales.....	19
2.2. Objetivos específicos	19
3. INTRODUCCIÓN.....	20
3.1. Importancia de la determinación del fósforo en aguas.....	20
3.2. Importancia de la determinación del nitrógeno en aguas	22
3.3. La situación de los cuerpos de agua de nuestro país	24
3.3.1. Niveles de fósforo	28
3.3.2. Niveles de nitrato y nitrito.....	30
3.4. La necesidad de contar con datos en tiempo real	32
3.5. El análisis en flujo como técnica de automatización	33
3.6. La espectrofotometría de absorción molecular como técnica de detección	35
3.7. Métodos analíticos para la determinación de fósforo en aguas.....	36
3.8. Métodos analíticos para la determinación de nitrógeno en aguas	40
3.8.1. Nitrito	40
3.8.2. Nitrato.....	42
4. DISEÑO DEL ANALIZADOR DE NITRÓGENO Y FÓSFORO	44
4.1. Antecedentes	44
4.2. Métodos químicos utilizados en el analizador construido	46
4.2.1. Método seleccionado para la determinación de fósforo	47
4.2.2. Método seleccionado para la determinación de nitrito/nitrato.....	47
4.3. <i>Hardware</i> utilizado	48
4.3.1. Bombas solenoide	48
4.3.2. La placa de microcontrolador.....	51
4.3.3. Sistema de detección	54
4.3.3.1. Sistema de detección para fosfato	55
4.3.3.2. Sistema de detección para nitrito/nitrato	55
4.3.4. Interfaz de potencia para control de los actuadores.....	56
4.3.5. <i>Manifold</i> para fosfato	56
4.3.6. <i>Manifold</i> para nitrito	63

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4.3.7.	<i>Manifold</i> para nitrato	66
4.3.8.	Comunicaciones	69
4.3.8.1.	Bluetooth.....	69
4.3.8.2.	Radiofrecuencia a 915 MHz	70
4.3.8.3.	GSM/GPRS.....	70
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	73
5.1.	Validación en el laboratorio	73
5.1.1.	Fosfato	73
5.1.2.	Nitrito	73
5.1.3.	Nitrato.....	74
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	76
6.1.	Validación en el laboratorio	76
6.1.1.	Fosfato	76
6.1.1.1.	Interferencias	76
6.1.1.2.	Optimización de ciertos parámetros instrumentales	76
6.1.1.3.	Calibración.....	79
6.1.1.4.	Veracidad.....	83
6.1.1.5.	Precisión	84
6.1.1.6.	Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ)	84
6.1.1.7.	Estabilidad de la señal y de la línea de base.....	85
6.1.1.8.	Resumen de las cifras de mérito en la validación de fosfato	87
6.1.2.	Nitrito.....	87
6.1.2.1.	Interferencias	87
6.1.2.2.	Calibración.....	87
6.1.2.3.	Veracidad.....	90
6.1.2.4.	Precisión	90
6.1.2.5.	Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ)	90
6.1.2.6.	Estabilidad de la señal y de la línea de base.....	91
6.1.2.7.	Resumen de las cifras de mérito en la validación de nitrito	93
6.1.3.	Nitrato.....	93
6.1.3.1.	Interferencias	93
6.1.3.2.	Calibración.....	93
6.1.3.3.	Precisión	96
6.1.3.4.	Veracidad.....	96
6.1.3.5.	Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ)	96

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.1.3.6.	Estabilidad de la señal y de la línea de base	97
6.1.3.7.	Resumen de cifras de mérito en la validación de nitrato	99
6.1.4.	Resumen de la validación en el laboratorio para los 3 analitos	99
6.2.	Diseño y construcción del analizador autónomo	100
6.2.1.	Sistema en flujo y sistema eléctrico	100
6.2.2.	Armado de los módulos	105
6.2.3.	Frascos y su contenido	116
6.2.4.	Programación	117
6.2.5.	Descripción del ciclo de análisis	118
6.2.5.1.	Determinación de fosfato	118
6.2.5.2.	Determinación de nitrito	120
6.2.5.3.	Determinación de nitrato+nitrito	121
6.2.6.	Instalación del analizador y mantenimiento	123
6.2.7.	Alimentación eléctrica y autonomía	123
6.2.8.	Pruebas de desempeño del analizador	124
6.2.8.1.	Monitoreo de la calibración	124
6.2.8.2.	Recuperación en muestras fortificadas	126
6.2.8.3.	Pruebas de campo en cursos de agua	129
6.2.9.	Características técnicas del analizador construido	137
7.	EVALUACIÓN ECONÓMICA	139
8.	CONCLUSIONES	141
8.1.	Conclusiones generales	141
8.2.	Conclusión global	141
9.	TRABAJO A FUTURO	142
10.	BIBLIOGRAFÍA	144
11.	PUBLICACIONES DERIVADAS DEL PRESENTE TRABAJO	156
11.1.	Presentaciones en congresos	156
11.2.	Artículos en revistas	162
12.	ANEXOS	164
12.1.	Programa del analizador cargado a la placa Arduino	164
12.2.	Cálculo del consumo energético y autonomía	180
12.3.	Preparación de los reactivos y del patrón	212
12.4.	Determinación de los analitos en las muestras del arroyo Pando	213

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Índice de figuras:

Figura 1: El ciclo hidrológico	21
Figura 2: Formas químicas de fósforo inorgánico en aguas.....	21
Figura 3: Ciclo del nitrógeno	22
Figura 4: Ciclo del nitrógeno en aguas.....	23
Figura 5: Cuencas hidrográficas del Uruguay.	25
Figura 6: Cuencas hidrográficas en Montevideo.	26
Figura 7: Estado de los cursos de agua de la cuenca del río Santa Lucía.	27
Figura 8: Índice del estado eutrófico de ciertos cursos de agua.....	27
Figura 9: Niveles de fósforo total del arroyo Pantanoso en el período 2010-2016.....	29
Figura 10: Variación de los niveles de fósforo total en la cuenca del río Santa Lucía..	29
Figura 11: Variación de los niveles de fósforo total en la cuenca del Río Uruguay.....	30
Figura 12: Concentración de los compuestos nitrogenados en el arroyo Pantanoso. .	31
Figura 13: Evolución de los niveles de nitrato en el Río Santa Lucía.....	31
Figura 14: Evolución de los niveles de nitrato en el Río Negro.....	32
Figura 15: Principio de la medida de la transmitancia o absorbancia.	35
Figura 16: Espectro del ácido vanadomolibdofosfórico $H_3PVMo_{11}O_{40}$	38
Figura 17: Espectro del azul de molibdeno.	39
Figura 18: Espectro del compuesto formado en la reacción de Griess.....	41
Figura 19: Prototipo de un analizador de fósforo para aguas naturales.	46
Figura 20: <i>Manifold</i> microfluídico de un analizador prototipo	46
Figura 21: Mini bombas solenoide.	49
Figura 22: Corte transversal de una bomba solenoide	49
Figura 23: Entorno de programación de Arduino	53
Figura 24: Placa Arduino UNO.....	54
Figura 25: Acondicionador de señal del sistema de detección diseñado.....	55
Figura 26: Interfaz de potencia para los actuadores.....	56
Figura 27: Sistema MPFA para fósforo.	57
Figura 28: Diagrama de tiempos del sistema en flujo para fosfato.	60
Figura 29: Diagrama de flujos del software diseñado en Arduino para la validación en el laboratorio.....	61
Figura 30: Diagrama de flujos del software diseñado en MATLAB para la interfaz de usuario.....	62
Figura 31: Sistema MPFA para nitrito.	63
Figura 32: Diagrama de tiempos del sistema en flujo para nitrito.	65
Figura 33: Sistema MPFA para nitrato.	67
Figura 34: Diagrama de tiempos del sistema en flujo para nitrato.	68
Figura 35: Módulo Bluetooth HC-06.....	69
Figura 36: Módulos de radiofrecuencia 3DR.	70
Figura 37: Módulo GSM/GPRS.....	71
Figura 38: Ejemplo de SMS enviado al usuario.....	71
Figura 39: Foto de la columna de cadmio cuperizado.....	75
Figura 40: Optimización del tiempo de flujo detenido en la determinación de fósforo..	78
Figura 41: Optimización de la cantidad de patrones/muestras inyectada.	79
Figura 42: Señales correspondientes a la calibración para fosfato.....	80
Figura 43: Curva de calibración para fósforo.	81

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Figura 44: Calibración para fósforo con un único patrón.	83
Figura 45: Estudio de la estabilidad de la señal y de la línea de base.....	86
Figura 46: Curva de calibración para nitrito.....	88
Figura 47: Señales correspondientes a la calibración para nitrito.....	89
Figura 48: Estabilidad del sistema y de la línea base para la determinación de nitrito.	92
Figura 49: Curva de calibración para nitrato.	94
Figura 50: Señales correspondientes a la calibración para nitrato.	95
Figura 51: Estabilidad del sistema y la línea base para la determinación de nitrato. ...	98
Figura 52: Diagrama de bloques del analizador.	101
Figura 53: Diagrama del sistema en flujo del analizador.	102
Figura 54: Circuito eléctrico del analizador.	103
Figura 55: Cajas estancas (módulos) para los dispositivos del analizador.	106
Figura 56: Componentes del módulo de muestreo.....	107
Figura 57: Módulo de muestreo armado con la columna de cadmio anexada.....	108
Figura 58: Componentes del módulo de reactivos y carrier.....	109
Figura 59: Módulo armado.....	109
Figura 60: Portaceldas y placa con los LEDs.....	110
Figura 61: Componentes del módulo de detección.	110
Figura 62: Módulo de detección armado.....	111
Figura 63: Módulo de la electrónica.	112
Figura 64: Bomba peristáltica para la toma de agua a muestrear.	113
Figura 65: Analizador armado.....	113
Figura 66: Interior y exterior del analizador.	114
Figura 67: Pre-filtro a la entrada de la muestra de agua.	115
Figura 68: Portafiltros diseñado mediante impresión 3D para filtro de membrana.....	115
Figura 69: Costado del analizador (vista de las 2 etapas del sistema de filtración). ..	115
Figura 70: Explicación de cómo estima el microcontrolador la altura de los picos.....	118
Figura 71: Diagrama de tiempos del analizador para la determinación de fosfato.....	120
Figura 72: Diagrama de tiempos del analizador para la determinación de nitrito.....	121
Figura 73: Diagrama de tiempos del analizador para la determinación de nitrato+nitrito.	122
Figura 74: Baterías utilizadas en el analizador.....	124
Figura 75: Pendientes de calibración para fosfato obtenidas en días consecutivos de trabajo.	124
Figura 76: Pendientes de calibración de nitrito obtenidas en días consecutivos de trabajo.	125
Figura 77: Pendientes de calibración de nitrato+nitrito obtenidas en días consecutivos de trabajo.....	125
Figura 78: Comparación entre los valores nominales de las muestras artificiales y los obtenidos por el analizador.	127
Figura 79: Comparación entre los valores nominales de las muestras artificiales y los obtenidos por el analizador para nitrito.	128
Figura 80: Comparación entre los valores nominales de las muestras artificiales y los obtenidos por el analizador para nitrato.	129
Figura 81: Subcuencas del departamento de Canelones.....	130
Figura 82: Vertidos domésticos e industriales en Canelones.	130

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Figura 83: Niveles de fósforo en los cursos de agua de Canelones.	131
Figura 84: Niveles de nitrógeno en los cursos de agua de Canelones.	131
Figura 85: Ubicación del sitio de prueba del analizador.	132
Figura 86: Coordenadas geográficas del sitio de prueba.	132
Figura 87: Orilla del arroyo Pando donde se dejó el analizador para la prueba de campo.....	133
Figura 88: Momento de la instalación.	133
Figura 89: El analizador Instalado.....	134
Figura 90: Analizador instalado.....	134
Figura 91: Caño colector de muestra sumergido.....	135
Figura 92: Comparativa de los resultados del analizador y de las muestras recolectadas.	136
Figura 93: Filtro y pre-filtro luego de las pruebas de campo.....	137
Figura 94: Porcentaje del costo total de cada sistema.	140
Figura 95: El sistema eléctrico del analizador multiparamétrico.	181
Figura 96: Distribución del consumo eléctrico discriminado por componente.....	210
Figura 97: Determinación de fosfato en las muestras del arroyo Pando.....	213
Figura 98: Determinación de nitrito en las muestras del arroyo Pando.	214
Figura 99: Determinación de nitrato en las muestras del arroyo Pando.	214

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Índice de tablas:

Tabla 1: Rangos de trabajo y límites de detección reportados para la determinación de fósforo.	40
Tabla 2: Resumen de los métodos seleccionados para el analizador.	47
Tabla 3: Materiales de construcción de una bomba solenoide.	50
Tabla 4: Comparación entre distintas comunicaciones probadas.	72
Tabla 5: Interferencias reportadas en el método del ácido vanadomolibdofosfórico....	76
Tabla 6: Equivalencia del tiempo de bombeo con la masa de analito inyectada.	78
Tabla 7: Disoluciones preparadas en el estudio de la calibración y señales obtenidas.	81
Tabla 8: Valores de la calibración con un único estándar de P.	82
Tabla 9: Resultados del estudio de veracidad.	84
Tabla 10: Resultados del estudio de precisión (repetibilidad, n=10 para cada nivel)...	84
Tabla 11: Resultados de la estimación de LOD y LOQ.	85
Tabla 12: Cifras de mérito del sistema MPFA para fosfato y su evaluación.	87
Tabla 13: Disoluciones preparadas en el estudio de la calibración de nitrito y señales obtenidas.	88
Tabla 14: Resultados del estudio de precisión (repetibilidad, n=5 para cada nivel)....	90
Tabla 15: Límites de detección y cuantificación para nitrito con el sistema MPFA.	91
Tabla 16: Cifras de mérito del sistema MPFA para nitrito y su evaluación.	93
Tabla 17: Disoluciones preparadas en el estudio de la calibración de nitrato y señales obtenidas.	94
Tabla 18: Resultados del estudio de precisión (repetibilidad, n=5 para cada nivel)....	96
Tabla 19: Límites de detección y cuantificación para nitrato con el sistema MPFA.	97
Tabla 20: Cifras de mérito del sistema MPFA para nitrato y su evaluación.	99
Tabla 21: Resumen total de las cifras de mérito de la validación en el laboratorio para los 3 analitos.	99
Tabla 22: Dispositivos eléctricos utilizados en el analizador y su función.	100
Tabla 23: Componentes electrónicos del analizador.	104
Tabla 24: Masas promedio (n=10) de 10 pulsaciones de agua para las bombas disponibles.	104
Tabla 25: Concentraciones de fosfato obtenidas por el analizador y nominales en muestras fortificadas.	126
Tabla 26: Concentraciones de nitrito obtenidas por el analizador y nominales en las muestras fortificadas.	127
Tabla 27: Concentraciones de nitrato obtenidas por el analizador y nominales en las muestras fortificadas.	128
Tabla 28: Características técnicas del analizador.	137
Tabla 29: Estimación de los costos de cada sistema.	139

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Glosario de siglas y acrónimos:

AWACSS: *Automated Water Analysis Computer Supported System*: Sistema de análisis de aguas automatizado soportado por computadora.

CARU: Comisión Administradora del Río Uruguay.

DINAMA: Dirección Nacional de Medio Ambiente.

EEUU: Estados Unidos de Norteamérica.

FIA: *Flow Injection Analysis*: Análisis por inyección en flujo.

GPRS: *General Packet Radio Service*: Servicio general de paquetes vía radio.

GSM: *Global System for Mobile Communications*: Sistema global de comunicaciones móviles.

IDE: *Integrated Development Environment*: Entorno de desarrollo integrado.

IEEE: *Institute of Electrical and Electronics Engineers*: Instituto de Ingeniería Eléctrica y Electrónica.

IFA: *International Fertilizer Association*: Asociación Internacional de Fertilizantes.

IM: Intendencia de Montevideo.

IUPAC: *International Union of Pure and Applied Chemistry*: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.

LATU: Laboratorio Tecnológico del Uruguay.

LED: *Light Emitting Diode*: Diodo emisor de luz.

LOD: *Limit of Detection*: Límite de detección.

LOQ: *Limit of Quantification*: Límite de cuantificación.

MPFA: *Multi-pumping Flow Analysis*: Análisis en flujo por multi bombeo.

NIH: *National Institutes of Health*: Institutos Nacionales de la Salud.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OSE.: Obras Sanitarias del Estado.

PFA: Perfluoroalcoxi.

PWM: *Pulse Width Modulation*: Modulación por ancho de pulso.

SIA: *Sequential Injection Analysis*: Análisis por inyección secuencial.

SMS: *Short Message Service*: Servicio de mensajes cortos.

USB: *Universal Serial Bus*: Bus de datos serie universal.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

RESUMEN

En el presente trabajo de tesis se implementó una prueba de concepto: el diseño y construcción de un analizador autónomo de campo para la determinación de fósforo y nitrógeno en aguas superficiales. El analizador construido permite la determinación de fosfato, nitrito y nitrato, está basado en un sistema de flujo pulsado con detección fotométrica y cuenta con comunicación de los resultados mediante mensaje de texto al teléfono móvil del usuario.

Para cumplir los objetivos planteados, se profundizaron los conocimientos respecto a los perjuicios causados por las altas cargas de nutrientes en agua, su origen y las formas de determinación de los mismos; así como también lo que son los valores actuales de los niveles de fósforo y nitrógeno en nuestros principales cuerpos de agua.

Se estudiaron las diferentes formas de detección del fósforo y del nitrógeno para su determinación analítica, particularmente en lo que refiere a su implementación en sistemas de análisis en flujo. Se seleccionaron los métodos químicos basados en la detección fotométrica por su sencillez de escalado y bajo costo de implementación en el desarrollo de sistemas analíticos portables y autónomos. Para llevar a cabo la construcción del analizador fue aplicar conocimientos de electrónica y programación lo cual brinda al presente trabajo un alto componente interdisciplinario.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

ABSTRACT

In the present thesis work, a proof of concept was implemented: the design and construction of an autonomous field analyzer for the determination of phosphorus and nitrogen in surface waters. The built analyzer allows the determination of phosphate, nitrite and nitrate, is based on a pulsed flow system with photometric detection and has communication of the results by text message to the user's mobile phone.

In order to meet the stated objectives, knowledge was deepened regarding the damages caused by the high loads of nutrients in water, their origin and the ways of determining them; as well as what are the current values of phosphorus and nitrogen levels in our main bodies of water.

The different forms of phosphorus and nitrogen detection were studied for their analytical determination, particularly as regards their implementation in flow analysis systems. Chemical methods based on photometric detection were selected for their simplicity of scaling and low cost of implementation in the development of portable and autonomous analytical systems. To carry out the construction of the analyzer, it was necessary to apply knowledge of electronics and programming, which provides a high interdisciplinary component to the present work.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS

El documento de la tesis se divide en 12 capítulos.

En el capítulo 1 se establece un marco de referencia que justifica la realización del trabajo de tesis.

Los capítulos 2 y 3 establecen los objetivos y se describen los fundamentos teóricos respecto a los temas abarcados (la importancia de la determinación de nutrientes en aguas, el estado de los cursos de agua de nuestro país, la necesidad de contar con datos en tiempo real, los diferentes métodos analíticos para la determinación de fósforo y nitrógeno, etc.).

El capítulo 4 describe en profundidad como fue el diseño y construcción del analizador multiparamétrico para la determinación de nutrientes en aguas.

El capítulo 5 muestra los materiales y métodos utilizados tanto en las pruebas de laboratorio como con el analizador ya construido.

El capítulo 6 exhibe los resultados obtenidos tanto en el laboratorio como en pruebas fuera del mismo.

El capítulo 7 provee una evaluación económica sencilla en cuanto al analizador como producto final, el potencial de transformarse en un insumo para distintos organismos o empresas interesados en contar con datos en tiempo real.

En el capítulo 8 se presentan las conclusiones del trabajo de tesis.

El capítulo 9 habla de las perspectivas y del trabajo a futuro que mejorarían lo hecho hasta ahora.

Finalmente los capítulos 10-12 muestran la bibliografía consultada, las publicaciones científicas derivadas del presente trabajo de tesis y se adjuntan los anexos correspondientes.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

1. MARCO DE REFERENCIA

Actualmente existe un considerable interés en obtener información relativa a la composición química de muestras ambientales, como agua, suelo y sedimento, entre otras. Las muestras de agua representan un porcentaje significativo del total de muestras ambientales analizadas. Las mismas incluyen aquellas tomadas de cursos de agua superficiales (ríos, arroyos y cañadas), lagos, aguas subterráneas e incluso de mares y océanos. La creciente preocupación acerca de la calidad del agua destinada al consumo humano, a riego de cultivos, y a otras actividades con impacto sanitario, conduce al análisis de un elevado número de muestras. La mayor parte de las mismas proviene de aguas superficiales.

Entre los analitos de gran interés en muestras de agua se encuentran los compuestos de nitrógeno y fósforo (Baird 2002), (Bowen 1979). Ambos elementos se encuentran bajo forma de diversas especies químicas, pudiendo el nitrógeno encontrarse en diferentes estados de oxidación.

Es clara la necesidad de realizar gran número de determinaciones analíticas a fin de disponer de datos que serán insumos para los procesos evaluación y eventualmente para la toma de decisiones. En lo relativo a la presencia de altos niveles de nutrientes (fósforo y nitrógeno principalmente) potenciales causantes de la eutrofización, es de destacar la importancia de un diagnóstico rápido ya que una vez instalada dicha situación, el crecimiento en la población de microorganismos (sobre todo de cianobacterias) se produce con rapidez.

La evolución experimentada en las últimas décadas en el campo de la instrumentación química permite actualmente la obtención de información analítica en condiciones ventajosas con adecuada precisión y exactitud y en general en un corto tiempo. Un desarrollo particularmente interesante es el de instrumentos portátiles y de campo, que han hecho realidad el paradigma de *llevar el laboratorio al sitio donde se halla la muestra*, en lugar de la forma clásica de llevar la muestra al laboratorio. Esta nueva estrategia en muchos casos disminuye costos, pero también y muy especialmente disminuye los tiempos entre el muestreo y el análisis, minimizando el riesgo de alterar la muestra como consecuencia de fenómenos físicos, químicos y microbiológicos que ocurren durante el transporte y almacenamiento (Capitan-Vallvey y Palma 2011).

Un caso especial lo constituyen los instrumentos desplegables en campo (*field-deployable*) que son instrumentos o sensores telemétricos que se instalan en el punto de medida, realizan determinaciones *in situ* en forma autónoma y envían los resultados a una central empleando diversas tecnologías de comunicación (Mukhopadhyay y Mason 2013). Esta nueva familia de instrumentos y sensores químicos permiten la instalación fija o semifija de los mismos en el mismo punto de muestreo y su operación desatendida, pudiendo realizar con una cierta periodicidad la toma de muestra y el análisis químico de la misma lográndose de esta manera la obtención de resultados virtualmente en tiempo real. Es posible la creación de redes de analizadores o sensores abarcando un cuerpo de agua o una región. Un ejemplo es el sistema AWACSS que fuera desplegado en Europa para la medición *in situ* y en tiempo real de un conjunto de

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

contaminantes (Tschmelak, Proll, y otros 2005 (a)), (Tschmelak, Proll, y otros 2005 (b)). Otro ejemplo más reciente es el proyecto Europeo *EcoSustain*, de la fundación *Global Nature* (Interreg Mediterranean 2018). Este proyecto consiste en la colocación de boyas con sensores para monitorear la calidad del agua, se desarrolla en 5 espacios protegidos del Mediterráneo (ubicados en Italia, Bosnia, Croacia y Grecia) con propuestas de medición a corto plazo y a largo plazo de monitoreo continuo y comunicación móvil y satelital con el usuario.

El control en tiempo real asociado a la telemetría¹ permite la medición instantánea de los valores de un cierto parámetro como ser la concentración de un cierto analito, la temperatura o la conductividad eléctrica en contraposición con la medición retardada en el tiempo que se logra en el laboratorio. La posibilidad de contar con valores en tiempo real de la concentración de nutrientes en aguas permite de forma efectiva la toma de decisiones rápidas para prevención y mitigación de los posibles daños que se produzcan ya que se puede visualizar la aparición de valores anormales en el momento, además de permitir el seguimiento a lo largo del tiempo de la zona contaminada. Esta información en conjunto con datos hidrológicos permite obtener diferentes conclusiones respecto al origen y distribución de un contaminante dado.

Los instrumentos comerciales disponibles con esas características actualmente son de costo elevado, son pocas las empresas en el mundo que los producen y su adecuación a la resolución de un determinado problema puede generar dificultades. La investigación actual respecto al desarrollo de sensores y sistemas automatizados para la determinación *in-situ* es un área en expansión en la Química Analítica, principalmente dedicados al análisis de nutrientes en océanos pero también en aguas superficiales (Mills y Fones 2012).

El objetivo del trabajo de tesis fue pues profundizar en los conocimientos acerca de la contaminación de los cuerpos de agua por nutrientes, formas de monitoreo de los mismos y presentar una aplicación específica: el diseño y construcción de un analizador automatizado autónomo capaz de determinar el contenido de fosfato, nitrito y nitrato en muestras de agua *in-situ*. Este analizador opera empleando técnicas de análisis en flujo (Trojanowicz 2008). Se procedió a la construcción en el laboratorio de los sistemas de detección necesarios empleando detectores de estado sólido (fotodiodos) y fuentes de radiación basadas en diodos emisores de luz (LEDs) de longitud de onda apropiada. Se implementaron los métodos seleccionados mediante técnicas de análisis en flujo, incluyendo la validación de los resultados obtenidos por el sistema.

Dado que los sistemas de análisis en flujo requieren de un soporte informático para el control de los dispositivos y la adquisición de los datos, en las primeras etapas se empleó para ese fin un *notebook* asociado a una interfaz analógico-digital² multipropósito. Como el sistema final debe ser autónomo y apto para su despliegue en

¹ Telemetría refiere a la transmisión de datos a distancia obtenidos al medir magnitudes físicas o químicas.

² Una interfaz analógico-digital (A/D) es un circuito que digitaliza la señal analógica proveniente de un sensor o sistema de detección con lo cual se logra que la misma pueda ser procesada por un ordenador.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

campo, su versión definitiva no emplea computadoras convencionales sino que está basado en placas con microcontroladores³. Para esto una vez desarrollado y verificado el sistema básico, se procedió a su migración a una placa de microcontrolador comercial ("sistemas embebidos", *embedded systems*) que se encarga tanto del control de la operación de los distintos dispositivos (microbombas, válvulas solenoide) como de la adquisición de los datos y su procesamiento. Todo el sistema se alimenta desde baterías recargables.

Por sus características el trabajo propuesto ha significado un enorme desafío pero a su vez el grato premio del aprendizaje en áreas que no forman parte de la química analítica en sí pero que interaccionan con dicha disciplina en el campo de la automatización e instrumentación.

³ Un microcontrolador es un circuito integrado que posee memoria y es capaz de ejecutar tareas que en él se programen.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos generales

- Profundizar en las metodologías de determinación de nutrientes en agua y su escalado en sistemas de análisis en flujo.
- Aplicar conocimientos de programación, telemetría y automatización.
- Presentar una prueba de concepto: el diseño y construcción un analizador autónomo de nutrientes en aguas que sea portable y desplegable en campo.

2.2. Objetivos específicos

- Presentar y discutir los diferentes métodos para la determinación de dos nutrientes fundamentales en aguas (fósforo y nitrógeno). Estudiar sus diferentes formas químicas en agua y las diferentes formas de detección analítica; seleccionando aquellas que puedan escalarse en una plataforma analítica autónoma y telemétrica.
- Aplicar los conocimientos que se poseen de las técnicas de análisis en flujo, seleccionando la más adecuada para diseñar analizadores *in-situ* autónomos (tamaño reducido de los componentes y bajo consumo eléctrico).
- Profundizar los conocimientos de electrónica y programación con el fin de ser aplicados a la automatización e instrumentación química.
- Evaluar la operación y el desempeño del analizador construido tanto en el laboratorio como en pruebas de campo (muestras reales).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

3. INTRODUCCIÓN

3.1. Importancia de la determinación del fósforo en agua

El fósforo es un elemento con un papel protagónico en el metabolismo de plantas y animales y por lo tanto fundamental para su crecimiento. Este elemento forma parte de los principales ciclos metabólicos de los organismos y está presente en la mayoría de los alimentos. Es uno de los 3 elementos de fertilización (nitrógeno, fósforo y potasio); en los cuerpos de agua superficial su control es primordial ya que una elevada concentración del mismo es uno de los parámetros que explican la eutrofización de los cuerpos de agua (Carpenter 2008). Esto provoca que las condiciones de los mismos sean inadecuadas para los usos que se les destina (potabilización, recreación, pesca, etc.) (Ferguson, Pearson y Reynolds 1996).

La eutrofización (Nebel y Wright 1999) podría definirse como un crecimiento rápido en la población de organismos y microorganismos provocada por altas concentraciones de nutrientes (fósforo y nitrógeno fundamentalmente) y otras condiciones ambientales (radiación solar, oxígeno disuelto, pH, temperatura, velocidad de la corriente del cuerpo de agua, etc.). Esta eutrofización puede resultar nociva, por un lado habría una gran población de cianobacterias las cuales producen toxinas (Camean Fernández y Repetto Jiménez 2012), inutilizando el cuerpo de agua como fuente para potabilización y para la recreación. A su vez afecta la fauna del cuerpo de agua no solo por las toxinas sino también por el consumo del oxígeno disuelto por parte de los microorganismos para su crecimiento y expansión, limitando la disponibilidad del mismo para organismos superiores. Concentraciones de fósforo superiores a $0,1 \text{ mg L}^{-1}$ son suficientes para inducir la aparición de cianobacterias (Bartram, y otros 1999).

Las altas cargas de fósforo pueden deberse por ejemplo al uso de fertilizantes en tierras de cultivo cercanos al cuerpo de agua (IFA 2002). Muchos detergentes contienen polifosfatos como aditivos (García y Romero 2006), los cuales también se los utiliza en los tratamientos de agua para prevenir la precipitación del carbonato de calcio, etc. El aporte del fósforo a los cuerpos de agua no es exclusivamente antropogénico, el ciclo hidrológico (Figura 1) contribuye a la llegada del fósforo a los mismos por escorrentías, inundaciones, etc.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



Figura 1: El ciclo hidrológico (Wikimedia Commons contributors 2017)

En los cuerpos de agua el fósforo mayoritariamente se encuentra como ortofosfato, en menor medida como polifosfato (Figura 2) y fosfato orgánico; estos últimos fundamentalmente están constituidos por fosfolípidos de diversos organismos, fosfatos azucarados, fosforamidas, etc. y si bien la química de los compuestos de fósforo orgánico es muy compleja, en líneas generales se sabe que su descomposición conduce a ortofosfato (Wulfsberg 1991). Los polifosfatos en aguas también tienden a hidrolizarse a ortofosfatos; estos tienen la fórmula química genérica $H_nPO_4^{n-3}$, el pH influye en gran medida respecto a la especie química predominante, a modo de ejemplo en aguas residuales domésticas el fósforo se encuentra mayoritariamente como HPO_4^{2-} (DeZuane 1997).

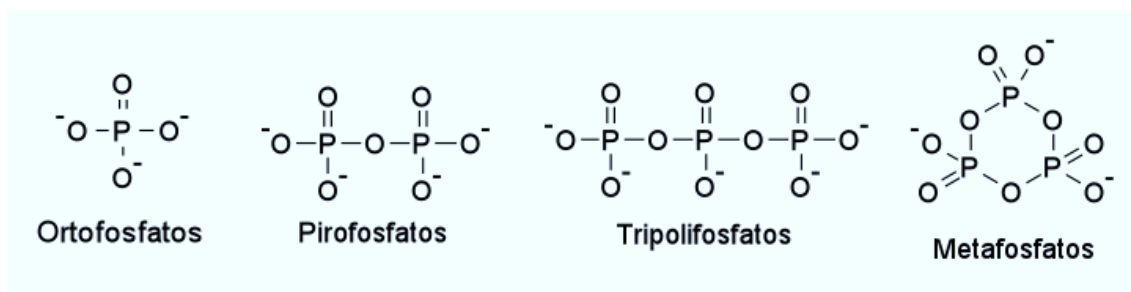


Figura 2: Formas químicas de fósforo inorgánico en aguas (Cotton y Wilkinson 1990).

En agua, debido a que coexisten varias de las formas químicas del fósforo, la mejor forma de determinación de dicho elemento es determinando el fósforo total; lo que se suele hacer es convertir todas las formas químicas del fósforo en ortofosfato ya que los métodos de análisis químicos más comunes determinan ortofosfato; sin embargo debido

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

a que el nutriente de los microorganismos es el ortofosfato (PO_4^{3-}), muchos autores prefieren la determinación de dicha especie en lugar del fósforo total (Mattiensen, Antunes Galvao y Oetterer 2014).

3.2. Importancia de la determinación del nitrógeno en agua

El nitrógeno es un elemento de gran interés debido a su rol en los procesos vitales de plantas y animales. Debido a los distintos estados de oxidación que puede tener el nitrógeno sumado a que los organismos vivos pueden generar cambios en el estado de oxidación del mismo (por ejemplo las bacterias nitrificantes que convierten el amonio en nitrato), la química del nitrógeno en aguas posee cierta complejidad (Manahan 2006), (Avila, Canul y Sansores 2002).

Las formas químicas de mayor interés del nitrógeno en agua son:

- Amonio
- Nitrito
- Nitrato
- Nitrógeno orgánico

El ciclo del nitrógeno puede visualizarse en la Figura 3.

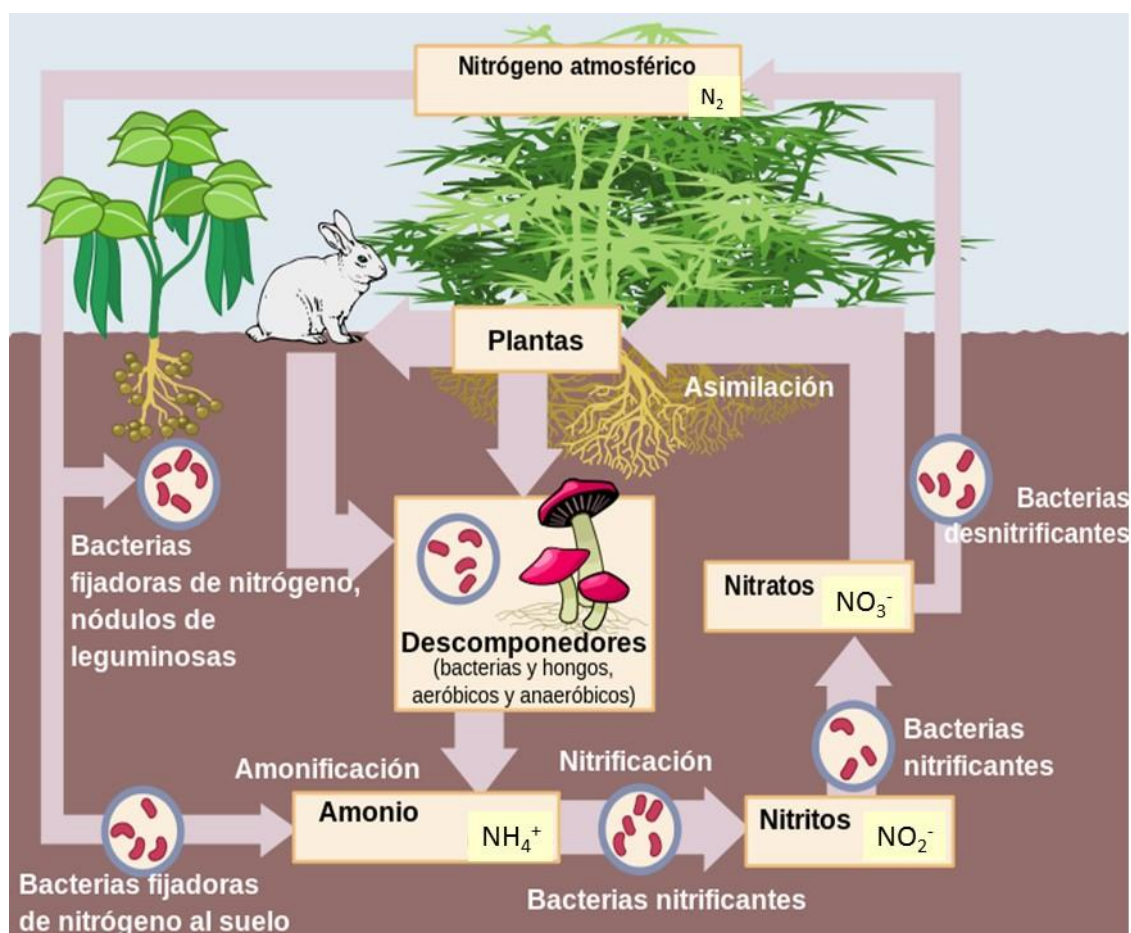


Figura 3: Ciclo del nitrógeno (Dréo 2018)

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Las plantas convierten el nitrógeno proveniente de la materia orgánica en nitrato, el proceso se llama **nitrificación**. Dicho proceso es utilizado para el tratamiento de aguas residuales con alto contenido de nitrógeno amoniacal. En condiciones anaerobias ocurre el proceso contrario **desnitrificación**, en el cual los nitratos son reducidos a nitritos y posteriormente a nitrógeno gaseoso.

En el caso de aguas, es conveniente visualizar las transformaciones del nitrógeno de la siguiente manera:

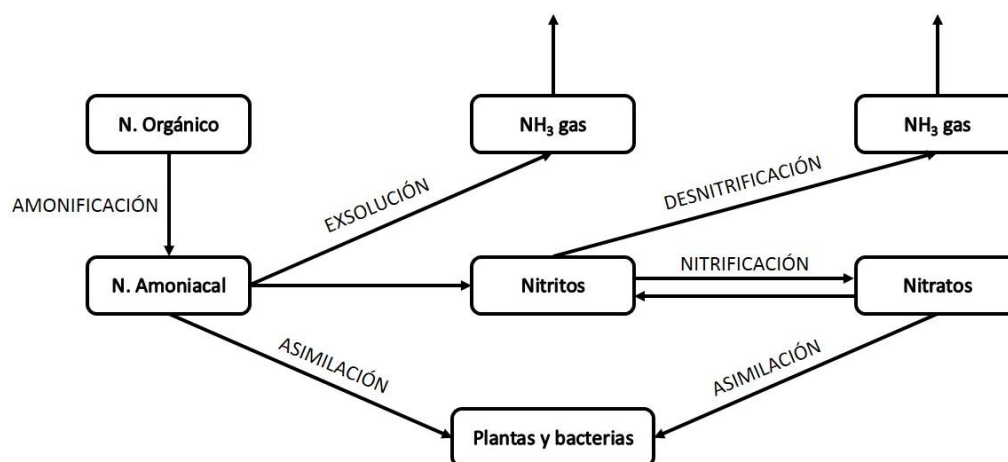


Figura 4: Ciclo del nitrógeno en aguas (Rojas 1999).

Una alta carga de nitrógeno orgánico en un cuerpo de agua es señal de una contaminación reciente. La transformación del nitrógeno orgánico en amoniacal es la primera etapa. Con el tiempo y bajo condiciones aerobias, el nitrógeno amoniacal es oxidado a nitrito y posteriormente a nitrato; por eso las aguas con alto contenido en nitratos se consideran contaminadas tiempo antes de realizado el análisis. Con el tiempo los cuerpos de agua se van autopurificando, esto es ayudado por las altas temperaturas en el verano.

La descarga de aguas residuales ricas en nitrógeno puede causar problemas de eutrofización y nitrificación (González Delgado, y otros 2004). En la década de 1940 se descubrió que elevados niveles de nitratos en agua potable podían provocar enfermedades en los niños; las bacterias del tracto intestinal reducen los nitratos en nitritos, estos son absorbidos por el torrente sanguíneo del cual toman el oxígeno acelerando la velocidad de formación de metahemoglobina y aumentando el riesgo de contraer la enfermedad conocida como metahemoglobinemia adquirida (Knotec y Schmidt 1964), (Ash-Bernal, Wise and Wright 2004), (Basulto, Manera and Baladia 2014).

En aguas superficiales como ser lagos, ríos y arroyos, la concentración de nitrato normalmente es baja. Su nivel puede elevarse por encima de $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$ debido a la descarga de aguas residuales, a las prácticas agrícolas (fertilizantes, industria láctea, etc.), o por el aporte de aguas subterráneas ricas en nitrógeno (DeZuane 1997).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Las altas cargas de nitrógeno en los cuerpos de agua, junto con otros parámetros (niveles de fósforo, temperatura, pH, etc.) provocan problemas de florecimiento de algas y aparición de cianobacterias (Bartram, y otros 1999), (Fabre, y otros 2010).

Las concentraciones de nitrito y nitrato son reguladas para agua de consumo humano. La Organización Mundial de la Salud estableció como valor máximo orientativo 50 mg L⁻¹ de ion nitrato para proteger a los lactantes de la metahemoglobinemia (Organización Mundial de la Salud 2006). La normativa Uruguaya en su decreto 253/79 (Poder Ejecutivo 1979) establece un valor límite de 10 mg L⁻¹ N-NO₃⁻ en aguas destinadas al abastecimiento de agua potable a la población, al riego y a la recreación. El ente autónomo productor de agua potable en nuestro país (OSE) establece en su normativa interna un contenido máximo de nitratos en el agua tratada y para distribución de 50 mg L⁻¹ expresado como NO₃⁻ (Obras Sanitarias del Estado (OSE) 2006).

3.3. La situación de los cuerpos de agua de nuestro país

En este ítem se discute la situación histórica y actual de los cuerpos de agua de nuestro país. De la información recopilada se justifica la necesidad de contar con analizadores desplegables en campo para el control de nutrientes en aguas. Esta información sirvió para establecer valores guía de concentración de los nutrientes estudiados, los que influyeron en la toma de decisiones en cuanto al diseño de los métodos analíticos que emplea el analizador (sistemas de detección y demás).

La hidrografía del territorio nacional se desarrolla sobre 6 cuencas (Figura 5): cuenca del Río Uruguay, del Río Negro, del Río de la Plata, del Océano Atlántico, de la Laguna Merín y del Río Santa Lucía (Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2013).

En cuanto a nuestra zona más poblada, el departamento de Montevideo, la Figura 6 muestra la hidrografía (Intendencia de Montevideo 2016).



Figura 5: Cuencas hidrográficas del Uruguay (Vidal 2003).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

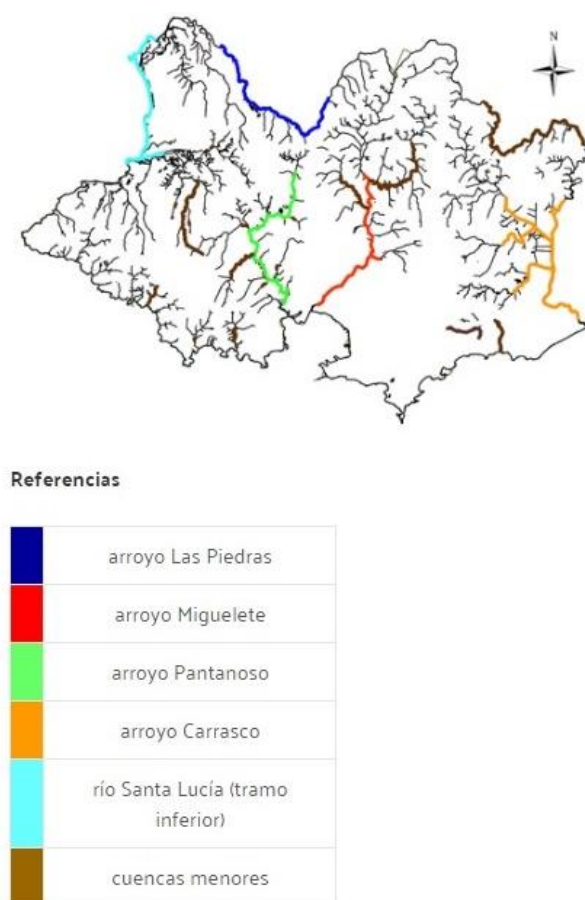


Figura 6: Cuencas hidrográficas en Montevideo (**Intendencia de Montevideo 2016**).

Existen problemas generalizados en las cuencas rurales sobre áreas agrícolas por el uso de fertilizantes, sumado al vertido de efluentes industriales y cloacales de las localidades urbanas aledañas. Las floraciones de cianobacterias son frecuentes en los cuerpos de agua de nuestro país (De León 2002).

En los últimos años se ha acrecentado la preocupación y la investigación periodística (El País 2016), (El Observador 2017) ya que la eutrofización de nuestros cuerpos de agua afecta la calidad del agua potable que consumimos; particularmente en la cuenca del Río Santa Lucía del cual se obtiene el agua potable que alimenta a la ciudad de Montevideo y zonas aledañas (Figura 7). La Figura 8 muestra el estado eutrófico de algunos cursos de agua de nuestro país controlados por la DINAMA.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



Figura 7: Estado de los cursos de agua de la cuenca del río Santa Lucía (El País 2016).



Figura 8: Índice del estado eutrófico de ciertos cursos de agua (Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016).

En nuestro país la concentración máxima admisible para fósforo y nitrógeno en cuerpos de agua está regida por el decreto 253/79 y sus modificaciones (Poder Ejecutivo 1979). Respecto al fósforo, en dicho decreto se establece como nivel máximo un valor de $25 \mu\text{g L}^{-1}$ (expresado como fósforo elemento) para las aguas destinadas a potabilización, riego, recreación y preservación de la fauna (aguas clase 1 a 3 definidas en el decreto).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Esto requiere de métodos de determinación para este analito con una adecuada detectabilidad. En cuanto al nitrógeno, el decreto establece un contenido máximo admisible para nitrato de $10 \text{ mg L}^{-1}\text{-N}$ para las aguas de clase 1 a 3. No existe especificación en cuanto al contenido de nitrógeno como nitrito.

Muchos organismos de nuestro país estudian frecuentemente los valores de fósforo y nitrógeno en los cuerpos de agua (CARU., DINAMA, Intendencias, Facultades, etc.). Debido a la importancia de estos nutrientes en los fenómenos de eutrofización de los cuerpos de agua, floraciones de algas y crecimiento en la población de microorganismos. Existen informes accesibles al público sobre dichos estudios.

3.3.1. Niveles de fósforo

En muchos de nuestros cuerpos de agua se han reportado valores de fósforo muy por encima de lo permitido por la normativa. A modo de ejemplo, en un estudio realizado en 2011-2012, el arroyo Canelón Chico presentó niveles de fósforo superiores a $1100 \mu\text{g L}^{-1}$ (expresado como P) en una de las estaciones de muestreo (Aubriot, Piccini y Machín 2013). Un informe de la Dirección Nacional de Medio Ambiente muestra que en el Río Santa Lucía y sus afluentes así como también en el Río Negro y afluentes, entre los años 2005 y 2016 se superó la concentración máxima admisible (Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA), DINAMA 2016).

Respecto a la hidrografía en el Departamento de Montevideo, un informe correspondiente a una campaña de muestreo de aguas en el año 2016 por parte de la Intendencia de Montevideo (Intendencia de Montevideo 2016) resume valores de fósforo total determinados en sus diferentes estaciones de monitoreo durante el período 2010-2016 para todos los cursos de agua del departamento. A modo de ejemplo en el arroyo Pantanoso se reportaron valores entre 800 a $9600 \mu\text{g L}^{-1}$ expresado como P (Figura 9). Situación similar ocurre en toda la hidrografía de Montevideo superándose largamente el valor de fósforo máximo permitido por la normativa.

Otro informe de la misma intendencia que recoge datos del periodo 2009-2011 sobre la calidad del agua de las playas del Río de la Plata (Intendencia de Montevideo 2011) muestra valores de fósforo todos por encima del valor establecido por el decreto 253/79 en todas las estaciones de muestreo. Se sabe de la preocupación de la comuna por la aparición de cianobacterias en playas durante las épocas veraniegas.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

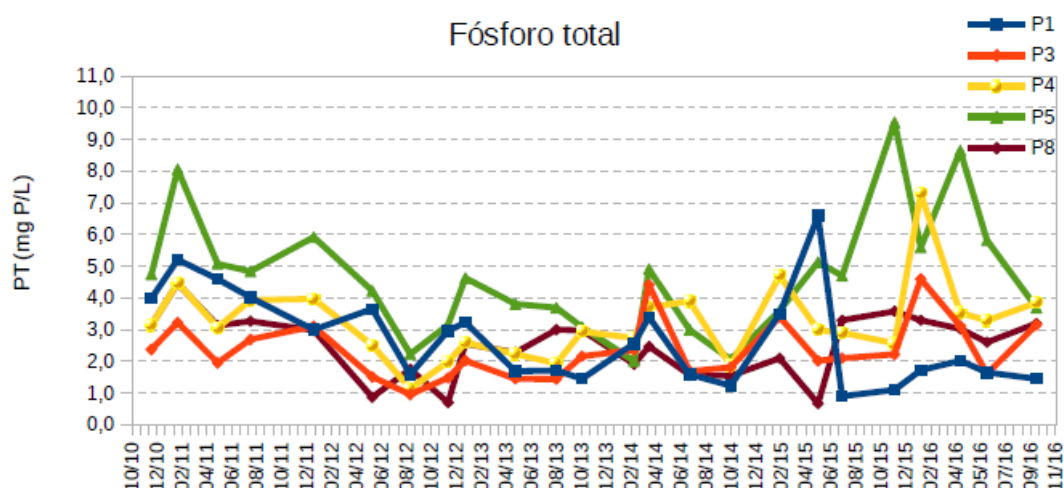


Figura 9: Niveles de fósforo total del arroyo Pantanoso en el período 2010-2016 (**Intendencia de Montevideo 2016**).

El agua potable suministrada a la mayoría de los hogares de Montevideo por parte de OSE proviene del Río Santa Lucía. Un informe de asesoramiento ambiental del año 2013 (Kruk, y otros 2013) muestra que los valores de fósforo en el Río Santa Lucía estaban por encima de lo establecido en el decreto 253/79.

Datos de la Dirección Nacional de Medio Ambiente (Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016) muestran el contenido de fósforo total en diferentes cursos de agua de nuestro país. En la cuenca del Río Santa Lucía la concentración de fósforo total superaba largamente al límite máximo permitido por el decreto 253/79 (Figura 10).

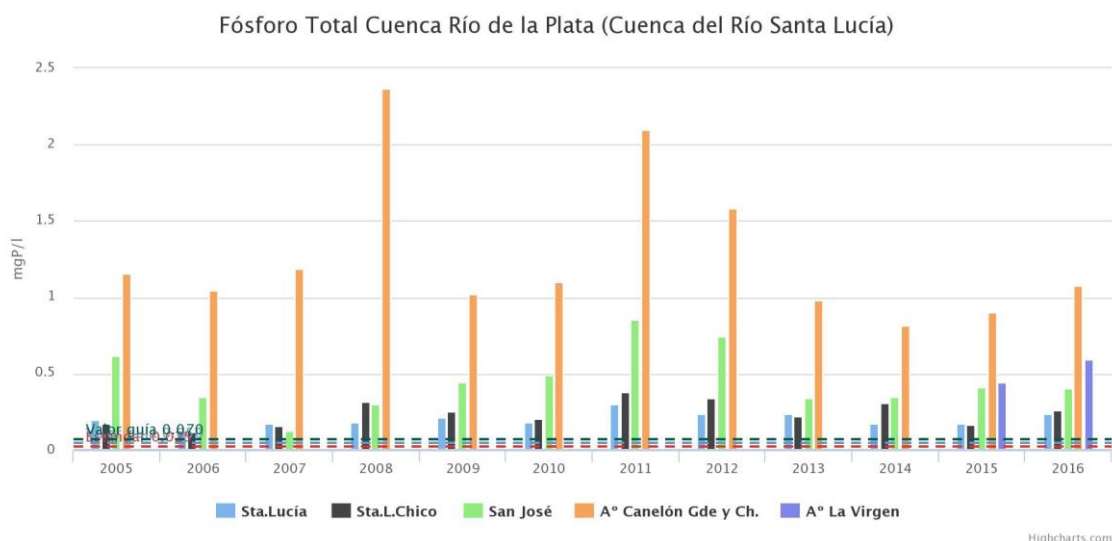


Figura 10: Variación de los niveles de fósforo total en la cuenca del río Santa Lucía (**Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016**).

Situación similar ocurre en la cuenca del Río Uruguay (Figura 11):

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

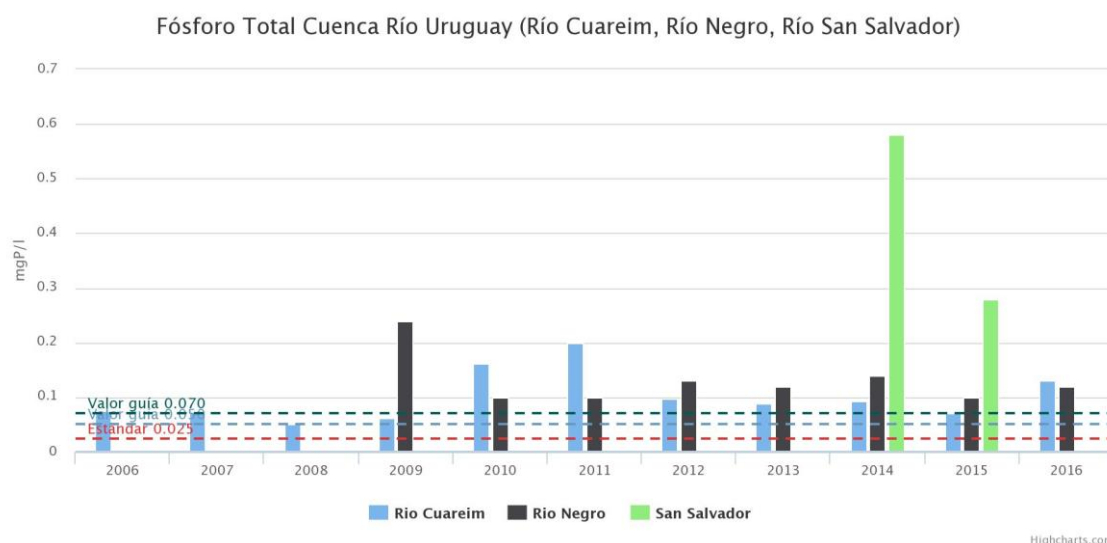


Figura 11: Variación de los niveles de fósforo total en la cuenca del Río Uruguay (**Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016**).

Igual situación se da en otras cuencas y cursos de agua monitoreados (Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016). Como se puede observar pues, según el historial de datos en la mayoría de los cuerpos de agua de nuestro país, los niveles de fósforo superaron largamente al valor límite establecido por la normativa.

3.3.2. Niveles de nitrato y nitrito

Como se mencionara en párrafos anteriores, el decreto 253/79 establece como límite máximo de nitrato $10 \text{ mg L}^{-1}\text{-N}$ para cursos de agua clase 1 a 3. En un informe anual de la Intendencia de Montevideo (Intendencia de Montevideo 2014) se publican datos acerca de la evolución de los niveles de nitrógeno total y los compuestos de nitrógeno en los cursos de agua del departamento. A modo de ejemplo, en el arroyo Pantanoso los niveles de nitrato en las diferentes estaciones de monitoreo estuvieron por debajo del límite establecido (Figura 12):

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

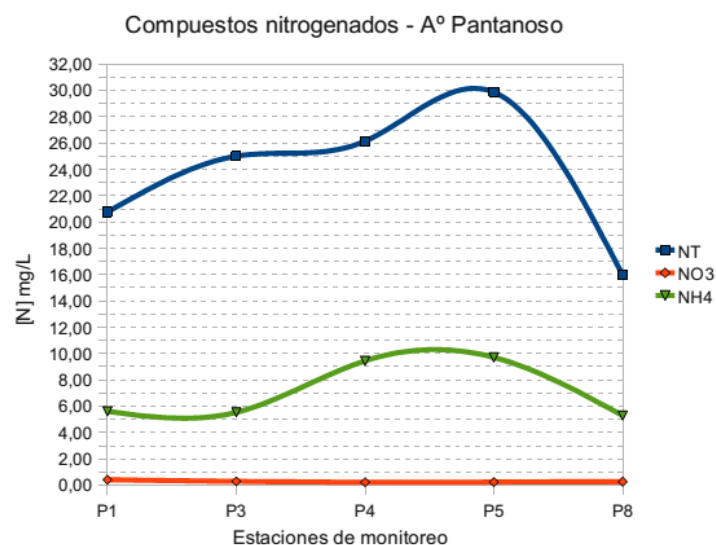


Figura 12: Concentración de los compuestos nitrogenados en el arroyo Pantanoso (**Intendencia de Montevideo 2014**).

Situación similar ocurre en los diferentes cursos de agua del departamento (posteriormente al año 2014 este organismo pasó a monitorear únicamente el nitrógeno total). Se observa pues que en los cursos de agua del departamento de Montevideo, los niveles de concentración de nitrato han estado por debajo de lo exigido por el decreto 253/79.

En cuanto a otros cursos de agua del país, la DINAMA en su página web (Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016) muestra resultados de los niveles de nitrato. Así pues, se observa que los niveles de nitrato en la cuenca del Río de la Plata y del Río Santa Lucía entre los años 2005 y 2014 fueron muy inferiores al nivel máximo permitido (Figura 13).

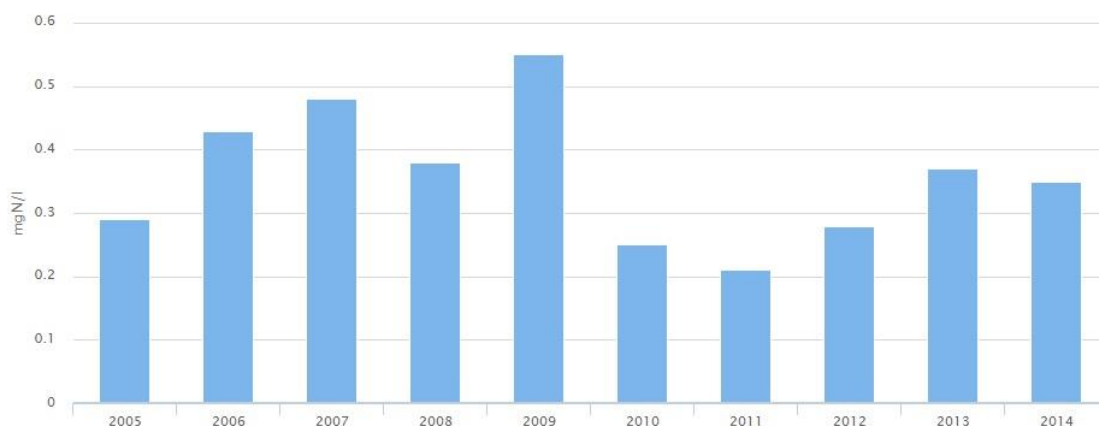


Figura 13: Evolución de los niveles de nitrato en el Río Santa Lucía (**Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016**).

Situación similar ocurre en el Río Negro (Figura 14).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

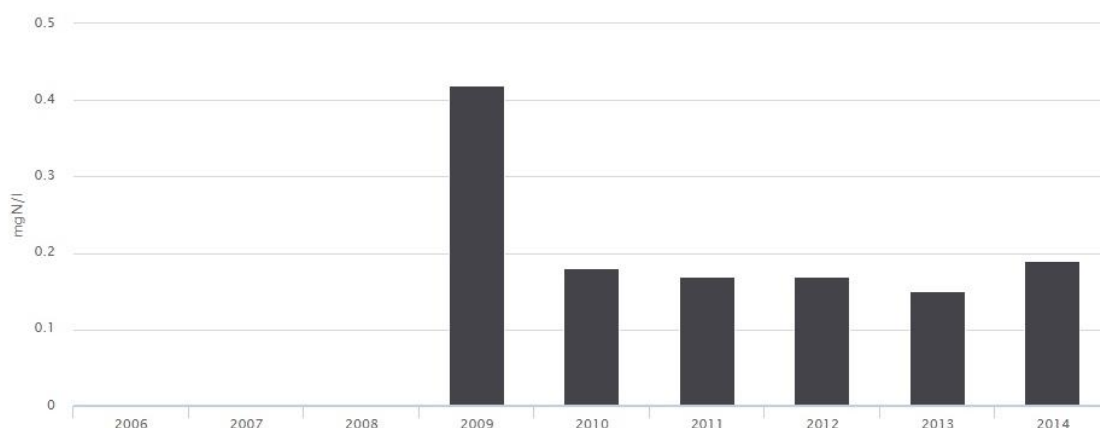


Figura 14: Evolución de los niveles de nitrato en el Río Negro (**Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA) 2016**).

Respecto al nitrito, al no estar regulado su contenido en aguas por el decreto 253/79 se dispone de poca información sobre los niveles del mismo. En las investigaciones realizadas para determinar nitrito en aguas raramente se encuentran niveles del mismo superiores a los límites de detección de los métodos analíticos aplicados. Dentro de la información disponible, un estudio de la calidad del agua del arroyo Canelón chico (Aubriot, Piccini y Machín 2013) indica que en setiembre del 2012 la concentración de nitrito era inferior a $50 \mu\text{g L}^{-1} - \text{N}$. Otro estudio en el Río de la Plata del año 2012 (Pérez-Parada, y otros 2012) mostró que, del total de muestras analizadas se encontró la presencia de nitrito solamente en casos excepcionales. Un informe correspondiente al año 2012 (Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) 2012) muestra que en 3 sitios de muestreo del Río Uruguay, la concentración de nitrito siempre fue inferior a 0.1 mg L^{-1} durante todo el año 2012.

De toda la búsqueda bibliográfica y de datos realizada, se puede concluir que:

- ❖ Los niveles de fósforo en los cuerpos de agua más importantes de nuestro país históricamente han superado largamente al nivel máximo admisible por parte del Decreto 253/79 ($0.025 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$).
- ❖ Por el contrario los niveles de nitrato en la mayoría de los cuerpos de agua de nuestro país han estado muy por debajo de lo permitido por dicho decreto ($10 \text{ mg L}^{-1} - \text{N}$).
- ❖ En cuanto al nitrito el decreto no contiene valor máximo admisible; de los pocos estudios existentes en cuerpos de agua raramente su presencia es detectada y siempre es a niveles no significativos.

Estas conclusiones acerca del estado de situación de la hidrografía de nuestro país justificarán algunas decisiones tomadas en cuanto a los métodos analíticos de detección seleccionados para fósforo y nitrógeno en el analizador construido como objetivo final del presente trabajo.

3.4. La necesidad de contar con datos en tiempo real

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Normalmente, cuando se controlan los niveles de fósforo y nitrógeno en agua, se realiza una toma de muestra, la misma se conserva adecuadamente y se traslada al laboratorio el cual realiza el análisis y responde con un informe de resultados al cliente. Esta forma de trabajo en *batch* tiene el inconveniente de los tiempos de demora de cada etapa que pueden producir que los resultados se entreguen 48-72 horas después de haber tomado la muestra. Esto trae como consecuencia que, en caso de que se obtengan valores anormalmente altos de dichos analitos, no se disponga de tiempo material para tomar medidas de mitigación al respecto.

