

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**  
**MAESTRIA EN QUÍMICA DEL MEDIO AMBIENTE**



**“DISEÑO, ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE UNA MEMBRANA DE 2,4,5-  
TRIFENILIMIDAZOL INMOVILIZADO EN ACETATO DE POLIVINILO  
PARA LA DETECCIÓN DE NITRATOS EN MUESTRAS DE AGUA. Arequipa -  
2016”**

Tesis presentada por la Bachiller:

Aida Jiménez Cutipa

Para optar el Grado Académico de Magíster en  
Química del Medio Ambiente

Arequipa - Perú

2016

## INDICE

RESUMEN .....	7
ABSTRACT .....	8
<b>CAPITULO 1</b>	
Introducción .....	9
<b>CAPITULO 2</b>	
Marco Teórico .....	12
1. 2,4,5-Trifenil imidazol .....	12
2. Contaminación y efectos tóxicos por compuestos nitrogenados .....	12
3. Sensores ópticos a base de diodos .....	13
3.1. Componentes .....	14
3.2. Indicadores ópticos .....	15
3.3. Métodos de inmovilización .....	16
<b>CAPITULO 3</b>	
Metodología .....	19
<b>CAPITULO 4</b>	
Resultados y Discusión .....	22
1. Fabricación de una membrana para la detección de nitratos .....	22
2. Evaluación espectrofotométrica de la membrana de acetato de polivinilo. ....	25
2.1. Espectro de absorción de la membrana .....	25
2.2. Influencia del pH sobre la respuesta de la membrana .....	26
2.3. Linealidad .....	27
2.4. Sensibilidad .....	30
2.5. Precisión .....	31
2.6. Selectividad .....	32
2.7. Regeneración de la membrana .....	36
2.8. Tiempo de vida de la membrana .....	37
3. Diseño y construcción del sensor óptico. ....	39
3.1. Sistema de detección óptica .....	39
3.2. Fuente de luz y receptor .....	40
3.3. Cuerpo del sensor óptico .....	41
CONCLUSIONES .....	44
SUGERENCIAS .....	45
BIBLIOGRAFIA .....	46

## Índice de Figuras

Figura 1. Estructura molecular del 2,4,5-trifenilimidazol .....	12
Figura 1. Membrana con acetato de polivinilo.....	25
Figura 2. Espectro de absorción de: (A) membrana de Acetato de polivinilo sin 2,4,5 trifenilimidazol, (B) membrana de 2,4,5 trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo. .....	25
Figura 3. Influencia del pH sobre la respuesta de la membrana a 90.91 y 230.77 mg L <sup>-1</sup> .....	26
Figura 4. Gráfico de calibración a diferentes concentraciones de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .....	28
Figura 5. Espectros de absorción a diferentes concentraciones de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .....	28
Figura 6. Regresión lineal para la Absorbancia de la membrana frente a la concentración de nitrito .....	35
Figura 7. Espectro de absorción a diferentes concentraciones de nitrito. ....	35
Figura 8. % de recuperación con diferentes regeneradores.....	37
Figura 9. Regresión del tiempo de vida de la membrana de 2,4,5-trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo. ....	38
Figura 10. Circuito del Sistema de detección óptica con un LDR .....	39
Figura 11. Placa Arduino Uno-R3.....	40
Figura 12. Longitud de onda del diodo LED UV de 400 nm.....	41
Figura 13. Cuerpo del sensor óptico.....	42
Figura 14. Paso de la Luz.....	43
Figura 15. Fotografía del montaje para la detección de nitratos en el sensor óptico.....	43

## Índice de Tablas

Tabla 1. Pruebas con distintas matrices poliméricas .....	22
Tabla 2. Composición de las membranas.....	23
Tabla 3. Membranas con distintas matrices poliméricas.....	23
Tabla 4. Pruebas con acetato de polivinilo.....	24
Tabla 5. Membranas con acetato de polivinilo.....	24
Tabla 6. Composición final de la membrana con acetato de polivinilo .....	24
Tabla 7. Influencia del pH sobre la respuesta de la membrana .....	26
Tabla 8. Adiciones de la solución madre para diferentes concentraciones de $NO_3^-$ .....	27
Tabla 9. Datos para la determinación de linealidad .....	27
Tabla 10. Parámetros de la regresión lineal .....	29
Tabla 11. Análisis estadístico de la regresión .....	29
Tabla 12. Análisis de varianza para la certificación de la linealidad .....	30
Tabla 13. Valores para la determinación de la sensibilidad .....	30
Tabla 14. Valores para la determinación de la precisión .....	32
Tabla 15. Análisis estadístico para la determinación de la precisión.....	32
Tabla 16. Coeficientes de selectividad para algunos aniones.....	33
Tabla 17. Coeficientes de selectividad para algunos cationes.....	34
Tabla 18. Datos de absorbancia frente a la concentración de nitrito.....	35
Tabla 19. Eliminación de nitritos con sulfanilamida.....	36
Tabla 20. Disminución en la señal de la membrana de 2,4,5-trifenilimidazol.....	38
Tabla 21. Fuentes de Luz .....	40
Tabla 22. Receptores .....	40



***Dedicatoria***

*A Dios, por darme las fuerzas para seguir adelante y no desmayar en el intento.*

*A mi Familia, por su apoyo incondicional..*

*A mis compañeros, por el apoyo mutuo en nuestra formación como maestros.*



### *Agradecimientos*

*Al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica, por la beca otorgada en la Maestría en Química del Medio Ambiente.*

## RESUMEN

En el presente estudio se describe el diseño, elaboración y evaluación de una membrana inmovilizando 2,4,5-trifenilimidazol en acetato de polivinilo, la misma que es capaz de detectar nitratos en muestras de agua. La longitud de onda de máxima absorción de la membrana fue alrededor de 310 nm. La membrana presentó una pendiente de  $1.1977E-04$ , un intercepto de 0.00125 y un  $R^2 = 0.9996$ , además según el análisis de varianza se obtuvo que  $\rho = 3.8844 \times 10^{-13} < 0.05$ , demostrando la existencia de una alta correlación entre los datos de concentración y absorbancia. Así mismo se obtuvo un límite de detección de  $12.6321 \text{ mg L}^{-1}$  y un límite de cuantificación de  $33.9896 \text{ mg L}^{-1}$  los cuales se encuentran por debajo de los límites de calidad para la provisión de agua potable que según la EPA es de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ . Como regenerador de la membrana se utilizó cloruro de sodio. Por otro lado se demostró que la membrana es selectiva para nitratos frente a varios aniones y cationes, sin embargo el anión  $\text{NO}_2^-$  se presentó como una fuerte interferencia.

## ABSTRACT

In the present study the design, development and evaluation of a membrane immobilizing 2,4,5 triphenylimidazole in polyvinyl acetate is described, the same which is capable of detecting nitrates in water samples. The wavelength of maximum absorption was about 310 nm. The membrane present a slope of  $1.1977\text{E-}04$ , an intercept of 0.00125 and  $R^2 = 0.9996$ , as well as analysis of variance was obtained,  $\rho = 3.8844 \times 10^{-13} < 0.05$  demonstrating the existence of a high correlation between concentration and absorbance data. Also a detection limit of  $12.6321 \text{ mg L}^{-1}$  and a limit of quantification of  $33.9896 \text{ mg L}^{-1}$  was obtained, this values are below the quality limits for the provision of potable water, according to EPA is  $50 \text{ mg L}^{-1}$  of  $\text{NO}_3^-$ . Sodium chloride was used for regeneration of the membrane by to present a good recovery percentage. In other hand it was shown that the membrane is selective for nitrates against various anions and cations, however it present a strong interference by the anion  $\text{NO}_2^-$ .

## Capítulo 1

### Introducción

El anión nitrato pueden estar presente de manera natural en el agua debido a su transformación a lo largo del ciclo biogeoquímico del nitrógeno. No obstante, en los últimos 200 años el aporte de nitratos procedente de las actividades antropogénicas ha incrementado su nivel en las corrientes de agua de manera considerable<sup>1,2,3</sup>. Los principales problemas medioambientales asociados a la contaminación por nitratos en los medios acuáticos son: acidificación de ríos y lagos; eutrofización de las aguas dulces y marinas; además de los efectos tóxicos para los organismos acuáticos.<sup>4,5,3</sup>.

La toxicidad del nitrato en los humanos está relacionada principalmente con la habilidad del nitrato para oxidar la hemoglobina a metahemoglobina, la cual no permite transportar el oxígeno a los tejidos, este proceso afecta principalmente a los bebés y niños<sup>6,7,8,9</sup>. Así mismo, el nitrato por un proceso de desnitrificación se obtiene nitrito el cual tiene un efecto cancerígeno en el aparato gastrointestinal por la formación de nitrosaminas y nitrosamidas, del mismo modo fueron reportados efectos de malformación congénita<sup>10,11,12,13</sup>.

En la actualidad se tienen innumerables técnicas para el análisis de nitratos en laboratorio, sin embargo, estos métodos tienen ciertas limitaciones, ya que en muchas ocasiones es necesario realizar los análisis fuera del laboratorio “*in situ*”, así por ejemplo en una planta de tratamiento de aguas residuales, en un cuerpo de agua, en pozos, en abonos, suelos u otras muchas situaciones o bien por parte del público en general que desee conocer el nivel de este ión en agua u otra muestra. Es por ello que recientemente se viene incrementando la investigación de métodos sencillos y fiables, tal es el caso de membranas en sensores ópticos las cuales presentan muchas ventajas, entre ellas: una alta sensibilidad, fácil detección, bajo costo, y un monitoreo rápido en tiempo real.<sup>14,15</sup>.

El ion nitrato es un anión con un débil carácter básico y coordinado, por lo que el reconocimiento selectivo de nitrato requiere tanto complementariedad en tamaño como en forma por parte del receptor. Diferentes receptores sintéticos han sido estudiados para el reconocimiento de nitrato, principalmente los basados en enlaces de hidrogeno.

En el caso anterior, los grupos enlazantes se disponen de forma convergente y rígida, empleando receptores con simetría C<sub>3</sub>, para ajustarse a la funcionalidad del nitrato, al igual que en los receptores basados en amidas<sup>16</sup> o los receptores basados en tioureas<sup>17</sup>, o en tiofenos<sup>18</sup>. En otros casos, se ha usado para el reconocimiento de nitrato receptores con amidas donadoras de enlaces de hidrogeno y una contribución electrostática por parte de un centro metálico, como es el caso del platino (II) nicotinamida<sup>19</sup> o el Cd (II) coordinado a partir de un oxidazol<sup>20</sup>

Otro de los ensayos competitivos espectrofotométrico para nitratos, basado en el desplazamiento de un indicador aniónico, es el rojo de metilo o la resorufina, que se acomplejan con el receptor al añadir nitrato<sup>21</sup>. Sin embargo el empleo de mezclas metanol/cloroformo (1:1) como disolvente impide su uso en muestras reales.

También se sintetizaron y se exploraron como una nueva generación de receptores para la unión de múltiples aniones receptores bistrípodes hexasustituidos a base de benceno, esta estructura cristalina de estado sólido mostrando una encapsulación de cuatro aniones de nitrato de manera bistrípode con conformación "ababab" del receptor<sup>22</sup>. Otro receptor bastante interesante fue el catión tetra ciclo [4] pirrol éter (C4PE) que fue utilizado como un elemento de reconocimiento en forma de un material compuesto con pasta de carbón como un electrodo selectivo para la detección potenciométrica de nitrato en muestras de agua. El electrodo tubo una respuesta lineal a nitrato con un límite de detección de  $1 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>, con un tiempo de respuesta rápido a menos de 10 s<sup>23</sup>

Otra propuesta para la detección de nitratos fue una sonda fluorogénica basado en fenilenvinileno bispyridinium  $\pi$ -conjugado soluble en agua el cual se desarrolló como un sensor químico fluorescente novedoso para la detección altamente selectiva, sensible y rápida de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en un medio acuoso ácido. Es importante destacar que este sensor químico se ha empleado por primera vez para la detección de fluorescencia del anión NO<sub>3</sub><sup>-</sup> intracelular en células cultivadas.<sup>24 25</sup>

Dada la funcionalidad de los receptores basados en amida rígidas con simetría C<sub>3</sub> el cual controla el patrón anión selectividad del elemento óptico. Se desarrollaron sensores a base de absorción óptica para el nitrato donde el elemento de nitrato-sensible es un receptor de ciclofano bicíclico junto a un colorante lipófilo sensible al pH adecuado inmovilizado en una membrana polimérica plastificada.<sup>26</sup>

Diversos investigadores estudiaron las propiedades del 2,4,5 –Trifenilimidazol y sus derivados debido a sus propiedades ópticas únicas<sup>27 28 29 30 31 32 33 34</sup>. En México, se presentó una nueva caracterización de lofina como capa sensible para medir nitrato en el agua potable. La caracterización se realizó con un portaobjetos estándar y una fibra multimodo estándar recubierto con una capa sensible de lofina (2,4,5 -Trifenilimidazol ( $C_{21}H_{16}N_2$ )). La caracterización espectrofotométrica se llevó a cabo en el rango de longitud de onda desde 300 hasta 1100 nm obteniendo una longitud de onda de máxima absorción alrededor de 319 nm<sup>35</sup>.

El efecto de la matriz de polimérica en el cambio de señal relativa, sensibilidad y selectividad también fue estudiado. Se demostró que la sensibilidad y la selectividad para el nitrato sobre otros aniones depende fuertemente de la lipoficidad y la polaridad del polímero: con el incremento de la lipoficidad resulta una mayor sensibilidad y selectividad. Como resultado, la respuesta del sensor puede ser bien calibrada por la elección apropiada del material de polímero<sup>36</sup>.

Por otro lado en cuanto a los interferentes en la determinación de nitratos, se suele considerar a los cloruros y nitritos. Es por ello que en algunos estudios se opta por eliminar la interferencia de cloruros y detectar nitratos y nitritos<sup>37 38 39 40 41 42</sup>. Es posible eliminar la interferencia por nitritos por acomplejación del nitrito con sulfanilamida<sup>43</sup>.

En el presente trabajo se pretende evaluar la eficiencia de una membrana de 2,4,5-trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo, para la detección de nitratos en muestras de aguas. Así mismo se evaluará la posterior construcción de un prototipo de sensor óptico y pueda ser aplicado in situ.

## Capítulo 2

### Marco Teórico

#### 1. 2,4,5-Trifenil imidazol

2,4,5-trifenilimidazol, conocido como lofina, es un compuesto orgánico químico con la fórmula  $C_{21}H_{16}N_2$  perteneciente a los imidazoles, a temperatura ambiente es un sólido cristalino blanco o crema, es ampliamente conocido por sus propiedades quimioluminiscentes, reportados por primera vez por Radziszewski en 1877, emite una luz amarilla cuando reacciona con oxígeno en presencia de una base fuerte<sup>44</sup>. La Fig. 1 muestra la estructura molecular del 2,4,5-trifenilimidazol.

