



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



Instituto Tecnológico de La Laguna

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
"Sistemas Analíticos Integrados para el Monitoreo de Metales Pesados"

POR

M.C. Karla Victoria Guevara Amatón

T E S I S

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS EN INGENIERÍA ELÉCTRICA

DIRECTOR DE TESIS

Francisco Valdés Perezgasga

CODIRECTOR DE TESIS

Héctor Aurelio Moreno Casillas

ISSN: 0188-9060



RIITEC: 03-TDCIE - 2019

Torreón, Coahuila. México

Diciembre 2019



"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

Torreón, Coah., 09/Diciembre/2019
Dependencia: DEPI/CPCIE
Oficio: DEPI/CPCIE/028/2019
Asunto: Autorización de impresión
de tesis.

M.C. Karla Victoria Guevara Amaton
CANDIDATA AL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA ELÉCTRICA.
PRESENTE

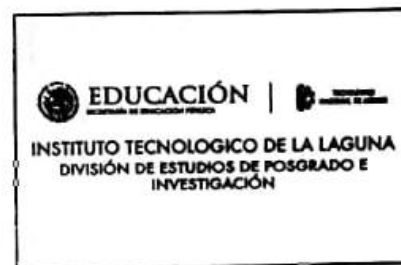
Después de haber sometido a revisión su trabajo de tesis titulado:

"Sistemas Analíticos Integrados para el Monitoreo de Metales Pesados"

Habiendo cumplido con todas las indicaciones que el jurado revisor de tesis hizo, se le comunica que se le concede la autorización con número de registro **RIITEC: (03)-TDCIE-2019**, para que proceda a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE
EDUCACIÓN TECNOLÓGICA FUENTE DE INNOVACIÓN

DR. JOSÉ IRVING HERNÁNDEZ JACQUEZ
Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación
del Instituto Tecnológico de la Laguna





"2019, Año del Caudillo del Sur, Emiliano Zapata"

Torreón, Coah., 06/Diciembre/2019

DR. JOSÉ IRVING HERNÁNDEZ JACQUEZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

Por medio de la presente, hacemos de su conocimiento que después de haber sometido a revisión el trabajo de tesis titulado:

"Sistemas Analíticos Integrados para el Monitoreo de Metales Pesados"

Desarrollado por el **C. Karla Victoria Guevara Amaton**, con número de control **D1513003** y habiendo cumplido con todas las correcciones que se le indicaron, estamos de acuerdo que se le conceda la autorización de la fecha de examen de grado para que proceda a la impresión de la misma.

ATENTAMENTE

EDUCACIÓN TECNOLÓGICA FUENTE DE INNOVACIÓN

Dr. Francisco Valdés Perezgasga
Asesor/Director de Tesis

Dr. Héctor Aurelio Moreno Casillas
Coasesor

Dr. Francisco Gerardo Flores García
Comité Tutorial

Dr. José Irving Hernández Jacquez
Comité Tutorial

Dr. Alfredo Villalobos Jauregui
Comité Tutorial Externo



AGRADECIMIENTOS

Gracias a la vida por mi familia y por permitirme culminar este proyecto, porque cada día me demuestra lo hermosa y justa que puede llegar a ser.

Mi agradecimiento a mis padres por su amor y por haberme forjado como la persona que soy; mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Gracias papá y mamá.

Gracias al doctor Francisco Valdés por haber creído en mí al integrarme a este proyecto; y a cumplir el desarrollo de esta tesis.

Al Doctor Julián que por sus muestras de apoyo, y su disposición para resolver cualquier duda que le haya podido plantear, su conocimiento de química analítica fue esencial en alcanzar esta meta, muchas gracias.

Al Doctor Héctor Moreno por estar siempre ahí durante el desarrollo de este trabajo

Mi agradecimiento al Doctor Pedro Crouceiro, que ha mostrado siempre su interés por el desarrollo de este proyecto.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas, amigos y compañeros, que de un modo u otro han mostrado su interés, cariño, apoyo y en muchas ocasiones paciencia, durante estos años de trabajo. Gracias a todos ellos por contribuir a que esta tesis llegue a buen fin.

Y finalmente agradezco al CONACyT por su apoyo otorgado mediante la beca, a la empresa Met-Mex Peñoles quien sustentó económicamente este proyecto, así como al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de la Laguna

INDICE

Contenido

CAPITULO I	9
1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1. Introducción.....	9
1.2. Planteamiento del problema	12
1.3. Objetivos	12
1.3.1. Objetivo General	12
1.3.2. Objetivos Específicos	12
1.4. Justificación.....	13
1.5. Metodología.....	14
1.6. Antecedentes	17
Cronograma	19
CAPITULO II	20
2. Marco Teórico	20
2.1 Metales Pesados.....	21
2.1.1 El Cobre	23
2.2 Determinación de metales	25
2.2.1 Métodos de análisis de cobre en agua.....	29
2.3 Sistemas de análisis	32
2.3.1 Sistema continuo	32
2.3.2 Sistema en Batch.....	33
2.4 Microanalizadores	34
2.4.1 Materiales para construcción de dispositivos microfluidicos.....	36
2.5 Efluentes de minas.....	37
CAPITULO III.....	40
3. METODOLOGÍA.....	40
3.1. Metodologías de análisis espectrofotométricas del cobre	40
3.2. Método de Referencia	41
3.2.1. Método del Nitroso R-Sal – Acetato de sodio	42
3.2.2. Métodos de la cuprina, neocuprina y batocuprina	43
3.3. Adaptación de Metodología Analítica	44

3.4.	Diseño y Fabricación de Plataformas microfluídicas	47
3.5	Integración de módulos	48
3.6	Optimización de parámetros.....	50
3.7	Instalación del MFIACu	51
CAPITULO IV		52
4.	RESULTADOS	52
4.1	Métodos de referencia.....	52
4.1.1	Método de Buffer de acetato-NRS.....	52
4.1.2	Métodos de la cuprina, neocuproína y batocuprina	60
4.2	Adaptación de metodología buffer de fosfatos de sodio	62
4.2.1	Optimización de las condiciones de formación del complejo	64
4.2.2	Interferencias.....	72
4.3	Fabricación de Módulo microfluídico	77
4.4	Integración de los módulos escala laboratorio	77
4.4.1	Módulo fluidoico	79
4.4.2	Módulo de sistema de detección óptica.....	79
4.4.3	Módulo de control electrónico.....	80
4.5	Pruebas con el prototipo industrial en el laboratorio	82
4.5.1	Caracterización de parámetros hidrodinámicos y puesta a punto.....	83
4.5.2	Inconvenientes en condiciones similares a la instalación.	87
4.6	Optimización MFIACu Versión 2.....	88
4.7	Instalación de MFIACu en la mina	97
CONCLUSIONES Y OBSERVACIONES		103
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		105

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Diagrama desarrollo del trabajo realizado.....	15
Figura 1.2 Diagrama por etapas del desarrollo del MFIACu.....	16
Figura 2.1. Diagrama general del análisis por inyección de flujo.....	32
Figura 2.2 Diagrama de solubilidad de Hidróxidos metálicos	39
Figura 3.1 Diagrama del proceso de fabricación de plataformas en LTCC	47
Figura 3.2 Diagrama del proceso d fabricación de plataformas en COC.....	48
Figura 3.3 Estructura del sistema de inyección de flujo.	50
Figura 4.1 Blanco y patrones de cobre a diferentes concentraciones	52
Figura 4.2 Espectros en discontinuo a distintas concentraciones	53
Figura 4.3 Ajuste lineal y coeficiente de correlación	53
Figura 4.4 Influencia del pH sobre la absorbancia	54
Figura 4.5 Variación de Absorbancia vs Concentración porcentual del Nitroso R-Sal.....	54
Figura 4.6 Medida de absorbancia para dos caudales 350 y 750 μ L/min.....	55
Figura 4.7 valores de Absorbancia VS volúmenes de inyección.	56
Figura 4.8 Recta de calibración buffer acetato de sodio/ ácido acético	57
Figura 4.9 Curvas de calibración por triplicado	57
Figura 4.10 recta de calibración con 15uL de ácido nítrico	58
Figura 4.11. Curva de calibración por triplicado sin agregar ácido nítrico	59
Figura 4.12 Curva de calibración de soluciones sin agregar ácido nítrico	59
Figura 4.13 Mezcla de Curpoína con muestra real	60
Figura 4.14 Curproína con estándares de cobre.....	61
Figura 4.15 curvas y recta de calibración con Neocuproína.....	61
Figura 4.16 curvas de calibración por triplicado con Batocuproína	62
Figura 4.17 Espectro del blanco: Buffer- NRS y complejo Cu(II)-NRS	63
Figura 4.18 Espectro del buffer fosfatos de potasio	63
Figura 4.19 Espectro de buffer de Fosfatos de Sodio	64
Figura 4.20 Efecto del pH sobre la absorbancia del complejo Cu(II)-NRS.	65
Figura 4.21 Variación de la concentración del buffer de fosfatos de Sodio	66
Figura 4.22 Absorbancia vs volumen de inyección para un buffer de Fosfatos de Sodio	67
Figura 4.23 rectas de calibración con los diferentes volúmenes de inyección.....	68
Figura 4.24 Curva de calibración a diferentes concentraciones	69
Figura 4.25 Recta de calibración para un buffer de Fosfatos de Sodio.	70
Figura 4.26 Prueba de repetitividad	71
Figura 4.27 Monitoreo de 24h continuas buffer fosfatos a) 0.5M y b) 0.1M.....	71
Figura 4.28 Interferencia de diferentes concentraciones de Ca ²⁺	72
Figura 4.29 Absorbancia Vs concentración de 50ppm por interferente	74
Figura 4.30 Absorbancia Vs concentración de 500 ppm por interferente	74
Figura 4.31 Absorbancia Vs concentración de 5000ppm por interferente	75
Figura 4.32 Diseño del diagrama multicapa en COC y del dispositivo Microfluídico.....	77
Figura 4.33 Diagrama esquemático del Módulo.....	78
Figura 4.34 Esquema de generación de patrones de calibración in situ	79
Figura 4.35 Lector de dispositivos microfluidicos.....	80
Figura 4.36 Tarjeta principal, elaborada en el Instituto Tecnológico de la Laguna.	81
Figura 4.37 Microanalizador de cobre (MFIACu) construido de manera modular.....	82
Figura 4.38 Variación del volumen de inyección para un caudal constante	84

Figura 4.39 Variación del caudal para un volumen de inyección constante	84
Figura 4.40 Registro de la calibración del MFIACu	86
Figura 4.41 Recta de calibración obtenida para MFIACu	86
Figura 4.42 Problemas de generación de biomasa en el MFIACu	87
Figura 4.43. Configuración de filtros utilizados en el Módulo Fluídico	89
Figura 4.44 Calibración por multi-conmutación del MFIACu con válvula 2	91
Figura 4.45 Rectas de calibración utilizando secuencialmente la Válvula 1 y la Válvula 2 ..	92
Figura 4.46 Señal analítica, graficado en diferentes diagramas	95
Figura 4.47 Localización del MFIA V1 en la Mina	97
Figura 4.48 Registro de la variable Abs Micro conectado a la computadora	99
Figura 4.49 Recta de calibración obtenida para MFIACu V1 ,vía USB a una computadora .	99
Figura 4.50 Tubería de tygon tiempo promedio de uso con y sin el uso de biosida	101

