

ESPECTROSCOPIA DE LENTE TÉRMICA EXCITADA POR DOS LONGITUDES DE ONDA

THERMAL LENS SPECTROSCOPY EXCITED WITH TWO WAVELENGTHS

N. L. Barreiro^{a*}, J. Rago Méndez^b, V. B. Slezak^a,

^aDepartamento de Investigaciones en Láseres y Aplicaciones DEILAP (CITEDEF-CONICET)
Juan Bautista de La Salle 4397 – (B1603ALO) Villa Martelli – Prov. Buenos Aires – Argentina

^bAlumno de la Carrera de Ciencias Físicas, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires - Argentina.

Recibido: 15/02/18; aceptado: 27/08/18

Hay una necesidad a nivel mundial de dispositivos compactos, de bajo costo y con alta sensibilidad y selectividad para monitoreo de aguas y análisis médicos y biológicos. La mayoría de los equipos del mercado adecuados para este tipo de aplicaciones son de dimensiones grandes y/o costos excesivos. Otro tipo de métodos requieren pre-tratamientos de las muestras haciendo que el análisis consuma mucho tiempo. En este trabajo se muestra el diseño de un sistema de lente térmica compacto y de bajo costo para monitoreo de aguas. El dispositivo consta de dos láseres compactos (punteros) con longitudes de onda de excitación de 405nm y 532 nm, modulados a baja frecuencia (4 y 7 Hz respectivamente), lo cual permite una medición diferencial en tiempo real. Además, posee un diodo rojo como haz de prueba cuyo haz atraviesa la muestra en forma colineal con los haces de excitación y una pequeña fracción de su luz es colectada por una fibra óptica de 200 μm , que la guía a un fotodiodo. La señal del detector es digitalizada por una placa Arduino y enviada a una PC para ser analizada. El procesamiento se realiza en tiempo real aplicando una transformada rápida de Fourier para diferenciar las señales provenientes de ambas fuentes de excitación. Se implementó un sistema de inyección en flujo que permite agilizar las mediciones. En este trabajo se muestra el funcionamiento del sistema haciendo uso de colorantes de baja toxicidad.

Palabras clave: Lente Térmica, Espectroscopía, Monitoreo de Aguas.

There is a worldwide need for low cost devices with high sensitivity and selectivity for water monitoring and medical and biological analysis. Most commercial equipments suitable for this type of applications are of big dimensions and / or excessive costs. Other types of methods require sample pre-treatments or pre-concentrations making them time consuming. In this work we show the design of a compact low cost thermal lens system for water monitoring. The device is made up of two compact excitation lasers (pointers) of different wavelengths, 405 nm and 532 nm, modulated at low frequencies (4 and 7 Hz respectively), allowing differential measurements in real time. It also includes a red laser diode as probe which goes through the sample collinearly with the excitation beams. A small sample of the probe beam impinges on a 200 μm core optic fiber and is guided to a photodiode. The detector signal is digitized by an Arduino microcontroller and sent to a PC to be analyzed. The signal processing is made in real time applying a Fast Fourier Transform to distinguish the signals that come from both excitation sources. A flow injection analysis system was implemented in order to speed up measurements. In this work we show how this system works using low toxicity dyes.

Keywords: Thermal Lens, Spectroscopy, Water Monitoring.

*nbarreiro@citedef.gob.ar

I. INTRODUCCIÓN

Los métodos de medición de trazas contaminantes en líquidos poseen un creciente interés debido a la importancia de monitorear los factores (naturales y antropogénicos) que pueden afectar el agua de ríos, lagos y napas^{1,2}. Entre ellos se encuentran la espectrofotometría de absorción atómica (AAS)², la espectrometría de emisión atómica con plasma inductivamente acoplado³, la espectrometría de masas⁴, la colorimetría⁵, métodos electroquímicos⁶ y combinaciones de éstas⁷. Con el fin de alcanzar una sensibilidad y un límite de detección adecuados para la detección de trazas, dichas técnicas frecuentemente requieren pre-tratar, pre-concentrar o fraccionar por cromatografía la muestra a analizar. Esto, además de encarecer considerablemente el proceso de medición, lo vuelve inviable para monitoreo *in situ* debido al tiempo de procesamiento de muestras y el tamaño de los equipos.

La espectrometría basada en el fenómeno de lente térmica (LT) constituye uno de los métodos alternativos conocidos de mayor sensibilidad⁸. Ésta consiste en la excitación lumínica de una muestra líquida absorbente dando lugar a un calentamiento local que se manifiesta como una lente térmica.^{9,10} Un haz de prueba que la atraviesa permite determinar su foco, el cual es proporcional al coeficiente de absorción de la muestra. Algunas ventajas de esta técnica son la falta de necesidad de pre-concentración para detectar trazas, la obtención de bajos límites de detección y alta sensibilidad y la posibilidad de pre-tratamientos en flujo para agilizar el procesamiento de muestras.

La propuesta de este trabajo es la construcción y estudio de un dispositivo para espectroscopía de lente térmica multi-longitud de onda con ciertas ventajas respecto a otros sistemas de LT^{11,12}. Estas consisten en que sea compacto y económico al emplear únicamente luz de punteros láser, que no requiera equipos costosos para la adquisición y que sea de alineación fácil y estable. Además el uso de varias longitudes de onda de excitación permitiría detectar la presencia de más de un compuesto disuelto en la muestra o hacer mediciones diferenciales.