Contar con datos en tiempo real permite tener bajo control la situación y por eso es que se propone como objetivo final del presente trabajo dar una aplicación en concreto con la construcción de un analizador autónomo.

Para cumplir este objetivo final propuesto, los clásicos métodos de laboratorio deben escalarse a un analizador de tamaño reducido. Por ello, en las páginas siguientes se hablará de los métodos químicos para la determinación de los analitos (fosfato, nitrito y nitrato) y de su facilidad de ser escalados a un analizador de tamaño reducido. Se hablará del análisis en flujo como técnica de automatización de procesos analíticos y su facilidad de incorporación en un analizador de campo. También se hablará de formas de comunicación de los datos obtenidos en tiempo real.

Este tipo de tecnología para nada pretende ser un reemplazo de los laboratorios de análisis de aguas sino que se trata de una tecnología de monitorización en tiempo real que en el caso de entregar valores anómalos permita tempranamente tomar las medidas correspondientes mientras en el laboratorio de análisis se verifican los resultados obtenidos.

3.5. El análisis en flujo como técnica de automatización

Tradicionalmente los métodos de análisis químico son métodos en *batch*, en los cuales los patrones y las muestras están contenidas en recipientes individuales. Pasan por varias etapas en el proceso analítico pero siempre mantienen su individualidad. Las técnicas de análisis en flujo nacieron en la década de 1950. Consisten en implementar sistemas fluidodinámicos para transporte e inserción de muestras, reactivos y disolventes en un sistema en el cual los líquidos fluyen desde el punto de su inserción hasta el detector. Se consigue así automatizar ciertas operaciones que realiza el químico analista (como ser el mezclado de distintos reactivos con los patrones y las muestras, llevar las disoluciones hacia el sistema de detección, realizar diluciones o tomas de muestra variables, etc.). Estas técnicas ofrecen la ventaja de obtener altas frecuencias de muestreo (se pueden analizar muchas más muestras en un mismo tiempo que de forma *batch*), se reduce el consumo de reactivos y disolventes y por ende se generan menores cantidades de residuos (Trojanowicz 2008).

El análisis en flujo por tanto engloba a todas las técnicas analíticas en las cuales los reactivos, patrones, muestras, disolventes, etc. son impulsados y mezclados en un sistema de tuberías como una corriente de líquidos hacia el sistema de detección. La IUPAC lo define como "El nombre genérico para todos los métodos analíticos que están

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

basados en la introducción y procesamiento de muestras de ensayo en un medio en flujo” (IUPAC 2014).

En la década de los 50 se introduce el concepto del análisis en flujo segmentado (Skeggs 1957). En este, la corriente de líquidos fluye hacia el sistema de detección interponiendo entre muestra y muestra burbujas de aire para mantener la individualidad de cada una. En la década de los 70 se introduce el concepto del análisis por inyección en flujo (FIA) (Ruzicka y Hansen 1975). En estos sistemas no se introduce aire para mantener la individualidad de las muestras sino que esto se garantiza incorporando un dispositivo de introducción de muestra operado por el usuario. Los métodos de análisis en flujo se pueden dividir en cuatro categorías: segmentados por aire, flujo continuo no segmentado, análisis por inyección en flujo y análisis por inyección secuencial (Zagatto, y otros 2002).

Una característica de estos sistemas, es que las señales obtenidas son señales que varían con el tiempo (señales transitorias), por lo que para su visualización es necesario contar con dispositivos de registro y visualización de señales en tiempo real. Las señales son en forma de pico y típicamente la respuesta instrumental es la altura de pico medida respecto a la línea de base.

Estas técnicas requieren de diversos dispositivos para poder implementarse: bombas (para impulsar los diferentes fluidos por el sistema), válvulas (para controlar la circulación y la dirección del flujo), tubos y conectores, elementos para realizar el mezclado (reactores de mezclado, bobinas de mezclado, etc.), sistemas de detección compatibles con estas metodologías y sistemas de control de los dispositivos así como del procesamiento de las señales obtenidas.

Las técnicas de análisis en flujo, con los avances tecnológicos han ido evolucionando en cuanto a los dispositivos utilizados (Melchert, Reis y Rocha 2012) con la finalidad de reducir el tamaño de los sistemas, consumo de reactivos, consumo eléctrico, mejora en la automatización, etc.

Estas técnicas, por su posibilidad de automatización, poco espacio ocupado por los dispositivos, bajo consumo de reactivos y bajos volúmenes de residuos generados presentan aplicabilidad para el diseño de analizadores químicos desplegables en campo. Particularmente se prestan muy bien a esto el análisis en flujo multiconmutado (Rocha, Reis y Zagatto, y otros 2002) y análisis en flujo por multibombeo (Lapa, y otros 2002).

La adaptación de técnicas en *batch* a técnicas en flujo es relativamente sencilla. Para el caso de los analitos estudiados existen múltiples antecedentes al respecto. La determinación de fósforo empleando técnicas de análisis en flujo ha sido un tema ampliamente tratado. Los sistemas en flujo permiten no solo la inserción de las muestras en el sistema sino también la realización de tratamientos de muestra como ser digestiones, foto-oxidaciones, etc. para la determinación de fósforo total (Estela y Cerdà 2005). En cuanto al nitrito, su determinación empleando sistemas en flujo ha sido reportada (Liu, y otros 2016), incluso en analizadores automatizados de laboratorio con

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

sistemas de detección sencillos (Knochen, Caamaño y Bentos 2011). La determinación de nitrato en sistemas en flujo también ha sido reportada (McKelvie, y otros 1994), (Malcome-Lawes y Pasquini 1988) y (Rocha y Reis 2000) e incluso en analizadores de campo automatizados (Blundell, y otros 1993)

3.6. La espectrofotometría de absorción molecular como técnica de detección

La espectrofotometría de absorción molecular es una técnica analítica que se basa en la medida de la radiación transmitida o absorbida por una muestra en disolución cuando a su través pasa un haz de luz de una cierta longitud de onda. Esta disolución a medir se encuentra en una celda transparente. Midiendo la potencia lumínica que incide en ella (P_0) y la potencia lumínica que sale de ella (P) se pueden determinar la transmitancia o la absorbancia absoluta (Figura 15). De estas magnitudes, la absorbancia se relaciona con la concentración del analito según la ley de Beer (Skoog, Holler y Crouch 2008). En la práctica los instrumentos no miden la transmitancia absoluta sino la transmitancia relativa requiriéndose ajustes previos de la escala (ajuste del 0 % de transmitancia y del 100 % de transmitancia).

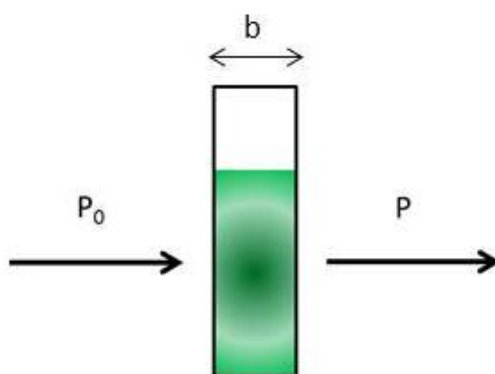


Figura 15: Principio de la medida de la transmitancia o absorbancia de una disolución.

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Ecuación 1: Definición de la absorbancia y ley de Beer.

Dónde:

- A es la absorbancia de la disolución
- T es la transmitancia de la disolución
- P_0 es la potencia lumínica incidente
- P es la potencia lumínica que sale de la disolución
- ϵ es la absortividad molar del analito
- b es el camino óptico que atraviesa el haz de luz
- C es la concentración del analito en la disolución en unidades de mol/L

Las medidas de absorbancia o transmitancia se realizan en instrumentos llamados espectrofotómetros. Estos constan básicamente de una fuente de radiación, un selector de la longitud de onda, un compartimiento para la disolución a medir y un detector de la radiación saliente.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

La fuente de radiación utilizada depende de la región del espectro en que se requiera medir (visible, UV, infrarrojo), y se utiliza normalmente lámparas de filamento de tungsteno, de deuterio, xenón, etc. El elemento selector de la longitud de onda se llama monocromador y consta de una rendija de entrada, un elemento dispersivo de la radiación (prisma, red de difracción) y una rendija de salida además de lentes y/o espejos para colimar el haz de luz y dirigirlo. El compartimiento de la disolución a medir es un portaceldas que puede ser para celdas cilíndricas (similares a tubos de ensayo) o para celdas de sección rectangular. Como detector de la radiación se suelen utilizar fotodiodos o fotomultiplicadores los cuales convierten la energía lumínica en energía eléctrica.

La ley de Beer es una ley límite, existen desviaciones a la ley de origen químico e instrumental y por tanto para que se cumpla existen ciertas limitaciones:

- La radiación incidente debe ser monocromática
- Las disoluciones deben ser de baja concentración
- No debe haber interacciones entre el analito y el disolvente u otras sustancias
- No debe haber radiación parásita

Debido a que la absorbancia depende no solo de la concentración del analito sino que depende también de otras variables difíciles de mantener bajo control (principalmente la temperatura), se debe realizar la calibración del instrumento con disoluciones de analito de concentración exactamente conocida. Además, ya que en la práctica no es posible cumplir con algunas de las limitaciones de la ley (es imposible trabajar con radiación monocromática, se trabaja con haces de luz de intervalo estrecho de longitudes de onda) es que se debe verificar previamente que se cumple la ley. Ya que el parámetro P_0 es desconocido (el cual depende de la intensidad de la fuente, la geometría de la celda, etc.), en todas las medidas de absorbancia o transmitancia se requiere realizar previamente el ajuste de la escala de transmitancia (0% y 100 %). Para ello, se toma la medida del detector sin que le esté llegando radiación de la fuente (ajuste del 0% de transmitancia) y se toma la medida del detector recibiendo la radiación de la fuente al atravesar la celda llena por ejemplo con el disolvente a utilizar (ajuste del 100 % de transmitancia). Lo que se termina midiendo pues es una transmitancia relativa a esos ajustes de escala.

La selección de la longitud de onda a utilizar depende del espectro de absorción del analito y también de la presencia de otras sustancias que puedan interferir en el análisis. Se suele seleccionar la longitud de onda a medir en aquellas zonas del espectro donde está la mayor absorción del analito para tener buena sensibilidad.

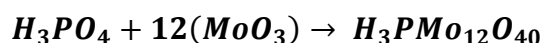
Los métodos basados en la espectrofotometría de absorción molecular son los elegidos por su sencillez de implementar y de escalar con relativo bajo costo en sistemas de análisis en flujo y analizadores autónomos.

3.7. Métodos analíticos para la determinación de fósforo en agua

Los métodos clásicos para la determinación de fósforo en agua son los métodos espectrofotométricos en los cuales se determina dicho analito utilizando la reacción

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

química entre el anión ortofosfato con el anión molibdato en medio ácido, donde se forma un heteropoliácido (ácido molibdofosfórico) (Motomizu y Li 2005):



Ecuación 2: Formación del ácido molibdofosfórico.

Este ácido es de color amarillo y puede determinarse mediante espectrofotometría. Su producto de reducción es de color azul y también puede determinarse espectrofotométricamente. Otros métodos son los que se basan en la medición de la fluorescencia o en quimioluminiscencia.

Método del ácido molibdofosfórico:

Uno de los métodos espectrofotométricos para la determinación de fósforo utiliza una especie química de color amarillo (ácido molibdofosfórico) que se forma al reaccionar el anión ortofosfato presente en una disolución con el reactivo molibdato de amonio (Clesceri, Greenberg y Eaton 2017); este método es utilizado desde hace décadas (Dickman y Bray 1940), (Boltz y Mellon 1948).

Una variante que se aplica en este método para aumentar la intensidad del color del compuesto formado, es formar el ácido molibdofosfórico en presencia de oxácidos como vanadato o antimoniato. Se pueden formar distintos heteropoliácidos ternarios (Mellon y Kitson 1944). Estos poseen absorptividades molares mayores que las del ácido molibdofosfórico, particularmente la absorptividad molar del obtenido con vanadio ($H_4PVMo_{11}O_{40}$ llamado ácido vanadomolibdofosfórico) es la mayor de todas (Motomizu y Li 2005) y posee un máximo de absorción alrededor de 310 nm (Figura 16):



Ecuación 3: Formación del ácido vanadomolibdofosfórico.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

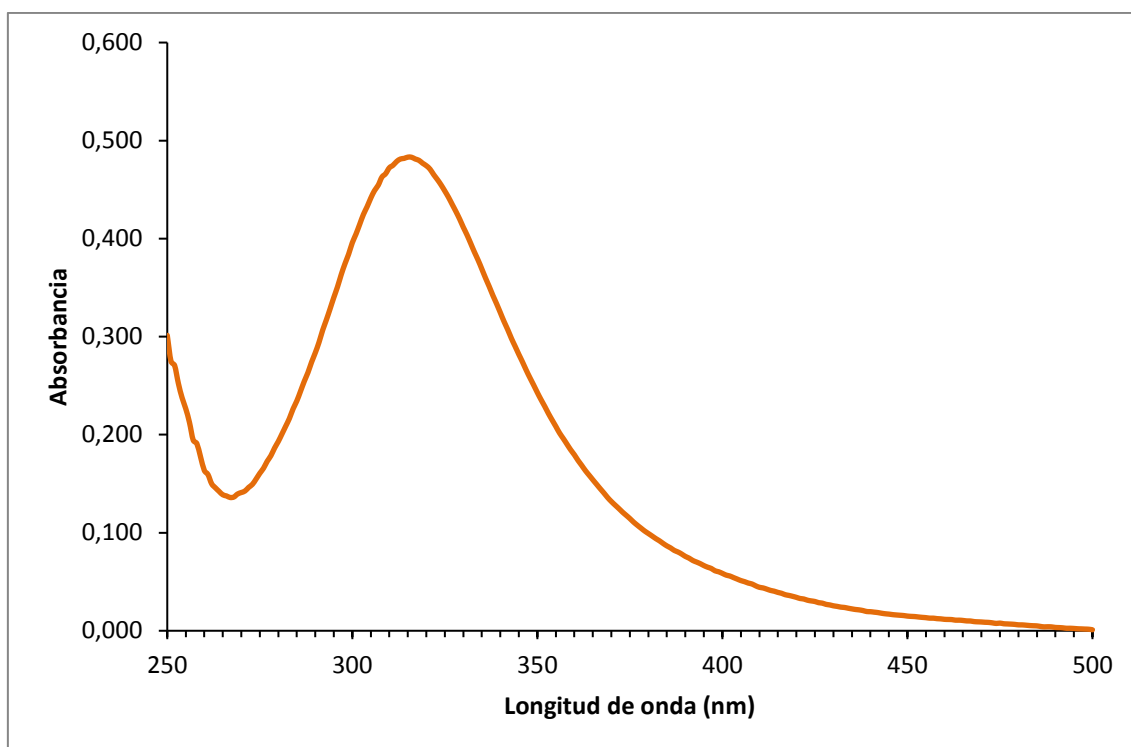


Figura 16: Espectro de absorción del ácido vanadomolibdofosfórico $H_3PVMo_{11}O_{40}$ (Elaboración propia).

Actualmente se suele utilizar este producto de reacción (ácido vanadomolibdofosfórico) para la determinación de fósforo. Este método es adecuado para determinar fosfato en rangos de $1,0\text{--}5,0\text{ mg L}^{-1}$ (midiendo a $\lambda=400\text{ nm}$), $2,0\text{--}10\text{ mg L}^{-1}$ (midiendo a $\lambda=420\text{ nm}$) y $4,0\text{--}18\text{ mg L}^{-1}$ (midiendo a $\lambda=470\text{ nm}$), todas concentraciones expresadas como fósforo elemento (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-P C 2017).

Medir a longitudes de onda más cercanas al máximo de absorción (310 nm) presenta la mejor sensibilidad pero tiene el inconveniente de que los blancos de reactivos muestran absorbancias altas. En los hechos esto conduce a que no se termina logrando un aumento real de la detectabilidad del método. Además, para el caso de un analizador basado en LEDs como fuentes de radiación, estos son difíciles de conseguir para longitudes de onda cercanas al máximo de absorción y tienen un costo alto ya que la fabricación de LEDs en la región del ultravioleta se trata de una tecnología aún en etapa de desarrollo.

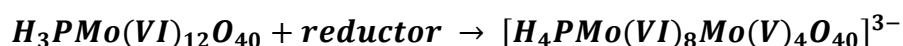
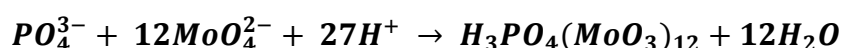
Una variante a este método con el fin de aumentar la sensibilidad del mismo, es agregar un colorante (verde malaquita) al ácido molibdofosfórico formado. Esta variante ha sido aplicada tanto a la determinación de fosfato en aguas superficiales (Motomizu, Wakimoto y Tōei 1983) como también en suelos (Ohno y Zibilske 1990) y presenta la ventaja de una alta absorptividad molar del compuesto formado con el consecuente aumento de la sensibilidad del método. Uno de los inconvenientes encontrados en las pruebas de laboratorio realizadas, es que en el caso de aplicar este método a sistemas en flujo, los tubos quedan fuertemente coloreados de verde, lo cual descartó el uso de esta variante del método para el presente trabajo.

Método de la forma reducida del ácido molibdofosfórico

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Otro método espectrofotométrico para la determinación de fósforo es el que utiliza la forma reducida del ácido molibdofosfórico. Este método es también conocido desde hace décadas (Berenblum y Chain 1938), (Holman 1943), (Sumner 1944), (Tausky, Shorr y Kurzman 1953) y se basa en la reducción del ácido molibdofosfórico a una forma química de color azul intenso conocida como azul de molibdeno.

Para reducir el ácido se utilizan agentes reductores como el ácido ascórbico, hidracina, cloruro estannoso, etc. La formación del compuesto puede describirse en 2 etapas (Nagul, y otros 2015):



Ecuaciones 4 y 5: Formación del ácido molibdofosfórico y posterior reducción del mismo,

El producto final de la reacción anterior presenta un espectro de absorción con un máximo alrededor de los 880 nm (Figura 17).

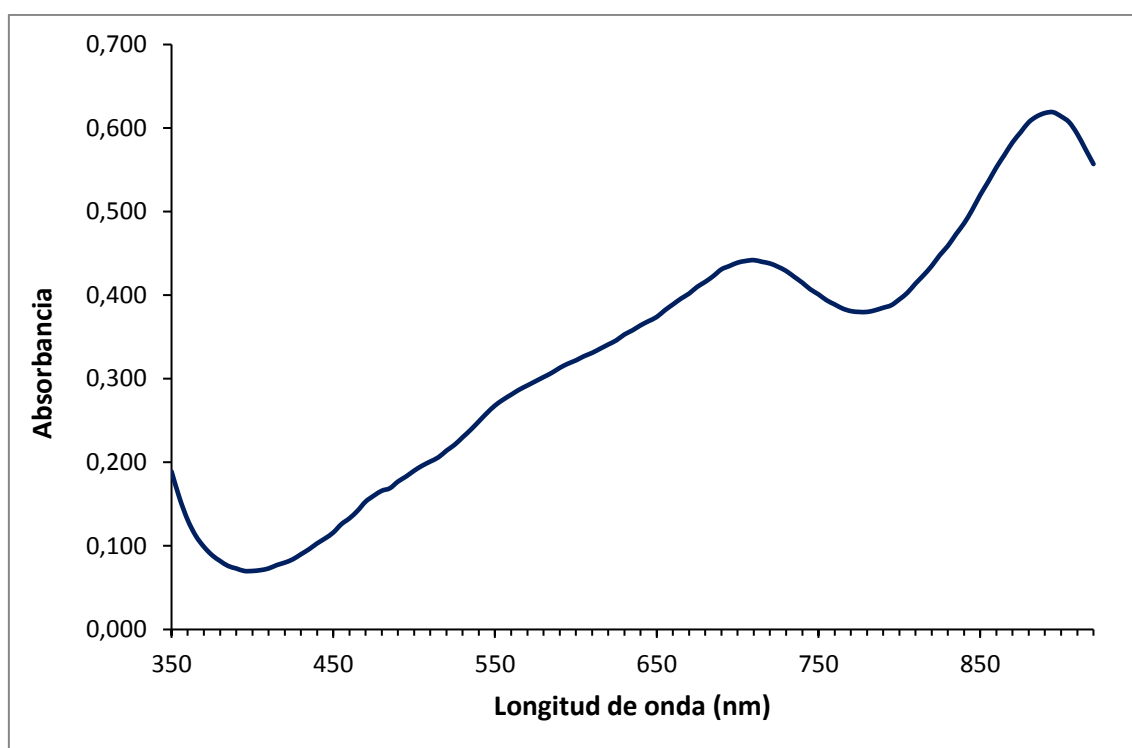


Figura 17: Espectro de absorción del azul de molibdeno (Elaboración propia).

Además del molibdato de amonio como agente formador del compuesto azul, se utilizan sales de antimonio para mejorar la sensibilidad del método (Murphy y Riley 1962); el antimonio acelera la formación del compuesto azul y elimina la necesidad del calentamiento para reducir los tiempos de formación (Sjosten y Blomqvist 1997). Este método presenta mayor sensibilidad y detectabilidad que el método que utiliza el heteropoliácido sin reducir de color amarillo (Clesceri, Greenberg y Eaton 2017) (Tabla 1).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Otros métodos de determinación de fósforo

Existen otros métodos para la determinación de fósforo. Uno de ellos es mediante quimioluminiscencia utilizando luminol (Yaqoob, Nabi y Worsfold 2004). Otros métodos se basan en la fluorescencia, uno utiliza rodamina B como reactivo y otro utiliza tiamina (Motomizu y Li 2005). En la Tabla 1 se pueden ver los rangos de trabajo y los límites de detección alcanzados con los distintos métodos.

El analizador construido emplea detección fotométrica por la sencillez de diseño de dicha detección, por lo tanto se estudiaron los métodos de determinación de fósforo espectrofotométricos ya que son fácilmente escalables a un analizador autónomo basado en técnicas de análisis en flujo.

Tabla 1: Rangos de trabajo y límites de detección reportados para la determinación de fósforo (M corresponde a mol L⁻¹) (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-P C 2017).

MÉTODO	LOD (μM)	Rangos determinables					
		30 μM	3 μM	0,3 μM	0,03 μM	3x10 ⁻³ μM	3x10 ⁻⁴ μM
Método del ácido vanadomolibdofosfórico	1						
Método del verde malaquita	3x10 ⁻²						
Método del azul de molibdeno	3x10 ⁻²						
Método de fluorescencia con rodamina B	5x10 ⁻³						
Método de fluorescencia con tiamina	1x10 ⁻²						
Método por quimioluminiscencia	1x10 ⁻³						

3.8. Métodos analíticos para la determinación de nitrógeno en agua

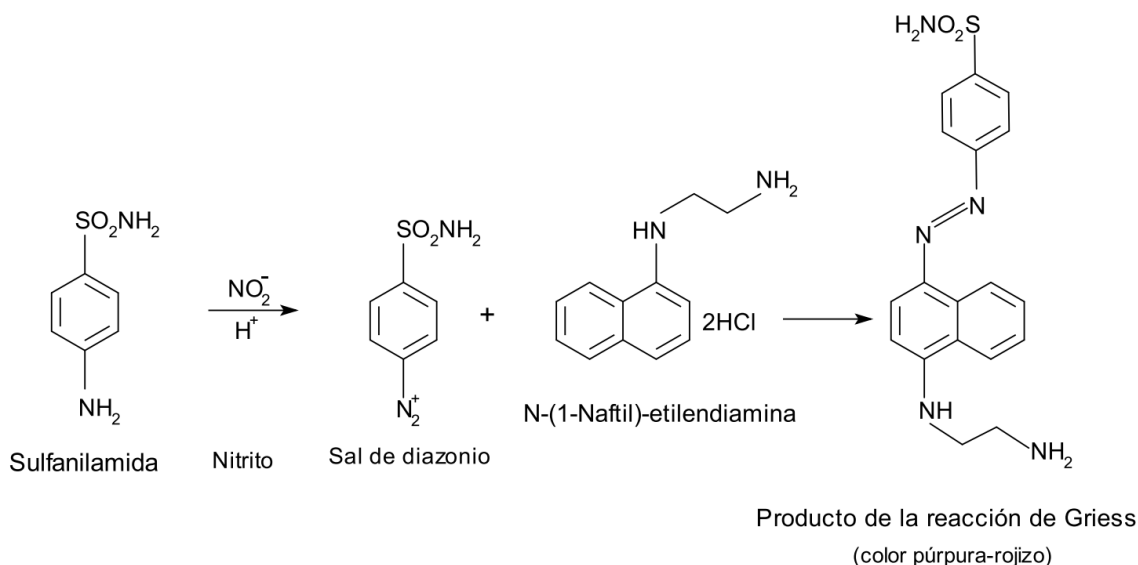
Las formas químicas de mayor interés del nitrógeno son nitrato (NO₃⁻) y nitrito (NO₂⁻). Ya que el analizador emplea detección fotométrica, se buscaron reacciones químicas basadas en la formación de especies coloreadas para la determinación de dichos analitos.

3.8.1. Nitrito

Uno de los métodos clásicos para la determinación de nitrito en agua es fotométrico y se basa en la reacción de Griess (Griess 1879), (Fox 1979). En esta reacción, el nitrito forma un compuesto coloreado con la sulfanilamida y la α-naftilamina (este último reactivo fue abandonado con el tiempo por su toxicidad y hoy se utiliza N-(1-Naftil)-

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

etilendiamina). En condiciones ácidas, el ion nitrito (como ácido nitroso) reacciona con el grupo amino de la sulfanilamida formando una sal de diazonio, la que luego se combina con la N-(1-Naftil)-etilendiamina (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-NO₂ B 2017) formando un compuesto azoico de color púrpura-rojizo (ecuación 6) (Figura 18).



Ecuación 6: Reacción de *Griess* (Ferraro 2016).

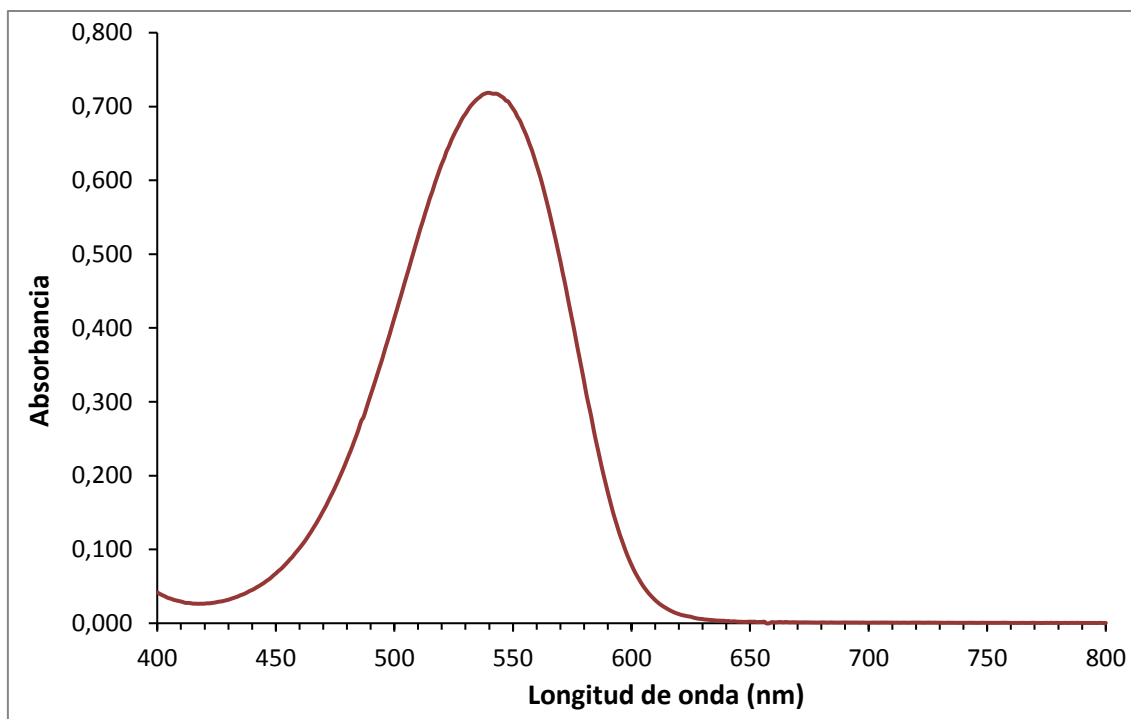


Figura 18: Espectro del producto de la reacción de *Griess* (Elaboración propia).

Debido a que esta determinación se realiza mediante detección fotométrica del azo-compuesto (púrpura-rojizo) cuya intensidad color es proporcional a la concentración y

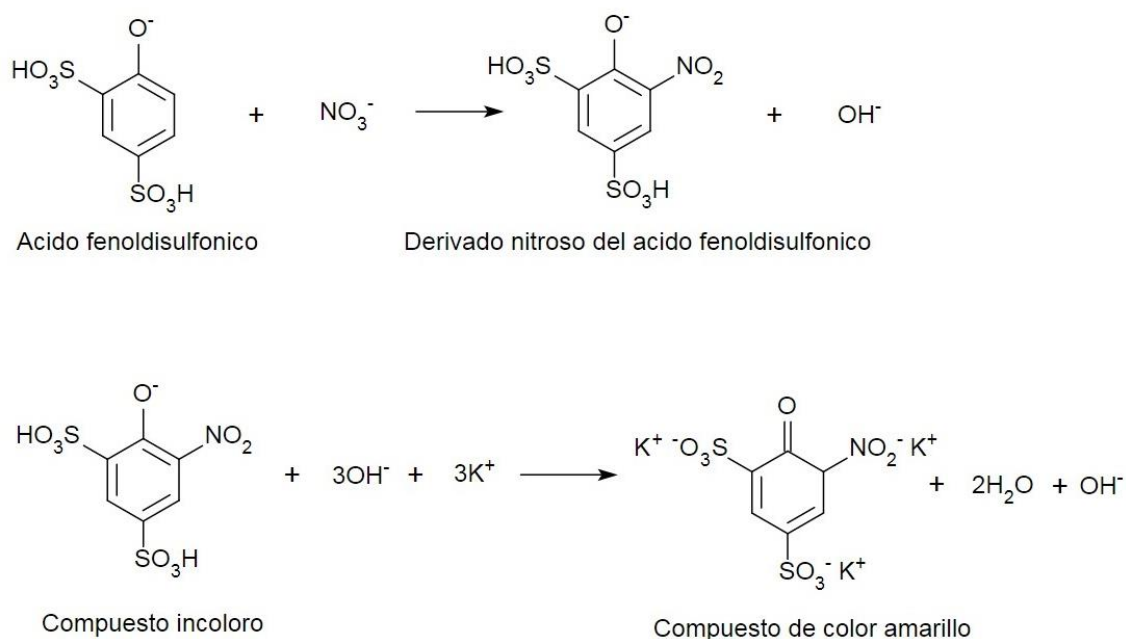
Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

posee buena sensibilidad (Wang, y otros 2017), se eligió esta forma para la determinación para nitrito en el analizador.

3.8.2. Nitrato

Existen diversas metodologías para la determinación del anión nitrato. Una forma es medir la absorbancia de la disolución a 220 nm y es útil como *screening* para aguas no contaminadas con bajo contenido de materia orgánica (Hoather y Rackman 1959), (Goldman y Jacobs 1961), (Armstrong 1963). Otra forma es mediante electrodo selectivo al anión nitrato (Langmuir y Jacobson 1970), (Keeney, Byrnes y Genson 1970).

Para la determinación espectrofotométrica de nitrato, un método es el que utiliza ácido fenoldisulfónico. El nitrato reacciona con este ácido para producir un compuesto incoloro, el cual luego reacciona con hidróxido de potasio para formar otro compuesto de color amarillo cuyo máximo de absorción es a los 410 nm (ecuación 7) (Ulrich y Johnson 1950), (Taras 1950), (West y Ramachadran 1966).



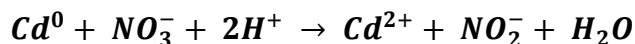
Ecuación 7: Reacción de nitrato con el ácido fenoldisulfónico.

La reacción con hidróxido de potasio (2ª parte de la ecuación 7) tiene el inconveniente de ser violenta (por lo cual debe trabajarse con soluciones diluidas de hidróxido de potasio) y es difícil de implementar en un sistema de análisis en flujo para un analizador autónomo.

Otra forma de determinar nitrato por espectrofotometría es realizar primero su reducción a nitrito y posteriormente determinar el nitrito formado mediante la reacción de *Griess*. Una forma de realizar dicha reducción es utilizando hidracina. Existen trabajos de su aplicación en sistemas automatizados para nitrato utilizando este reductor (Kamphake, Hannah y Cohen 1967), (Sawicki y Scaringelli 1971), (Pons, y otros 2008). Un inconveniente de este agente reductor es su alta toxicidad.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

La forma más utilizada de reducir nitrato a nitrito es mediante un reactivo en fase sólida, para esto se utilizan columnas rellenas con algún metal reductor. Por ejemplo el uso de columnas con zinc granulado las cuales se pueden utilizar en sistemas *batch* como en sistemas en flujo (Ellis, y otros 2011) o el uso de columnas de cadmio cuperizado. Esta última forma es quizás la más común que se utiliza para reducir el nitrato a nitrito (Cabrera Molina, y otros 2003):



Ecuación 8: Reducción de nitrato a nitrito en una columna de cadmio cuperizado.

Una de las ventajas del uso de un reactivo sólido en un sistema en flujo es que no se requiere de un reservorio extra y de una línea adicional del sistema para dicho reactivo. Además, en el caso de una columna de cadmio cuperizado, es la vía más práctica para la reducción de nitrato a nitrito por razones cinéticas y de precisión (Hydes y Hill 1985). Una dificultad que se presenta es la de poder confinar cadmio sólido (ya sea en polvo o en gránulos) en un sistema en flujo.

En el diseño de una columna de cadmio cuperizado, se trabaja con cadmio en polvo o en gránulos, se lo trata con sulfato de cobre y se empaca en un soporte de vidrio o de otro material. En la columna de cadmio, el cobre se halla en su forma reducida (Cu metálico) que esta adherido a la superficie del cadmio. Se produce una celda galvánica donde el cobre actúa como cátodo disminuyendo el potencial de reducción de la cupla Cd/Cd^{2+} (Hydes y Hill 1985). Al pasar a través de la columna una disolución con nitrato, este se reduce cuantitativamente a nitrito pudiéndose luego determinar este último mediante la reacción de *Griess* y esta ha sido la forma seleccionada para la determinación de nitrato en el analizador construido.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4. DISEÑO DEL ANALIZADOR DE NITRÓGENO Y FÓSFORO

El objetivo final del presente trabajo fue construir un analizador autónomo para los mencionados nutrientes en aguas utilizando componentes fáciles de conseguir y de bajo costo; se programó para que realice por sí solo las determinaciones analíticas y envíe en forma inalámbrica los resultados obtenidos al usuario. El diseño y construcción del analizador de nitrógeno y fósforo tuvo en cuenta los siguientes aspectos:

- Antecedentes de construcción de analizadores químicos en el mundo.
- Selección del sistema de análisis en flujo más adecuado para un analizador de campo.
- Selección de los métodos de determinación para los analitos en cuestión (y que estos métodos sean aplicables al sistema en flujo utilizado).
- Construcción de los circuitos necesarios para control de actuadores, del sistema de detección y acondicionamiento de las señales.
- Selección de la placa de microcontrolador adecuada para el control total de las rutinas programadas en el sistema.
- Selección de la forma de comunicación inalámbrica más adecuada en cuanto a distancia de transmisión, consumo eléctrico y costos.
- Selección de la alimentación eléctrica adecuada para la autonomía deseada.
- Desarrollo del sistema de filtración de las muestras de agua a ser analizadas para que no influya negativamente en los resultados y para que no ocurran daños en el sistema en flujo.

El diseño y construcción del analizador se puede dividir en las siguientes etapas:

- 1) Diseño de los sistemas en flujo de cada analito (fosfato, nitrito y nitrato).
- 2) Validación de dichos sistemas en el laboratorio.
- 3) Integración de los 3 sistemas para llegar a un único sistema que realice las 3 determinaciones.
- 4) Colocación del sistema dentro de su carcasa final (cajas estancas para que la parte eléctrica y electrónica estén a resguardo de posibles derrames de líquidos).
- 5) Pruebas de desempeño del analizador dentro del laboratorio (monitoreo de la calibración en días diferentes y determinación de muestras artificiales).
- 6) Pruebas en campo para determinaciones en muestras reales.

4.1. Antecedentes

El uso de la telemetría para el envío de información de diversas variables tanto físicas como químicas no es un concepto nuevo. Los avances en el desarrollo de sensores y en las comunicaciones son conocidos y aplicados desde hace décadas. El diseño de analizadores automatizados ha sido posible gracias a la aparición de modernos sensores más robustos, económicos o incluso de completos sistemas de detección de tamaño reducido y de bajo consumo de potencia. La miniaturización de muchos

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

componentes para los sistemas (bombas, válvulas, etc.) y el reciente desarrollo de *manifolds*⁴ utilizando microfluídica⁵ en sistemas en flujo también contribuyeron al desarrollo de analizadores (Whitesides 2006). Con la aparición de los sistemas microfluídicos se reducen considerablemente los tamaños de los sistemas en flujo y el consumo de reactivos; los avances en tecnologías como el grabado Láser permiten crear sistemas en flujo cuyo diámetro de canales es del orden de los μm (Mark, y otros 2010). Los sistemas microfluídicos se pueden grabar en diversos materiales como ser el acrílico.

De los antecedentes que existen en cuanto al diseño y construcción de analizadores químicos; el mayor foco ha sido la investigación para el desarrollo de analizadores a ser empleados en océanos (Plant, y otros 2009), (Legiret, y otros 2013). Respecto a aguas superficiales, existen investigaciones creando prototipos de analizadores basados en sistemas de análisis en flujo (FIA) por ejemplo para fosfato (Mankasingh y Worsfold 2010), para nitrato y sulfuro (Bris, y otros 2000). En cuanto a analizadores basados en sistemas de flujo pulsado (como el construido en el presente trabajo), existen desarrollos como ser un analizador para la determinación de manganeso en sistemas acuáticos (Meyer, y otros 2016), para el monitoreo ambiental de zinc (Chapin y Wanty 2005), etc.

Un grupo de investigación (Slater, y otros 2007) (Cleary, Slater y McGraw, y otros 2008) (Cleary, Slater y Diamond 2010) desarrolló un analizador para fósforo en efluentes y aguas superficiales con comunicación GSM⁶. El mismo está basado en flujo pulsado (bombas solenoide como dispositivos de impulsión de los líquidos). Para la determinación analítica utilizan la formación del ácido vanadomolibdofosfórico (color amarillo) y detección fotométrica (basada en LED y fotodiodo). Para el *manifold* utilizaron microfluídica (placa de acrílico con el sistema de mezclado y las tuberías grabadas en la misma) con el fin de reducir los consumos de reactivos y el volumen de desechos generados. Un microcontrolador de bajo consumo se encarga de controlar los tiempos de activación de cada una de las bombas y de digitalizar la señal analógica que sale del detector. Los datos son comunicados al usuario mediante mensaje de texto. La alimentación eléctrica es provista por una batería de plomo ácido de 12 V y 7 Ah. El sistema todo fue armado en una caja de herramientas plástica. Las Figuras 19 y 20 muestran el analizador terminado y el *manifold* microfluídico.

⁴ *Manifold* se refiere al circuito de tubos por el cual circulan los líquidos en un sistema en flujo.

⁵ Microfluídica es la ciencia y tecnología que utiliza sistemas que procesan o manipulan cantidades pequeñas de fluidos (entre 10^{-18} y 10^{-9} litros) mediante canales cuyo tamaño está entre decenas y cientos de micrones.

⁶ GSM (*Global System for Mobile Communications*) es el sistema estándar de telefonía móvil en el mundo.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

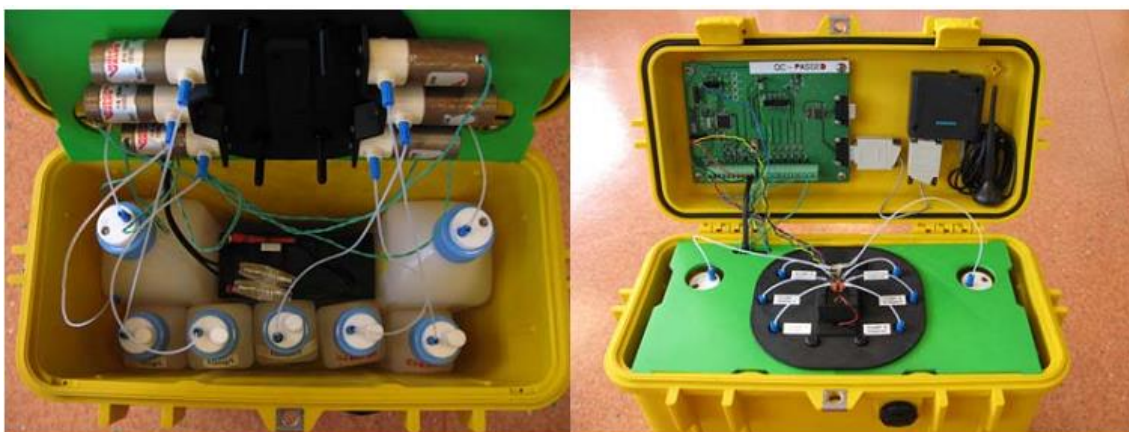


Figura 19: Prototipo de un analizador de fósforo para aguas naturales (Cleary, Slater y Diamond 2010).

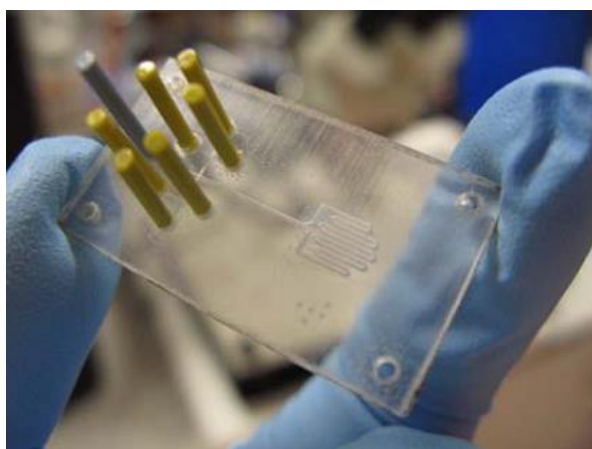


Figura 20: *Manifold* microfluídico de un analizador prototipo (Cleary, Slater y McGraw, y otros 2008).

Existen algunas empresas en el mundo que comercializan analizadores para algunos analitos aplicados al monitoreo de efluentes industriales y monitoreo de aguas superficiales e incluso para aguas oceánicas (analizadores de profundidad). Estos analizadores portables se basan en sistemas de análisis en flujo y normalmente pueden determinar 2 o más analitos de interés remitiendo los resultados en forma inalámbrica al usuario o guardando los mismos en un *datalogger*⁷ incorporado.

Uno de los modelos ofrecidos por una de estas firmas (Global FIA 2015) está basado en una bomba de baja pulsación (Wolcott y Marshall 2000), una válvula multi-puerto y detección fotométrica para nutrientes en aguas de océano. Otra firma (SYSTEAM 2015) ofrece un analizador de nutrientes para aguas de océano el cual se puede controlar en forma remota mediante GSM/GPRS. A modo de ejemplo, este analizador realiza la determinación de fósforo disuelto directamente por medición fluorimétrica basado en la reacción con rodamina (Copetti, y otros 2017).

4.2. Métodos químicos utilizados en el analizador construido

⁷ Un *datalogger* es un dispositivo registrador de datos normalmente basado en microcontroladores.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4.2.1. Método seleccionado para la determinación de fósforo

El objetivo final del presente trabajo fue el diseño y construcción de un analizador para la determinación de analitos de interés ambiental en aguas que opere en forma autónoma. Para ello, entre otras exigencias los reactivos deben tener una estabilidad a lo largo del tiempo que permita la autonomía del instrumento en cuestión. Si se eligiese el método del azul de molibdeno, los posibles agentes reductores (ácido ascórbico, cloruro estannoso) son reactivos que en solución presentan una estabilidad muy limitada y si se tiene en cuenta las condiciones ambientales en que estarán operando (a la intemperie, bajo el sol, en condiciones de calor y humedad, etc.) la durabilidad de los mismos puede ser un factor limitante en la autonomía deseada. Por eso es que en este trabajo se comenzó por trabajar con el método del ácido vanadomolibdofosfórico (color amarillo), ya que el reactivo cromogénico es estable bajo estas condiciones y garantizaría los objetivos buscados en ese aspecto.

Además, como se mencionara en párrafos anteriores, los estudios de fósforo en cuerpos de agua de nuestro país demuestran que gran parte de los mismos poseen altos niveles de fósforo, muy por encima del valor máximo fijado en el decreto 253/79. Por tanto este método a pesar de su relativa baja detectabilidad (límites de detección reportados un orden de magnitud por encima del valor máximo del decreto) igualmente puede resultar útil para monitorear el analito en nuestros cuerpos de agua, lo cual también justifica el uso de esta química para el fósforo.

4.2.2. Método seleccionado para la determinación de nitrito/nitrato

Para la determinación de nitrito se utiliza el método fotométrico que se basa en la reacción de *Griess*, ya que este método posee buena sensibilidad y detectabilidad y se basa en una detección fotométrica fácil de implementar en un instrumento de campo.

En cuanto a la determinación de nitrato, este es reducido a nitrito mediante el uso de una columna de cadmio cuperizado y luego se determina utilizando la reacción de *Griess* (en realidad se determina la suma de nitrito + nitrato). De esta forma, para nitrato se utilizan los mismos reactivos y el mismo sistema de detección que para nitrito con las ventajas que eso ofrece. La Tabla 2 resume todo lo anterior.

Tabla 2: Resumen de los métodos seleccionados para el analizador construido.

Analito	Método químico seleccionado para su determinación en el analizador
PO_4^{3-}	Formación del ácido vanadomolibdofosfórico (color amarillo) y determinación fotométrica
NO_2^-	Reacción de <i>Griess</i> , formación del azo-compuesto y determinación fotométrica
NO_3^-	Reducción a NO_2^- en columna de cadmio cuperizado, reacción de <i>Griess</i> y determinación fotométrica (se determina la suma nitrato+nitrito)

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4.3. Hardware utilizado

Para el diseño del analizador multiparamétrico y atendiendo a los antecedentes al respecto, se implementó una técnica de análisis en flujo pulsado utilizando bombas solenoide (*Multi Pumping Flow Analysis*, MPFA). El uso de dispositivos de flujo pulsado en sistemas de análisis en flujo está reportado en publicaciones que datan de hace más de 20 años (Weeks y Johnson 1996), pero no es hasta el año 2002 en que nacen las técnicas de flujo pulsado MPFA cuando grupos de investigación de Brasil y Portugal publican acerca de las ventajas del flujo pulsado (Lapa, y otros 2002). A partir de allí hubo todo un desarrollo en cuanto la visión de las técnicas MPFA como herramientas de automatización que ofrecen versatilidad y simplicidad (Lima, y otros 2004), (Santos, y otros 2007).

4.3.1. Bombas solenoide

Los sistemas MPFA tienen como dispositivos característicos a las bombas solenoide. Estos actuadores se comportan al mismo tiempo como dispositivos de bombeo y de inserción de los distintos líquidos en el sistema. Es necesario contar con uno de ellos por cada línea del *manifold*, de ahí el nombre de la técnica (Figura 21).

En cuanto a su estructura y funcionamiento, constan de un diafragma el cual es movido por la energización y des-energización de un solenoide. Cuando el solenoide se energiza, el diafragma se mueve generando presión negativa y la bomba aspira fluido desde la entrada, cuando el solenoide se des-energiza, gracias a un resorte el diafragma vuelve a su posición original generando presión positiva y dispensando un cierto volumen de líquido en su salida (Figura 22).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

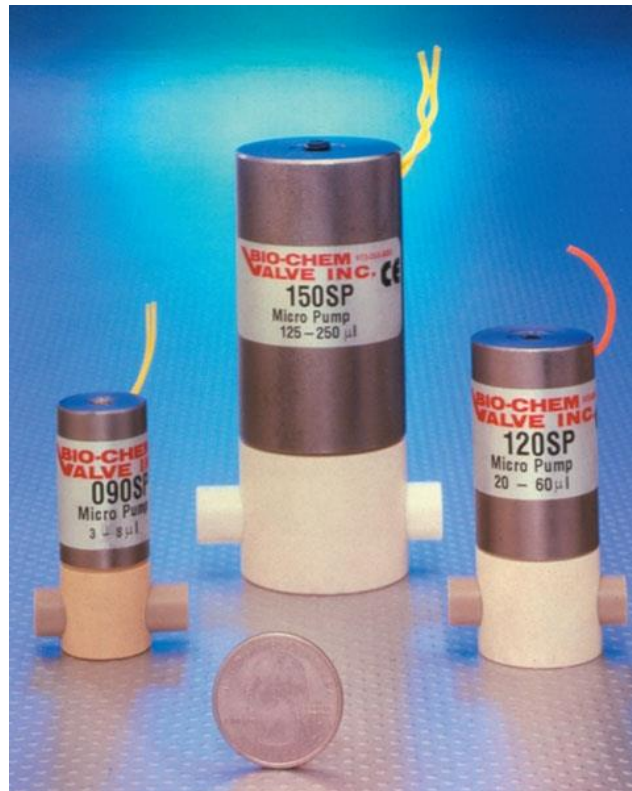


Figura 21: Mini bombas solenoide (Bio-Chem Fluidics 2012).

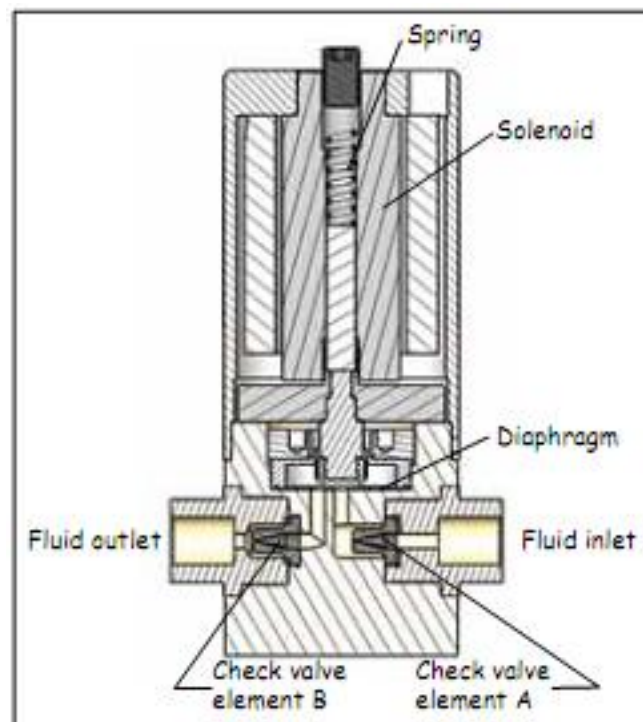


Figura 22: Corte transversal de una bomba solenoide (Bio-Chem Fluidics 2012).

Poseen además 2 válvulas de retención las cuales se encargan de que, al aspirar líquido lo haga desde la entrada y no desde la salida; y al dispensar líquido lo haga por la salida y no por la entrada (Bio-Chem Fluidics 2012). Las distintas partes de una bomba solenoide se construyen con diversos materiales; al momento de adquirirlas hay que

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

especificar el material de acuerdo a la resistencia química necesaria según los fluidos que se van a impulsar con ella (Tabla 3).

Tabla 3: Materiales de construcción de una bomba solenoide.

Parte de la bomba	Materiales posibles de construcción ⁸
Cuerpo	PPS, PTFE, PEEK™, POM
Diafragma	EPDM, PTFE
Válvulas	EPDM, FKM, FFKM

En cuanto a sus características eléctricas, operan con voltajes de 12 V o 24 V y típicamente consumen una corriente del orden de 300 mA en cada energización del solenoide. Son capaces de trabajar a una frecuencia máxima de 2 pulsaciones por segundo. Este valor está limitado por la inercia mecánica del actuador y además para evitar sobrecalentamiento del solenoide. Comercialmente se consiguen bombas de diferentes volúmenes dispensados en cada pulsación, desde los 3 μ L hasta los 250 μ L.

Las principales ventajas que presentan son su pequeño tamaño, relativo bajo costo y bajo consumo energético lo que las hace ideales para el diseño de analizadores de campo. Como desventajas las mismas no son idóneas para impulsar fluidos muy viscosos (lo cual no es un problema en el análisis de aguas), no tienen la posibilidad de inversión del sentido del flujo y una misma bomba operando durante periodos de tiempo prolongados puede llegar a recalentarse. Las bombas tienen una duración estimada de unas 3000 horas de uso continuo.

Para trabajar con bombas solenoide en el diseño de sistemas de análisis en flujo, es necesario contar con un *software* y un *hardware* adecuados. En cuanto al *hardware*, es necesario que el mismo cuente con interfaces I/O (*input/output*⁹) digitales para el manejo de este tipo de actuadores. Como en general se utiliza un microcontrolador (a veces también un microprocesador), las corrientes y voltajes de estos son inferiores a los que necesitan las bombas solenoide para operar, por lo que es necesario un *hardware* adicional que adapte los niveles de voltaje y corriente. Este *hardware* adicional es conocido como *driver*. El diseño de sistemas en flujo basados en flujo pulsado (con el uso de bombas solenoide) y su control desde computadora ha sido reportado en revistas de química analítica incluso a niveles descriptivos con diagramas de los circuitos utilizados (Horstkotte, Duarte y Cerdà 2012).

En el presente trabajo, se diseñaron sistemas de análisis en flujo para la determinación de fosfato y nitrito/nitrato basados en flujo pulsado (con bombas solenoide como dispositivos de impulsión de los líquidos) y detección fotométrica; todo controlado

⁸ PPS: Polisulfuro de fenileno, PTFE: Politetrafluoroetileno, PEEK: Polieteretercetona, POM: Polioximetileno, EPDM: Etileno Propileno Dieno tipo M, FKM: Fluorocarbon, FFKM: Perfluoroelastomero.

⁹ Las interfaces I/O son entradas/salidas digitales que sirven para controlar dispositivos (activar o desactivar LEDs, motores, etc.) y recibir datos de sensores digitales.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

mediante una placa de microcontrolador. Para dichos sistemas fue necesario diseñar y construir:

- El *manifold* correspondiente al sistema en flujo
- El sistema de detección fotométrico
- La interfaz de potencia (*driver*) para el manejo de los actuadores (bombas y válvulas)
- El *software* para control de las distintas rutinas del sistema

Estos métodos analíticos fueron validados en primera instancia en el laboratorio y luego integrados en el analizador.

4.3.2. La placa de microcontrolador

El sistema de análisis tiene muchos dispositivos para controlar:

- Actuadores: bombas y válvulas solenoide
- Sistema de detección: LEDs y fotodiodos

A su vez, debe controlar la secuencia de tiempos de ejecución de las rutinas programadas. La plataforma de control debe contar con características adecuadas para poder utilizarse en el analizador:

- ✓ Debe contar con interfaz analógico-digital para digitalizar las señales provenientes de los sistemas de detección.
- ✓ Debe contar con terminales digitales I/O para controlar los actuadores (bombas y válvulas).
- ✓ Debe contar con una memoria y velocidad de procesamiento adecuadas para la programación que se realizará en el analizador.
- ✓ Debe contar con puertos para comunicar los datos obtenidos con el dispositivo de transmisión de la información hacia el usuario.
- ✓ Debe contar con la posibilidad de almacenamiento de datos o que comercialmente existan accesorios compatibles que se encarguen de almacenar datos como respaldo en caso de fallas en la comunicación.
- ✓ En lo posible que sea fácilmente asequible y de bajo costo.
- ✓ Debe ser fácilmente programable y en lo posible que exista sobre ella mucha información disponible (hojas de datos, tutoriales, libros, etc.).

El sistema de análisis debe operar en forma autónoma en una ubicación lejana al usuario, por lo tanto no puede contar con una computadora que esté conectada al mismo controlando los dispositivos y las acciones. Para el control del mismo fue necesario contar con una placa de microcontrolador.

Un microcontrolador es un circuito integrado programable, capaz de ejecutar las órdenes grabadas en su memoria. Está compuesto por varios bloques funcionales que cumplen una tarea específica, cuenta con entradas y salidas digitales para control de dispositivos

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

y conexión de sensores así como también entradas analógicas para digitalización de señales analógicas proveniente de sensores (colaboradores de Wikipedia, Arduino).

Existen comercialmente infinidad de placas de microcontrolador. En el presente trabajo se eligió trabajar con una placa de microcontrolador de la familia Arduino (Arduino s.f.) por su sencillez, bajo costo y facilidad de conseguirlas. Su uso está universalizado y existe toda una comunidad creada alrededor del proyecto Arduino, contándose con abundante material, tutoriales, blogs, librerías descargables, etc. A nivel personal se posee experiencia previa con este tipo de placas. Por todo esto es que se seleccionó una placa de microcontrolador de la familia Arduino para el control del analizador. Existen reportes del uso de las placas Arduino para la automatización en laboratorios, robótica y demás (Candelas, y otros 2015).

La plataforma Arduino nace en el año 2005 en Italia como un proyecto para contar con placas de microcontrolador de bajo costo y fácil programación para la enseñanza y el desarrollo. Tanto el *hardware* como el *software* de la plataforma son de fuente abierta (*open source*); esto es, se puede adquirir cualquiera de las placas de la línea Arduino por bajo costo o si se desea el usuario puede construirla ya que los esquemas del diseño de las mismas son accesibles. A su vez uno puede realizar con las placas Arduino lo que desee sin tener que adquirir ningún tipo de licencia al respecto.

Las placas Arduino se basan en microcontroladores de la firma *Atmel*, cuentan con entradas analógicas para adquirir y digitalizar datos provenientes de sensores y con entradas y salidas digitales para el control de dispositivos (Margolis 2011). Su entorno de programación está basado en el lenguaje *Processing* (Processing 2011) y se conoce como IDE de Arduino (Figura 23).

IDE es la sigla en inglés de *Integrated Development Environment* (entorno de desarrollo integrado) y consiste en una aplicación informática que le permite a un programador o desarrollador justamente desarrollar *software*; en definitiva es un editor de código fuente (Wikipedia contributors 2018). Particularmente el IDE de Arduino es de aprendizaje sencillo y cuenta con una comunidad establecida, con un sinnúmero de blogs, tutoriales, etc. En definitiva cuenta con un gran soporte con ejemplos publicados y librerías disponibles para distintas aplicaciones (Arduino s.f.).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

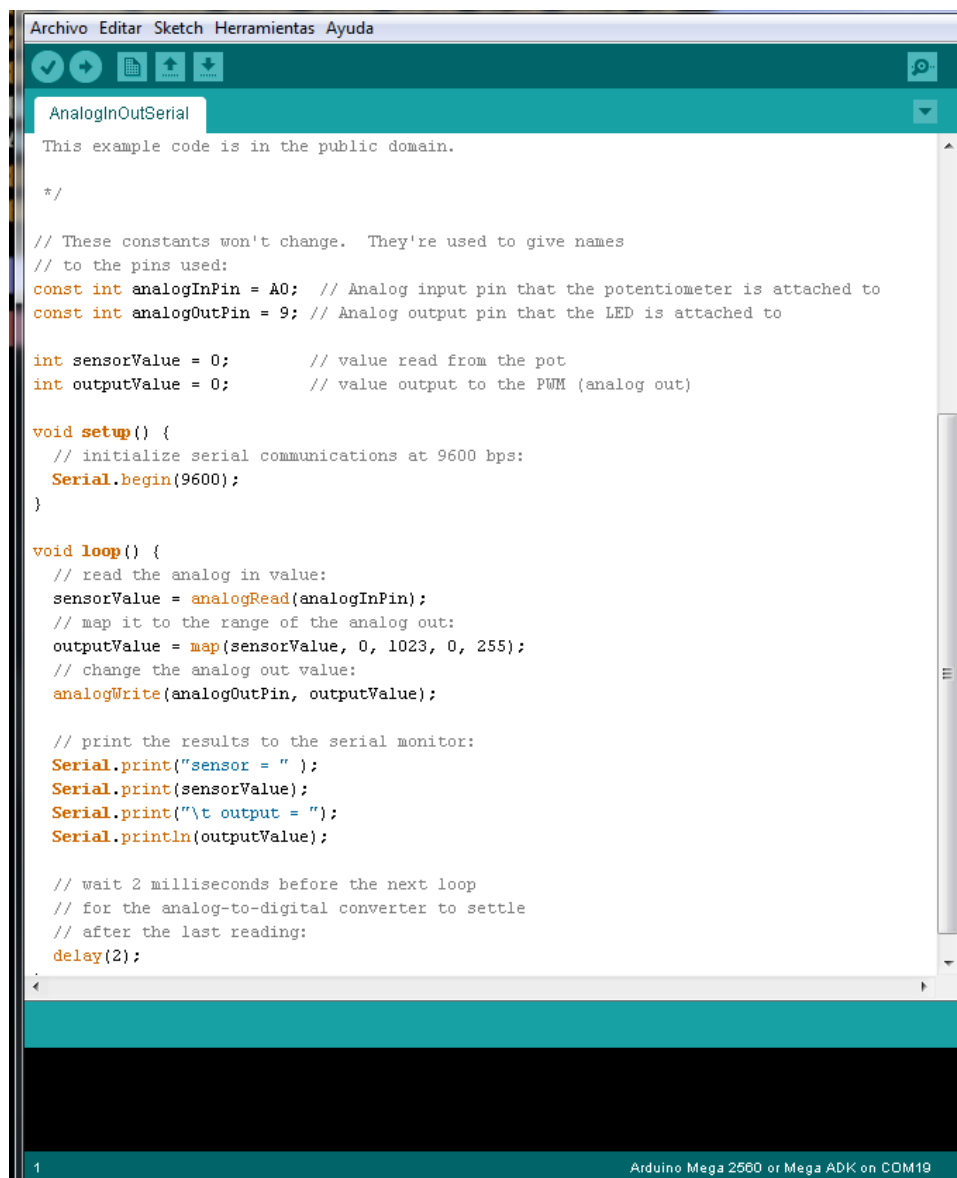


Figura 23: Entorno de programación de Arduino (IDE).

