

# Aplicación de un fluorímetro de campo multi-LED para la detección simultánea de trazadores y fluoróforos con separación óptica delicada

Pierre-André Schnegg (1), Lorianne Thueler (2)

(1) Albillia Co, Neuchâtel, Suiza, [info@albillia.com](mailto:info@albillia.com) (2) Université de Neuchâtel, Suiza

## Resumen

En este trabajo, comparamos el poder de separación de dos métodos ópticos: 1) El espectro-fluorímetro de laboratorio 2) el fluorímetro de campo. Se puede constatar que la segunda técnica, muy barata, se compara ventajosamente con la primera. En el caso de pares de trazadores, el método permite una separación perfecta, mientras que el espectro-fluorímetro necesita más manipulaciones de datos. Nuestro diseño del fluorímetro comprende 3 LED de longitud de onda creciente y una cuarta roja para medir la turbidez. La separación se obtiene en tiempo real resolviendo un conjunto de dos ecuaciones de dos (concentraciones) incógnitas. Hoy, el fluorímetro de campo puede hacer el trabajo que antes se confiaba al laboratorio, por un coste más alto.

## Introducción

En el caso de la mezcla de las aguas antes de que los trazadores alcancen al detector, la separación óptica puede lograrse. Uránina y eosina son trazadores fluorescentes excelentes. Desafortunadamente, sus propiedades ópticas son muy similares, por lo tanto difíciles de separar. La Figura 1 muestra los espectros (synchroscan) de un cóctel de uránina y eosina con eosina aumentando la concentración y uránina disminuyendo. Obviamente, los valores por debajo del 10% hacen difícil la separación.

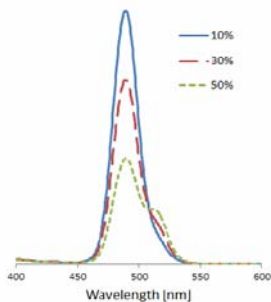


Figura 1

## El método de separación

El sistema de medición del fluorímetro de campo consiste en una fuente de luz casi monocromática, un filtro y una lente condensadora y una sección de detección, orientada 90° con respecto al haz de excitación, con una lente, un filtro y un foto-detector. Las fuentes de luz y los filtros son seleccionados de acuerdo con los espectros de absorción-emisión de los trazadores.

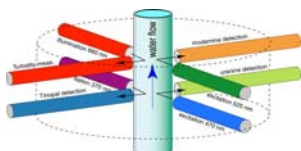


Figura 2

Esta geometría permite la instalación de hasta cuatro sistemas de medición en dos niveles. Uno de los conjuntos se dedica a la medición de la turbidez del agua mientras que los otros tres se utilizan para medir las concentraciones de colorante. La separación de dos o tres trazadores se consigue mediante la resolución de un conjunto de 2 o 3 ecuaciones:

$$C_1^i \alpha + C_2^i \beta + C_3^i \gamma = V_i$$

$i, i=1,2, o 3$

$C_{ij}$  coeficiente de calibración de la óptica  $i$  con el trazador  $j$

$\alpha, \beta, \gamma$  concentración del trazador

$V_i$  amplitud de la señal en la óptica  $i$

Para una mezcla de tres trazadores, la solución se escribe:

$$\alpha = \begin{bmatrix} V_1 & C_2^1 & C_3^1 \\ V_2 & C_2^2 & C_3^2 \\ V_3 & C_2^3 & C_3^3 \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} C_1^1 \\ C_1^2 \\ C_1^3 \end{bmatrix}$$

$$\beta = \begin{bmatrix} C_1^1 & V_1 & C_3^1 \\ C_1^2 & V_2 & C_3^2 \\ C_1^3 & V_3 & C_3^3 \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} C_2^1 \\ C_2^2 \\ C_2^3 \end{bmatrix}$$

$$\gamma = \begin{bmatrix} C_1^1 & C_2^1 & V_1 \\ C_1^2 & C_2^2 & V_2 \\ C_1^3 & C_2^3 & V_3 \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} C_3^1 \\ C_3^2 \\ C_3^3 \end{bmatrix}$$

## Resultados

La separación con el fluorímetro de campo se ensayó en el laboratorio con siete mezclas que van desde 0 a 100% uránina y 100% a 0% eosina. El resultado se muestra en la Figura 3a. Otro estudio con dos trazadores invisibles: naftionato de sodio y ácido amino G (Figura 3b).