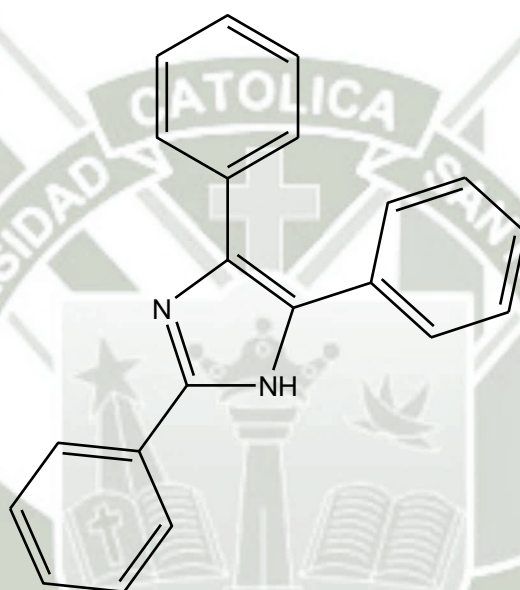


Figura 1. Estructura molecular del 2,4,5-trifenilimidazol<sup>45</sup>

#### 2. Contaminación y efectos tóxicos por compuestos nitrogenados

En el medio acuático el nitrógeno normalmente está en forma inorgánica ya sea en forma de amonio ( $NH_4^+$ ), nitrito ( $NO_2^-$ ) o nitrato ( $NO_3^-$ ). Estos iones pueden estar presentes de manera natural en el agua debido a su transformación a lo largo del ciclo biogeoquímico del nitrógeno<sup>46</sup>. Sin embargo, en los últimos años el aporte de nitrógeno procedente de la actividad antropogénica ha incrementado su concentración en las corrientes de agua de manera considerable<sup>3 1</sup>.

La contaminación antropogénica de las aguas por compuestos nitrogenados procede principalmente de actividades de tipo agrícola<sup>2</sup>, industrial y urbano. El uso indiscriminado de fertilizantes nitrogenados sobre terrenos de cultivo se ha constituido como una de las fuentes más importantes de aporte de nitrógeno inorgánico ( $NH_4^+$  y  $NO_3^-$ ) a las corrientes de agua superficial y subterránea, siendo los fenómenos de escorrentía y percolación los responsables de su movimiento a través del suelo. Tan sólo un 10-15% de la cantidad de fertilizante aplicada al suelo es empleada por las plantas e incorporado a la cadena alimentaria.

Los problemas ambientales más relevantes asociados con la contaminación por compuestos nitrogenados son el proceso de eutrofización, acidificación y disminución significativa del oxígeno disuelto<sup>3</sup>. El efecto tóxico por compuestos nitrogenados, se da principalmente por el consumo de agua o alimentos contaminados<sup>5</sup>, produciendo por ejemplo hipoxia en los organismos acuáticos<sup>4</sup>, metahemoglobinemia en los seres humanos, siendo los infantes menores de cuatro meses los más susceptibles<sup>6 7 8 9</sup>, así mismo el nitrito y el nitrato están ampliamente relacionados con casos de deformaciones en recién nacidos, infecciones en el tracto respiratorio y enfermedades coronarias, entre otras<sup>47</sup>. Por otro lado los nitratos y nitritos al interior de cuerpo se transforman en nitrosaminas los cuales tienen un alto potencial cancerígeno y mutagénico<sup>7 10 13 12</sup>, también se reportaron riesgos de cáncer de ovario en mujeres postmenopausicas<sup>11</sup>.

### 3. Sensores ópticos a base de diodos

La importancia de la salud, el medio ambiente y la supervisión de la seguridad ha aumentado considerablemente en la última década debido a nuestro conocimiento de los efectos y las consecuencias a largo plazo de la contaminación del medio ambiente, es por ello que se necesitan métodos de análisis precisos robustos y portátiles, para lograr un seguimiento de tal manera que las muestras puedan ser analizadas en campo. Obteniendo resultados disponibles en corto tiempo, a bajo costo y además de la disminución de contaminación en las muestras<sup>48</sup>.

El avance en las fuentes LED y las tecnologías de fotodetectores proporcionan una solución a estos problemas, ya que son compactos, de baja potencia y los detectores usados son de bajo costo para la incorporación de métodos de análisis colorimétricos en los dispositivos<sup>49 50</sup>.

### 3.1. Componentes

#### 3.1.1. Diodo Emisor de Luz (LED)

Holonyak et al. Desarrollaron el primer LED en 1962 basado en capas de GaAsP, que emiten una luz roja<sup>50</sup>. Desde entonces, los LED han jugado un papel destacado en los sensores ópticos, los avances significativos en los procesos de fabricación de nitruro III-V se han traducido en LEDs de alta potencia disponibles comercialmente en la región desde 247 hasta 1550 nm<sup>51</sup>.

Un diodo emisor de luz (LED) está formado por la unión de dos semiconductores, uno tipo P y otro tipo N. Cuando esta unión es polarizada directamente, el diodo conduce, emiten luz. Cuando es polarizada inversamente el diodo no conduce.<sup>52</sup>

Para conseguir modificar la longitud de onda de la radiación de la onda luminosa y así conseguir diodos con emisiones de diferentes colores (roja, naranja, verde, amarilla, azul, o infrarroja), se contaminan los cristales de una forma adecuada, así por ejemplo, los diodos luminiscentes fabricados con Galio y Fosforo (GaP) emiten luz roja cuando se les añade óxido de cinc y emiten luz verde con la adición de nitrógeno.<sup>53</sup>

Las aplicaciones generales de LEDs son múltiples, destacando su uso como indicador de las luces para circuitos electrónicos, pero cada vez más LEDs también se utilizan para aplicaciones de iluminación, en particular en forma de dispositivos emisores de luz blanca. Por Invisibles LEDs invisibles cercanos al IR se utilizan para mandos a distancia y puertas automáticas, LEDs UV cercanos se utilizan para el examen de billetes falsos. LEDs-UV profundo tienen potencial para su uso en la desinfección.<sup>15</sup>

#### 3.1.2. Detectores

##### *Fototransistores*

Los fototransistores proporcionan típicamente una salida de corriente 1,5-2 veces mayor que los fotodiodos aunque con un costo superior. La desventaja de los fototransistores es que tienen un tiempo de respuesta lento. La mayoría de los fototransistores tendrán tiempos de respuesta medidos en decenas de microsegundos, que es aproximadamente 100 veces más lento que los fotodiodos. También tienen la desventaja de tener pequeñas áreas activas y altos niveles de ruido<sup>14</sup>

### *Fotodiodos*

Hasta la fecha, uno de los detectores más utilizados en la fotometría es el fotodiodo<sup>14</sup>. Este dispositivo es un diodo especialmente diseñado para que sea sensible a las radiaciones luminosas que en él incidan, de tal forma que al aumentar estas, también lo haga la corriente inversa que fluya por el fotodiodo. Una de las aplicaciones fundamentales de este dispositivo es como fotodetector, elemento capaz de transformar una magnitud luminosa en eléctrica.<sup>53</sup>

### *Resistencias dependientes de la luz*

Una resistencia dependiente de la luz (LDR) por sus siglas en inglés, es barata y de tamaño pequeño, no suele emplearse comúnmente en los sensores ópticos, ya que poseen desventajas de tiempos de respuesta lentos en comparación con los fotodiodos y los que son dispositivos no lineales, son más idealmente empleados para la detección de presencia / ausencia de luz que para mediciones precisas de la intensidad de la luz<sup>14</sup>.

### *Serie de fotodiodos*

Los LEDs son sustitutos ideales para la sustitución de fuentes de luz voluminosos y consumo alto de potencia, tales como de tungsteno-halógeno o las lámparas de deuterio, que se utilizan comúnmente en conjunción con detectores de matriz de fotodiodos en la instrumentación espectroscópica<sup>14</sup>.

## **3.2. Indicadores ópticos.**

La elección de un reactivo adecuado para la construcción de un sensor óptico depende, fundamentalmente, del analito y del método óptico de medida. En la actualidad, existe un gran número de compuestos químicos comerciales cuyas propiedades ópticas se ven modificadas en función del medio o especie al que se ven expuestos.<sup>54</sup>

Los requisitos que debe reunir un indicador que forme parte de un sensor óptico son:

- Propiedades ópticas (espectros de absorción y/o emisión) sensibles a la presencia del analito y compatibles tanto con la fuente de excitación como con el detector.
- Los indicadores luminiscentes deben, idealmente, exhibir un alto rendimiento cuántico (O) y largo tiempo de vida de emisión (T). Estos dos factores permiten

aumentar la sensibilidad del método, a la vez que contribuyen a simplificar y abaratar la instrumentación.

- Los compuestos en los que la banda de emisión está muy desplazada con respecto a la de absorción (desplazamiento de Stokes) permiten la fácil discriminación entre la luz procedente de la fuente y la emisión del indicador con simples filtros coloreados.
- Máxima estabilidad química y fotoquímica, que evite su degradación tras largos tiempos de exposición del sensor a fuentes de luz intensas, aumentando la vida operativa útil del optodo.
- No ser tóxicos y ser comerciales o, en su defecto, fácilmente obtenibles a través de sencillos pasos de síntesis y purificación, a precios asequibles. Un elevado coste del indicador exigiría una mayor durabilidad para poder competir con el resto de sistemas de medida, mientras que la construcción de terminales sensibles económicos permitiría su uso desechable.
- Poseer en su estructura química algún grupo funcional que permita el anclado del compuesto a un soporte adecuado, o bien ser fácilmente modificable para estos fines, sin que ello conlleve una pérdida de sensibilidad hacia el analito.

### **3.3. Métodos de inmovilización.**

Una vez seleccionado el indicador óptico más adecuado para la fabricación del sensor óptico, tras un exhaustivo análisis de sus propiedades en disolución, se hace necesario la inmovilización del compuesto sobre un soporte que constituya la denominada fase sensible. Dado que la principal función de los soportes es proporcionar robustez al sensor sin afectar su sensibilidad hacia el analito, se suelen utilizar materiales rígidos o semirrígidos y ópticamente transparentes, que permitan el fácil acceso de la especie objetivo hasta el indicador. Deben, idealmente, ser permeables al analito e impermeables al resto de sustancias que puedan actuar como interferentes, siendo responsables, en la mayoría de los casos, de la selectividad del sensor y de su tiempo de respuesta. Asimismo, los soportes son los encargados de evitar el lavado o arrastre del indicador cuando la fase sensible se sumerge en la muestra.<sup>55 56 57</sup>

Los soportes sólidos que forman parte de las fases reactivas de los sensores ópticos pueden ser materiales muy diversos, tanto orgánicos como inorgánicos:

- *Polímeros de condensación derivados del ácido silícico: sol-gel, vidrio poroso, zeolitas y gel de sílice.*

El vidrio, en sus diferentes formas, permite la inmovilización covalente de indicadores ópticos tanto hidrófilos como hidrófobos, mediante la oportuna modificación de su superficie. El empleo de vidrio de poro controlado (CPG, del inglés controlled pore glass), comercializado en forma de fino polvo, aumenta considerablemente la superficie de contacto con el indicador, proporcionando al mismo tiempo un control sobre la selectividad del sensor derivado de la elección del tamaño de poro<sup>58</sup>. El carácter inerte y la gran estabilidad mecánica de este tipo de soportes son dos factores muy apreciados. Sin embargo, no existe una exposición directa del indicador con el analito cuando éste se encuentra en disolución, siendo necesario el empleo de membranas permeables que envuelvan al soporte facilitando el acceso del analito hasta el indicador, pero evitando que la muestra arrastre las partículas de CPG<sup>55</sup>

Uno de los soportes más populares para la construcción de sensores ópticos de los últimos años es el denominado sol-gel. Estos vidrios porosos de sílice, obtenidos a partir de la hidrólisis y posterior condensación de tetraalcoxisilanos ( $\text{Si}(\text{OR})_4$ ) en disoluciones hidroalcohólicas, permiten el atrapamiento en su interior de moléculas indicadoras<sup>59</sup> <sup>60</sup>  
<sup>61</sup>.

- *Siliconas.*

Al contrario que la mayoría de los polímeros con los que se construyen los sensores ópticos, las siliconas no incorporan plastificantes que, aunque son los responsables de las propiedades mecánicas de las membranas, suelen estar constituidos por compuestos fluorescentes que introducen un fondo que puede causar interferencia en la medida del sensor óptico o experimentan un lavado por la disolución de medida, que convierte en frágiles a las membranas sensibles. Por otro lado las siliconas no permiten el anclaje covalente del indicador a su superficie ya que ésta no puede modificarse fácilmente, por lo que el reactivo sensible suele encontrarse embebido en su interior<sup>62</sup> <sup>63</sup>

- *Polímeros orgánicos lineales: poli (cloruro de vinilo) (pvc), polietileno, poli (tetrafluoroetileno) (ptfe), poliestireno.*

La gran variedad de polímeros lineales que existen en el mercado permite elegir el más adecuado en función de la naturaleza del indicador que se pretende inmovilizar y la especie objetivo. Como se ha mencionado anteriormente en la descripción de las

siliconas, un inconveniente que presentan estas matrices son los plastificantes que incorporan algunas de ellas, introduciendo un fondo en las medidas que puede causar interferencias.<sup>64 65 66 67</sup>. Además de los polímeros hidrofóbicos convencionales, se pueden utilizar soportes poliméricos adecuadamente funcionalizados con distintos grupos aniónicos o catiónicos en su superficie.

- *Intercambiadores iónicos.*

Poseen en su superficie grupos aniónicos ( $SO_3^-$ ,  $CO_2^-$ ) o catiónicos ( $NH_4^+$ ,  $NR_3H^+$ ) que retienen electrostáticamente moléculas de carga contraria. Se encuentran disponibles en forma de resinas o membranas de intercambio iónico. Las primeras, además de no constituir un soporte robusto, se hinchan reversiblemente tras la exposición al medio acuoso o humedad. Las membranas, sin embargo, no sufren hinchamiento y son fácilmente manejables. En ambos casos, la fuerza iónica del medio puede provocar el lavado del indicador, al igual que los pH extremos, que protonan o desprotonan los grupos funcionales neutralizando el soporte.

- *Matrices poliméricas hidrofílicas.*

Las celulosas son polímeros que permiten el flujo del agua. Pueden incorporar grupos funcionales en su superficie facilitando la unión electrostática o por fuerzas de tipo Van der Waals de los indicadores. Sin embargo, estas membranas no son excesivamente robustas y son susceptibles de contaminación bacteriana. Además, no evitan el lavado del indicador, al encontrarse éste únicamente adsorbido en su superficie<sup>55 68</sup>.