Dentro de las placas Arduino, para el analizador se utilizó la placa Arduino UNO (Figura 24) (Arduino s.f.) ya que sus especificaciones cumplen con lo requerido para el control del analizador multiparamétrico. Las dimensiones de la placa son 69x53 mm y sus principales características son:

- Microcontrolador: ATmega 328P (8-bit, 16 MHz)
- 14 terminales digitales que pueden operar como entrada o salida
- 6 entradas analógicas de 10 bits de resolución¹⁰

¹⁰ La resolución de un convertidor analógico/digital refiere al número de bits con el cual digitaliza una señal analógica; a mayor número de bits, menor error en la digitalización de la señal. 10 bits corresponden a 1024 niveles de discretización en la señal.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- 6 salidas PWM¹¹
- 1 puerto serie (compartido con el USB)
- Memoria flash de 32 kB

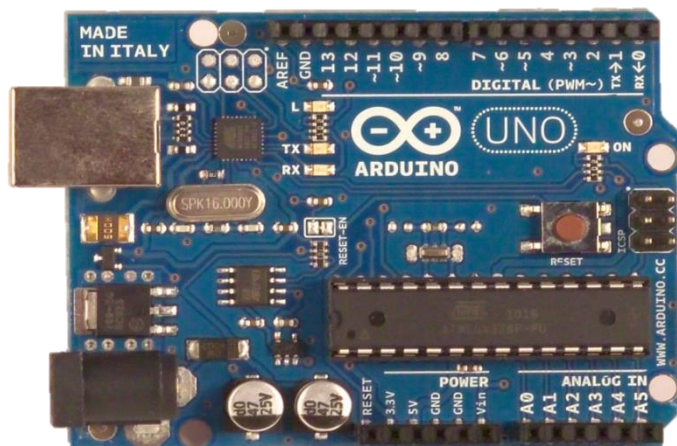


Figura 24: Placa Arduino UNO.

A su vez, existen muchos accesorios para las placas Arduino conocidos como “*shields*”, los cuales aumentan las prestaciones de la plataforma en cuanto a visualización de datos, comunicación de datos a distancia, etc. En el presente trabajo se utilizó un accesorio que le provee conectividad GSM/GPRS para las comunicaciones.

4.3.3. Sistema de detección

El sistema de detección para los diferentes analitos está basado en LEDs como fuentes de radiación, celdas espectrofotométricas compatibles con sistemas de análisis en flujo y fotodiodos de silicio como detectores de la radiación. A su vez cuenta con un circuito de acondicionamiento de la señal (amplificación de la señal y disminución del ruido).

Un LED (*light-emitting diode*, diodo emisor de luz) es un diodo semiconductor de estado sólido que al polarizarse en forma directa emite luz. Hoy en día se consiguen LEDs que emiten desde el ultravioleta cercano (200 nm en adelante) hasta el infrarrojo cercano (4.6 μm). Los LEDs son fuentes de radiación de una pureza espectral aceptable (bandas de emisión relativamente estrechas), bajo consumo de corriente (del orden de los 10 mA) y de una alta durabilidad (Macka, Piasecki y Dasgupta 2014). Los LEDs como fuentes de radiación en química analítica tienen una amplia aplicabilidad, como detectores de absorbancia, fluorescencia y espectro-electroquímica (Dasgupta, y otros 2003). Para las determinaciones *in-situ* los LEDs por sus características resultan adecuados para instrumentación en este rubro (O’Toole y Diamond 2008).

En el analizador construido hay 2 sistemas de detección fotométricos, uno para fosfato y otro para nitrito/nitrato (ya que la química en la determinación de nitrato posee como producto final de reacción el mismo compuesto coloreado que la de nitrito) los cuales

¹¹ Una salida PWM (*Pulse Width Modulation* o control por ancho de pulso) se utiliza cuando se requiere controlar el voltaje eficaz recibido por un dispositivo en el cual regulando el ancho de pulsos se logra emular una regulación del voltaje eficaz recibido.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

operan en paralelo en el sistema. El software decide por cual sistema de detección pasa la muestra o los patrones según la rutina que esté ejecutando en ese momento.

4.3.3.1. Sistema de detección para fosfato

Para el analito fosfato (en realidad se detecta ortofosfato disuelto), el sistema de detección fotométrico consta de un portaceldas con su correspondiente celda de flujo, como fuente de radiación se utiliza un LED de alto brillo (LED de origen comercial, longitud de onda nominal = 415 nm) y como detector un fotodiodo de silicio (*Perkin Elmer* VTB1013). El LED es alimentado con una tensión de 5V provista por una de las salidas I/O de la placa Arduino y posee una resistencia limitadora de la corriente de 390 Ω con lo cual la corriente que circula por él es de unos 10 mA. La señal de salida del fotodiodo es acondicionada con un circuito que está basado en el chip TL081 (STMicroelectronics 2001). Este circuito integrado posee un amplificador operacional con una alta impedancia de entrada. Los componentes externos conectados al mismo tienen como finalidad filtrar la señal analógica a su entrada (filtro RC) y hacer funcionar al operacional en el modo transimpedancia. El circuito de acondicionamiento de la señal que sale del fotodiodo se exhibe en la Figura 25.

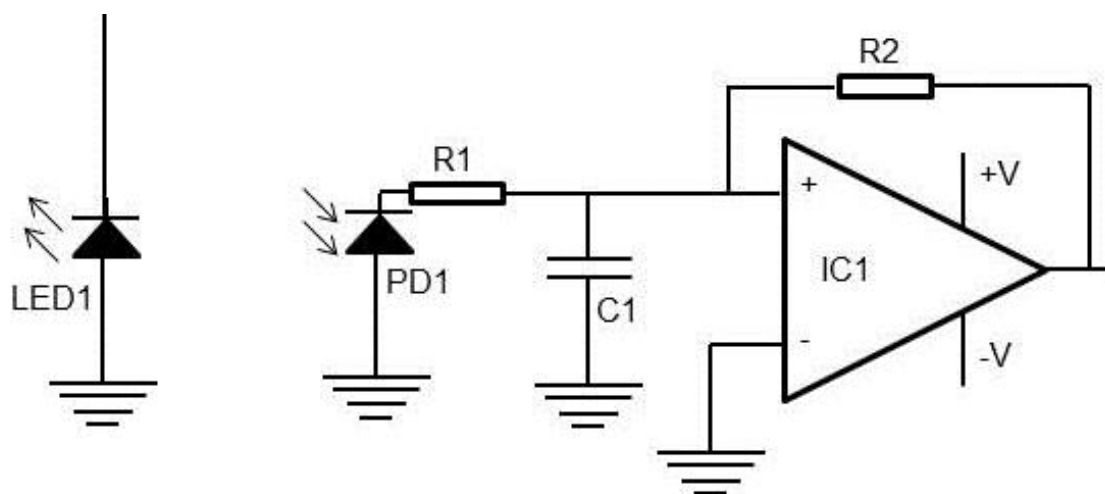


Figura 25: Acondicionador de señal del sistema de detección diseñado (IC1 = TL081).

Los valores de las resistencias y del capacitor se calcularon tomando en cuenta el filtrado de la señal (R1 y C1 conforman un filtro RC pasabajos), el amplificador opera en modo transimpedancia. Los valores de los componentes son:

- R1 = 27 k Ω
- R2 = 1.2 M Ω
- C1 = 10 μ F

4.3.3.2. Sistema de detección para nitrito/nitrato

Similar al de fosfato, el sistema de detección fotométrico consta del mismo portaceldas (ya que este tiene varios recintos para colocar celdas) con su correspondiente celda de flujo. Como fuente de radiación se utiliza un LED verde (LED *Kingbright* L7524VGC,

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

longitud de onda nominal = 525 nm) y como detector un fotodiodo de silicio (*Perkin Elmer* VTB1013). El LED también es alimentado con una tensión de 5V provista por una de las salidas digitales de la placa Arduino y también posee una resistencia limitadora de corriente de 390 Ω . El voltaje analógico que sale del fotodiodo también es acondicionado con un circuito similar al que se utiliza para fosfato.

4.3.4. Interfaz de potencia para control de los actuadores

Debido a que la placa Arduino UNO en sus pines I/O entrega un voltaje de 5V y una corriente máxima de 40 mA y las bombas solenoide operan con voltajes de 12V y corrientes de 320 mA; fue necesario la construcción de una interfaz (*driver*) para adaptar el voltaje y la corriente que proporciona el microcontrolador a lo que requieren las bombas. Esta interfaz se construyó utilizando el circuito integrado ULN 2803 (Motorola Semiconductors Products Inc. 1996) el cual consiste en transistores *Darlington* y posee 8 canales de control (Figura 26).

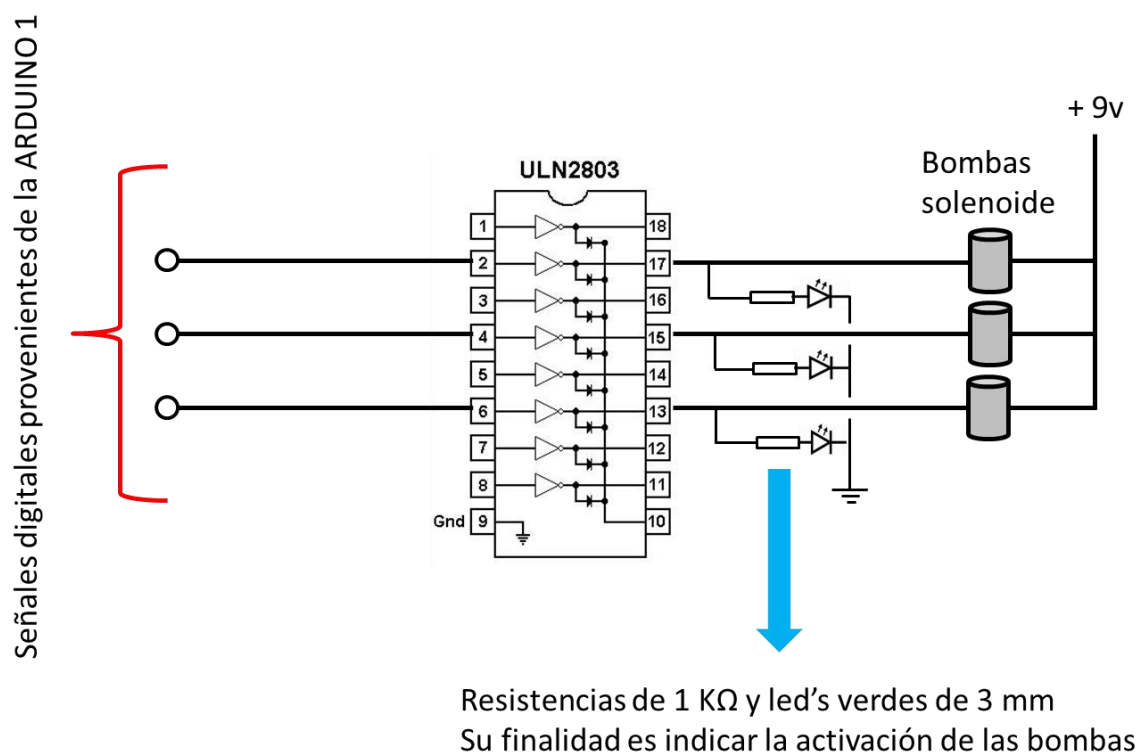


Figura 26: Interfaz de potencia para los actuadores.

Cabe aclarar que esta interfaz de potencia fue creada para las pruebas en el laboratorio. La interfaz utilizada en el analizador construido es la misma pero se le quitaron los LEDs indicadores para un mayor ahorro de energía.

4.3.5. Manifold para fosfato

El sistema en flujo diseñado para la determinación de fosfato posee los siguientes componentes:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- 3 bombas solenoide *Cole Parmer* P/N 73120-10
- Confluencia de 4 vías
- Tubos de PFA¹² de 0.8 mm de diámetro interno
- Reactor de mezclado en forma de “8” de 200 cm de longitud (tubo de PFA de 0.8 mm de diámetro interno)
- Celda de flujo de vidrio óptico de 200 μL de volumen interno y 1 cm de camino óptico
- Placa de microcontrolador Arduino UNO
- Sistema de detección fotométrico basado en LED y fotodiodo
- Interfaz de potencia para las bombas solenoide

La Figura 27 muestra un esquema del sistema en flujo utilizado para determinar fosfato en el laboratorio y que luego se empleó en el analizador.

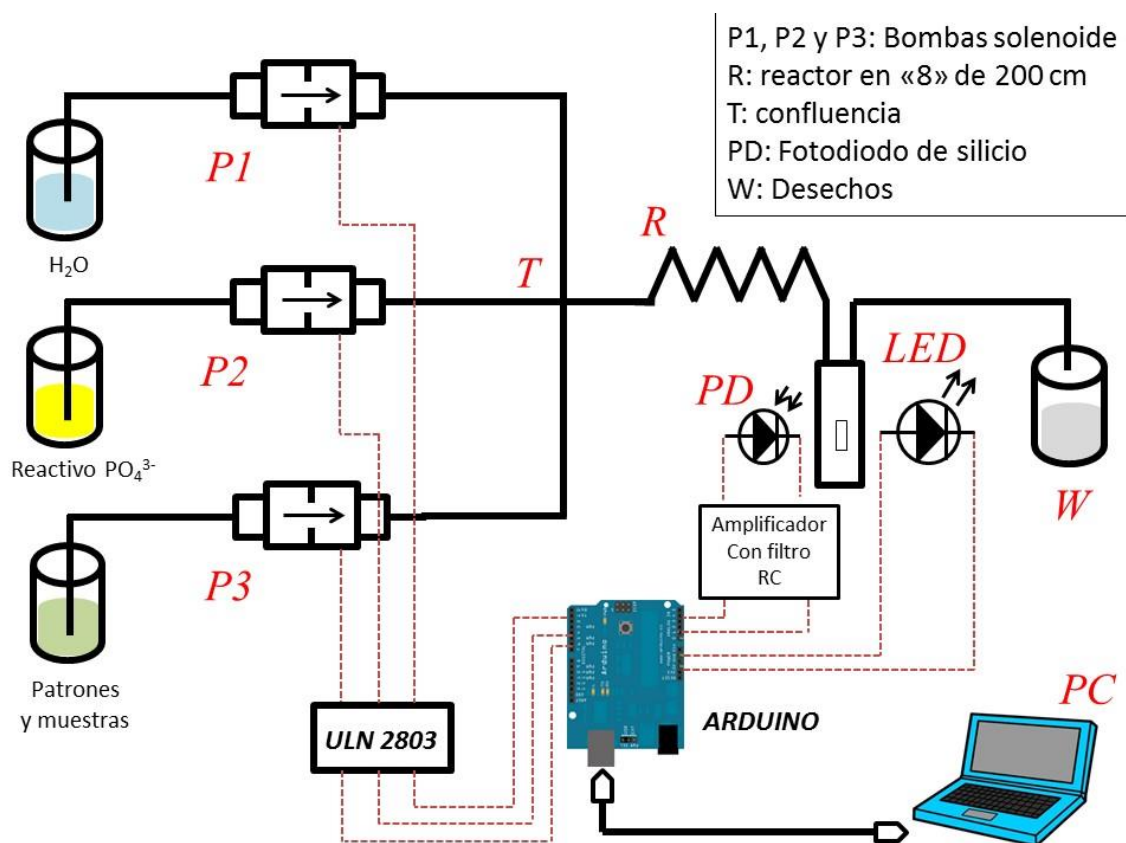


Figura 27: Sistema MPFA para fósforo.

El reactor de mezclado utilizado (tanto en este sistema para fosfato como en los siguientes) es un tubo de PFA de 200 cm de largo y 0,8 mm de diámetro interno, enrollado en un soporte en forma de “8” algo que es común en sistemas en flujo. Esta forma del reactor hace que, al circular líquidos en su interior se generen fuerzas centrífugas que ocasionan turbulencia en el régimen de flujo y con eso se favorece el

¹² Copolímeros de perfluoroalcoxi.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

mezclado radial de las capas de fluido, lo que en los hechos genera un buen mezclado de los reactivos.

La operación del sistema MPFA, en las distintas rutinas que se pueden iniciar, se programó tomando en cuenta la frecuencia de operación de las bombas solenoide. Estas pueden operar a una frecuencia máxima de 2 Hz (periodo de 500 ms). El energizado del solenoide está fijo en 150 ms atendiendo a lo recomendado por el fabricante de las bombas (si bien las mismas poseen número de catálogo correspondiente a la firma *Cole Parmer*, se sabe que su fabricante es *Bio-Chem Fluidics*) (Bio-Chem Fluidics 2012) mientras que el tiempo de des-energizado se fijó en el mínimo (350 ms) para así trabajarlas a la frecuencia máxima. Las diferentes rutinas y la visualización de las señales obtenidas se comandan desde una interfaz de usuario programada con MATLAB. Este es un entorno de programación para cálculo matemático pero que permite además diseñar interfaces de usuario, manejar puertos, enviar y recibir datos desde y hacia la computadora y muchas otras prestaciones (Pérez 2002).

Las rutinas programadas son:

- Limpieza del sistema: Se bombea líquido (el reactivo correspondiente en cada línea) en las 3 líneas del sistema (portador, reactivo y patrones/muestras) para eliminar el aire del sistema y limpiar con las disoluciones a bombear. En esta rutina las 3 bombas operan alternadamente todo el tiempo que el usuario decida.
- Ajustes fotométricos: En esta rutina se detiene el bombeo de líquidos y el sistema realiza las medidas de 0% y 100 % de transmitancia y son memorizados por el microcontrolador de la placa Arduino UNO para poder calcular la absorbancia relativa en cada medida de patrones o muestras. La ecuación 7 muestra cómo se calcula dicha absorbancia. Para el ajuste de 0% de transmitancia el LED está apagado; luego se enciende el LED y se determina la señal del 100 % de transmitancia.

$$\text{Absorbancia relativa} = -\log_{10} \frac{(S_x - S_0)}{(S_{100} - S_0)}$$

Ecuación 7: Cálculo de la absorbancia relativa implementado en el microcontrolador.

Siendo S_0 el valor de señal para 0% de transmitancia, S_{100} el valor para 100% de transmitancia y S_x el valor de la señal que sale del detector cuando se está midiendo patrones o muestras.

- Análisis: En esta rutina, las bombas de reactivo y portador operan a 2 Hz en forma alternada durante 30 segundos, generando la línea base del sistema de detección. Posteriormente se deja de bombear portador y se bombea patrones o muestras junto con el reactivo hasta completar el volumen de patrones o muestras optimizado. El sistema luego se detiene dando inicio al tiempo de flujo detenido (para el desarrollo de color del compuesto químico) y finalmente vuelve a bombearse portador y reactivo y el ciclo se repite indefinidamente hasta que el usuario lo detenga. Salvo durante el periodo de flujo detenido, el sistema está

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

constantemente adquiriendo las señales del detector a una tasa de 20 muestras/segundo. Esto es porque conviene que la frecuencia de muestreo de la señal no sea inferior a 10 muestras/segundo para no perder información de la señal que se está adquiriendo.

- Almacenamiento de datos: El sistema envía los datos a la computadora a través del puerto USB y una vez terminado el análisis, se puede generar un archivo en formato ASCII¹³ el cual puede abrirse con distintos programas de cromatografía para obtener las alturas de pico de las señales.

La figura 28 muestra el diagrama de tiempos del sistema en flujo para fosfato en la validación dentro del laboratorio. Las Figuras 29 y 30 muestran los diagramas de flujos de los programas (Arduino y MATLAB) utilizados para el control de los sistemas en flujo durante la validación en el laboratorio tanto para fosfato como para nitrito/nitrato. La interfaz gráfica de usuario permite la visualización de las señales en tiempo real, manejo del sistema en flujo y gestión de los datos para la validación de los métodos dentro del laboratorio previo al armado del analizador.

¹³ ASCII (*American Standard Code for Information Interchange*) es un código informático para representar textos, números y para control de dispositivos.

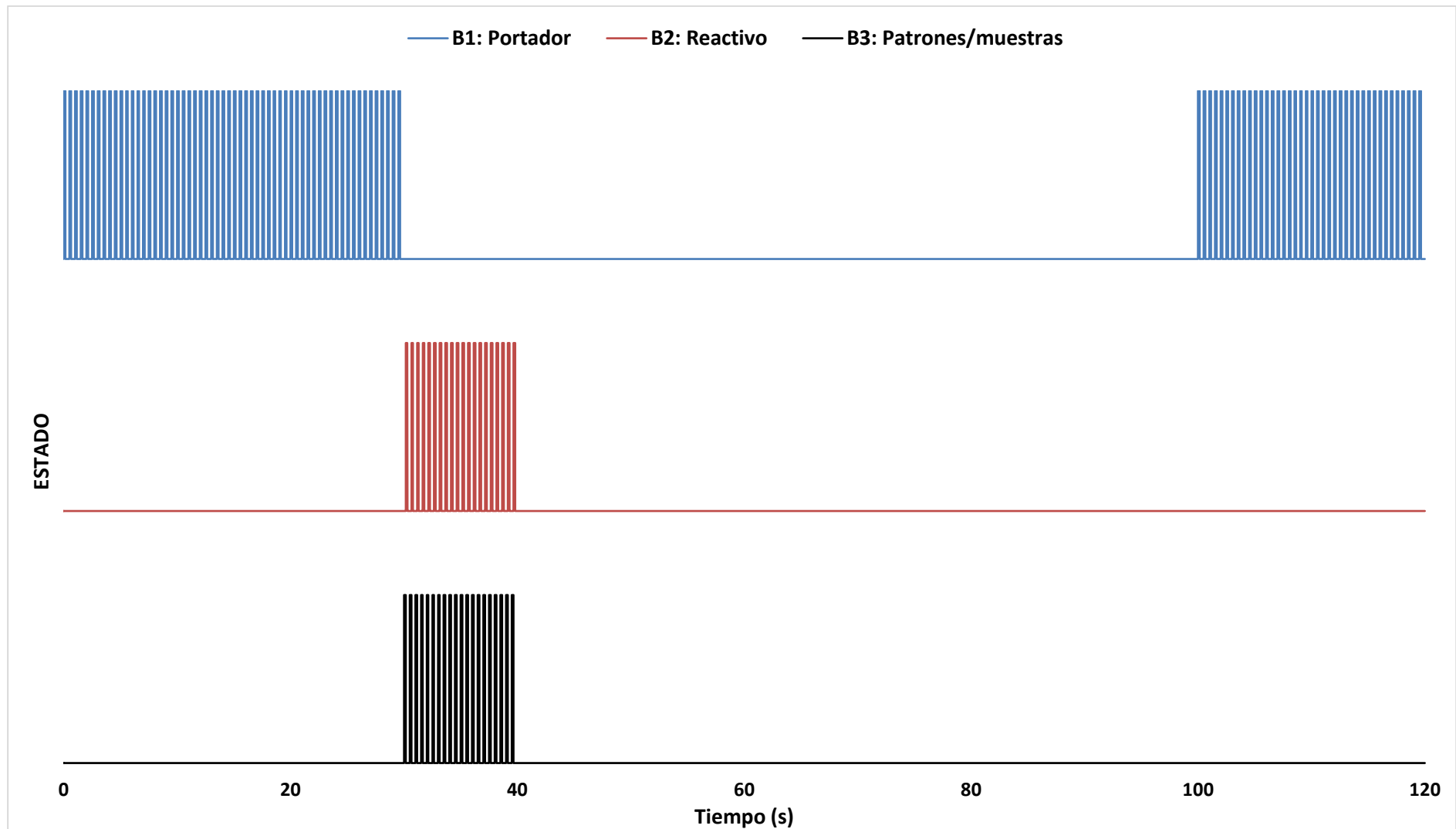


Figura 28: Diagrama de tiempos del sistema en flujo para fosfato (B1 a B3 son bombas solenoide).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

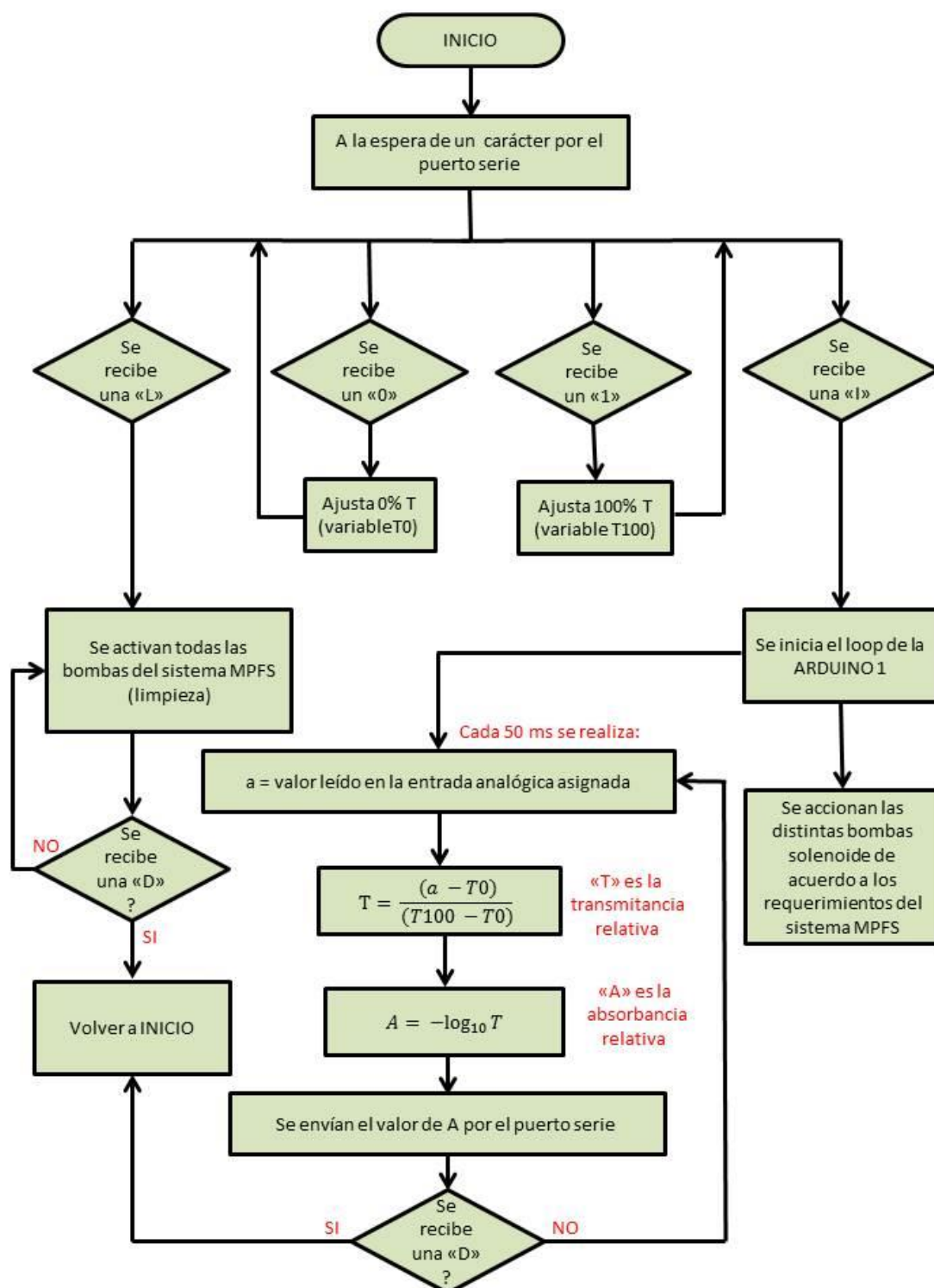


Figura 29: Diagrama de flujos del software diseñado en Arduino para la validación en el laboratorio.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

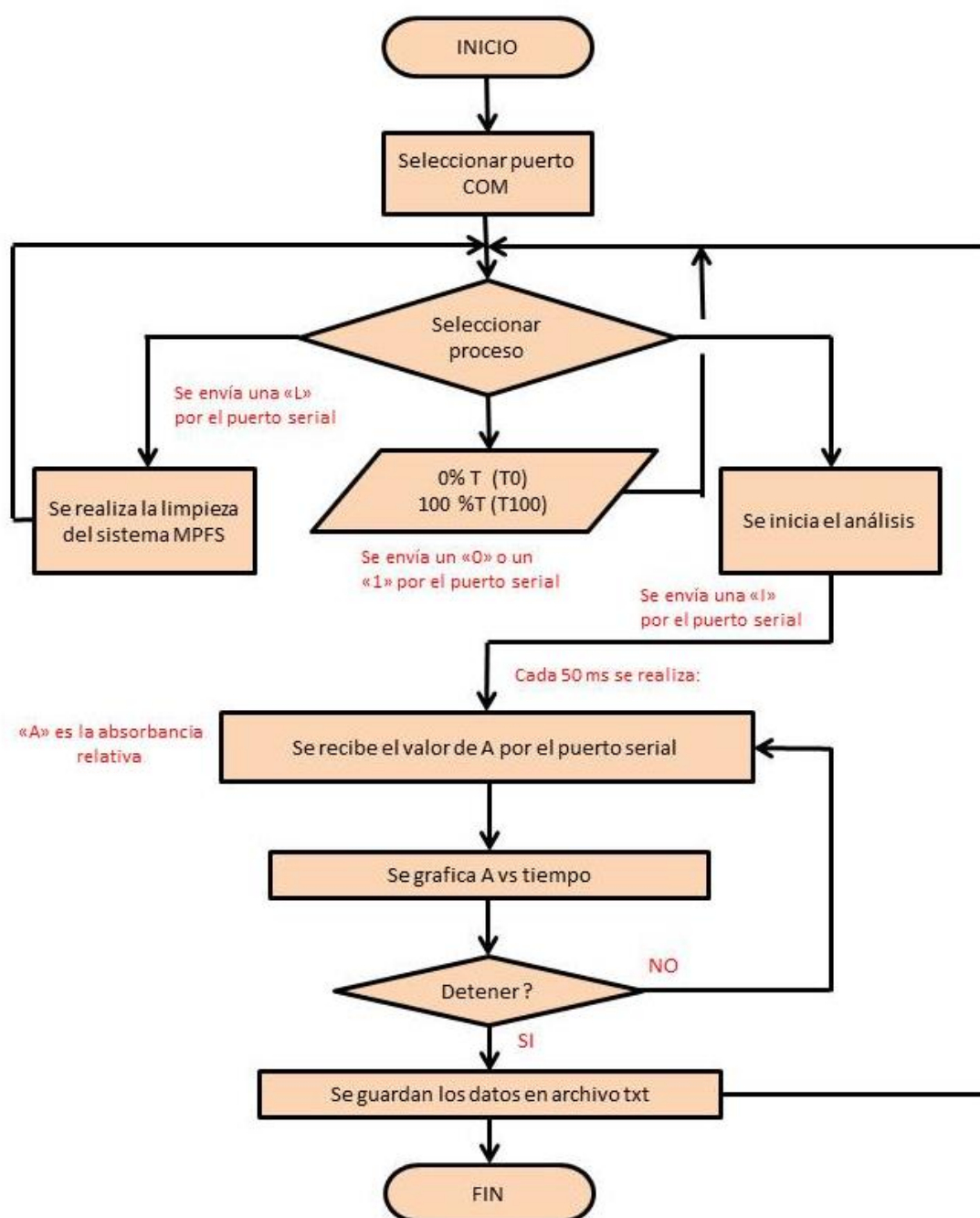


Figura 30: Diagrama de flujos del software diseñado en MATLAB para la interfaz de usuario.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4.3.6. Manifold para nitrito

Para la validación de la determinación de nitrito en el laboratorio, se utilizó el mismo sistema MPFA que para fosfato, con el mismo *driver* para las bombas solenoide y el mismo sistema de detección fotométrico, solo que se cambió el LED por uno cuya longitud de onda nominal es de 525 nm ya que está cerca del máximo de absorción del compuesto obtenido en la reacción de *Griess*.

La operación del sistema es la misma que para fosfato, con las mismas rutinas programadas en la placa Arduino (salvo que en este caso no hay tiempo de flujo detenido ya que la reacción química es más rápida que el tiempo de residencia del analito en el sistema en flujo) y la misma ecuación de cálculo para la absorbancia relativa.

Para la validación de la determinación de nitrito, se realizó una variante en cuanto al envío de datos desde Arduino hacia el computador. En esta instancia no se utilizó cable USB sino que se aprovechó para enviar los datos en forma inalámbrica utilizando módulos de radiofrecuencia y de esta manera profundizar los conocimientos en este campo. La Figura 31 muestra un esquema del sistema en flujo para nitrito utilizado para la validación del método en el laboratorio previo al armado del analizador.

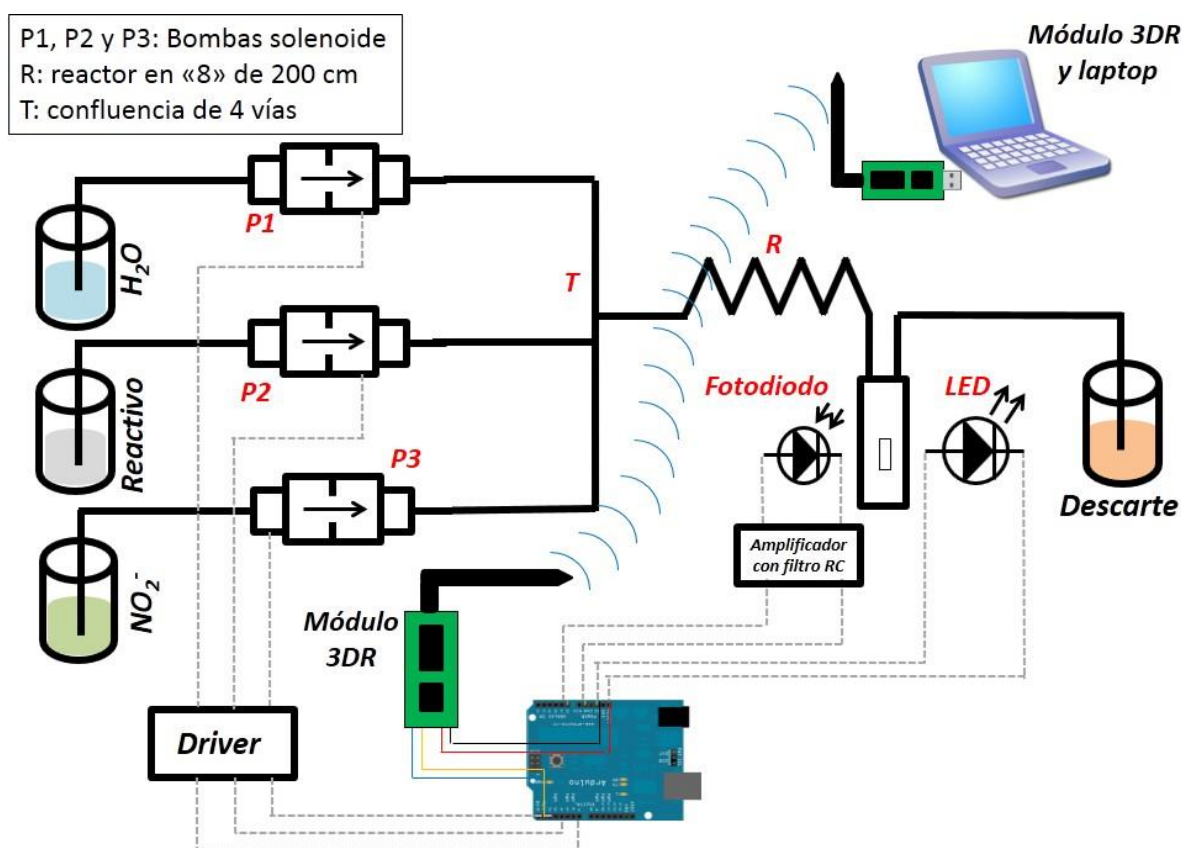


Figura 31: Sistema MPFA para nitrito.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

El sistema MPFA diseñado para la determinación de nitrito en el laboratorio posee los siguientes componentes:

- 3 bombas solenoide *Cole Parmer* P/N 73120-10
- Confluencia de 4 vías
- Reactor de mezclado en forma de “8” de 100 cm de longitud (tubo de PFA de 0.8 mm de diámetro interno)
- Tubos de PFA de 0.8 mm de diámetro interno
- Celda de flujo de vidrio óptico de 200 μ L de volumen interno y 1 cm de camino óptico
- Placa de microcontrolador Arduino UNO
- Sistema de detección fotométrico basado en LED y fotodiodo
- Interfaz de potencia para las bombas solenoide

Como se mencionara anteriormente, las rutinas programadas en la placa Arduino son similares que para fosfato con la única variante de que en la determinación de nitrito no hay tiempo de flujo detenido ya que la reacción de formación del compuesto azoico coloreado es rápida. La Figura 32 muestra el diagrama de tiempos del sistema en flujo para nitrito.

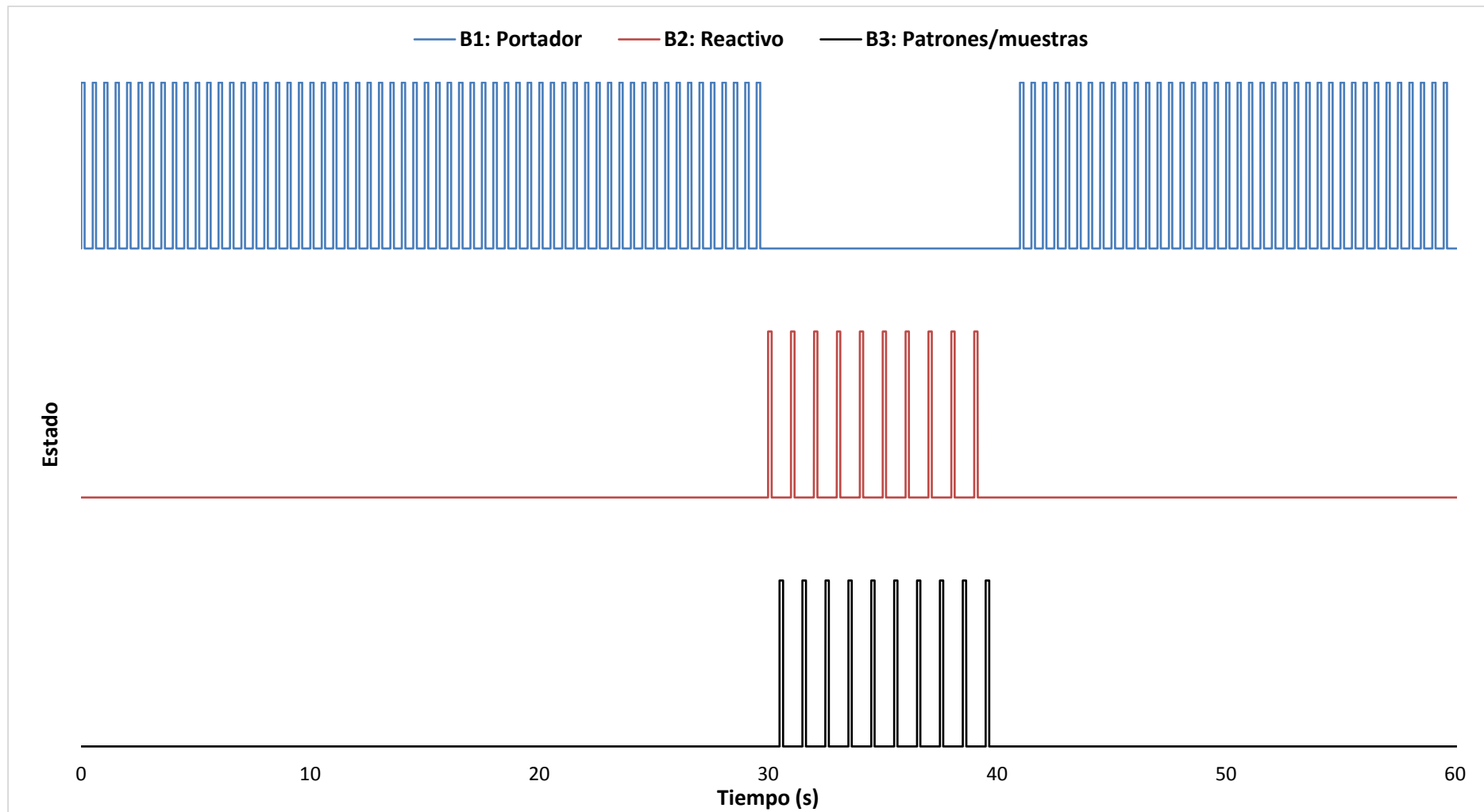


Figura 32: Diagrama de tiempos del sistema en flujo para nitrito (B1 a B3 son bombas solenoide).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4.3.7. *Manifold* para nitrato

La determinación de nitrato, como se mencionara en párrafos anteriores, utiliza la misma detección que para nitrito ya que el anión nitrato se reduce a nitrito y se determina mediante la reacción de *Griess*. Esta reducción de nitrato en nitrito se realiza mediante una columna de cadmio cuperizado. El armado y la activación de la columna de cadmio se discute en el ítem 5.1.3.

El sistema MPFA diseñado para la determinación de nitrato en el laboratorio cuenta con los siguientes componentes:

- 3 bombas solenoide *Cole Parmer* P/N 73120-10
- Confluencia de 4 vías
- Reactor de mezclado en forma de “8” de 200 cm de longitud (tubo de PFA de 0.8 mm de diámetro interno)
- Columna de cadmio cuperizado para reducir nitrato a nitrito
- Tubos de PFA de 0.8 mm de diámetro interno
- Celda de flujo de vidrio óptico de 200 μ L de volumen interno y 1 cm de camino óptico
- Placa de microcontrolador Arduino UNO
- Sistema de detección fotométrico basado en LED y fotodiodo
- Interfaz de potencia para las bombas solenoide

La Figura 33 muestra un esquema del sistema en flujo para nitrato utilizado en la validación en el laboratorio, previa al armado del analizador.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

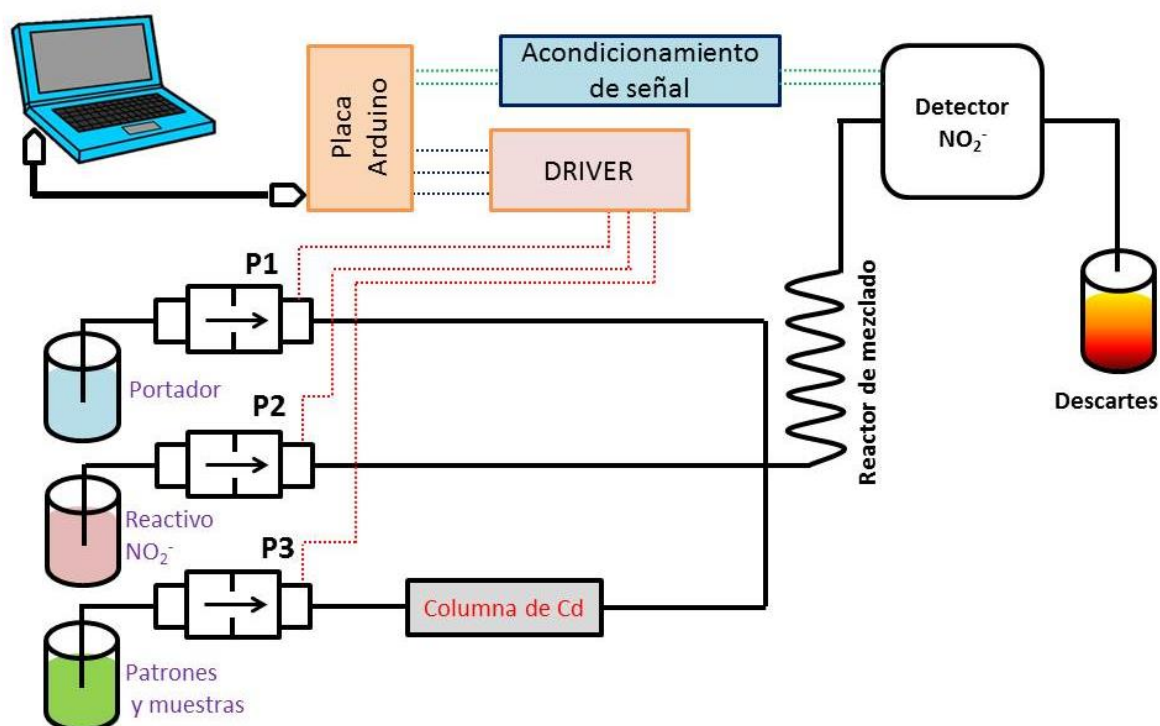


Figura 33: Sistema MPFA para nitrato.

De nuevo, la operación del sistema utiliza las mismas rutinas y la misma ecuación de cálculo de la absorbancia relativa que el sistema para fosfato, solo que al igual que nitrito, no hay tiempo de flujo detenido. La Figura 34 muestra el diagrama de tiempos del sistema en flujo para nitrato.

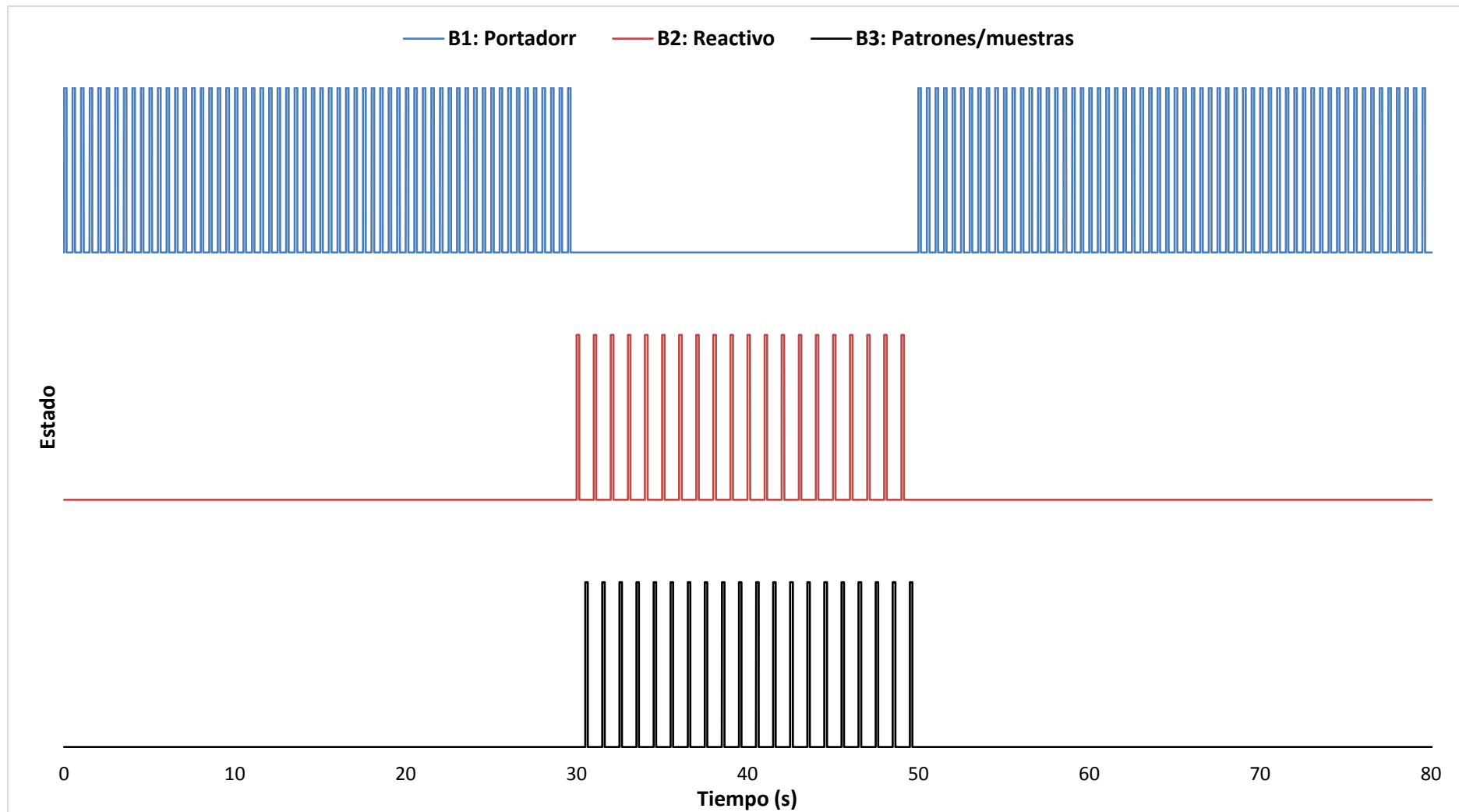


Figura 34: Diagrama de tiempos del sistema en flujo para nitrato (B1 a B3 son bombas solenoide).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4.3.8. Comunicaciones

Uno de los requerimientos del analizador es que pueda entregar los resultados obtenidos en las determinaciones en forma inalámbrica. En las pruebas realizadas en el laboratorio, se probaron distintos tipos de comunicación:

- Bluetooth
- Radiofrecuencia a 915 MHz
- GSM/GPRS

Como se trata de un analizador que trabajará a la intemperie, en ubicaciones lejanas al usuario, se implementó comunicación inalámbrica. Si bien de antemano se sabía que algunas de las formas de comunicación estudiadas no iban a ser implementadas en la versión final del analizador, de todas formas fueron estudiadas con el fin de ir aprendiendo paso a paso acerca de la comunicación inalámbrica de datos. Todas las formas de comunicación estudiadas resultaron exitosas siendo una de las limitantes el alcance que se logra con cada una de ellas.

4.3.8.1. Bluetooth

La tecnología *Bluetooth* es un estándar de comunicación global inalámbrica conocido como estándar IEEE 802.15.1 (IEEE s.f.), posibilita la transmisión de datos entre diferentes equipos mediante un enlace por radiofrecuencia, en la banda de los 2,4 GHz. La comunicación vía *Bluetooth* entre el usuario y el sistema de análisis se mostró eficiente pero en rangos cortos de no más de 10-20 metros de distancia. Permitió una comunicación bidireccional en la cual el usuario podía enviar órdenes al sistema y recibir los datos de la señal en tiempo real. En el mercado existen módulos Bluetooth *open-source* de costo reducido y de fácil implementación. En este caso fue adquirido un módulo *Bluetooth* HC-06 (Guangzhou HC Information Technology Co., Ltd. 2006), el mismo se ve en la Figura 35.



Figura 35: Módulo Bluetooth HC-06.

Una posibilidad extra de este tipo de comunicación es que la misma puede llevarse a cabo desde un teléfono móvil. Esto también fue probado controlando el sistema MPFA desde un teléfono móvil y adquiriendo los datos de las señales en tiempo real utilizando la aplicación de código abierto *BlueTerm* (Google Inc.) la cual permite emular un monitor serial¹⁴ para comunicación *Bluetooth*. Esta aplicación permite guardar los datos

¹⁴ Un monitor serial es un programa que permite ver lo que se envía y se recibe a través de un puerto serie cuando la PC u otro ordenador se comunica con algún dispositivo.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

adquiridos en archivos de texto plano los cuales se pueden exportar a una planilla electrónica.

El uso de módulos de transmisión *Bluetooth* para el control de analizadores de campo ha sido reportado en la bibliografía. Por ejemplo en el trabajo de Camarillo-Escobedo y colaboradores (Camarillo-Escobedo, Valdés-Perezgasga y Rodríguez-Rivera 2013) se describe el diseño de un micro-analizador con detección óptica y comunicación *Bluetooth*.

4.3.8.2. Radiofrecuencia a 915 MHz

La comunicación vía radiofrecuencia a 915 MHz entre la computadora y el sistema de análisis también se probó. Se emplearon módulos de radiofrecuencia 3DRobotics (3D Robotics Inc. 2013) de bajo costo los cuales permitieron control total del sistema (comunicación bidireccional) a distancias mayores (Figura 36). La información técnica de los módulos de radiofrecuencia adquiridos indica que en espacio abierto se puede lograr comunicación a distancias de hasta 1000 m.

Estos módulos son utilizados en el control por ejemplo de drones a grandes distancias. Poseen un algoritmo de reducción de errores en la transmisión de datos que puede reducir hasta en un 25 % los errores que pudiesen generarse y son fáciles de utilizar con cualquier placa de microcontrolador.

Existen trabajos en los cuales se reporta el uso de las comunicaciones mediante radiofrecuencia para sistemas analíticos, como ser el trabajo de Fray y colaboradores (Fray, y otros 2011) en el cual se presenta el desarrollo de un analizador basado en electrodos para medir pH, actividad de otros iones, etc. en el monitoreo ambiental.



Figura 36: Módulos de radiofrecuencia 3DR.

4.3.8.3. GSM/GPRS

GSM (*Global System for Mobile Communications*) es el sistema estándar de telefonía móvil más extendido en el mundo. Opera en las bandas de frecuencias de 850 MHz, 900 MHz, 1800 MHz y 1900MHz. El estándar permite el envío de mensajes cortos de

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

texto (SMS: *Short Message Service*) entre otras prestaciones (Redl, Weber y Oliphant 1995).

Se probó la comunicación por medio de mensajes de texto entre el sistema de análisis y el usuario. Para ello se empleó un módulo GSM (Figura 37) basado en el chip SIM800L (Shangai SIMCom Wireless Solutions Ltd. 2015), con el cual se pudo implementar la comunicación bidireccional. Esto implica que el sistema analítico automáticamente realiza el análisis de una muestra de agua (con calibración incluida) al recibir un SMS que da la orden de inicio. El sistema realiza la calibración con el blanco y un patrón del analito, calcula la concentración en la muestra y envía mediante un mensaje de texto sencillo el valor de dicha concentración al teléfono móvil del usuario (Figura 38). Esta rutina es diferente a la mostrada en los diagramas de flujo (Figuras 29 y 30) ya que, una vez recibida la orden, todo se va ejecutando secuencialmente. Esta rutina fue probada luego de la validación analítica en el laboratorio para la etapa de pre-armado del analizador.



Figura 37: Módulo GSM/GPRS.

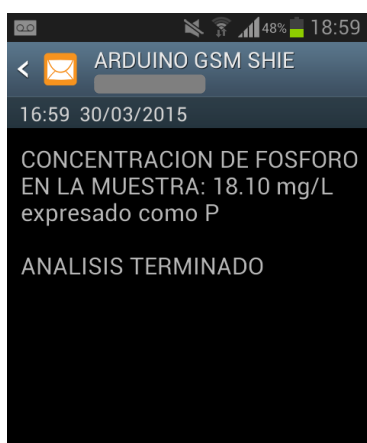


Figura 38: Ejemplo de SMS enviado al usuario.

Si bien esta forma de comunicación sólo permite visualizar el resultado final (y no el total de datos adquiridos en tiempo real), una gran ventaja es que no ofrece limitante en cuanto a la distancia entre el analizador y el usuario para poder enviar información ya que la red GSM en nuestro país tiene amplia cobertura. En la Tabla 4 se muestra una comparativa sobre las comunicaciones inalámbricas estudiadas en cuanto a sus ventajas y desventajas:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 4: Comparación entre distintas comunicaciones probadas.

Tecnología	Banda de comunicación	Alcance máximo	Costo del hardware	Costo de la comunicación
Bluetooth	Banda libre	10 - 20 m	USD 10	Ninguno
Radiofrecuencia 915 MHz	Banda libre	Hasta 1000 m	USD 20	Ninguno
GSM/GPRS	Banda privada	Cobertura Total (dentro del alcance de las radiobases)	USD 50	Costo por uso del servicio

En base a lo anterior se seleccionó como forma de comunicación de los resultados del analizador con el usuario la tecnología GSM.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Validación en el laboratorio

Como primera instancia del trabajo experimental, los diferentes métodos fueron validados con sistemas MPFA en el laboratorio; posteriormente se construyó el analizador multiparamétrico y luego se realizaron pruebas de su desempeño. Respecto a los nutrientes a determinar, el fósforo se determinó como ortofosfato mientras que el nitrógeno se determinó como nitrito y nitrato.

5.1.1. Fosfato

Como se mencionara en párrafos anteriores, para la determinación de fosfato en agua se seleccionó el método del heteropoliácido sin reducir (ácido vanadomolibdofosfórico de color amarillo). Se validó dicha metodología empleando el sistema MPFA mencionado anteriormente.

Reactivos: Todos los reactivos utilizados son calidad P.A.

- Fosfato diácido de potasio (*Merck*)
- Molibdato de amonio tetrahidratado (*Grupo Benzo*)
- Metavanadato de amonio (*Sigma*)
- Ácido clorhídrico (*Merck*)
- Agua desionizada (ASTM tipo 1, obtenida de purificador *Millipore Simplicity 185*)

Se preparó una disolución stock de fósforo de aproximadamente $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$.

El reactivo de desarrollo de color se preparó disolviendo 2.14 g de molibdato de amonio tetrahidratado con 0.107 g de metavanadato de amonio en 100 mL de agua, se agregó 29 mL de ácido clorhídrico concentrado y se llevó a 300 mL con agua (Cleary, Slater y Diamond 2010).

El sistema en flujo fue optimizado en 2 de sus parámetros (volumen de patrones/muestras a inyectar y tiempo de flujo detenido para desarrollo del color) y se evaluaron ciertas características de desempeño del mismo (linealidad, precisión, veracidad, límites de detección y cuantificación, estabilidad de la señal y estabilidad de la línea base).

Para evaluar la veracidad del método, se consiguieron 4 muestras de cursos de agua de Montevideo, las cuales fueron conservadas en heladera a 4°C hasta su análisis.

5.1.2. Nitrito

Para la determinación de nitrito en aguas se seleccionó el método de *Griess* (formación del compuesto púrpura-rojizo).

Reactivos: Todos los reactivos utilizados son calidad P.A.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Nitrito de sodio (*M&B*)
- Sulfanilamida (*Merck*)
- N-(1-Naftil)-etilendiamina diclorhidrato (*Spectrum*)
- Ácido clorhídrico (*Merck*)
- Agua desionizada (ASTM tipo 1, obtenida de purificador *Millipore Simplicity* 185)

Se preparó una disolución stock de nitrito de aproximadamente 1000 mg L^{-1} .

El reactivo de desarrollo de color se preparó disolviendo 2.0 g de sulfanilamida y 0.05 g de N-(1-naftil) etilendiamina en 100 mL de ácido clorhídrico 1M.

5.1.3. Nitrato

Reactivos: Todos los reactivos utilizados son calidad P.A.

- Nitrato de potasio (*M&B*)
- Sulfanilamida (*Merck*)
- N-(1-Naftil)-etilendiamina diclorhidrato (*Spectrum*)
- Cadmio en gránulos, granulometría 0.3 – 1.6 mm (*Merck*)
- Sulfato de cobre (*Carlo Erba*)
- Cloruro de amonio (*Merck*)
- Ácido clorhídrico (*Merck*)
- Agua desionizada (ASTM tipo 1, obtenida de purificador *Millipore Simplicity* 185)

Se preparó una disolución stock de nitrato de aproximadamente $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$.

Como se comentó en 4.5.2.; la determinación de nitrato se basó en su reducción a nitrito empleando un reactivo en fase sólida; particularmente una columna de cadmio cuperizado. Para la preparación y activación de la columna de cadmio se necesitó preparar las siguientes disoluciones:

- Ácido clorhídrico 2 mol L^{-1}
- Disolución concentrada de cloruro de amonio: disolver 125 g de NH_4Cl en 500 mL de agua desionizada.
- Disolución diluida de cloruro de amonio: Tomar 25 mL de la disolución anterior y llevar a 1000 mL con agua desionizada.
- Disolución de sulfato de cobre pentahidratado al 2%: Disolver 10 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 500 mL de agua desionizada.

Como soporte de la columna se utilizó un tubo de vidrio. Las dimensiones de la columna son 7.0 cm de largo y 5.9 mm de diámetro interno (Figura 39). La preparación de la columna consistió en poner el cadmio dentro del soporte; para confinar el cadmio dentro de la columna se utilizaron trozos circulares de polipropileno poroso extraídos del interior de cartuchos de extracción en fase sólida debidamente cortados mediante sacabocados. Luego el cadmio fue lavado con ácido clorhídrico 2 mol L^{-1} . Después se

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

hizo recircular a través de la columna con una bomba peristáltica CuSO_4 al 2% hasta desaparición del color azul de la disolución. Posteriormente se procedió al enjuague con agua desionizada y posterior lavado con la disolución diluida de cloruro de amonio. Se dejó reposar durante 24 horas y por último la columna se activó con una disolución de nitrato de $20 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$.

El procedimiento descrito anteriormente es el que se utiliza para regenerar la columna cada vez que sea necesario.



Figura 39: Foto de la columna de cadmio cuperizado.

La eficiencia de la columna de cadmio se evaluó mediante la utilización de disoluciones de nitrito y nitrato de idéntica concentración molar. La eficiencia obtenida fue del 53 %. Esta eficiencia es relativamente baja, pero igualmente resultó aceptable para los fines buscados. Por su parte, la disminución en la eficiencia de la columna se evaluó con inyecciones repetidas de una disolución de 0.8 mg/L NO_3^- ; después de 100 inyecciones la eficiencia decayó al 43 % lo cual también es aceptable.

Con la columna de cadmio construida, al sistema en flujo se le evaluaron ciertas características de desempeño (linealidad, precisión, veracidad, límites de detección y cuantificación, estabilidad de la señal y estabilidad de la línea base).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Validación en el laboratorio

Respecto a la validación en el laboratorio, se contempló la estimación y evaluación de ciertas cifras de mérito para las determinaciones de fosfato, nitrito y nitrato con los sistemas en flujo en el laboratorio. Luego de validados los métodos se procedió a la construcción del analizador de fósforo y nitrógeno y por último una evaluación de su desempeño.

En la validación en el laboratorio; para los 3 analitos todos los valores de absorbancia se obtuvieron mediante el programa *PeakSimple* (de la empresa *SRI Instruments*) al levantar los archivos *ASCII* generados en las pruebas de laboratorio y aplicándoles un filtro de *Savitzky-Golay* (de orden 2, ventana 10 y 50 iteraciones).

6.1.1. Fosfato

6.1.1.1. Interferencias

Las interferencias reportadas para la determinación de fosfato mediante el método del ácido vanadomolibdofosfórico son:

Tabla 5: Interferencias reportadas en el método del ácido vanadomolibdofosfórico (Clesceri, Greenberg y Eaton 2017)

Interferentes	Concentración en que interfieren	Interferencia	Observaciones
Silicato y arseniato	-----	Positiva	Si la muestra es calentada
Arseniato, fluoruro, torio, bismuto, sulfuro, tiosulfato, tiocianato o exceso de molibdato	-----	Negativa	
Fe ²⁺	>100 mg/L	-----	Debido al color azul
Al ³⁺ , Fe ³⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Ba ²⁺ , Sr ²⁺ , Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , NH ₄ ⁺ , Cd ²⁺ , Mn ²⁺ , Pb ²⁺ , Hg ⁺ , Hg ²⁺ , Sn ²⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Ag ⁺ , U ⁴⁺ , Zr ⁴⁺ , AsO ₃ ⁻ , Br ⁻ , CO ₃ ²⁻ , ClO ₄ ⁻ , CN ⁻ , IO ₃ ⁻ , SiO ₄ ⁴⁻ , NO ₃ ⁻ , NO ₂ ⁻ , SO ₄ ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , pirofosfato, molibdato, tetraborato, seleniato, benzoato, citrato, oxalato, lactato, tartrato, formiato y silicato	>1000 mg/L	-----	
Cl ⁻	>75 mg/L	-----	Si se usa HNO ₃

Una vez identificadas las fuentes de interferencia, no se profundizó su estudio en los resultados debido a que es muy poco probable encontrar los posibles interferentes del método en los cuerpos de agua a los niveles de concentración en que ejercen su efecto.