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Clasificación general de métodos analíticos comunes	26
Tabla 2.2. Detección de metales pesados en soluciones acuosas.....	28
Tabla 2.3 Metodologías para la detección de cobre por métodos ópticos	30
Tabla 2.4. Diseños de dispositivos microfluidicos	35
Tabla 2.5. Metales pesados determinados por FIA y UV-Vis en microanalizadores.....	36
Tabla 3.1. Métodos para la determinación de cobre	41
Tabla 3.2. Resultado de análisis por Espectrometría de absorción atómica	46
Tabla 3.3. Tabla de cationes analizados como interferencia.....	46
Tabla 4.1. Valores de absorbancias para caudales de 350 y 750 $\mu\text{L}/\text{min}$	55
Tabla 4.2 Datos de desviación estándar, límite de cuantificación y detección.....	58
Tabla 4.3 Parámetros estadísticos de soluciones preparadas sin ácido nítrico.....	60
Tabla 4.4 Datos del límite de detección, cuantificación y desviación estándar.....	65
Tabla 4.5. Diseño de Experimentos 2^2	66
Tabla 4.6 Ecuaciones de la recta y linealidad de diferentes volúmenes.....	68
Tabla 4.7 Información estadística: Desviación estándar, LC y LQ, LD.....	70
Tabla 4.8 Absorbancias de las mezclas de Cu + diferentes concentraciones de Ca^{2+}	72
Tabla 4.9 Valores de absorbancia para cada interferente concentración de 50ppm	73
Tabla 4.10 Valores de absorbancia para cada interferente concentración de 500ppm	74
Tabla 4.11 Valores de absorbancia para cada interferente concentración de 5000ppm	75
Tabla 4.12 Elementos registradas por el MFIACu utilizando una computadora	83
Tabla 4.13 Parámetros de inyección de muestra, utilizando la Válvula 2 del MFIACu	85
Tabla 4.14 Algoritmo para obtener concentraciones decrecientes a partir de un stock.	85
Tabla 4.15 Estudio de vida de tubos de Tygon y parámetros hidrodinámicos	88
Tabla 4.16 Tiempos de funcionamiento de las válvulas	90
Tabla 4.17 Señales analíticas obtenidas en la calibración por multi-conmutación V0 (2) ...	91
Tabla 4.18 Comparación del tiempo de calibración para diferentes configuraciones	92
Tabla 4.19 Variables registradas por el MFIA V(2)	93
Tabla 4.20 Parámetros hidrodinámicos utilizados para controlar el funcionamiento	98
Tabla 4.21 Reducción del tiempo de limpieza y de inyección de muestra.....	101

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

La creciente demanda de información química, principalmente la concentración de especies químicas acompañadas por interferencias de otras especies, para monitorear y controlar los procesos de producción industrial ha promovido el desarrollo de instrumentación analítica portátil, robusta y de bajo costo, capaz de satisfacer estas necesidades[1]. La evolución y el desarrollo de metodologías analíticas revisten una gran importancia y cada día son más demandados. Por otra parte, la tecnología microelectrónica aporta un amplio abanico de soluciones para este fin.

La miniaturización de instrumentación analítica ha hecho avanzar el concepto de los microsistemas de análisis total (μ -TAS por sus siglas en inglés) que combina estructuras microfluídicas con componentes electrónicos. Este enfoque produce microanálisis que requieren un tamaño reducido de muestra y un menor consumo de reactivos, lo que minimiza el tiempo de análisis y los costos operativos y de mantenimiento [2]. Además, proporciona mediciones en tiempo real, portabilidad, automatización y autonomía que son indispensables para su uso fuera del laboratorio[3]. Un microsistema analítico contiene estructuras microfluídicas, microsensores y circuitos electrónicos para la adquisición de señales.

De esta forma, los dispositivos así desarrollados son capaces de realizar análisis reproducibles y frecuentes. Una combinación particularmente versátil es la que comprende técnicas y metodologías de análisis de inyección de flujo con detecciones basadas en espectrometría (es decir, técnicas colorimétricas) [4]. Hoy en día, no solo se necesita el desarrollo de sistemas de detección miniaturizados, sino también otros elementos clave para los micro analizadores, como el equipo requerido para el manejo de fluidos (bombas y válvulas) y toda la electrónica que controla el proceso analítico.

Los microanalizadores totales son una opción para el monitoreo de parámetros químicos debido a sus grandes ventajas. Entre estas ventajas destacan la gran relación superficie-volumen de muestra y reactivos, además de integrar operaciones analíticas, lo que reduce los costos de operación además que permiten la portabilidad de los dispositivos microfluídicos. Esto es importante para las pruebas *in situ*, obviando la necesidad de laboratorios centrales con instalaciones y personal especializado.

Los metales disueltos en soluciones acuosas pueden ser determinados por diferentes técnicas instrumentales, en las que destacan la colorimetría (óptica) y la electroquímica (potenciometría, amperometría, voltamperometría) [6]. Actualmente, la detección de metales pesados se realiza mediante técnicas de absorción atómica o espectrometría de masas inducidos con plasma en laboratorios centralizados y para ello los equipos de análisis son caros y voluminosos, deben ser manipulados por personal especializado. Adicionalmente estos dispositivos no son aptos para hacer medidas en tiempo real sobre el terreno.

La microfluídica puede considerarse una tecnología multidisciplinaria porque vincula o puede vincular varias ciencias y tecnologías, entre ellas la química, la bioquímica, la ingeniería, la física, la microtecnología, la nanotecnología y la biotecnología.

Algunos métodos analíticos para la identificación, detección y cuantificación de parámetros químicos son costosos, requieren mucho tiempo, requieren un alto consumo de muestras y reactivos, tienen altos costos de mantenimiento, precisan operadores altamente calificados y carecen de portabilidad [5].

El cobre es un metal que aparece en la naturaleza de forma nativa o más comúnmente acompañado de otros metales, en forma de mineral, estos son compuestos orgánicos con fórmula química definida. Existe una gran variedad de minerales en los que el cobre se encuentra presente, alrededor de 500, estos están en forma de sulfuros (calcopirita, calcosina, calcocita, covelita, calcopirita, bornita y enargita); de carbonatos (malaquita y azurita) y de óxidos (cuprita, tenorita, malaquita, azurita, crisocola y brocantita). A pesar de ser un elemento común no es muy abundante en la naturaleza, ocupando el lugar 25 de los 92 elementos naturales. El cobre es un metal que puede sedimentarse. La mayoría de sus compuestos se depositan y se enlazan tanto a los sedimentos en el agua como a las partículas del suelo. Los compuestos de cobre disueltos en agua forman la mayor amenaza para la salud humana y el medio ambiente

Frecuentemente las minas subterráneas sufren inundaciones. El agua se extrae mediante bombeo y es llevada hacia la superficie para poder trabajar en la explotación de la mina. Esta agua acarrea minerales disueltos que impide verterla directamente a un arroyo, río o lago. Es entonces necesario darle un tratamiento previo y un análisis que garantice que es inocua al liberarla al medio ambiente.

La mina La Parreña unidad Milpillitas ubicado en Sonora, se dedica a la extracción de mineral de cobre, por lo que tiene que asegurar que sus efluentes cumplan con lo establecido en la legislación ambiental. El agua que se bombea desde el interior tiene un pH bajo y compuestos de cobre disueltos. El agua se neutraliza, y es contenida en represas para sedimentar trazas de metales disueltos y evitar que sean descargadas a algún bien acuático natural. Actualmente, en el verano esta agua es empleada en el procesamiento del mineral.

Por la necesidad de medir en tiempo real las concentraciones de cobre en los efluentes de agua de la mina La Parreña para poder determinar el tratamiento, se propone desarrollar una metodología analítica que resulte en la instalación de un microanalizador de cobre que sea autónomo y que opere con bajo costo de mantenimiento. El microanalizador se instalará en la represa de control cinco. Donde se pretende monitorear la concentración de cobre en la descarga de agua de extracción de la mina.

El presente trabajo se basa en la técnica de detección colorimétrica, la cual implica el monitoreo de los productos coloreados formados como resultado de la reacción entre el analito de interés y el elemento de reconocimiento. El producto coloreado que se puede identificar a simple vista o el uso de un instrumento de detección óptico. La intensidad de su color es proporcional a la concentración del analito. Esta técnica está reconocida como una de las que tienen gran selectividad, sensibilidad y exactitud.

El proceso de monitoreo y análisis de elementos metálicos tiene un procedimiento, el cual implica la toma de muestra, su transporte, su preparación y el análisis en un laboratorio. Esto hace que el tiempo de análisis sea largo. Trae como consecuencia un mayor consumo de tiempo (off-line), originando que el control de la variable medida, basada en la información producida lleve un retraso considerable.

En la actualidad, ha sido necesario desarrollar sistemas de detección autónomos y miniaturizados que ofrezcan diferentes ventajas entre la que se encuentran la miniaturización en el campo de los sistemas analíticos, la evolución de los μ -TAS, las tendencias y sus aplicaciones (microfluídica, integración de etapas de pretratamiento, y sistemas de detección, entre otras) [8]. Esto posibilita realizar la medición *in-situ*, en tiempo real, de manera que pueda optimizar el control de la variable a analizar en el mismo lugar donde ocurre el fenómeno de interés.

1.2. Planteamiento del problema

En las minas durante el proceso de extracción de minerales, el agua de los subniveles es bombeada y llevada hacia la superficie para poder trabajar en la explotación de la mina. Esa agua lleva un tratamiento previo a la descargada en aguas o bienes nacionales. Esto implica su neutralización y floculación. En la mina La Parreña unidad Milpillitas del grupo Met-Mex Peñoles este proceso se realiza en cinco represas para recuperar por medio de sedimentación las trazas de metales disueltos, y evitar que estas trazas disueltas sean descargadas y contaminen un cuerpo de agua. Existen ciertos parámetros que de acuerdo a la legislación mexicana en materia ambiental los efluentes de agua hacia bienes naturales deben cumplir. Es indispensable monitorear continuamente, mediante análisis en un laboratorio, cada uno de los parámetros y concentraciones de cationes del efluente. También es necesario supervisar las cantidades adicionadas del floculante y neutralizante, ligadas de manera proporcional a la concentración de cada uno de los elementos. A nivel industrial estas operaciones repercuten directamente en los gastos de operación.