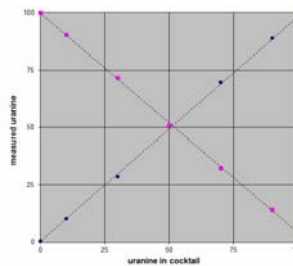


Figura 3a

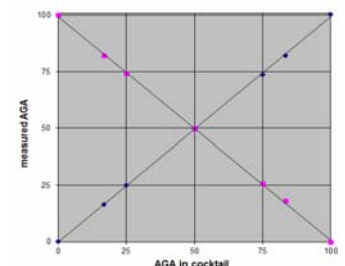


Figura 3b

Las mismas muestras se han medido por un espectrofluorómetro Perkin-Elmer de laboratorio. Para la separación de los dos componentes de colorante, se asume una forma gaussiana de cada espectro synchroscan. Dicha curva se describe por tres parámetros: longitud de onda máxima, altura y anchura. Usamos un algoritmo del descenso más rápido para extraer los seis parámetros de las dos curvas. Este algoritmo varía cada parámetro a su vez, hasta que la curva calculada coincide con el que se mide. La Figura 4 muestra el resultado de la optimización después de 100, 200, 400 y 600 iteraciones. Obviamente, la determinación de la concentración de eosina (Figura 5) es menos buena que en la Figura 3a. Se explica este resultado por la forma real de las curvas de spectroscan. Ellos pueden diferir ligeramente de una curva gaussiana, lo que es una hipótesis de trabajo. Wernli (2005) propone un método para separar trazadores con superposición de espectros (curva amarilla). Vemos bien que el método no es apropiado.

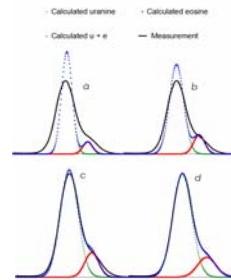


Figura 4

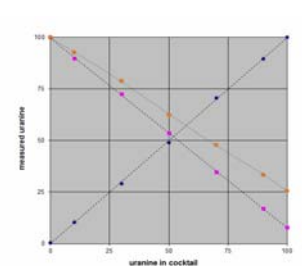


Figura 5

## Fluoróforos

El fluorímetro puede ser utilizado en el laboratorio para el análisis del eluyente de fluoróforos. De hecho este eluyente no sólo contiene el trazador absorbido, sino también una gran cantidad de materia orgánica disuelta (MOD). Si el trazador es uránina, entonces nos enfrentamos con una separación problemática. La medición requiere una calibración del fluorímetro. Tres soluciones de calibración se preparan y se miden: 1) El eluyente de un fluoróforo que nunca se ha utilizado. Esto es el blanco. 2) Una solución de 100 ppb de uránina preparada con el mismo eluyente. Esta es la solución estándar para calibración de la uránina. 3) El eluyente de un fluoróforo dejado durante el mismo período aguas arriba de la inyección. Esta es la solución estándar para la calibración de la MOD. La Tabla 1 muestra los resultados del método. Eluyentes 4 y 5 son de fluoróforos que han estado en contacto durante 6 horas con agua corriente conteniendo 10 y 100 ppb de uránina.

	Uranina (ppb)	MOD (rel)
Eluyente 1	0.00	0.00
Eluyente 2	100.00	0.00
Eluyente 3	0.00	100.00
Eluyente 4	0.88	98.64
Eluyente 5	6.23	33.47

Tabla 1