Dado que el dispositivo propuesto utiliza dos longitudes de onda de excitación es necesario diferenciar las señales provenientes de las mismas. Para ello se implementó un análisis por Transformada Rápida de Fourier que permite distinguirlas en tiempo real. Esta forma de análisis rápido cobra especial importancia cuando se estudian muestras en flujo debido a que permite ver la evolución de las señales de ambas longitudes de onda durante la medición.

La utilización de sistemas de flujo durante el análisis de muestras es importante ya que permite integrar el sistema de medición a otros equipos o procesos, hacer reacciones en flujo en caso de ser necesario, realizar mediciones consecutivas rápidamente y evita dañar muestras fotosensibles ya que reduce su tiempo de exposición a la luz de los láseres⁸. Por este motivo se implementó un sistema de análisis de inyección en flujo (FIA, por sus siglas en inglés) en el dispositivo LT. En

este trabajo se muestra el funcionamiento del sistema LT-FIA diseñado haciendo uso de colorantes de baja toxicidad.

II. TEORÍA

II.1 Teoría de LT general

La técnica de LT consiste en excitar un compuesto absorbente disuelto en un líquido con radiación visible o UV enfocada. Si la relajación es térmica (no radiativa), el aumento de temperatura genera un gradiente de índice de refracción que da lugar a la formación de la llamada LT en la región irradiada^{9,10}. Su potencia $\frac{1}{f_{LT}}$, que está relacionada con la concentración del compuesto, se mide determinando el desenfoque producido en un segundo haz, llamado de prueba, que atraviesa la muestra sin excitarla (fig. 1).

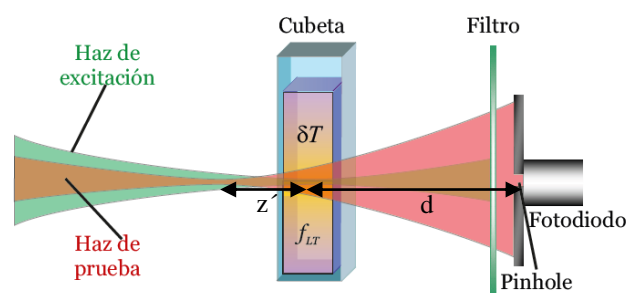


Figura 1: Diagrama esquemático de un dispositivo para espectrometría de LT. El aumento de temperatura δT generado por el haz de excitación en la muestra da lugar a la formación de una lente con distancia focal f_{LT} , que se estudia mediante un haz de prueba.

La distancia focal f_{LT} se obtiene a partir de la ecuación^{9,10}:

$$\frac{1}{f_{LT}} = -L \left. \frac{dn}{dT} \right|_{T=T_0} \left. \frac{\partial^2 \delta T}{\partial r^2} \right|_{r=0} \quad (1)$$

Donde r es la distancia al eje de propagación, L es la longitud de camino a través de la muestra excitada, δT es la variación de temperatura respecto a la temperatura de la muestra sin excitar (T_0), y el coeficiente $\frac{dn}{dT}$ representa el cambio de índice de refracción por unidad de cambio de temperatura. Así, la potencia de la lente térmica, $\frac{1}{f_{LT}}$, escala de manera lineal con δT y depende del tiempo a través del coeficiente $\left. \frac{\partial^2 \delta T}{\partial r^2} \right|_{r=0}$. La variación de temperatura (δT), sigue, a su vez, una dinámica regida por la ecuación de difusión en la que se considera una fuente de calentamiento localizado producido por la excitación láser^{8,9,10}.

Como se mencionó anteriormente, la potencia de la lente térmica generada se obtiene haciendo incidir un haz de prueba a través de la misma y determinando su desenfoque. Un modo usual de medirlo es excitando la muestra periódicamente y detectando, con un fotodiodo, la variación de intensidad I de luz que ingresa a una apertura circular (*pinhole*) luego de atravesar la muestra. Se define la señal LT (S_{LT}) como la variación relativa de intensidad I respecto a una muestra no excitada (ver ec. 2). Se puede probar que bajo ciertas aproximaciones

(muestra de baja absorbancia, área transversal de la muestra mucho mayor al área de excitación, $\frac{dn}{dT}$ aproximadamente constante y campo lejano, entre otras⁹) que la señal LT de un dado sistema es función lineal de la concentración de la sustancia absorbente^{9,10}:

$$S_{LT} = \frac{I_{LT} - I_0}{I_0} \sim -\frac{2z'}{f_{LT}} \sim K(\alpha_\lambda)C \quad (2)$$