6.1.1.2. Optimización de ciertos parámetros instrumentales

Los parámetros a optimizar fueron:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Tiempo de desarrollo del color del compuesto coloreado
- Tiempo de bombeo de la línea de patrones/muestras

La justificación de la optimización de estos parámetros radica en obtener la mejor sensibilidad posible y la mejor señal analítica posible (forma del pico); si bien también se mejora la frecuencia de muestreo, tratándose de un instrumento de campo que operará solamente 3 o 4 veces en la jornada esto último no resulta relevante. Optimizados esos parámetros operativos su valor quedará fijo a la hora de tener el sistema armado y operando, ya que la programación de la operación del sistema debe tener establecida de antemano cuanto tiempo se detendrá el flujo para el desarrollo del color y el tiempo de bombeo de patrones o muestras (que se correlaciona con la cantidad de analito inyectada). Se buscó optimizar estos para tener una señal analítica lo más alta posible pero sin comprometer la forma de los picos obtenidos, que la misma no sea inadecuada para utilizar en análisis en flujo. La estrategia de optimización fue univariante (se deja uno de los dos parámetros fijos y se variaba el otro).

El color amarillo del ácido vanadomolibdofosfórico no se desarrolla completamente en forma instantánea. En el método de referencia para análisis de fosfato en *batch* utilizando este complejo (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-P C 2017) se establece un tiempo de espera de desarrollo del color de 15 minutos como mínimo antes de realizar cualquier medida de absorbancia.

En el caso de los análisis en flujo, no es necesario esperar todo ese tiempo ya que, gracias a la repetibilidad en el tiempo de residencia de los fluidos en los sistemas en flujo, una reacción química puede no llegar a completarse (como puede ser el completo desarrollo del color de un compuesto) e igual obtenerse cifras de mérito adecuadas y buenos resultados, ya que el grado de avance de la reacción es repetible tanto en patrones como en muestras.

El desarrollo del color del compuesto en el sistema implica que, en la programación de la placa Arduino UNO esté previsto un cierto tiempo de flujo detenido (*stopped flow*); para la optimización se probaron los tiempos 0, 1, 2, 3 y 4 minutos (se realizaron 2 repeticiones instrumentales a cada tiempo). Las pruebas se realizaron inyectando un estándar de fósforo de 50 mg L⁻¹ P. Observando las señales adquiridas, se eligió como tiempo de desarrollo de color (a flujo detenido) 1 minuto, ya que con tiempos mayores no hay una gran ganancia en la señal analítica y si bien visualmente no se compromete la forma de los picos, no se justifica tomar tiempos mayores teniendo en cuenta el gasto de energía que eso presenta en un analizador que funciona con baterías (Figura 40).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

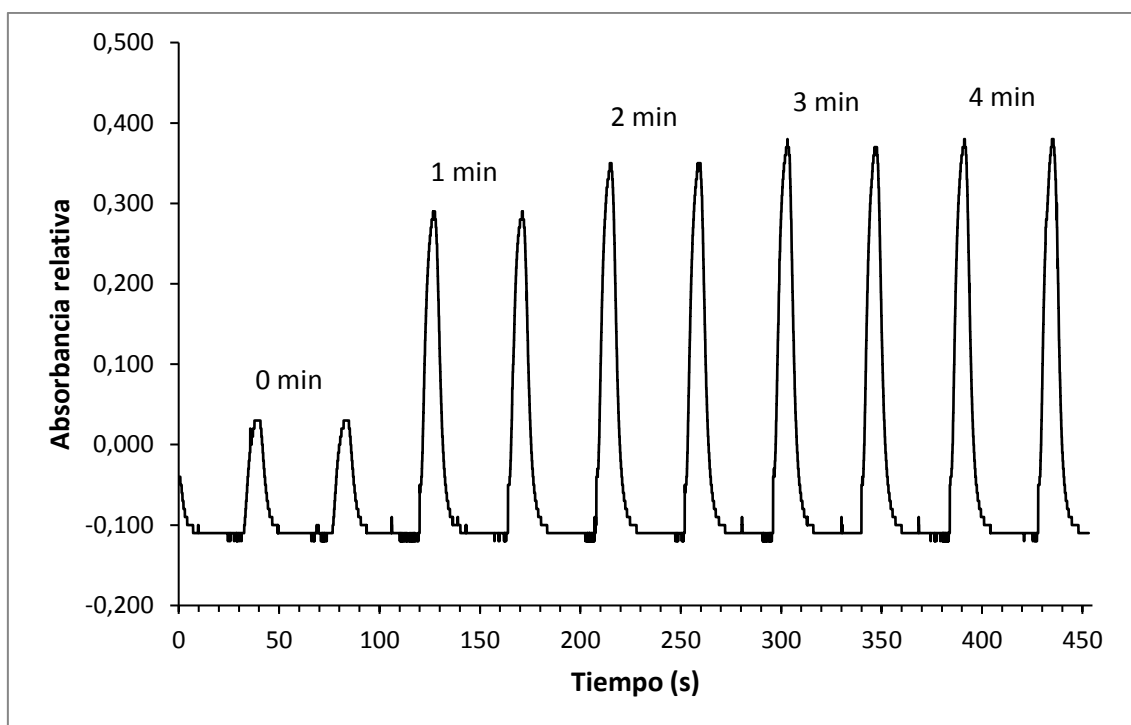


Figura 40: Optimización del tiempo de flujo detenido en la determinación de fósforo.

El otro parámetro a optimizar es el volumen de muestra o patrón inyectado, que se corresponde con el tiempo de bombeo o también el número de pulsos de la bomba encargada de esa línea del *manifold*; esta fue optimizada siguiendo los mismos lineamientos del ítem anterior, esto es, la mayor señal analítica posible sin comprometer la forma de los picos. Este parámetro se optimizó entre los valores 5, 10, 15 y 20 segundos de bombeo del estándar de fósforo (se utilizó un estándar de fósforo de $21.6 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$) con 1 minuto de tiempo de flujo detenido. Observando las señales adquiridas, se optimiza el tiempo de bombeo de la línea de patrones o muestras en 10 segundos, ya que tiempos mayores no logran una gran ganancia en la señal analítica e incluso ya en los 20 segundos se compromete la forma de pico para su utilización en el análisis en flujo (Figura 41 y Tabla 6).

Tabla 6: Equivalencia del tiempo de bombeo con la masa de analito inyectada.

Tiempo de bombeo	Número de pulsos de la bomba	Masa de P (μg)
5 segundos	10	4.36
10 segundos	20	8.72
15 segundos	30	13.08
20 segundos	40	17.44

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

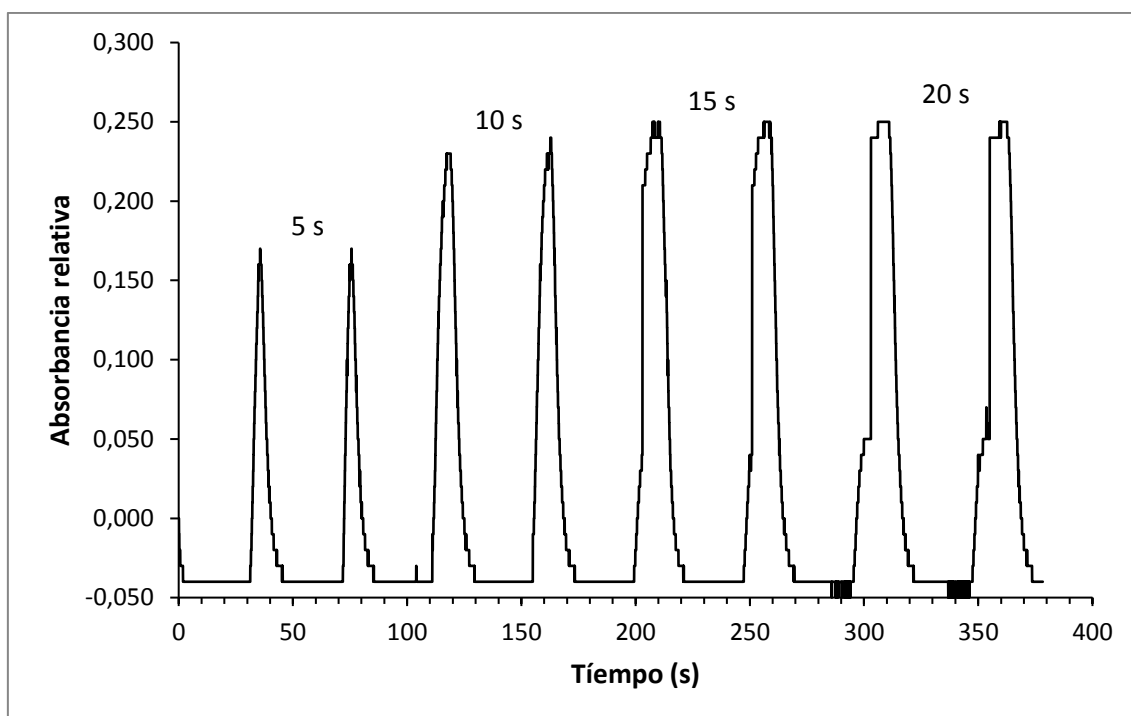


Figura 41: Optimización de la cantidad de patrones/muestras inyectada.

Se establecen pues estos parámetros instrumentales en:

- Tiempo de flujo detenido: 1 minuto
- Cantidad de pulsaciones de la bomba en la línea de patrones/muestras: 20

Con el sistema operando con estos parámetros ajustados a lo anterior, se procede a la estimación y evaluación de las siguientes cifras de mérito.

6.1.1.3. Calibración

Se estudió la linealidad en el rango 0 a 25 mg L⁻¹ P; también se estudió la posibilidad de que el sistema realice la calibración con un único patrón de fósforo, variando el volumen inyectado del mismo para obtener los distintos puntos de la curva de calibración. Los resultados muestran una calibración aceptable en el rango estudiado y la posibilidad de realizar calibración con un solo patrón (Tabla 7 y Figuras 42 y 43).

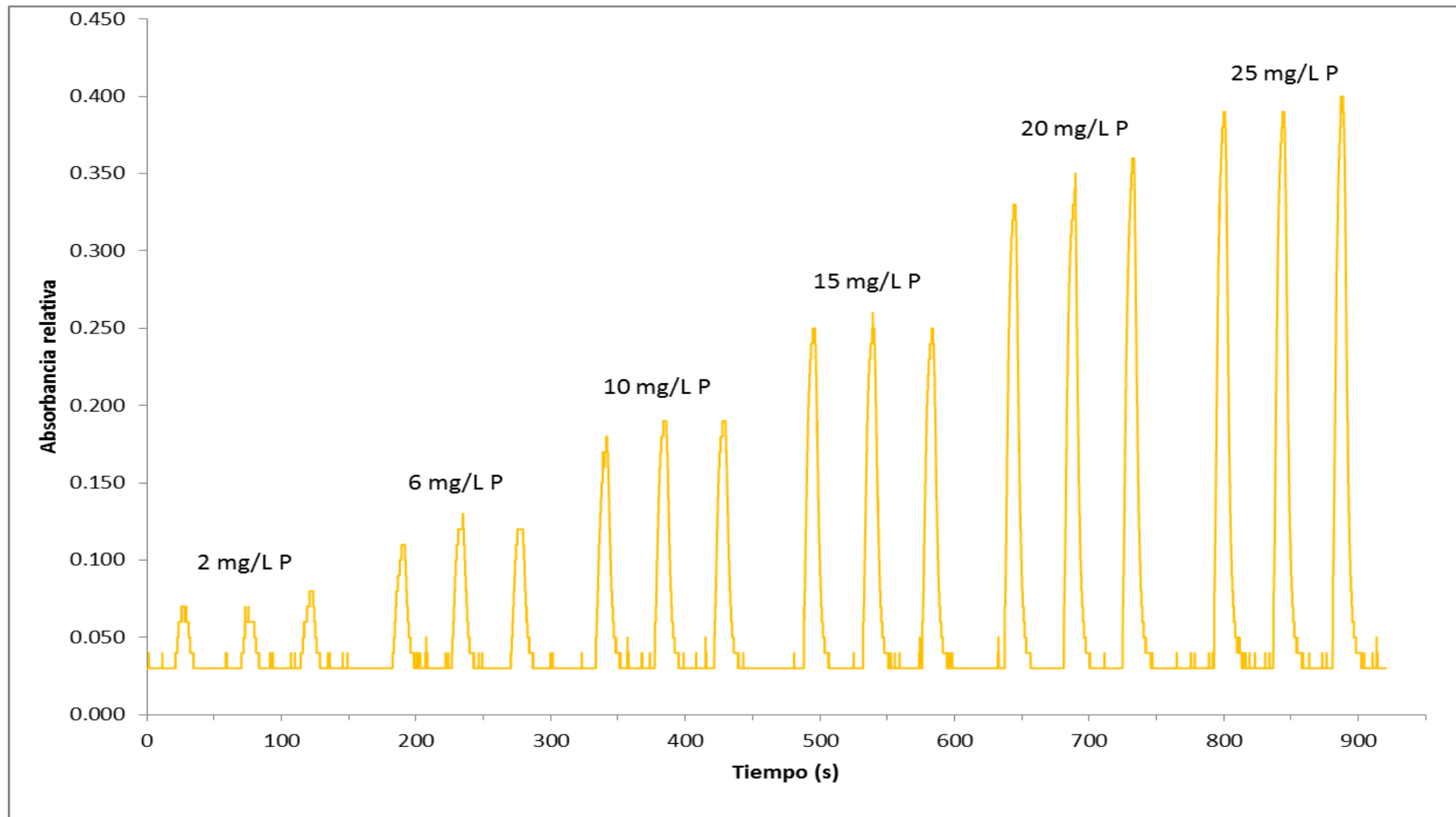


Figura 42: Señales correspondientes a la calibración para fosfato.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 7: Disoluciones preparadas en el estudio de la calibración y señales obtenidas.

Patrón	C (mg L ⁻¹ P)	Absorbancia relativa
1	2.2	0.040
2	6.5	0.103
3	10.8	0.158
4	15.1	0.221
5	21.6	0.309
6	26.0	0.360

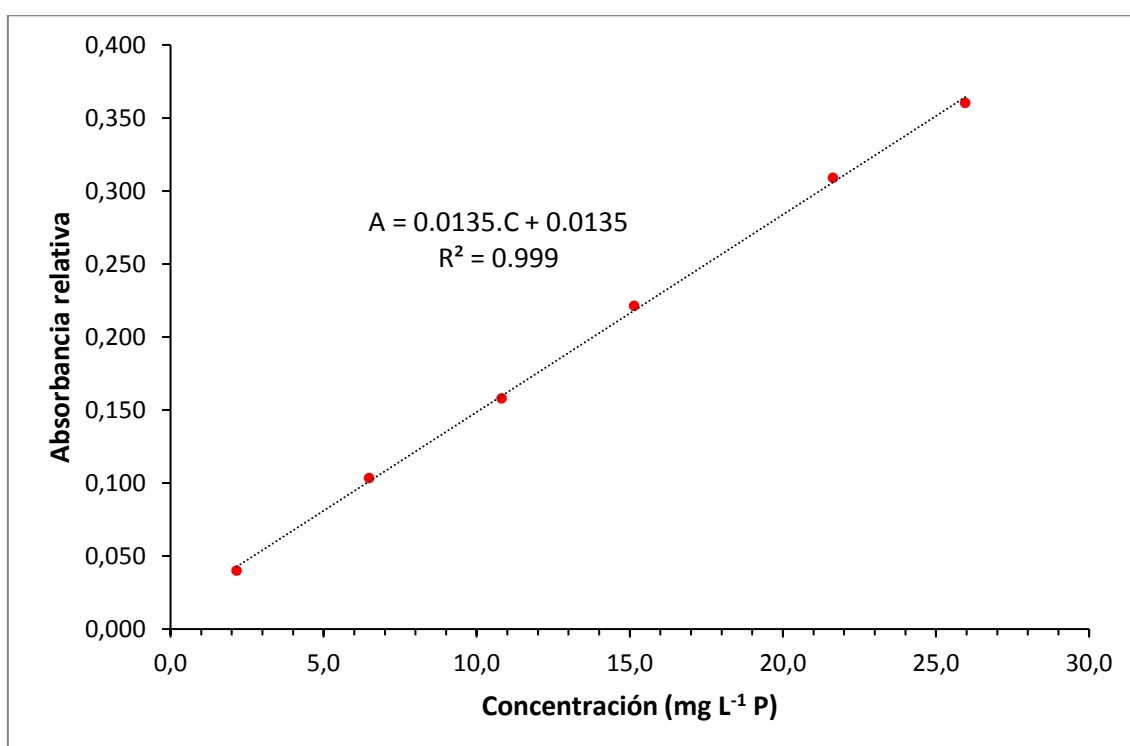


Figura 43: Curva de calibración para fósforo.

Considerando los criterios de inspección visual del gráfico y el valor del coeficiente R^2 , la calibración en el rango estudiado es lineal.

Los sistemas MPFA ofrecen la posibilidad de calibrar con un solo patrón, esto es; generar una curva de calibración de varios puntos con una única disolución patrón cambiando la cantidad bombeada del mismo para cada punto. Se probó la calibración con un único estándar de fósforo; cambiando los tiempos de bombeo del mismo (lo que equivale a cambiar la cantidad de masa de fósforo inyectada).

Se utilizó un estándar de fósforo de 43.7 mg L⁻¹ P. La Figura 44 y la Tabla 8 muestran los resultados.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 8: Valores de la calibración con un único estándar de P.

Nº de pulsos en la línea del patrón	m _{fósforo} (µg)	Absorbancia relativa	Absorbancia Promedio
4	3.5	0.067	0.071
		0.087	
		0.067	
		0.067	
		0.067	
8	7.0	0.137	0.137
		0.137	
		0.137	
		0.137	
		0.137	
12	10.5	0.207	0.203
		0.197	
		0.197	
		0.207	
		0.207	
16	14.0	0.257	0.261
		0.257	
		0.257	
		0.277	
		0.257	
20	17.5	0.307	0.309
		0.297	
		0.297	
		0.326	
		0.316	

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

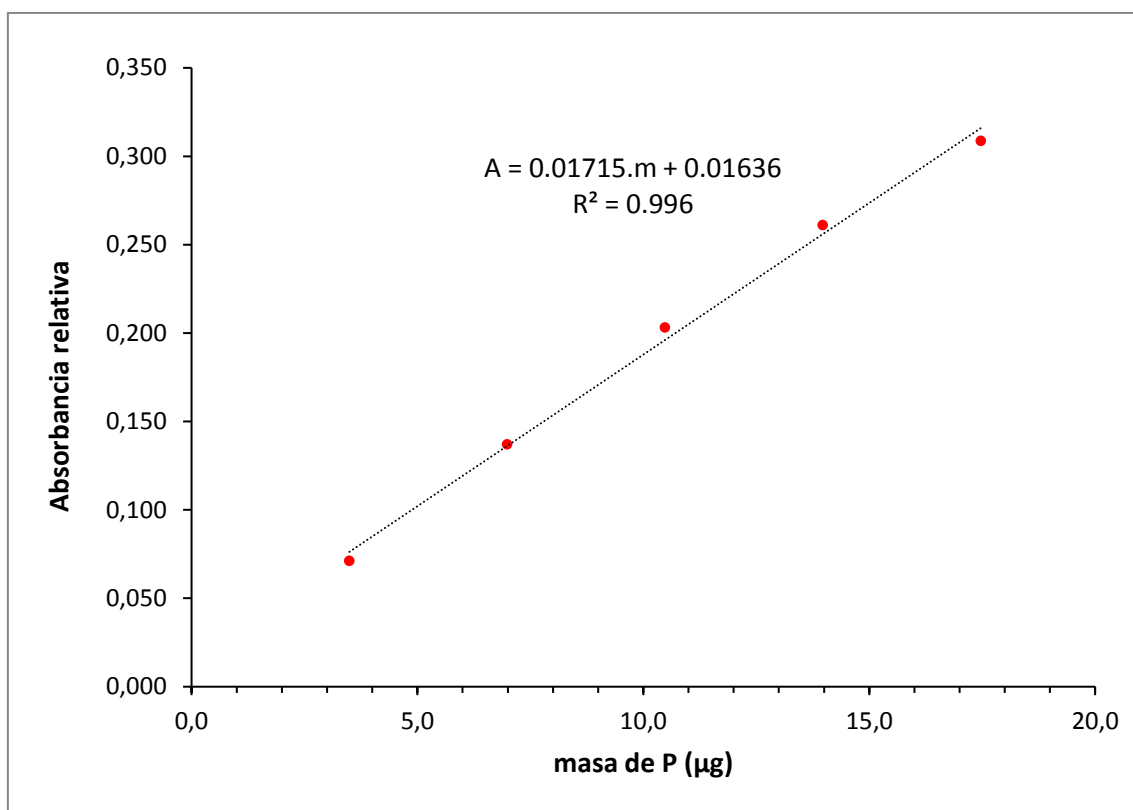


Figura 44: Calibración para fósforo con un único patrón.

Esta variante es la más interesante ya que para lo que sería un instrumento de campo, la calibración con un único estándar posibilita que se necesiten menos frascos y menos actuadores en el *manifold* y un ciclo de calibración más simple que consume menos energía.

6.1.1.4. Veracidad

La veracidad se evaluó determinando fósforo en 4 muestras de cursos de agua de Montevideo, comparando los valores obtenidos de fósforo con el método propuesto y el método de referencia (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-P C 2017) y calculando la recuperación (cociente entre el valor obtenido por el sistema propuesto y el obtenido por el método de referencia). Se obtuvieron 4 muestras de cursos de agua del departamento de Montevideo, las que fueron determinadas por el método de referencia y por el método MPFA propuesto; no habiendo evidencia estadística de que ambos métodos arrojen resultados significativamente distintos (Tabla 9).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 9: Resultados del estudio de veracidad.

Muestra	C (mg L ⁻¹ P) mediante MPFA	C (mg L ⁻¹ P) mediante método de referencia	Recuperación (%)
1	5.9	6.2	93.6
2	6.4	6.8	94.5
3	3.7	4.1	90.8
4	8.4	8.5	98.2

Se realiza el test de hipótesis:

- H₀: recuperación = 100 %
- H_A: recuperación ≠ 100 %
- Promedio de las recuperaciones = 94.27 %
- Desviación estándar de las recuperaciones. = 3.03 %
- Estadístico: t = 3.78 (en valor absoluto)
- Valor de tablas: t = 4.1765 (para α=0.025, 3 grados de libertad)

Por lo tanto, no hay evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula. La veracidad del método implementado se considera aceptable.

6.1.1.5. Precisión

La precisión se evaluó a 2 niveles de concentración de fósforo (repetibilidad), realizando 10 réplicas instrumentales de cada disolución preparada. La desviación estándar relativa en todos los casos fue mejor al 5 % por lo tanto la repetibilidad del sistema se considera aceptable.

Tabla 10: Resultados del estudio de precisión (repetibilidad, n=10 para cada nivel).

Concentración	S _r (%)
10 mg L ⁻¹ P	2.4
25 mg L ⁻¹ P	3.5

6.1.1.6. Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ)

Se realizaron 10 réplicas del patrón de 1 mg L⁻¹ P ya que, cuando se inyectó el blanco (agua) este no generó señal analítica; para cada una de ellas se realizaron 4 repeticiones instrumentales. La desviación estándar de los promedios de las repeticiones instrumentales se utilizó para estimar los límites de detección y cuantificación utilizando los criterios 3s/m y 10s/m respectivamente (siendo m la pendiente de la curva de calibración). Los límites de detección y cuantificación son comparables a los reportados por el método de referencia (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-P C 2017).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 11: Resultados de la estimación de LOD y LOQ.

Parámetro	Valor
Pendiente (m)	0,02131
Desviación estándar (s)	0,00202
Señal LOD (3.s)	0,00607
Señal LOQ (10.s)	0,02025
Límite de Detección	0.29 mg L⁻¹ P
Límite de Cuantificación	0.95 mg L⁻¹ P

6.1.1.7. Estabilidad de la señal y de la línea de base

Se evaluó la estabilidad de la señal y de la línea de base realizando inyecciones repetidas de un patrón de fósforo de 20 mg L⁻¹ P. El tiempo entre cada pico es de unos 120 segundos (tomando en cuenta el tiempo de flujo detenido de 1 minuto). El tiempo total de trabajo del sistema fue de aproximadamente 1.7 horas; esto no se refleja en el eje horizontal (tiempo) debido a que durante el flujo detenido no se está adquiriendo señal alguna para graficar. La línea base se muestra sumamente estable (horizontal), mientras que hay algunas pequeñas variaciones en cuanto a la altura de los picos (Figura 45), pero las mismas no muestran una tendencia ni tampoco una periodicidad y la repetibilidad instrumental no supera al 10%; por lo que la estabilidad del sistema se considera aceptable para los fines buscados.

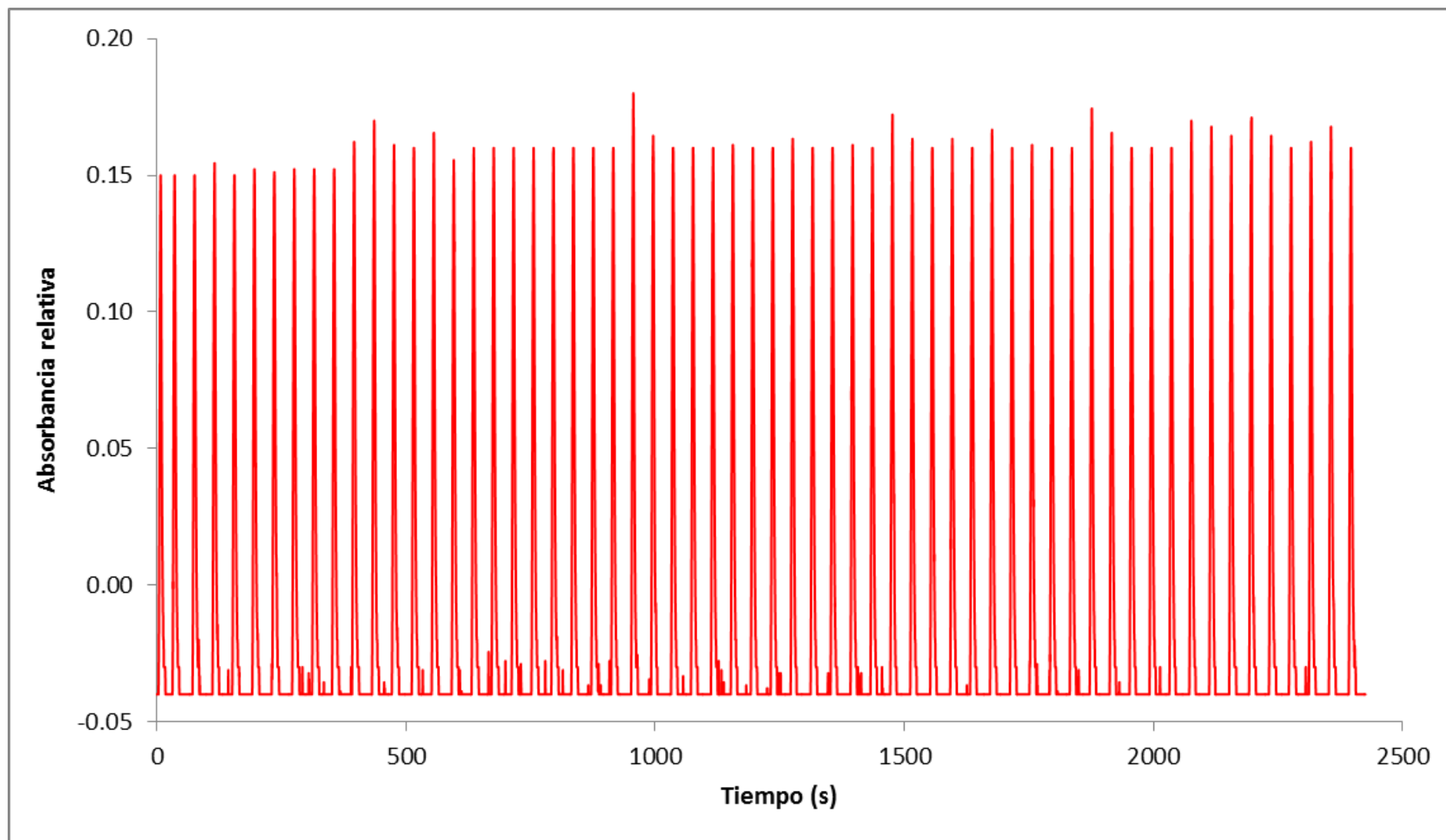


Figura 45: Estudio de la estabilidad de la señal y de la línea de base.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.1.1.8. Resumen de las cifras de mérito en la validación de fosfato

La Tabla 12 exhibe un resumen de las principales cifras de mérito en la validación del método en flujo para fosfato en el laboratorio.

Tabla 12: Cifras de mérito del sistema MPFA para fosfato y su evaluación.

Cifra de mérito	Resultado	Evaluación
Calibración	$A = 0.0135.C + 0.0135$ ($R^2 = 0.9993$) C es la concentración en mg L^{-1} P	Lineal hasta 25 mg L^{-1} P
Precisión (repetibilidad, $n=10$)	$S_r < 4\%$	Aceptable
Veracidad (Recuperación (%))	91-98 %	Aceptable
LOD	0.28 mg L^{-1} P (criterio $3s/m$)	Del mismo orden que los reportados en bibliografía
LOQ	0.95 mg L^{-1} P (criterio $10s/m$)	
Estabilidad de la señal y de la línea base (repeticiones de un patrón de 20 mg L^{-1} P)	Repetibilidad instrumental $< 10 \%$	Aceptable

6.1.2. Nitrito

Como ya se mencionó anteriormente; la determinación de nitrito se realizó fotométricamente utilizando la reacción de *Griess* en la cual se forma un compuesto púrpura-rojizo cuya absorbancia es proporcional a la concentración.

6.1.2.1. Interferencias

La determinación fotométrica de nitrito mediante la reacción de *Griess* posee pocas interferencias reportadas; de hecho es poco probable que las especies más interferentes (cloro libre y tricloruro de nitrógeno NCl_3) coexistan en aguas con el nitrito.

Existen cationes que son interferentes porque precipitan al ion nitrito como ser Sb^{3+} , Au^{3+} , Bi^{3+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+ , cloroplatinato (PtCl_6^{2-}) y metavanadato (VO_3^{2-}). Los iones cúpricos causan disminución de las señales producidas porque catalizan la descomposición del azo-compuesto formado en la reacción de *Griess* (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-NO₂ B 2017).

Por lo tanto, al ser pocas las interferencias reportadas y su poca probabilidad de que se hallen en las muestras, es que no se realizó un estudio de interferencias.

6.1.2.2. Calibración

La calibración fue estudiada en el rango desde 0 a 4.0 mg L^{-1} NO_2^- (0 a $1200 \mu\text{g L}^{-1}$ N- NO_2). Los resultados (Tabla 13 y Figuras 46 y 47) de la calibración muestran una

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

linealidad aceptable en dicho rango tomando en cuenta la inspección visual del gráfico y el valor del R^2 .

Tabla 13: Disoluciones preparadas en el estudio de la calibración de nitrito y señales obtenidas.

Patrón	C ($\mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$)	Absorbancia relativa promedio
Blanco	0	0.029
1	154	0.062
2	307	0.142
3	614	0.288
4	922	0.441
5	1229	0.604

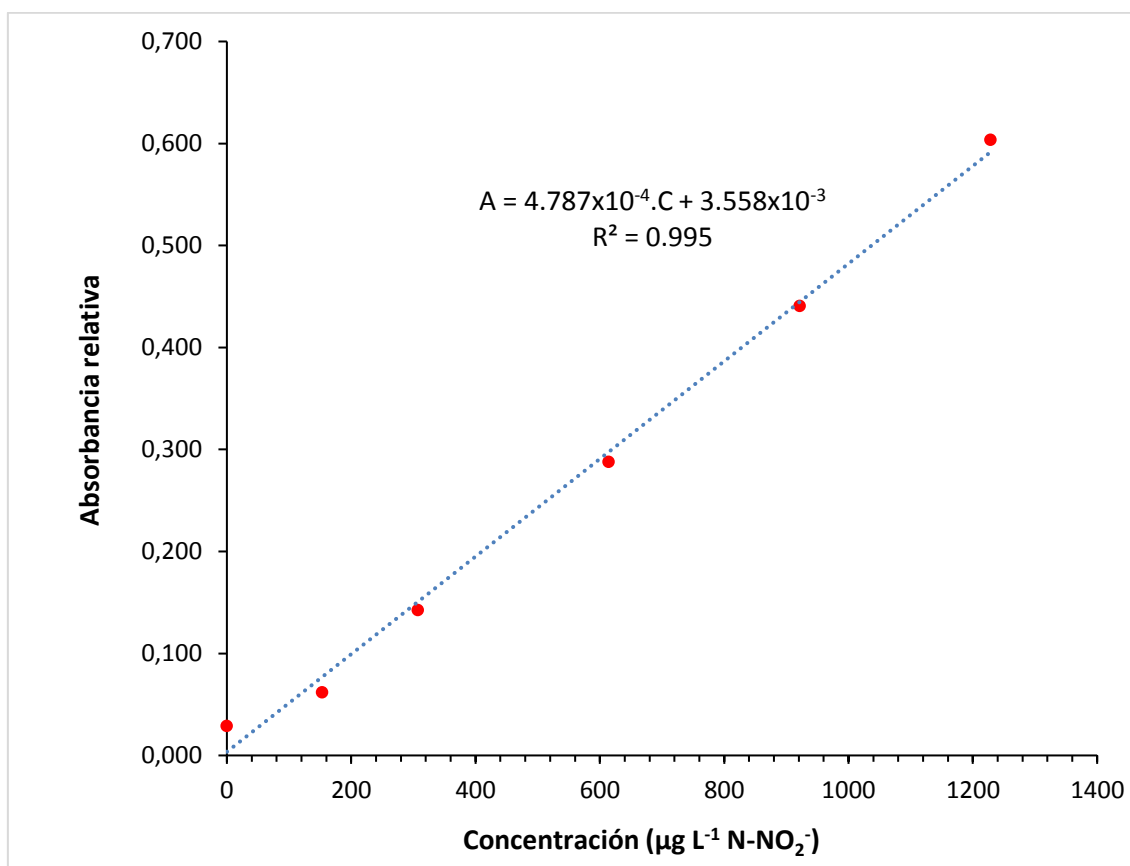


Figura 46: Curva de calibración para nitrito.

La curvatura obtenida a bajas concentraciones podría deberse a que el reactivo de Griess es algo coloreado de por sí y a bajas concentraciones e incluso a concentración cero de nitrito el color del reactivo reporta una absorbancia significativa.

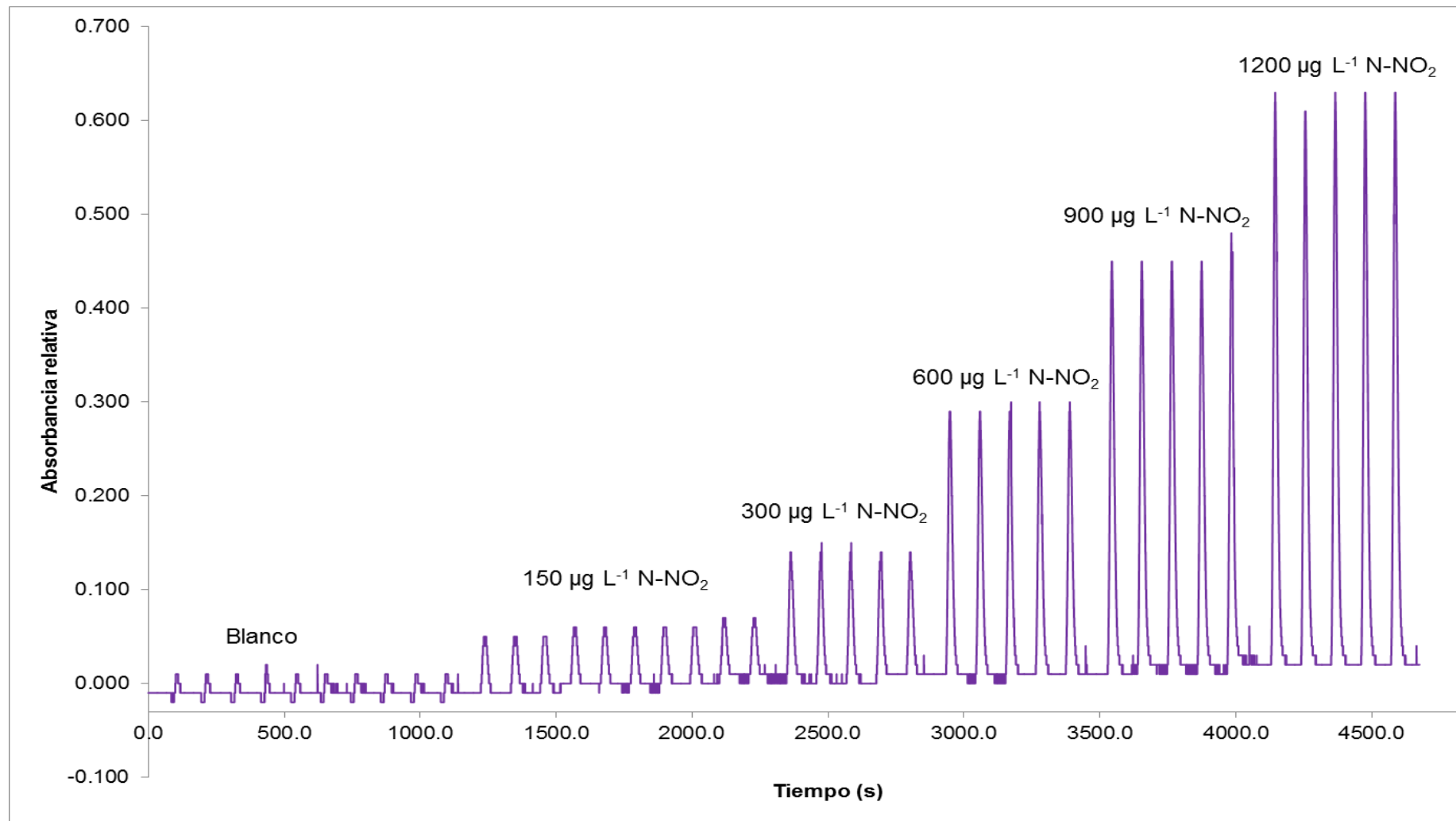


Figura 47: Señales correspondientes a la calibración para nitrito.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

De nuevo, acorde a los criterios de inspección visual y valor del R^2 obtenido, la calibración se evalúa como lineal y se considera adecuada para los fines buscados.

6.1.2.3. Veracidad

Para evaluar la veracidad del método, se fortificó un material de referencia de agua de efluente artificial (*Wastewater Effluent Inorganics Quality Control*, HACH; N° lote A7129) y se evaluó la recuperación del mismo. Este material de referencia tiene las siguientes concentraciones nominales:

- 2 mg L⁻¹ N-NH₄⁺
- 4 mg L⁻¹ N-NO₃⁻
- 35,4 mg L⁻¹ PO₄³⁻
- 50 mg L⁻¹ SO₄²⁻
- 25 mg L⁻¹ COD
- 8 mg L⁻¹ TOC

Este material de referencia se fortificó con una concentración de 2.0 mg L⁻¹ NO₂. La recuperación obtenida fue del 101 % lo cual se considera aceptable en cuanto a la veracidad.

6.1.2.4. Precisión

La precisión se evaluó a 3 niveles de concentración de nitrito (repetibilidad), realizando 5 réplicas instrumentales de cada disolución preparada. La desviación estándar relativa en todos los casos fue mejor al 5 % por lo tanto la repetibilidad del sistema se considera aceptable (Tabla 14).

Tabla 14: Resultados del estudio de precisión (repetibilidad, n=5 para cada nivel).

Concentración	s _r (%)
150 µg L ⁻¹ N-NO ₂ ⁻	4.8
600 µg L ⁻¹ N-NO ₂ ⁻	1.6
1200 µg L ⁻¹ N-NO ₂ ⁻	1.4

6.1.2.5. Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ)

Los límites de detección y cuantificación se estimaron realizando 10 réplicas:

Se realizaron 10 réplicas de un patrón de nitrito de 0.5 mg L⁻¹ NO₂⁻ (150 µg L⁻¹ N-NO₂⁻); para cada una de ellas se realizó 1 sola inyección. La desviación estándar de las réplicas se utilizó para estimar los límites de detección y cuantificación utilizando los criterios 3s/m y 10s/m respectivamente (siendo m la pendiente de la curva de calibración). Los límites de detección y cuantificación (Tabla 15) son comparables a los reportados por el método de referencia (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-NO₂ B 2017).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 15: Límites de detección y cuantificación para nitrito con el sistema MPFA.

Parámetro	Valor
Pendiente (m)	0.0004787
Desviación estándar (s)	0.00297
Señal LOD (3.s)	0.00892
Señal LOQ (10.s)	0.02974
Límite de detección	19 $\mu\text{g L}^{-1}$ N-NO₂⁻
Límite de cuantificación	62 $\mu\text{g L}^{-1}$ N-NO₂⁻

6.1.2.6. Estabilidad de la señal y de la línea de base

Se evaluó la estabilidad de la señal del sistema y de la línea de base realizando inyecciones repetidas de un patrón de nitrito de 3 mg L⁻¹ NO₂⁻ (900 $\mu\text{g L}^{-1}$ N-NO₂⁻) durante aproximadamente 1 hora de trabajo del sistema. La línea base se muestra sumamente estable (horizontal), mientras que hay algunas pequeñas variaciones en cuanto a la altura de los picos, pero las mismas no muestran una tendencia ni tampoco una periodicidad y la repetibilidad instrumental no supera el 3%; por lo que la estabilidad del sistema se considera aceptable para los fines buscados (Figura 48).

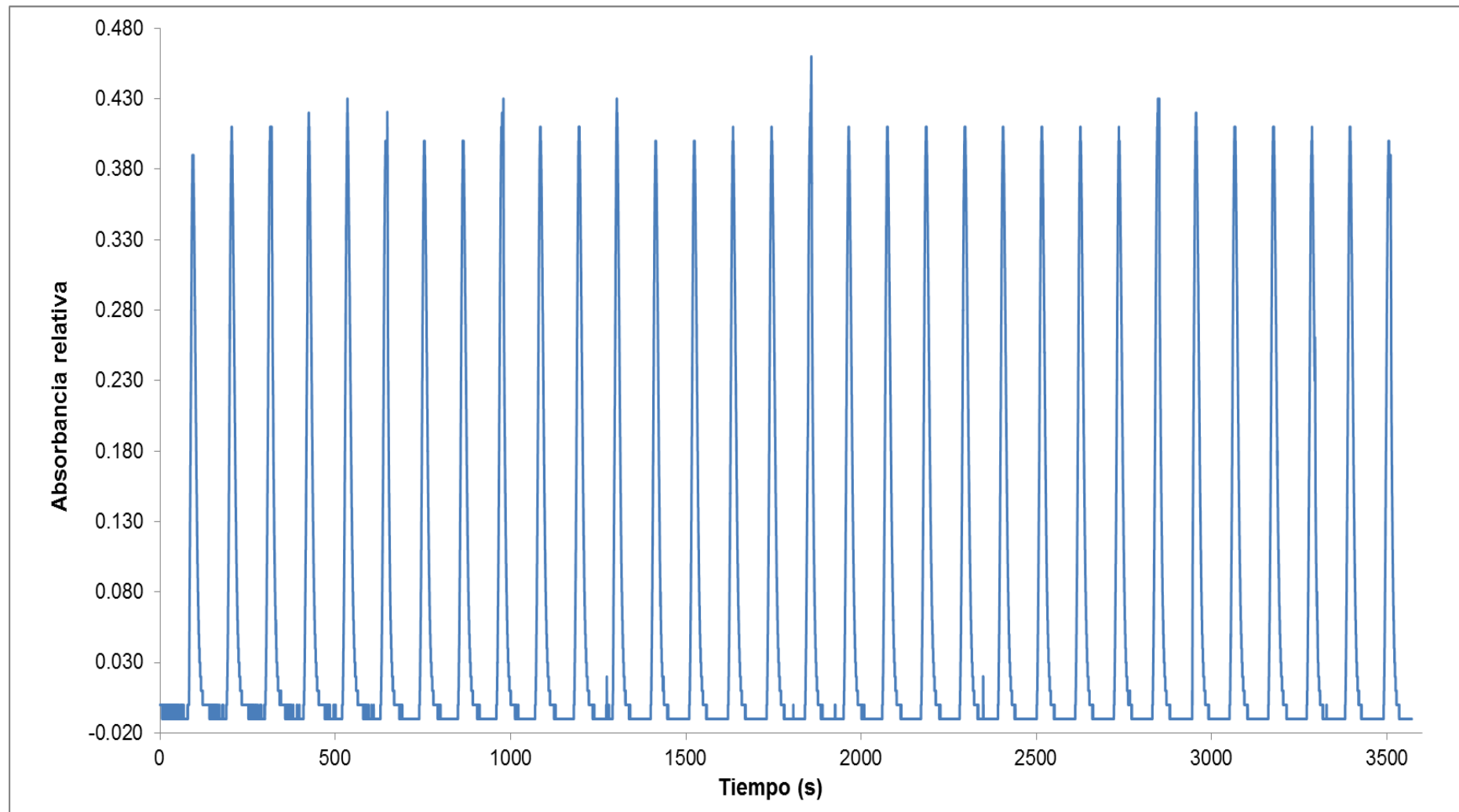


Figura 48: Estabilidad del sistema y de la línea base para la determinación de nitrito.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.1.2.7. Resumen de las cifras de mérito en la validación de nitrito

La Tabla 16 muestra un resumen de las cifras de mérito para la validación del método de nitrito en el laboratorio.

Tabla 16: Cifras de mérito del sistema MPFA para nitrito y su evaluación.

Cifra de mérito	Resultado	Evaluación
Calibración	$A = 4.787e-4.C + 3.558e-3$ ($R^2 = 0.995$) C es la concentración en $\mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$	Lineal hasta $1200 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$
Precisión (repetibilidad, n=5)	$s_r < 5\%$	Aceptable
Veracidad (Recuperación (%))	101 %	Aceptable
LOD	$19 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$ (criterio 3s/m)	Del mismo orden que los reportados en bibliografía
LOQ	$62 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$ (criterio 10s/m)	
Estabilidad de la señal y de la línea base (repeticiones de un patrón de $3 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_2^-$)	Repetibilidad instrumental $< 3 \%$	Aceptable

6.1.3. Nitrato

La determinación de nitrato se realizó mediante su reducción a nitrito con una columna de cadmio cuperizado y posterior determinación fotométrica con la reacción de *Griess*.

6.1.3.1. Interferencias

Las interferencias reportadas en la determinación de nitrato realizando su reducción a nitrito en columna de cadmio cuperizado y posterior reacción de *Griess* son pocas. La materia orgánica en suspensión puede traer problemas en los sistemas en flujo. Altas concentraciones de iones hierro, cobre y otros metales (del orden de decenas de miligramos por litro) disminuyen la eficiencia de reducción de la columna. La determinación de nitrato, por la química utilizada, tiene las demás mismas interferencias que la determinación de nitrito.

Por todo esto es que tampoco para nitrato se realizó un estudio de interferencias.

6.1.3.2. Calibración

La calibración fue estudiada en el rango desde 0 a $2500 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$. Los resultados (Tabla 17 y Figuras 49 y 50) muestran una calibración aceptable en dicho rango tomando en cuenta la inspección visual del gráfico y el valor del R^2 .

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 17: Disoluciones preparadas en el estudio de la calibración de nitrato y señales obtenidas.

Patrón	C ($\mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$)	Absorbancia relativa
Blanco	0	-0.024
1	467	0.139
2	934	0.259
3	1402	0.403
4	1869	0.556
5	2337	0.739

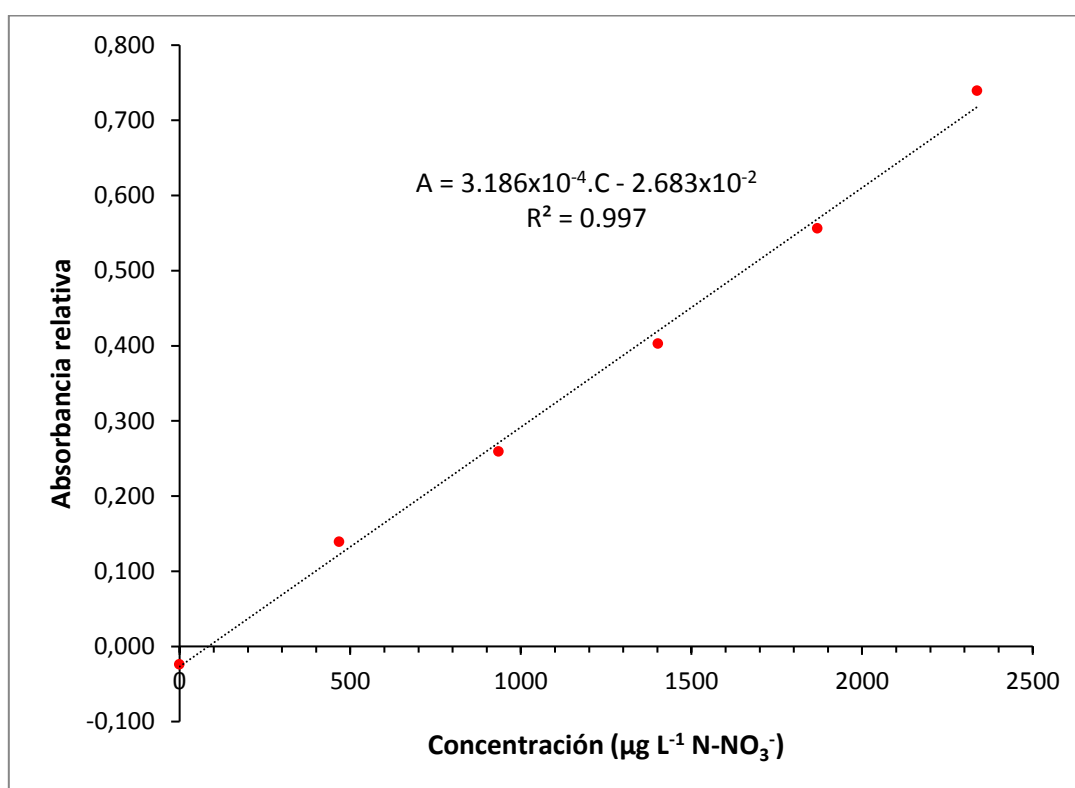


Figura 49: Curva de calibración para nitrato.

Una vez más, de acuerdo a los criterios de inspección visual y valor del R^2 obtenido, la linealidad se considera aceptable para los fines buscados.

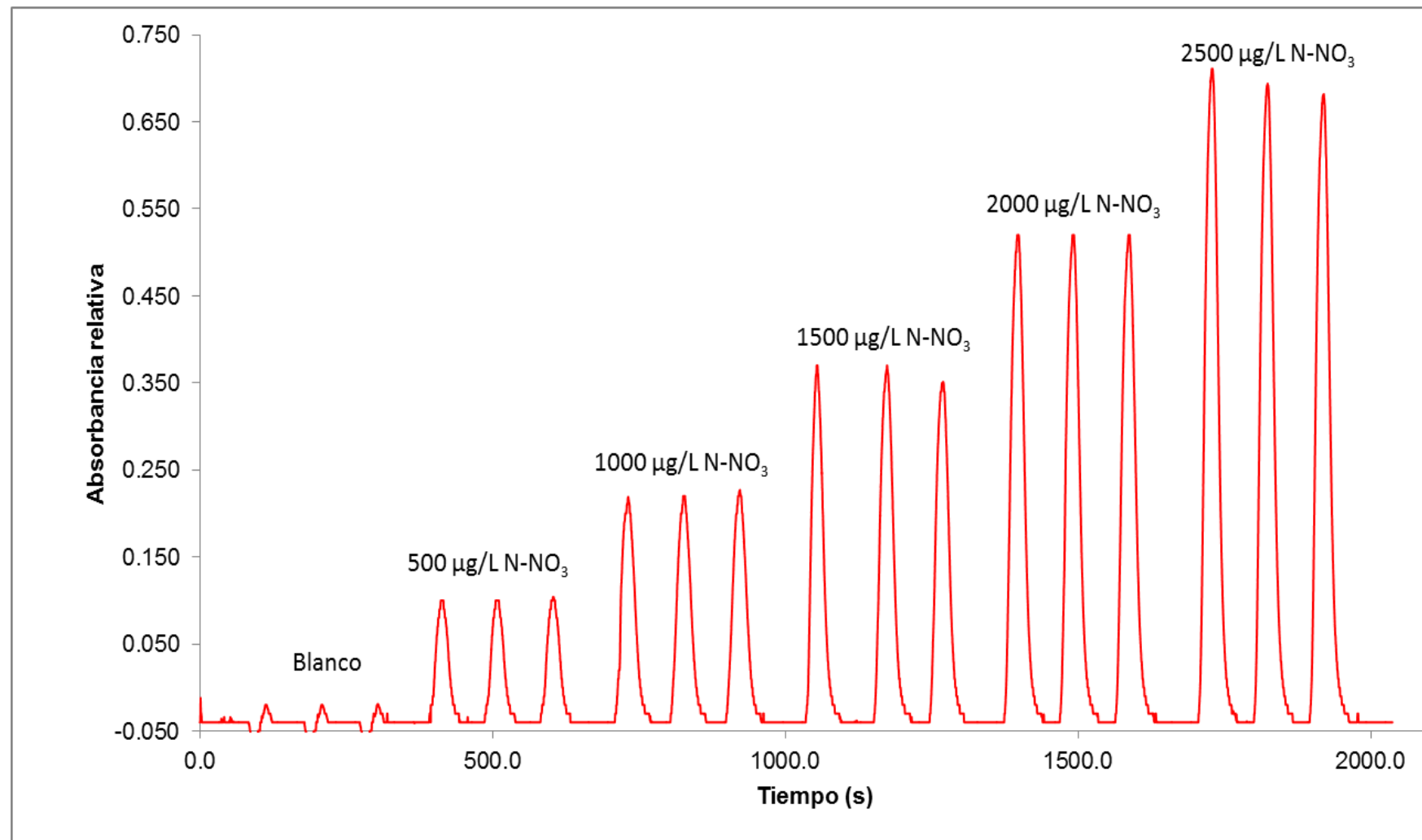


Figura 50: Señales correspondientes a la calibración para nitrato.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.1.3.3. Precisión

La precisión se evaluó a 2 niveles de concentración de nitrato (repetibilidad), realizando 5 réplicas instrumentales de cada disolución preparada. La desviación estándar relativa en todos los casos fue mejor al 5 % por lo tanto la repetibilidad del sistema se considera aceptable (Tabla 18).

Tabla 18: Resultados del estudio de precisión (repetibilidad, n=5 para cada nivel).

Concentración	S _r (%)
500 µg L ⁻¹ N-NO ₃ ⁻	4.3
2500 µg L ⁻¹ N-NO ₃ ⁻	4.3

6.1.3.4. Veracidad

La veracidad de nitrato se evaluó de 2 maneras; por un lado se fortificaron muestras de agua corriente con concentraciones conocidas de dicho anión y se calculó el porcentaje de recuperación.

Muestra	C _{fortificada} (µg L ⁻¹ N-NO ₃ ⁻)	C _{hallada} (µg L ⁻¹ N-NO ₃ ⁻)	Recuperación (%)
1	2337	2213	94.7
2	3505	3746	106.9

Los porcentajes de recuperación se encuentran entre 95 – 107 % lo cual se considera aceptable para los fines buscados.

También se evaluó la veracidad del método utilizando un material de referencia de agua de efluente artificial (*Wastewater Effluent Inorganics Quality Control*, HACH; N° lote A7129). Este material de referencia tiene las siguientes concentraciones nominales:

- 2 mg L⁻¹ N-NH₄⁺
- 4 mg L⁻¹ N-NO₃⁻
- 35,4 mg L⁻¹ PO₄³⁻
- 50 mg L⁻¹ SO₄²⁻
- 25 mg L⁻¹ COD
- 8 mg L⁻¹ TOC

Este material de referencia se midió con el analizador y se calculó la recuperación obtenida que fue del 89 % lo cual se considera aceptable.

6.1.3.5. Límites de detección y cuantificación (LOD y LOQ)

Se realizaron 10 réplicas de un patrón de nitrato de 200 µg L⁻¹ N-NO₃⁻; para cada una de ellas se realizó 1 sola inyección. La desviación estándar de las réplicas se utilizó para estimar los límites de detección y cuantificación utilizando los criterios 3s/m y 10s/m respectivamente (siendo m la pendiente de la curva de calibración). Los límites de

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

detección y cuantificación son comparables a los reportados por el método de referencia (Clesceri, Greenberg y Eaton, 4500-NO₃ E 2017).

Tabla 19: Límites de detección y cuantificación para nitrato con el sistema MPFA.

Parámetro	Valor
Pendiente (m)	0.000319
Desviación estándar (s)	0.00268
Señal LOD (3.s)	0.064
Señal LOQ (10.s)	0.151
Límite de detección	26 µg L⁻¹ N-NO₃⁻
Límite de cuantificación	88 µg L⁻¹ N-NO₃⁻

6.1.3.6. Estabilidad de la señal y de la línea de base

Se evaluó la estabilidad de la señal del sistema y de la línea de base realizando inyecciones repetidas de un patrón de nitrato de 10 mg L⁻¹ NO₃⁻ (2500 µg L⁻¹ N-NO₃⁻) durante un tiempo de trabajo del sistema de aproximadamente 45 minutos. La línea base se muestra estable (con un leve aumento al final del ensayo), mientras que en cuanto a la altura de los picos se observa una leve tendencia al incremento, pero la misma no es significativa (la repetibilidad instrumental es del 7 %); por lo que la estabilidad del sistema se considera aceptable para los fines buscados (Figura 51).

Esta tendencia al incremento en las señales puede deberse a una falta de estabilización en la reducción de nitrato a nitrito por parte de la columna de cadmio en el sistema en flujo por ejemplo en el empacado del cadmio pueden generarse caminos preferenciales al paso de líquido y generar esta tendencia no esperada. Esto podría resolverse haciendo un mejor diseño de la columna de cadmio y utilizar un cadmio de mayor uniformidad en cuanto al tamaño de gránulo.

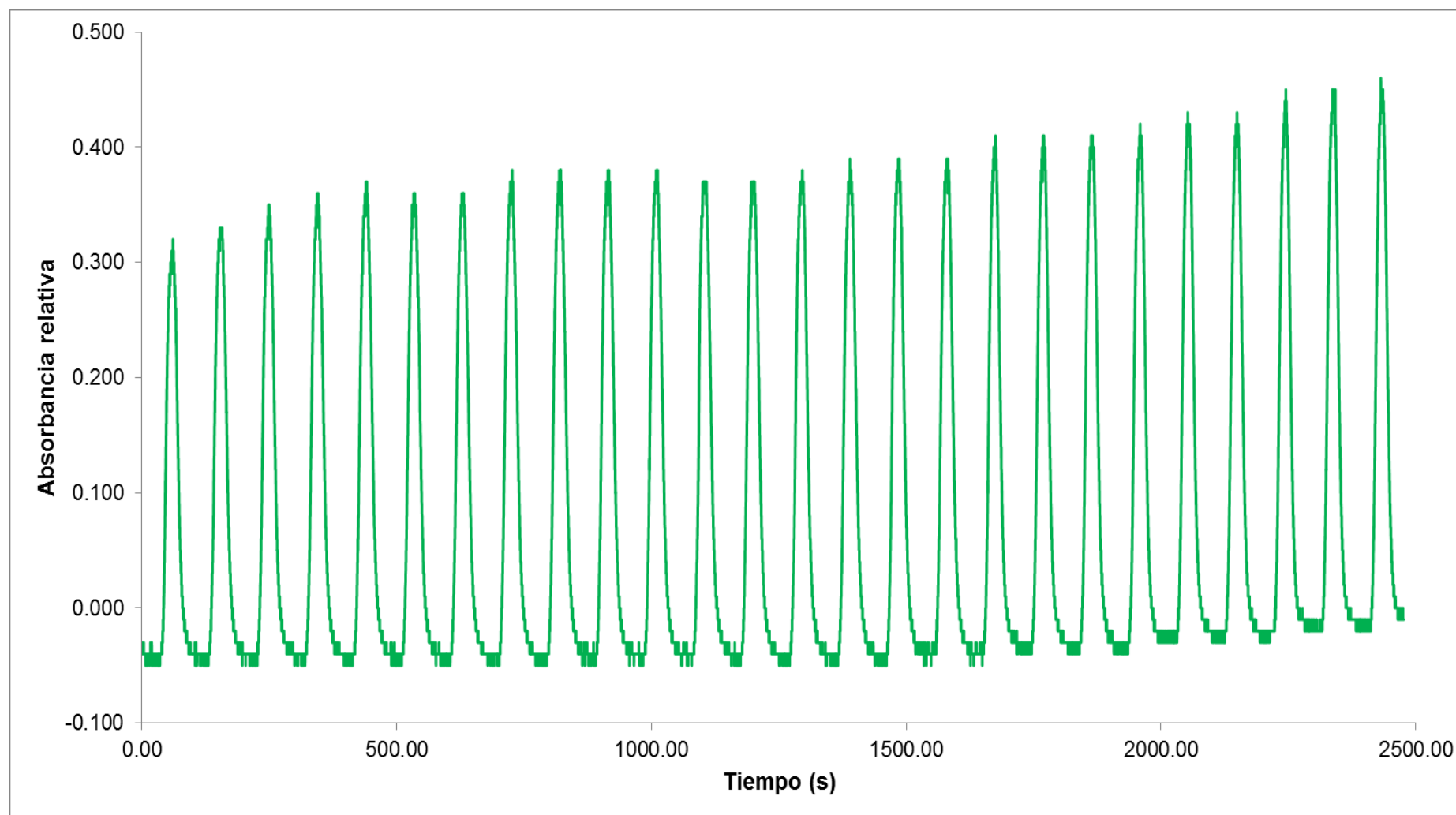


Figura 51: Estabilidad del sistema y de la línea base para la determinación de nitrato.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.1.3.7. Resumen de cifras de mérito en la validación de nitrato

La Tabla 20 exhibe un resumen de las cifras de mérito en la validación del sistema MPFA propuesto para nitrato en el laboratorio.

Tabla 20: Cifras de mérito del sistema MPFA para nitrato y su evaluación.

Cifra de mérito	Resultado	Evaluación
Calibración	$A = 1.49e-4.C + 8.79e-3$ ($R^2 = 0.988$) C es la concentración en $\mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$	Lineal hasta $2500 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$
Precisión (repetibilidad, n=5)	$s_r < 5\%$	Aceptable
Veracidad (Recuperación (%))	95 - 107	Aceptable
LOD	$26 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$ (criterio 3s/m)	Del mismo orden que los reportados en bibliografía
LOQ	$88 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$ (criterio 10s/m)	
Estabilidad de la señal y de la línea base (repeticiones de un patrón de $10 \text{ mg L}^{-1} \text{NO}_3^-$)	Repetibilidad instrumental $< 7 \%$	Aceptable

6.1.4. Resumen de la validación en el laboratorio para los 3 analitos

Los sistemas en flujo propuestos para cada uno de los analitos arrojaron cifras de mérito aceptables para la validación en el laboratorio; la Tabla 21 muestra un resumen total dicha validación. El siguiente paso es realizar una combinación de todos los sistemas en flujo para un único sistema encargado de la determinación de los 3 analitos y verificar su desempeño.