El problema del monitoreo continuo se resolverá al instalar un microanalizador de cobre para efluentes de agua de una mina de cobre.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Desarrollar e instalar un microanalizador para el monitoreo medioambiental de la concentración de cobre, en un sistema de flujo continuo, en agua de descarga proveniente de una mina.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Definir y Adaptar metodologías para la determinación de cobre en procesos de extracción de minerales y en efluentes de agua de mina.
- Desarrollar las etapas del proceso analítico en semi-continuo.
- Optimizar las características operacionales de los analizadores para los diferentes parámetros seleccionados.

- Evaluar estructuras microfluidicas desarrolladas en tecnología de polímeros, que permitan el acondicionamiento de las etapas (propulsión, inyección de la muestra, detección y obtención de resultados).
- Analizar los resultados obtenidos en laboratorio y evaluar metodología, tiempo de análisis y volumen de reactivos utilizados.
- Instalar y validar en campo el microanalizador para la determinación de cobre.
- Optimizar el microanalizador, que proporcione mediciones en tiempo real, sea automatizado y autónomo.
- Dos titulaciones de Licenciatura, un proyecto de investigación y una tesis
- Obtención del grado.

1.4. Justificación

La mayor parte del cobre del mundo se obtiene de los sulfuros minerales como la calcocita, covelita, calcopirita, bornita y enargita. Los minerales oxidados son la cuprita, tenorita, malaquita, azurita, crisocola y brocantita. El cobre es muy común, aparece naturalmente y se extiende a través del ambiente por medio de fenómenos naturales. El cobre es ampliamente utilizado, aplicado en industrias y en agricultura.

Una vez que el mineral de cobre es extraído este es triturado y transportado hacia la pila, la lixiviación en pilas se practica para la obtención del cobre. En estas operaciones, los minerales que contienen cobre principalmente la pirita, sulfuro de cobre (CuS), se amontona al aire libre y deja durante 40 a 60 días a la acción de un sistema de riego por goteo de una solución de ácido sulfúrico que junto con la lluvia y el aire oxida y disuelve al cobre. Bajo las pilas de material a lixiviar se instala previamente una membrana impermeable sobre la cual se dispone un sistema de tuberías que permiten recoger la solución de sulfato de cobre (CuSO₄) que es drenada e infiltrada a través del material. Estas contienen concentraciones de hasta 9 gL⁻¹. Los sulfuros de cobre también se solubilizaron debido a la presencia de iones férricos que actuaban como un agente oxidante [7]. En la etapa de extracción por solventes, por medio de extracción iónica con queroseno, se liberan impurezas de la solución proveniente de la lixiviación. Mediante el proceso de electro-obtención se recupera el cobre de una solución concentrada para producir cátodos de alta pureza de cobre (0.9999%).

La producción de cobre se ha incrementado en las últimas décadas y como consecuencia de esto las concentraciones de cobre en el ambiente se han elevado. El Cobre no se dispersa fácilmente en el ambiente y por eso se puede acumular en plantas y animales cuando está presente en suelos. El Cobre puede

dañar la actividad en el suelo, afectando negativamente a microorganismos y lombrices de tierra.

En el presente trabajo, se propone la instalación de un microanalizador de cobre en flujo continuo (MFIACu) en el que se adapta una metodología colorimétrica. Con este instrumento se pretende monitorear las concentraciones de cobre en la descarga de los efluentes de agua a bienes naturales. El proyecto se llevó a cabo en la mina La Parreña Unidad Milpillas de la empresa Met-Mex Peñoles S.A de C.V. en el estado de Sonora, en el Tecnológico Nacional de México/IT La Laguna (ITL) y en la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB).

1.5. Metodología

La metodología del trabajo se planteó una vez realizada la revisión bibliográfica. Se basa en la distribución de las principales actividades, partiendo de experimentos para la adaptación de metodologías para determinación del cobre (Cu^{+2}). Para el cumplimiento y desarrollo de los objetivos el trabajo experimental se dividió en diferentes actividades que se muestran en la

Figura 1.1

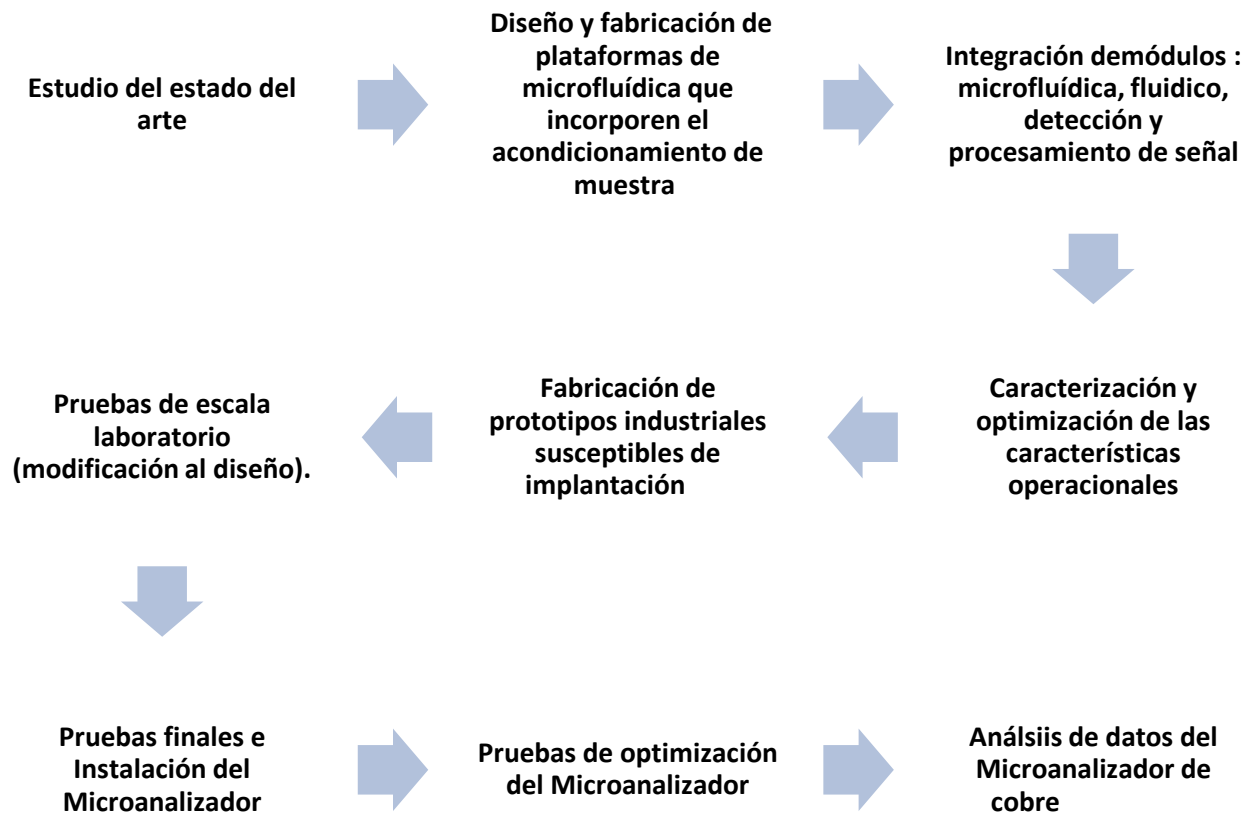


Figura 1.1 Diagrama desarrollo del trabajo realizado

Para el desarrollo del microanalizador la parte experimental se dividió en cuatro etapas, las cuales se muestran en el siguiente diagrama de la figura 1.2.

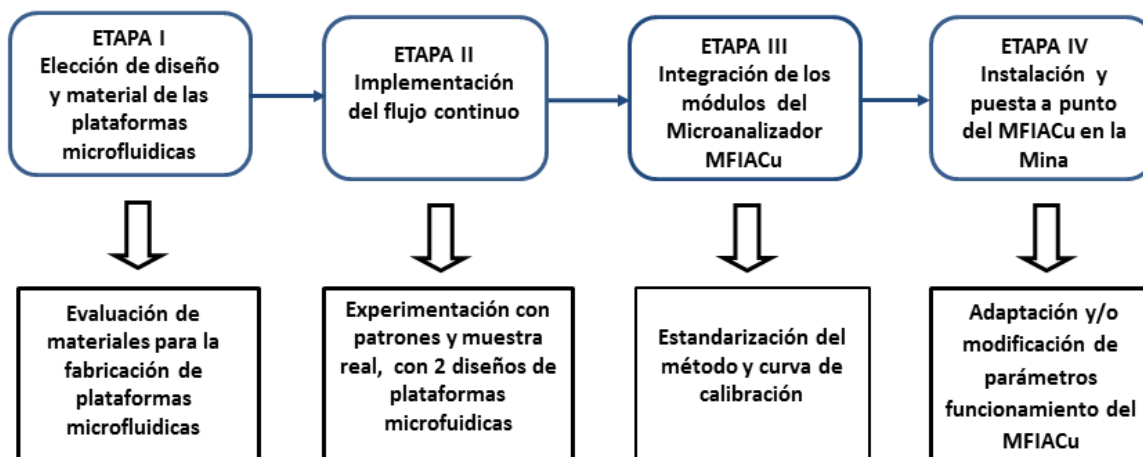


Figura 1.2 Diagrama por etapas del desarrollo del MFIACu

En la primera etapa se evalúan dos nuevas tecnologías de materiales actualmente utilizadas en la microfluidica, las cerámicas verdes (cerámicas de cocimiento conjunto a baja temperatura o LTCC por sus siglas en inglés) y el copolimero de olefina cíclica (COC), las plataformas microfluidicas se fabrican en ambos materiales cada uno con un diseño particular. Se estudiaron sus características y su desempeño para decidir la más conveniente para el uso del microanalizador (MFIACu). Se decidió utilizar la fabricada en polímero por su resistencia al ambiente donde será instalado el instrumento. Además, por ser translúcida, se puede identificar cualquier obstrucción o acumulación de material en los microcanales.

En la siguiente etapa la experimentación se realiza en ambas plataformas, para poder realizar una comparación de las mediciones obtenidas en cada material, con los mismos reactivos y muestras.

La integración de los módulos, etapa tres, la fluidica, microfluidica, detección y el procesamiento de señal quedan adaptados para poder recibir de manera visual las mediciones de la señal analítica (absorbancia) obtenida en los experimentos.

En la cuarta etapa, referente a la instalación y puesta a punto del MFIACu, es precedida de pruebas en laboratorio y en campo, en las últimas solo para adaptar el MFIACu, a las condiciones de funcionamiento reales, ya que al cambiar de ambiente y a las condiciones de instalación, se requiere realizar algunos ajustes para su buen funcionamiento. Adicionalmente se debe asegurar la autonomía del microanalizador lo cual se logra cambiando continuamente el módulo de fluidica y el procedimiento de preparación de los reactivos.