Otros polímeros hidrofílicos empleados en la construcción de sensores ópticos son el nylon, las poli (acrilamidas), el poli(etilenglicol) y el poli(alcohol vinílico). Estas matrices poseen una considerable estabilidad química y pueden modificarse convenientemente para una posible unión de tipo covalente a un indicador. Al igual que las resinas de intercambio iónico, algunos de estos soportes se hinchan en disolución, disminuyendo la reproducibilidad de las medidas.

## Capítulo 3

### Metodología

#### 1. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación:

##### 1.1. Técnicas.

##### 1.1.1. Fabricación de la membrana

Se realizaran pruebas con diferentes matrices poliméricas hasta conseguir una membrana transparente y pueda ser evaluada espectrofotométricamente.

##### 1.1.2. Evaluación de la membrana

Se evaluara la membrana espectrofotométricamente y se validara su uso a diferentes concentraciones de Nitrato y a diferentes valores de pH, así mismo se evaluaran parámetros tales como Linealidad, sensibilidad, precisión, regeneración y tiempo de vida de la membrana.

##### 1.1.3. Selectividad de la membrana para nitratos

Para verificar que la membrana desarrollada es selectiva únicamente para nitratos en presencia de otros aniones y cationes, se determinara los coeficientes de selectividad en presencia y ausencia de concentraciones conocidas de analito e interferente<sup>69</sup>. El coeficiente de selectividad estará definido por la siguiente ecuación:

$$K_{NO_3^-/Interferente} = \frac{k_{Interferente}}{k_{NO_3^-}}$$

El resultado puede ser negativo o positivo dependiendo del efecto del interferente. Un coeficiente de selectividad mayor a 1 o menor a -1 indica que es más selectivo para el interferente que para el analito. Las sensibilidades ( $k$ ) para el nitrato y el interferente serán calculadas según las ecuaciones:

$$k_{NO_3^-} = \frac{Abs_{[NO_3^-]}}{[NO_3^-]}$$

$$k_{Interferente} = \frac{Abs_{[NO_3^-]+[Interferente]} - k_{[NO_3^-]} \times [NO_3^-]}{[Interferente]}$$

#### **1.1.4. Diseño y construcción del sensor óptico**

Se diseñara el sensor óptico de tal manera que sea factible su uso en Campo.

### **1.2. Instrumentos**

#### **1.2.1. Documentales**

El instrumento documental estará conformado por un cuaderno donde se consignara la descripción de los procedimientos, así como los resultados obtenidos en el desarrollo de la tesis.

#### **1.2.2. Mecánicos**

Para la evaluación de la membrana se utilizaran instrumentos relacionados a la espectrofotometría, así mismo se utilizara todo lo relacionado con la electrónica para la fabricación del sensor óptico.

#### **1.2.3. Reactivos**

Para el presente trabajo de investigación, se utilizara agua ultrapura de 18.2 M $\Omega$  obtenida de un equipo EASYPURE II RF de Barnstead Thermo Scientific. Los reactivos empleados serán de grado analítico sin purificación adicional. Se preparara una solución stock de nitrato de potasio a 1000 mg · L<sup>-1</sup>. Para la preparación de la membrana sensora se utilizara 2,4,5 – Trifenilimidazol; como matriz polimérica se probara con Cloruro de polivinilo (PVA), Acetato de polivinilo (PVA) y Silicona Acética común; así mismo se utilizaran los siguientes plastificantes: 2-Nitrophenyloctyl ether (O-NOE), Bis cetyl hexyl sebacate (BCHS), como solvente se utilizara tetrahidrofurano.

## **2. Campo de verificación**

### **2.1. Ubicación espacial**

Las pruebas se realizaran en las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María. Pabellón H-202 Laboratorio de Investigación y Laboratorio de Farmacotecnia H-203.

### **2.2. Ubicación temporal**

El presente estudio es coyuntural, ya que se evaluará el diseño, y construcción de un sensor para la determinación de nitratos.

### 2.3. Unidades de estudio

Se probarán diferentes materiales para la fabricación de la membrana, así mismo se propondrá un sistema adecuado para la detección de nitratos con un sensor óptico.

### 3. Estrategia de recolección de datos

Para la recolección de datos se emplearan pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas, según la distribución de los resultados.



## Capítulo 4

### Resultados y Discusión

En el presente trabajo de investigación se diseñó, elaboro y evaluó membrana de 2,4,5-trifenilimidazol inmovilizada en acetato de polivinilo para la detección de nitratos en muestras de agua, Así mismo se diseñó y construyó un prototipo de sensor óptico.

#### 1. Fabricación de una membrana para la detección de nitratos.

Se realizaron pruebas con distintas matrices poliméricas con el fin de obtener una membrana óptima para su posterior evaluación espectrofotométrica, se trabajó con 3 matrices: Acetato de polivinilo (PVA), Cloruro de polivinilo (PVC), Silicona Acética (PDMS diluido en acetona) y 2 plastificantes diferentes: 2-Nitrophenyloctyl ether (O-NOE), Bis cetyl hexyl sebacate (BCHS), se realizaron 9 pruebas variando la matriz polimérica y el plastificante según la tabla 1.

Tabla 1. Pruebas con distintas matrices poliméricas

N° de prueba	Matriz Polimérica	Plastificante
1	PVA	Sin plastificante
2	PVA	O-NOE
3	PVA	BCHS
4	PVC	Sin plastificante
5	PVC	O-NOE
6	PVC	BCHS
7	PDMS	Sin plastificante
8	PDMS	O-NOE
9	PDMS	BCHS

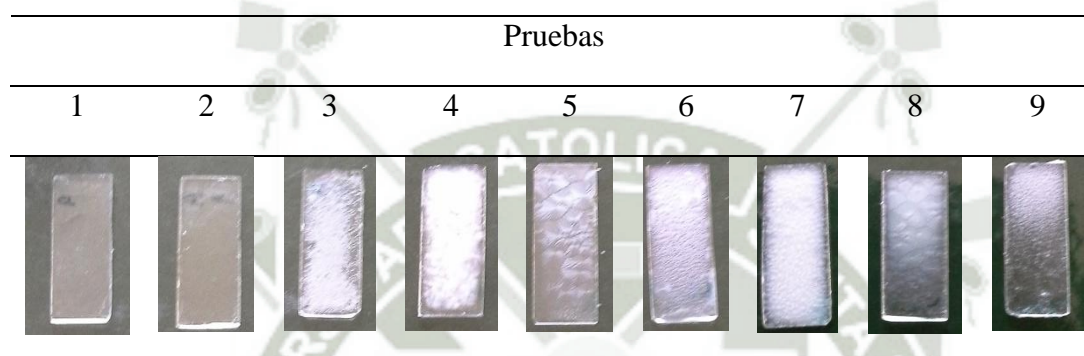
La composición utilizada en todas las membranas fue la misma, como se muestra en la tabla 2, Cada membrana se obtuvo disolviendo en primer lugar 2,4,5 trifenilimidazol en 0.5 mL de tetrahidrofurano (THF), añadiendo luego la matriz polimérica y el plastificante según sea la prueba.

Tabla 2. Composición de las membranas

Compuesto	Cantidad	Porcentaje (aprox.)
2,4,5-trifenilimidazol	2 mg	16.64%
Matriz polimérica	10 mg	83.19%
Plastificante	20 $\mu$ L	0.002%

Los resultados obtenidos de las pruebas realizadas se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Membranas con distintas matrices poliméricas



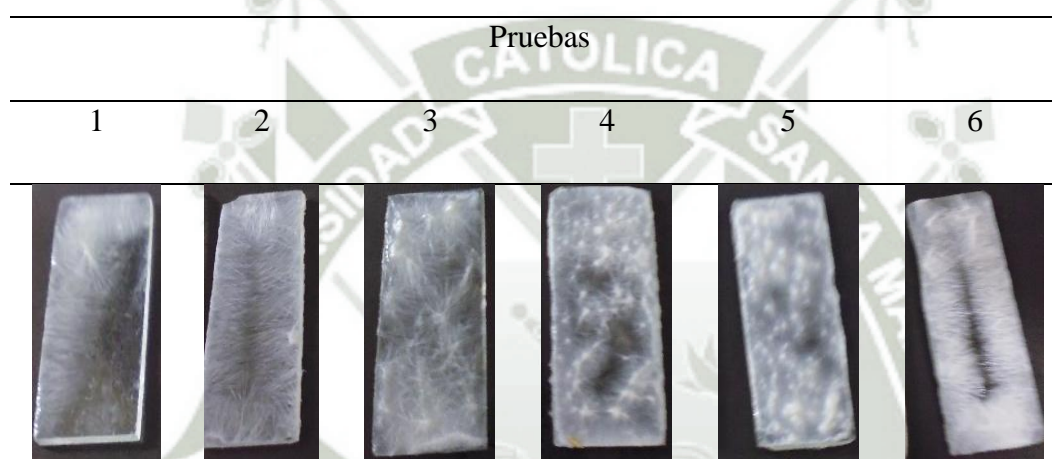
Las membranas de las pruebas 1 y 2, obtenidas con acetato de polivinilo resultaron con más transparencia frente a las de cloruro de polivinilo y PDMS, sin embargo la membrana de la prueba 1 resulto pegajosa, la membrana de la prueba 2 resulto pegajosa y grasienta. La membrana de la prueba 3 resultó poco transparente, pegajosa y grasienta. La membrana de la prueba 4 resulto poco transparente y quebradiza debido a la falta de plastificante, las membrana de las pruebas 5 y 6 resultaron elásticas y poco transparentes. Las membranas de las pruebas 7, 8 y 9 resultaron igualmente elásticas y poco transparentes.

Dado que se realizara una evaluación espectrofotométrica se busca una membrana con buena transparencia y buena adherencia al vidrio por lo que se decidió realizar otra serie de pruebas únicamente con acetato de polivinilo, para lo cual se cambió el solvente de THF por etanol, y se varió las cantidades de 2,4,5 trifenilimidazol y el plastificante según la tabla 4.

Tabla 4. Pruebas con acetato de polivinilo

N° de Prueba	PVA (g)	2,4,5-trifenilimidazol (mg)	O-NOE (μL)	Etanol (mL)
1	0.1014	10	160	1
2	0.1071	10	0	1
3	0.1787	20	160	1
4	0.1076	20	0	1
5	0.1074	30	160	1
6	0.1010	30	0	1

Tabla 5. Membranas con acetato de polivinilo



Las membranas obtenidas con acetato de polivinilo, variando las cantidades de 2,4,5 trifenilimidazol se muestran en la tabla 5, las mismas que resultaron saturadas y opacas, por lo que se redujo la cantidad de 2,4,5 trifenilimidazol: asimismo se cambió el solvente por uno más afín al acetato de polivinilo que es el metanol. La composición final que se utilizó para la fabricación de la membrana con acetato de polivinilo fue la que se muestra en la tabla 6.

Tabla 6. Composición final de la membrana con acetato de polivinilo

Compuesto	Cantidad	Porcentaje (sobre la matriz polimérica)
2,4,5-Trifenilimidazol	1 mg	1%
Matriz polimérica (PVA)	100 mg	100%



Figura 2. Membrana con acetato de polivinilo

La Fig. 1 muestra la membrana obtenida con acetato de polivinilo, la cual cuenta con la transparencia adecuada para su evaluación espectrofotométrica, la consistencia para ser adherida adecuadamente en un soporte de cuarzo sin separarse del mismo y el espesor necesario para interactuar con el analito.

## 2. Evaluación espectrofotométrica de la membrana de acetato de polivinilo.

### 2.1. Espectro de absorción de la membrana

El espectro de la membrana fue medido con un espectrofotómetro UV-Vis Agilent Cary 60, para lo cual se la depositó por inmersión directa en una celda de cuarzo, se encontró que la membrana de 2,4,5 trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo tiene una longitud de onda de máxima absorción alrededor de 310 nm tal como se muestra en la Fig. 2.

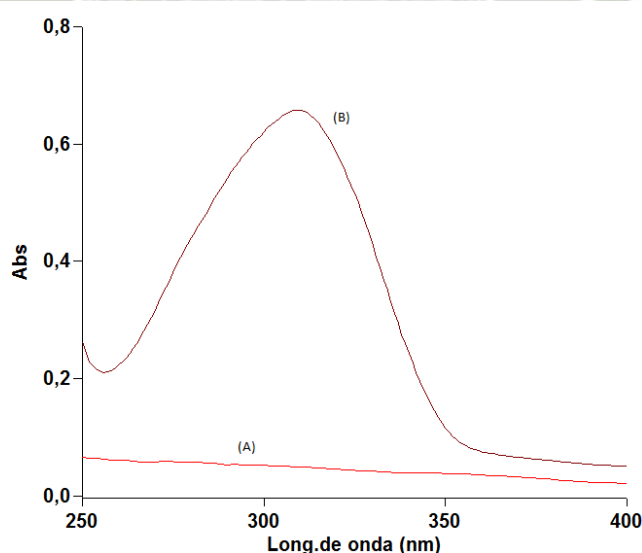


Figura 3. Espectro de absorción de: (A) membrana de Acetato de polivinilo sin 2,4,5 trifenilimidazol, (B) membrana de 2,4,5 trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo.

## 2.2. Influencia del pH sobre la respuesta de la membrana

Para la determinación de la influencia del pH sobre la respuesta de la membrana, se preparó una solución buffer Britton Robinson 0.1 M, a partir de la cual se prepararon una serie de buffers con la adición de hidróxido de sodio, obteniendo pHs en el rango de 2 – 12. La respuesta a distintos pHs se evaluó inmediatamente después del contacto entre el analito y el medio. Se encontró que la respuesta a pH 2 muestra una mayor sensibilidad, sin embargo a pHs mayores a 4 obtenemos una respuesta estable independientemente del pH. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 7 y la Fig. 3.