Tabla 21: Resumen total de las cifras de mérito de la validación en el laboratorio para los 3 analitos.

Característica de desempeño/analito	Fosfato	Nitrito	Nitrato
Calibración	Lineal hasta $25 \text{ mg L}^{-1} \text{P}$	Lineal hasta $1200 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$	Lineal hasta $2500 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$
Precisión	$s_r < 4\%$	$s_r < 5\%$	$s_r < 5\%$
Recuperación (%)	91-98 %	101 %	95 - 107 %
LOD (criterio 3s)	$0.28 \text{ mg L}^{-1} \text{P}$	$19 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$	$26 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$
LOQ (criterio 10s)	$0.95 \text{ mg L}^{-1} \text{P}$	$62 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_2^-$	$88 \mu\text{g L}^{-1} \text{N-NO}_3^-$
Estabilidad	Repetibilidad instrumental $< 10 \%$	Repetibilidad instrumental $< 3 \%$	Repetibilidad instrumental $< 7 \%$

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.2. Diseño y construcción del analizador autónomo

6.2.1. Sistema en flujo y sistema eléctrico

El sistema en flujo es capaz de realizar separadamente la determinación de fosfato; nitrito y nitrato. Cuenta con 2 sistemas de detección (uno para fosfato y otro para nitrito/nitrato) y la posibilidad de hacer pasar o no los patrones y las muestras por la columna de cadmio cuperizado para la determinación de nitrato. El sistema pues cuenta con los siguientes componentes:

Tabla 22: Dispositivos eléctricos utilizados en el analizador y su función.

Componente	Función
Bomba solenoide 1	Bombear el fluido portador (agua)
Bomba solenoide 2	Bombear el reactivo para fosfato
Bomba solenoide 3	Bombear el reactivo para nitrito/nitrato
Bomba solenoide 4	Bombear patrones/muestras
Bomba peristáltica	Tomar y mantener actualizada la muestra de agua
Válvula solenoide 1	Seleccionar si se bombea patrón o muestra
Válvula solenoide 2	Seleccionar si el patrón o la muestra pasan o no por la columna de cadmio
Válvula solenoide 3	Seleccionar si todo pasa por el sistema de detección de fosfato o por el de nitrato
Sistema de detección de fosfato	Basado en LED ($\lambda=415$ nm) y fotodiodo
Sistema de detección de nitrito/nitrato	Basado en LED ($\lambda=520$ nm) y fotodiodo
Sistema de acondicionamiento de señales	Amplificar las señales obtenidas y filtrar el ruido
Sistema de potencia	Llevar los niveles de corriente y voltaje que salen del microcontrolador a lo requerido por los actuadores
Placa Arduino UNO	Placa de microcontrolador que se encarga del control de los actuadores; los sistemas de detección y la digitalización de las señales analógicas, realización de los cálculos y envío de los datos vía GSM
Módulo GSM	Para enviar los SMS con los resultados obtenidos

La Figura 52 muestra el diagrama de bloques, la Figura 53 el diagrama del sistema en flujo del analizador y la Figura 54 y Tabla 23 el circuito eléctrico.

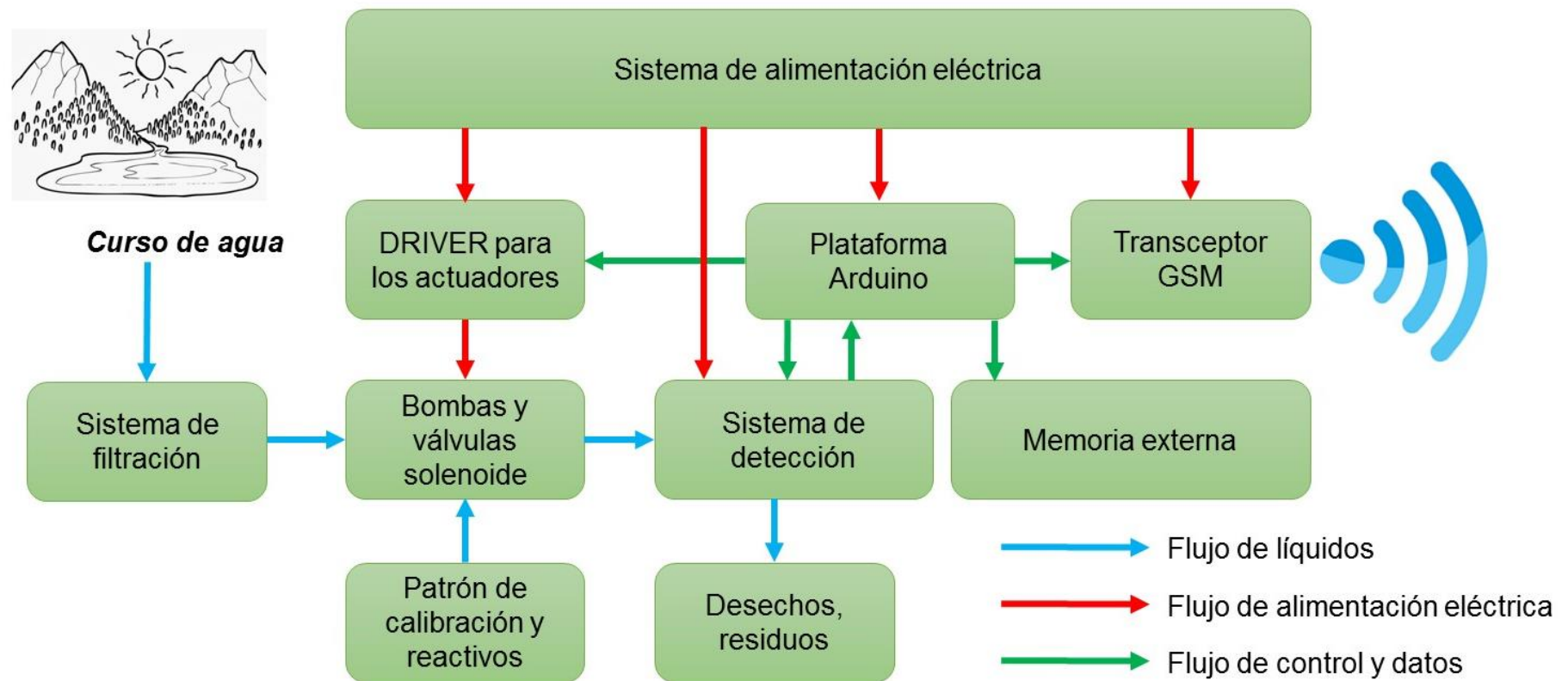


Figura 52: Diagrama de bloques del analizador.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

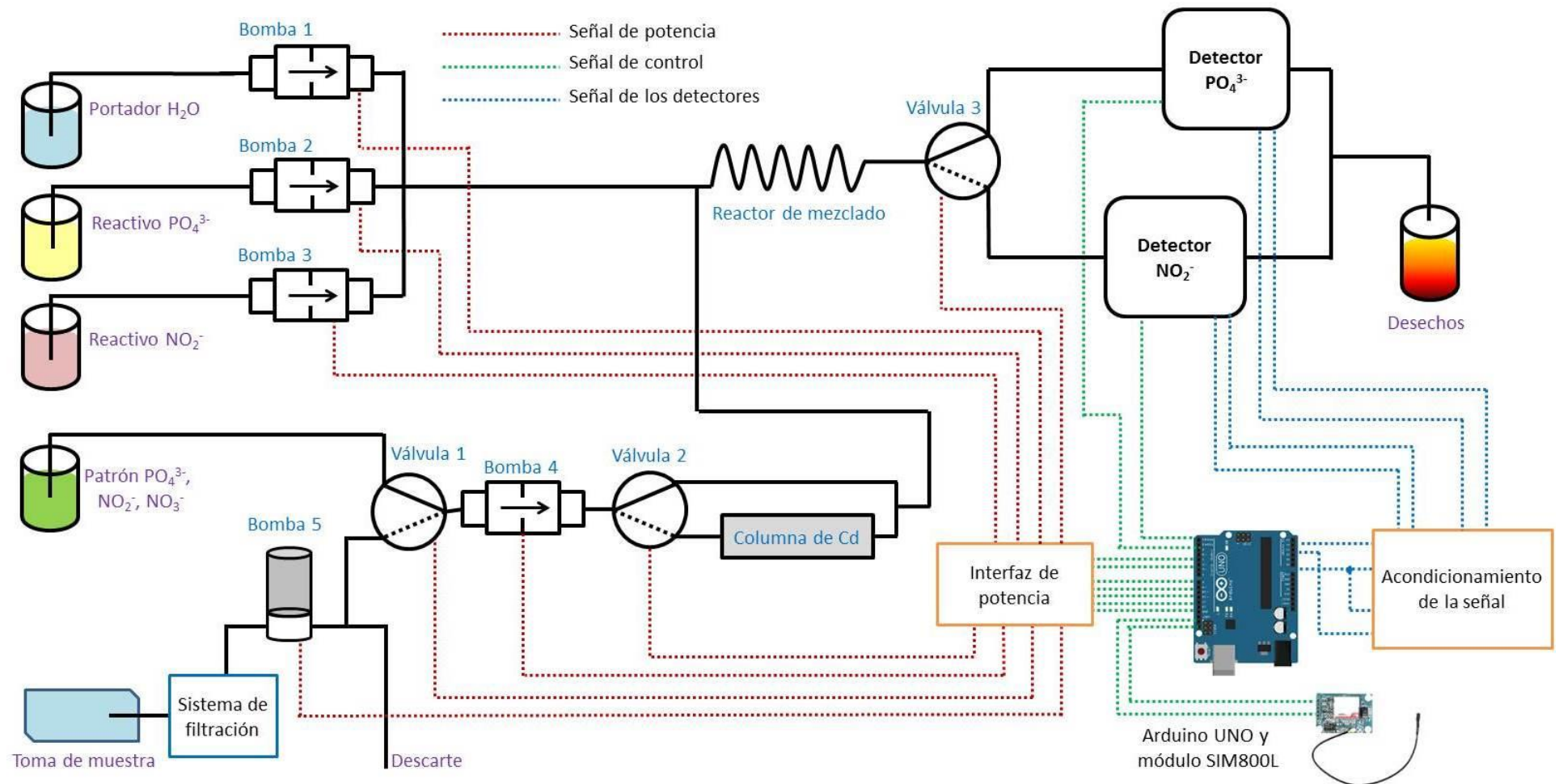


Figura 53: Diagrama del sistema en flujo del analizador.

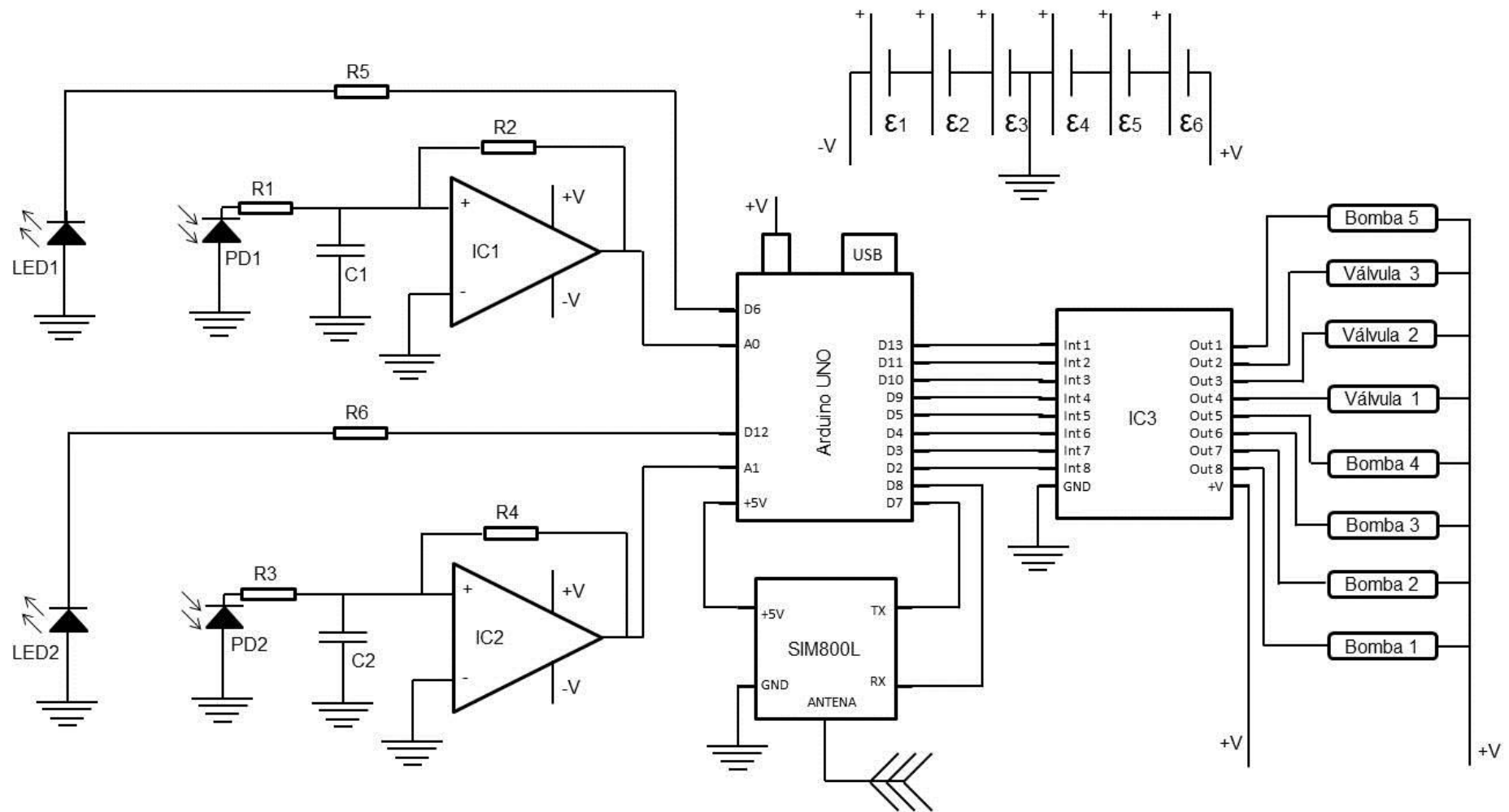


Figura 54: Circuito eléctrico del analizador.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Tabla 23: Componentes electrónicos del analizador.

Nomenclatura	Componente
LED1	LED (λ nominal = 415 nm)
LED2	LED (λ nominal = 525 nm)
R1 y R3	Resistencias de 27 k Ω , ¼ W
R2 y R4	Resistencias de 1.2 M Ω , ¼ W
R5 y R6	Resistencias de 390 Ω , ¼ W
C1 y C2	Capacitores electrolíticos de aluminio de 10 μ F
IC1 e IC2	Circuito integrado TL 081 (amplificador operacional)
IC3	Circuito integrado ULN 2803 (driver de potencia)
Bomba 1 a 4	Bombas solenoide de 12 V, 20 μ L
Bomba 5	Bomba peristáltica de 12 V
Válvula 1 a 3	Válvulas solenoide de 3 vías (1 entrada 2 salidas)
£1 a £6	Baterías Li-ion de 3.7 V, 3000 mA.h c/u
SIM800L	Módulo GSM/GPRS
Arduino UNO	Placa de microcontrolador Arduino UNO

El hecho de que la bomba solenoide encargada de impulsar el patrón sea la misma que la que impulsa la muestra se debe al hecho de que, si bien todas las bombas son de 20 μ L de volumen nominal (en cada pulsación), en la realidad no todas dispensan el mismo volumen y por lo tanto no son intercambiables entre sí. Se realizó un experimento poniendo las bombas solenoide disponibles para su uso en el cual; a cada bomba se le hacía dispensar 10 pulsaciones de agua y se medía la masa; este experimento se repitió 10 veces y se promedió la masa de agua (Tabla 24). Por esta razón es que se utiliza la misma bomba para patrones y muestras.

Tabla 24: Masas promedio (n=10) de 10 pulsaciones de agua para las bombas disponibles.

Nº de bomba	Masa de agua promedio (g)	CV (%)
Bomba 1	0,2174	1,0
Bomba 2	0,2522	0,8
Bomba 3	0,2007	0,4
Bomba 4	0,1579	0,9
Bomba 5	0,2034	2,9
Bomba 6	0,1773	2,4
Bomba 7	0,2008	0,9
Bomba 8	0,1687	1,3
Bomba 9	0,1621	1,6
Bomba 10	0,1921	0,7

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

El analizador se diseñó para operar en forma automática, realizando la determinación de los 3 analitos (fosfato, nitrito y nitrato) cada 6 horas (de tal manera de contar con 4 ciclos de análisis diarios) utilizando el sistema en flujo mostrado anteriormente.

6.2.2. Armado de los módulos

El armado del analizador multiparamétrico se basó en un diseño “*box in box*”; esto es, los componentes están agrupados en cajas estancas (módulos) y estas cajas están dentro de una carcasa también estanca. La Figura 55 muestra cuáles serán las cajas armadas y que dispositivos contienen cada una de ellas.

Estas cajas o módulos son:

- Módulo de muestreo: Contiene a la bomba solenoide que impulsa al patrón o la muestra; contiene a la válvula solenoide que selecciona si se bombea patrón o si se bombea muestra y una segunda válvula solenoide que selecciona si el líquido pasa por la columna de cadmio (determinación de nitrato) o no (determinación de fosfato o nitrito).
- Módulo de bombas de reactivos y portador: Este módulo contiene en su interior 3 bombas solenoide; una para impulsar el portador (agua desionizada), otra para impulsar el reactivo para fosfato y otra para impulsar el reactivo para nitrito/nitrato.
- Módulo de detección: Contiene al sistema de detección (portaceldas, LEDs y fotodiodos, celdas de flujo) y una válvula solenoide que selecciona si el líquido pasa a través del detector de fosfato o a través del detector de nitrito/nitrato.
- Módulo de la electrónica: Contiene todo el resto de la electrónica; la placa Arduino UNO, el circuito de acondicionamiento de las señales que salen de los detectores, la electrónica de potencia para los actuadores, las baterías, un interruptor y un LED que indica si el analizador está encendido.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

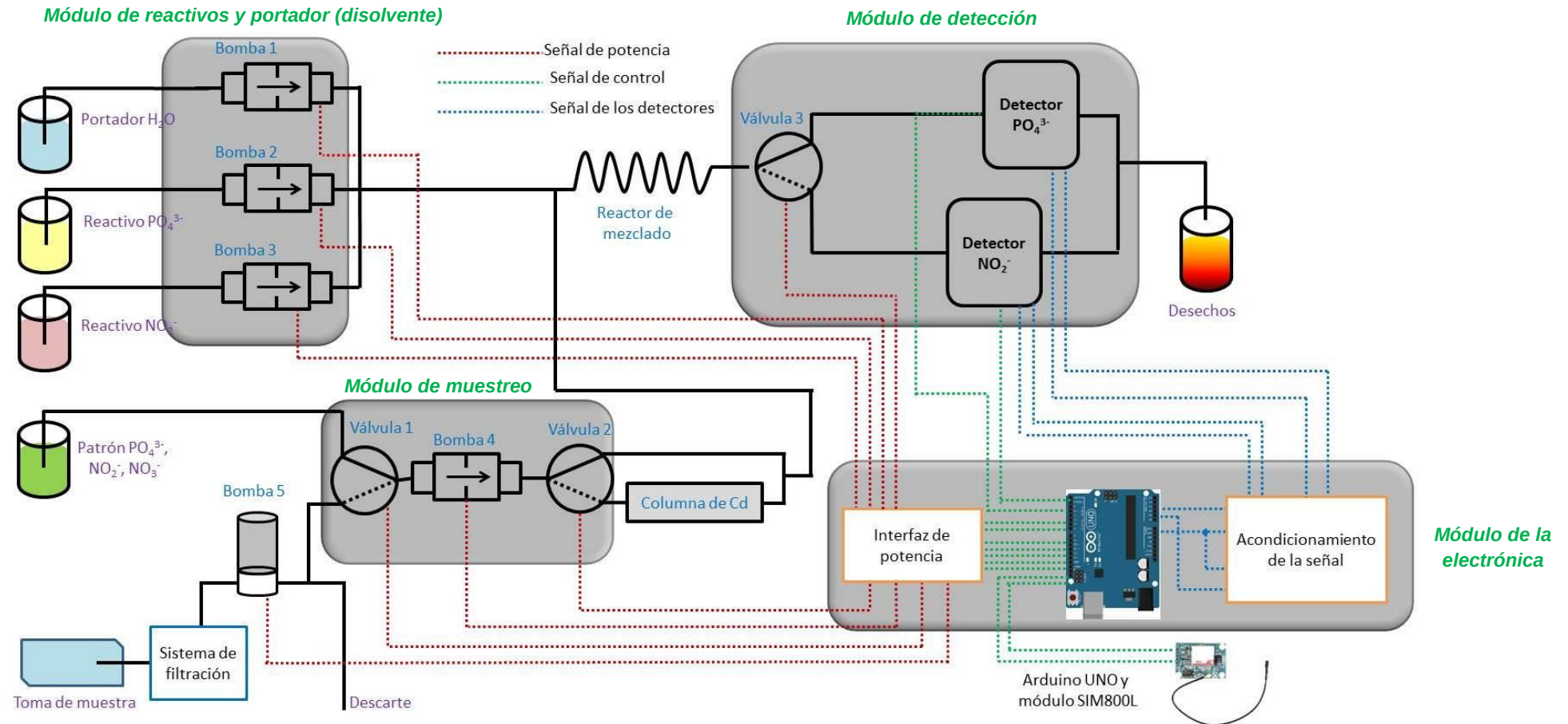


Figura 55: Cajas estancas (módulos) para los dispositivos del analizador.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Módulo de muestreo:

El módulo de muestreo cuenta con una bomba solenoide para impulsar los líquidos y 2 válvulas solenoide; una para seleccionar si se bombea patrón o muestra y la otra para seleccionar si el líquido pasa por la columna de cadmio (determinación de nitrato) o no (determinación de fosfato y nitrito).

Materiales:

- 1 bomba solenoide de 20 μ L, 12 V (*BioChem Fluidics* P/N 73120-10)
- 2 válvulas solenoide de 12 V de 3 vías (1 entrada 2 salidas) (*NResearch*)
- 3 soportes para bombas/válvulas solenoide
- Una caja estanca de 166 x 122 X 67 mm
- Tornillos y tuercas



Figura 56: Componentes del módulo de muestreo.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

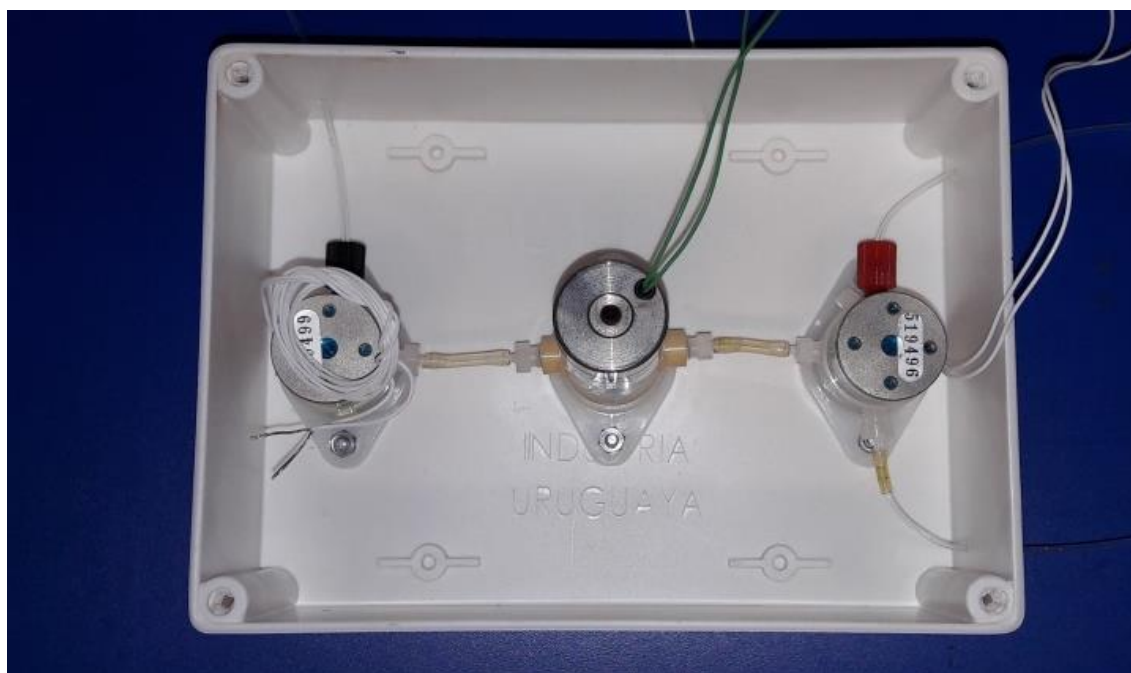


Figura 57: Módulo de muestreo armado.

Módulo de las bombas de reactivos y portador:

Este módulo contiene las bombas que impulsan los reactivos de desarrollo de color para fosfato y nitrito/nitrato y el líquido portador (agua desionizada).

Materiales:

- 3 bombas solenoide de 20 μ L, 12 V (*BioChem Fluidics* P/N 73120-10)
- 3 soportes para bombas solenoide
- Una caja estanca de 150 x 110 x 75 mm
- Tornillos y tuercas

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



Figura 58: Componentes del módulo de reactivos y carrier.

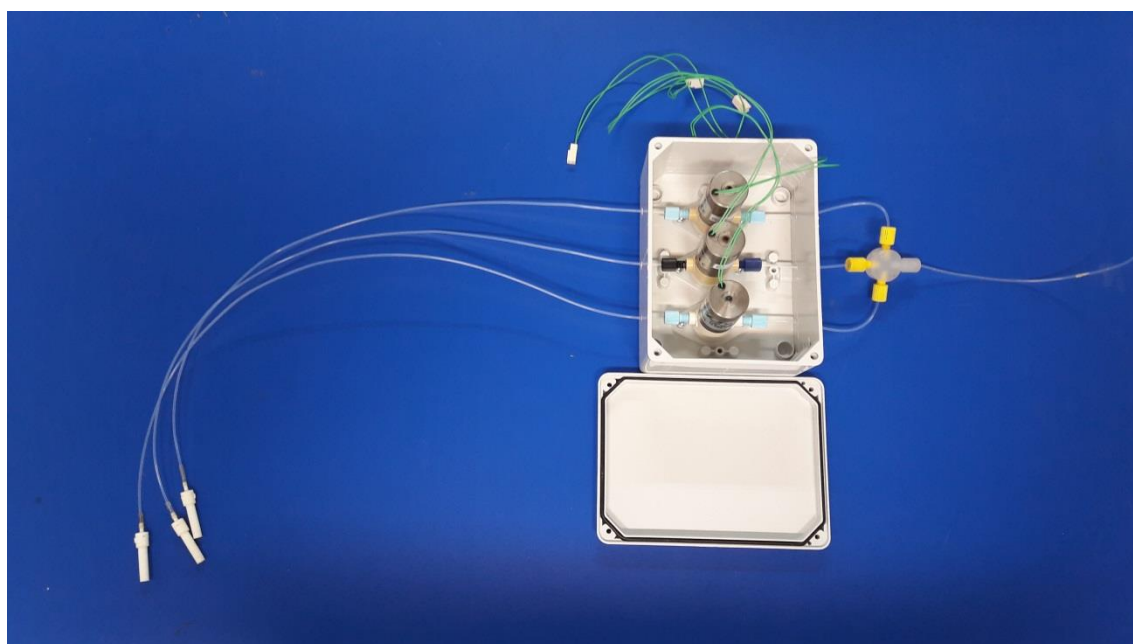


Figura 59: Módulo armado.

Módulo de detección:

Este módulo posee el portaceldas, las celdas de flujo para la detección de fosfato y nitrito/nitrato; posee los LEDs y los fotodiodos y una válvula solenoide que permite seleccionar si la muestra pasa por el detector de fosfato o por el de nitrito/nitrato.

Materiales:

- 1 LED UV genérico (longitud de onda nominal 415 nm)
- 1 LED verde *Kingbright* (longitud de onda nominal 525 nm)
- 2 fotodiodos *Perkin Elmer* VTB1013

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- 1 placa de circuito impreso universal de 50 puntos
- 1 portaceldas
- 1 válvula solenoide de 12 V de 3 vías (1 entrada 2 salidas) (*NResearch*)
- 1 soporte para válvula solenoide
- 1 caja estanca de 150 x 110 x 75 mm

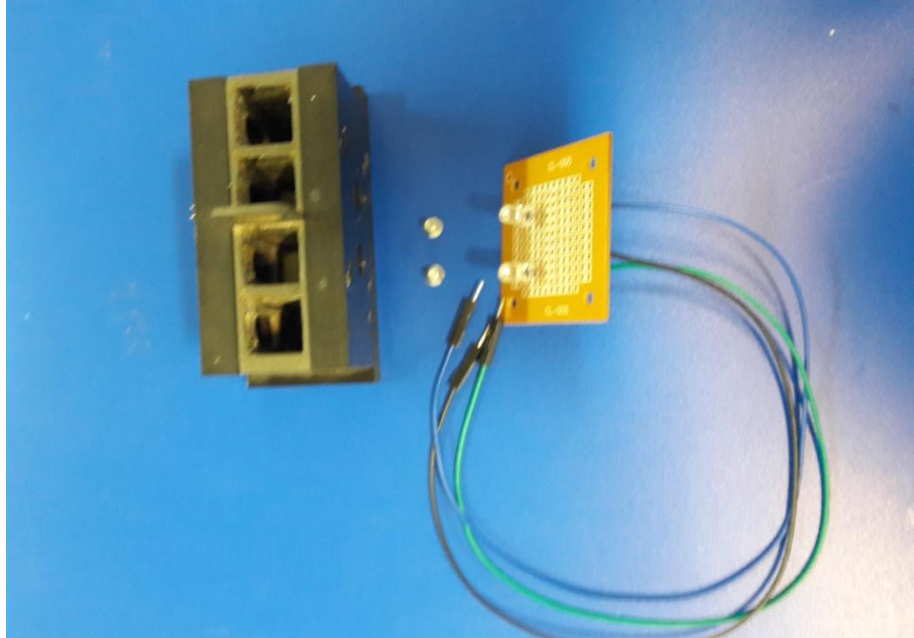


Figura 60: Portaceldas y placa con los LEDs.



Figura 61: Componentes del módulo de detección.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

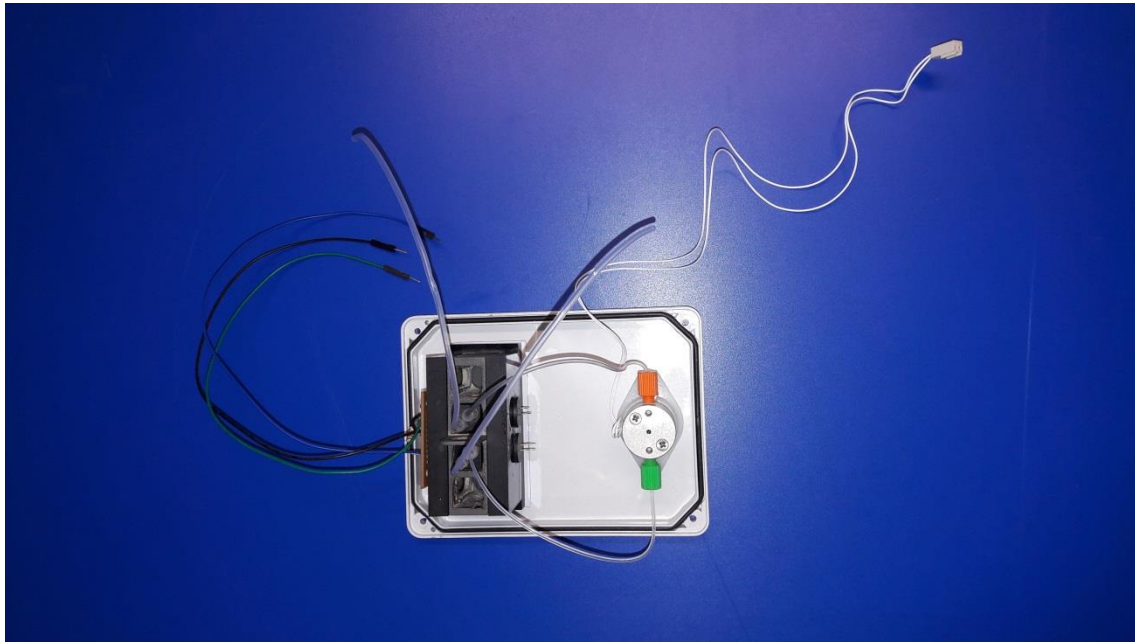


Figura 62: Módulo de detección armado.

Módulo de la electrónica:

Este módulo posee la placa de control total (placa Arduino UNO), el circuito de acondicionamiento de las señales obtenidas de los detectores y el circuito de potencia para control de los actuadores (*driver*). Este módulo también posee las baterías para la alimentación eléctrica del analizador.

Materiales:

- 1 placa Arduino UNO
- 1 circuito integrado ULN2803
- 2 circuitos integrados TL081
- 1 placa de circuito impreso universal
- 1 interruptor para encendido del analizador
- 1 LED amarillo indicador de encendido
- 2 portapilas para baterías 18650
- 6 baterías 18650 de 3000 mAh ($V_{\text{nominal}} = 3.7 \text{ V}$)
- 1 caja estanca de 166 x 122 X 67 mm

A continuación se muestra el módulo terminado (Figura 63).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

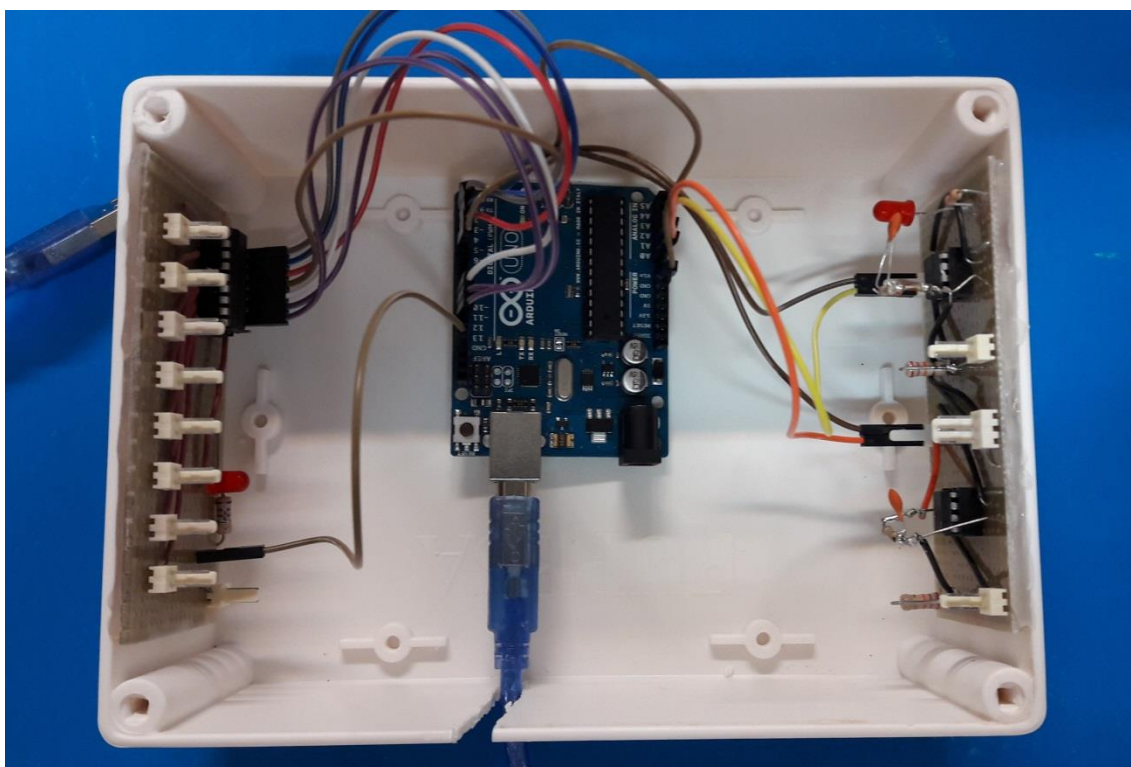


Figura 63: Módulo de la electrónica.

Armado final:

Otros materiales adicionales que lleva el analizador:

- 1 mini bomba peristáltica genérica de 12 V
- Reactor de mezclado en forma de “8” de 100 cm de longitud (tubo de PFA de 0.8 mm de diámetro interno)
- Tubos de PFA de 0.8 mm de diámetro interno
- Conectores
- 1 módulo GSM/GPRS SIM800L EVB
- 1 cable USB tipo A-B

Además de los 4 módulos, el sistema cuenta con una bomba de circulación del agua a muestrear, de tal manera que la muestra siempre está actualizada. Esta bomba de circulación es una mini bomba peristáltica de 12V (Figura 64). Algunas características de esta minibomba son:

- Voltaje: DC 12 V
- Corriente: 80 mA
- Temperatura de trabajo: 0-40 °C
- Humedad relativa < 80 %
- Caudal: 20-60 mL/min
- Velocidad de rotación: 0.1-100 rpm

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Revoluciones del motor: 5000 rpm
- Dimensiones del motor: Diámetro 27.6 mm, altura 37.9 mm
- Dimensiones de la bomba: Diámetro 31.7 mm, altura 20.1mm
- Dimensiones del tubo de bombeo: 2.5 x 4.7 mm
- Peso: 200g
- Dirección del flujo: Se puede controlar por el usuario cambiando la polaridad de la conexión



Figura 64: Bomba peristáltica para la toma de agua a muestrear.

Todo el sistema (módulos y demás) está en una caja estanca que tiene la posibilidad de abrir y cerrar su tapa; para ello se consiguió una caja metálica para llaves térmicas cuyas medidas son 40 x 30 x 20 cm.

La Figura 65 muestra una foto del analizador terminado y los frascos de líquidos que contendrá con sus etiquetas; la Figura 66 muestra una vista interior del mismo.



Figura 65: Analizador armado.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

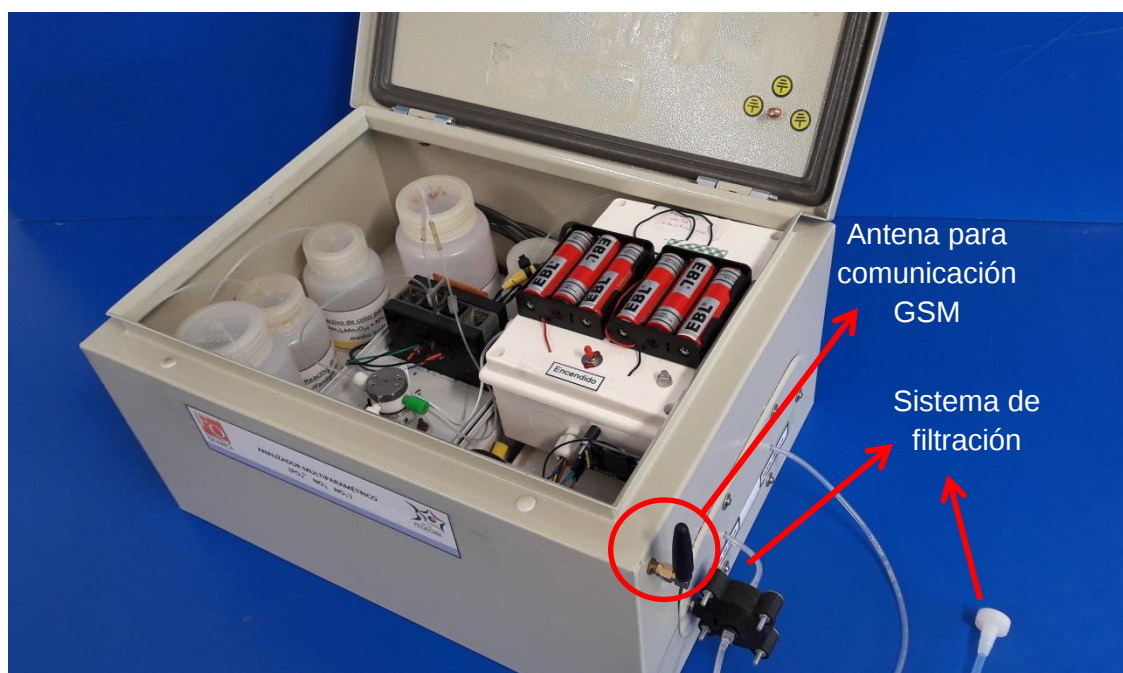


Figura 66: Interior y exterior del analizador.

Sistema de filtración:

Respecto a la toma de muestra de agua, se implementó en los extremos de la bomba peristáltica 2 tubos flexibles *Tygon* para la entrada y salida de agua de tal manera que la muestra de agua esté siempre actualizada al momento de realizar la determinación. Teniendo en cuenta los sólidos en suspensión que la muestra de agua pueda tener y que su ingreso en el sistema analítico podría generar inconvenientes, se diseñó un sistema de filtración.

En bibliografía (Cleary, Slater y Diamond 2010), (Cleary, Slater y McGraw, y otros 2008), (Slater, y otros 2007) se observó que en trabajos similares fueron implementados sistemas de filtración basados en filtros de membrana y portafiltros hechos a medida. Para el presente trabajo se diseñó un sistema de 2 etapas: por un lado un pre-filtro que consta de una pieza de plástico con agujeros tipo colador adosada a la entrada de agua cuya finalidad es repeler sólidos en suspensión de tamaño grande (Figura 67) y luego antes de ingresar la muestra al sistema de bombas solenoide se puso un portafiltros (obtenido mediante impresión 3D) con un filtro de membrana en su interior (Figura 68). En la Figura 69 se puede ver el costado del analizador con la entrada y salida de agua y el sistema de filtración.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

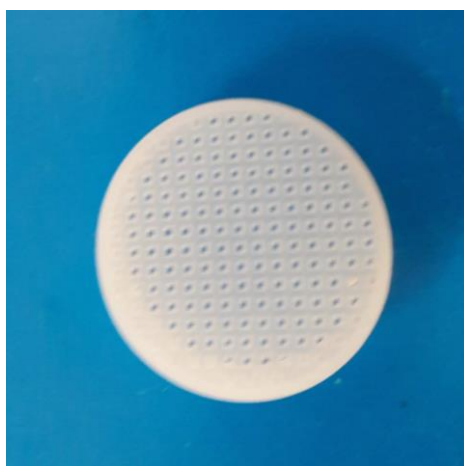


Figura 67: Pre-filtro a la entrada de la muestra de agua.



Figura 68: Portafiltros diseñado mediante impresión 3D para filtro de membrana.



Figura 69: Costado del analizador (vista de las 2 etapas del sistema de filtración).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.2.3. Frascos y su contenido

El analizador tiene en su interior 5 frascos *Nalgene* de LDPE¹⁵ (Figura 65). Los contenidos de cada frasco son:

- Frasco 1: Volumen 500 mL. Contiene agua desionizada.
- Frasco 2: Volumen 250 mL. Contiene el reactivo para fosfato.
- Frasco 3: Volumen 250 mL. Contiene el reactivo para nitrito.
- Frasco 4: Volumen 250 mL. Contiene el patrón de calibración.
- Frasco 5: Volumen 500 mL. Contendrá los desechos que se vayan generando.

En el anexo 12.3 se describe la preparación de los reactivos de desarrollo de color para los analitos y del patrón de calibración.

Respecto al patrón de calibración, este contiene en el mismo frasco mezclados los 3 analitos juntos en concentraciones conocidas (fosfato, nitrito y nitrato), a este tipo de patrón se le denomina patrón conjunto. Utilizar disoluciones patrón con varios analitos mezclados en un mismo frasco es frecuente en el trabajo de rutina en los laboratorios, existen antecedentes de trabajar de esta forma (Moshoeshoe y Obuseng 2018) e incluso se comercializan estándares certificados con varios aniones en un mismo frasco (Fisher Chemical 2018). Este tipo de patrones mezclados tiene como inconvenientes por ejemplo que uno de los patrones de analito tenga como impureza a otro de los analitos en estudio y, en el caso en particular del presente trabajo, tener mezclados fosfato, nitrito y nitrato que son nutrientes podría provocar el deterioro rápido de la disolución de patrones. De todos modos en las pruebas de desempeño del analizador se evaluó el comportamiento de este patrón conjunto y no hubo evidencia de deterioro significativo de la disolución de patrones en el período de autonomía deseado (1 semana).

¹⁵ LDPE: Polietileno de baja densidad

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6.2.4. Programación

El *software* del analizador se realizó programando la placa Arduino UNO a través de su entorno de programación. Esto tiene como objetivo que el analizador realice las siguientes rutinas y subrutinas:

- I. Determinación de fosfato
 - a. Ajustes fotométricos
 - b. Medida del blanco
 - c. Medida del patrón de calibración
 - d. Cálculo de los parámetros de calibración (ortofosfato)
 - e. Determinación de fosfato en la muestra
 - f. Envío del SMS al usuario con los parámetros de calibración y la concentración hallada de fosfato en la muestra
- II. Determinación de nitrito
 - a. Ajustes fotométricos
 - b. Medida del blanco
 - c. Medida del patrón de calibración
 - d. Cálculo de los parámetros de calibración (nitrito)
 - e. Determinación de nitrito en la muestra
 - f. Envío del SMS al usuario con los parámetros de calibración y la concentración hallada de nitrito en la muestra
- III. Determinación de nitrato+nitrito
 - a. Ajustes fotométricos
 - b. Medida del blanco
 - c. Medida del patrón de calibración (nitrito+nitrato)
 - d. Cálculo de los parámetros de calibración
 - e. Determinación de nitrato+nitrito en la muestra
 - f. Envío del SMS al usuario con los parámetros de calibración y la concentración hallada de nitrato+nitrito en la muestra
- IV. Descanso hasta el nuevo ciclo de análisis

Para poder realizar la calibración, el *software* tiene pre-cargadas las concentraciones de los analitos en el patrón de calibrado, las cuales son:

- Fósforo: $25 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$
- Nitrito: $1200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ N-NO}_2^-$
- Nitrato: $2500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$

El microcontrolador adquiere datos pero no en todo momento sino que comienza a adquirir datos (digitalizar la señal del detector) una vez que fue bombeado el reactivo de

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

desarrollo de color (para ahorrar memoria del microcontrolador), esto es igual para los 3 analitos (en el caso del fosfato además se espera a que culmine el tiempo de flujo detenido para empezar la adquisición de datos). La frecuencia de la adquisición de datos en el microcontrolador es de 20 muestras/segundo al igual que se hizo durante la validación en el laboratorio.

Para calcular las alturas de los picos y así estimar los parámetros de calibración; se implementó en la programación un algoritmo sencillo de detección del pico. Al realizar una determinación (ya sea del blanco, del patrón o de la muestra), los valores de señal (absorbancia) se guardan en un vector de datos. Los primeros 20 valores del vector se promedian (se sabe que en esos primeros 20 valores no empieza a salir el pico aún) y ese valor se establece como la línea de base. Luego el programa busca el valor máximo del vector y por último la diferencia entre ese valor máximo y el valor de la línea de base es lo que se toma como la altura de pico (Figura 70).

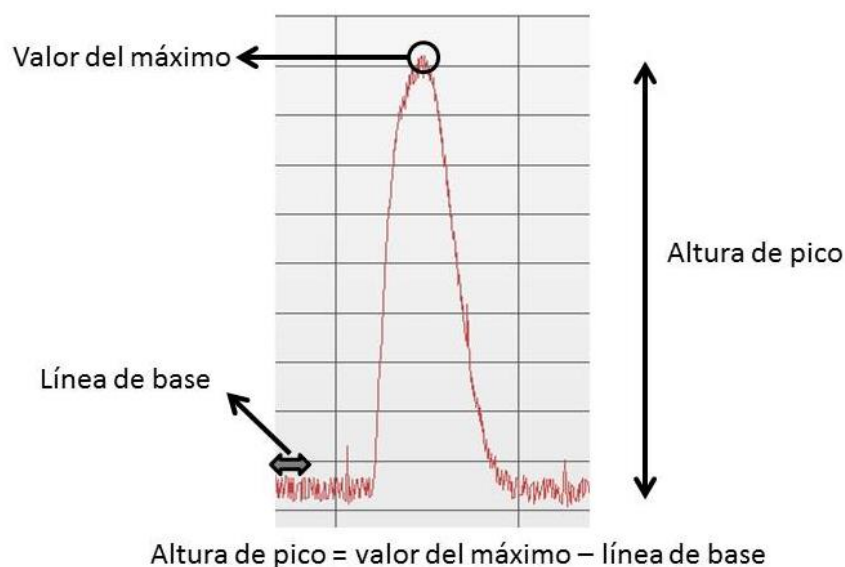


Figura 70: Explicación de cómo estima el microcontrolador la altura de los picos.

El ciclo de análisis dura unos 25 minutos y luego el sistema descansa unas 5 horas y 35 minutos de tal manera de hacer un ciclo completo de análisis (los 3 analitos) cada 6 horas.

El programa tiene incorporado el número de teléfono móvil del usuario para el envío del SMS con los resultados. En el anexo 12.1 se muestra el programa redactado en el IDE de Arduino y ejecutado en la placa Arduino UNO.

6.2.5. Descripción del ciclo de análisis

El ciclo de análisis empieza con la determinación de fosfato; luego sigue la de nitrito y por último la de nitrato+nitrito; para luego descansar hasta volver a comenzar un ciclo (cada 6 horas se hace un ciclo de análisis). A continuación se describen brevemente cada una de las determinaciones analíticas.

6.2.5.1. Determinación de fosfato

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

El analizador empieza realizando los ajustes fotométricos correspondientes, luego hace una medida del blanco de calibración (agua desionizada); establece la línea de base haciendo circular un determinado tiempo el líquido portador y luego inyecta este mismo de forma binaria (en pequeños segmentos intercalados con segmentos del reactivo); luego se detiene el flujo durante 1 minuto para que se desarrolle la reacción química y se forme el color del compuesto y por último se reinicia el bombeo del líquido portador para que llegue al detector. Luego del agregado del reactivo de desarrollo de color se va registrando la absorbancia relativa en un vector de datos (excepto durante el tiempo de flujo detenido); finalizada la medida del blanco el algoritmo del microcontrolador calcula la altura de pico respecto de la línea de base y se memoriza este valor.

Luego realiza la medición del patrón de fosfato de la misma forma que el blanco. De nuevo el algoritmo determina la altura del pico respecto a la línea de base y se memoriza este valor. En ese momento el microcontrolador calcula los parámetros de la calibración (pendiente y ordenada) de la siguiente manera:

$$\textbf{Ordenada} = \textbf{altura de pico del blanco}$$

$$\textbf{Pendiente} = \frac{\textbf{Altura de pico del patrón} - \textbf{altura de pico del blanco}}{\textbf{Concentración del patrón (mg L}^{-1}\text{ P)}}$$

Ecuaciones 8 y 9: Cálculo de los parámetros de calibración para fosfato por parte del microcontrolador.

Luego se activa la bomba de muestreo para actualizar la muestra de agua y un cierto tiempo después se inicia la medición de la absorbancia relativa de la muestra igual que como se hace en el blanco y el patrón. De nuevo el algoritmo determina la altura de pico de la muestra respecto a la línea de base y por último utilizando la calibración hallada determina la concentración de fosfato en la muestra:

$$\textbf{C}_{\text{fosfato}} (\textbf{mg L}^{-1}\text{ P}) = \frac{\textbf{altura de pico de la muestra} - \textbf{ordenada}}{\textbf{pendiente}}$$

Ecuación 10: Cálculo de la concentración de fosfato en la muestra.

La Figura 71 muestra el diagrama de tiempos en la determinación de fosfato. Esta determinación lleva un tiempo aproximado de 10-11 minutos y al terminar la misma y antes de empezar con la determinación siguiente, se envía al usuario un mensaje de texto con los parámetros de calibración para fosfato y el valor de concentración de dicho analito en la muestra.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

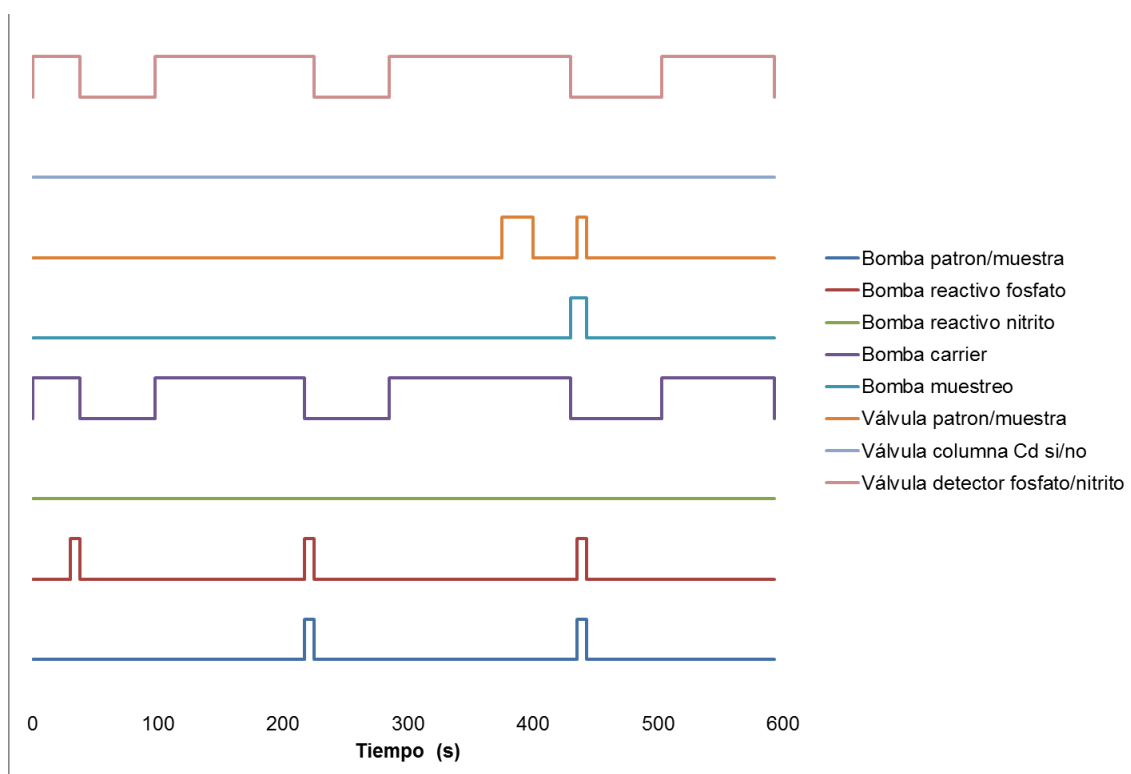


Figura 71: Diagrama de tiempos del analizador para la determinación de fosfato.

6.2.5.2. Determinación de nitrito

El analizador empieza realizando los ajustes fotométricos correspondientes, luego hace una medida del blanco de calibración (agua desionizada) de la misma manera que se hizo para fosfato; con la salvedad que en esta determinación no hay tiempo de flujo detenido. Finalizada la medida del blanco el algoritmo del microcontrolador calcula la altura de pico respecto de la línea de base y se memoriza este valor.

Luego realiza la medición del patrón de nitrito de la misma forma que el blanco. De nuevo el algoritmo determina la altura del pico respecto a la línea de base y se memoriza este valor. En ese momento el microcontrolador calcula los parámetros de la calibración (pendiente y ordenada) de la siguiente manera:

$$\text{Ordenada} = \text{altura de pico del blanco}$$

$$\text{Pendiente} = \frac{\text{Altura de pico del patrón} - \text{altura de pico del blanco}}{\text{Concentración del patrón (mg L}^{-1}\text{ N - NO}_2^-)}$$

Ecuaciones 11 y 12: Cálculo de los parámetros de calibración para nitrito por parte del microcontrolador.

Luego se activa la bomba de muestreo para actualizar la muestra de agua y un cierto tiempo después se inicia la medición de la absorbancia relativa de la muestra igual que como se hace en el blanco y el patrón. De nuevo el algoritmo determina la altura de pico de la muestra respecto a la línea de base y por último utilizando la calibración hallada determina la concentración de fosfato en la muestra según:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

$$C_{\text{nitrito}} (\text{mg L}^{-1} \text{ N} - \text{NO}_2^-) = \frac{\text{altura de pico de la muestra} - \text{ordenada}}{\text{pendiente}}$$

Ecuación 13: Cálculo de la concentración de nitrito en la muestra.

La Figura 72 muestra el diagrama de tiempos para la determinación de nitrito, el tiempo de esta parte dura aproximadamente unos 7 minutos y al terminar la misma y antes de empezar con la determinación siguiente, se envía al usuario un mensaje de texto con los parámetros de calibración para nitrito y el valor de concentración de dicho analito en la muestra.

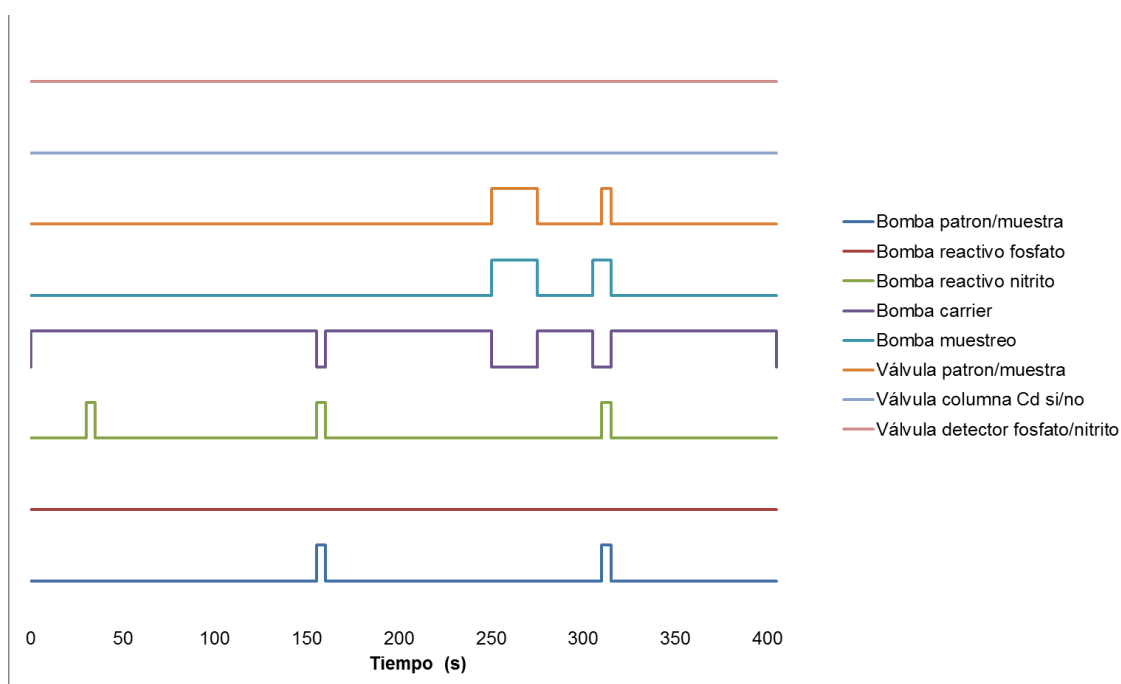


Figura 72: Diagrama de tiempos del analizador para la determinación de nitrito.

6.2.5.3. Determinación de nitrato+nitrito

El analizador empieza realizando los ajustes fotométricos correspondientes (los mismos que para nitrito), luego hace una medida del blanco de calibración (agua desionizada) de la misma manera que se hizo para nitrito; con la salvedad que ahora el líquido pasa a través de la columna de cadmio cuperizado. Finalizada la medida del blanco el algoritmo del microcontrolador calcula la altura de pico respecto de la línea de base y se memoriza este valor.

Luego realiza la medición del patrón de nitrato+nitrito de la misma forma que el blanco. De nuevo el algoritmo determina la altura del pico respecto a la línea de base y se memoriza este valor. En ese momento el microcontrolador calcula los parámetros de la calibración (pendiente y ordenada) de la siguiente manera:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Ordenada = altura de pico del blanco

$$\text{Pendiente} = \frac{\text{Altura de pico del patrón} - \text{altura de pico del blanco}}{\text{Concentración del patrón (mg L}^{-1} \text{ N - NO}_2^- + \text{N - NO}_3^-)}$$

Ecuaciones 14 y 15: Cálculo de los parámetros de calibración para nitrato+nitrato por parte del microcontrolador.

Luego se activa la bomba de muestreo para actualizar la muestra de agua y un cierto tiempo después se inicia la medición de la absorbancia relativa de la muestra igual que como se hace en el blanco y el patrón. De nuevo el algoritmo determina la altura de pico de la muestra respecto a la línea de base y por último utilizando la calibración hallada determina la concentración de fosfato en la muestra según:

$$C_{\text{nitrato+nitrato}} (\text{mg L}^{-1} [\text{N - NO}_2^- + \text{N - NO}_3^-]) = \frac{\text{altura de pico muestra} - \text{ordenada}}{\text{pendiente}}$$

Ecuación 16: Cálculo de la concentración de nitrato+nitrato en la muestra.

La Figura 73 muestra el diagrama de tiempos para la determinación de nitrato+nitrato, el tiempo de esta parte dura aproximadamente unos 8 minutos y al terminar la misma y antes de empezar con el descanso del sistema y recomenzar un ciclo de análisis, se envía al usuario un mensaje de texto con los parámetros de calibración para nitrato+nitrato y el valor de concentración de dicho parámetro en la muestra.