1.6. Antecedentes

Desde hace décadas han existido problemas ambientales relacionados con la contaminación de ríos producto de las actividades humanas. En México según datos de la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) 7 de cada 10 ríos están contaminados con metales pesados principalmente y otras sustancias [8]. Un caso muy sonado fue específicamente en Sonora México, en el año de 2014, en donde se tuvo una catástrofe ambiental en los ríos Bacanuchi y Sonora. Estos ríos fueron contaminados por miles de metros cúbicos de sulfato de cobre debido a una falla interna del control del proceso en una de las minas de cobre más grandes de México[9]. Por ello las emisiones de las minas de esta zona, que se dedican principalmente a la extracción de cobre, están altamente reguladas por las autoridades ambientales de Sonora y de México. Debido a esto, en los procesos de extracción de minerales, se requiere monitorear continuamente las emisiones al ambiente, con la finalidad de evitar daños a la flora y fauna de la región y repercusiones en la salud humana. Esto ha llevado a la industria minera metalúrgica a buscar soluciones del control y optimización del monitoreo de concentraciones en emisiones.

Las herramientas y técnicas utilizadas en la química analítica han alcanzado un nivel de integración tal, que permiten que la mayoría de los sistemas analíticos sean diseñados integrando parcial o totalmente una secuencia de operaciones unitarias que forman parte de un proceso analítico. Estas operaciones incluyen el muestreo, el transporte de la muestra, la separación, la reacción, la medición, la transducción, la adquisición de la señal y su procesamiento. Con la finalidad de reducir costos y errores derivados del factor humano, es deseable integrar al máximo las diferentes etapas del proceso analítico.

La microfluídica es considerada como una tecnología multidisciplinaria que une varias Incluyendo la química, la bioquímica, la ingeniería, la física, la microtecnología, la nanotecnología y la biotecnología [3]. La gran relación superficie-volumen permite la portabilidad de los dispositivos microfluídicos lo cual es importante para las pruebas *in situ*.

Los microsensores son más favorables, fiables, precisos, rentables y fáciles de usar comparados con otras técnicas convencionales de detección basadas en laboratorio [10] debido a su portabilidad, reutilización, respuesta en tiempo real y alta especificidad y selectividad.

Para la evaluación del desempeño de las plataformas fluídicas y de las metodologías analíticas se realizaron mediciones de distintas concentraciones de solución patrón de cobre, así como de diluciones utilizando técnicas de

conmutación de válvulas. Para el diseño y la estructura fluidica que consta de micro canales, micro mezcladores y celdas de medición, se han probado diferentes materiales entre los que destacan vidrio, sílice, plásticos y más recientemente cerámicas verdes [11], estos se eligen dependiendo el tipo de muestra y ambiente en el que se hará el monitoreo o determinación *in situ*. Una de las alternativas que se ha utilizado en este tipo de sistemas es la combinación de técnicas de flujo y detectores basados en diodos emisores de luz (LED) y fotodetectores para los microsistemas ópticos de análisis.

La técnica de inyección de flujo (FI) se ha expandido pues es una herramienta que permite la automatización de ensayos en serie. La técnica FI tiene varias modalidades de flujo continuo, flujo detenido, flujo en la que se basa la inyección secuencial, etc. Y se ha convertido en una herramienta poderosa para mejorar la selectividad y la sensibilidad de los análisis instrumentales. Al poderse gestionar por medio de las computadoras, la técnica FI contribuye a una mayor automatización en el análisis químico [12]. El análisis de inyección de flujo (FIA) da la facilidad de integrar sistemas microanalíticos en las que se pueden realizar todas las etapas del procedimiento analítico, facilitando el desarrollo de microanalizadores, usados como microlaboratorios, que se han denominado laboratorios en un chip (*Lab on a chip*) o microsistemas de análisis total μ TAS[1].

Cronograma

En este se presenta las actividades requeridas para alcanzar los objetivos del proyecto en forma calendarizadas

Actividad	Semestre								
	1°	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°
1. Estudio del estado del arte	■	■	■	■	■	■	■		
2. Pruebas de metodologías de referencia	■	■							
3. Caracterización de las variables operacionales de los analizadores para los diferentes parámetros seleccionados.		■	■						
4. Elección de Diseño y material para la fabricación de plataformas microfluídicas.				■					
5. Implementación de sistemas de detección óptica y flujo continuo				■	■				
6. Integración de Módulos: microfluico, fluico, de detección y electrónico.				■	■				
7. Experimentación para estandarización de metodología analítica. Aceptación del método						■	■		
8. Fabricación de prototipos industriales de instalación.						■	■		
9. Pruebas de escala laboratorio (modificación al diseño).							■		
10. Pruebas finales e instalación del Microanalizador							■		
11. Pruebas de optimización del Microanalizador								■	■
12. Desarrollo de un artículo de revista.									■
13. Escritura y revisión de tesis.									■
Estancias Universidad Autónoma de Barcelona	■			■				■	

CAPITULO II

2. Marco Teórico

La creciente demanda de información química en procesos industriales, ha despertado gran interés de monitoreo, entre otras cosas, la concentración de metales pesados. Esto se debe a la contaminación ambiental que representa, una grave amenaza para la salud humana.

Los metales pesados, un grupo de elementos que incluye al cadmio, mercurio, cromo, cobalto, cobre, molibdeno, níquel, plomo, estaño, titanio, vanadio, zinc y plata son de especial preocupación. Los metales pesados que se encuentran en el agua, el suelo y el aire en altas concentraciones son procedentes de procesos industriales de transformación y/o producción. Constituyen un riesgo serio para el medio ambiente, ya que son sustancias con una gran estabilidad química ante los procesos de biodegradación, por lo que los seres vivos son incapaces de metabolizarlos lo cual genera una contaminación por bioacumulación y un efecto multiplicador en la concentración del contaminante en la cadena alimenticia o trófica. La presencia en los cuerpos de agua de metales pesados y sustancias orgánicas complejas, entre otras, han sido responsables de innumerables situaciones de impacto sobre el ecosistema acuático y la salud pública en general [13].

Se ha demostrado que los metales son una causa común de enfermedades. Por ello se presta mayor atención a su medición y eliminación de las aguas residuales contaminadas [14]. La concentración de metales en aguas residuales urbanas, industriales, agrícolas, etc., puede ser varias veces mayor cerca de la fuente de contaminación y el pH puede disminuir en varias unidades, en comparación con los valores naturales [15].

Se ha demostrado el riesgo de contaminación por metales pesados en el agua, lo cual conlleva a la acumulación de metales pesados en los suelos agrícolas, que son el cuerpo receptor de descargas de aguas residuales, de ahí que pueda presentarse su acumulación en las plantas y representar un riesgo a la salud humana [16].

El exceso de los metales pesados suele venir relacionado con el aumento de residuos generados por las distintas actividades desarrolladas por el hombre.

Entre estas actividades podemos contar la urbanización y el rápido desarrollo de la industria, así como la actividad minera.

Algunos metales y metaloides como Cu, Cd, Al, Cr, Zn, Fe, Hg, As y Pb, a menudo son liberados en grandes cantidades durante o después de la actividad minera y pueden conducir a la destrucción de los ecosistemas acuáticos. Aunque la mayoría de los elementos metálicos pesados se encuentran en formas relativamente inaccesibles, durante el proceso de extracción y obtención los metales pueden movilizarse hacia el medio ambiente.

2.1 Metales Pesados

La definición de metales pesados se acuñó sólo por ser un grupo de elementos químicos puros que presentan una alta densidad. Por lo general estos elementos son tóxicos para los seres humanos. El elemento metálico puro no está tan tóxico como cuando se encuentra en alguna de sus formas químicas, es decir, en forma de compuesto.

El análisis de metales pesados en aguas naturales, arroyos, ríos, lagunas y océanos, resulta de gran interés en diversos campos de la ciencia, así como en sectores productivos y para las autoridades ambientales.

Actualmente existen diferentes técnicas y tecnologías analíticas para la determinación de los metales pesados, la mayoría de estas son complejas y de alto costo económico. En las aguas de efluentes de procesos las concentraciones de los metales pesados debe ser relativamente bajas, por lo que el análisis de estos en aguas de ríos, lagos y arroyos, no es fácil.

De acuerdo a la legislación ambiental en México referente a las descargas de aguas residuales a cuerpos de agua de la nación (ríos, embalses naturales y aguas costeras) las concentraciones permitidas se especifican dependiendo de la utilidad que se le dé a este recurso, cuando el agua fue descargada a un río y esta es utilizada es para riego agrícola los parámetros de los metales pesados son los siguientes:

As: 0.4 mg L^{-1} , Cd: 0.4 mg L^{-1} , Cianuros: 3 mg L^{-1} , Cu: 6 mg L^{-1} , Cr: 1.5 mg L^{-1} , Hg: 0.02 mg L^{-1} , Ni: 4 mg L^{-1} , Pb: 1 mg L^{-1} y Zn: 20 mg L^{-1} [17].

Los valores estándares de metales pesados en aguas de bienes nacionales: Hierro: 2.0 mg/kg ; cobre: 2 mg/kg . Dado que la ciencia médica, en particular la toxicología, realiza nuevos descubrimientos, el límite inferior permisible de su concentración en el agua, los alimentos y otras sustancias que están en contacto con el mundo vivo disminuye año tras año.

Debido a que las concentraciones de metales pesados son relativamente pequeñas se requiere de tecnologías analíticas de gran sensibilidad y precisión. Desde hace décadas se han utilizado técnicas espectroscópicas entre las que destacan la espectroscopia de absorción atómica (AAS por sus siglas en inglés) y más recientemente la espectrometría masas por plasma acoplado inductivamente (ICPMS por sus siglas en inglés). En la espectroscopia de absorción atómica se complementa con la atomización electrotérmica. Para poder utilizar esta técnica la muestra debe ser preparada y preconcentrada. Por otra parte para la espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente encontramos una baja tolerancia de la interfaz plasma-masas de sólidos disueltos por lo que la muestra debe ser diluida antes de su introducción al equipo. Las técnicas electroquímicas han ido ganando terreno en el área de análisis de metales aunque los métodos desarrollados incluyen pocos metales. Un factor importante a considerar en un análisis es el económico ya que estas técnicas representan una gran inversión, un alto costo de adquisición y de mantenimiento. Estas razones han dado lugar al desarrollo de métodos analíticos alternativos que sean rápidos, de fácil uso, y accesibles económicamente, además que no representan un alto costo de mantenimiento. Una de las técnicas más sencillas y económicas es la espectroscopia UV-visible, en esta la preparación de la muestra es sencilla, dentro y fuera del laboratorio, además esta técnica puede ser complementada para ser transportada o instalada en el área de interés del análisis, por lo que representa sencillez de uso, robustez y economía.