Tabla 7. Influencia del pH sobre la respuesta de la membrana

Ph	Absorbancia	Absorbancia
	a 90.91 mg L <sup>-1</sup> de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	a 230.77 mg L <sup>-1</sup> de NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
2	0.0140	0.0280
4	0.0095	0.0195
6	0.0085	0.0195
7	0.0100	0.0200
8	0.0080	0.0200
10	0.0090	0.0195
12	0.0080	0.0185

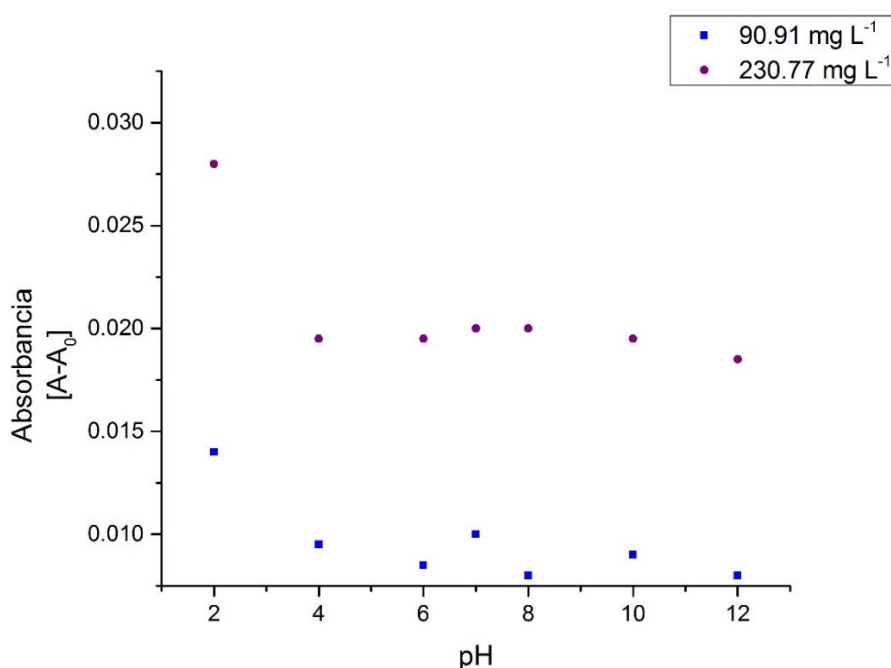


Figura 4. Influencia del pH sobre la respuesta de la membrana a 90.91 y 230.77 mg L<sup>-1</sup>

### 2.3. Linealidad

Para la determinación de la linealidad de la membrana se preparó una solución madre de  $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ , se determinó la linealidad adicionando un volumen de la solución madre a 1 mL de Agua ultra pura en la celda adherida con la membrana de acetato de polivinilo según la tabla 8.

Tabla 8. Adiciones de la solución madre para diferentes concentraciones de  $\text{NO}_3^-$

Solución de $\text{NO}_3^-$ $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (mL)	Volumen Final en la celda (mL)	$[\text{NO}_3^-]$ $\text{mg L}^{-1}$
0.05	1.05	47.6190
0.1	1.1	90.9091
0.2	1.2	166.6667
0.3	1.3	230.7692
0.4	1.4	285.7143
0.5	1.5	333.3333
0.6	1.6	375.0000
0.7	1.7	411.7647
0.8	1.8	444.4444

Tabla 9. Datos para la determinación de linealidad

$[\text{NO}_3^-]$ $\text{mg L}^{-1}$	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Prom. (Abs)	DS
47.6190	0.0080	0.0080	0.0060	0.0073	0.0012
90.9091	0.0130	0.0130	0.0110	0.0123	0.0012
166.6667	0.0210	0.0210	0.0210	0.0210	0.0000
230.7692	0.0280	0.0290	0.0290	0.0287	0.0006
285.7143	0.0340	0.0350	0.0360	0.0350	0.0010
333.3333	0.0400	0.0410	0.0410	0.0407	0.0006
375.0000	0.0460	0.0460	0.0470	0.0463	0.0006
411.7647	0.0500	0.0510	0.0520	0.0510	0.0010
444.4444	0.0540	0.0550	0.0550	0.0547	0.0006

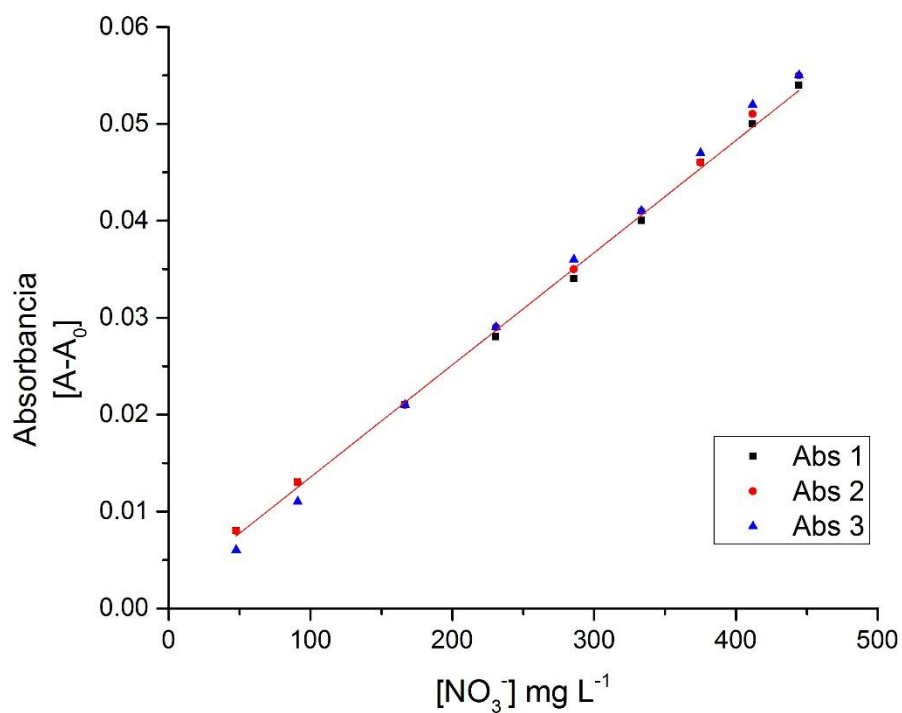


Figura 5. Gráfico de calibración a diferentes concentraciones de  $NO_3^-$

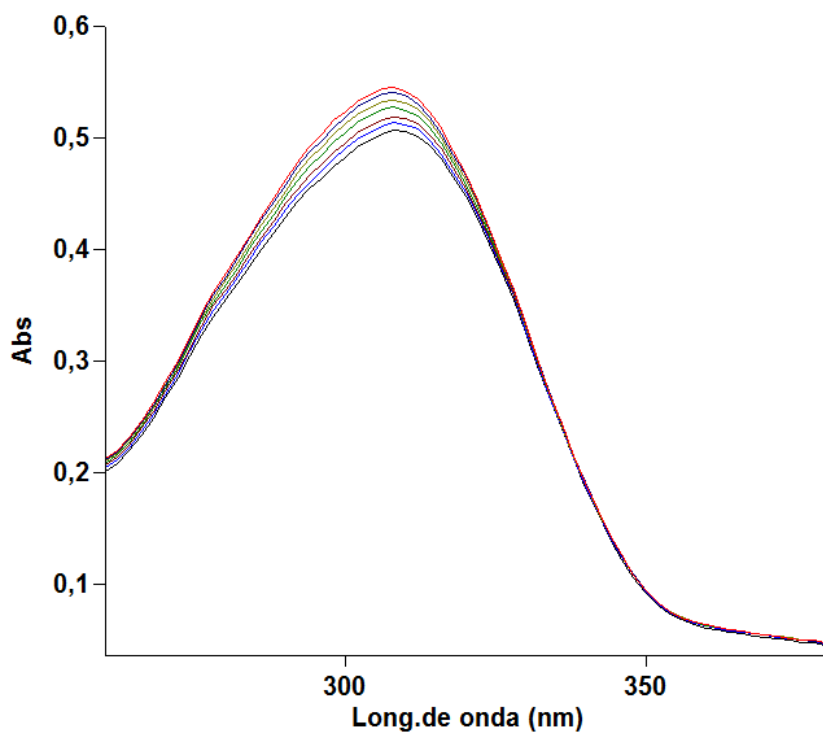


Figura 6. Espectros de absorción a diferentes concentraciones de  $NO_3^-$

La tabla 9 muestra los datos de absorbancia por triplicado obtenidos a diferentes concentraciones de  $NO_3^-$ , en la Fig. 4 se muestra la regresión lineal, donde se obtuvo un coeficiente de determinación  $R^2$  igual a 0.9996, una pendiente de 1.1977E-04 y un intercepto de 0.00125, parámetros que se muestran en la tabla 10. La Fig. 5 muestra los espectros de absorción obtenidos a diferentes concentraciones de  $NO_3^-$ .

Tabla 10. Parámetros de la regresión lineal

	Valor	Error estándar
Intercepto	0.00125	2.7023E-04
Pendiente	1.1977E-04	9.1095E-07

El estudio de la linealidad no solo implica una gráfica de calibración sino también un análisis estadístico para certificar la existencia de una correlación, por ello se realiza el test t para regresión lineal simple con n-2 grados de libertad en un intervalo de confianza al 95%, la ecuación 1 muestra la fórmula para calcular el valor de  $t_{regresión}$

$$t = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

El análisis estadístico de la regresión se muestra en la tabla 11

Tabla 11. Análisis estadístico de la regresión

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0.9998
Coefficiente de determinación $R^2$	0.9996
$R^2$ ajustado	0.9995
Error típico	0.00036
Observaciones	9

Realizando el cálculo correspondiente se obtiene:

$$t_{regresión} = 149.9699$$

Buscando el valor de t de tabla se obtiene:

$$t_{tabla} = 2.2621$$

Dados los resultados se certifica la existencia de una correlación significativa entre los datos de concentración de  $NO_3^-$  y absorbancia.

Por otro lado también se efectúa un análisis de varianza, los resultados se muestran en la tabla 12, dado que  $\rho = 3.8844 \times 10^{-13} < 0.05$ , se demuestra la existencia de una alta correlación entre los datos de concentración y absorbancia,

Tabla 12. Análisis de varianza para la certificación de la linealidad

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>	
Regresión	1	0.00228561	0.00228561	17285.6352	3.8844E-13	
Residuos	7	9.2558E-07	1.3223E-07			
Total	8	0.00228654				

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	0.00124555	0.00027023	4.60914817	0.00245745	0.00060655	0.00188455
Variable X 1	0.00011977	9.1095E-07	131.474846	3.8844E-13	0.00011761	0.00012192

## 2.4. Sensibilidad

Este parámetro se encuentra relacionado con la mínima cantidad de analito que puede producir un resultado significativo. Los valores necesarios para su determinación se encuentran en la tabla 13.

Tabla 13. Valores para la determinación de la sensibilidad

Respuesta cuando x es cero	$Y_{bl}$	0.0013
Desviación estándar cuando x es cero	$S_{bl}$	0.0011
Numero de datos	N	9
Pendiente	B	$1.1977 \times 10^{-4}$

Los parámetros a calcular son:

*Límite de detección:*

Se entiende por límite de detección a la mínima cantidad de analito que puede ser detectado pero no cuantificado por un método.

Para el cálculo de límite de detección se utilizó la fórmula de la ecuación 2

$$LD = \frac{Y_{bl} + 3S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Siendo el límite de detección del método de 12.6321 mg L<sup>-1</sup>.

*Límite de cuantificación:*

El límite de cuantificación es la mínima cantidad de analito que el método puede determinar y cuantificar con precisión y exactitud.

Para el cálculo de límite de cuantificación se utilizó la fórmula: de la ecuación 3

$$LQ = \frac{Y_{bl} + 10S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Siendo el límite de cuantificación del método de 33.9896 mg L<sup>-1</sup>.

Encontrados los límites de detección y cuantificación se deduce que la membrana podría servir para detectar concentraciones bajas del anión nitrato, los cuales se encuentran por debajo de los límites de calidad para la provisión de agua potable que según la EPA es de 50 mg L<sup>-1</sup> de  $\text{NO}_3^-$

## 2.5. Precisión

Esta refleja la medida en que los valores de una muestra homogénea analizada repetidas veces, sean semejantes entre sí. Para esta determinación se realizó una serie de medidas de una solución a 90.91 mg L<sup>-1</sup>, en el ensayo se obtuvo una desviación estándar relativa (RSD) de 13.79 % y está según la USP 30 se considera como una RSD aceptable. Los valores para la determinación de la precisión se muestran en la tabla 14.

Para determinar si existe una diferencia significativa entre la concentración teórica y la hallada se realizó una prueba estadística de t Student, el análisis se muestra en la tabla 14, donde encontramos que  $P > 0.05$  indicando que no existe una diferencia significativa entre la concentración teórica y la concentración hallada, por lo que se puede afirmar que el análisis de nitratos con una membrana 2,4,5-trifenilimidazol inmovilizada en acetato de polivinilo es un método preciso.

Tabla 14. Valores para la determinación de la precisión

N° de muestra	Concentración teórica (mg L <sup>-1</sup> )	Concentración encontrada (mg L <sup>-1</sup> )
1	90.91	98.105
2	90.91	98.105
3	90.91	73.057
4	90.91	81.406
5	90.91	89.755
6	90.91	98.105
7	90.91	73.057
8	90.91	73.057
Promedio		85.581
D.S.		11.808
R.S.D.		13.797
Límites de confianza (+/-)		8.182

Tabla 15. Análisis estadístico para la determinación de la precisión

	Concentración teórica (mg L <sup>-1</sup> )	Concentración encontrada (mg L <sup>-1</sup> )
Media	90.91	85.581
Varianza	0	139.423
Observaciones	8	8
Diferencia Hipotética de las medidas	0	
Grados de Libertad	7	
Estadístico t	-1.2766	
P( $T \leq t$ ) dos colas	0.2225	
Valor Critico de t (dos colas)	2.3646	

## 2.6. Selectividad

Para verificar que la membrana desarrollada es selectiva únicamente para nitratos en presencia de otros aniones y cationes, se determinó los coeficientes de selectividad, las ecuaciones 4, 5 y 6 muestran las fórmulas utilizadas para el cálculo de dichos coeficientes.