Donde I_{LT} , I_0 corresponden a las intensidades detectadas para una muestra excitada y no excitada respectivamente; z' es la distancia entre la cintura del haz de prueba y el centro de la muestra; C es la concentración y $K(\alpha_\lambda)$ es una constante de calibración que depende de la constante de absorción α_λ del compuesto para la longitud de onda λ y de condiciones de contorno del sistema. De este modo, mediando una calibración con muestras de concentración conocida, es posible inferir la concentración de contaminante en otra muestra a partir de medir su S_{LT} . De este modo la sensibilidad del método queda ligada al valor de $K(\alpha_\lambda)$, por lo que resulta de interés optimizar la alineación del sistema para maximizar la S_{LT} de una dada muestra. Es importante señalar que la ecuación (2) es válida cuando los haces de excitación y de prueba se enfocan de modo que $z' \ll f_{LT}$ y $z' \ll d$ (d , la distancia entre la muestra y el *pinhole*), lo cual impide aumentar z' indefinidamente para incrementar S_{LT} . Existen múltiples modelos para describir el valor de z' óptimo^{9,10,11,13} dependiendo de las condiciones de contorno y de la configuración del sistema óptico. Un valor generalmente aceptado es $z_{opt}' = \sqrt{3}z_R$ donde z_R es la distancia de Rayleigh del haz de prueba. Este valor fue obtenido en primera instancia para una configuración de haces coincidentes o *mode matched* (haz de prueba y de excitación con igual cintura, divergencia y posición de enfoque)¹⁴ y fue luego generalizado para sistemas con haces no coincidentes o *mode mismatched* (haz de prueba y de excitación con diferente cintura, divergencia y/o posición de enfoque). Shen et al demostraron, a su vez, que los sistemas, cuyos haces son altamente no coincidentes poseen mayor sensibilidad que los sistemas con haces coincidentes¹⁵.

II.2 Aplicación de la teoría LT en el caso de dos fuentes de excitación

En este trabajo se propone el uso de dos láseres modulados a diferentes frecuencias para excitar las muestras. Por este motivo se busca modelar la señal de forma simple a partir de una generalización de la teoría ya existente^{8,9,10}. Considerando que la ecuación de difusión es lineal y las variaciones térmicas producidas en la muestra por ambos haces son independientes se obtiene:

$$\delta T(r, z, t) = \delta T_{f_1}(r, z, t) + \delta T_{f_2}(r, z, t) \quad (3)$$

donde $\delta T_{f_1}(r, z, t)$ y $\delta T_{f_2}(r, z, t)$ corresponden a la variación de temperatura generadas por los láseres de excitación modulados a las frecuencias f_1 y f_2 respectivamente. En este caso se enfatiza la dependencia en el eje de propagación z ya que los láseres pueden no estar enfocados en la misma posición generando gradientes de temperatura en dos lugares distintos sobre el eje de la muestra. También es necesario tener

presente la dependencia temporal ya que ambos láseres de excitación se modulan a frecuencias distintas. Reemplazando la ecuación (3) en (1) se obtiene:

$$\frac{1}{f_{LT}} = -L \left. \frac{dn}{dT} \right|_{T=T_0} \left. \frac{\partial^2 \delta T_{f_1}}{\partial r^2} \right|_{r=0} - L \left. \frac{dn}{dT} \right|_{T=T_0} \left. \frac{\partial^2 \delta T_{f_2}}{\partial r^2} \right|_{r=0} \quad (4)$$

Y reemplazando en la ecuación 4 obtenemos:

$$S_{LT}(t) \sim -\frac{2z'}{f_{LT1}(t)} - \frac{2z'}{f_{LT2}(t)} \sim K(\alpha_{\lambda_1})h_{f_1}(t)C + K(\alpha_{\lambda_2})h_{f_2}(t)C \quad (5)$$

De este modo, obtenemos la señal LT correspondiente a excitar con dos longitudes de onda (λ_1 y λ_2) simultáneamente. Es necesario enfatizar que, al estar los láseres modulados a frecuencias f_1 y f_2 las señales LT varían en el tiempo con una dependencia $h_{f_1}(t)$ y $h_{f_2}(t)$. Por ello, para conocer las constantes $K(\alpha_{\lambda_1})$ y $K(\alpha_{\lambda_2})$, hay que aplicar algún método que permita independencia de la variación temporal. En este trabajo se utiliza la Transformada Rápida de Fourier (FFT) la cual permite identificar fácilmente la señal LT proveniente del láser de longitud de onda λ_1 del de λ_2 ya que están modulados a frecuencias f_1 y f_2 respectivamente.

III. MONTAJE EXPERIMENTAL

El sistema LT diseñado utiliza como fuentes de excitación dos punteros láser de 405 nm y 532 nm (70 mW @532 nm Tinhofire y 60mW @405 nm M-T50 II) modulados por tensión con una onda cuadrada a 4 Hz y 7 Hz respectivamente. Dado que son punteros comerciales de bajo costo no están preparados para permanecer encendidos por tiempos largos; sin embargo, al modularlos del modo elegido para realizar la experiencia de LT, pueden mantenerse encendidos por horas.