Respecto a las descarga de agua a ríos o arroyos, procedente de la extracción de la profundidad en minas o del proceso de extracción de minerales, la calidad del agua se debe monitorear para no contaminar los cuerpos de agua. Se deberá caracterizar física y químicamente el agua en cuanto a pH, conductividad eléctrica, temperatura y contenido de arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo y zinc, así como respecto a los parámetros directamente asociados a la generación de los residuos disueltos o suspendidos que pueden mezclarse de las aguas del proceso de extracción de minerales, derivados de las obras del sistema de producción. La caracterización se debe realizar directamente en el sitio de interés o a través del muestreo semestral en los aprovechamientos hidráulicos subterráneos aledaños a las obras del sistema de lixiviación. Para ello, se deben tomar al menos dos muestras de agua subterránea, una aguas arriba y otra aguas abajo del sitio seleccionado.[18]

Algunos metales son extraídos continuamente de minerales sulfurosos por ejemplo: el hierro de la pirita, el zinc de la esfalerita, el cobre de calcopirita y el níquel de la pendalinita. La oxidación de estos sulfuros metálicos es generada durante del procesos de concentración para obtención del metal deseado.

La oxidación de los sulfuros metálicos es el principal factor en la introducción de sulfatos a cuerpos de agua. La mayoría de los metales están presentes naturalmente como sulfuros, estos son los principales responsables de la contaminación de agua especialmente durante las actividades mineras. De acuerdo a la organización mundial de la salud, el agua para consumo humano debe contener menos de 250 mgL^{-1} (ppm) de sulfatos, aunque la mayoría de los efluentes de mina exceden estos límites

Los minerales son químicamente estables bajo su sitio o en ambientes saturados sin tener contacto con oxígeno y agua, pero una vez expuestos al agua o al oxígeno atmosférico, empieza la oxidación del sulfuro, un fenómeno natural.

En las minas de cielo abierto el agua drenada desde las piletas de mineral, agua de lavado, de procesamiento y de desecho, aumenta la concentración de sulfatos en el ecosistema[19].

Sin embargo las operaciones en minas bajo tierra es una mayor distracción. Además el agua es constantemente bombeada hacia la superficie en orden para mantener un bajo nivel en el interior de la mina. Esto se hace para impedir la reacción entre los minerales y la humedad. Si las actividades mineras cesan, se garantiza la reacción entre el agua y el mineral al contacto con el aire. El agua contaminada eventualmente alcanza las fuentes de aguas subterráneas y contamina los cuerpos de agua completamente[20].

Establecer un control de las concentraciones de los metales pesados en agua, es de suma importancia para la industria, para las autoridades y para la sociedad en general

Por ello el análisis de metales pesados, específicamente de cobre en el caso que nos ocupa, disuelto en agua de descarga resulta de gran interés en los campos de la química, geología, biología, toxicología y ecología.

2.1.1 El Cobre

El cobre, es un elemento importante para la industria, para el mundo vivo, es esencial para las plantas, los animales y los seres humanos. Este metal ocurre naturalmente en las rocas, en el agua y en el aire. Es un metal no ferroso que aparece en la naturaleza de forma nativa o más comúnmente acompañado de otros metales, en forma de mineral que son compuestos orgánicos con fórmula química definida. Su utilidad se debe a la combinación de sus propiedades químicas, eléctricas, físicas y mecánicas, además de su abundancia. Tiene dos isótopos naturales estables ^{63}Cu y ^{65}Cu y nueve isótopos inestables (radiactivos).

La mayor parte del cobre del mundo se obtiene de los sulfuros minerales como la calcocita (Cu_2S), covelita (CuS), calcopirita (CuFeS_2), bornita (Cu_5FeS_4) y enargita (Cu_3AsS_4).

El cobre en el agua generalmente se adhiere a otras partículas o se convierte a otras formas que pueda depositarse en sedimentos. En las últimas décadas algunos ríos han sido tratados con cobre para controlar la producción de algas.

En organismos vivos se considera un elemento esencial, debido a su participación en distintos procesos biológicos. El cobre está presente en los tejidos biológicos y es ingerido de manera natural en distintos alimentos. Sin embargo la ingesta excesiva provoca efectos tóxicos en los organismos, afectando el funcionamiento normal del organismo.

➤ Usos comunes

Este metal es utilizado para producir diferentes productos como: cables, tuberías, conexiones de gas, entre otros. A menudo se le combina con otros metales (aleaciones) para fabricar cañerías y grifos de latón y bronce. Existe una gran variedad de compuestos de cobre utilizados generalmente en la agricultura para tratar plagas y enfermedades, así como para el tratamiento de agua y para la preservación de telas. De los cientos de compuestos fabricados de manera industrial, el más importante es el sulfato de cobre.

➤ Principales fuentes de exposición

Los humanos estamos expuestos al cobre en actividades comunes como respirar y beber, al ingerir alimentos o al tener contacto con la piel a través de partículas impregnadas de cobre o compuestos que contienen cobre.

Si las tuberías que distribuyen el agua en los hogares son de cobre y las llaves del agua de bronce la probabilidad de que el agua que bebamos puede contener altos niveles aumenta. Otras vías de exposición es ingerir fungicidas que contengan cobre, vivir cerca de lugares donde haya una planta procesadora de cobre a bronce o bien que el lugar de trabajo sea una mina de cobre; que los lagos y ríos, que abastecen de agua de cierta zona urbana pudieron ser tratados con cobre para controlar el crecimiento de algas.

➤ Daños a la salud

Respirar altos niveles de cobre puede causar irritación a la nariz y a la garganta. Ingerir elevados niveles de cobre puede causar náusea, vómito y diarrea. Niveles de cobre muy elevados pueden causar daño a los riñones, hígados e incluso causar la muerte.

La toxicidad del cobre se asocia a un aumento o disminución de la concentración de iones Cu^{2+} en organismos vivos en comparación con las concentraciones óptimas.

La concentración promedio de cobre en agua varía entre 20 a 75 ppb (partes por billón), sin embargo se han detectados hogares que tienen concentraciones de cobre por encima de 1000 ppb, esto se debe a que el agua permanece en contacto con el cobre en las tuberías[21].

La concentración de cobre en lagos y ríos varía entre 0.5 y 1000 ppb con una concentración promedio de 10 ppb. La concentración promedio de cobre en el agua subterránea (5 ppb) es similar a la que se encuentra en lagos y ríos; sin embargo las mediciones ambientales indican que algún agua subterránea contiene niveles hasta de 2,783 ppb, que están muy por encima de la norma de 1300 ppb para el agua potable; el agua de mar esta alrededor de $0,15 \mu\text{gL}^{-1}$ y en el aire puede llegar hasta 200 ngL^{-1} [22]. Según la Agencia de protección ambiental de los Estados Unidos (EPA) los límites máximos permisibles de cobre 1.5 mgL^{-1} , para aguas naturales.

La especiación química del cobre en aguas es compleja. Sin embargo, se puede diferenciar entre fracción soluble e insoluble y la concentración de equilibrio de muchos complejos son dependientes del pH[23].

2.2 Determinación de metales

La caracterización de muestras para la determinación de elementos metálicos se puede realizar con diferentes técnicas de análisis reportadas en bibliografía.

La química analítica estudia los métodos y las técnicas utilizados para determinar la composición de la materia. Esto es, de qué o cuánto está presente, por esto la química analítica se ramifica de acuerdo a la información que se esté interesado. El análisis puede ser cualitativo o cuantitativo. El análisis cualitativo nos dice qué especies están presentes en una muestra de materia o detalles estructurales de la misma. Los análisis cuantitativos indican la cantidad de un componente en una muestra.

Existe gran variedad de métodos para la determinación de metales pesados. La principal clasificación de estos métodos los divide en métodos clásicos y métodos instrumentales. Para este trabajo se utiliza la espectrometría como método instrumental de análisis de cobre en efluente líquido de mina. Se describirán metodologías utilizadas en bibliografía para la determinación de este metal en soluciones acuosas.

Existen diferentes clasificaciones de métodos, una general y otra en la que se dividen en clásicos e instrumentales, en realidad no existe diferencia entre las metodologías todas se basan en la correlación de una medición física con la

concentración. Ambas clasificaciones implican el uso de un instrumento para dicha medición. En la medida en que ninguna de ellas es específica, pueden ser precedidas por operaciones de separación. En la tabla 2.1 se muestra la clasificación de diferentes tipos de métodos. Los métodos clásicos y los métodos instrumentales, se clasifican basándose en el desarrollo cronológico de los mismos, como ya se mencionó anteriormente no hay diferencias fundamentales entre ambas categorías.

A los procedimientos volumétricos o gravimétricos se les conocen como métodos clásicos se llama así porque por que la mayoría de los métodos primitivos estaban basados en alguna medida de peso o volumen. Y los métodos instrumentales utilizan procedimientos basados en propiedades ópticas, eléctricas, térmicas de las especies.

Los inconvenientes del AAS (espectrometría de absorción atómica por sus siglas en inglés) y del ICP-MS (espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente) son:

Bloqueo en las aspiraciones para la toma de muestra, la dilución de la muestra no provee necesariamente de una respuesta, frecuentemente la dilución de la muestra disminuye la concentración de la traza del metal por debajo del límite de detección del AAS e ICP. Problemas al momento del funcionamiento del analizador: indica altas concentraciones de cobre, este problema está relacionado con prácticas operativas pobres.

Tabla 2.1 Clasificación general de métodos analíticos comunes [24]

Clasificación General	Sub clasificación	Magnitud que mide
Gravimétricos	Métodos directos/Indirectos	Peso y/o pérdida de peso
Volumétricos	Valoración y Gases	Volumen
Ópticos	Espectroscopia de emisión, absorción, colorimetría y polarimetría, refractometría, turbidimetría, potenciometría	Radiación emitida o absorbida por la especie; rotación del plano; índice de refracción, dispersión de la luz.
Electro analíticos	Turbidimetria, nefelometría, potenciometría, conductimetría, coulombimetria, polarografía y métodos de alta frecuencia	Dispersión de la luz, potencial de un electrodo, conductividad de una solución, cantidad de electricidad, corriente asociada, capacitancia
Varios	Espectroscopia de masas, métodos radioquímicos, valoración entalpimétricas	Razón masa/carga, desintegración readioactiva, calor de reacción.

En la actualidad existen equipos que determinan continuamente sustancias tóxicas en el agua en función de los cambios en el espectro de fluorescencia y la cinética de fluorescencia. En la Tabla 2.2 se muestra información de diferentes técnicas analítica utilizadas para la detección de metales.

Tabla 2.2. Detección de metales pesados en soluciones acuosas.

Metales	Metodología	Referencia
Zinc y cobre	Espectrofotometría	[25]
Fe, Cu	Espectrofotometría	[26]
Co	Colorimetría	[27][28]
Cd, Zn, Cu	Espectrofotometría	[29]
Cu	Espectrofotometría	[30]
Cadmio	Espectrofotometría	[31]
Cu	Espectrofotometría	[32]
Cobre	Colorimetría	[33]
Cobre	Voltamétrica	[34][35]

Pascoa *et al* [25] determina zinc y cobre por espectrometría en un sistema de análisis de inyección de flujo en aguas naturales, al igual González *et al*[26] utilizan aguas naturales como muestra real para determinar espectrofotométrica hierro y cobre a través de un Sistema de inyección en laboratorio microsecuencial. Hayashibe *et al* 1993 [28] utilizó una técnica óptica que adaptó *in situ* para la detección de trazas de cobalto en el proceso electrolítico de Zinc, basándose en este método Bustos *et al* [27] adapta la metodología para determinar cobalto colorimétricamente, este reactivo colorimétrico ha sido utilizado por diferentes autores para la determinación de otros metales como cobre, níquel, zinc, etc. [36]–[38].