La tabla 16 muestra los resultados para algunos aniones y la tabla 17 muestra los resultados para algunos cationes, si se obtiene un coeficiente de selectividad mayor a 1 o menor a -1 indica que es más selectivo para el interferente que para el analito. Las sensibilidades (k) para el nitrato y el interferente serán calculadas según las ecuaciones 4 y 5, el coeficiente de selectividad del nitrato sobre el interferente será calculado según la ecuación 6.

$$k_{NO_3^-} = \frac{Abs_{[NO_3^-]}}{[NO_3^-]} \quad \text{(Ecuación 4)}$$

$$k_{Interferente} = \frac{Abs_{[NO_3^-]+[Interferente]} - k_{[NO_3^-]} \times [NO_3^-]}{[Interferente]} \quad \text{(Ecuación 5)}$$

$$K_{NO_3^-/Interferente} = \frac{k_{Interferente}}{k_{NO_3^-}} \quad \text{(Ecuación 6)}$$

Tabla 16. Coeficientes de selectividad para algunos aniones

Interferente	$[NO_3^-]$ mg L <sup>-1</sup>	Abs $[NO_3^-]$	[Interferente] mg L <sup>-1</sup>	Abs $[NO_3^-]$ + [Interf.]	$k_{NO_3^-}$	$k_{Interferente}$	Coficiente de selectividad $K_{NO_3^-/Interferente}$
$SO_4^{2-}$	90.91	0.013	43.48	0.013	1.43E-04	-2.39E-19	0.0
$Cl^-$	90.91	0.01	226.28	0.006	1.10E-04	-1.77E-05	-0.2
$CN^-$	90.91	0.01	43.48	0.009	1.10E-04	-2.30E-05	-0.2
$CO_3^{2-}$	90.91	0.011	33.31	0.011	1.21E-04	0.00E+00	0.0
$F^-$	90.91	0.01	43.48	0.008	1.10E-04	-4.60E-05	-0.4
$HPO_4^{2-}$	90.91	0.011	43.48	0.009	1.21E-04	-4.60E-05	-0.4
$I^-$	90.91	0.012	43.48	0.012	1.32E-04	0.00E+00	0.0
$NO_2^-$	90.91	0.013	90.91	0.029	0.00014	0.00018	1.2

Tabla 17. Coeficientes de selectividad para algunos cationes

Interferente	$[NO_3^-]$ mg L <sup>-1</sup>	Abs $[NO_3^-]$	[Interferente] mg L <sup>-1</sup>	Abs $[NO_3^-]$ + [Interferente]	$k_{NO_3^-}$	$k_{Interferente}$	Coefficiente de selectividad $K_{NO_3^-/Interferente}$
<i>Al</i> <sup>+3</sup>	90.91	0.013	22.22	0.013	1.43E-04	7.81E-20	0.0
<i>Ba</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.01	22.22	0.009	1.10E-04	-4.50E-05	-0.4
<i>Ca</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.01	22.22	0.009	1.10E-04	-4.50E-05	-0.4
<i>Cd</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.011	22.22	0.011	1.21E-04	0.00E+00	0.0
<i>Cu</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.01	22.22	0.009	1.10E-04	-4.50E-05	-0.4
<i>Hg</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.011	22.22	0.01	1.21E-04	-4.50E-05	-0.4
<i>Mg</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.01	43.48	0.009	1.10E-04	-2.30E-05	-0.2
<i>Pb</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.009	43.48	0.01	9.90E-05	2.30E-05	0.2
<i>Sr</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.01	22.22	0.01	1.10E-04	0.00E+00	0.0
<i>Zn</i> <sup>+2</sup>	90.91	0.01		0.01	1.10E-04	0.00E+00	0.0

Se debe considerar que la mayor interferencia en la determinación de nitratos se puede presentar por un alto contenido de cloruros<sup>63</sup>, sin embargo para la presente investigación los cloruros no representaron una interferencia a considerar. Por otro lado según los resultados mostrados en la tabla 16, vemos que el nitrito representa una interferencia a considerar por el valor obtenido del coeficiente de selectividad de 1.2, indicando que el método sería más selectivo para el nitrito que para el nitrato. Dada este resultado se procedió a realizar una curva de calibración de la membrana a diferentes concentraciones de nitrito como se muestra en la tabla 18 y la Fig. 6, se obtuvo un coeficiente de correlación R<sup>2</sup> igual a 0.9992, una pendiente (b) de 0.0002 y un intercepto de -0.0008. Así mismo se muestra los espectros de absorción para diferentes concentraciones de nitrito en la Fig. 7.

Tabla 18. Datos de absorbancia frente a la concentración de nitrito

$[\text{NO}_2^-]$ mg L <sup>-1</sup>	Absorbancia
90.9091	0.018
166.6667	0.033
230.7692	0.047
285.7143	0.057
333.3333	0.068

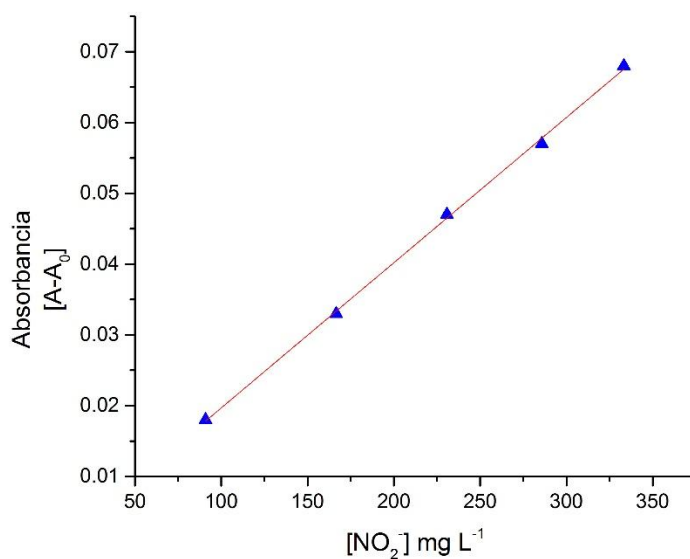


Figura 7. Regresión lineal para la Absorbancia de la membrana frente a la concentración de nitrito

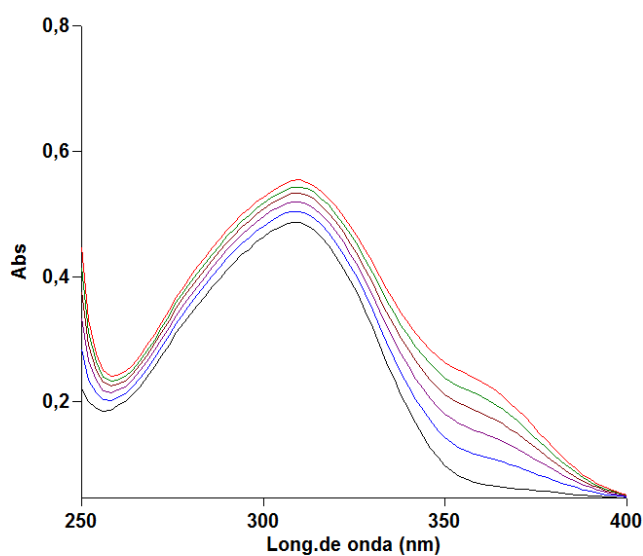


Figura 8. Espectro de absorción a diferentes concentraciones de nitrito.

Los resultados mostrados indican que la membrana es factible de usar tanto para nitratos y nitritos, sin embargo no es el objetivo de la presente investigación por lo que se buscó una alternativa que atenué la interferencia de nitritos. La interferencia de nitrito puede ser eliminada por acomplejación del nitrito con sulfanilamida en 0.01N de  $H_2SO_4$ , esto a concentraciones mayores de  $45 \text{ mg L}^{-1}$  de  $NO_3^-$  <sup>69</sup>. Por lo que se realizó un ensayo con sulfanilamida para lo cual se hizo reaccionar  $1.98 \times 10^{-7}$  moles de  $NO_2^-$  con moles de sulfanilamida según la tabla 19.

Tabla 19. Eliminación de nitritos con sulfanilamida

Moles de $NO_2^-$	Moles de sulfanilamida	Señal de $NO_2^-$	Señal con sulfanilamida
$1.98 \times 10^{-7}$	$4.66 \times 10^{-9}$	0.017	0.019
$1.98 \times 10^{-7}$	$9.32 \times 10^{-9}$	0.017	0.023
$1.98 \times 10^{-7}$	$1.86 \times 10^{-8}$	0.017	No se obtuvo una señal

Al aumentar la cantidad de sulfanilamida la señal de la membrana desapareció, y mientras que a menos moles de sulfanilamida se acercaba más a la señal de nitritos sin embargo no eliminaba la interferencia, por lo tanto no se logró eliminar la interferencia con sulfanilamida.

Se pretendió también eliminar la interferencia de nitritos con Ácido sulfanílico, ácido sulfámico y ácido clorhídrico, todos estos eliminaban a ambos analitos, tanto nitritos como nitratos, es así que no se logró eliminar la interferencia de nitritos con estos compuestos.

## 2.7. Regeneración de la membrana

Para evaluar la regeneración de la membrana se experimentó con soluciones de sulfato de sodio 0.01M, cloruro de calcio 0.01M y cloruro de sodio 0.01M, para tal efecto se dejó la membrana con la solución regeneradora por 12 horas aprox.

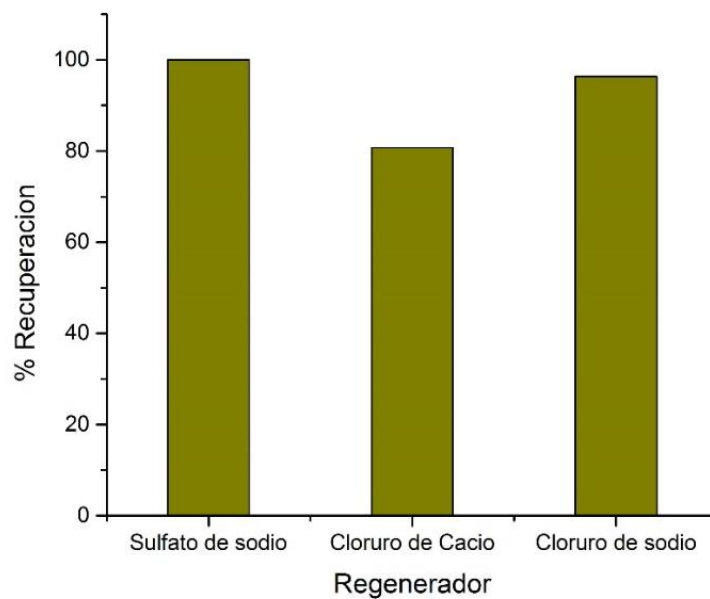


Figura 9. % de recuperación con diferentes regeneradores

El porcentaje de recuperación de la membrana se muestra en la Fig. 8, donde se ve que el sulfato de Sodio y cloruro de sodio tienen un alto porcentaje de recuperación, mientras que el cloruro de calcio no logra una recuperación adecuada.

## 2.8. Tiempo de vida de la membrana

El tiempo de vida de la membrana dependerá mucho de la continuidad en el uso de la membrana y su almacenamiento. Durante la evaluación espectrofotométrica no se presentaron problemas en la respuesta de la membrana teniendo en cuenta un adecuado almacenamiento preferiblemente en una solución de cloruro de sodio y fuera del alcance de la luz. A los 15 días de experimentación se vio una disminución en la señal de la membrana de 2,4,5-trifenilimidazol en un 10.01 %, a 35 días de experimentación la disminución de la señal de la membrana de 2,4,5-trifenilimidazol fue de 26.27% tal como se muestra en la tabla 20. Extrapolando los datos de la tabla 19 se calcula que la membrana tendría un tiempo de vida máximo alrededor de los 3 meses. La Fig. 9 muestra una regresión del tiempo de vida de la membrana de 2,4,5-trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo.

Tabla 20. Disminución en la señal de la membrana de 2,4,5-trifenilimidazol

Días	Señal de la membrana (Abs)	Disminución en la señal de la membrana (%)
0	0.609	
15	0.548	10.01
35	0.449	26.27

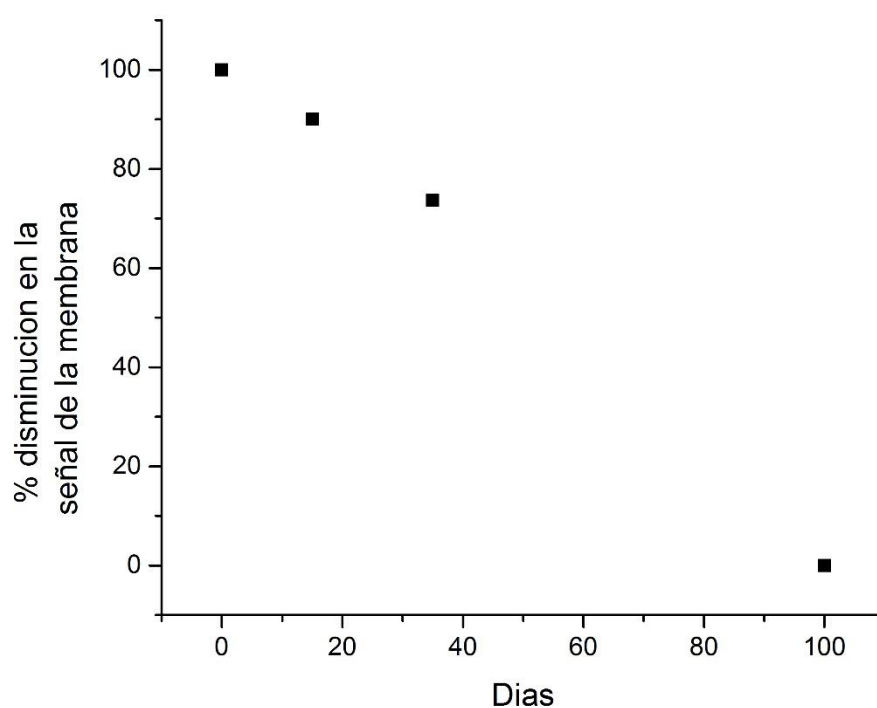


Figura 10. Regresión del tiempo de vida de la membrana de 2,4,5-trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo.

### 3. Diseño y construcción del sensor óptico.

#### 3.1. Sistema de detección óptica

El sistema está compuesto por dos partes principales: la fuente de luz, la cual varía según la longitud de onda y un receptor que capta un determinado rango de longitud de onda, la Fig. 9 muestra el circuito utilizado para el sistema de detección óptica con un LDR.

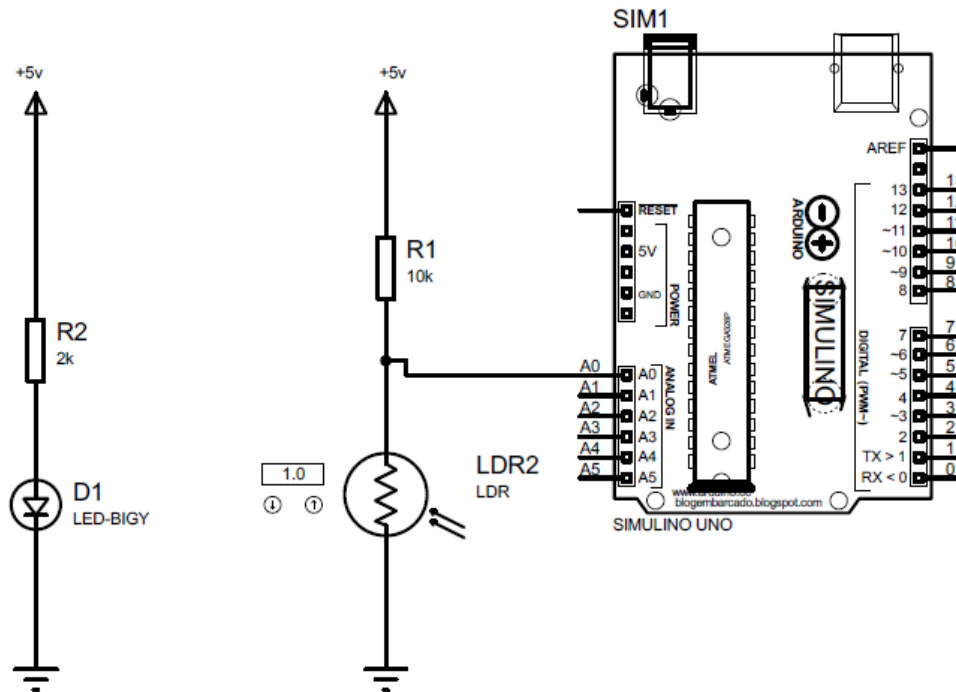


Figura 11. Circuito del Sistema de detección óptica con un LDR

El sistema cuenta además de otro componente, una placa Arduino Uno-R3 en donde la señal es recibida y procesada por un microcontrolador atmega328 el cual fue programado mediante la placa. En el sensor la intensidad de la luz es recibida y convertida a voltaje por el fotodiodo receptor, luego esta es procesada y calculada por el microcontrolador ATmega 328. La Fig.10 muestra la placa Arduino Uno-R3. Otras características se muestran en el anexo 01



Figura 12. Placa Arduino Uno-R3.