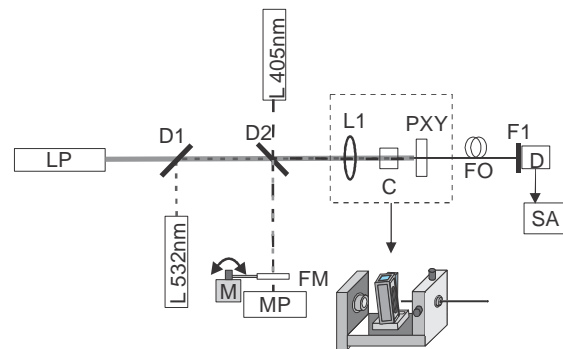


Figura 2: Esquema de dispositivo para espectrometría de lente térmica con doble haz de excitación. LP: Laser de prueba, D1 y D2: espejos dichroicos, L1: Lente, L405nm y L532: Láseres de 405 y 532 nm respectivamente, C: Cubeta, PXY: posicionador XYZ, FO: Fibra óptica, F1: filtro pasabanda, D: Fotodetector, SA: Adquisición de señal mediante microntrolador Arduino, M: Motor servo controlado por Arduino, FM: Filtro móvil, MP: Medidor de potencia.

Como haz de prueba se utilizó un diodo rojo (Thorlabs, compact module 4.5 mW @635nm, modo cuasi-gaussiano). El sistema fue alineado como se observa en la figura haciendo uso de espejos dichroicos adecuados.

Los tres haces se alinearon de forma colineal y se enfocaron sobre la cubeta que contiene la muestra haciendo uso de una lente (lente Edmund sin recubrimiento PCX F.L. 18 mm, SCHOTT: N-SF5). Se puede hacer uso de la aberración cromática de la misma para que los haces se enfoquen en diferentes puntos de la muestra lo cual mejora la señal respecto al caso de tener los haces de excitación-prueba enfocados en el mismo lugar^{9,13,15}. En particular, se eligió la lente disponible ($n=1.678 @ 532 \text{ nm}$ en nuestro caso) que más se aproximaba a la relación óptima entre z' y z_R para el haz verde quedando, en este caso, $z' = 1.5 z_R$. En el caso del haz violeta, se maximizó la señal LT experimentalmente ajustando la posición de su lente de colimación.

Para coleccionar la luz del haz de prueba, luego de pasar por la muestra, se utilizó una fibra óptica de $200 \mu\text{m}$ de núcleo a modo de *pinhole*. Dicha fibra se conecta en su otro extremo a un fotodiodo que mide las variaciones en la luz que recibe. Para eliminar las contribuciones de luz provenientes de los láseres de excitación se coloca un filtro pasabanda (Edmund 632 nm FWHM 10 nm) delante del fotodiodo.

La señal del fotodiodo se adquiere con un microcontrolador Arduino (modelo MEGA 2560) con un amplificador de ganancia programable (Adafruit ADS1115). Esto permite una resolución de 15 bit a una frecuencia de muestreo de 500 Sa/s .

Para monitorear la potencia de los láseres en todo momento se utilizó una reflexión en el segundo espejo dicróico. La medición de potencia se realizó con un medidor piroeléctrico (Gentec) conectado a la PC. La medición de ambos láseres se hizo introduciendo un motor servo controlado por Arduino que mueve un filtro (Edmund Dichroic Blue filter, cut off 505 nm) que se coloca o sale del campo de visión del piroeléctrico. Esto permite medir alternativamente solo el láser violeta o el láser violeta sumado al verde y conocer la potencia de ambos en todo momento.

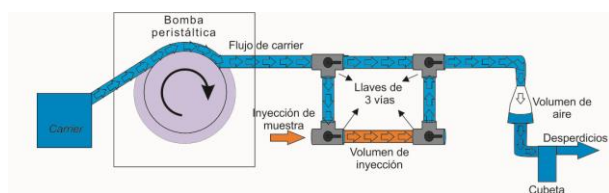


Figura 3: Esquema de sistema de flujo.

Se implementó un sistema de inyección en flujo para agilizar las mediciones (figura 3). Éste consta de una bomba peristáltica (PreFluid BL100) de caudal regulable, mangueras de 3 mm de diámetro, un ensamble de cuatro llaves de tres vías que permiten introducir muestras de volumen fijo en el flujo y una cubeta (Lianyungang Highborn Technology mod. QS-74, camino óptico 1 cm y volumen $480 \mu\text{l}$) conectada luego del sistema de inyección. Además, entre el ensamble de llaves y la cubeta se colocó un volumen de aire que actúa como filtro de las vibraciones introducidas por la bomba y reduce la presencia de burbujas introducidas accidentalmente en el proceso de

inyección. Esto permitió reducir 13% la dispersión de la señal de fondo.

Se determinó la velocidad de flujo y el volumen de inyección óptimos. Para ello, en primer lugar, se probaron experimentalmente velocidades entre 0.5 y 2.25 ml/min . Se encontró que para velocidades de flujo bajas las mediciones toman mucho tiempo y la muestra se difunde mucho. Esto provoca que la señal sea en promedio más baja, ya que está más diluida, y se incrementa la incidencia del ruido de fondo durante la medición. Por este motivo la dispersión medida entre inyecciones de una misma muestra a 0.5 ml/min alcanza hasta un 30% . Por otro lado, a mayor velocidad, se encuentra un aumento en el ruido de fondo lo cual también incrementa hasta un 12% la dispersión entre señales provenientes de inyecciones de la misma muestra. De este modo se determinó que 1.25 ml/min es un compromiso adecuado entre el tiempo demorado entre inyecciones y la baja dispersión de señal entre ellas (inferior a 6%). En cuanto al volumen de inyección, dado el volumen de la cubeta y la velocidad de flujo elegida, se determinó que el adecuado era $600 \mu\text{l}$ de manera de minimizar desperdicios y a la vez no perder sensibilidad por difusión de volúmenes demasiado pequeños.