Por su parte Santos *et al* [29] al analiza Cadmio, Zinc y Cobre por medio de Micro espectrofotometría de fase sólida en una plataforma de inyección de laboratorio en válvula secuencial para la determinación de cadmio, zinc y cobre en aguas dulces. Ulla *et al* [31] se enfocan en la determinación espectrofotométrica de elementos tóxicos principalmente en cadmio en medios acuosos.

Mergu *et al* [33] desarrollan una sonda de detección colorimétrica para iones de cobre (II) basada en una base de Schiff.

Otro método popular para la determinación concentraciones de trazas metálicas de cobalto, cadmio y principalmente de cobre, es el método voltamétrico utilizado por Bond *et al* 1990 [35] en procesos industriales; Blanco *et al*[34] también utiliza este método pero sólo para la determinación de cobre.

Diferentes autores [28], [36]–[39] han elegido el Nitroso R-Sal como agente colorimétrico para determinar trazas de metales, a través de la adecuación de una metodología analítica. Horstkotte *et al*[30] utiliza un reactivo colorimétrico diferente para la determinación de cobre mediante microextracción líquida-líquida de su

complejo con batocuproína (2,9-dimetil-4,7-difenil-1,10-fenantrolina) utilizando una detección espectrofotométrica; Stets *et al* [32] realiza experimentos para la determinación de cobre en formulaciones farmacéuticas y de orina mediante espectrofotometría UV-visible utilizando la neocuprina (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina); Hoste *et al* 2001[40] elige la cuproína (2,2'-biquinolina) para la detección de cobre en soluciones acuosas utilizando espectrofotómetro.

La técnica de espectrofotometría UV-Vis, ha ganado popularidad entre los instrumentos analíticos y se ha utilizado constantemente para la determinación de trazas metálicas, perjudiciales en ciertas etapas de procesos minero-metalúrgicos, en soluciones acuosas.

2.2.1 Métodos de análisis de cobre en agua

La determinación de cobre se ha realizado con distintas técnicas y metodologías de análisis, las cuales incluyen los métodos clásicos (volumetría y gravimetría) y métodos instrumentales. Para varias de éstas es necesario preparar la muestra previamente, ya sea por separación o por preconcentración. Las técnicas más utilizadas para la determinación de cobre en soluciones acuosas son la espectroscopia de absorción atómica de llama, en horno de grafito o espectrometría de masas por plasma acoplado inductivamente, debido a que son más sensibles y selectivas que otras técnicas, pero tienen como desventaja que la instrumentación es cara, conllevan un alto costo de operación y mantenimiento, además tienen que estar en un lugar fijo, por lo que no se pueden llevar al lugar de donde se toma la muestra. Los métodos espectroscópicos han sido utilizados en muestras en las que se requiere la determinación simultánea de elementos múltiples, incluido el cobre. Sin embargo, el costo de funcionamiento y los requisitos de habilidad del operador para IPCMS y AAS son altos, por lo que se desea una técnica rentable y asequible para la determinación de cobre.

Varias técnicas analíticas han sido utilizadas para la detección de cobre entre las que se encuentran: electroanalíticas [41], [42] (potenciometría y voltametría), análisis de inyección de flujo (FIA) [38], MS-ICP, AAS, y espectrofotometría.

Un análisis óptico resulta tener ventajas frente a estas técnicas ya que se pueden tener los análisis en un tiempo reducido además de poder realizarse *in situ*. Así como diferentes agentes complejantes se utilizan para la determinación del cobre para espectrofotometría.

A menudo se prefiere un sistema de detección colorimétrico, porque implica menos instrumentación y proporciona una mejor sensibilidad cuando se dispone de los reactivos cromogénicos apropiados. Esta técnica es simple, y a lo largo del

tiempo se han propuesto numerosos reactivos orgánicos para formar complejos de cobre como tiocianato PAN[43], zincon[44], nitroso R Sal[36], [38], [45], neocuproina (NC) [46], bathocuproína disulfuro (BCS)[30] para la determinación espectrofotométrica de cobre.

El reactivo colorimétrico 1Nitroso 2-naftol 3-6disulfanato (nitroso-R Sal) fue introducido por Van Klooster en 1921[47] para la detección de cobalto, a partir de entonces diversos investigadores lo han utilizado para determinar trazas de metales en diferentes tipos de muestras como soluciones acuosas, suelos, incluso en plantas.

En la Tabla 2.3, se muestra el tipo de agente colorimétrico que han utilizado para la determinación de diferentes autores utilizan esta técnica instrumental.

Tabla 2.3 Metodologías para la detección de cobre por métodos ópticos

Método, reactivo y condiciones	Longitud de onda (nm)	Rango de concentración (mgL ⁻¹)	Referencia
NRS 0.4% w/v, + buffer acetato de sodio pH 7	520		[48]
NRS + tres distintos buffers	550-517	0.25-65	[45]
Cuproína + clorhidrato de hidroxilamina.	546	2.3-30	[40]
Neocuproína + buffer tris(hidroximetil) aminometano (Tris) pH 8	450		[49]
Neocuproína(NC) + cloroformo	457	1-20	[50]
Batocuproína (BCS) + buffer 10mM fosfato dihidrato de disodio/ fosfato ácido de potasio pH7.4	490		[51]
cuproína 0.04%, 16x10 ⁻⁴ M + cloruro de hidroxilamina	545	0.05	[52]
Batocuproína, + buffer pH 4.7 a 6.5,	478	5	[30]

Tomando como referencia el trabajo de Bustos O.[48], se hicieron pruebas en el espectrofotómetro UV-vis, con una solución de NRS 0.4% ^v/_w (1.0692 mM), una solución buffer 0.5 M acetato de sodio /ácido acético, midiendo de forma

semicontinua, la curva de calibración desde 370 a 550 nm, en donde se identifica medir a 520 nm; posteriormente se llevó la experimentación al sistema FIA.

Taher Mohammad [45] determino trazas de cobre en muestras medioambientales y biológicas con una técnica espectrofotometría, después de una preconcentración con una sensibilidad para detectar hasta 35 ngmL^{-1} a una longitud de onda de 500 nm, prepararon soluciones tampón de pH 3–6, 6–8 y 8–11 mezclando las proporciones adecuadas de ácido acético 0.5 M y acetato de amonio 0.5 M, Na_2HPO_4 fosfato ácido de disodio 0.1 M y fosfato de potasio KH_2PO_4 0.1 M y solución amoniaca 0.5 M y 0.5 M Acetato de amonio, se ajustan los valores del pH con ácido acético o hidróxido de sodio según sea el caso; y 0.1% nitroso-R sal.

Otra metodología revisada y probada fue la propuesta por Hoste *et al* [40] utiliza la cuproína como reactivo colorimétrico, y como reductor el clorhidrato de hidroxilamina o acetato de sodio, además de alcohol isoamílico, para formar el complejo Cu-Cuproína, esta metodología fue adaptada sustituyendo el alcohol isoamílico por metanol. Posteriormente Do Nascimento *et al* [52] experimenta con cuproína 0.04% w/v (16×10^{-4} M) disuelta en etanol, formando un compuesto rosado con una máxima de absorción de 545 nm, la reacción ocurre con etanol e hidrocloreto de hidroxilamina, el límite de detección fue de 0.05 mgL^{-1} . Utilizando diferentes buffer para probar diferentes rangos de valores pH, buffer de acetato de sodio trabaja en un rango que va de 4 a 6; buffer de tris con rango de 6 a 8 y buffer de amonio trabajando con un rango de 9 a 11.

Sözgen *et al* 2006[49], utilizó la neocuprina como reactivo colorimétrico preparando una solución 1.5×10^{-2} M en alcohol etílico, la solución buffer Tris 0.175 M. Esta metodología se adaptó por el hecho que se considera trabajar a un pH 8.8, el valor con el que se descarga el agua de la mina esta en un rango entre 8.5 y 10. La metodología analítica establecida en la norma NMX AA-66-1992[50], se basa en el uso de la neocuprina como reactivo colorimétrico, la que la preparación de la muestra es en semicontinuo y el análisis por espectrofotómetro UV-vis a 457 nm.

Campos *et al* [51] elige reactivos colorimétricos y reactivos quelantes para formar complejos estables con el cobre, la batocuproína 2 mM, la solución buffer se realizó mezclando distintas sales entre las que se encuentran fosfato dihidrato de disodio, fosfato ácido de potasio a una concentración de 10 mM pH7.4 midiendo las muestras de la experimentación a 520 nm. También fue probado el buffer de acetato a un pH 3.6, para el análisis y preparación de la muestra se tuvo que adicionar ácido clorhídrico. Cabe mencionar que este método fue aplicado para muestras biológicas como orina y plasma, las muestras antes de ser utilizadas, debieron haber estado a una temperatura de 4°C . Por su parte Horstkotte *et al* [30] a través de micro extracción utilizando FIA determina el cobre con Batocuproína a una concentración de 280 mgL^{-1} , el buffer de acetato de sodio se preparó al 40% w/v agregando 10% cloruro de hidroxilamina, utilizó xileno para la extracción, el

rango del valor de pH 4.7 a 6.5, se analizaron diferentes tipos de muestras de agua.

2.3 Sistemas de análisis

2.3.1 Sistema continuo

La técnica de análisis de inyección de flujo (FIA por sus siglas en inglés) sólo se veía como un método de automatización para ensayos seriados. Sin embargo, se ha desarrollado como una técnica para ensayos de análisis instrumental de gran selectividad y sensibilidad [12].

En 1970 Nagy, Feher y Pungor describen el uso de electrodos de grafito para mediciones voltamperométricas de muestras inyectadas, por medio de una jeringa hipodérmica, dentro de un portador, sin segmentar el flujo[53]. El análisis de inyección de flujo (FIA) concebido por Ruzicka y Hansen en 1975 es una de las técnicas basadas en el flujo, la

muestra el diagrama general del funcionamiento del método. El impacto que esta técnica provocó fue el desarrollo de nuevas metodologías por FIA, especialmente en el análisis de aguas. Después de 25 años de los inicios del FIA, el número de publicaciones fue de 10,000[53].