### 3.2. Fuente de luz y receptor

Se buscó en el mercado local e internacional los componentes primordiales para el sensor óptico como son la fuente de luz y el receptor, en ambos casos se dispuso de ciertas características técnicas, tales como el bajo costo y el tiempo de entrega, la tabla 19 y la tabla 21 muestran los dispositivos encontrados.

Tabla 21. Fuentes de Luz

Fuente de Luz	Longitud de onda	Tiempo de entrega	Costo unitario S/.
Diodo LED UV	400 nm	inmediato	10.00
Diodo LED UV	310 nm	60 días	150.00

Tabla 22. Receptores

Receptor	Rango de detección	Tiempo de entrega	Consto unitario S/.
LDR (Light Dependent Resistor)	390 – 800 nm	Inmediato	1.00
Módulo UVM-30A UV	220 – 370 nm	Inmediato	50.00

La Fig. 11 muestra la longitud de onda del Diodo LED UV de 400 nm. No se logró realizar las pruebas a 310 nm dado que al soldar el LED y acoplarlo en el sistema de detección sufrió una fractura deteriorándose el cobre del LED.

En cuanto a los receptores, el LDR es fácilmente adquirido en cualquier tienda electrónica, y el módulo UVM-30A-UV se consiguió en mercado libre, el módulo UVM-30A-UV cuenta con un fotodiodo GUVA-S10GD, el rango de detección del mismo es de 220 a 370 nm.

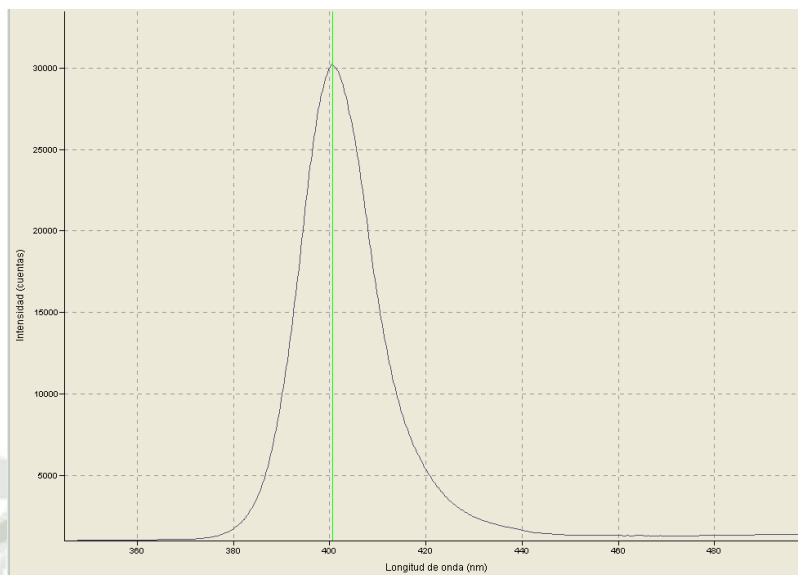


Figura 13. Longitud de onda del diodo LED UV de 400 nm

### 3.3. Cuerpo del sensor óptico

El cuerpo del sensor óptico se construyó en base a poliamida, un material de bajo peso específico con gran resistencia a los aceites, grasas, disolventes, productos químicos, y a la corrosión además de una alta resistencia a la deformación térmica. Las dimensiones del cuerpo se muestran en la figura 12.

La inyección de luz se efectúa en forma directa hacia la membrana adherida a una ventana de cuarzo, garantizando de esta manera la interacción membrana-analito, el fotodiodo receptor se encuentra en frente del sistema de inyección de luz, como se muestra en la Fig. 13. Una fotografía del montaje utilizado para la detección de nitratos en el sensor óptico se muestra en la Fig. 14



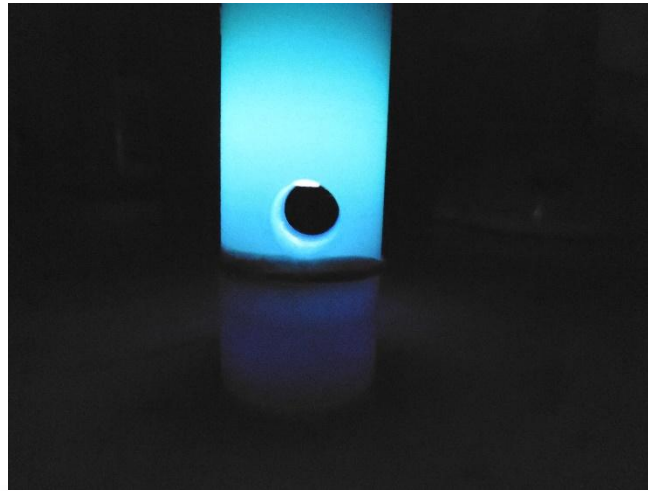


Figura 15. Paso de la Luz

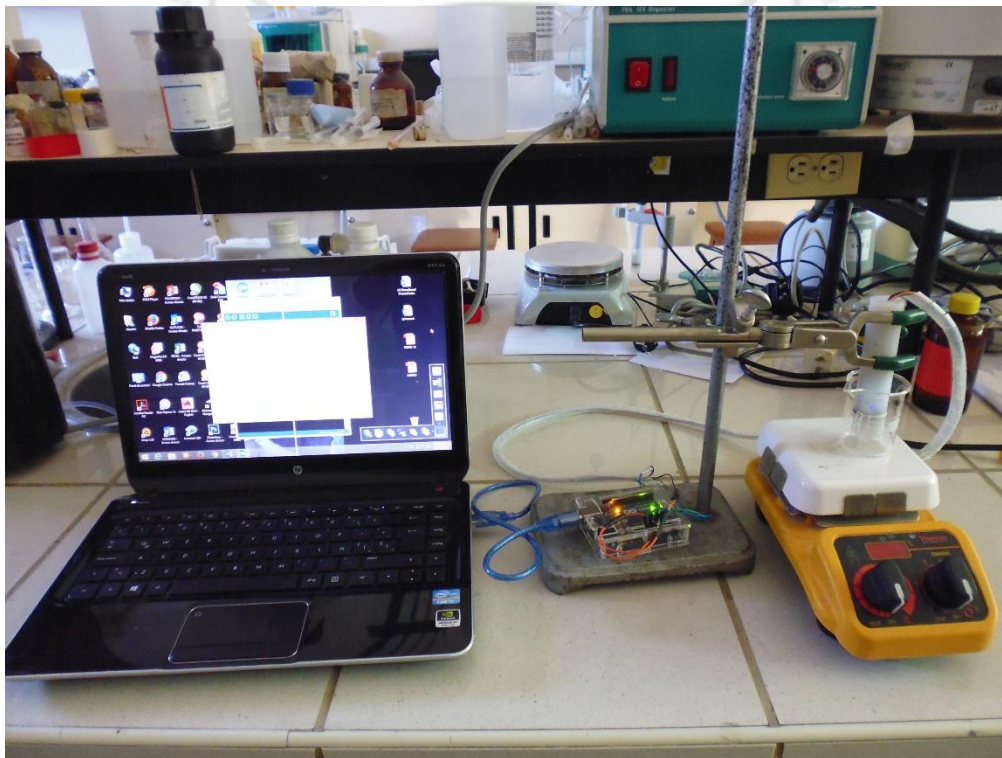


Figura 16. Fotografía del montaje para la detección de nitratos en el sensor óptico

## CONCLUSIONES

1. Se logró elaborar una membrana inmovilizando 2,4,5-trifenilimidazol en acetato de polivinilo.
2. La membrana de 2,4,5-trifenilimidazol inmovilizado en acetato de polivinilo es capaz de detectar nitratos en muestras de agua. presentando una pendiente de  $1.1977E-04$ , un intercepto de  $0.00125$  y un  $R^2 = 0.9996$ . Se obtuvo un límite de detección de  $12.6321 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  y un límite de cuantificación de  $33.9896 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$  los cuales se encuentran por debajo de los límites de calidad para la provisión de agua potable que según la EPA es de  $50 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{NO}_3^-$ .
3. Se demostró que la membrana es Selectiva para nitratos frente a varios aniones y cationes, sin embargo presento una fuerte interferencia por parte del anión  $\text{NO}_2^-$ .
4. Se diseñó y construyó un prototipo de sensor óptico en base de diodos.

## SUGERENCIAS

1. Se sugiere investigar más en el campo de los sensores ópticos dado que es una técnica sencilla, fiable y fácil de aplicar.
2. La fuente de luz y el detector son las piezas fundamentales para un sensor óptico, por lo que se sugiere tener la seguridad de contar con dichas piezas.
3. Así mismo para la fabricación de las membranas se sugiere trabajar con otras matrices poliméricas tales como siliconas.
4. Dado que el nitrito resulto como una interferencia fuerte, se sugiere investigar las condiciones de la aplicación de la membrana para el análisis de ambos aniones nitratos y nitritos.



**BIBLIOGRAFIA**

1. Vitousek, P. M.; Aber, J. D.; Howarth, R. W.; Likens, G. E.; Matson, P. A.; Schindler, D. W.; Schlesinger, W. H.; Tilman, D. G., HUMAN ALTERATION OF THE GLOBAL NITROGEN CYCLE: SOURCES AND CONSEQUENCES. *Ecological Applications* **1997**, 7 (3), 737-750.
2. Matson, P. A.; Parton, W. J.; Power, A. G.; Swift, M. J., Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. *Science* **1997**, 277 (5325), 504-509.
3. Camargo, J. A.; Alonso, A., *Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático*. 2007; Vol. 16.
4. Camargo, J. A.; Alonso, A.; Salamanca, A., Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere* **2005**, 58 (9), 1255-1267.
5. Camargo, J. A.; Alonso, Á., Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International* **2006**, 32 (6), 831-849.
6. Avery, A. A., Infantile methemoglobinemia: reexamining the role of drinking water nitrates. *Environmental Health Perspectives* **1999**, 107 (7), 583-586.
7. Fewtrell, L., Drinking-Water Nitrate, Methemoglobinemia, and Global Burden of Disease: A Discussion. *Environmental Health Perspectives* **2004**, 112 (14), 1371-1374.
8. Knobeloch, L.; Salna, B.; Hogan, A.; Postle, J.; Anderson, H., Blue babies and nitrate-contaminated well water. *Environmental Health Perspectives* **2000**, 108 (7), 675-678.
9. Sadeq, M.; Moe, C. L.; Attarassi, B.; Cherkaoui, I.; ElAouad, R.; Idrissi, L., Drinking water nitrate and prevalence of methemoglobinemia among infants and children aged 1-7 years in Moroccan areas. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* **2008**, 211 (5-6), 546-554.
10. Bruning-Fann, C. S.; Kaneene, J. B., The effects of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds on human health: a review. *Vet Hum Toxicol* **1993**, 35 (6), 521-538.
11. Inoue-Choi, M.; Jones, R. R.; Anderson, K. E.; Cantor, K. P.; Cerhan, J. R.; Krasner, S.; Robien, K.; Weyer, P. J.; Ward, M. H., Nitrate and nitrite ingestion and risk

of ovarian cancer among postmenopausal women in Iowa. *International Journal of Cancer* **2015**, *137* (1), 173-182.

12. van Loon, A. J.; Botterweck, A. A.; Goldbohm, R. A.; Brants, H. A.; van Klaveren, J. D.; van den Brandt, P. A., Intake of nitrate and nitrite and the risk of gastric cancer: a prospective cohort study. *British Journal of Cancer* **1998**, *78* (1), 129-135.

13. Inoue-Choi, M.; Sinha, R.; Gierach, G. L.; Ward, M. H., Abstract 1883: Dietary nitrate and nitrite, micronutrients, and postmenopausal breast cancer risk in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Cancer Research* **2015**, *75* (15 Supplement), 1883.

14. O'Toole, M.; Diamond, D., Absorbance Based Light Emitting Diode Optical Sensors and Sensing Devices. *Sensors* **2008**, *8* (4), 2453.

15. Bui, D. A.; Hauser, P. C., Analytical devices based on light-emitting diodes – a review of the state-of-the-art. *Analytica Chimica Acta* **2015**, *853*, 46-58.

16. Bisson, A. P.; Lynch, V. M.; Monahan, M.-K. C.; Anslyn, E. V., Recognition of Anions through NH $\pi$  Hydrogen Bonds in a Bicyclic Cyclophane—Selectivity for Nitrate. *Angewandte Chemie International Edition in English* **1997**, *36* (21), 2340-2342.

17. Herges, R.; Dikmans, A.; Jana, U.; Köhler, F.; Jones, Peter G.; Dix, I.; Fricke, T.; König, B., Design of a Neutral Macrocyclic Ionophore: Synthesis and Binding Properties for Nitrate and Bromide Anions. *European Journal of Organic Chemistry* **2002**, *2002* (17), 3004-3014.

18. Işıklan, M.; Saeed, M. A.; Pramanik, A.; Wong, B. M.; Fronczek, F. R.; Hossain, M. A., A C<sub>3</sub> Symmetric Nitrate Complex with a Thiophene-Based Tripodal Receptor. *Crystal Growth & Design* **2011**, *11* (4), 959-963.

19. Bondy, C. R.; Gale, P. A.; Loeb, S. J., Metal–Organic Anion Receptors: Arranging Urea Hydrogen-Bond Donors to Encapsulate Sulfate Ions. *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126* (16), 5030-5031.

20. Hou, S.; Liu, Q.-K.; Ma, J.-P.; Dong, Y.-B., Cd(II)-Coordination Framework: Synthesis, Anion-Induced Structural Transformation, Anion-Responsive Luminescence, and Anion Separation. *Inorganic Chemistry* **2013**, *52* (6), 3225-3235.

21. Niikura, K.; P. Bisson, A.; V. Anslyn, E., Optical sensing of inorganic anions employing a synthetic receptor and ionic colorimetric dyes. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* **1999**, (6), 1111-1114.

22. Arunachalam, M.; Ghosh, P., Bistripodand Amide Host for Compartmental Recognition of Multiple Oxyanions. *Organic Letters* **2010**, *12* (2), 328-331.