En las experiencias realizadas se utilizó agua deionizada como solvente y como portador o *carrier* del sistema de flujo. Para las pruebas con el sistema se utilizó como sustancia a medir un colorante de baja toxicidad denominado Orange II (CAS no. 633-96-5) que absorbe en ambas longitudes de onda de excitación (coeficiente de extinción de $40,2 \text{ L g}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 405 nm y $36,3 \text{ L g}^{-1}\text{cm}^{-1}$ a 532 nm). Para realizar la calibración se armaron soluciones acuosas de concentración conocida utilizando matraces aforados y micropipetas graduadas automáticas. Todos los elementos de vidrio fueron limpiados con agua deionizada, detergentes con bajo contenido residual y etanol $99,5\%$ (Cicarelli).

IV. RESULTADOS

Considerando el esquema de excitación y enfoque planteado en la sección anterior, en nuestro sistema, una señal LT típica producida por excitación modulada se manifiesta como un incremento en la señal debido al calentamiento que se produce en el medio cuando el láser se encuentra encendido y un decaimiento del orden de algunos milisegundos cuando el láser se apaga. Una señal LT típica se observa en la figura 4(a).

Para estudiar el correcto funcionamiento del equipo diseñado se decidió verificar experimentalmente la validez de la ecuación (5). Para ello se midió en forma estanca una muestra de Orange II. La figura 4 muestra la medición de la muestra con ambos láseres de excitación por separado en (a) y (b) y en forma simultánea en (c). Se puede observar que al sumar las señales provenientes de las excitaciones por separado se obtiene la misma señal que al medirlos en simultáneo validando el uso de la ecuación (5) para los parámetros experimentales utilizados.

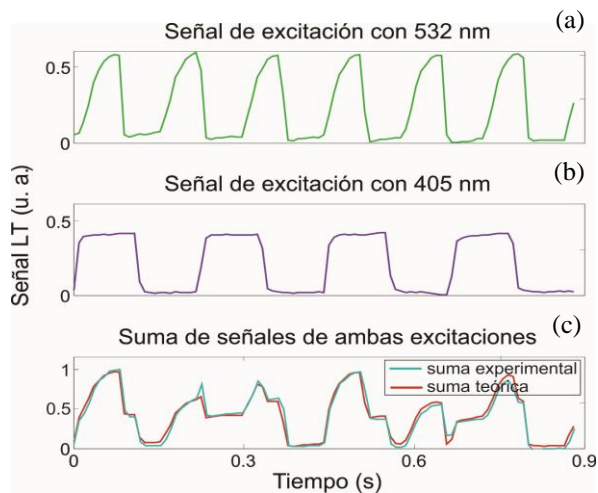


Figura 4: Señal adquirida para ambas fuentes de excitación en forma independiente (a) y (b) y en forma simultánea (c). Se observa que al sumar las señales obtenidas independientemente (suma teórica) se obtiene la misma forma de onda que al medir ambas simultáneamente (suma experimental). Para adquirir la señal se utiliza una muestra de Orange II que absorbe en ambas longitudes de onda.

Dada la validez de la ecuación (5) es posible utilizar la transformada rápida de Fourier sobre la señal temporal y obtener la señal proveniente de excitar con cada longitud de onda por separado. En la figura 5 se observa la transformada de Fourier de la señal realizada sobre una ventana de 0,9 segundos. En ella hay dos picos, uno a 4 Hz y otro a 7 Hz, provenientes de la excitación a 405 nm y 532 nm respectivamente.

A continuación se aplicó este método de análisis para medir muestras de Orange II inyectadas en un flujo de agua deionizada. Es necesario recordar que, al estar fluyendo, la muestra se difunde en el *carrier* por lo que la señal tendrá un perfil que se incrementa y luego disminuye acorde al tiempo transcurrido desde la inyección. A mayor tiempo, mayor será la difusión y por lo tanto la muestra llegará diluida a la cubeta donde se realiza la medición. Es por ello que es necesario seleccionar un caudal de *carrier* y un largo de manguera que permitan reducir la difusión y optimizar la señal.

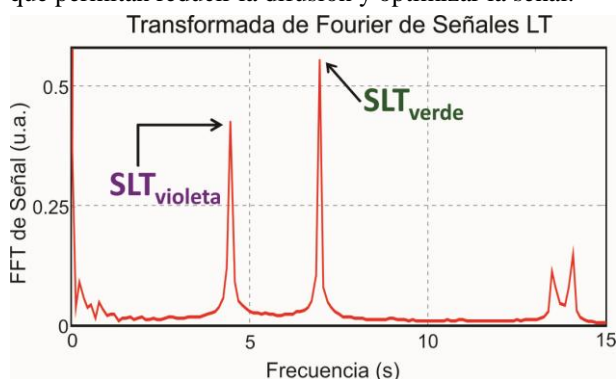


Figura 5: Transformada Rápida de Fourier aplicada a una señal LT adquirida utilizando ambas fuentes de excitación simultáneamente. Se observan dos picos correspondientes a la excitación modulada a 4 Hz y 7 Hz. Dado que la excitación no es sinusoidal se observan armónicos. Por practicidad solo consideraremos el primer armónico de cada frecuencia de excitación.