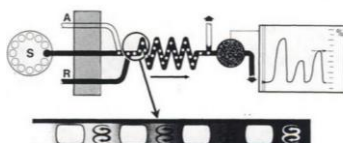


Figura 2.1. Diagrama general del análisis por inyección de flujo, S: muestra, A: solución buffer y R: reactivo colorimétrico [12]

Los parámetros críticos del sistema de inyección de flujo son el diámetro del tubo, el tamaño del espacio y la velocidad de flujo aplicada, y los parámetros hidrodinámicos son: volumen inyectado y caudal de flujo, los cuales se determinan a través de un diseño de experimentos para realizar los ensayos correspondientes.

La mayoría de los sistemas de inyección de flujo se han utilizado cada vez más con varios sistemas de detección, debido a su alto rendimiento de muestreo, rendimiento rentable y versatilidad.

Purachat et al 1993[38] en su investigación se desarrolló un método de inyección de flujo (FI) simple, selectivo, reproducible y sensible para la determinación de Cu^{2+} en una amplia gama de soluciones acuosas. Los diversos factores que influyen en la sensibilidad de este método como el pH, la concentración de la solución buffer, el caudal de las soluciones y la concentración de nitroso-R, se optimizaron utilizando el método simplex.

Oguma et al 2002[43] realiza la determinación simultánea por inyección de flujo de Fe^{3+} , Cu^{2+} y Pd^{2+} basado en reacciones fotoquímicas con tiocianato como reactivo colorimétrico y acomplejante, sobre la mezcla se incidió luz UV por un análisis espectrofotométrico a concentraciones a niveles de decenas de μgL^{-1} .

Araujo *et al* [54] describen un sistema de inyección de flujo colorimétrico para la determinación de Cu^{2+} en distintos tipos de aguas basado en la reacción de complejación con 4- (2-piridilazo) -resorcinol, generalmente denominado PAR. Usando volúmenes de muestra que oscilan entre 2 y 4 mL, se lograron tasas de muestreo de 24 y 12 muestras h^{-1} dentro de un límite de detección de 25 y 13 mgL^{-1} , respectivamente.

Estos métodos fueron desarrollados para la determinación selectiva de niveles de $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Cu^{2+} por FIA con determinación espectrofotométrica, que puede ser precisa y exacta. Este método es adecuado para la cuantificación de Cu^{2+} en aguas residuales y muestras de mineral de cobre para análisis de rutina.

2.3.2 Sistema en Batch

Los sistemas batch son procesos no permanentes, se interrumpen debido a que se efectúa una serie de operaciones a cada lote de producción, la ventaja es que reduce los costos iniciales, ya que el mismo procedimiento sirve para la producción de diferentes resultados, en este el trabajo que se realiza este tipo de sistema para realizar espectros con las diferentes metodologías planteadas y probadas, el trabajo es manual y secuencial, por procedimientos. Esto es se toman alícuotas de cada uno de los reactivos de la mezcla a medir, se mezclan en un tubo que tenga la capacidad del volumen doble de la mezcla, una vez bien agitado, se enjuagan las cubetas del espectrofotómetro con cada una de las muestras preparadas y posteriormente van introduciendo de forma aleatoria las cubetas con la mezcla de los distintos estándares de cobre al espectrofotómetro.

2.4 Microanalizadores

La química limpia tiene como objetivo desarrollar procesos químicos que reduzcan o eliminen la generación de sustancias peligrosas para la salud humana y el medio ambiente. Sin embargo, hay varios métodos analíticos que emplean reactivos altamente tóxicos y generan una gran cantidad de desechos químicos, lo que resulta en un impacto ambiental y potencialmente negativo para la salud humana.

Para establecer un nuevo procedimiento o método analítico que generen una reducida cantidad de residuos, se debe evitar el uso de reactivos tóxicos, si esto no es posible entonces minimizar las cantidades involucradas. Este enfoque también tiene la ventaja de reducir los costos operativos, incluidos los gastados en el tratamiento y eliminación de desechos.

Los instrumentos ópticos visuales son típicos de instrumentos de laboratorio que comúnmente requieren de espacio amplio, trabajar en un área libre de vibraciones y un mantenimiento regular. La solución de la muestra es normalmente puesta en una cubeta. Pasando de esta tecnología a sensores químicos no es un problema. El uso de técnicas ópticas o espectroscópicas en microsistemas, es usado exclusivamente para el fenómeno de la conducción de la luz. La conducción de luz significa que la luz incide en una óptica que puede estar adjunto como resultado de múltiples reflexiones, esta puede ser conducida a través de largas distancias, aunque la conducción es curvada.

La microfluídica es considerada como una tecnología multidisciplinaria que une a varias disciplinas Incluyendo la química, la bioquímica, la ingeniería, la física, la microtecnología, la nanotecnología y la biotecnología [10].

La gran relación superficie-volumen permite la portabilidad de los dispositivos microfluídicos lo cual es importante para las pruebas *in situ*. Existen tres clases de microfluídicas: (i) la de flujo continuo; (ii) a base de gotas; Y (iii) las microfluídicas digitales. Los dispositivos microfluídicos continuos consisten en microcanales permanentemente grabados y dispositivos periféricos (tales como microbombas y microválvulas) utilizados para manipular una corriente de fluido en estos dispositivos [9]. Los sistemas microfluídicos se basan en la creación de gotas en microcanales utilizando dos o más fluidos inmiscibles, en su mayoría, en una unión en forma de T. Los sistemas microfluídicos digitales, sin embargo, son fundamentalmente diferentes ya que proporcionan movimiento y control de gotas discretas sobre un electrodo planar electrostáticamente accionado.

El análisis en microflujo es una de las técnicas analíticas más limpias. Además es rápida, altamente sensible y reproducible con bajos residuos producidos[48]. Implica la miniaturización de todas las funciones en el análisis químico, incluido el muestreo, la eliminación de interferencias, una pequeña cantidad de consumo de químicos y un pequeño tamaño de la cámara de mezcla y reacción. Todo el

dispositivo de medición química se puede miniaturizar en unos pocos centímetros cuadrados[55] y ser estos como unos laboratorios en el cual se realizan la preparación de la muestra antes que esta sea analizada, en la

Tabla 2.4 se muestra información referente las características de distintos dispositivos microfluidicos entre las que se encuentran dimensiones de los canales microfluidicos, así como de las medidas de estos, esta técnica ya ha sido utilizada específicamente con métodos ópticos para detección de metales pesados en la Tabla 2.5, se muestra información acerca de autores que han desarrollado o adaptado metodologías de análisis en mircosistemas en flujo continuo.

Tabla 2.4. Diseños de dispositivos microfluidicos

Tipo de Dispositivo	Dimensiones de los Canales microfluidicos	Dimensiones del Dispositivo (ancho, largo y alto)	Referencia
Diseño de micromezcladores	1000 μm^2 , y 1600 μm^2	20 x 65x2.2mm	[56]
Monitoreo de soluciones acuosas	450x450 μm	33.5x60x3mm	[37]
Microsistema mezclador	400 x 1200 μm		[57]
Sensores químicos	900x300x137 μm , largo, ancho y alto respectivamente	30x30x3.3mm.	[58]

Tabla 2.5 Metales pesados determinados por FIA y UV-Vis en microanalizadores

Metal	Método	Tipo de Solución	Autor
Cobalto	Nitroso-R sal	Solución electrolítica	[28]
Cobre	Espectrofotometría Nitroso-R Sal	Solución Acuosa	[38]
Cobre	Colorimetría Cuproína	Solución Acuosa	[40]
Cobalto, Cobre y Níquel	Espectrometría Nitroso-R sal	En solución Acuosa	[36]
Cobalto, Cobre y Cadmio	Espectrofotometría UV-Vis	Solución Acuosa y Electrolito de Zinc	[48]
Cobalto	Colorimetría Nitroso-R sal	Electrolito antes de la purificación	[37]

Para la determinación de cobre específicamente se han desarrollado diferentes metodologías de análisis las cuales se han logrado llevar de escala laboratorio hasta escala banco, pero no han sido instalados *in situ* por presentarse problemas de su adaptación.

2.4.1 Materiales para construcción de dispositivos microfluidicos

Entre todos los materiales disponibles para la fabricación de microdispositivos, el silicio ha sido el más utilizado. Sin embargo, hay una tendencia reciente al uso de polímeros debido a su bajo costo y aplicaciones interesantes. En los últimos años se han desarrollado también dispositivos con cerámicas cocidas a baja temperatura (LTCC por sus siglas en inglés).

Polímeros

Se utilizan polímeros duros para fabricar dispositivos microfluidicos, para muchas aplicaciones se sustituyen por plásticos que pueden contener una serie de aditivos que afectan su procesamiento y vida útil.

El bajo costo de los materiales poliméricos y la facilidad de fabricación hacen de este un material de uso popular en la fabricación y diseño de dispositivos

microfluidicos. Los polímeros como el polimetacrilato de metilo (PMMA), el poliestireno y el policarbonato se moldean fácilmente y también son susceptibles de una amplia gama de métodos de micromaquinado como el estampado en caliente y la polimerización por plasma[59]. Entre las ventajas de los dispositivos microfluídicos construidos de este material se encuentran: son ópticamente transparentes, son química y biológicamente compatibles, son inertes a una amplia gama de disolventes y tienen buenas propiedades térmicas y permiten la modificación de la química de su superficie.

Cerámica cocida a baja temperatura (LTCC)

La tecnología LTCC es un material que representa una opción para la fabricación de dispositivos microfluidicos porque permite crear dispositivos robustos, multicapa, utilizando la simplicidad de mecanizado en un "estado verde"[60]. Entre las ventajas de este material se encuentran: la resistencia química, la alta conductividad térmica, la estabilidad a altas temperatura, fácil de ser maquinada.

2.5 Efluentes de minas

Con el incremento de la población, se ha incrementado los requerimientos de fuentes de extracción de minerales. Por ello, las actividades mineras alrededor del mundo han crecido simultáneamente.

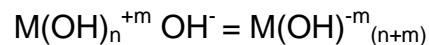
Las aguas que salen de procesos mineros, la refinación del petróleo y metalurgia, están esparcidas en todo el mundo y pueden contener diversos contaminantes. Estas sustancias incluyen polvos, productos químicos, iones metálicos, aceites, compuestos orgánicos, etc. que a veces hacen que el agua no pueda reciclarse como agua de proceso. También, a menudo, esta agua es peligrosa para el medio ambiente y puede provocar pérdidas de materiales valiosos [61]. Las fuentes de contaminación del agua se pueden encontrar en minas, molinos, plataformas marinas, plantas de procesamiento, estanques de relaves, etc.

A veces, debido a su complejidad y/o volumen químico, estas aguas de proceso no pueden tratarse económicamente, incluso en los casos en que contienen materiales valiosos [62].