23. Alizadeh, N.; Nabavi, S., Synthesis and characterization of novel tetra cyclo[4]pyrrole ether as an anion recognition element for nanocomposite nitrate ion selective carbon paste electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2014**, *205*, 127-135.
24. Yang, Y.; Chen, S.; Ni, X.-L., Anion Recognition Triggered Nanoribbon-Like Self-Assembly: A Fluorescent Chemosensor for Nitrate in Acidic Aqueous Solution and Living Cells. *Analytical Chemistry* **2015**, *87* (14), 7461-7466.
25. Chaisriratanakul, W.; Bunjongpru, W.; Jeamsaksiri, W.; Srisuwan, A.; Porntheeraphat, S.; Chaowicharat, E.; Hruanun, C.; Poyai, A.; Phomyothin, D.; Nukeaw, J., Durable nitrate sensor by surface modification. *Surface and Coatings Technology*.
26. Capitán-Vallvey, L. F.; Arroyo-Guerrero, E.; Fernández-Ramos, M. D.; Santoyo-Gonzalez, F., Disposable Receptor-Based Optical Sensor for Nitrate. *Analytical Chemistry* **2005**, *77* (14), 4459-4466.
27. Fridman, N.; Kaftory, M.; Eichen, Y.; Speiser, S., Spectroscopy, photophysical and photochemical properties of bisimidazole derivatives. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2007**, *188* (1), 25-33.
28. White, E. H.; Harding, M. J. C., The Chemiluminescence of Lophine and Its Derivatives. *Journal of the American Chemical Society* **1964**, *86* (24), 5686-5687.
29. Fridman, N.; Kaftory, M.; Speiser, S., Structures and photophysics of lophine and double lophine derivatives. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2007**, *126* (1), 107-115.
30. Fridman, N.; Speiser, S.; Kaftory, M., Chromotropic Behavior of Lophine Nitro-Derivatives. *Crystal Growth & Design* **2006**, *6* (10), 2281-2288.
31. Camas-Anzueto, J. L.; Gómez-Valdéz, J. A.; Meza-Gordillo, R.; Pérez-Patricio, M.; Hernández de León, H. R.; León-Orozco, V., Sensitive layer based on Lophine and calcium hydroxide for detection of dissolved oxygen in water. *Measurement* **2015**, *68*, 280-285.
32. Kishikawa, N.; Ohyama, K.; Saiki, A.; Matsuo, A.; Ali, M. F. B.; Wada, M.; Nakashima, K.; Kuroda, N., A novel lophine-based fluorescence probe and its binding to human serum albumin. *Analytica Chimica Acta* **2013**, *780*, 1-6.
33. Yang, D.; Patel, B.; Delori, A.; Jones, W.; Duan, X., The Formation of Hydrogen-Bond Facilitated Salts with Tunable Optical Properties: An Experimental and

- Theoretical Study of 2,4,5-Triphenylimidazole. *Crystal Growth & Design* **2012**, *13*, 333-340.
34. Zheng, W.; He, X.; Chen, H.; Gao, Y.; Li, H., Colorimetric fluorescent cyanide chemodosimeter based on triphenylimidazole derivative. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **2014**, *124*, 97-101.
35. Camas-Anzueto, J. L.; Aguilar-Castillejos, A. E.; Castañón-González, J. H.; Lujpán-Hidalgo, M. C.; Hernández de León, H. R.; Mota Grajales, R., Fiber sensor based on Lophine sensitive layer for nitrate detection in drinking water. *Optics and Lasers in Engineering* **2014**, *60*, 38-43.
36. Mohr, G. J.; Wolfbeis, O. S., Effects of the polymer matrix on an optical nitrate sensor based on a polarity-sensitive dye. *Sensors and Actuators B: Chemical* **1996**, *37* (1-2), 103-109.
37. Pulgarín, G. A.; Naranjo, J. C. P., Determinación de Nitratos y amonio en muestras de suelo mediante el uso de electrodos selectivos. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín. Vol* **2005**, *58* (1), 2733-2740.2005.
38. Pedersen, L. L.; Dechesne, A.; Smets, B. F., A nitrate sensitive planar optode; performance and interferences. *Talanta* **2015**, *144*, 933-937.
39. Badea, M.; Amine, A.; Palleschi, G.; Moscone, D.; Volpe, G.; Curulli, A., New electrochemical sensors for detection of nitrites and nitrates. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2001**, *509* (1), 66-72.
40. Nuñez, L.; Cetó, X.; Pividori, M. I.; Zaroni, M. V. B.; del Valle, M., Development and application of an electronic tongue for detection and monitoring of nitrate, nitrite and ammonium levels in waters. *Microchemical Journal* **2013**, *110*, 273-279.
41. Pinto, P. C. A. G.; Lima, J. L. F. C.; Saraiva, M. L. M. F. d. S., Sequential injection analysis of nitrites and nitrates in human serum using nitrate reductase. *Clinica Chimica Acta* **2003**, *337* (1-2), 69-76.
42. Chetty, A. A.; Prasad, S., Flow injection analysis of nitrate and nitrite in commercial baby foods. *Food Chemistry* **2016**, *197, Part A*, 503-508.
43. Francis, C. W.; Malone, C. D., Nitrate Measurements Using a Specific Ion Electrode in Presence of Nitrite<sup>1</sup>. *Soil Science Society of America Journal* **1975**, *39*, 150-151.
44. Radziszewski, B. R., Untersuchungen über Hydrobenzamid, Amarin und Lophin. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1877**, *10*, 70-75.

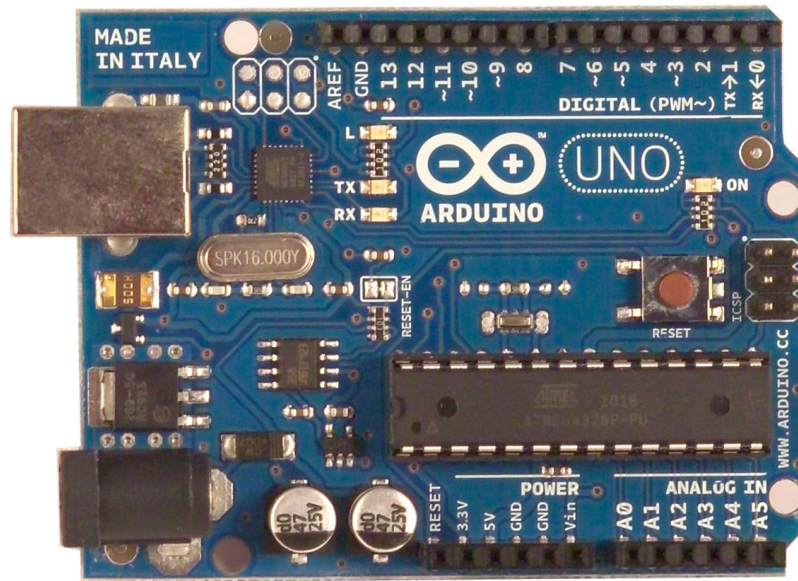
45. Yanover, D.; Kaftory, M., Lophine (2,4,5-triphenyl-1H-imidazole). *Acta Crystallographica Section E* **2009**, *65* (4), o711.
46. Gijzen, H., Mulder, A. , The nitrogen cycle out of balance. *Water* **2001**, *21*, 38–40.
47. Gupta, S. K.; Gupta, R. C.; Gupta, A. B.; Seth, A. K.; Bassin, J. K.; Gupta, A., Recurrent acute respiratory tract infections in areas with high nitrate concentrations in drinking water. *Environmental Health Perspectives* **2000**, *108* (4), 363-366.
48. Marle, L. G., G.M. , Microfluidic devices for environmental monitoring. . *Trends in Analytical Chemistry* **2005**, *24*, 795-802.
49. Diamond, D., Internet-Scale Sensing. . *Analytical Chemistry* **2004**, *76*, 279A-286A.
50. Holonyak Jr., N. B., S.F. , Coherent (visible) light emission from Ga(As<sub>1-x</sub>P<sub>x</sub>) junctions. *Applied Physics Letters* **1962**, *1*, 82-83., *1*, 82-83.
51. Taniyasu, Y. K., M.; Makimoto, T. , An aluminium nitride light-emitting diode with a wavelength of 210 nanometres. . *Nature* **2006**, *441*, 325-328.
52. Miguelañez, J. M., *ELECTRONICA BASICA PARA TMA*s. Jose Manuel Miguelanez.
53. Miguel, P. A. S., *Electrónica general: equipos electrónicos de consumo*. Paraninfo Cengage Learning: 2008.
54. Valcárcel, M.; de Castro, M. D. L., *Flow-Through (Bio)Chemical Sensors*. Elsevier Science: 1994.
55. Álvarez, N. B. Sensores de temperatura, pH y detergentes para control medioambiental con un prototipo que utiliza fibra óptica y luminiscencia con resolución de fase. Tesis Doctoral, Universidad Complutense de Madrid, 2005.
56. Mahendran, R. S.; Wang, L.; Machavaram, V. R.; Pandita, S. D.; Chen, R.; Kukureka, S. N.; Fernando, G. F., Fiber-optic sensor design for chemical process and environmental monitoring. *Optics and Lasers in Engineering* **2009**, *47* (10), 1069-1076.
57. Wolfbeis, O. S., Fiber-Optic Chemical Sensors and Biosensors. *Analytical Chemistry* **1992**, *74* (12), 2663-2678.
58. Müller, R.; Anders, N.; Titus, J.; Enke, D., Ultra-thin porous glass membranes—An innovative material for the immobilization of active species for optical chemosensors. *Talanta* **2013**, *107*, 255-262.
59. Jerónimo, P. C. A.; Araújo, A. N.; Conceição B.S.M. Montenegro, M., Optical sensors and biosensors based on sol-gel films. *Talanta* **2007**, *72* (1), 13-27.

60. Nivens, D. A.; Schiza, M. V.; Angel, S. M., Multilayer sol-gel membranes for optical sensing applications: single layer pH and dual layer CO<sub>2</sub> and NH<sub>3</sub> sensors. *Talanta* **2002**, 58 (3), 543-550.
61. Wolfbeis, O. S., Reisfeld, R., & Oehme, Sol-gels and chemical sensors, en Structure and Bonding. *Spinger-Verlag* **1996**, 85, 52-98.
62. Xu, W.; McDonough, R. C.; Langsdorf, B.; Demas, J. N.; DeGraff, B. A., Oxygen Sensors Based on Luminescence Quenching: Interactions of Metal Complexes with the Polymer Supports. *Analytical Chemistry* **1994**, 66 (23), 4133-4141.
63. Ma, Q.; Li, Y.; Su, X., Silica-nanobead-based sensors for analytical and bioanalytical applications. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2015**, 74, 130-145.
64. Adhikari, B.; Majumdar, S., Polymers in sensor applications. *Progress in Polymer Science* **2004**, 29 (7), 699-766.
65. Khodagholy, D.; Malliaras, G. G.; Owens, R. M., 8.05 - Polymer-Based Sensors A2 - Matyjaszewski, Krzysztof. In *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, Möller, M., Ed. Elsevier: Amsterdam, 2012; pp 101-128.
66. Moutsipoulou, A.; Andreopoulou, A. K.; Lainioti, G.; Bokias, G.; Voyiatzis, G.; Kallitsis, J. K., Quinoline-functionalized cross-linked poly(vinyl acetate) and poly(vinyl alcohol) nanoparticles as potential pH-responsive luminescent sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2015**, 211, 235-244.
67. Ulbricht, M., Advanced functional polymer membranes. *Polymer* **2006**, 47 (7), 2217-2262.
68. Ensafi, A. A.; Aboutalebi, A., A versatile stable cobalt optical sensor based on pyrogallol red immobilization on cellulose acetate film. *Sensors and Actuators B: Chemical* **2005**, 105 (2), 479-483.
69. Harvey, D., *Modern Analytical Chemistry*. McGraw-Hill: 1999.





# Arduino UNO



## Product Overview

The Arduino Uno is a microcontroller board based on the ATmega328 ([datasheet](#)). It has 14 digital input/output pins (of which 6 can be used as PWM outputs), 6 analog inputs, a 16 MHz crystal oscillator, a USB connection, a power jack, an ICSP header, and a reset button. It contains everything needed to support the microcontroller; simply connect it to a computer with a USB cable or power it with a AC-to-DC adapter or battery to get started. The Uno differs from all preceding boards in that it does not use the FTDI USB-to-serial driver chip. Instead, it features the Atmega8U2 programmed as a USB-to-serial converter.

"Uno" means one in Italian and is named to mark the upcoming release of Arduino 1.0. The Uno and version 1.0 will be the reference versions of Arduino, moving forward. The Uno is the latest in a series of USB Arduino boards, and the reference model for the Arduino platform; for a comparison with previous versions, see the [index of Arduino boards](#).

## Index

Technical  
Specifications

Page 2

How to use Arduino  
Programming Enviroment, Basic Tutorials

Page 6

Terms &  
Conditions

Page 7

Enviromental Policies  
half sqm of green via Impatto Zero®

Page 7



**radiospares**

**RADIONICS**



# Technical Specification

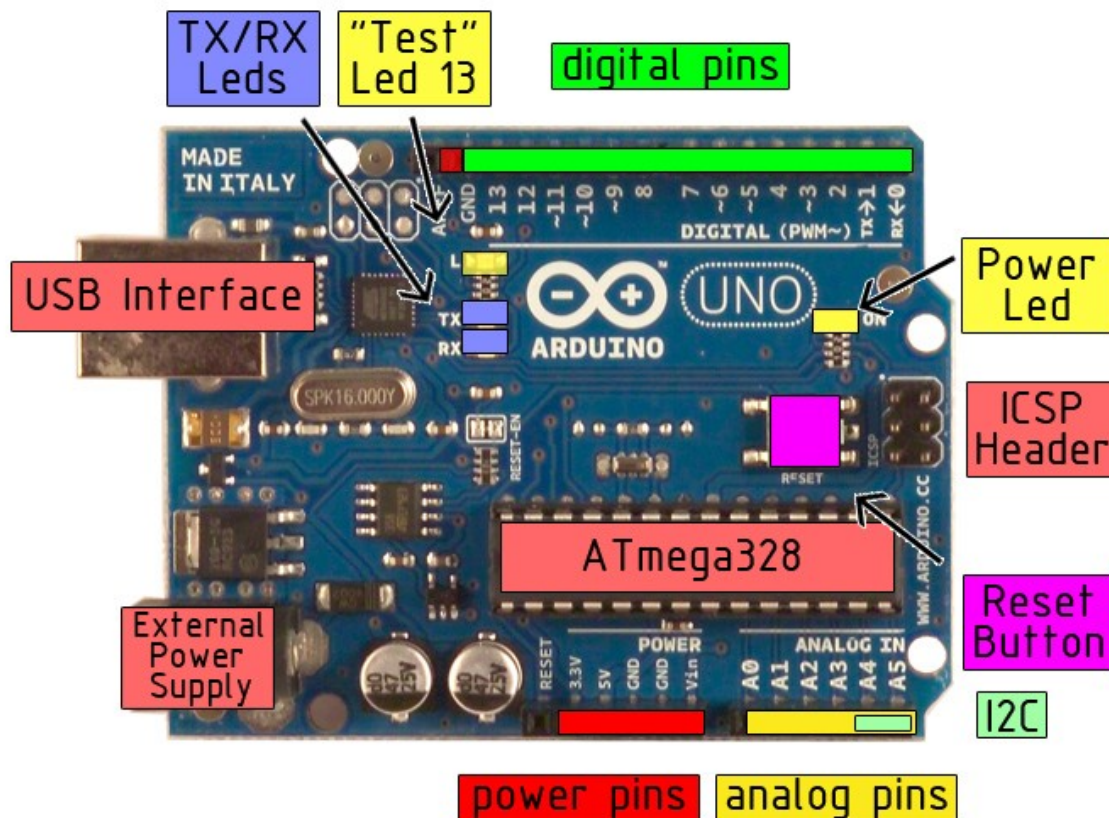


EAGLE files: [arduino-duemilanove-uno-design.zip](#) Schematic: [arduino-uno-schematic.pdf](#)

## Summary

Microcontroller	ATmega328
Operating Voltage	5V
Input Voltage (recommended)	7-12V
Input Voltage (limits)	6-20V
Digital I/O Pins	14 (of which 6 provide PWM output)
Analog Input Pins	6
DC Current per I/O Pin	40 mA
DC Current for 3.3V Pin	50 mA
Flash Memory	32 KB of which 0.5 KB used by bootloader
SRAM	2 KB
EEPROM	1 KB
Clock Speed	16 MHz

## the board



**radiospares**

**RADIONICS**



## Power

The Arduino Uno can be powered via the USB connection or with an external power supply. The power source is selected automatically.