Dado que se utiliza la transformada de Fourier para hacer el análisis de las muestras es necesario elegir una ventana temporal adecuada al fenómeno físico que se está midiendo. Por este motivo hay que considerar que una ventana temporal pequeña redundaría en una baja resolución del espectro en frecuencias y una muy grande reduciría la resolución temporal. En particular se determinó que para la frecuencia de muestreo utilizada una ventana de entre 1 y 2 segundos permite distinguir la evolución temporal de la señal. Al aplicar el algoritmo descrito en la Ref. 16 se determinó que el tamaño óptimo de ventana temporal para hallar con mayor precisión los máximos de amplitud de la FFT es alrededor de 1,5 seg. Con estas amplitudes obtenidas para excitación con láseres violeta y verde se obtiene la evolución temporal de ambas señales en simultáneo. En la figura 6 se observan las señales LT obtenidas al inyectar tres muestras de Orange II. Cada punto se normaliza respecto de la potencia del láser de excitación respectivo.

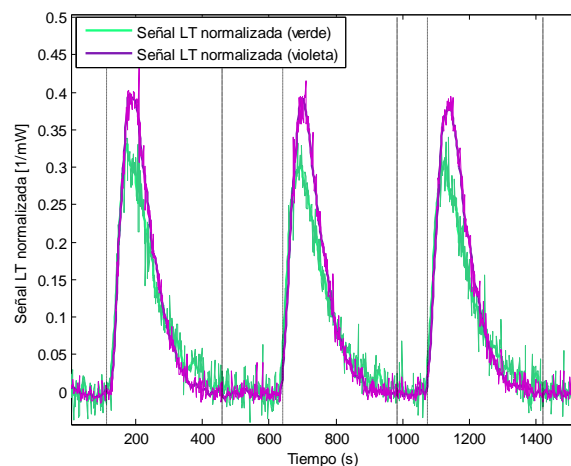


Figura 6: Evolución temporal de la señal LT normalizada a la potencia obtenida al inyectar 3 muestras de Orange II de igual concentración (2 mg/l) en un *carrier* de agua deionizada.

Se encontró una leve variación entre las amplitudes de las señales pertenecientes a diferentes inyecciones. Esto se debe a que el proceso de inyección requiere mover las cuatro llaves de tres vías simultáneamente para asegurar que la difusión ocurra regularmente. Como esto no es posible con el sistema diseñado, la muestra no siempre cuenta estrictamente con la misma cantidad de tiempo de difusión una vez incorporada al *carrier* (se estima un error de hasta 10 segundos). Esto produce que la dilución en el *carrier* no sea siempre igual y la amplitud máxima del pico varíe entre inyecciones de una misma muestra. Sin embargo, al asegurar un volumen fijo de inyección se encuentra que el área bajo la curva de la señal LT es constante para diferentes inyecciones de una misma muestra aunque el tiempo de difusión varíe. Es por este motivo que se redefinió la señal como la integral temporal de cada inyección para un tiempo fijo de 320 segundos asegurando que se integra el total del pico (ver figura 7). En este caso las incertezas de las mediciones se deben mayormente al ruido eléctrico, a vibraciones mecánicas,

aparición de burbujas o impurezas en las muestras, leves variaciones en la potencia de excitación (menor al 1%), entre otras, y en ningún caso superan un 5% de la señal LT. Por otro lado se estima un error relativo del 5% en la elaboración de las muestras debido a que deben considerarse las incertezas al hacer las diluciones.

Finalmente, se decidió realizar una calibración para ambas longitudes de onda en simultáneo como primera prueba del funcionamiento del sistema. Para ello se prepararon soluciones de Orange II en agua de diferentes concentraciones (entre 0,5 y 2,25 mg/l). Para cada solución se realizaron 3 inyecciones en el sistema y de ellas se determinó un valor medio y una desviación estándar. Luego se midió el blanco (concentración 0 mg/l) inyectando agua destilada diez veces y siguiendo el mismo procedimiento de determinación de señal que con las muestras de Orange II. A partir de esta información se buscó obtener los límites de detección del sistema para ambas longitudes de onda de excitación en simultáneo.