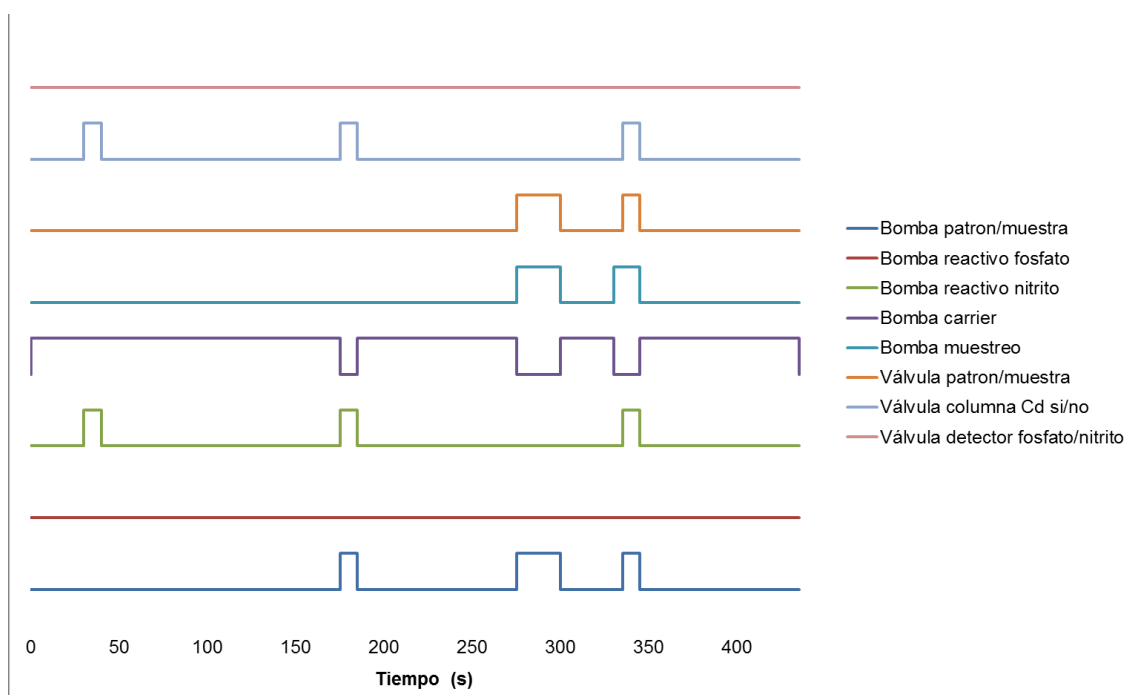


Figura 73: Diagrama de tiempos del analizador para la determinación de nitrato+nitrato.

Terminadas las determinaciones; el sistema se pone en modo de descanso por un lapso de 5 horas y 35 minutos (se apagan todos los actuadores, los sistemas de detección y

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

se pone el microcontrolador en el modo *sleep* para ahorro de energía) para luego reiniciar el ciclo de análisis.

6.2.6. Instalación del analizador y mantenimiento

Para la instalación del analizador en el sitio de operación, la persona encargada de este procedimiento deberá llevar consigo una *notebook* para conectarse mediante el cable USB incorporado al analizador y realizar ciertas tareas previas: Comprobación del *hardware*, purga del aire de las líneas del sistema en flujo y carga del *software* actualizado en el microcontrolador. A su vez para la transmisión de datos mediante mensaje de texto se deberá dejar instalada en el módulo GSM una tarjeta SIM.

En cuanto al mantenimiento; luego de 1 semana se deberá recoger el analizador del lugar, poner a cargar sus baterías y recargar los frascos de agua desionizada, reactivo de fosfato, reactivo de nitrito/nitrato y patrón. A su vez se deberán gestionar los residuos generados; estos residuos son peligrosos para el medio ambiente ya que los reactivos de desarrollo de color se preparan en medio fuertemente ácido (anexo 12.3); para gestionarlos se deberá proceder a su neutralización a pH 6-8 y luego si disponer de ellos adecuadamente.

6.2.7. Alimentación eléctrica y autonomía

En el anexo 12.2 se puede ver el cálculo del consumo energético del analizador para poder dimensionar la capacidad de las baterías con el fin de otorgarle una autonomía razonable; se define como autonomía razonable una autonomía de una semana de trabajo a razón de 4 análisis diarios completos (fosfato, nitrito y nitrato+nitrito). Mayor autonomía eléctrica carece de sentido ya que cada una semana hay que recargar los frascos con agua, reactivos y patrón y disponer de los residuos generados.

El analizador utiliza como fuente de alimentación eléctrica baterías de ion litio (Li-ion) modelo 18650. Estas son baterías recargables cuyo electrolito es una sal de litio; son cilíndricas de 18 mm de diámetro x 65 mm de largo (similares a las pilas AA) con un voltaje de salida nominal de 3,7 V y capacidades asequibles al día de hoy de hasta casi 10.000 mAh. Este tipo de baterías son utilizadas en dispositivos que requieren alta capacidad (linternas LED, baterías de ordenadores portátiles, *power bank*, etc.). Una gran ventaja de este tipo de baterías es su bajo nivel de autodescarga y su nulo efecto memoria; además de ser livianas, de mínimo mantenimiento y vida útil de 400 a 1200 ciclos de carga-descarga (Wikipedia, Baterías de ión litio).

En el analizador construido se utilizaron baterías Li-ion 18650 de 3000 mAh (Figura 74) debido a que eran las baterías disponibles. Estas baterías debido a su capacidad le otorgan una autonomía de 3 días.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



Figura 74: Baterías utilizadas en el analizador.

6.2.8. Pruebas de desempeño del analizador

6.2.8.1. Monitoreo de la calibración

Una de las primeras pruebas realizadas en el analizador multiparamétrico, fue monitorear las calibraciones para los diferentes analitos (fosfato, nitrito y nitrato+nitrito) en días diferentes para ver si se mantienen estables a lo largo del tiempo. Las Figuras 75-77 muestran las pendientes de calibración para los 3 analitos en días consecutivos de trabajo.

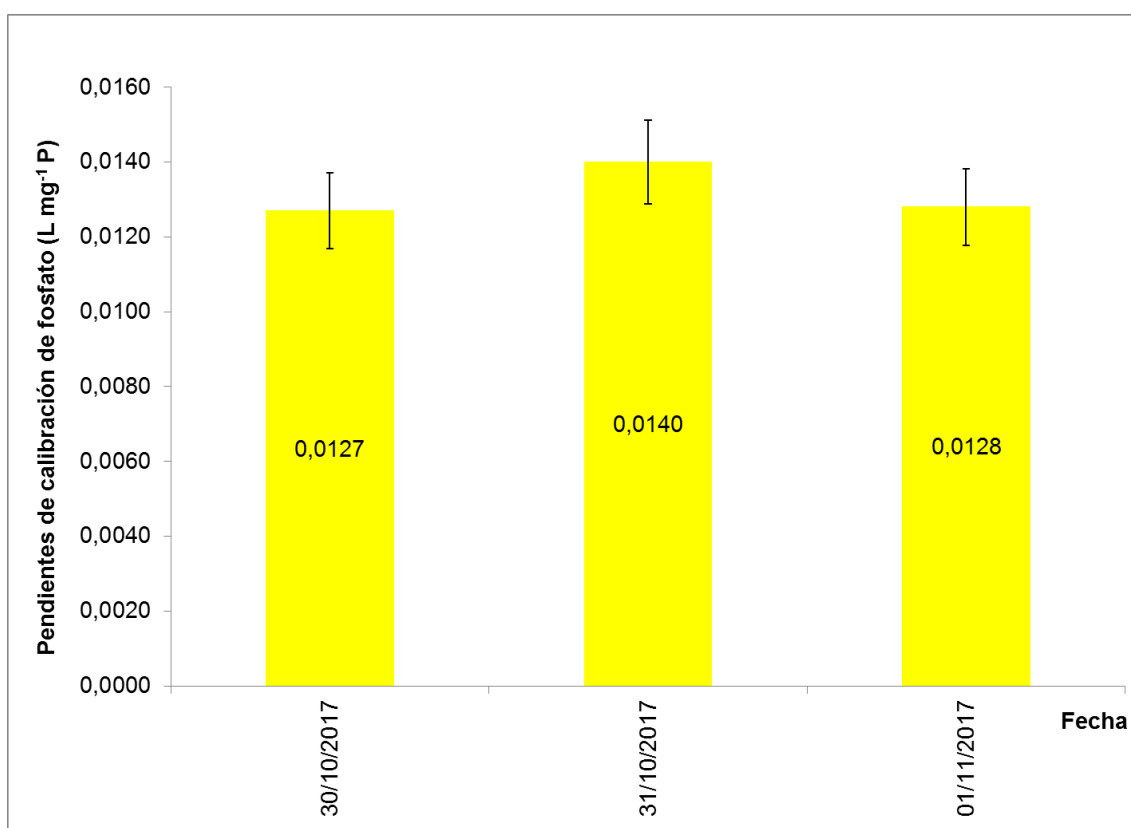


Figura 75: Pendientes de calibración para fosfato obtenidas en días consecutivos de trabajo.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Se observa que no hay un cambio significativo de las pendientes para fosfato en días diferentes, lo cual se considera aceptable para un analizador autónomo.

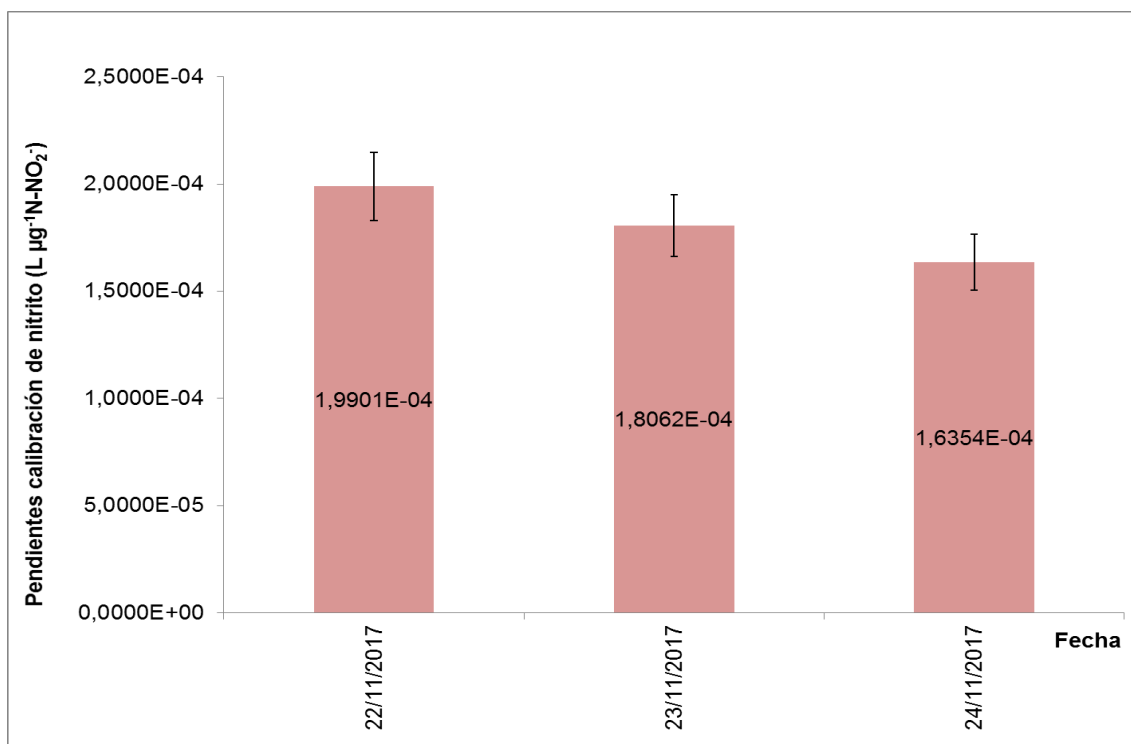


Figura 76: Pendientes de calibración de nitrito obtenidas en días consecutivos de trabajo.

Para el caso de nitrito, se observa una disminución de la pendiente a lo largo del tiempo lo cual era de esperar ya que el reactivo de nitrito de por si se va deteriorando con el tiempo.

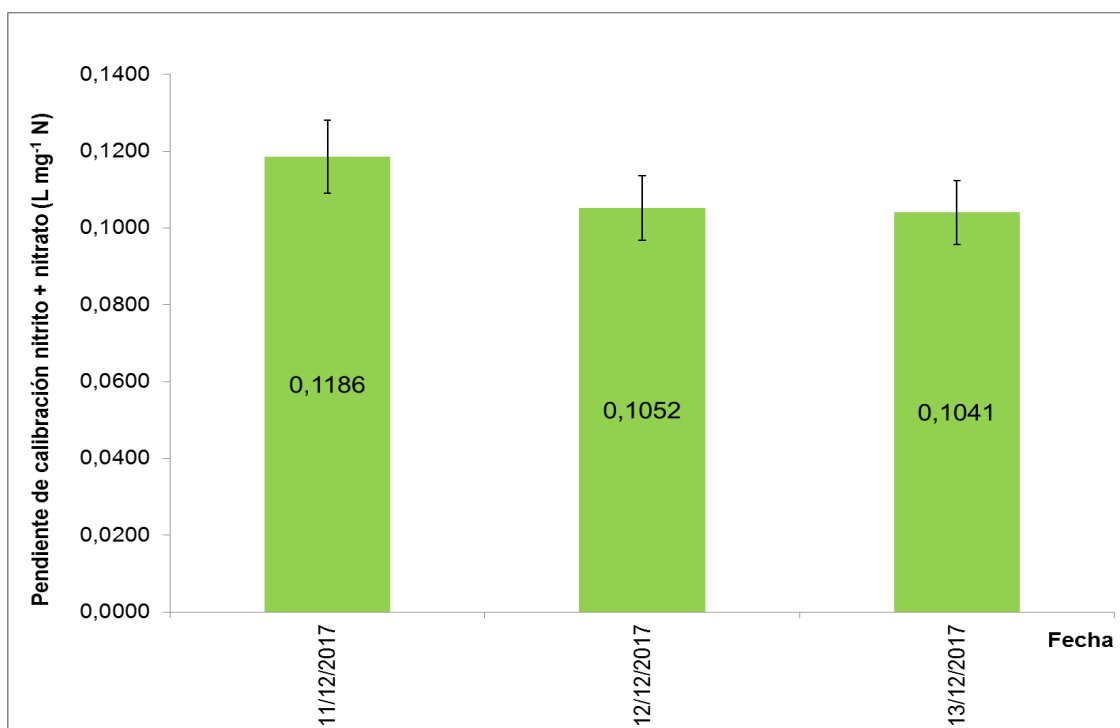


Figura 77: Pendientes de calibración de nitrato+nitrito obtenidas en días consecutivos de trabajo.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

También se observa en el caso de las pendientes de nitrito/nitrato una disminución en las pendientes debido a que la química es la misma que para la determinación de nitrito y el reactivo se va descomponiendo con el tiempo.

6.2.8.2. Recuperación en muestras fortificadas

Una segunda etapa de la evaluación del desempeño del analizador terminado fue en el laboratorio, determinando la concentración de analito en muestras de agua artificiales (preparadas con agua desionizada a la cual se le agregó una cantidad exactamente conocida de analito) y comparando los resultados obtenidos con los valores nominales.

Fosfato:

Para fosfato se prepararon muestras artificiales a 3 niveles de concentración (0, 2 y 4 mg L⁻¹ P) y se midieron por triplicado. La Tabla 25 y la Figura 78 muestran la correlación entre los valores obtenidos por el analizador y los valores nominales:

Tabla 25: Concentraciones de fosfato obtenidas por el analizador y nominales en muestras fortificadas.

Concentración nominal (mg L ⁻¹ P)	Concentración obtenida (mg L ⁻¹ P)	Diferencia (mg L ⁻¹ P)
0.00	ND	0.00
	0.29	+0.29
	0.16	+0.16
2.00	1.87	-0.13
	1.77	-0.23
	2.16	+0.16
4.00	4.48	+0.48
	5.43	+1.43
	4.25	+0.25

Se observa una correlación aceptable entre los valores obtenidos por el analizador y los valores nominales de las muestras artificiales aunque los valores obtenidos por el analizador dan levemente más altos que los valores nominales sobre todo a altas concentraciones de fosfato.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

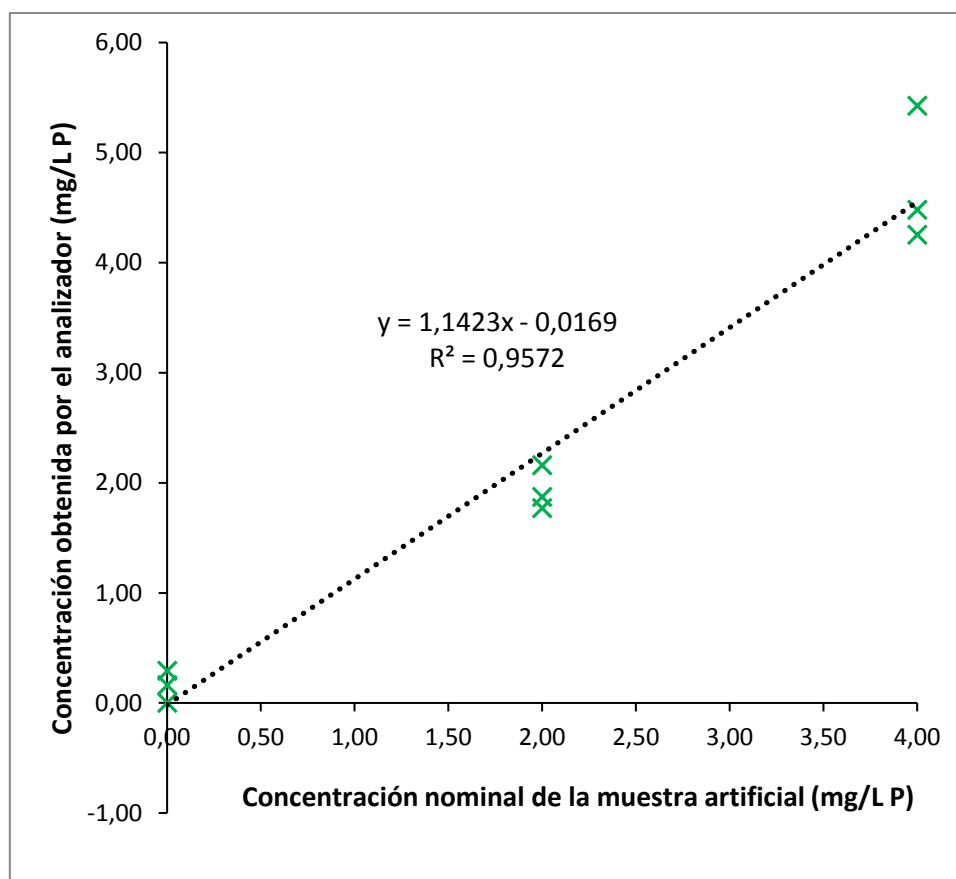


Figura 78: Comparación entre los valores nominales de las muestras artificiales y los obtenidos por el analizador.

Nitrito:

Para nitrito se prepararon muestras artificiales a 3 niveles de concentración (0, 750 y 1500 $\mu\text{g L}^{-1}$ N-NO₂⁻) y se midieron por triplicado. La Tabla 26 y la Figura 79 muestran la correlación entre los valores obtenidos por el analizador y los valores nominales:

Tabla 26: Concentraciones de nitrito obtenidas por el analizador y nominales en las muestras fortificadas.

Concentración nominal ($\mu\text{g L}^{-1}$ N-NO ₂ ⁻)	Concentración obtenida ($\mu\text{g L}^{-1}$ N-NO ₂ ⁻)	Diferencia ($\mu\text{g L}^{-1}$ N-NO ₂ ⁻)
0.0	ND	0
	31	+30
	31	+30
761	883	+122
	822	+61
	853	+91
1523	1705	+183
	1736	+213
	1675	+152

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

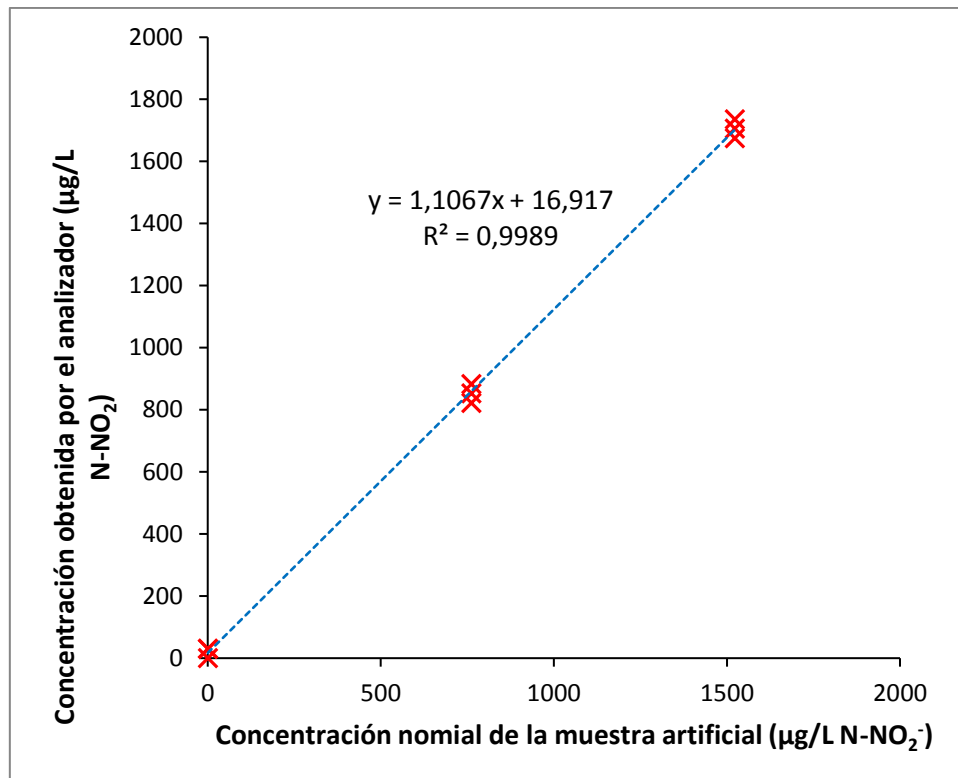


Figura 79: Comparación entre los valores nominales de las muestras artificiales y los obtenidos por el analizador para nitrito.

De nuevo, se observa una correlación aceptable entre los valores obtenidos por el analizador y los valores nominales de las muestras artificiales aunque se observa también que en todos los casos los valores obtenidos por el analizador son levemente más altos que los nominales.

Nitrato:

Para nitrato se prepararon muestras artificiales a 3 niveles de concentración (0, 1100 y 2300 $\mu\text{g L}^{-1}$ N- NO_3^-) y se midieron por triplicado. La Tabla 27 y la Figura 80 muestran la correlación entre los valores obtenidos por el analizador y los valores nominales:

Tabla 27: Concentraciones de nitrato obtenidas por el analizador y nominales en las muestras fortificadas.

Concentración nominal ($\mu\text{g L}^{-1}$ N- NO_3^-)	Concentración obtenida ($\mu\text{g L}^{-1}$ N- NO_3^-)	Diferencia ($\mu\text{g L}^{-1}$ N- NO_3^-)
0.0	ND	0
	ND	0
	ND	0
1139	1243	+104
	1288	+149
	1107	-32
2278	2621	+343
	2214	-64
	2485	+207

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

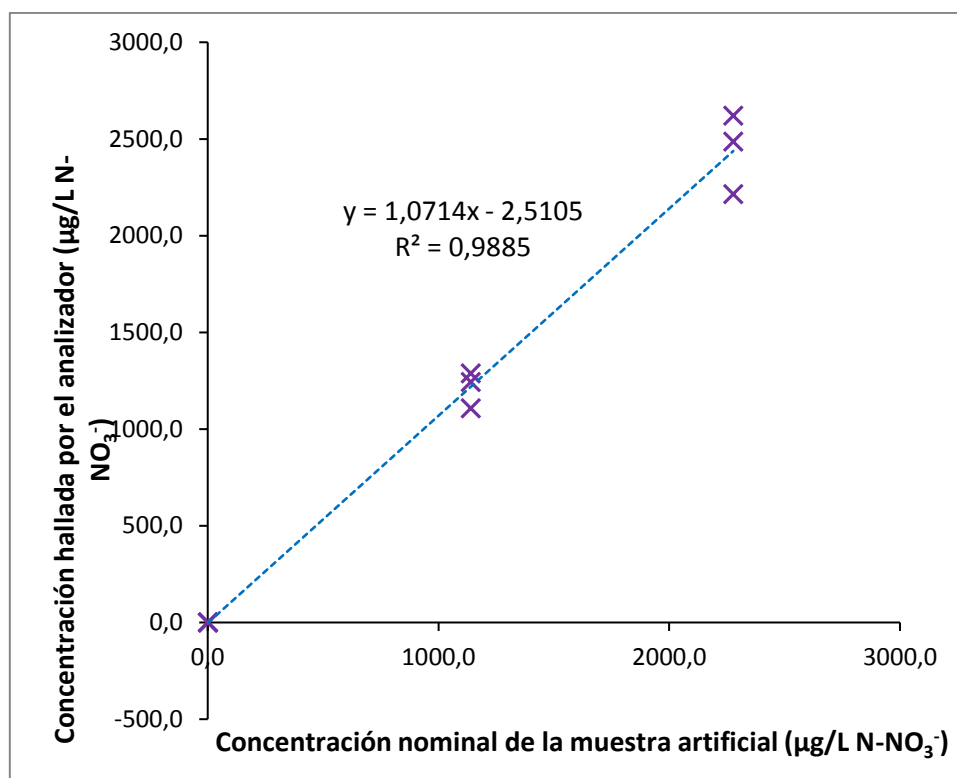


Figura 80: Comparación entre los valores nominales de las muestras artificiales y los obtenidos por el analizador para nitrato.

De nuevo, se observa una correlación aceptable entre los valores obtenidos por el analizador y los valores nominales de las muestras artificiales aunque se observa también que en la mayoría de los casos los valores obtenidos por el analizador son levemente más altos que los nominales.

6.2.8.3. Pruebas de campo en cursos de agua

En la parte final del presente trabajo, se evaluó el desempeño del analizador en campo dejándolo instalado junto a un curso de agua. Al mismo tiempo, se tomaron muestras para analizarlas en el laboratorio y comparar resultados.

Debido a que no se quiso correr riesgos en cuanto a robo o vandalismo ni tampoco de averías por crecidas o inundaciones, se buscó un lugar donde se pudiese dejar el analizador vigilado o al menos en un sitio no público. La locación elegida cumplió con ese requisito. El sitio de pruebas fue en el arroyo Pando en el departamento de Canelones.

Poniendo en contexto la información disponible para entender los resultados que se esperaban obtener; el departamento de Canelones cuenta con varias subcuencas hidrográficas (Figura 81) de las cuales la del arroyo Pando es una de ellas. El departamento cuenta con un sinfín de emprendimientos agrícolas e industriales además de ser el segundo departamento más poblado del país lo cual explica las altas descargas de efluentes agroindustriales y de hogares en los diferentes cursos de agua sobre todo cerca del área metropolitana donde justamente se ubica la subcuenca del arroyo Pando (Figura 82).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



Figura 81: Subcuencas del departamento de Canelones (Goyenola, y otros 2011).

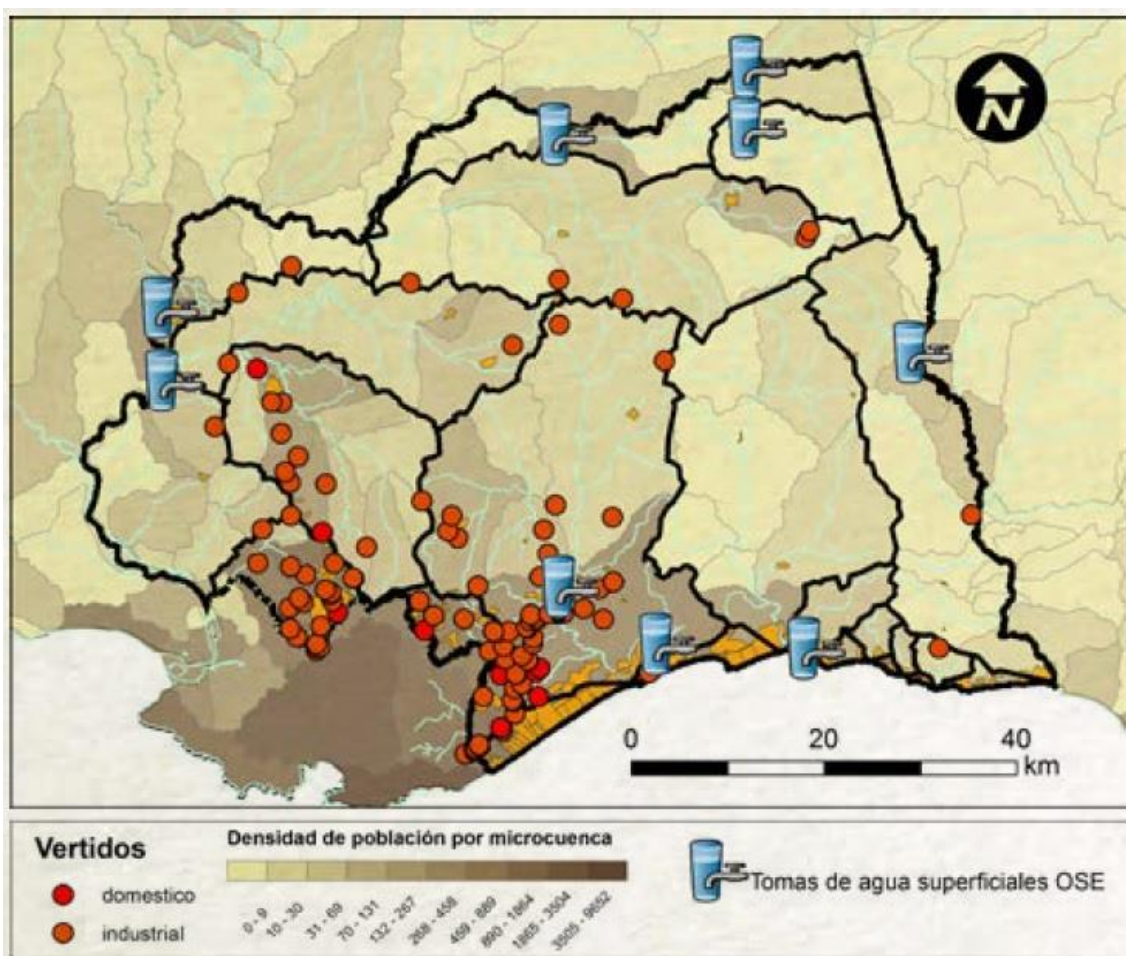


Figura 82: Vertidos domésticos e industriales en Canelones.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Los niveles de nutrientes en los cursos de agua del departamento de Canelones variados; en lo que refiere al fósforo, en general los valores de concentración se hallan muy por encima de lo establecido en el decreto 253/79 (Figura 83), mientras que para el nitrógeno los niveles son bajos (Figura 84) (Goyenola, y otros 2011).

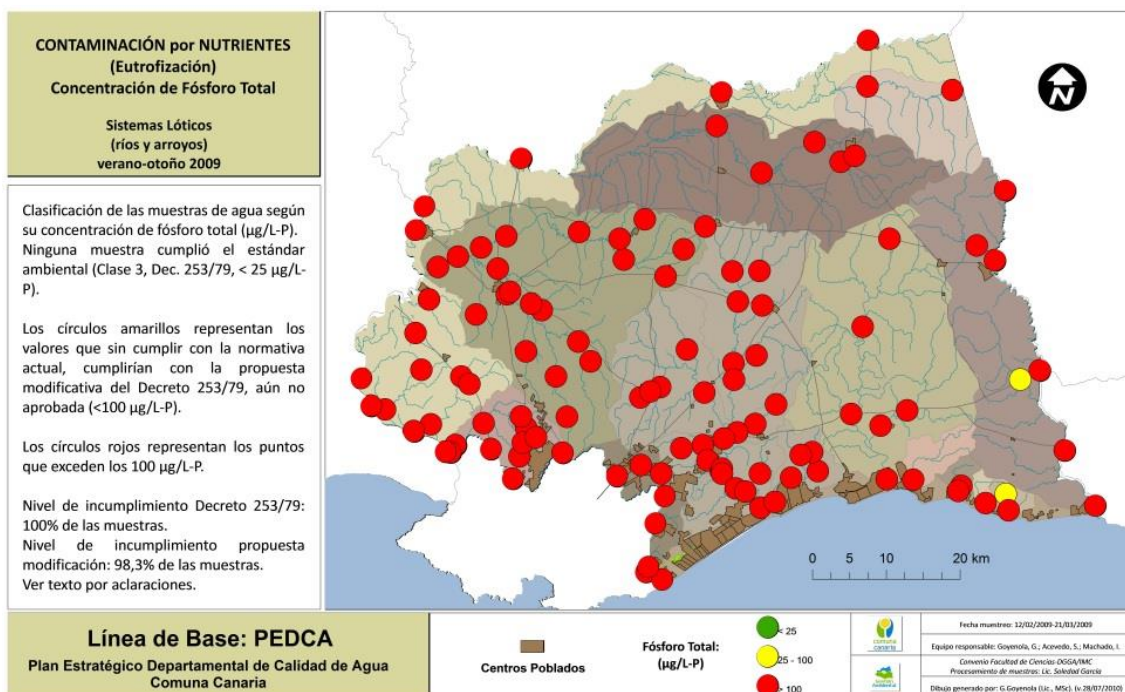


Figura 83: Niveles de fósforo en los cursos de agua de Canelones.

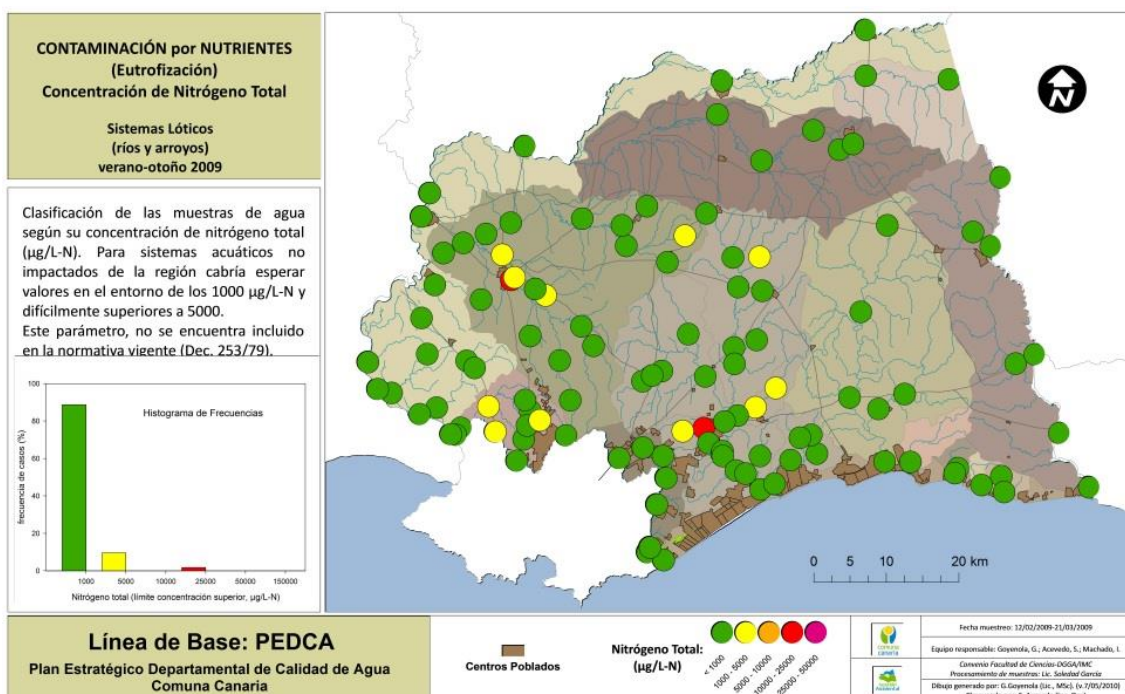


Figura 84: Niveles de nitrógeno en los cursos de agua de Canelones.

Por todo lo anterior es que los resultados que a priori se esperaban encontrar en las pruebas de campo con el analizador eran valores elevados para fosfato, valores bajos o nulos para nitrito y valores bajos a medios para nitrato.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

El sitio de pruebas está ubicado en la ciudad de Pando. Se trata de una finca cuyo predio da a orillas del arroyo del mismo nombre. Las Figuras 85 y 86 muestran fotos satelitales del lugar. Las coordenadas geográficas del sitio de prueba son:

-34700152, -55.944990



Figura 85: Ubicación del sitio de prueba del analizador.

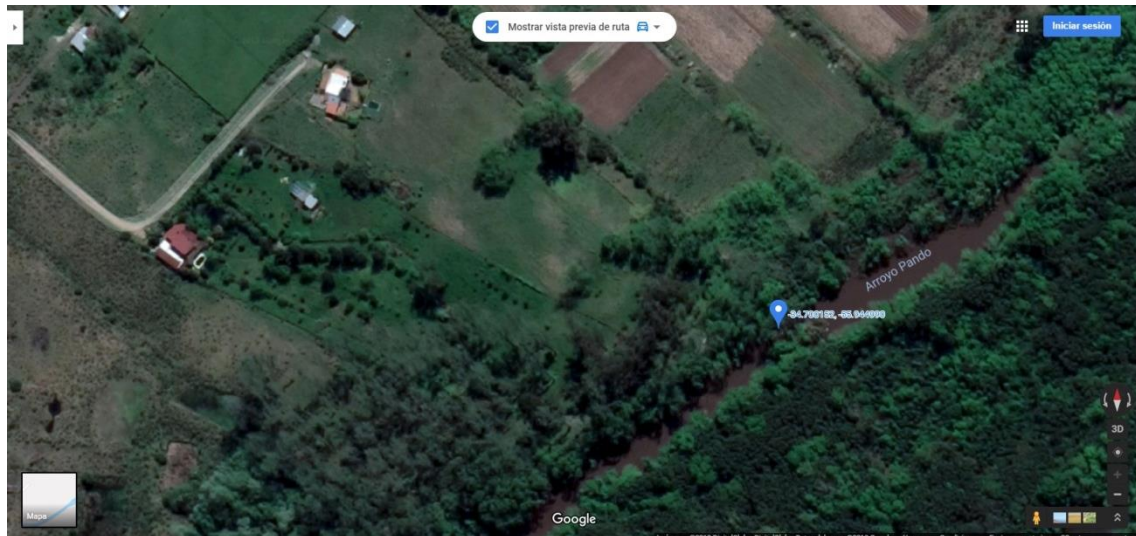


Figura 86: Coordenadas geográficas del sitio de prueba.

La Figura 87 muestra una foto de la orilla del arroyo Pando en el lugar donde se realizó la prueba.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

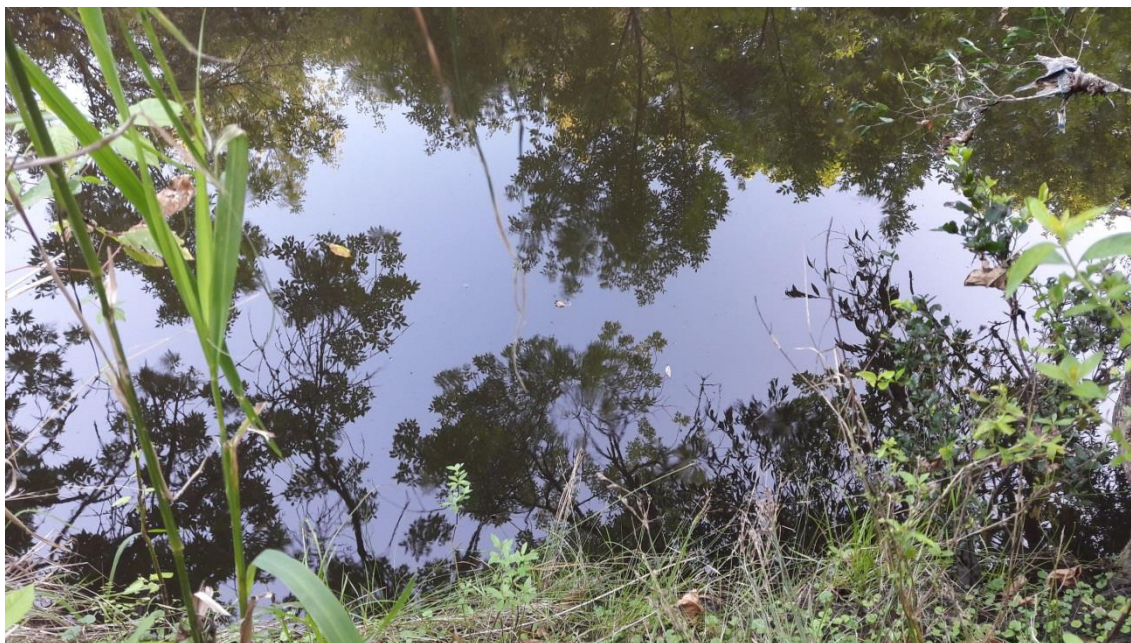


Figura 87: Orilla del arroyo Pando donde se dejó el analizador para la prueba de campo.

Este sitio al ser propiedad privada y de personas conocidas brindó la tranquilidad de que el analizador estaría en un lugar con cierta vigilancia. Las pruebas duraron 24 horas. El analizador se instaló un día sábado (09/02/19) alrededor de las 18:00 horas y operó hasta el día siguiente pudiendo realizar 5 determinaciones de los 3 parámetros (una cada 6 horas).

Al momento de la instalación, se cargó el programa el cual primero quita el aire del sistema y limpia las líneas con las disoluciones a utilizar y luego comienza con los ciclos de análisis (Figura 88).



Figura 88: Momento de la instalación.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

El analizador se dejó instalado apoyado sobre el tronco de un árbol ya que por las características del sitio fue el mejor lugar para dejarlo agarrado y que el caño que toma muestra de agua quede sumergido (Figuras 89 y 90).



Figura 89: El analizador Instalado.



Figura 90: Analizador instalado.

La Figura 91 muestra cómo quedó sumergido el caño que colecta la muestra de agua.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales



Figura 91: Caño colector de muestra sumergido.

A su vez, se tomaron manualmente 2 muestras de agua del arroyo Pando; una en el momento de la instalación y otra al momento de retirar el analizador colectadas muy próximas a donde estaba la toma de agua. Estas muestras fueron guardadas en heladera y analizadas en el laboratorio 48-72 hs luego de recolectadas. El anexo 12.4 muestra resultados del análisis en el laboratorio.

La Figura 92 muestra los valores dados por el analizador (enviados mediante mensaje de texto al teléfono móvil) los cuales se muestran en forma gráfica y también se ven los valores de las muestras tomadas a mano y analizadas en el laboratorio.

Los valores de fósforo en el sitio de prueba dieron siempre valores altos (del orden de los mg/L P). El primer valor correspondiente a fosfato parece ser anómalo comparado con el resto y quizás se deba a que no hubo una buena limpieza del sistema al momento de la instalación.

El nitrito dio siempre no detectado, lo cual es de esperarse ya que rara vez se suele encontrar en los cuerpos de agua. Respecto al nitrato solo en la primera determinación dio un valor cuantificable pero el mismo fue bajo.

Si bien es una cantidad de datos pequeña como para sacar conclusiones en base a comparaciones; la prueba de campo se consideró satisfactoria en cuanto a que el desempeño fue sin inconvenientes y los valores dados por el analizador no se apartan demasiado de los valores de las muestras tomadas a mano y analizadas en el laboratorio. Tratándose de un prototipo que será destinado a investigación, en el trabajo a futuro se podrán realizar pruebas de campo más extensas.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

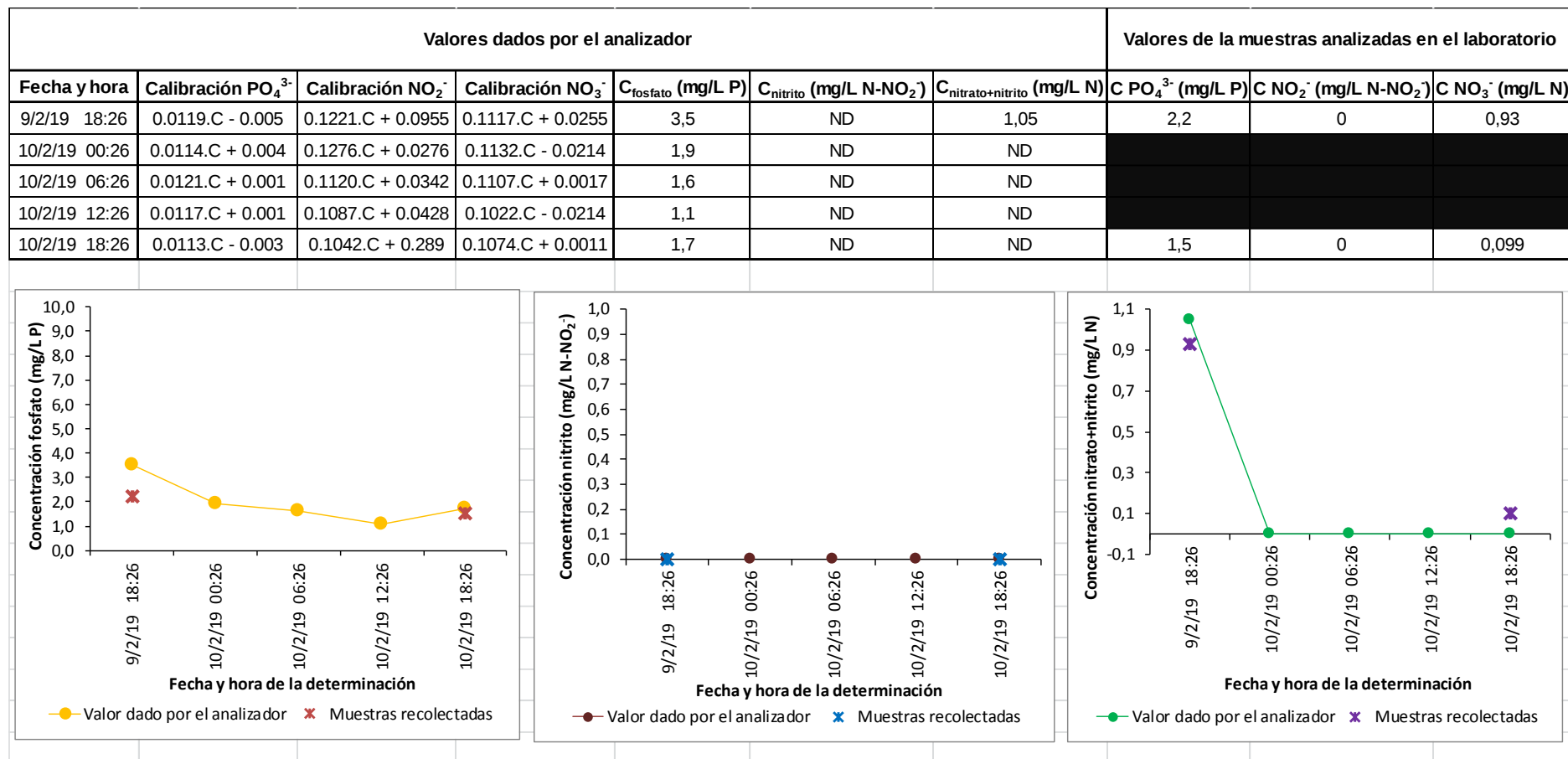


Figura 92: Comparativa de los resultados del analizador y de las muestras recolectadas¹⁶.

¹⁶ ND es No Detectado.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Un tema importante a verificar posteriormente a la prueba de campo fue el estado de los filtros. Los mismos no mostraron deterioro ni demasiado material particulado pero claro, se trató de una prueba que duró 24 horas en la cual se realizaron 5 determinaciones. La Figura 93 muestra el estado de los filtros luego de realizada la prueba de campo.



Figura 93: Filtro y pre-filtro luego de las pruebas de campo.

6.2.9. Características técnicas del analizador construido

En la tabla siguiente se muestra un resumen de las características técnicas del analizador construido:

Tabla 28: Características técnicas del analizador.

Parámetros que determina	PO ₄ , NO ₂ y NO ₂ +NO ₃
Intervalo de análisis	Cada 6 horas
Tiempo de la determinación	25 minutos para el ciclo completo
Duración de los reactivos	Hasta 1 semana
Autonomía actual	3 días (debido a las baterías disponibles)
Placa de control	Placa Arduino UNO (programable por USB)
Salida de datos	GSM/GPRS
Alimentación	6 baterías 18650 (3000 mAh c/u)
Dimensiones	40 cm x 30 cm x 20 cm
Peso	Aproximadamente 10 kg

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Si bien ciertas características pueden parecer poco atractivas (peso, dimensiones, autonomía); tratándose de una versión inicial en el trabajo a futuro se procurará mejorar sustancialmente las características del analizador.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

7. EVALUACIÓN ECONÓMICA

En este capítulo se trata de evaluar el costo total del analizador considerando su viabilidad económica de desarrollo. En el cálculo del costo se tiene en cuenta todo lo referido al *hardware* adquirido (bombas, válvulas, componentes electrónicos, etc.); no se toma en cuenta las horas de trabajo invertidas en su construcción (mano de obra).

Para dividir el cálculo del costo, se divide el analizador en varios sistemas que lo componen, a saber:

- Sistema en flujo (bombas solenoide, bomba peristáltica, válvulas, tubos, conectores, etc.)
- Sistema de detección (LEDs, fotodiodos, electrónica, etc.)
- Sistema de potencia (componentes electrónicos)
- Sistema de control (placa Arduino UNO, componentes electrónicos, etc.)
- Sistema de alimentación y resguardo (carcasas, baterías, etc.)

Tabla 29: Estimación de los costos de cada sistema.

Sistema	Componentes	Costo (USD)
Sistema en flujo	Bombas solenoide, válvulas solenoide, bomba peristáltica, celdas de flujo, tubos, conectores, etc.	3400
Sistema de detección	Portaceldas, LEDs, fotodiodos, componentes electrónicos, etc.	100
Sistema de potencia (driver)	Componentes electrónicos	35
Sistema de control	Placa Arduino UNO, componentes electrónicos, etc.	80
Sistema de alimentación y resguardo	Cajas estanco, carcasa general, baterías, etc.	210
Costo total		3825

Representado gráficamente el costo es así:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

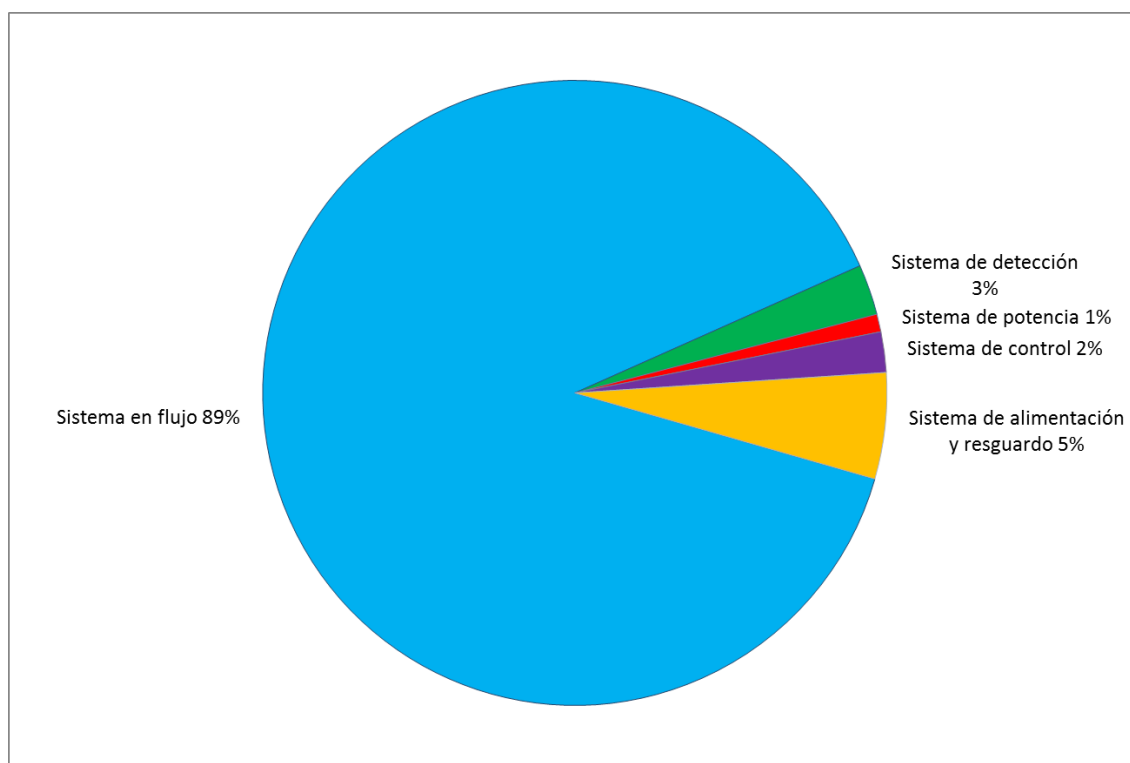


Figura 94: Porcentaje del costo total de cada sistema.

Como era de esperarse, el costo ampliamente mayoritario reviste en los componentes del sistema en flujo; de todos modos construir un analizador para fosfato, nitrito y nitrato por un costo inferior a los USD 4000 se considera bueno ya que equipos de este tipo comercialmente disponibles tienen precios de catálogo de 5 a 10 veces superiores.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

8. CONCLUSIONES

8.1. Conclusiones generales

Se profundizaron los conocimientos acerca de la influencia del contenido de nutrientes en aguas (particularmente fósforo y nitrógeno) y los perjuicios que acarrearán, particularmente en lo que refiere al fenómeno de eutrofización. Se escogieron los analitos fosfato, nitrito y nitrato para trabajar con ellos en el diseño de sistemas de análisis escalables a un analizador autónomo.

Se profundizó en cuanto a los sistemas de análisis en flujo, sistemas de detección, telemetría y el cómo desarrollar con ellos analizadores autónomos de campo. Se idearon métodos de análisis para los analitos escogidos y estos fueron optimizados y validados en el laboratorio. El aprendizaje en el trabajo con placas de microcontrolador, la creación de componentes electrónicos necesarios para el funcionamiento de los sistemas en flujo y la programación implicaron constantes desafíos en busca de soluciones robustas. Las características de desempeño de los métodos propuestos en el laboratorio fueron adecuadas para el siguiente paso.

Las metodologías implementadas luego fueron integradas en una prueba de concepto: un analizador autónomo de campo. El problema a resolver fue la integración de los diferentes sistemas de análisis de los analitos en cuestión en un espacio reducido, con una programación y electrónica que involucre no solo la parte operativa del sistema sino la comunicación de los datos obtenidos y siempre procurando mantener el costo lo más bajo posible. Logrado todo lo anterior se le evaluó su desempeño holístico el cual arrojó resultados satisfactorios tanto en pruebas de laboratorio como en pruebas en campo.

8.2. Conclusión global

Los objetivos generales y específicos del presente trabajo de tesis se cumplieron plenamente dejando como resultado final no solo este informe escrito sino también un instrumento que es apto para pruebas de campo con fines de investigación.

La tesis aportó nuevos conocimientos científicos sobre la influencia de los nutrientes en el estado eutrófico de los cuerpos de agua, formas de detección sencillas y de bajo costo, instrumentación y automatización para su uso en química analítica, telemetría y monitoreo ambiental y cómo esto puede contribuir a la toma de medidas para mitigar los efectos negativos de las altas cargas de nutrientes en aguas de nuestro país.

El instrumento construido tiene un alto potencial de interés por parte de varios organismos responsables del monitoreo ambiental (DINAMA, C.A.R.U., Intendencias, Facultades, INIA, etc.) así como también actores del sector productivo para monitoreo de sus efluentes industriales, etc.

El presente trabajo logró presentaciones en congresos, la publicación de trabajos en revistas científicas y colaboró en la consecución de un proyecto financiado para nuestro grupo de investigación.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

9. TRABAJO A FUTURO

El analizador multiparamétrico cumple con los objetivos planteados al inicio del trabajo, de todos modos muchas de sus características son mejorables para aspirar a convertirse porque no en un prototipo producido en masa o un producto a comercializar.

Incorporación de otros parámetros de medición:

Además de los analitos determinados pueden incorporarse otros cuya determinación sea de interés ambiental en aguas. También pueden incorporarse al analizador sensores para medir otras variables (temperatura, pH, luminosidad, etc.) que se consideran relevantes junto a las altas cargas de nutrientes para producir fenómenos de eutrofización.

Existen sensores robustos para medir temperatura (incluso sumergibles) y luminosidad; la medida de pH debido a la necesidad de calibración diaria que debe realizarse, tiene la dificultad de que se debe disponer de más frascos para los *buffers* de calibración del pH (*buffers* de corta durabilidad en condiciones de trabajo de un analizador *in-situ*). Nuevos sensores de pH robustos con calibración de fábrica estable son hoy en día muy costosos.

Reducción del peso y tamaño del analizador:

Una de las características poco atractivas son el peso y el tamaño. Los mismos pueden reducirse primero cambiando la carcasa a una estanca pero de material no metálico; también se puede reducir un poco el peso con mejoras en la parte fluidodinámica como ser la incorporación de *manifolds* microfluídicos (con la reducción de tamaño y peso que eso implica) así como también otros dispositivos de bombeo de menor tamaño (como ser bombas piezoeléctricas).

Mejora en la comunicación de datos:

Si bien en analizador puede ponerse en cualquier ubicación ya que la comunicación GSM posee cobertura global; el hecho de recibir solo resultados finales y no todo el conjunto de datos medidos por los sistemas de detección limita al usuario el acceso a información rica en contenido.

Una forma de mejorar esto a futuro es profundizar los conocimientos en base de datos y comunicación de paquetes de datos a servidores web (GPRS, 3G, 4G, LTE) para contar con todos los datos medidos.

Autonomía química:

Difícil de mejorar ya que uno de los reactivos (el de nitrito/nitrato) se va deteriorando con el paso del tiempo. Pueden buscarse trabajos y referencias para ver si se han logrado mejoras al respecto.

Autonomía eléctrica:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Para mejorar la autonomía eléctrica puede buscarse baterías de mayor carga eléctrica (sin que comprometan el tamaño reducido del analizador) e incluso incorporar paneles solares como complemento de la alimentación eléctrica.

Más allá de todo lo anterior, como trabajo a futuro principalmente se propone utilizar este analizador para recabar datos en tiempo real de algún curso de agua del país y tener una masa de datos importante del mismo para lo cual se deberá gestionar con otros organismos las autorizaciones correspondientes así como el cuidado del analizador para prevenir problemas de vandalismo y robo.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

10. BIBLIOGRAFÍA

- 3D Robotics Inc. «3DR Radio Quick Start Guide.» 2013.
- A. Antón, J. Lizaso. «NITRITOS, NITRATOS Y NITROSAMINAS.» Fundación Ibérica para la Seguridad Alimentaria, Madrid, 2001.
- A. Fabre, C. Carballo, E. Hernández, P. Piriz, L. Bergamino, L. Mello, S. González, G. Pérez, J. G. León, L. Aubriot, S. Bonilla, C. Kruk. «El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales, artificiales de Uruguay.» *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 2010: 112-125.
- Arduino. *Sitio web de Arduino*. s.f. www.arduino.cc (último acceso: 16 de 01 de 2013).
- Armstrong, F. A. J. «Determination of nitrate in water by ultraviolet spectrophotometry.» *Analytical Chemistry* 35 (1963): 1292.
- Ash-Bernal, R., R. Wise, y S. M. Wright. «Acquired methemoglobinemia: a retrospective series of 138 cases at 2 teaching hospitals.» *Medicine (Baltimore)* 83 (5) (2004): 265-273.
- Aubriot, L., C. Piccini, y E. Machín. «Calidad de agua del Arroyo Canelón Chico (2011-2012) e identificación de problemas ambientales.» Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias - UdelaR, Montevideo, 2013.
- Avila, J. Pacheco, R. Pat Canul, y A. Cabrera Sansores. «Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al agua subterránea y su efecto en los seres vivos.» *Ingeniería* 6-3 (2002): 73-81.
- Baird, C. *Química Ambiental*. 2ª. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- Bartram, J., W. W. Carmichael, I. Chorus, G. Jones, y O. M. Skullberg. «Toxic Cyanobacteria in Water.» Editado por Jamie Bartran Ingrid Chorus. London and New York: WHO, 1999.
- Basulto, J., M. Manera, y E. Baladia. «Ingesta dietética de nitratos en bebés y niños españoles y riesgo de metahemoglobinemia.» *Pediatría Atención Primaria* 16 (61) (2014): 65-69.
- Berenblum, I., y E. Chain. «An improved method for the colorimetric determination of phosphate.» *Biochemical Journal* 32 (1938): 295-298.
- Biblioteca Nacional de Medicina de los EEUU (NIH). *Enciclopedia Médica MedlinePlus*. s.f. <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000562.htm> (último acceso: 02 de Setiembre de 2017).
- Bio-Chem Fluidics. «130SP Series Micro-Pump.» *Solenoid Operated Micro-Pumps*. 2012.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Blundell, N. J., A. Hopkins, P. J. Worsfold, y H. Casey. «A portable battery-powered flow injection monitor for the in situ analysis of nitrate in natural waters.» *Journal of Automatic Chemistry* 15 (1993): 159-166.
- Boltz, D. F., y M. G. Mellon. «Spectrophotometric Determination of Phosphorus as Molybdiphosphoric Acid.» *Analytical Chemistry* 20 (1948): 749-751.
- Bowen, H. J. M. «Environmental Chemistry of the Elements.» London, 1979.
- Bris, N. Le, P-M. Sarradin, D. Birot, y A.-M. Alayse-Danet. «A new chemical analyzer for in situ measurement of nitrate and total sulfide over hydrothermal vent biological communities.» *Marine Chemistry* 72 (2000): 1-15.
- Cabrera Molina, E., L. Hernandez Garciadiego, H. Gómez Ruiz, y M. Cañizares Macias. «Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar.» *Revista de la Sociedad de Química de México* 47, nº 1 (2003): 88-92.
- Camarillo-Escobedo, R. M., F. Valdés-Perezgasga, y R. Rodríguez-Rivera. «Microanalyzer with optical detection and wireless communication.» *Sensors and Actuators A* 199 (2013): 181-186.
- Camean Fernández, A. M., y M. Repetto Jiménez. *Toxicología alimentaria*. Ediciones Diaz de Santos, 2012.
- Candelas, F. A., y otros. «Experiences on using Arduino for laboratory experiments of Automatic Control and Robotics.» *IFAC-PapersOnLine* 48, nº 29 (2015): 105-110.
- Capitan-Vallvey, L. F., y A. J. Palma. «Recent developments in handheld and portable optosensing—A review.» *Analytica Chimica Acta* 696 (2011): 27-46.
- Carpenter, S. R. «Phosphorus control is critical to mitigating eutrophication.» *PNAS* 105 (2008): 11039-11040.
- Chapin, T. P., y R. B. Wanty. «Development of a solenoid pumped in situ zinc analyzer for environmental monitoring.» *Analytica Chimica Acta* 2005 (2005): 199-208.
- Chorus, I., y J. Bartran, . *Toxic Cyanobacteria in Water: A guide to their health consequences, monitoring and management*. London and New York: WHO, 1999.
- Cleary, J., C. Slater, C. McGraw, y D. Diamond. «An Autonomous Microfluidic Sensor for Phosphate: On-Site Analysis of Treated Wastewater.» *IEEE Sensor Journal* 8 (2008): 508-515.
- Cleary, J., C. Slater, y D. Diamond. «Analysis of Phosphate in Wastewater Using an Autonomous Microfluidics-Based Analyzer.» *International Journal of Civil and Environmental Engineering* 2:3 (2010): 145-148.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Clesceri, L. S., A. E. Greenberg, y A. D. Eaton. «4500-NO₂ B.» En *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, de American Public Health Association (APHA). Washington DC, 2017.
- Clesceri, L. S., A. E. Greenberg, y A. D. Eaton. «4500-NO₃ E.» En *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, de American Public Health Association (APHA). Washington DC, 2017.
- Clesceri, L. S., A. E. Greenberg, y A. D. Eaton. «4500-P C.» En *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, de American Public Health Association (APHA). Washington DC, 2017.
- colaboradores de Wikipedia. *Wikipedia*. Editado por Wikipedia, la enciclopedia libre. Vers. 105932806. 2 de Marzo de 2018.
https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Ciclo_del_nitr%C3%B3geno&oldid=105932806 (último acceso: 10 de Marzo de 2018).
- . «Wikipedia.» s.f. <https://es.wikipedia.org/wiki/Microcontrolador> (último acceso: 22 de Mayo de 2016).
- Copetti, D., L. Valsecchi, A. G. Capodaglio, y G. Tartari. «Direct measurement of nutrients concentrations in freshwaters with a miniaturized analytical probe: evaluation and validation.» *Environ Monit Assess* 189 (2017): 144.
- Cotton, F. A., y G. Wilkinson. *Química Inorgánica Avanzada*. 4ª Edición. México D.F.: LIMUSA S.A., 1990.
- Dasgupta, P., In-Yong Eom, K. Morris, y J. Li. «Light emitting diode-based detectors absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell.» *Analytica Chimica Acta* 500 (2003): 337-364.
- De León, L. «FLORACIONES DE CIANOBACTERIAS EN AGUAS CONTINENTALES DEL URUGUAY: CAUSAS Y CONSECUENCIAS.» *Nordan-Comunidad*, 2002: 28-37.
- DeZuane, John. *Handbook of Drinking Water Quality*. 2ª. Editado por John Wiley & Sons. 1997.
- Dickman, S. R., y R. H. Bray. «Colorimetric Determination of Phosphate.» *Industrial and Engineering Chemistry - Analytical Edition* 12 (1940): 665-668.
- Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA). *DINAMA*. 2016.
www.dinama.gub.uy (último acceso: 26 de Marzo de 2018).
- . *DINAMA*. 2016. www.dinama.gub.uy.
- Dirección Nacional de Medio Ambiente (DINAMA). «Informe del estado del ambiente de Uruguay.» 2013.
- Dréo, J. «Wikipedia.» Vers. 105932806. Editado por Wikipedia, la enciclopedia libre. 2 de Marzo de 2018.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=39748410> (último acceso: 10 de Marzo de 2018).