External (non-USB) power can come either from an AC-to-DC adapter (wall-wart) or battery. The adapter can be connected by plugging a 2.1mm center-positive plug into the board's power jack. Leads from a battery can be inserted in the Gnd and Vin pin headers of the POWER connector.

The board can operate on an external supply of 6 to 20 volts. If supplied with less than 7V, however, the 5V pin may supply less than five volts and the board may be unstable. If using more than 12V, the voltage regulator may overheat and damage the board. The recommended range is 7 to 12 volts.

The power pins are as follows:

- **VIN.** The input voltage to the Arduino board when it's using an external power source (as opposed to 5 volts from the USB connection or other regulated power source). You can supply voltage through this pin, or, if supplying voltage via the power jack, access it through this pin.
- **5V.** The regulated power supply used to power the microcontroller and other components on the board. This can come either from VIN via an on-board regulator, or be supplied by USB or another regulated 5V supply.
- **3V3.** A 3.3 volt supply generated by the on-board regulator. Maximum current draw is 50 mA.
- **GND.** Ground pins.

## Memory

The Atmega328 has 32 KB of flash memory for storing code (of which 0,5 KB is used for the bootloader); It has also 2 KB of SRAM and 1 KB of EEPROM (which can be read and written with the [EEPROM library](#)).

## Input and Output

Each of the 14 digital pins on the Uno can be used as an input or output, using [pinMode\(\)](#), [digitalWrite\(\)](#), and [digitalRead\(\)](#) functions. They operate at 5 volts. Each pin can provide or receive a maximum of 40 mA and has an internal pull-up resistor (disconnected by default) of 20-50 kOhms. In addition, some pins have specialized functions:

- **Serial: 0 (RX) and 1 (TX).** Used to receive (RX) and transmit (TX) TTL serial data. These pins are connected to the corresponding pins of the ATmega8U2 USB-to-TTL Serial chip .
- **External Interrupts: 2 and 3.** These pins can be configured to trigger an interrupt on a low value, a rising or falling edge, or a change in value. See the [attachInterrupt\(\)](#) function for details.
- **PWM: 3, 5, 6, 9, 10, and 11.** Provide 8-bit PWM output with the [analogWrite\(\)](#) function.
- **SPI: 10 (SS), 11 (MOSI), 12 (MISO), 13 (SCK).** These pins support SPI communication, which, although provided by the underlying hardware, is not currently included in the Arduino language.
- **LED: 13.** There is a built-in LED connected to digital pin 13. When the pin is HIGH value, the LED is on, when the pin is LOW, it's off.



**RADIOSPARES**

**RADIONICS**



The Uno has 6 analog inputs, each of which provide 10 bits of resolution (i.e. 1024 different values). By default they measure from ground to 5 volts, though it is possible to change the upper end of their range using the AREF pin and the [analogReference\(\)](#) function. Additionally, some pins have specialized functionality:

- **I<sup>2</sup>C: 4 (SDA) and 5 (SCL).** Support I<sup>2</sup>C (TWI) communication using the [Wire library](#).

There are a couple of other pins on the board:

- **AREF.** Reference voltage for the analog inputs. Used with [analogReference\(\)](#).
- **Reset.** Bring this line LOW to reset the microcontroller. Typically used to add a reset button to shields which block the one on the board.

See also the [mapping between Arduino pins and Atmega328 ports](#).

## Communication

The Arduino Uno has a number of facilities for communicating with a computer, another Arduino, or other microcontrollers. The ATmega328 provides UART TTL (5V) serial communication, which is available on digital pins 0 (RX) and 1 (TX). An ATmega8U2 on the board channels this serial communication over USB and appears as a virtual com port to software on the computer. The '8U2 firmware uses the standard USB COM drivers, and no external driver is needed. However, on Windows, an \*.inf file is required..

The Arduino software includes a serial monitor which allows simple textual data to be sent to and from the Arduino board. The RX and TX LEDs on the board will flash when data is being transmitted via the USB-to-serial chip and USB connection to the computer (but not for serial communication on pins 0 and 1).

A [SoftwareSerial library](#) allows for serial communication on any of the Uno's digital pins.

The ATmega328 also support I2C (TWI) and SPI communication. The Arduino software includes a Wire library to simplify use of the I2C bus; see the [documentation](#) for details. To use the SPI communication, please see the ATmega328 datasheet.

## Programming

The Arduino Uno can be programmed with the Arduino software ([download](#)). Select "Arduino Uno w/ ATmega328" from the **Tools > Board** menu (according to the microcontroller on your board). For details, see the [reference](#) and [tutorials](#).

The ATmega328 on the Arduino Uno comes preburned with a [bootloader](#) that allows you to upload new code to it without the use of an external hardware programmer. It communicates using the original STK500 protocol ([reference](#), [C header files](#)).

You can also bypass the bootloader and program the microcontroller through the ICSP (In-Circuit Serial Programming) header; see [these instructions](#) for details.

The ATmega8U2 firmware source code is available . The ATmega8U2 is loaded with a DFU bootloader, which can be activated by connecting the solder jumper on the back of the board (near the map of Italy) and then resetting the 8U2. You can then use [Atmel's FLIP software](#) (Windows) or the [DFU programmer](#) (Mac OS X and Linux) to load a new firmware. Or you can use the ISP header with an external programmer (overwriting the DFU bootloader).

## Automatic (Software) Reset

Rather than requiring a physical press of the reset button before an upload, the Arduino Uno is designed in a way that allows it to be reset by software running on a connected computer. One of the hardware flow control lines (DTR) of the ATmega8U2 is connected to the reset line of the ATmega328 via a 100 nanofarad capacitor. When this line is asserted (taken low), the reset line drops long enough to reset the chip. The Arduino software uses this capability to allow you to upload code by simply pressing the upload button in the Arduino environment. This means that the bootloader can have a shorter timeout, as the lowering of DTR can be well-coordinated with the start of the upload.

This setup has other implications. When the Uno is connected to either a computer running Mac OS X or Linux, it resets each time a connection is made to it from software (via USB). For the following half-second or so, the bootloader is running on the Uno. While it is programmed to ignore malformed data (i.e. anything besides an upload of new code), it will intercept the first few bytes of data sent to the board after a connection is opened. If a sketch running on the board receives one-time configuration or other data when it first starts, make sure that the software with which it communicates waits a second after opening the connection and before sending this data.

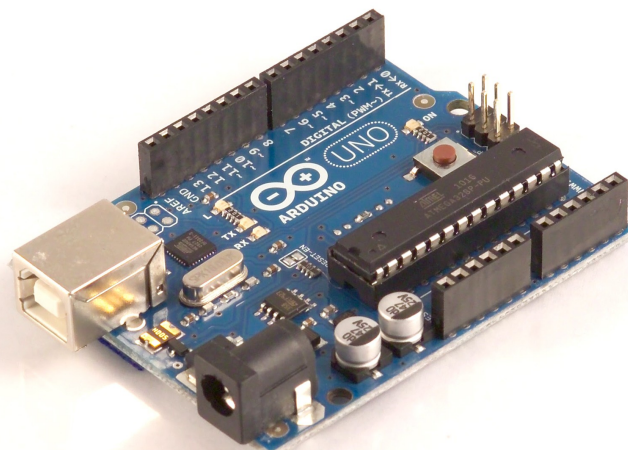
The Uno contains a trace that can be cut to disable the auto-reset. The pads on either side of the trace can be soldered together to re-enable it. It's labeled "RESET-EN". You may also be able to disable the auto-reset by connecting a 110 ohm resistor from 5V to the reset line; see [this forum thread](#) for details.

## USB Overcurrent Protection

The Arduino Uno has a resettable polyfuse that protects your computer's USB ports from shorts and overcurrent. Although most computers provide their own internal protection, the fuse provides an extra layer of protection. If more than 500 mA is applied to the USB port, the fuse will automatically break the connection until the short or overload is removed.

## Physical Characteristics

The maximum length and width of the Uno PCB are 2.7 and 2.1 inches respectively, with the USB connector and power jack extending beyond the former dimension. Three screw holes allow the board to be attached to a surface or case. Note that the distance between digital pins 7 and 8 is 160 mil (0.16"), not an even multiple of the 100 mil spacing of the other pins.



# How to use Arduino



Arduino can sense the environment by receiving input from a variety of sensors and can affect its surroundings by controlling lights, motors, and other actuators. The microcontroller on the board is programmed using the [Arduino programming language](#) (based on [Wiring](#)) and the Arduino development environment (based on [Processing](#)). Arduino projects can be stand-alone or they can communicate with software on running on a computer (e.g. Flash, Processing, MaxMSP).

Arduino is a cross-platform program. You'll have to follow different instructions for your personal OS. Check on the [Arduino site](#) for the latest instructions. <http://arduino.cc/en/Guide/HomePage>

## Linux Install

## Windows Install

## Mac Install

Once you have downloaded/unzipped the arduino IDE, you can Plug the Arduino to your PC via USB cable.

## Blink led

Now you're actually ready to "burn" your first program on the arduino board. To select "blink led", the physical translation of the well known programming "hello world", select

**File>Sketchbook>  
Arduino-0017>Examples>  
Digital>Blink**

Once you have your sketch you'll see something very close to the screenshot on the right.

In **Tools>Board** select

Now you have to go to **Tools>SerialPort** and select the right serial port, the one arduino is attached to.

```

Blink | Arduino 0017
File Edit Sketch Tools Help
Blink $
int ledPin = 13; // LED connected to digital pin 13

// The setup() method runs once, when the sketch starts

void setup() {
  // initialize the digital pin as an output:
  pinMode(ledPin, OUTPUT);
}

// the loop() method runs over and over again,
// as long as the Arduino has power

void loop()
{
  digitalWrite(ledPin, HIGH); // set the LED on
  delay(1000); // wait for a second
  digitalWrite(ledPin, LOW); // set the LED off
  delay(1000); // wait for a second
}
    
```



Done compiling.

Press Compile button  
(to check for errors)



Upload



TX RX Flashing



Blinking Led!



# Terms & Conditions



## 1. Warranties

1.1 The producer warrants that its products will conform to the Specifications. This warranty lasts for one (1) years from the date of the sale. The producer shall not be liable for any defects that are caused by neglect, misuse or mistreatment by the Customer, including improper installation or testing, or for any products that have been altered or modified in any way by a Customer. Moreover, The producer shall not be liable for any defects that result from Customer's design, specifications or instructions for such products. Testing and other quality control techniques are used to the extent the producer deems necessary.

1.2 If any products fail to conform to the warranty set forth above, the producer's sole liability shall be to replace such products. The producer's liability shall be limited to products that are determined by the producer not to conform to such warranty. If the producer elects to replace such products, the producer shall have a reasonable time to replacements. Replaced products shall be warranted for a new full warranty period.

1.3 EXCEPT AS SET FORTH ABOVE, PRODUCTS ARE PROVIDED "AS IS" AND "WITH ALL FAULTS." THE PRODUCER DISCLAIMS ALL OTHER WARRANTIES, EXPRESS OR IMPLIED, REGARDING PRODUCTS, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO, ANY IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE

1.4 Customer agrees that prior to using any systems that include the producer products, Customer will test such systems and the functionality of the products as used in such systems. The producer may provide technical, applications or design advice, quality characterization, reliability data or other services. Customer acknowledges and agrees that providing these services shall not expand or otherwise alter the producer's warranties, as set forth above, and no additional obligations or liabilities shall arise from the producer providing such services.

1.5 The Arduino™ products are not authorized for use in safety-critical applications where a failure of the product would reasonably be expected to cause severe personal injury or death. Safety-Critical Applications include, without limitation, life support devices and systems, equipment or systems for the operation of nuclear facilities and weapons systems. Arduino™ products are neither designed nor intended for use in military or aerospace applications or environments and for automotive applications or environment. Customer acknowledges and agrees that any such use of Arduino™ products which is solely at the Customer's risk, and that Customer is solely responsible for compliance with all legal and regulatory requirements in connection with such use.

1.6 Customer acknowledges and agrees that it is solely responsible for compliance with all legal, regulatory and safety-related requirements concerning its products and any use of Arduino™ products in Customer's applications, notwithstanding any applications-related information or support that may be provided by the producer.

## 2. Indemnification

The Customer acknowledges and agrees to defend, indemnify and hold harmless the producer from and against any and all third-party losses, damages, liabilities and expenses it incurs to the extent directly caused by: (i) an actual breach by a Customer of the representation and warranties made under this terms and conditions or (ii) the gross negligence or willful misconduct by the Customer.

## 3. Consequential Damages Waiver

In no event the producer shall be liable to the Customer or any third parties for any special, collateral, indirect, punitive, incidental, consequential or exemplary damages in connection with or arising out of the products provided hereunder, regardless of whether the producer has been advised of the possibility of such damages. This section will survive the termination of the warranty period.

## 4. Changes to specifications

The producer may make changes to specifications and product descriptions at any time, without notice. The Customer must not rely on the absence or characteristics of any features or instructions marked "reserved" or "undefined." The producer reserves these for future definition and shall have no responsibility whatsoever for conflicts or incompatibilities arising from future changes to them. The product information on the Web Site or Materials is subject to change without notice. Do not finalize a design with this information.



## Environmental Policies



The producer of Arduino™ has joined the Impatto Zero® policy of LifeGate.it. For each Arduino board produced is created / looked after half squared Km of Costa Rica's forest's.



**radiospares**

**RADIONICS**