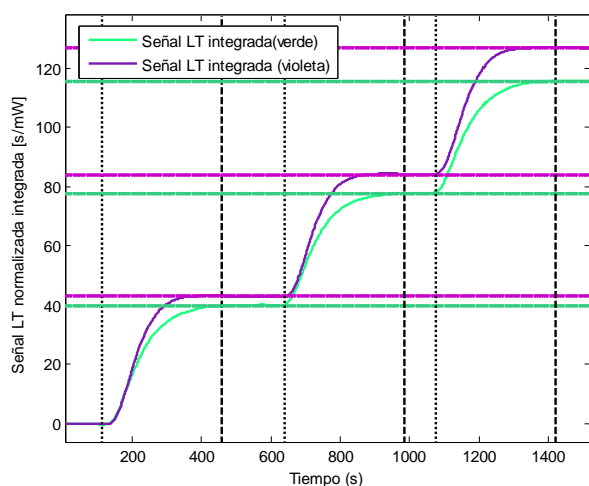


Figura 7: Señal LT integrada en el tiempo y normalizada a la potencia (concentración 2 mg/l). Las líneas punteadas verticales indican el inicio y final considerado para cada inyección (período de 320 seg donde se alcanza el valor asintótico de cada pico). Las líneas horizontales indican las amplitudes consideradas para las 3 muestras inyectadas (desde el inicio de las mismas) para las señales provenientes de excitar con los láseres de 405 nm (línea fucsia) y 532 nm (línea verde).

Los datos de calibración obtenidos se observan en la figura 8. Se observa que se pudieron realizar ajustes lineales y se obtuvieron límites de detección de $137 \pm 7 \mu\text{g/l}$ y $383 \pm 8 \mu\text{g/l}$ para excitación con láser violeta y verde respectivamente. En este caso el límite de detección cuantitativo se definió como 10 veces la desviación estándar del blanco dividida por la pendiente de la recta ajustada. Considerando la absorbancia de la muestra utilizada y los límites de detección encontrados se puede concluir que la técnica es apta para monitorear la presencia de sustancias tóxicas en el agua. Por ejemplo, sustancias como el Cr(VI) en complejo con 1,5-difenilcarbocida⁵, Fe(II) en complejo con 1,10-fenantrolina⁵ y Co(II) en complejo con cumarina-tiocarbonohidrazona¹⁷ presentan coeficientes de extinción entre 10 y 20 veces mayores a este colorante

por lo que se esperan límites de detección cuantitativa del orden de decenas $\mu\text{g/l}$ o incluso menos.

En la figura 8 se observan leves desviaciones de los puntos medidos respecto a la recta de calibración. Esto puede deberse mayormente a errores en la preparación de las soluciones, variaciones en la señal debido a aparición de burbujas de aire introducidas accidentalmente en el *carrier* durante la inyección o a una leve desalineación del sistema.

Algunos de estos problemas pueden ser resueltos cambiando el sistema de inyección por uno más eficiente (por ejemplo un inyector de cromatografía), utilizando mangueras de diámetro menor, cubetas de menor volumen y volúmenes de inyección más pequeños. Esto permitiría una difusión más homogénea y menor introducción de burbujas de aire. Dado que el sistema es altamente sensible a la alineación es necesario utilizar sistemas de montaje más estables y compactos cuyas piezas sean solidarias entre sí.

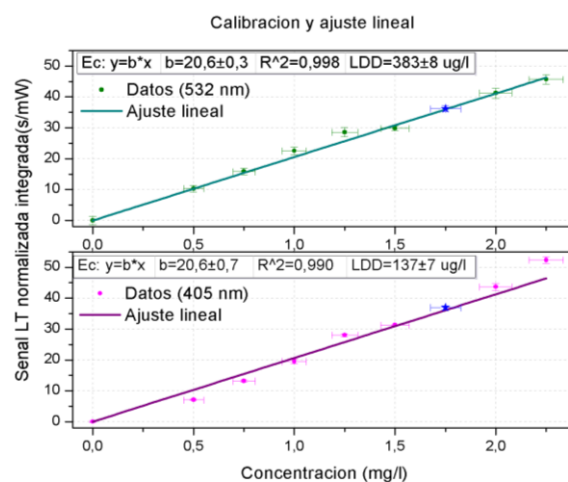


Figura 8: Datos de calibración del sistema LT-FIA a doble longitud de onda de excitación utilizando muestras de Orange II de baja concentración. Se ajustaron rectas de calibración y obtuvieron límites de detección para ambas longitudes de onda simultáneamente.

En los gráficos de la figura 8 se observa un punto con forma de estrella. Este punto, que no fue incluido dentro de los utilizados para ajustar la recta de calibración, se utiliza como muestra incógnita con el fin de analizar la incerteza del método a la hora de determinar la concentración de una muestra desconocida. Para esta muestra incógnita, la señal LT integrada y normalizada a la potencia de excitación es $36,2 \pm 0,9 \text{ s/mW}$ al excitar con el haz verde y $37,0 \pm 0,6 \text{ s/mW}$ al excitar con el haz violeta. De este modo el sistema predice una concentración de $1,76 \pm 0,07 \text{ mg/l}$ al utilizar la calibración con láser verde y de $1,79 \pm 0,09 \text{ mg/l}$ usando la calibración con láser violeta. Dado que la solución incógnita armada corresponde a una concentración de $1,75 \pm 0,07 \text{ mg/l}$ se encuentra un solapamiento adecuado entre todos los valores siendo el error en la determinación inferior al 3% en ambos casos.