El Observador. «El Observador.» *Ampliaran Monitoreo de calidad del agua en el Río Santa Lucía*. 15 de Junio de 2017. <https://www.elobservador.com.uy/ampliaran-monitoreo-calidad-agua-el-rio-santa-lucia-n1084674> (último acceso: 26 de Marzo de 2018).

El País. «El País.» *Santa Lucía en estado "crítico"*. 12 de Enero de 2016. <https://www.elpais.com.uy/informacion/santa-lucia-critico.html> (último acceso: 26 de Marzo de 2018).

Electronilab. *Electronilab*. s.f. <http://electronilab.co/tienda/modulo-bluetooth-hc-06-serial-rs232ttl/> (último acceso: 22 de Mayo de 2016).

Ellis, P. E., A. M. Haji Shabani, B. S. Gentle, y I. D. McKelvie. «Field measurement of nitrate in marine and estuarine waters with a flow analysis system utilizing on-line zinc reduction.» *Talanta* 84 (2011): 98-103.

Enciclopedia Geográfica del Uruguay. s.f. <http://www.montevideo.com.uy/enciclopedia/hidrogra.htm> (último acceso: 19 de Agosto de 2017).

Estela, J. M., y V. Cerdà. «Flow analysis techniques for phosphorus: an overview.» *Talanta* 66 (2005): 307-331.

Fabre, A., y otros. «El nitrógeno y la relación zona eufótica/zona de mezcla explican la presencia de cianobacterias en pequeños lagos subtropicales, artificiales de Uruguay.» *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 2010: 112-125.

Ferguson, A. J. D., M. J. Pearson, y C. S. Reynolds. «Eutrophication of natural waters and toxic algal blooms.» En *Agricultural Chemicals and the Environment*, de Royal Society of Chemistry, 27-42. 1996.

Ferraro, S. «ResearchGate.» 30 de Marzo de 2016. [https://www.researchgate.net/publication/312231377_Estudios_mecanisticos_d el_efecto_nocivo_de_las_particulas_urbanas_de_Buenos_Aires_sobre_grupos _etarios_susceptibles_y_su_modulacion_por_simvastatina_en_tejidos_pulmon ar_y_cerebral](https://www.researchgate.net/publication/312231377_Estudios_mecanisticos_del_efecto_nocivo_de_las_particulas_urbanas_de_Buenos_Aires_sobre_grupos_etarios_susceptibles_y_su_modulacion_por_simvastatina_en_tejidos_pulmonar_y_cerebral) (último acceso: 10 de Marzo de 2018).

Fisher Chemical. *Fisher Chemical*. 2018. https://www.fishersci.es/chemicalProductData_uk/specification?itemCode=J/4552/05 (último acceso: 28 de Marzo de 2018).

Fox, J. B. «Kinetics and Mechanisms of the Griess Reaction.» *Analytical Chemistry* 51 (1979): 1493.

Fray, C., y otros. «Wireless Ion-Selective Electrode Autonomous Sensing System.» *IEEE Sensor Journal* 10 (2011): 2374-2382.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Garcia, R., y E. Romero. «Tecnica Industrial.» Junio de 2006.
<http://www.tecnicaindustrial.es/tiadmin/numeros/23/35/a35.pdf> (último acceso: 1 de Setiembre de 2017).
- Global FIA. 2015. www.globalfia.com (último acceso: 5 de Agosto de 2016).
- Goldman, E., y R. Jacobs. «Determination of nitrates by ultraviolet absorption.» *Journal of American Water Works Association* 53 (1961): 187.
- González Delgado, M. N., C. Orosco Barrenetxea, A. Pérez Serrano, J. M. Alfayate Blanco, y F. Rodríguez Vidal. *Contaminación ambiental: una visión desde la química*. Editorial Paraninfo, 2004.
- Google Inc. *Google play*. s.f.
<https://play.google.com/store/apps/details?id=es.pymasde.bluterm&hl=es> 419 (último acceso: 22 de Mayo de 2016).
- Goyenola, G., S. Acevedo, I. Machado, y N. Mazzeo. «Diagnóstico del Estado Ambiental de los Sistemas Acuáticos Superficiales del Departamento de Canelones.» Informe de asesoramiento, Dirección General de Gestión Ambiental, Comuna Canaria, Intendencia de Canelones, Canelones, 2011, 1-60.
- Griess, P. «Bemerkungen zu der Abhandlung der HH. Weselsky und Benedikt "Ueber einige Azoverbindungen".» *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* 12 (1879): 426-428.
- Guangzhou HC Information Technology Co., Ltd. «Olimex.» 2006.
<https://www.olimex.com/Products/Components/RF/BLUETOOTH-SERIAL-HC-06/resources/hc06.pdf> (último acceso: 11 de Agosto de 2018).
- Higuchi, K., H. Tamanouchi, y S. Motomizu. «On-Line Photo-Oxidative Decomposition of Phosphorus Compounds to Orthophosphate and Its Application to Flow Injection Spectrophotometric Determinations of Total Phosphorus in River and Waste Waters.» *Analytical Sciences* 14 (1998): 941-946.
- Hoather, R. C., y R. F. Rackman. «Oxidized nitrogen and sewage effluents observed by ultraviolet spectrophotometry.» *Analyst* 84 (1959): 549.
- Holman, W. I. M. «A new technique for the determination of phosphorus by the molybdenum blue method.» *Biochemical Journal* 37 (1943): 256-259.
- Horstkotte, B., C. M. Duarte, y V. Cerdà. «Multipumping flow systems devoid of a computer control for process and environmental monitoring.» *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 92 (2012): 344-354.
- Hydes, D. J., y N. C. Hill. «Determination of Nitrate in Seawater: Nitrate to Nitrite Reduction with Copper-Cadmium Alloy.» *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 21 (1985): 127-130.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

IEEE. *Estándar IEEE 802.15.1*. s.f. <http://www.ieee802.org> (último acceso: 22 de Mayo de 2016).

IFA. *Los fertilizantes y su uso*. FAO, 2002.

Intendencia de Montevideo. «Sitio web de la Intendencia de Montevideo.» 2014. http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/articulo/informe_anual_calidad_de_agua_2013-2014.pdf (último acceso: 6 de Agosto de 2014).

—. «Sitio web de la Intendencia de Montevideo.» 2011. http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/estudio_calidad_agua_sedimento_biota_rio_de_la_plata_linea_de_base_2011.pdf (último acceso: 6 de Agosto de 2014).

—. «Sitio web de la Intendencia de Montevideo.» *Programa de monitoreo de cuerpos de agua*. 2016. <http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/biblioteca/programademonitoreodecuerposdeagua2016.pdf> (último acceso: 6 de Agosto de 2014).

—. «Sitio web de la Intendencia de Montevideo.» *Informe sobre la calidad del agua de las playas del Río de la Plata*. 2011. http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/estudio_calidad_agua_sedimento_biota_rio_de_la_plata_linea_de_base_2011.pdf (último acceso: 6 de Agosto de 2014).

—. «Sitio web de la Intendencia de Montevideo.» 2014. <http://www.montevideo.gub.uy/sites/default/files/Programa%20de%20monitoreo%20de%20cuerpos%20de%20agua%202014.pdf> (último acceso: 26 de Marzo de 2018).

—. *Sitio web de la Intendencia de Montevideo*. s.f. <http://www.montevideo.gub.uy/calidad-de-agua> (último acceso: 26 de Marzo de 2018).

Interreg Mediterranean. *EcoSUSTAIN*. 2018. <https://ecosustain.interreg-med.eu/> (último acceso: 14 de 07 de 2018).

IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology Gold Book*. 2014.

Kamphake, L. J., S. A. Hannah, y J. M. Cohen. «Automated analysis for nitrate by hydrazine reduction.» *Water Research* 1 (1967): 205-216.

Keeney, D. R., B. H. Byrnes, y J. J. Genson. «Determination of nitrate in waters with nitrate-selective ion electrode.» *Analyst* 95 (1970): 383.

Knochen, M., A. Caamaño, y H. Bentos. «Development of a Low-Cost SIA-Based Analyser for Water Samples.» *J. Autom. Methods Manaje. Chem.*, 2011.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Knotec, Z., y P. Schmidt. «Pathogenesis incidence and possibilities of preventing alimentary nitrate methemoglobinemia in infants.» *Pediatrics*, nº 34 (1964): 78-83.
- Kruk, C., C. Suárez, M. Ríos, N. Zaldúa, y D. Martino. «Vida Silvestre Uruguay.» *IUCN*. 2013. <http://vidasilvestre.org.uy/wp-content/uploads/2013/09/informeaguafinalcm1.pdf> (último acceso: 6 de Agosto de 2014).
- Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU). «Informe sobre caracterización biológica en el tramo inferior del Río Uruguay, febrero-noviembre 2012.» Informe de consultoría, 2012.
- Langmuir, D., y R. I. Jacobson. «Specific ion electrode determination of nitrate in some fresh waters and sewage effluents.» *Environmental Sciences Technologies* 4 (1970): 835.
- Lapa, R. A. S., J. L. F. C. Lima, B. F. Reis, J. L. M. Santos, y E. A. G. Zagatto. «Multi-pumping in flow analysis: concepts, instrumentation, potentialities.» *Analytica Chimica Acta* 466 (2002): 125-132.
- Legiret, F. E., y otros. «A high performance microfluidic analyser for phosphate measurements in marine waters using the vanadomolybdate method.» *Talanta* 116 (2013): 382-387.
- Lima, J. L. F. C.; J. L. M. Santos, A. C. B Dias, M. F. T. Ribeiro, y E. A. G. Zagatto. «Multi-pumping flow systems: an automation tool.» *Talanta* 64 (2004): 1091-1098.
- Liu, B., y otros. «Automated determinatrion of nitrite in aqueous samples with an improved integrated flow loop analyzer.» *Sensors and Actuators B* 237 (2016): 710-714.
- Macka, M., T. Piasecki, y P. Dasgupta. «Light-Emitting Diodes for Analytical Chemistry.» *Annu. Rev. Anal. Chem.* 7 (2014): 183-207.
- Malcome-Lawes, D. J., y C. Pasquini. «A novel approach to non-segmented flow analysis: Part 3. Nitrate, nitrite and ammonium in waters.» *Journal of Automatic Chemistry* 10 (1988): 192-197.
- Manahan, S. E. *Introducción a la química ambiental*. Reverte, 2006.
- Mankasingh, U., y P. J. Worsfold. «A portable flow injection analyzer for the in situ determination of filterable reactive phosphorus (FRP) in freshwater.» *Instrumentation Science and Technology* 38 (2010): 187-200.
- Margolis, M. *Arduino Cookbook*. 1ra. Edición. 2011.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Mark, D., S. Haeberle, G. Roth, F. von Stetten, y R. Zengerle. «Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications.» *Chem. Soc. Rev.* 39 (2010): 1153-1182.
- Mattiensen, A., J. Antunes Galvao, y M. Oetterer. «Phosphates in Aquatic Systems.» Cap. 12 de *Handbook of Water Analysis*, editado por Leo M. L. Nollet y Leen S. P. De Gelder, 327-364. New York: CRC Press, 2014.
- McKelvie, I. D., M. Mitri, B. T. Hart, I. C. Hamilton, y A. D. Stuart. «Analysis of total dissolved nitrogen in natural waters by on-line photo oxidation and flow injection.» *Analytica Chimica Acta* 293 (1994): 155-162.
- Melchert, W. R., B. F. Reis, y F. R. P. Rocha. «Green chemistry and the evolution of flow analysis. A review.» *Analytica Chimica Acta* 714 (2012): 8-19.
- Mellon, M. G., y R. E. Kitson. «Colorimetric Determination of phosphorus as Molybdivanadophosphoric Acid.» *Ind. Eng. Chem. Anal.* 16 (1944): 379-383.
- Meyer, D., y otros. «A Multi-Pumping Flow System for In Situ Measurements of Dissolved Manganese in Aquatic Systems.» *Sensors* 16 (2016): 2027.
- Mills, G., y G. Fones. «A review of in situ methods and sensors for monitoring the marine environment.» *Sensor Review* 32, nº 1 (2012): 17-28.
- Moshoeshe, M. N., y V. Obuseng. «Simultaneous Determination of Nitrate, nitrite and Phosphate in Environmental Samples by High Performance Liquid Chromatography with UV Detection.» *S. Afr. J. Chem.* 71 (2018): 79-85.
- Motomizu, S., T. Wakimoto, y K. Tōei. «Spectrophotometric determination of phosphate in river waters with molybdate and malachite green.» *Analyst* 108 (1983): 361-367.
- Motomizu, S., y Zhen-Hai Li. «Trace and ultratrace analysis methods for the determination of phosphorus by flow-injection techniques.» *Talanta* 66 (2005): 332-340.
- Motorola Semiconductors Products Inc. «Data Manual of CI ULN 2803.» Phoenix, AZ, 1996.
- Mukhopadhyay, S. C., y A. Mason, . *Smart Sensors for Real-Time Water Quality Monitoring*. Palmerston North: Springer, 2013.
- Murphy, J., y J. P. Riley. «A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters.» *Analytica Chimica Acta* 27 (1962): 31-36.
- Nagul, E. A., I. D. McKelvie, P. Worsfold, y S. D. Kolev. «The molybdenum blue reaction for the determination of orthophosphate revisited: Opening the black box.» *Analytica Chimica Acta* 890 (2015): 60-82.
- Nebel, B. J., y R. T. Wright. *Ciencias ambientales: Ecología y desarrollo sostenible*. México: Prentice Hall, 1999.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- O'Toole, M., y D. Diamond. «Absorbance Based Light Emitting Diode Optical Sensors and Sensing Devices.» *Sensors* 8 (2008): 2453-2479.
- Obras Sanitarias del Estado (OSE). *Sitio web de OSE*. 2006.
http://www.ose.com.uy/descargas/reclutamiento/norma_interna_de_calidad_agua_potable_de_OSE.pdf (último acceso: 11 de Agosto de 2018).
- Ohno, T., y L. M. Zibilske. «Determination of Low Concentrations of Phosphorus in Soil Extracts Usin Malachite Green .» *Soil Science Society of American Journal* 55 (1990): 892--895.
- Primer apéndice a la tercera edición*. Vol. 1, de *Guías para la calidad del agua potable*, de Organización Mundial de la Salud. 2006.
- Pasquini, C., y W. A. De Oliveira. «Monosegmented system for continuous flow analysys. Spectrophotometric determinatium of chromium(VI), ammonia and phosphorus.» *Analytical Chemistry* 57 (1985): 2575-2579.
- Pérez, C. *Matlab y sus aplicaciones en las Ciencias e Ingeniería*. Madrid: Pearson Education S.A., 2002.
- Pérez-Parada, A., M. Rodriguez Chialanza, L. Parodi, C. Cacho, B. Brena, y G. Feola. «Validación y aplicación de una metodología basada en cromatografía iónica con detección ultravioleta para la determinación de nitrato y nitrito en aguas del Rio de la Plata.» *7mo. Congreso de Medio Ambiente*. La Plata, Argentina, 2012.
- Plant, J. N., K. S. Johnson, J. A. Needoba, y L. J. Coletti. «NH₄-Digiscan: an in situ and laboratory ammonium analyzer for estuarine, coastal, and shelf waters.» *Limnology and oceanography: Methods* 7 (2009): 144-156.
- Poder Ejecutivo. «Asociación de Ingenieros Químicos del Uruguay.» s.f.
http://aiquruguay.org/sitiomedioambiente/documentos/dec253_79%20vigente.pdf, ingreso 06/08/14. (último acceso: 6 de Agosto de 2014).
- . «Ecotech.» 1979. http://www.ecotech.uy/docs/agua/DECRETO_N_253_079.pdf (último acceso: 11 de Agosto de 2018).
- Pons, C., J. L. M. Santos, J. L. F. C. Lima, R. Forteza, y V. Cerdá. «Multi-pumping flow system for the determination of nitrite and nitrate in water samples.» *Microchim Acta* 161 (2008): 73-79.
- Processing*. 2011. <http://www.processing.org> (último acceso: 5 de Agosto de 2016).
- Redl, S. M., M. K. Weber, y M. W. Oliphant. *An introduction to GSM*. Boston: Artech House, 1995.
- Rocha, F. R. P., B. F. Reis, E. A. G. Zagatto, J. L. F. C. Lima, R. A. S. Lapa, y J. L. M. Santos. «Multicommutation in flow analysis: concepts, applications and trends.» *Analytica Chimica Acta* 468 (2002): 119-131.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Rocha, F. R. P., y B. F. Reis. «A flow system exploiting multicommutation for speciation of inorganic nitrogen in waters.» *Analytica Chimica Acta* 409 (2000): 227-235.
- Rojas, J. A. R. *Calidad del agua*. 2ª. México: Alfaomega, 1999.
- Ruzicka, J., y E. H. Hansen. «Flow injection analysis. Part I. A new concept of fast continuous flow analysis.» *Analítica Chimica Acta*, 1975: 145-157.
- Santos, J. L. M., M. F. T. Ribeiro, A. C. B. Dias, J. L. F. C. Lima, y E. A. G. Zagatto. «Multi-pumping flow systems: The potential of simplicity.» *Analytica Chimica Acta* 600 (2007): 21-28.
- Sattelmacher, P. G. «Metahemoglobinemia por nitratos en el agua de beber.» *Scriftenr ver Wasser Boden Luftyg*, nº 21 (1962): 56-61.
- Sawicki, C. R., y F. P. Scaringelli. «Colorimetric Determination of Nitrate After Hydrazine Reduction to Nitrite.» *Microchemical Journal* 16 (1971): 657-672.
- Shangai SIMCom Wireless Solutions Ltd. «SIMCom.» 05 de Marzo de 2015. http://simcom.ee/documents/SIM800/SIM800_Hardware%20Design_V1.08.pdf (último acceso: 01 de Abril de 2018).
- Sitio web de Arduino. s.f. <https://www.arduino.cc/en/Main/arduinoBoardMega> (último acceso: 22 de Mayo de 2016).
- Sjosten, A., y S. Blomqvist. «Influence of phosphate concentration and reaction temperature when using the molybdenum blue method for determination of phosphate in water.» *Water Res.* 31 (1997): 327-328.
- Skeggs, L. T. Jr. «An automated method for colorimetric analysis.» *American Journal of Clinical Pathology*, 1957.
- Skoog, D. A., F. J. Holler, y S. R. Crouch. *Principios de análisis instrumental*. 6ª. México D.F.: Cengage Learning, 2008.
- Slater, C., J. Cleary, C. McGraw, W. Yerazunis, y K. T. Lau. «Autonomous Field-deployable Device for the measurement of Phosphate in Natural Water Water TR2007.» *MITSUBISHI ELECTRIC RESEARCH LABORATORIES*, 2007.
- STMicroelectronics. «Data manual of CI TL081.» 2001.
- Sumner, J. B. «A method for the colorimetric determination of phosphorus.» *Journal of Biological Science* 100 (1944): 413.
- SYSTEa. 2015. www.systea.it (último acceso: 5 de Agosto de 2016).
- Taras, M. J. «Phenoldisulfonic acid method of determining nitrate in water. Photometric study.» *Analytical Chemistry* 22, nº 8 (1950): 1020-1022.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- Taussky, H. H., E. Shorr, y G. Kurzmann. «A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus.» *Journal of Biological Chemistry* 202 (1953): 675-685.
- Trojanowicz, M., ed. *Advances in Flow Analysis*. 2ª. Warsaw: WILEY-VHC, 2008.
- Tschmelak, J., y otros. «Automated Water Analyser Computer Supported System (AWACSS). Part I: Project objectives, basic technology, immunoassay development, software design and networking.» *Biosensors and Bioelectronics* 20 (2005 (a)): 1499-1508.
- Tschmelak, J., y otros. «Automated Water Analyser Computer Supported System (AWACSS). Part II: Intelligent, remote-controlled, cost-effective, on-line, water-monitoring measurement system.» *Biosensors and Bioelectronics*, 2005 (b): 1509-1519.
- Tynisine Electronics. «Tynisine G50EFC56E3197F, GSM/GPRS Shield Datasheet.» 2014.
- Ulrich, A., y C.M. Johnson. «Determination of nitrate in plant material.» *Analytical Chemistry* 22, nº 12 (1950): 1526-1529.
- Vidal, A. M. «Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).» *Administración de los derechos de agua*. Editado por Héctor garduño. 2003. <http://www.fao.org/docrep/006/y5062s/y5062s0k.htm> (último acceso: 14 de Julio de 2018).
- Wang, Qiu-Hua, y otros. «Methods for the detection and determination of nitrite and nitrate: A review.» *Talanta* 165 (2017): 709-720.
- Weeks, D. A., y K. S. Johnson. «Solenoid Pumps for Flow Injection Analysis.» *Analytical Chemistry* 68 (1996): 2717-2719.
- West, P. W., y T. P. Ramachadran. «Spectrophotometric determination of nitrate using chromotropic acid.» *Analytica Chimica Acta* 35 (1966): 317-324.
- Whitesides, G. M. «The origins and the future of microfluidics.» *NATURE* 442 (2006).
- Wikimedia Commons contributors. «wikimedia.» Vers. 263668537. *Ciclo-del-agua.jpg*. Wikimedia Commons, the free media repository. 20 de Octubre de 2017. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Ciclo-del-agua.jpg&oldid=263668537> (último acceso: 24 de Marzo de 2018).
- Wikipedia contributors. «Integrated development environment.» Vers. 829035129. Wikipedia, The Free Encyclopedia. 6 de Marzo de 2018. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Integrated_development_environment&oldid=829035129 (último acceso: 27 de Marzo de 2018).
- Wikipedia. *Wikipedia*. s.f. https://es.wikipedia.org/wiki/Bater%C3%ADa_de_ion_de_litio (último acceso: 06 de Marzo de 2018).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- . «Wikipedia.» *Sistema global para las comunicaciones*. s.f.
https://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_global_para_las_comunicaciones_m%C3%B3viles (último acceso: 22 de Mayo de 2016).
- Wolcott, D. K., y G. D. Marshall. Pulseless, reversible precision piston-array pump. Estados Unidos Patente US Pat No. 6,079,313. 27 de Junio de 2000.
- Wulfsberg, G. *Principles of Descriptive Inorganic Chemistry*. University Science Book, 1991.
- Yaqoob, M., A. Nabi, y P. J. Worsfold. «Determination of nanomolar concentrations of phosphate in freshwaters using flow injection with luminol chemiluminiscence detection.» *Analitica Chimica Acta* 510 (2004): 213-218.
- Zagatto, E. A. G., J. F. Van Staden, N. Maniasso, R. I. Stefan, y G. D. Marshall. «Information essential for characterizing a flow-based analytical system.» *Pure Appl. Chem.* 74, nº 4 (2002): 585-592.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

11. PUBLICACIONES DERIVADAS DEL PRESENTE TRABAJO

11.1. Presentaciones en congresos

Poster presentado en el 3er. Congreso Uruguayo de Química Analítica (3er. CUQA); realizado en la ciudad de Montevideo, del 6 al 9 de octubre del 2014.



Desarrollo y optimización de un sistema automatizado controlado por hardware de fuente abierta para la determinación de fosfato en muestras de agua mediante análisis en flujo por multi-bombeo (MPFS)

Pablo González, Moisés Knochen
Área de Química Analítica, Departamento Estrella Campos, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
Av. Gral. Flores 2124 – 11800 Montevideo – Uruguay
pablo@fq.edu.uy

Introducción

Se desarrolló y optimizó un sistema para la determinación de fosfato en aguas mediante análisis en flujo por multi-bombeo (MPFS). Estos sistemas operan con micro bombas solenoide. El sistema es controlado por una placa de microcontrolador de la plataforma de hardware libre Arduino UNO, la que posee un entorno de programación sencillo y de fuente abierta. Esta controla la operación de 3 micro bombas solenoide (portador, reactivo y muestra); comanda el sistema de detección fotométrico (construido en el laboratorio), consistente en un LED (415 nm) y un fotodiodo, digitaliza la señal analógica, calcula las absorbancias relativas y las envía al PC mediante comunicación serial empleando el puerto USB. Las distintas sub-rutinas que ejecutará el microcontrolador se programaron mediante el entorno de programación IDE de Arduino. Por otro lado se desarrolló mediante MATLAB una interfaz gráfica de usuario que permite inicializar las distintas tareas del sistema, visualizar gráficamente los datos en tiempo real en una notebook así como guardar los archivos generados.

Tabla 1: resumen de las características de desempeño del sistema MPFS

Cifra de mérito	Resultado	Evaluación			
Calibración	$A = 0.0136.C + 0.0111$ ($R^2 = 0.9992$)	Lineal hasta $25 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$			
Precisión (repetibilidad, $n=5$ para todos los niveles)	Nivel bajo ($4 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$): s_r (%) = 4.3 %	Aceptable			
	Nivel medio ($12 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$): s_r (%) = 1.6 %				
	Nivel alto ($20 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$): s_r (%) = 0.9 %				
Veracidad (comparación con método de referencia [1] 4 muestras de cursos de agua de Montevideo, valores de concentración en mg/L P)	Muestra	MPFS	APHA	% rec.	No existe evidencia estadística al 95% de significancia para rechazar la hipótesis de que ambos métodos arrojan resultados equivalentes
	1	5.79	6.19	93.6	
	2	6.42	6.79	94.5	
	3	3.72	4.10	90.8	
LOD	0.28 $\text{mg L}^{-1} \text{ P}$ (criterio 3s/m)				Del mismo orden que los reportados en bibliografía [1]
	LOQ				
		0.95 $\text{mg L}^{-1} \text{ P}$ (criterio 10s/m)			
Frecuencia de muestreo	36 hora ⁻¹				Alta
Volumen de desechos generados	2.8 mL/determinación				Bajo
Volumen de estándar de P gastado	~ 30 mL para una curva de calibración de 6 puntos en el rango 1 a 20 ppm de P				Bajo
Volumen de reactivo de molibdo-vanadato consumido	1.2 mL/determinación				Bajo

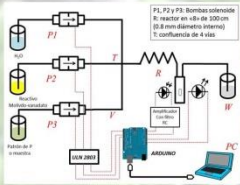
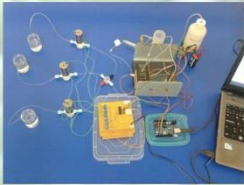
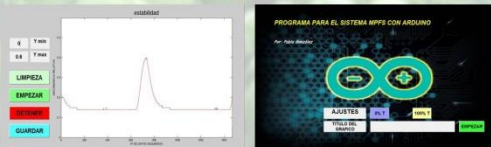
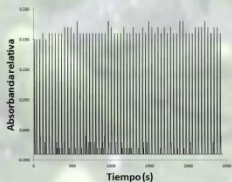
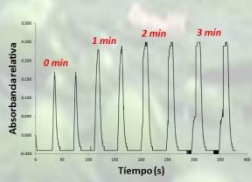


Imagen del sistema MPFS

Esquema general del sistema MPFS



Pantallas del software desarrollado con MATLAB



Optimización del tiempo de stopped-flow

Estabilidad de la señal

Resultados y discusión

Se optimizaron los siguientes parámetros: tiempo de bombeo del patrón de fósforo (10 segundos) y tiempo de stopped-flow para el desarrollo del color (1 minuto). Se evaluaron las cifras de mérito del sistema optimizado: calibración, veracidad, precisión, estabilidad del sistema y de la línea base (60 inyecciones de un patrón de $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$), límites de detección y cuantificación, frecuencia de muestreo, consumo de reactivos y volumen de desechos generados (Tabla 1).

Conclusiones

La plataforma Arduino UNO resulta sencilla de usar y versátil para el desarrollo y control de sistemas de análisis en flujo. El sistema MPFS propuesto presenta estabilidad, linealidad, veracidad y precisión adecuadas, límites de detección y cuantificación comparables con los del método de referencia [1], alta frecuencia de muestreo, bajo consumo de reactivo y desechos generados, facilidad de programación y bajo costo por el uso de hardware libre.

Referencias bibliográficas:

[1] L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, A. D. Eaton, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater." 20th. edition. American Public Health Association (APHA), WashingtonDC, 1998, método 4500-P.C.



cuqa³

3º Congreso Uruguayo de Química Analítica
Montevideo-Uruguay, 6 al 9 de octubre 2014

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Presentación oral disertada en el 3er. Congreso Uruguayo de Química Analítica (3er. CUQA); realizado en la ciudad de Montevideo, del 6 al 9 de octubre del 2014.



3er Congreso Uruguayo de Química Analítica

O EDU 01

Uso de la plataforma de hardware/software libre Arduino para el control de dispositivos y sensores, así como la adquisición de datos en sistemas de análisis en flujo

González, Pablo; Knochen, Moisés

Universidad de la República, Facultad de Química. DEC – Área de Química Analítica.
Av. Gral. Flores 2124. 11800 Montevideo, Uruguay.

Exceptuando a los más simples sistemas FIA (que pueden ser operados manualmente); la mayoría de las metodologías de análisis en flujo requieren un control y una sincronización precisa de varios dispositivos como actuadores (bombas peristálticas, bombas de jeringa, válvulas solenoide, bombas solenoide, etc.), sensores (electrodos, fotodiodos, etc.) así como el procesamiento de los datos entregados por el sistema de detección (digitalización de la señal analógica, realización de cálculos, generación de archivos, etc.).

Utilizando una interfaz de hardware y un software adecuados, una computadora puede realizar todas esas tareas acorde a las necesidades del usuario. Lamentablemente, esas interfaces de hardware así como el software para utilización en análisis en flujo pueden no estar disponibles, tener altos costos o no ser suficientemente flexibles sobre todo en las etapas de experimentación, desarrollo y optimización de nuevas metodologías de análisis en flujo o de mejora de las ya existentes.

En la actualidad, sobre todo en ámbitos como la robótica y la automatización de procesos, se han popularizado los recursos de fuente abierta (tanto a nivel de hardware como de software) gracias al desarrollo de microcontroladores de fuente abierta, los cuales son de bajo costo y con entornos de programación de dominio público. La plataforma Arduino (www.arduino.cc) es un excelente ejemplo del uso de este tipo de recursos.

Una de las placas más simples de la plataforma es la Arduino UNO. Emplea un microcontrolador ATmega 328 de 8 bits de la firma Atmel. Este permite la adquisición de señales analógicas (posee 6 entradas analógicas de 10 bits de resolución) y la posibilidad de controlar actuadores y sensores gracias a sus 13 puertos digitales que pueden operar como entradas o salidas. Posee un puerto USB y además un puerto serial para realizar comunicación serie con otros dispositivos. Otras placas Arduino (como la MEGA o la DUE) presentan procesadores más potentes, más memoria, mayor cantidad de puertos digitales y entradas y salidas analógicas de mayor resolución (12 bits). Sin embargo la UNO permite realizar el control completo de un dispositivo sin dificultad.

El entorno de programación Arduino es muy sencillo a tal punto que personas con poca experiencia pueden programarla. Al ser de fuente abierta no hay que adquirir ningún tipo de licencia independientemente de la aplicación para la que se destine.

En este trabajo se presentan algunos ejemplos del uso de esta plataforma en un laboratorio en el área del análisis en flujo:

- * Manejo de dispositivos:
 - o Bomba de jeringa
 - o Válvulas de inyección
 - o Válvulas solenoide
- * Adquisición de señales analógicas
- * Control completo de un sistema multiconmutado para la determinación de hierro en agua con tiocianato.

La plataforma Arduino UNO resulta adecuada para la operación de todos los dispositivos que pueden estar presentes en un sistema en flujo (actuadores y sensores), permite la adquisición y digitalización de las señales obtenidas con una aceptable resolución, es versátil y de sencilla programación y por ser de fuente abierta es de bajo costo y fácil obtención.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Poster presentado en el 4to. Encuentro Nacional de Química; realizado en la ciudad de Montevideo, del 4 al 6 de noviembre del 2015.



Sistema en flujo con control inalámbrico para el análisis de nitrito en aguas

Pablo González¹, Nicolás Pérez², Moisés Knochen¹

¹-Grupo de Instrumentación y Automatización en Química Analítica (GIAQA), Área de Química Analítica, DEC, Facultad de Química, Udelar
²-Centro Universitario de Paysandú, Universidad de la República (Udelar), Paysandú, Uruguay

pablog@fq.edu.uy



Introducción:

El nitrito es un anión presente en los cursos de agua debido a las bacterias nitrificantes que convierten el amonio en nitrito, contaminación industrial y aguas residuales domésticas. Su presencia provoca una reducción del pH del agua y puede resultar tóxico por encima de ciertos niveles; concentraciones de nitrito superiores a los 0,75 mg/L pueden provocar stress en peces y mayores que 5 mg/L ya son tóxicos. La presencia de altos niveles de este anión es un indicativo de contaminación de carácter fecal reciente.

Se desarrolló un sistema automatizado para la determinación de nitrito en aguas mediante análisis en flujo por multibombeo, el sistema se basa en el empleo de bombas solenoide con detección fotométrica del analito mediante la reacción de Griess [1] en la cual el nitrito forma un complejo coloreado con la sulfanilamida y N-(1-Naftil)-etilendiamina. La operación se comanda a distancia desde un PC la cual se comunica en forma inalámbrica utilizando módulos de radiofrecuencia; una placa de microcontrolador (Arduino UNO) ejecuta las distintas rutinas (limpieza, calibración, análisis). El sistema de detección fotométrico fue construido en el laboratorio del GIAQA. Las señales se muestran en tiempo real a través de un software diseñado para monitoreo y control del sistema.

Parte experimental y de desarrollo:

Reactivos:

- Nitrito de sodio (M&B).
- Sulfanilamida (Merck)
- N-(1-Naftil)-etilendiamina diclorhidrato (Spectrum).

Sistema en flujo:

El sistema se muestra en detalle en la Figura 1. El detector fotométrico consta de un LED verde ($\lambda = 520$ nm), un fotodiodo de silicio como detector de la radiación y un amplificador de señal (basado en el circuito TL081). Las señales obtenidas son digitalizadas en la placa Arduino y enviadas al PC, la cual a su vez envía las órdenes para la ejecución de las distintas rutinas que ejecutara el sistema; todo en forma inalámbrica mediante dos módulos de radiofrecuencia (alcance en espacio abierto ≈ 1000 m). Las rutinas se programaron en el entorno de programación (IDE) de Arduino. A su vez se programó una interfaz gráfica de usuario para la operación del sistema.

Optimización:

Se optimizó el largo del reactor de mezclado a utilizar en el sistema entre 3 posibles (100, 200 y 300 cm) buscando favorecer el buen mezclado de los fluidos sin comprometer la forma de la señal analítica, siendo el óptimo 200 cm.

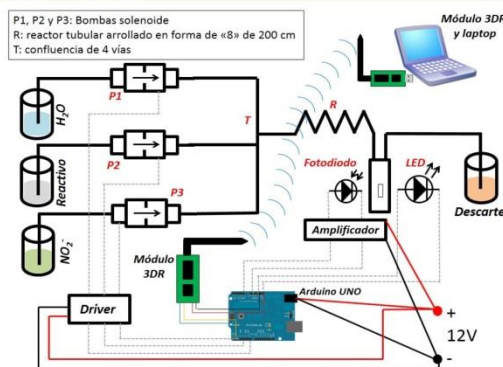


Figura 1: Esquema del sistema para nitrito.

Discusión:

Se evaluaron ciertas características de desempeño del sistema, las mismas se exhiben en la Tabla 1.

El sistema se mostró estable en su operación; la linealidad, la precisión y la veracidad obtenidas son adecuadas a la aplicación; los límites de detección y cuantificación son del mismo orden que los reportados en el método de referencia para nitrito en aguas [1] y la frecuencia de muestreo es alta.

Conclusiones:

El sistema propuesto posee características de desempeño adecuadas para la determinación de nitrito en aguas, utiliza componentes electrónicos de fácil obtención, se basa en plataformas de hardware libre, presenta bajo consumo de reactivos y baja generación de residuos químicos y un costo relativamente bajo.

La comunicación inalámbrica posibilita el diseño a futuro de analizadores in-situ para monitoreo del nitrito por ejemplo en el control de cursos de agua o de efluentes industriales.

Tabla 1: Características de desempeño del sistema en flujo para nitrito.

Cifras de mérito	Resultado
Calibración	Lineal hasta 1200 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$
Precisión (s, (%), n=5)	4,8 % a nivel bajo (150 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$)
	1,6 % a nivel medio (600 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$)
	1,4 % a nivel alto (1200 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$)
Recuperación (%)	101 % para una matriz de agua de efluente
Límite de detección (criterio 3s)	19 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$
Límite de cuantificación (criterio 10s)	62 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$
Frecuencia de muestreo	32 h^{-1}

Referencias:

- [1] L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, A. D. Eaton, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater," 20th. edition. American Public Health Association (APHA), Washington DC, 1998, método 4500-NO₂-B.



Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Póster aceptado para su presentación en el *Flow Analysis XIII*; realizado en la ciudad de Praga, República Checa, del 5 al 10 de julio del 2015.



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Development of a wireless in-situ smart analyser for phosphorus based on open-source hardware and software

Moisés Knochen, Pablo González

Universidad de la República, Facultad de Química, DEC
Av. Gral. Flores 2124 – 11800 Montevideo – Uruguay
mknochen@fq.edu.uy

Flow Analysis XIII

Introduction

Phosphorus levels in aquatic ecosystems are very important because this element is a nutrient for living beings. High levels of phosphates in rivers and lakes contribute to the phenomenon of eutrophication known as "algal bloom". Bacterial metabolites cause unpleasant smell and taste in drinking water and may be toxic to humans and animals. There is a need for in-situ smart analysers that can be deployed in the field for continuously monitoring the levels of different substances in unattended manner.

The goal of this work was to develop a low-cost automated in-situ analyser for the determination of phosphorus in water samples. The proposed system exploits the vanadomolybdophosphate photometric method, is based on multi-pumping flow analysis and is capable of reporting the results by means of text messages over the GSM network.

System

The flow system consists of 3 solenoid micropumps (20- μ L stroke) and a photometric detector based on an LED and a Si photodiode. A solenoid valve is used to select standard or sample. Data acquisition and control are carried out by an Arduino Mega microcontroller board with a program compiled in Arduino C. The system performs self-calibration with a standard solution and calculates the concentration of phosphorus in the samples. Results are transmitted wirelessly to a mobile phone or to a remote computer via a GSM module.

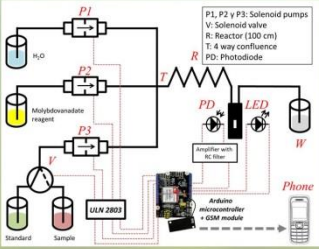


Figure 1. General scheme of the system

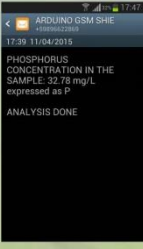


Figure 2. Example of Text message sent by the system

FIGURES OF MERIT	RESULTS																				
Linear range	0.95 - 25 mg L ⁻¹ ($r^2 = 0.9992$) 0.95 - 50 mg L ⁻¹ ($r^2 = 0.9945$)																				
Precision (repeatability, n = 10)	10 mg L ⁻¹ P: s, (%) = 2.4 % 25 mg L ⁻¹ P: s, (%) = 3.5 %																				
Trueness (Reference method method: APHA [1]; concentration values in mg/L P)	<table><thead><tr><th>Sample</th><th>MPFS</th><th>APHA</th><th>Recovery (%)</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>5.79</td><td>6.19</td><td>93.6</td></tr><tr><td>2</td><td>6.42</td><td>6.79</td><td>94.5</td></tr><tr><td>3</td><td>3.72</td><td>4.10</td><td>90.8</td></tr><tr><td>4</td><td>8.37</td><td>8.53</td><td>98.2</td></tr></tbody></table>	Sample	MPFS	APHA	Recovery (%)	1	5.79	6.19	93.6	2	6.42	6.79	94.5	3	3.72	4.10	90.8	4	8.37	8.53	98.2
Sample	MPFS	APHA	Recovery (%)																		
1	5.79	6.19	93.6																		
2	6.42	6.79	94.5																		
3	3.72	4.10	90.8																		
4	8.37	8.53	98.2																		
LOD (3s, n=10)	0.28 mg L ⁻¹ P																				
LOQ (10s, n=10)	0.95 mg L ⁻¹ P																				
Sampling frequency	36 h ⁻¹																				

Table 1: Figures of merit of MPFS system. Samples taken from watercourses in the Montevideo area

Results and discussion

Optimizing the following parameters: amount of standard/sample injected (pumping time 10 seconds) and stopped-flow time for color development (1 minute). Calibration, accuracy, limits of detection and quantification and sampling rate were evaluated in the optimized system. (Table 1).

Conclusions

So far most applications of open-source microcontroller boards are related to amateur robotics or home automation. However these cheap boards have potentialities for laboratory instrumentation and automation that need to be explored. The MPFS proposed system presents acceptable figures of merit and low cost by the use of open source electronics platform (Arduino UNO and GSM shield).

References:

[1] L. S. Clesceri, A. E. Greenberg, A. D. Eaton, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater," 20th. edition. American Public Health Association (APHA), WashingtonDC, 1998, método 4500-P C.



PEDECIBA



ANII

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Presentación oral en el 20th *International Conference on Flow Injection Analysis and Related Techniques*; celebrada en la ciudad de Palma de Mallorca, España, del 2 al 7 de octubre del 2016.

SO19

Multi-pumping flow system for the determination of nitrate and nitrite in water samples based on open-source hardware/software

Pablo González¹, Moisés Knochen¹

¹ Universidad de la República, Facultad de Química. Av. Gral. Flores 2124. 11800 Montevideo, Uruguay

❖ Contact information: Moisés Knochen, mknochen@fq.edu.uy

Nitrate and nitrite are potentially toxic substances; nitrite is also an indicator of bacterial presence. Thus their levels in surface waters and drinking water should be monitored regularly. Different flow-based techniques have demonstrated its usefulness for water quality control.

A multi-pumping system was developed for the determination of nitrate and nitrite in water samples. The system is based on a photometric detector (520-nm LED and a photodiode) exploiting the Griess reaction, nitrate being reduced in a cadmium minicolumn prior to detection. An Arduino open-source microcontroller board described elsewhere [1,2] was used for data acquisition and processing and for system control. The program was compiled in Arduino C.

Performance characteristics of the analytical methods were fit for the purpose, with precision $s_r(\%) \leq 6\%$, detection (3s) and quantification (10s) limits 36 and 119 $\mu\text{g L}^{-1}$ (nitrite), 115 and 390 $\mu\text{g L}^{-1}$ (nitrate), recoveries close to 100% for both analytes, and linearity up to 1.2 mg L^{-1} (nitrite) and 2.4 mg L^{-1} (nitrate) in high-sensitivity mode. Sampling frequency was 32 samples per hour for the two analytes. The multi-pumping technique afforded a highly flexible system allowing for different concentration ranges. Thanks to the use of open-source hardware and software the system was developed faster and with reduced costs. Currently the system is being adapted to be incorporated into an *in-situ* analyzer for remote monitoring of water bodies.

References

- [1] P. González, N. Pérez, M. Knochen, *Quim. Nova*, 39 (2016) 305.
- [2] P. González, A. Sixto, M. Knochen, *Talanta*, (2015) in press (doi:10.1016/j.talanta.2015.12.040).

Acknowledgements

ANII, PEDECIBA Química.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Póster aceptado para su presentación en el XII Simposio Latinoamericano de Química Analítica y Ambiental; realizado en la ciudad de Manizales, Colombia, en el año 2017.



Desarrollo de analizadores *in situ* de bajo costo mediante sistemas en flujo pulsado y *hardware* de fuente abierta

Moisés Knochen, Pablo González

Universidad de la República, Facultad de Química, Grupo de Instrumentación y Automatización en Química Analítica. Av. Gral. Flores 2124, 11800 Montevideo, Uruguay. mknochen@fq.edu.uy



Introducción

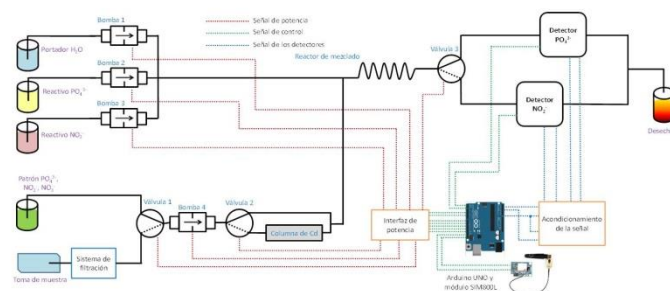
Los analizadores *in situ* son sistemas automatizados autónomos destinados a ser desplegados en campo en posiciones semi fijas para el análisis de cuerpos de agua u otras matrices ambientales. Reportan resultados a una estación remota mediante comunicaciones fijas o inalámbricas.

Se desarrolló un analizador autónomo capaz de determinar fósforo, nitrato y nitrito en cuerpos de agua, basado en la técnica de análisis en flujo pulsado (MPFA) y empleando un microcontrolador Arduino de fuente abierta y bajo costo para las tareas de control.

Químicas empleadas. Fosfato, reacción de amarillo de molibdeno ($\lambda_{\text{max}} = 350 \text{ nm}$). Nitrito, reacción con (N-(1-naftil)etilendiamina + sulfanilamida ($\lambda_{\text{max}} = 530 \text{ nm}$). Nitrito: reducción en columna de Cd y determinación como nitrato

Sistema de flujo: Microbombas solenoide de 12 V y 20 μL , válvulas solenoide de 12 V. Tubo de FEP de 0.8 mm de diámetro interno. Celdas de flujo de 10 mm

Sistema de detección: fotodiodos de silicio y LEDs, 415 nm (fosfato) y 520 nm (nitrito/nitrato)



Sistema de control y adquisición de datos: placa de microcontrolador Arduino Uno. Comunicaciones: placa Arduino-compatible con módulo SIM800L.

Característica de desempeño/analito	Fosfato	Nitrito	Nitrato
Calibración	Lineal hasta 25 $\text{mg L}^{-1} \text{ P}$	Lineal hasta 1200 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$	Lineal hasta 2400 $\mu\text{g/L NO}_3^- \text{-N}$
Precisión ($n=5$)	$S_r < 5\%$	$S_r < 6\%$	$S_r < 6\%$
Veracidad (% rec.)	91-98 %	101 %	101 %
LOD (criterio 3s)	0.28 $\text{mg L}^{-1} \text{ P}$	19 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$	26 $\mu\text{g/L NO}_3^- \text{-N}$
LOQ (criterio 10s)	0.95 $\text{mg L}^{-1} \text{ P}$	62 $\mu\text{g/L NO}_2^- \text{-N}$	88 $\mu\text{g/L NO}_3^- \text{-N}$

El sistema propuesto es adecuado para el diseño de un analizador de monitoreo telemétrico de fosfato, nitrito y nitrato en cursos de agua, autónomo, de bajo costo y basado en open hardware y software.

Agradecimientos: Comisión Sectorial de Investigación Científica (CSIC), Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas (PEDECIBA)

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

11.2. Artículos en revistas

Artículo publicado en la revista *Talanta* (*Talanta* 143 (2015), 419-430).

Talanta 143 (2015) 419–430



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Talanta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/talanta



Review

Pulsed flows in flow analysis: Potentialities, limitations and applications

Pablo González^a, Moisés Knochen^a, Milton K. Sasaki^b, Elias A.G. Zagatto^{b,*}

^a Faculty of Chemistry, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay
^b Centre for Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo, Piracicaba, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:
Received 6 March 2015
Received in revised form 4 May 2015
Accepted 5 May 2015
Available online 19 May 2015

Keywords:
Flow analysis
Pulsed flows
Multi-pumping flow systems
Solenoid pumps

ABSTRACT

In flow analysis, use of a steady and pulseless flow was considered essential for ensuring a reproducible handling of the flowing sample. To this end, peristaltic and syringe pumps have been the propelling device in the vast majority of the flow analysers. Recently, the number of applications involving pulsed flow has been increasing. Most of them refer to use of solenoid pumps, the essence of the so-called multi-pumping flow systems.

This review critically discusses the characteristics, potentialities and limitations of the pulsed flow systems, emphasizing the main advantageous characteristics of the streams involved, such as high radial mass transference and good mixing of the fluids. Diverse contributions ranging from instrumentation development to analytical applications are presented.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	419
2. Pulsed flows	420
3. Flow systems with pulsed flows	421
3.1. Recorded peak shape	421
3.2. Slow reactions	421
3.3. Heating	421
3.4. Solid reagents	426
3.5. Tandem streams	427
4. Applications	427
4.1. System versatility	427
4.2. Portability	428
4.3. Suitability for biochemical studies	428
5. Trends	428
Acknowledgements	428
References	428

1. Introduction

Investigations on the influence of flow pattern² in analytical chemistry started at the first quarter of the last century. The need

for fast solution mixing and in-line detection was increasing, and exploitation of flow-based strategies was the right answer to it [1]. Modifications in flow pattern influenced the mixing conditions, as highlighted in 1923 by Hartridge and Roughton [2], who reported vortex movements of fluids caused by Y-shaped and cylindrical mixing devices.

Mixing chambers were further used to improve the continuous monitoring required for repetitive assays. Convergent streams of sample, reagents and carrier solutions were generally established, and steady situations analogous to that of “sample infinite volume” [3] were approached. Flow-based analytical procedures were then

* Corresponding author. Tel./fax: +55 19 34294650.

E-mail address: ezagatto@cena.usp.br (E.A.G. Zagatto).

¹ Postal address: Centre for Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo, P.O. Box 96, 13400-970 Piracicaba, SP, Brazil.

² Flow pattern is herein used in a broad context, encompassing flow regime, flow rate and its temporal variations, as well as the characteristics of the flowing stream.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.05.018>

0039-9140/© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Artículo publicado en la revista Química Nova (Quim. Nova 39, 3 (2016), 305-309).

Quim. Nova, Vol. 39, No. 3, 305-309, 2016

<http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160020>

LOW COST ANALYZER FOR THE DETERMINATION OF PHOSPHORUS BASED ON OPEN-SOURCE HARDWARE AND PULSED FLOWS

Pablo González^a, Nicolás Pérez^b and Moisés Knochen^{a,*}

^aQuímica Analítica, Facultad de Química, Universidad de la República, 11800 Montevideo, Uruguay

^bCentro Universitario de Paysandú, Universidad de la República, Ruta 3 km 363, 60000 Paysandú, Uruguay

Recebido em 22/09/2015; aceito em 08/12/2015; publicado na web em 17/02/2016

Artigo

The need for automated analyzers for industrial and environmental samples has triggered the research for new and cost-effective strategies of automation and control of analytical systems. The widespread availability of open-source hardware together with novel analytical methods based on pulsed flows have opened the possibility of implementing standalone automated analytical systems at low cost. Among the areas that can benefit from this approach are the analysis of industrial products and effluents and environmental analysis. In this work, a multi-pumping flow system is proposed for the determination of phosphorus in effluents and polluted water samples. The system employs photometric detection based on the formation of molybdovanadophosphoric acid, and the fluidic circuit is built using three solenoid micropumps. The detection is implemented with a low cost LED-photodiode photometric detection system and the whole system is controlled by an open-source Arduino Uno microcontroller board. The optimization of the timing to ensure the color development and the pumping cycle is discussed for the proposed implementation. Experimental results to evaluate the system behavior are presented verifying a linear relationship between the relative absorbance and the phosphorus concentrations for levels as high as 50 mg L⁻¹.

Keywords: phosphorus; analyzer; pulsed flows; open-source.

INTRODUCTION

Phosphorus is the 12th element in abundance in the Earth's crust.¹ Its compounds are distributed in rocks and minerals, and can be found in living beings. It is essential for life, but unlike other essential elements, its cycle is limited to terrestrial and aquatic ecosystems.¹ Phosphorus compounds, obtained from phosphate rocks, are used in agriculture as fertilizers and in industry, for instance as a component of detergents.

Hence the analytical determination of phosphorus compounds in different matrices, both natural and industrial is an important subject that is often reported in the literature. Quality control of manufactured goods such as fertilizers or detergents requires the determination of contents of phosphates. On the other hand, high levels of phosphorus and other nutrients in water bodies may cause the phenomenon of eutrophication, often referred to as "algal bloom", characterized by a fast and uncontrolled growth of phytoplankton.^{2,3} Fertilizers and detergents containing phosphates are amongst the main sources of pollution by phosphorus, which can reach surface water bodies via runoffs as well as industrial and urban wastes. Thus monitoring the levels of phosphorus and other nutrients in industrial effluents and sewage systems is necessary in order to keep under control the possible pollution originating from these sources.

A literature search can show a large number of methods proposed for the determination of phosphorus, based on different techniques such as UV-visible spectrophotometry,^{4,5} fluorescence,^{6,7} and chemiluminescence.^{8,9} UV-visible spectrophotometry is probably the most often used technique for this purpose. Several classical and well-known reactions are employed, usually proceeding via formation of phosphomolybdate, such as the phosphomolybdenum blue^{4,10,11} and molybdovanadophosphoric acid^{12,13} methods. The former presents an absorption maximum about 880 nm and is more sensitive, while the latter is characterized by an absorption maximum about 315 nm

and is usually chosen when higher concentration ranges are to be determined.

Given the increase in the number of samples to be analyzed, there is a need for a higher analytical productivity, hence of faster analytical methods capable of providing better information for decision making.

Analytical automation has experienced an outstanding evolution in the last decades, partly due to the introduction of different techniques of flow analysis, such as segmented flow analysis (SFA) by Skegg in 1957,¹⁴ and especially since the inception of flow injection analysis (FIA) in the decade of 1970.^{15,16} This technique has experienced a remarkable evolution and is routinely used for the determination of phosphorus in water.¹⁷ Later developments in the instrumentation used in flow analysis have led to the introduction of innovative flow techniques such as sequential injection analysis (SIA),¹⁸ multicommutated flow analysis (MCFA)¹⁹ and multisyringe flow analysis (MSFA),²⁰ where different strategies of sample introduction and fluid handling are exploited in order to obtain the best possible figures of merit for a given application, emphasizing high sample throughput and minimum reagent consumption.