V. CONCLUSIONES

Se diseñó un sistema LT-FIA compacto que permite medir con dos longitudes de onda de excitación (405 nm

y 532 nm) simultáneamente y utiliza un microcontrolador Arduino con un amplificador de ganancia programable para digitalizar la señal en 15 bit. Se mostró experimentalmente en un colorante diluido en agua la validez de medir en ambas longitudes de onda de excitación simultáneamente. A partir de esto se desarrolló una metodología para medir ambas señales LT, en tiempo real para su aplicación en sistemas de análisis de inyección de flujo. Para ello se fraccionaron los datos en ventanas de aproximadamente 1,5 segundos a las que se aplicó una FFT y se obtuvo la evolución de las señales pertenecientes a excitar con 405 nm y 532 nm en forma simultánea. Luego se implementó un sistema de flujo a partir de una bomba peristáltica y un dispositivo de inyección y se determinó una velocidad de flujo óptima de 1,25 ml/min. Se redefinió la señal como el área bajo la curva de los datos obtenidos en cada inyección dado que de este modo se reduce el error cometido en caso de difusión inhomogénea y aparición de burbujas en el *carrier*. Finalmente se calibró el dispositivo utilizando un colorante de baja toxicidad llamado Orange II obteniendo límites de detección cuantitativos de 137 ± 7 µg/l y 383 ± 8 µg/l para excitación con láser violeta y verde respectivamente. Si bien se observó que dichos límites harían factible el uso del dispositivo LT-FIA para monitorio de sustancias tóxicas, se determinaron posibles mejoras a implementar para reducir errores y hacer el sistema aún más estable.

Finalmente se estudió el error en la determinación de la concentración de una muestra incógnita y se encontró que el error cometido en la determinación utilizando cualquiera de los dos láseres de excitación es inferior al 3% haciéndolo un método muy adecuado para la determinación de trazas.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado con los subsidios PICT 1845/2014 del FONCYT y PIDDEF 09/14 del Ministerio de Defensa.

VI. REFERENCIAS

- 1 - UNESCO/WHO/UNEP, "Water quality assessments- A Guide to Use of Biota, Sediments and Water in Environmental Monitoring- Second Edition", Deborah Chapman ed., E&FN Spon, Gran Bretaña (1996)
- 2 - Leopold K., Foulkes M., Worsfold P., "Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters—a review", *Anal. Chim. Acta* **663**, 127-138 (2010).
- 3 - Ramesh A., Rama Mohan K., Seshaiha K., Jeyakumar N. D. "Determination of trace elements by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES) after preconcentration on a support impregnated with piperidinedithiocarbamate", *Anal. Lett.*, **34**(2), 219–229 (2001).
- 4 - Popp M., Hann S., Koellensperger G., "Environmental application of elemental speciation analysis based on liquid or gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry—A review", *Anal. Chim. Acta* **668**, 114–129 (2010).
- 5 - Sandell E. B., "Chemical Analysis Vol III: Colorimetric Determination of Traces of Metal", 3rd edition, Clarke B. L., Elving P. J., Kolthoff L. M. (eds.); Interscience Publishers Inc, New York (1959).
- 6 - Legeai S., Vittori O., "A Cu/Nafion/Bi electrode for on-site monitoring of trace heavy metals in natural waters using anodic stripping voltammetry: An alternative to mercury-based electrodes", *Anal. Chim. Acta* **560**, 184-190 (2006).
- 7 - Bersier P. M., Howell J., Bruntlett C., "Tutorial review. Advanced electroanalytical techniques versus atomic absorption spectrometry, inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry in environmental analysis", *Analyst* **119**, 219-232 (1994).
- 8 - Franko M., "Thermal Lens Spectrometric Detection in Flow Injection Analysis and Separation Techniques", *Appl. Spectrosc. Rev.* **43:4**, 358-388 (2008).
- 9 - Bialkowski S., *Photothermal spectroscopy methods for chemical analysis*; John Wiley & Sons: Nueva York (1996).
- 10 - Vyas R. y Gupta R., "Photothermal lensing spectroscopy in a flowing medium: theory", *Appl. Opt.* **27**, 4701-4711(1988)
- 11 - Franko M., Tran C. D., "Thermal lens spectroscopy", *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Meyers R. A. (ed.), Wiley-Interscience Publication (2010).
- 12 - Franko M., Tran C. D., "Development of a double-beam, dual-wavelength thermal-lens spectrometer for simultaneous measurement of absorption at two different wavelengths" *Anal. Chem.* **60**, 1925–1928 (1988).
- 13 - M. Liu, D Korte, M. Franko, "Theoretical description of thermal lens spectrometry in micro space" *J. Appl. Phys.* **111**, 033109 (2012)
- 14 - Sheldon S. J. L. V. Knight, Thorne J. M. "Laser-induced thermal lens effect: a new theoretical model", *Appl. Opt.* **21**, 1663-1669 (1982)
- 15 - Shen J. Lowe R. D., Snook R. D. "A model for cw laser induced mode-mismatched dual-beam thermal lens spectrometry", *Chem. Phys.* **165**, 385-396(1992)
- 16 - Slezak V., "Signal processing in pulsed photoacoustic detection of traces by means of a fast Fourier transform-based method", *Rev.Sci.Instrum.* **74**,642-644 (2003).
- 17 - Debabrata Maity ,T. Govindaraju, "Highly Selective Colorimetric Chemosensor for Co²⁺", *Inorg. Chem.* **50**, 11282–11284 (2011).