Lapa *et al.*²¹ proposed in 2002 a new flow technique based on the use of solenoid micro pumps. The use of solenoid pumps as propelling devices for FIA had been already explored by Weeks and Johnson,²² however the proposed use of the solenoid pumps was rather ancillary and sample injection was carried out in the traditional way by means of a six-port rotary valve, while in the paper by Lapa *et al* emphasis was put in the design of a complete system based on a network of several micro pumps independently controlled by a computer program. They called this strategy "multi-pumping" and terms as "multi-pumping flow analysis" and "multi-pumping flow systems", along with the acronyms MPFA and MPFS are often found in the literature in connection to this subject. The use of a propelling device that produces a pulsed flow at first seemed at odds with the traditional practice in flow injection analysis where a flow as constant and uniform as possible was considered necessary. However the experience has demonstrated that systems based on

*e-mail: mknochen@fq.edu.uy

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

12. ANEXOS

12.1. Programa del analizador cargado a la placa Arduino

```
#include <math.h> // para los cálculos de absorbancia y demás, se debe incluir esta librería
#include <LowPower.h> // librería para mandarlo a dormir
// A continuación defino pines y valores enteros constantes
#define b1 2 // pin digital para la bomba que impulsara el carrier
#define b2 3 // pin digital para la bomba que impulsara el reactivo de fosfato
#define b3 4 // pin digital para la bomba que impulsara el reactivo de nitrito
#define b4 5 // pin digital para la bomba que impulsara patrón o muestra
#define pump 13 // pin digital para la bomba que carga la línea de muestra
#define v1 9 // pin digital con PWM de la válvula 1 que selecciona patrón o muestra
#define v2 10 // pin digital con PWM de la válvula 2 que selecciona si pasa o no por la columna de Cd
#define v3 11 // pin digital con PWM de la válvula 3 que selecciona detector de fosfato o de nitrito
#define led1 6 // pin digital del LED 415 nm para fosfato
#define led2 12 // pin digital del LED 520 nm para nitrito
// Variables
double Pfosfato=25.0; // ingresar aquí la concentración del patrón de fosfato en mg/L expresado como P
double Pnitrito=1200; // ingresar aquí la concentración del patrón de nitrito en ug/L expresado como N-NO2
double Pnitrato=2500; // ingresar aquí la concentración del patrón de nitrato en ug/L expresado como N-NO3
double TOP; // transmitancia 0 para fosfato
double T100P; // transmitancia 100 para fosfato
double TON; // transmitancia 0 para nitrito y nitrato
double T100N; // transmitancia 100 para nitrito y nitrato
double t; // señal del detector en cualquier instante (valor registrado en la entrada analógica de Arduino)
double T; // transmitancia relativa de las disoluciones en cualquier instante
double A; // absorbancia relativa de las disoluciones en cualquier instante
double hbfosfato; // altura de pico del blanco de fosfato
double hpfosfato; // altura de pico del patrón de fosfato
double hmfosfato; // altura de pico de la muestra de fosfato
double hbnitrito; // altura de pico del blanco de nitrito
double hpnitrito; // altura de pico del patrón de nitrito
double hmnitrito; // altura de pico de la muestra de nitrito
double hbnitrato; // altura de pico del blanco de nitrato
double hpnitrato; // altura de pico del patrón de nitrato
double hmnitrato; // altura de pico de la muestra de nitrato
double ordenadaP; // variable global para la ordenada de calibración de fosfato
double pendienteP; // variable global para la pendiente de calibración de fosfato
double ordenadaN; // variable global para la ordenada de calibración de nitrito
double pendienteN; // variable global para la pendiente de calibración de nitrito
double ordenadaN; // variable global para la ordenada de calibración de nitrato
double pendienteN; // variable global para la pendiente de calibración de nitrato
// Las concentraciones halladas en la muestra
double Cfosfato; // concentración hallada de fosfato en la muestra
double Cnitrito; // concentración hallada de nitrito en la muestra
double Cnitrato; // concentración hallada de nitrato en la muestra

void setup () {
    //Inicializo la comunicación entre Arduino y el SIM800
    Serial.begin(9600);
    delay(1000);
    //Seteo el formato de los SMS a ASCII
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
Serial.println("AT+CMGF=1\r\n");
delay(1000);
Serial.println("AT+CNMI=1,2,0,0,0");
delay(1000);
// configuro los pines digitales asignados anteriormente como salidas
pinMode(b1,OUTPUT);
pinMode(b2,OUTPUT);
pinMode(b3,OUTPUT);
pinMode(b4,OUTPUT);
pinMode(v1,OUTPUT);
pinMode(v2,OUTPUT);
pinMode(v3,OUTPUT);
pinMode(pump,OUTPUT);
pinMode(led1,OUTPUT);
pinMode(led2,OUTPUT);
// Inicializo los pines digitales en estado bajo
digitalWrite(b1,LOW);
digitalWrite(b2,LOW);
digitalWrite(b3,LOW);
digitalWrite(b4,LOW);
digitalWrite(v1,LOW);
digitalWrite(v2,LOW);
digitalWrite(v3,LOW);
digitalWrite(pump,LOW);
digitalWrite(led1,LOW);
digitalWrite(led2,LOW);
delay(1000);
}

void loop () {
  v_L();
  ledOFF();
  ajustes_fosfato(); // ajustes fotométricos para el análisis de fosfato
  blanco_fosfato(); // análisis del blanco de fosfato
  patron_fosfato(); // análisis del patrón de fosfato
  delay(1000);
  muestra_fosfato(); // análisis de la muestra de fosfato
  SMS_fosfato();
  delay(1000);
  ajustes_nitrito(); // ajustes fotométricos para el análisis de nitrito y nitrato
  blanco_nitrito(); // análisis del blanco de nitrito
  patron_nitrito(); // análisis del patrón de nitrito
  delay(1000);
  muestra_nitrito(); // análisis de la muestra de nitrito
  SMS_nitrito();
  delay(1000);
  blanco_nitrato(); // análisis del blanco de nitrato
  patron_nitrato(); // análisis del patrón de nitrato
  delay(1000);
  muestra_nitrato(); // análisis de la muestra de nitrato
  SMS_nitrato();
  int i;
  for(i=0;i<2700;i++){
    LowPower.powerDown(SLEEP_8S, ADC_OFF, BOD_OFF);
  }
}

void blanco_fosfato() {
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
double B[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
double picob=0;
double lineabaseb;
int b=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
int i; // variable local de los bucles for
// se bombea carrier durante unos 30 segundos
v3_H(); // válvula para que pase por el detector de fosfato
for(i=0;i<60;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
}
// se inyecta blanco y reactivo primero un total de 15 pumps c/u
for(i=0;i<15;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b2_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(200);
}
// un STOP FLOW de 1 minuto
v_L();
delay(60000);
// re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
v3_H(); // válvula para que pase por el detector de fosfato
for(i=0;i<180;i++) {
    b4_H();
    t=analogRead(0);
    T=(T100P-T0P)/(t-T0P);
    A=log10(T);
    B[b]=A;
    b=b+1;
    delay(150);
    b_L();
    t=analogRead(0);
    T=(T100P-T0P)/(t-T0P);
    A=log10(T);
    B[b]=A;
    b=b+1;
    delay(350);
}
v_L();
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
    if (B[x]>picob) {
        picob=B[x];
    }
    x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabaseb= (B[350]+B[351]+B[352]+B[353]+B[354]+B[355]+B[356]+B[357]+B[358]+B[359])/10;
delay (1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hbfosfato=picob-lineabaseb;
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
}
```

```
void patron_fosfato() {
    double P[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
    double picop=0;
    double lineabasep;
    int p=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
    int i; // variable local de los bucles for
    // se bombea carrier durante unos 30 segundos
    v3_H(); // válvula para que pase por el detector de fosfato
    for(i=0;i<60;i++) {
        b4_H();
        delay(150);
        b_L();
        delay(350);
    }
    // se inyecta patrón y reactivo primero un total de 15 pumps c/u
    for(i=0;i<15;i++) {
        b1_H();
        delay(150);
        b2_H();
        delay(150);
        b_L();
        delay(200);
    }
    // un STOP FLOW de 1 minuto
    v_L();
    delay(60000);
    // re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
    v3_H();
    for(i=0;i<180;i++) {
        b4_H();
        t=analogRead(0);
        T=(T100P-T0P)/(t-T0P);
        A=log10(T);
        P[p]=A;
        p=p+1;
        delay(150);
        b_L();
        t=analogRead(0);
        T=(T100P-T0P)/(t-T0P);
        A=log10(T);
        P[p]=A;
        p=p+1;
        delay(350);
    }
    v_L();
    // lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
    int x=0; // variable interna del bucle while
    while (x<360) {
        if (P[x]>picop) {
            picop=P[x];
        }
        x=x+1;
    }
    // estimación de la LINEA BASE
    lineabasep= (P[350]+P[351]+P[352]+P[353]+P[354]+P[355]+P[356]+P[357]+P[358]+P[359])/10;
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
delay(1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hpfosfato=picop-lineabasep;
ordenadaP=hbpfosfato;
delay(1000);
pendienteP=(hpfosfato-hbpfosfato)/Pfosfato;
delay(1000);
}

void muestra_fosfato() {
double M[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
double picom=0;
double lineabasem;
int m=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
int i; // variable local de los bucles for
// PURGANDO UN POCO LA LINEA DE MUESTREO
v1_H();
v3_H();
pumpon();
delay(1000);
for(i=0;i<50;i++) {
b1_H();
delay(150);
b_L();
delay(350);
}
pumpoff();
v_L();
v3_H();
// se bombea carrier durante unos 30 segundos
for(i=0;i<60;i++) {
b4_H();
delay(150);
b_L();
delay(350);
}
// se inyecta muestra y reactivo un total de 15 pumps c/u
pumpon();
delay(5000);
v1_H();// abro la válvula por la cual se recoge muestra
delay(500);
for(i=0;i<15;i++) {
b1_H();
delay(150);
b2_H();
delay(150);
b_L();
delay(200);
}
pumpoff();
v_L(); // cierro las válvulas
// un STOP FLOW de 1 minuto
delay(60000);
// re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
v3_H();
for(i=0;i<180;i++) {
b4_H();
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
t=analogRead(0);
T=(T100P-T0P)/(t-T0P);
A=log10(T);
M[m]=A;
m=m+1;
delay(150);
b_L();
t=analogRead(0);
T=(T100P-T0P)/(t-T0P);
A=log10(T);
M[m]=A;
m=m+1;
delay(350);
}
v_L();
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
  if (M[x]>picom) {
    picom=M[x];
  }
  x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabsem= (M[350]+M[351]+M[352]+M[353]+M[354]+M[355]+M[356]+M[357]+M[358]+M[359])/10;
delay (1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hmfosfato=picom-lineabsem;
delay(1000);
// curva de calibración
Cfosfato=(hmfosfato-ordenadaP)/pendienteP;
if(Cfosfato<0){
  Cfosfato=0;
}
ledOFF();
}

void blanco_nitrito() {
  double B[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
  double picob=0;
  double lineabaseb;
  int b=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
  int i; // variable local de los bucles for
  // se bombea carrier durante unos 30 segundos
  for(i=0;i<60;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
  }
  // se inyecta blanco y reactivo un total de 10 pumps c/u
  for(i=0;i<10;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b3_H();
    delay(150);
    b_L();
  }
}
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
delay(200);
}
// re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
for(i=0;i<180;i++) {
b4_H();
t=analogRead(1);
T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
A=log10(T);
B[b]=A;
b=b+1;
delay(150);
b_L();
t=analogRead(1);
T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
A=log10(T);
B[b]=A;
b=b+1;
delay(350);
}
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
if (B[x]>picob) {
picob=B[x];
}
x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabaseb= (B[350]+B[351]+B[352]+B[353]+B[354]+B[355]+B[356]+B[357]+B[358]+B[359])/10;
delay (1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hbnitrito=picob-lineabaseb;
}

void patron_nitrito() {
double P[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
double picop=0;
double lineabasep;
int p=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
int i; // variable local de los bucles for
// se bombea carrier durante unos 30 segundos
for(i=0;i<60;i++) {
b4_H();
delay(150);
b_L();
delay(350);
}
// se inyecta patron y reactivo un total de 10 pumps c/u
for(i=0;i<10;i++) {
b1_H();
delay(150);
b3_H();
delay(150);
b_L();
delay(200);
}
// re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
for(i=0;i<180;i++) {
  b4_H();
  t=analogRead(1);
  T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
  A=log10(T);
  P[p]=A;
  p=p+1;
  delay(150);
  b_L();
  t=analogRead(1);
  T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
  A=log10(T);
  P[p]=A;
  p=p+1;
  delay(350);
}
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
  if (P[x]>picop) {
    picop=P[x];
  }
  x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabasep= (P[350]+P[351]+P[352]+P[353]+P[354]+P[355]+P[356]+P[357]+P[358]+P[359])/10;
delay (1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hpnitrito=picop-lineabasep;
ordenadan=hbnitrito;
delay(1000);
pendienten=(hpnitrito-hbnitrito)/Pnitrito;
delay(1000);
}

void muestra_nitrito() {
  double M[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
  double picom=0;
  double lineabasem;
  int m=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
  int i; // variable local de los bucles for
  // se bombea carrier durante unos 30 segundos
  for(i=0;i<60;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
  }
  v1_H();
  delay(1000);
  // una limpieza de la linea de muestreo
  pumpon();
  for (i=0;i<50;i++) {
    b1_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
  }
}
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
}
v_L();
pumpoff();
// se inyecta muestra y reactivo un total de 10 pumps c/u
pumpon();
delay(5000);
v1_H();// abro la válvula por la cual se recoge muestra
delay(500);
for(i=0;i<10;i++) {
  b1_H();
  delay(150);
  b3_H();
  delay(150);
  b_L();
  delay(200);
}
pumpoff();
v_L();// cierro la válvula
delay(200);
// re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
for(i=0;i<180;i++) {
  b4_H();
  t=analogRead(1);
  T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
  A=log10(T);
  M[m]=A;
  m=m+1;
  delay(150);
  b_L();
  t=analogRead(1);
  T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
  A=log10(T);
  M[m]=A;
  m=m+1;
  delay(350);
}
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
  if (M[x]>picom) {
    picom=M[x];
  }
  x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabasem= (M[350]+M[351]+M[352]+M[353]+M[354]+M[355]+M[356]+M[357]+M[358]+M[359])/10;
delay (1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hmnitrito=picom-lineabasem;
delay(1000);
// curva de calibración
Cnitrito=(hmnitrito-ordenadan)/pendienten;
if(Cnitrito<0){
  Cnitrito=0;
}
}

void blanco_nitrato() {
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
double B[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
double picob=0;
double lineabaseb;
int b=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
int i; // variable local de los bucles for
// se bombea carrier durante unos 30 segundos
for(i=0;i<60;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
}
// se inyecta blanco a traves de la columna de Cd y reactivo un total de 20 pumps c/u
for(i=0;i<15;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b3_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(200);
}
// re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
for(i=0;i<180;i++) {
    b4_H();
    t=analogRead(1);
    T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
    A=log10(T);
    B[b]=A;
    b=b+1;
    delay(150);
    b_L();
    t=analogRead(1);
    T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
    A=log10(T);
    B[b]=A;
    b=b+1;
    delay(350);
}
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
    if (B[x]>picob) {
        picob=B[x];
    }
    x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabaseb= (B[350]+B[351]+B[352]+B[353]+B[354]+B[355]+B[356]+B[357]+B[358]+B[359])/10;
delay (1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hbnitrato=picob-lineabaseb;
}

void patron_nitrato() {
    double P[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
    double picop=0;
    double lineabasep;
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
int p=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
int i; // variable local de los bucles for
// empiezo limpiando la linea de la columna de Cd
v2_H(); // abro la válvula para que pase por la columna de Cd
for(i=0;i<30;i++) {
    b1_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
}
v_L();
// se bombea carrier durante unos 30 segundos
for(i=0;i<60;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
}
// se inyecta patrón y reactivo a traves de la columna de Cd un total de 20 pumps c/u
v2_H(); // abro la válvula para que pase por la columna de Cd
for(i=0;i<15;i++) {
    b1_H();
    delay(150);
    b3_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(200);
}
v_L(); // cierro las válvulas
// re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
for(i=0;i<180;i++) {
    b4_H();
    t=analogRead(1);
    T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
    A=log10(T);
    P[p]=A;
    p=p+1;
    delay(150);
    b_L();
    t=analogRead(1);
    T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
    A=log10(T);
    P[p]=A;
    p=p+1;
    delay(350);
}
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
    if (P[x]>picop) {
        picop=P[x];
    }
    x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabasep= (P[350]+P[351]+P[352]+P[353]+P[354]+P[355]+P[356]+P[357]+P[358]+P[359])/10;
delay (1000);
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hpnitrato=picop-lineabasep;
ordenadaN=hbnitrato;
delay(1000);
pendienteN=(hpnitrato-hbnitrato)/(Pnitrato+Pnitrito);
delay(1000);
}

void muestra_nitrato() {
  double M[360]; // vector con las absorbancias relativas del blanco
  double picom=0;
  double lineabasem;
  int m=0; // variable para el vector con las absorbancias relativas del blanco
  int i; // variable local de los bucles for
  // EMPEZAMOS CIRCULANDO UN POCO DE MUESTRA POR LA LINEA
  v1_H();
  v2_H();
  delay(500);
  pumpon();
  for (i=0;i<50;i++) {
    b1_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
  }
  v_L();
  pumpoff();
  // se bombea carrier durante unos 30 segundos
  for(i=0;i<60;i++) {
    b4_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(350);
  }
  // se inyecta muestra y reactivo a traves de la columna de Cd un total de 20 pumps c/u
  pumpon();
  delay(5000);
  v1_H(); // abro válvula a traves de la cual se recoge muestra
  v2_H(); // abro la válvula para que pase por la columna de Cd
  delay(500);
  for(i=0;i<15;i++) {
    b1_H();
    delay(150);
    b3_H();
    delay(150);
    b_L();
    delay(200);
  }
  pumpoff();
  v_L();// cierro válvulas
  delay(500);
  // re arranca el bombeo de carrier pero ahora con adquisición de la señal analógica
  for(i=0;i<180;i++) {
    b4_H();
    t=analogRead(1);
    T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
    A=log10(T);
  }
}
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
M[m]=A;
m=m+1;
delay(150);
b_L();
t=analogRead(1);
T=(T100N-T0N)/(t-T0N);
A=log10(T);
M[m]=A;
m=m+1;
delay(350);
}
// lo siguiente es para encontrar el valor máximo del vector de las absorbancias relativas
int x=0; // variable interna del bucle while
while (x<360) {
  if (M[x]>picom) {
    picom=M[x];
  }
  x=x+1;
}
// estimación de la LINEA BASE
lineabsem= (M[350]+M[351]+M[352]+M[353]+M[354]+M[355]+M[356]+M[357]+M[358]+M[359])/10;
delay (1000);
// con lo anterior estimo la ALTURA DE PICO como:
hmnitrato=picom-lineabsem;
delay(1000);
// curva de calibración
Cnitrato=(hmnitrato-ordenadaN)/pendienteN;
if(Cnitrato<0){
  Cnitrato=0;
}
ledOFF();
}

/* FUNCIONES AUXILIARES */

void ajustes_fosfato() {
  digitalWrite(led1,LOW);
  delay(1000);
  T0P=analogRead(0);// realiza y memoriza el ajuste
  digitalWrite(led1,HIGH);
  delay(1000);
  T100P=analogRead(0);
}

void ajustes_nitrato() {
  digitalWrite(led2,LOW);
  delay(1000);
  T0N=analogRead(1);// realiza y memoriza el ajuste
  digitalWrite(led2,HIGH);
  delay(1000);
  T100N=analogRead(1);
}

void b1_H(){
  digitalWrite(b1,HIGH);
  digitalWrite(b2,LOW);
  digitalWrite(b3,LOW);
}
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
digitalWrite(b4,LOW);
}

void b2_H(){
digitalWrite(b1,LOW);
digitalWrite(b2,HIGH);
digitalWrite(b3,LOW);
digitalWrite(b4,LOW);
}

void b3_H(){
digitalWrite(b1,LOW);
digitalWrite(b2,LOW);
digitalWrite(b3,HIGH);
digitalWrite(b4,LOW);
}

void b4_H(){
digitalWrite(b1,LOW);
digitalWrite(b2,LOW);
digitalWrite(b3,LOW);
digitalWrite(b4,HIGH);
}

void b_L(){
digitalWrite(b1,LOW);
digitalWrite(b2,LOW);
digitalWrite(b3,LOW);
digitalWrite(b4,LOW);
}

void v1_H(){
digitalWrite(v1,HIGH);
delay(100);
analogWrite(v1,100);
}

void v2_H(){
digitalWrite(v2,HIGH);
delay(100);
analogWrite(v2,100);
}

void v3_H(){
digitalWrite(v3,HIGH);
delay(100);
analogWrite(v3,100);
}

void v_L () {
digitalWrite(v1,LOW);
digitalWrite(v2,LOW);
digitalWrite(v3,LOW);
}

void pumpon() {
digitalWrite(pump,HIGH);
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
}

void pumpoff () {
    digitalWrite(pump,LOW);
}

void ledOFF() {
    digitalWrite(led1,LOW);
    digitalWrite(led2,LOW);
}

void SMS_fosfato() {
    seteo_SIM800();
    Serial.print("Calibracion: ");
    Serial.print(pendienteP,4);
    Serial.print(".C (mg/L P) + ");
    Serial.print(ordenadaP,4);
    Serial.println(". ");
    Serial.print("Conc. fosfato en la muestra: ");
    Serial.print(Cfosfato,3);
    Serial.println(" mg/L P.");
    //Se finaliza un SMS con el caracter CTRL Z que es el char 26
    Serial.write((char)26);
    delay(1000);
}

void SMS_nitrito() {
    seteo_SIM800();
    Serial.print("Calibracion: ");
    Serial.print(pendienteN,4);
    Serial.print(".C (mg/L NO2) + ");
    Serial.print(ordenadaN,4);
    Serial.println(". ");
    Serial.print("Conc. nitrito en la muestra: ");
    Serial.print(Cnitrito,3);
    Serial.println(" mg/L NO2");
    //Se finaliza un SMS con el caracter CTRL Z que es el char 26
    Serial.write((char)26);
    delay(1000);
}

void SMS_nitrato() {
    seteo_SIM800();
    Serial.print("Calibracion: ");
    Serial.print(pendienteN,4);
    Serial.print(".C (mg/L N) + ");
    Serial.print(ordenadaN,4);
    Serial.println(". ");
    Serial.print("Conc. nitrito + nitrato en la muestra: ");
    Serial.print(Cnitrato,3);
    Serial.println(" mg/L N");
    //Se finaliza un SMS con el caracter CTRL Z que es el char 26
    Serial.write((char)26);
    delay(1000);
}

void seteo_SIM800 () {
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

```
//Iniciando la comunicación entre Arduino y el módulo SIM800L
//Seteamos el formato del SMS en modo ASCII
Serial.println("AT+CMGF=1\r\n");
delay(1000);
//Comando para envío de nuevo SMS y seteado del numero de telefono al cual enviarlo
Serial.println("AT+CMGS=\"097301387\"\r\n");// poner aqui el numero de telefono del usuario
delay(1000);
}
```

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

12.2. Cálculo del consumo energético y autonomía

Componentes del sistema en flujo:

El sistema consta de los siguientes componentes electrónicos:

- 4 bombas solenoide
- 3 válvulas solenoide
- 1 placa Arduino UNO
- 1 módulo GSM con el chip SIM800L
- 1 LED UV ($\lambda = 415 \text{ nm}$)
- 1 LED verde ($\lambda = 525 \text{ nm}$)
- 2 fotodiodos como detectores
- 2 amplificadores operacionales (AOs) basados en el chip TL081 configurado como transimpedancia
- Un driver basado en el chip ULN 2803

En la página siguiente se muestra el esquema del sistema en flujo (Figura 95).

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

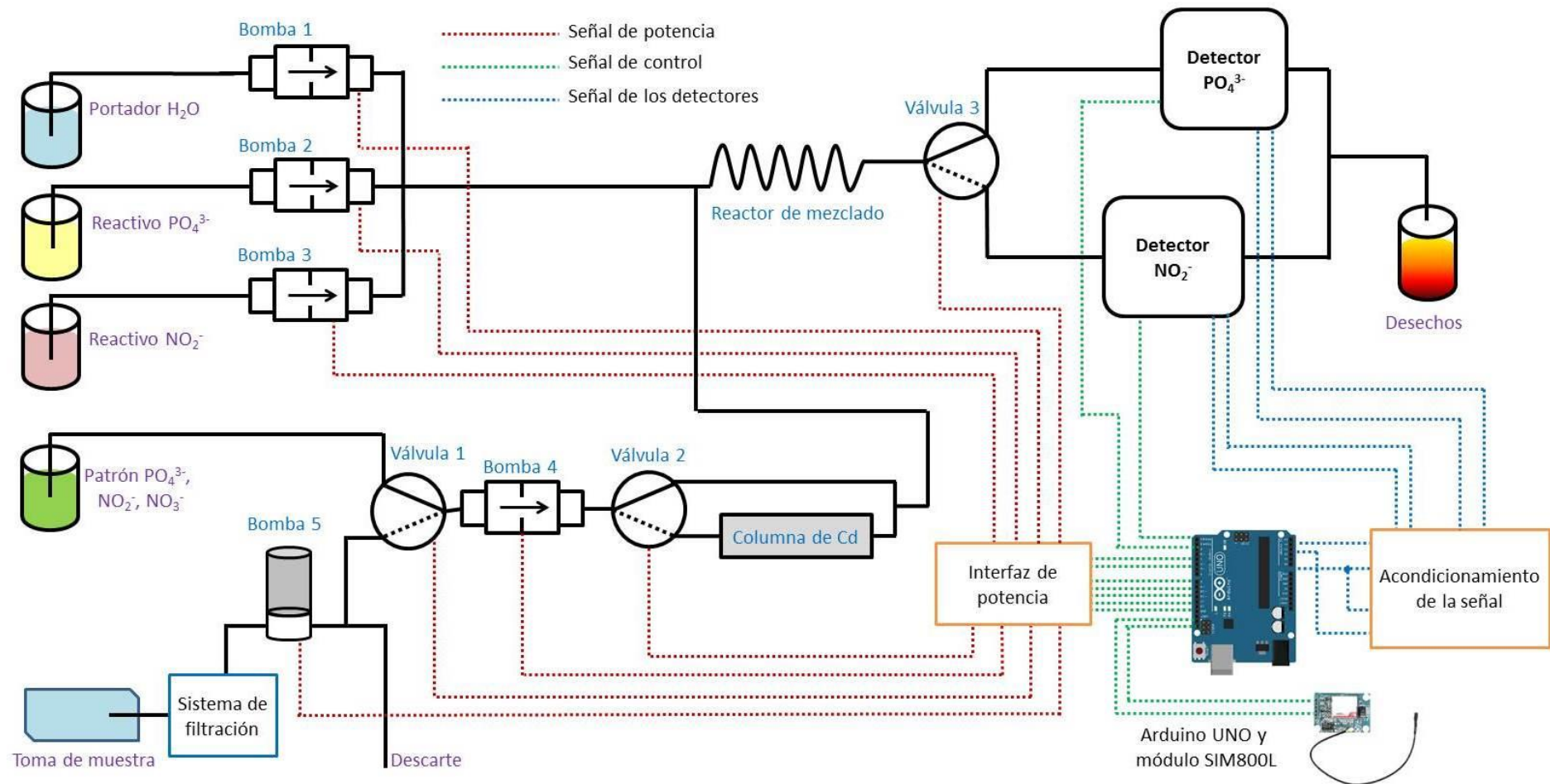


Figura 95: El sistema eléctrico del analizador multiparamétrico.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Bombas solenoide:

En cada ciclo de energizado:

- Volumen que dispensan: 20 μL
- Voltaje = 12 v
- Intensidad = 320 mA
- Duración del energizado = 150 ms

En cada ciclo de energizado:

$$320 \text{ mA} \times 0.150 \text{ seg} = 48 \text{ mA} \cdot \text{s} = 0.013 \text{ mA} \cdot \text{h/ciclo de energizado}$$

Ese es el consumo promedio de cada bomba cuando es energizada en cada ciclo de bombeo.

Válvulas solenoide:

Son de 12 v; independientemente de cuánta corriente consumen, al ser alimentadas con el ULN 2803 están consumiendo unos 500 mA.

Sistemas de detección:

- LED UV (415 nm) con resistencia de 390 Ω alimentado con los 5v de la placa Arduino; posee una caída de tensión a su través estimada en 1.8 mV.
- LED verde (525 nm) con resistencia de 390 Ω alimentado con los 5v de la placa Arduino; posee una caída de tensión a su través estimada en 1.8 mV.
- Amplificadores con filtro RC.

EL consumo de cada LED será:

$$\frac{(5\text{v} - 1.8 \text{ v})}{390 \Omega} = 0.0082 \text{ A} = 8.2 \text{ mA}$$

- Amplificadores basados en el chip TL 081

Necesitan una corriente de suministro de 2 mA. Estos están encendidos en todo momento.

La placa Arduino UNO:

- Datos de internet indican que la placa Arduino UNO funcionando por ejemplo en el *sketch blink* consume 29 mA.
- El regulador 7805 consume 4.2 mA, el Arduino en modo *stand-by* consumiría eso.
- Hay una forma de poner por software el Arduino en el modo *sleep* y la misma fue implementada.

Para un cálculo aproximado, se tomara que la placa Arduino consume 30 mA estando trabajando y 4 mA estando en *sleep mode*.

El shield GSM con el chip SIM800:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

En el modo dormido (sin transmitir datos) consume **0,7 mA**.

En los picos de trabajo puede llegar a consumir hasta **2 A**; se tomará este valor para estimación de su consumo al enviar SMS.

Consumo en el ciclo de trabajo del analizador:

Al realizar un análisis, el sistema realiza los siguientes pasos:

- 1) Ajustes fotométricos para fosfato
- 2) Calibración del blanco de fosfato
- 3) Calibración del patrón de fosfato
- 4) Determinación de fosfato en la muestra
- 5) Envío del SMS con los parámetros de calibración y la concentración de fosfato
- 6) Ajustes fotométricos para nitrito
- 7) Calibración del blanco de nitrito
- 8) Calibración del patrón de nitrito
- 9) Determinación de nitrito en la muestra
- 10) Envío del SMS con los parámetros de calibración y la concentración de nitrito
- 11) Ajustes fotométricos para nitrito
- 12) Calibración del blanco de nitrato
- 13) Calibración del patrón de nitrato
- 14) Determinación de nitrato en la muestra
- 15) Envío del SMS con los parámetros de calibración y la concentración de nitrato+nitrito
- 16) Descanso hasta el próximo ciclo de trabajo

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

1. Ajustes fotométricos para fosfato:

El primer ajuste fotométrico se realiza con el LED UV apagado y en el siguiente ajuste se enciende el LED UV por 3 segundos, el consumo del LED está cuantificado en párrafos anteriores para todo el ciclo del análisis; y en esta etapa las bombas y válvulas están apagadas. El tiempo total de esta etapa es de 10 segundos en los cuales en los últimos 3 segundos el LED está encendido.

Consumo del LED UV:

$$\frac{3 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0068 \text{ mA.h}$$

Consumo del Arduino:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0833 \text{ mA.h}$$

El módulo GSM con el chip SIM800 consume:

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0019 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.0111 \text{ mA.h}$$

Etapa 1: Ajustes fotométricos para fosfato								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	0	0	0.0833	0.0019	0.0068	0	0.0111	0.1031

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

2. Calibración con el blanco de fosfato

- La etapa comienza con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se inyecta blanco y reactivo un total de 300 µL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 7,5 segundos.
- Luego viene 60 segundos de flujo detenido.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 187,5 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 255 veces.
- La bomba del reactivo de fosfato se energiza y desenergiza 15 veces.
- La válvula que selecciona al detector de fosfato se activa durante 127,5 segundos.
- El LED UV, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 255 \text{ ciclos} = 3.3150 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del reactivo de PO_4^{3-} : $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 15 \text{ ciclos} = 0.1950 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total bombas: $3.3150 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.1950 \text{ mA} \cdot \text{h} = 3.51 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvulas:

Válvula detector PO_4^{3-} : $500 \text{ mA} \times \frac{127.5 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 17.7083 \text{ mA} \cdot \text{h}$

LEDs:

LED UV: $\frac{187.5 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.4721 \text{ mA} \cdot \text{h}$

El LED verde está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GMS:

El Arduino en esta etapa consume:

$\frac{30 \text{ mA} \times 187.5 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.5625 \text{ mA} \cdot \text{h}$

El módulo GSM SIM800 consume:

$\frac{0,7 \text{ mA} \times 187.5 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0365 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 187.5 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.2083 \text{ mA.h}$$

Etapa 2: Calibración con el blanco de fosfato								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	3.5100	17.7083	1.5625	0.0365	0.4721	0	0.2083	23.4977

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

3. Calibración con el patrón de fosfato:

- La etapa comienza con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se inyecta patrón y reactivo un total de 300 µL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 7,5 segundos.
- Luego viene 60 segundos de flujo detenido.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 187,5 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 240 veces.
- La bomba del reactivo de fosfato se energiza y desenergiza 15 veces.
- La bomba del patrón se energiza y desenergiza 15 veces.
- La válvula que selecciona al detector de fosfato se activa durante 127,5 segundos.
- El LED UV, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 240 \text{ ciclos} = 3.1200 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del reactivo de PO_4^{3-} : $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 15 \text{ ciclos} = 0.1950 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del patrón: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 15 \text{ ciclos} = 0.1950 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total bombas: $3.12 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.195 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.195 \text{ mA} \cdot \text{h} = 3.51 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvulas:

Válvula detector PO_4^{3-} : $500 \text{ mA} \times \frac{127.5 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 17.7083 \text{ mA} \cdot \text{h}$

LEDs:

LED UV: $\frac{187.5 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.4721 \text{ mA} \cdot \text{h}$

El LED verde está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GSM:

El Arduino en esta etapa consume:

$\frac{30 \text{ mA} \times 187.5 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.5625 \text{ mA} \cdot \text{h}$

El módulo GSM SIM800L consume:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 187.5 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0365 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 187.5 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.2083 \text{ mA.h}$$

Etapa 3: Calibración con el patrón de fosfato								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	3.5100	17.7083	1.5625	0.0365	0.4721	0	0.2083	23.4977

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

4. Determinación de fosfato en la muestra:

- La etapa comienza con una limpieza de la línea de muestreo que dura 25 segundos.
- Luego continúa con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se actualiza la muestra durante 5 segundos.
- Luego se inyecta muestra y reactivo un total de 300 μL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 7,5 segundos.
- Luego viene 60 segundos de flujo detenido.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 217,5 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 240 veces.
- La bomba del reactivo de fosfato se energiza y desenergiza 15 veces.
- La bomba de muestra se energiza y desenergiza 65 veces.
- La bomba peristáltica de muestreo se activa durante 37,5 segundos.
- La válvula que selecciona al detector de fosfato se activa durante 152,5 segundos.
- La válvula que selecciona que se tome muestra en vez de patrón se activa durante 32,5 segundos.
- El LED UV, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h/ciclo} \times 240 \text{ ciclos} = 3.1200 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del reactivo de PO_4^{3-} : $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h/ciclo} \times 15 \text{ ciclos} = 0.1950 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del patrón: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h/ciclo} \times 15 \text{ ciclos} = 0.1950 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba de muestreo: $300 \text{ mA} \times \frac{37.5 \text{ segundos}}{3600 \text{ s/h}} = 3.125 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total bombas: $3.12 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.195 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.195 \text{ mA} \cdot \text{h} + 3.125 \text{ mA} \cdot \text{h}$
 $= 6.635 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvulas:

Válvula detector PO_4^{3-} : $500 \text{ mA} \times \frac{152.5 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 21.1806 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvula de muestreo: $500 \text{ mA} \times \frac{32.5 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 4.5139 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total válvulas: $21.1806 \text{ mA} \cdot \text{h} + 4.5139 \text{ mA} \cdot \text{h} = 26.6945 \text{ mA} \cdot \text{h}$

LEDs:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

$$LED\ UV: \frac{217.5\ segundos \times 8.2\ mA}{3600\ seg/h} = 0.4954\ mA.h$$

El LED verde está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GMS:

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{30\ mA \times 187.5\ seg}{3600\ seg/h} = 1.8125\ mA.h$$

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{0,7\ mA \times 187.5\ seg}{3600\ seg/h} = 0.0423\ mA.h$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2\ mA \times 187.5\ seg}{3600\ seg/h} \times 2\ amplificadores = 0.2417\ mA.h$$

Etapa 4: Determinación de fosfato en la muestra								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	6.6350	25.6945	1.8125	0.0423	0.4954	0	0.2417	34.9214

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

5. Envío del SMS con los resultados de fosfato en la muestra

En esta etapa se configura automáticamente el módulo GSM para el envío de mensaje de texto en el cual se mandara los parámetros de calibración de fosfato y el resultado de la concentración de dicho analito en la muestra.

Esta etapa dura unos 20 segundos y para estimar el consumo se utiliza el valor de 2 A de consumo de corriente el cual se extrae de las hojas de datos del módulo.

Todo el resto del hardware (bombas, válvulas, LEDs) está apagado en esta etapa.

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{2000 \text{ mA} \times 20 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 11.1111 \text{ mA.h}$$

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 20 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.1667 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 20 \text{ s}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.0222 \text{ mA.h}$$

Etapa 5: Envío del SMS con los resultados de fosfato								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	0	0	0.1667	11.1111	0	0	0.0222	11.3000

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

6. Ajustes fotométricos para nitrito:

El primer ajuste fotométrico se realiza con el LED verde apagado y en el siguiente ajuste se enciende el LED verde por 3 segundos, el consumo del LED está cuantificado en párrafos anteriores para todo el ciclo del análisis; y en esta etapa las bombas y válvulas están apagadas. El tiempo total de esta etapa es de 10 segundos en los cuales en los últimos 3 segundos el LED está encendido.

Consumo del LED verde:

$$\frac{3 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0068 \text{ mA.h}$$

Consumo del Arduino:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0833 \text{ mA.h}$$

El módulo GSM con el chip SIM800 consume:

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0019 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.0111 \text{ mA.h}$$

Etapa 6: Ajustes fotométricos para nitrito								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	0	0	0.0833	0.0019	0	0.0068	0.0111	0.1032

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

7. Calibración con el blanco de nitrito:

- La etapa comienza con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se inyecta blanco y reactivo un total de 200 μL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 5 segundos.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 125 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 250 veces.
- La bomba del reactivo de nitrito se energiza y desenergiza 10 veces.
- No se acciona ninguna válvula en toda esta etapa.
- El LED verde, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 250 \text{ ciclos} = 3.2500 \text{ mA.h}$

Bomba del reactivo de NO_2^- : $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 10 \text{ ciclos} = 0.1300 \text{ mA.h}$

Consumo total bombas: $3.25 \text{ mA.h} + 0.13 \text{ mA.h} = 3.38 \text{ mA.h}$

Válvulas:

Consumen 0 mA.h ya que en esta etapa no se activa ninguna de ellas.

LEDs:

$$\text{LED verde: } \frac{125 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.2847 \text{ mA.h}$$

El LED UV está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GSM:

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 125 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.0417 \text{ mA.h}$$

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 125 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0243 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

$$\frac{2 \text{ mA} \times 125 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.1389 \text{ mA.h}$$

Etapa 7: Calibración con el blanco de nitrito								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	3.3800	0	1.0417	0.0243	0	0.2847	0.1389	4.8696

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

8. Calibración con el patrón de nitrito:

- La etapa comienza con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se inyecta patrón y reactivo un total de 200 µL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 5 segundos.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 125 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 240 veces.
- La bomba del reactivo de nitrito se energiza y desenergiza 10 veces.
- La bomba del patrón se energiza y desenergiza 10 veces.
- No se acciona ninguna válvula en toda esta etapa.
- El LED verde, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del carrier: $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 240 \text{ ciclos} = 3.12 \text{ mA.h}$

Bomba del reactivo de NO_2^- : $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 10 \text{ ciclos} = 0.1300 \text{ mA.h}$

Bomba del patrón: $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 10 \text{ ciclos} = 0.1300 \text{ mA.h}$

Consumo total bombas: $3.12 \text{ mA.h} + 0.13 \text{ mA.h} + 0.13 = 3.38 \text{ mA.h}$

Válvulas:

Consumen 0 mA.h ya que en esta etapa no se activa ninguna de ellas.

LEDs:

LED verde: $\frac{125 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.2847 \text{ mA.h}$

El LED UV está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GMS:

El Arduino en esta etapa consume:

$\frac{30 \text{ mA} \times 125 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.0417 \text{ mA.h}$

El módulo GSM SIM800 consume:

$\frac{0.7 \text{ mA} \times 125 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0243 \text{ mA.h}$

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 125 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.1389 \text{ mA.h}$$

Etapa 7: Calibración con el patrón de nitrito								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	3.3800	0	1.0417	0.0243	0	0.2847	0.1389	4.8696

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

9. Determinación de nitrito en la muestra:

- La etapa comienza con una limpieza de la línea de muestreo que dura 25 segundos.
- Luego continúa con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se actualiza la muestra durante 5 segundos.
- Luego se inyecta muestra y reactivo un total de 200 μL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 5 segundos.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 155 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 240 veces.
- La bomba del reactivo de nitrito se energiza y desenergiza 10 veces.
- La bomba de muestra se energiza y desenergiza 60 veces.
- La bomba peristáltica de muestreo se activa durante 30 segundos.
- La válvula que selecciona que se tome muestra en vez de patrón se activa durante 30 segundos
- El LED verde, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 240 \text{ ciclos} = 3.1200 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del reactivo de NO_2^- : $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 10 \text{ ciclos} = 0.13 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba de la muestra: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 10 \text{ ciclos} = 0.13 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba de muestreo: $300 \text{ mA} \cdot \text{h} \times \frac{30 \text{ segundos}}{3600 \text{ s/h}} = 2.5 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total bombas: $3.12 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.13 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.13 \text{ mA} \cdot \text{h} + 2.5 \text{ mA} \cdot \text{h} = 5.88 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvulas:

Válvula de muestreo: $500 \text{ mA} \times \frac{30 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 4.1667 \text{ mA} \cdot \text{h}$

LEDs:

El LED verde está apagado en toda esta etapa. Consumo del LED UV:

$\frac{155 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.353 \text{ mA} \cdot \text{h}$

El LED verde está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GMS:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 155 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.2917 \text{ mA.h}$$

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 155 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0301 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 155 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.1722 \text{ mA.h}$$

Etapa 8: Determinación de nitrito en la muestra								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	5.8800	4.1667	1.2917	0.0301	0	0.353	0.1722	11.8937

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

10. Envío del SMS con los resultados de nitrito en la muestra

En esta etapa se configura automáticamente el módulo GSM para el envío de mensaje de texto en el cual se mandara los parámetros de calibración de nitrito y el resultado de la concentración de dicho analito en la muestra.

Esta etapa dura unos 20 segundos y para estimar el consumo se utiliza el valor de 2 A de consumo de corriente el cual se extrae de las hojas de datos del módulo.

Todo el resto del hardware (bombas, válvulas, LEDs) está apagado en esta etapa.

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{2000 \text{ mA} \times 20 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 11.1111 \text{ mA.h}$$

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 20 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.1667 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 20 \text{ s}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.0222 \text{ mA.h}$$

Etapa 10: Envío del SMS con los resultados de nitrito								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	0	0	0.1667	11.1111	0	0	0.0222	11.3000

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

11. Ajustes fotométricos para nitrato:

Son los mismos que para nitrito ya que la química en la determinación será la misma.

Consumo del LED verde:

$$\frac{3 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0068 \text{ mA.h}$$

Consumo del Arduino:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0833 \text{ mA.h}$$

El módulo GSM con el chip SIM800 consume:

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0019 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 10 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.0111 \text{ mA.h}$$

Etapa 11: Ajustes fotométricos para nitrato								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	0	0	0.0833	0.0019	0	0.0068	0.0111	0.1031

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

12. Calibración con el blanco de nitrato+nitrito:

- La etapa comienza con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se inyecta blanco y reactivo un total de 400 µL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 10 segundos.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 130 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 260 veces.
- La bomba del reactivo de nitrito se energiza y desenergiza 20 veces.
- La válvula que permite pasar líquido por la columna de Cd se activa durante 10 segundos.
- El LED verde, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 260 \text{ ciclos} = 3.38 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del reactivo de NO_2^- : $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h} / \text{ciclo} \times 20 \text{ ciclos} = 0.26 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total bombas: $3.38 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.26 \text{ mA} \cdot \text{h} = 3.64 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvulas:

Válvula de la columna de Cd: $\frac{500 \text{ mA} \times 10 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 1.3889 \text{ mA} \cdot \text{h}$

LEDs:

LED verde: $\frac{130 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.2961 \text{ mA} \cdot \text{h}$

El LED UV está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GMS:

El Arduino en esta etapa consume:

$\frac{30 \text{ mA} \times 130 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.0833 \text{ mA} \cdot \text{h}$

El módulo GSM SIM800 consume:

$\frac{0.7 \text{ mA} \times 130 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0253 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 130 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.1444 \text{ mA.h}$$

Etapa 12: Calibración con el blanco de nitrato+nitrito								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	3.6400	1.3889	1.0833	0.0253	0	0.2961	0.1444	6.578

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

13. Calibración con el patrón de nitrato+nitrito:

- La etapa comienza con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se inyecta blanco y reactivo un total de 400 µL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 10 segundos.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 130 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 240 veces.
- La bomba del reactivo de nitrito se energiza y desenergiza 20 veces.
- La bomba del patrón se energiza y desenergiza 20 veces.
- La válvula que permite pasar líquido por la columna de Cd se activa durante 10 segundos.
- El LED verde, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 240 \text{ ciclos} = 3.12 \text{ mA.h}$

Bomba del reactivo de NO_2^- : $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 20 \text{ ciclos} = 0.26 \text{ mA.h}$

Bomba del patrón: $0.013 \text{ mA.h/ciclo} \times 20 \text{ ciclos} = 0.26 \text{ mA.h}$

Consumo total bombas: $3.12 \text{ mA.h} + 0.26 \text{ mA.h} + 0.26 \text{ mA.h} = 3.64 \text{ mA.h}$

Válvulas:

Válvula de la columna de Cd: $\frac{500 \text{ mA} \times 10 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 1.3889 \text{ mA.h}$

LEDs:

LED verde: $\frac{130 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.2961 \text{ mA.h}$

El LED UV está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GSM:

El Arduino en esta etapa consume:

$\frac{30 \text{ mA} \times 130 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.0833 \text{ mA.h}$

El módulo GSM SIM800 consume:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 130 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0253 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 130 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.1444 \text{ mA.h}$$

Etapa 13: Calibración con el patrón de nitrato+nitrito								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	3.6400	1.3889	1.0833	0.0253	0	0.2961	0.1444	6.578

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

14. Determinación de nitrato+nitrito en la muestra:

- La etapa comienza con una limpieza de la línea de muestreo que dura 25 segundos.
- Luego continúa con un bombeo del *carrier* (agua desionizada) durante 30 segundos.
- Luego se actualiza la muestra durante 5 segundos.
- Luego se inyecta muestra y reactivo un total de 400 μL cada uno, lo cual hace que esta parte dure 10 segundos.
- Luego re-arranca el bombeo del *carrier* para pase por el detector todo el pico del blanco; este paso dura 90 segundos.

La etapa dura 160 segundos; de los cuales:

- La bomba del *carrier* se energiza y desenergiza 240 veces.
- La bomba del reactivo de nitrito se energiza y desenergiza 20 veces.
- La bomba de muestra se energiza y desenergiza 70 veces.
- La bomba peristáltica de muestreo se activa durante 35 segundos.
- La válvula que selecciona que se tome muestra en vez de patrón se activa durante 35 segundos.
- La válvula que permite pasar líquido por la columna de Cd se activa durante 10 segundos.
- El LED UV, el Arduino, el módulo GSM y los AOs están encendidos en todo momento pero en el caso del módulo GSM este no está transmitiendo datos.

Consumos:

Bombas:

Bomba del *carrier*: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h/ciclo} \times 240 \text{ ciclos} = 3.1200 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba del reactivo de NO_2^- : $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h/ciclo} \times 20 \text{ ciclos} = 0.26 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba de la muestra: $0.013 \text{ mA} \cdot \text{h/ciclo} \times 20 \text{ ciclos} = 0.26 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Bomba de muestreo: $300 \text{ mA} \cdot \text{h} \times \frac{35 \text{ segundos}}{3600 \text{ s/h}} = 2.9167 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total bombas: $3.12 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.26 \text{ mA} \cdot \text{h} + 0.26 \text{ mA} \cdot \text{h} + 2.9167 \text{ mA} \cdot \text{h}$
 $= 6.5567 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvulas:

Válvula de muestreo: $500 \text{ mA} \times \frac{35 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 4.8611 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Válvula columna de Cd: $500 \text{ mA} \times \frac{10 \text{ s}}{3600 \text{ s/h}} = 1.3889 \text{ mA} \cdot \text{h}$

Consumo total válvulas: $4.8611 \text{ mA} \cdot \text{h} + 1.3889 \text{ mA} \cdot \text{h} = 6.25 \text{ mA} \cdot \text{h}$

LEDs:

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

$$\text{LED verde: } \frac{160 \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.3644 \text{ mA.h}$$

El LED UV está apagado en esta etapa; su consumo es cero.

AOs, Arduino y módulo GMS:

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 160 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 1.3333 \text{ mA.h}$$

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 160 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.0311 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 160 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.1778 \text{ mA.h}$$

Etapa 14: Determinación de nitrato+nitrito en la muestra								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	6.5567	6.2500	1.3333	0.0311	0	0.3644	0.1778	14.7167

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

15. Envío del SMS con los resultados de nitrato+nitrito en la muestra

En esta etapa se configura automáticamente el módulo GSM para el envío de mensaje de texto en el cual se mandara los parámetros de calibración de nitrato+nitrito y el resultado de la concentración de dicho analito en la muestra.

Esta etapa dura unos 20 segundos y para estimar el consumo se utiliza el valor de 2 A de consumo de corriente el cual se extrae de las hojas de datos del módulo.

Todo el resto del hardware (bombas, válvulas, LEDs) está apagado en esta etapa.

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{2000 \text{ mA} \times 20 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 11.1111 \text{ mA.h}$$

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{30 \text{ mA} \times 20 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 0.1667 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 20 \text{ s}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 0.0222 \text{ mA.h}$$

Etapa 15: Envío del SMS con los resultados de nitrato+nitrito								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	0	0	0.1667	11.1111	0	0	0.0222	11.3000

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

16. Descanso hasta el nuevo ciclo de análisis

Esta etapa dura 6 horas (21600 segundos) encontrándose todo el hardware apagado excepto Arduino (que está en el modo *sleep* para ahorrar consumo eléctrico), el módulo GSM y los AOs.

El módulo GSM SIM800 consume:

$$\frac{0.7 \text{ mA} \times 21600 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 4.2 \text{ mA.h}$$

El Arduino en esta etapa consume:

$$\frac{4 \text{ mA} \times 21600 \text{ seg}}{3600 \text{ seg/h}} = 24 \text{ mA.h}$$

Los amplificadores operacionales consumen:

$$\frac{2 \text{ mA} \times 21600 \text{ s}}{3600 \text{ seg/h}} \times 2 \text{ amplificadores} = 24 \text{ mA.h}$$

Etapa 14: Descanso hasta el nuevo ciclo de análisis								
	Bombas	Válvulas	Arduino	SIM800	LED UV	LED verde	AOs	TOTAL
mA.h	0	0	24	4.2	0	0	24	52.2

17. Otros consumos

El analizador posee un LED indicador de encendido; el mismo se implementó para dar aviso al usuario que instala el analizador de que el mismo se encuentra encendido pero puede quitarse este LED.

El tiempo total del ciclo de análisis es de 1432,5 segundos.

El tiempo de descanso hasta un nuevo ciclo es de 21600 segundos.

Se toma como consumo de corriente del LED el valor utilizado de 8,2 mA.

$$\text{LED indicador de encendido: } \frac{(21600 + 1432.5) \text{ segundos} \times 8.2 \text{ mA}}{3600 \text{ seg/h}} = 54.4629 \text{ mA.h}$$

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

Resumiendo:

En la siguiente tabla se muestran los consumos por componente y por etapa:

Consumos por etapa y por componente (mA.h)									
Etapas/Componente	LED UV	LED verde	Bombas solenoide	Bomba peristáltica	Válvulas solenoide	Arduino UNO	AOs	Módulo GSM	LED indicador de encendido
Ajustes fosfato	0,0068	0	0	0	0	0,0833	0,0111	0,0019	
Blanco fosfato	0,4721	0	3,51	0	17,7083	1,5625	0,2083	0,0365	
Patrón fosfato	0,4721	0	3,51	0	17,7083	1,5625	0,2083	0,0365	
Muestra fosfato	0,4954	0	3,51	3.125	25,6945	1,8125	0,2417	0,0423	
Envío del 1er SMS	0	0	0	0	0	0.1667	0.0222	11.1111	
Ajustes nitrito	0	0,0068	0	0	0	0,0833	0,0111	0,0019	
Blanco nitrito	0	0,2847	3,38	0	0	1,0417	0,1389	0,0243	
Patrón nitrito	0	0,2847	3,38	0	0	1,0417	0,1389	0,0243	
Muestra nitrito	0	0,353	3,51	2.5	4,1667	1,2917	0,1722	0,0301	
Envío del 2º SMS	0	0	0	0	0	0.1667	0.0222	11.1111	
Ajustes nitrato	0	0,0068	0	0	0	0,0833	0,0111	0,0019	
Blanco nitrato	0	0,2961	3,64	0	1,3889	1,0833	0,1444	0,0253	
Patrón nitrato	0	0,2961	3,64	0	1,3889	1,0833	0,1444	0,0253	
Muestra nitrato	0	0,3644	3,64	2.9167	6,25	1,3333	0,1778	0,0311	
Envío del 3er SMS	0	0	0	0	0	0,1667	0,0222	11.1111	
Descanso	0	0	0	0	0	24	24	4,2	54,4629

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

El consumo eléctrico total del analizador es de 274,4 mA.h en cada ciclo de análisis; por lo tanto para estimar la carga de las baterías a utilizar se tomará este dato, el hecho de que se realizaran 4 análisis diarios (uno cada 6 horas) y la autonomía deseada (7 días):

$$274.4 \frac{mAh}{ciclo} \times 4 \frac{ciclos}{día} \times 7 dias = 7683.2 mAh$$

Por lo tanto con baterías de 8 Ah de carga se lograría la autonomía eléctrica deseada en el analizador.

La siguiente figura exhibe de forma gráfica los aportes al consumo eléctrico por parte de todos los componentes (*hardware*):

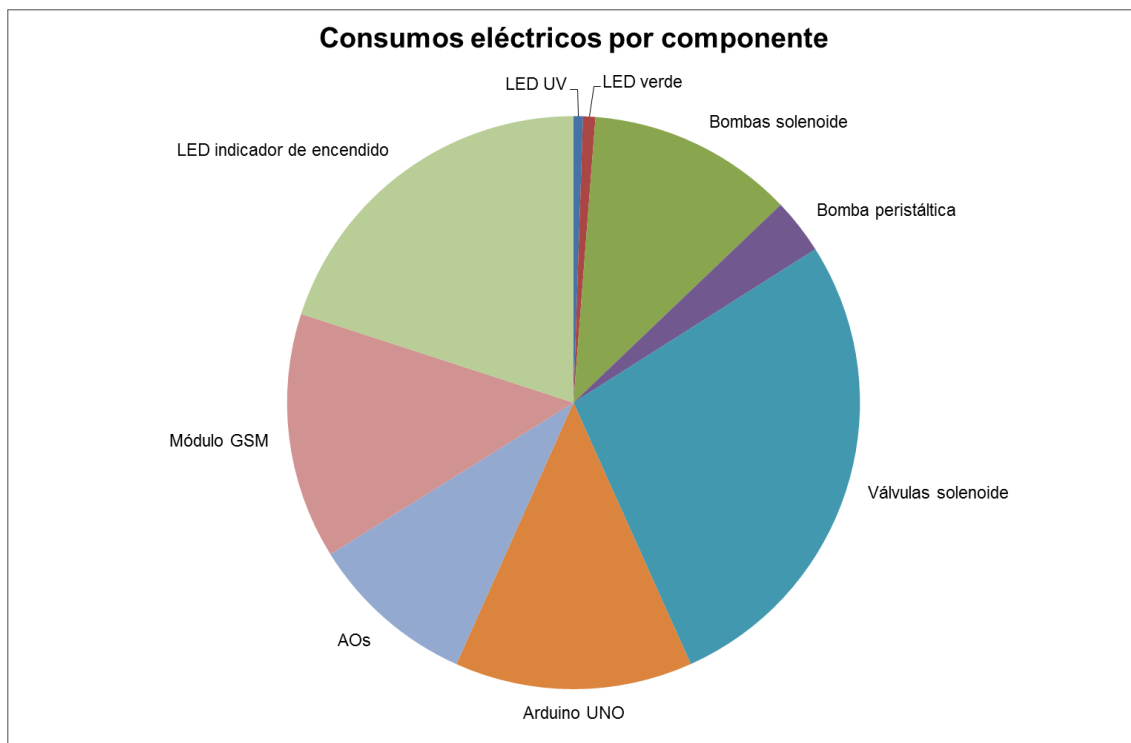


Figura 96: Distribución del consumo eléctrico discriminado por componente.

Consideraciones finales respecto al consumo eléctrico:

- Como era de esperarse, el mayor consumo eléctrico proviene de los dispositivos de bombeo e inserción de líquidos al sistema en flujo (bombas solenoide, bomba peristáltica, válvulas solenoide).
- El LED indicador de encendido tiene un aporte significativo al consumo eléctrico; puede prescindirse del mismo aunque su función se justifica para indicarle a la persona que instala el analizador que el mismo se encendió correctamente.
- A pesar de tener muchos dispositivos apagados y los otros en modo *stand-by*; la etapa de descanso posee un consumo para nada despreciable; esto debido a que si bien el consumo de los dispositivos es bajo, el tiempo de la etapa es largo y eso aumenta la carga consumida.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

- En un día de trabajo el analizador consume más de 1000 mA.h y realiza 4 análisis completos.
- La placa Arduino, a pesar de estar la mayor parte del tiempo en el modo *sleep*, este mantiene el LED de la placa encendido y debido al largo tiempo del periodo de descanso es que este consumo se vuelve importante.
- Si bien el módulo GSM opera a pleno únicamente durante unos pocos segundos; su consumo se vuelve importante debido al amperaje que puede llegar a consumir en la etapa de transmisión de los mensajes con los resultados.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

12.3. Preparación de los reactivos y del patrón

Preparación del patrón:

En un matraz aforado de 250.00 mL, colocar:

- 6.00 mL del stock de fósforo ($1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$).
- 1.00 mL del stock de nitrito ($1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_2^-$).
- 3.00 mL del stock de nitrato ($1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ NO}_3^-$).

Llevar a 250 mL con agua desionizada ASTM tipo 2.

Las concentraciones finales de los analitos en el patrón del analizador son:

Analito	Concentración en el patrón
Fosfato	$24 \text{ mg L}^{-1} \text{ P}$
Nitrito	$1200 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ N-NO}_2^-$
Nitrato	$2700 \text{ } \mu\text{g L}^{-1} \text{ N-NO}_3^-$

Preparación del reactivo de desarrollo de color para fosfato:

En un matraz Erlenmeyer colocar:

- 2.14 g de molibdato de amonio.
- 0.11 g de metavanadato de amonio.
- 30 mL de ácido clorhídrico concentrado.

Agitar para disolver. Llevar a 300 mL con agua desionizada ASTM tipo 2.

Preparación del reactivo de desarrollo de color para nitrito/nitrato:

En un matraz Erlenmeyer colocar:

- ✓ 5.0 g de sulfanilamida.
- ✓ 0.13 g de N(-1-naftil) etilendiamina.

Llevar a 250 mL con ácido clorhídrico 1 M.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

12.4. Determinación de los analitos en las muestras del arroyo Pando

Se recolectaron 2 muestras:

Muestra 1 (M1): A las 18:00 hs del día 09/02/19

Muestra 2 (M2): A las 18:00 hs del día 10/02/19

Las mismas fueron conservadas en heladera y analizadas en el laboratorio el día 12/02/19.

Resultados:

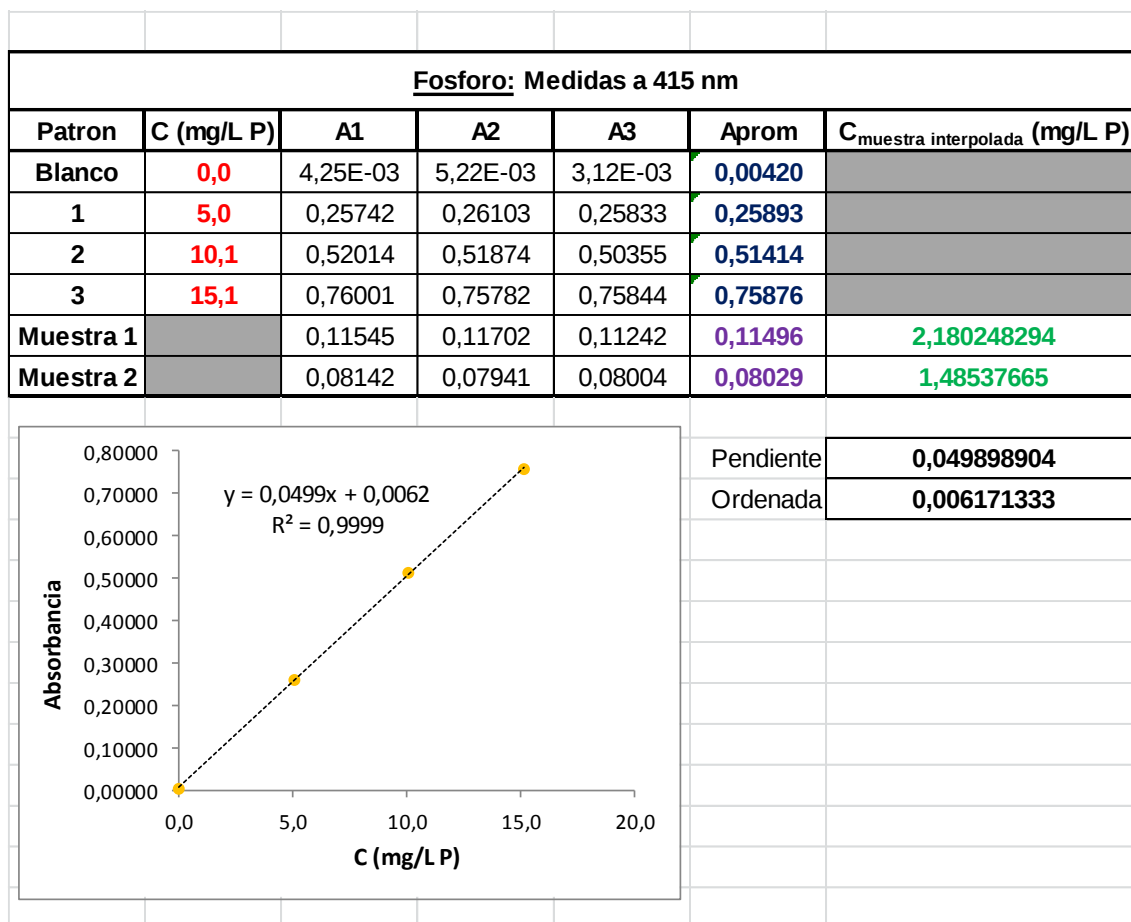


Figura 97: Determinación de fosfato en las muestras del arroyo Pando.

Desarrollo de un analizador automático para la determinación de nutrientes en aguas superficiales

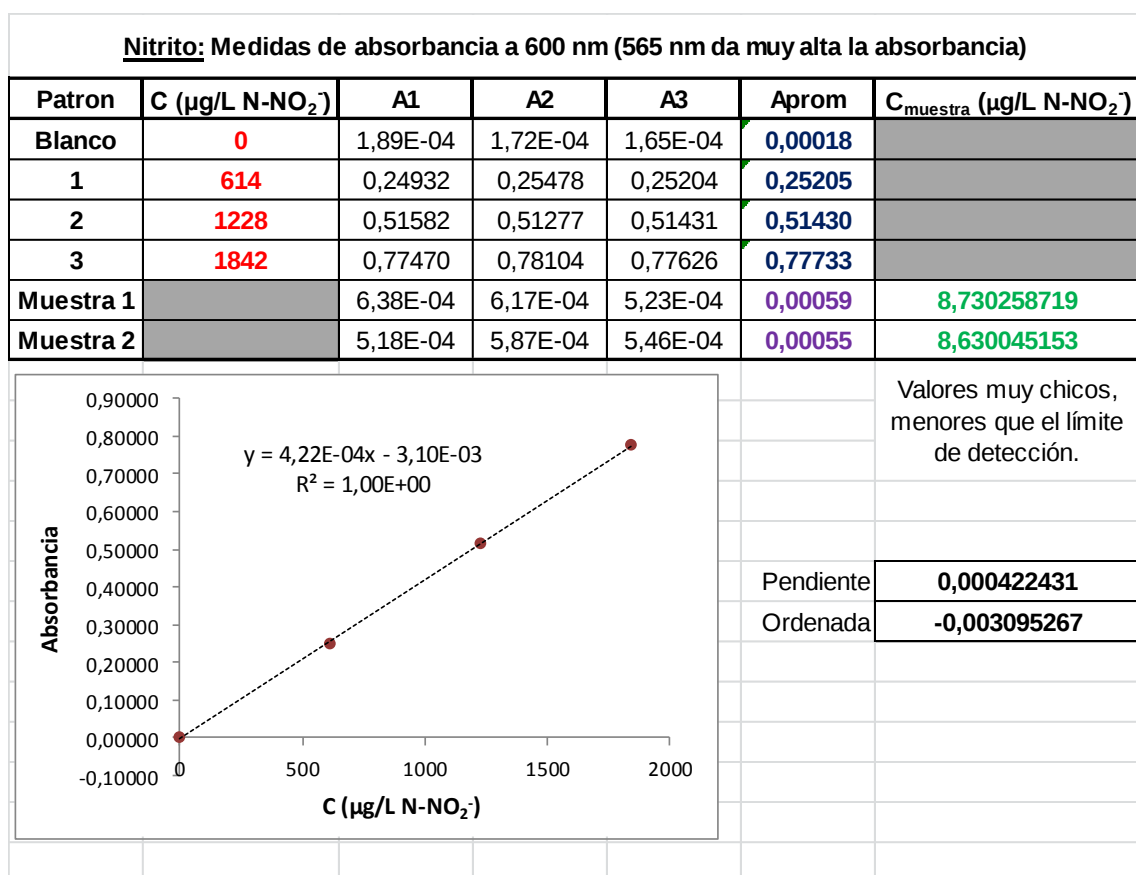


Figura 98: Determinación de nitrito en las muestras del arroyo Pando.

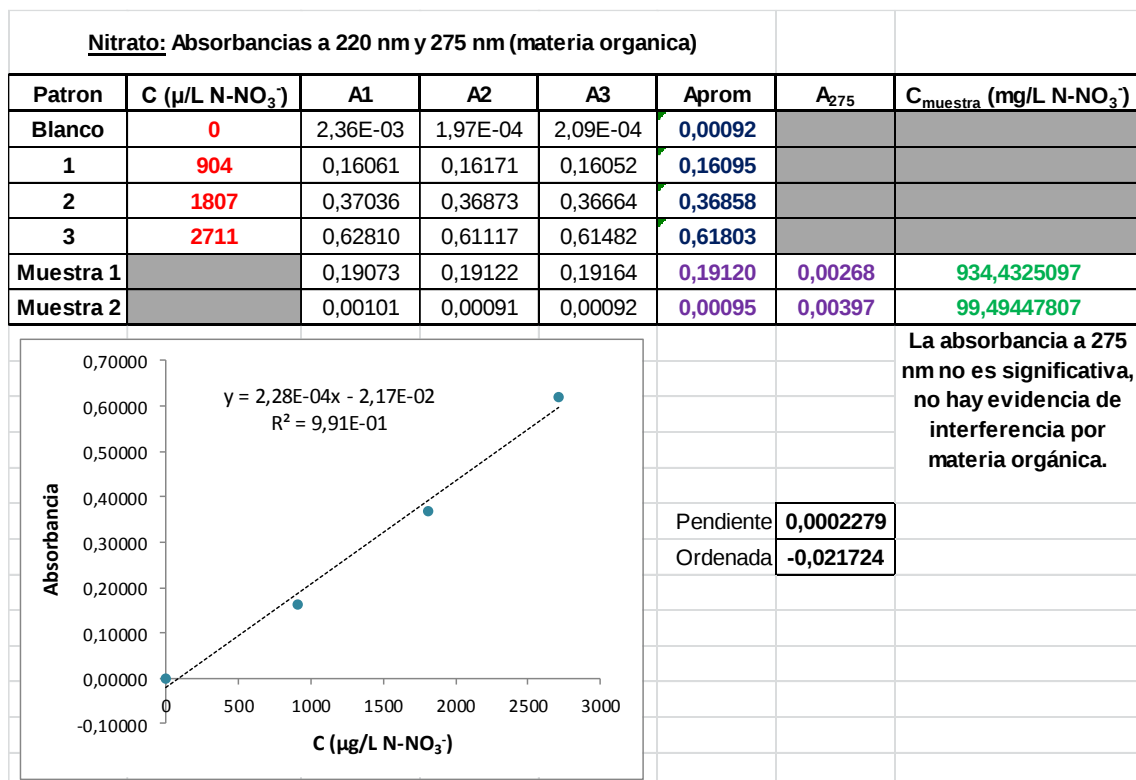


Figura 99: Determinación de nitrato en las muestras del arroyo Pando.