Por lo tanto, las tecnologías actuales y futuras eventualmente tendrán que tratar con áreas tales como el tratamiento y reciclaje del agua (reutilización), la remoción y / o recuperación de iones de metales pesados y / o preciosos, de aniones, de químicos orgánicos residuales, complejos o quelatos. Igualmente deberán de incluir el control, recuperación o la destrucción de las emisiones de cianuro y arsénico la separación de derrames de hidrocarburos (incluida la recuperación de

licores de extracción con disolventes), de aguas ácidas de minas que contienen cantidades considerables de metales nocivos, como níquel, cobre, zinc, plomo, además de hierro ferroso y sulfato el control y la eliminación de reactivos químicos residuales tales como espumas, colectores de flotación y modificadores (activadores o agentes depresores, reguladores de pH) la separación de varios plásticos desperdiciados y el control radioactivo en efluentes y suelos.

El proceso convencional de tratamiento de los efluentes líquidos que contienen iones metálicos es la precipitación, que conlleva la agregación de compuestos para tener previamente una coagulación/floculación. Este proceso hace que los iones metálicos coagulados/floculados se acumulan como hidróxidos o sales insolubles. Sin embargo, este método, desde un punto de vista técnico, presenta ciertas limitaciones, la formación de hidróxido metálico es ineficaz en los efluentes que contienen metal diluido pues el hidróxido tiende a redisolverse, dependiendo del metal, siguiendo esta reacción:



En donde:

M: metal;

m: número de oxidación utilizado por el metal

n: número de iones hidroxilo (OH) correspondientes al estado de oxidación del metal.

El pH de la solubilidad mínima de los hidróxidos es diferente para los diversos metales presentes. Por ejemplo, la solubilidad mínima para el hidróxido cúprico se produce a un valor de pH alrededor de 9.5 mientras que para el hidróxido de cadmio ocurre a un valor de pH alrededor de 11. En la

Figura 2.2 Diagrama de solubilidad de Hidróxidos metálicos[63] se muestran los rangos de pH para algunos metales pesados. La precipitación de metales se hace incompleta cuando están presentes agentes complejantes o quelantes, los volúmenes de lodos formados son demasiado grandes y con un alto contenido de agua. También puede suceder que la filtración sea difícil como resultado de tener precipitados muy finos y, debido a problemas cinéticos y de escala, el tratamiento por coagulación y sedimentación de caudales de efluentes de entre 2 y 4m³ s⁻¹ es muy difícil y costoso. Esto constituye un gran desafío para la industria minera moderna. Los métodos de remediación son nombrados de diferentes maneras, físicos, químicos y biológicos, las cuales son divididas en técnicas activas y pasivas. Los métodos activos requieren un alto mantenimiento y los métodos pasivos dependen de un nivel modesto de mantenimiento. Las técnicas de remoción de sulfatos incluyen la tecnología de precipitación.

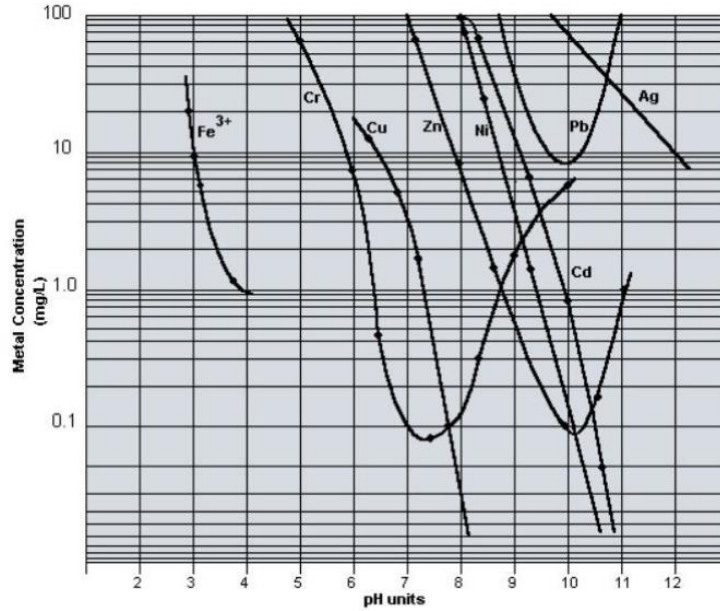


Figura 2.2 Diagrama de solubilidad de Hidróxidos metálicos[63]

La selección del proceso de tratamiento de aguas residuales más adecuado depende de los parámetros básicos como el pH, la concentración inicial del metal, la especificidad del tratamiento aplicado en relación con otras tecnologías, el impacto ambiental, los parámetros económicos como las inversiones de capital y los costos operativos. Además, la aplicabilidad técnica, la simplicidad y la rentabilidad de la planta son factores clave que desempeñan las funciones principales en la selección de la tecnología óptima.

En el actual trabajo se realizaron experimentos preliminares que indicaron que los iones metálicos como el Cu^{2+} también reaccionan con el reactivo Nitroso R Sal y forman complejos aniónicos solubles en agua coloreados. El análisis de cobre en aguas residuales no tiene que ser un método muy sensible ya que los volúmenes de muestras de aguas residuales son relativamente grandes y generalmente están disponibles en comparación con otro tipo de muestras. Así mismo se realizó la detección en discontinuo a través de un método por detección UV-Vis que ha sido ampliamente utilizado para la determinación de especies en las muestras de agua.

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

Como parte importante de este trabajo se sustentan diferentes metodologías de análisis desarrollados para mediciones fotométricas probadas por diferentes autores, para la determinación de cobre, de estas se realiza una adaptación con el objetivo de reducir concentraciones en la preparación y gasto de reactivos y en el tiempo de análisis.

Se logró probar cuatro metodologías para la detección de cobre, teniendo como reactivos colorimétricos el NRS, cuproína, neocuproína (NC) y batocuproína(BT).

3.1. Metodologías de análisis espectrofotométricas del cobre

En la Tabla 3.1 se resumen metodologías que se tomaron de base para la determinación colorimétrica del cobre, en esta se indica el método, reactivo colorimétrico, reactivos enmascarantes, pH, longitud de onda utilizada, el rango de concentración aplicable; es importante referenciar cada metodología a la bibliografía de la cual se tomó la información.

Tabla 3.1 Métodos para la determinación de cobre

Método, reactivo y condiciones	Longitud de onda (nm)	Concentración (mgL ⁻¹)	Referencia
NRS 0.4%, buffer 0.5M acetado de sodio/ac. Acético, pH 7.	520	0.1-10	[48]
NRS 0.1%, tres distintos buffers, rangos de pH 3-11	550-517	0.25-65	[45]
Cuproína, cloruro de hidroxilamina.	546	2.3-30	[40]
Neocuproína-buffer(Tris) pH 8	450		[49]
Neocuproína-cloroformo	457	1-20	[50]
Batocuproína (BCS), buffer 10 mM fosfato de disodio/fosfato ácido de potasio pH 7.4	490nm		[51]
cuproína 0.04% en etanol, hidrocloreuro de hidroxilamina	545nm	0.05	[52]
Batocuproína 280 mgL ⁻¹ buffer acetato de sodio 40% y 10% cloruro de hidroxilamina pH 4.7 a 6.5,	478	0.005-0.05	[30]

Nota: los porcentajes que se manejan en la tabla son peso-volumen (P/v).

Entre los métodos citados en la tabla se muestran diferentes reactivos colorimétricos como NRS y las cuproínas (C, NC, BCS), las cuales son preparadas en metanol o etanol, debido a su baja solubilidad en agua, con estos reactivos se probó como agente reductor la hidroxilamina, la cual facilita la reducción del cobre y por lo tanto su determinación. Los rangos de pH para ambos métodos se debe ajustar entre 6.5 y 7.

3.2. Método de Referencia

Para este trabajo todas las soluciones se prepararon con agua bidestilada y los reactivos se utilizaron sin purificación adicional, las concentraciones de los patrones de cobre con los que se trabajó fueron desde 10 hasta 0.5 mgL⁻¹, en algunos experimentos con 0.1 mgL⁻¹, estos se prepararon en agua a partir de una solución stock de 1000 mgL⁻¹ sulfato de cobre (Cu₂SO₄) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) con 15 µL de una solución concentrada de ácido nítrico 12 M. En los primeros estudios, se agregaron 1.5 mL de una solución de ácido nítrico concentrado a dos soluciones, una solución patrón (Stok) de Cu²⁺ 1000 mgL⁻¹ y

otra de 100 mgL^{-1} y en las soluciones estándar de trabajo se agregó 1 mL de una solución de ácido nítrico 0.1 M.

3.2.1. Método del Nitroso R-Sal – Acetato de sodio

El método analítico tomado como referencia es el trabajo de Bustos O.[48], el cual se describe brevemente a continuación para la preparación de las soluciones de trabajo así como al método espectrofotométrico. En este primero trabajaron en un sistema Batch con soluciones patrón de cobre, desde 0.1 hasta 10 mgL^{-1} , solución buffer 0.5 M de acetato de sodio/ácido acético (pH 7) NRS al 0.4%; el espectro de absorción del complejo cobre-NRS se realizó desde los 370 a 550 nm, obteniendo la mejor respuesta a los 520 nm.

En el actual trabajo se adaptó la concentración del reactivo colorimétrico NRS y del ácido acético, además se optó por sustituir la solución buffer, por ser reactivos costosos y poco resistentes a las condiciones del ambiente, a continuación se describe la preparación y la nueva concentración de los reactivos utilizados durante la experimentación, y que se logró proponer e implementar en el Microanálizador de cobre (MFIACu), esta metodología analítica es específica para la determinación de cobre, teniendo como principales reactivos NRS y buffer de fosfatos.

Los patrones de cobre se prepararon de diluciones a partir de un stock de 1000 mgL^{-1} y de 100 mgL^{-1} , con estos se formó el complejo NRS-Cu. Se preparó una solución de 1.0602 mM nitroso-R sal (NRS) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) disolviendo 0.04 g de sal nitroso-R en agua desionizada y ajustando el volumen a 100 mL. La solución buffer de acetato de sodio/ ácido acético, pH 7 fue preparada disolviendo 67.6641 g de acetato de sodio (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) en 1000 ml de agua que contenía 2.76 mL de una solución 1 M ácido acético (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

El proceso de obtención de los espectros por el sistema en batch se describe a continuación: se toma una alícuota 2 mL de Cu (II), 2 mL de Buffer y 2 mL de NRS, se mezclan en tubos de plástico graduados, en estos por simple inspección se logra distinguir una variación en la tonalidad de las soluciones preparadas, figura 3.1, se miden para obtener espectros a diferentes concentraciones a partir de 0.5, 1, 3, 6 y 10 mgL^{-1} , las mezclas se evalúan en un espectrofotómetro UV-Vis de doble haz (Perkin Elmer, Lambda 25, Waltham Massachusetts, USA.), en un barrido desde 400 nm a 600 nm, para comprobar la longitud de onda, en el cual se obtiene el pico más alto de la absorbancia.

Variación del pH

El pH se varió agregando solución de 0.5 M ácido acético o 0.01 M hidróxido de calcio a la disolución, según se necesitara. Los blancos correspondientes se prepararon de manera similar pero en ausencia de cobre. La solución buffer 0.5 M ácido acético/acetato de sodio tiene una capacidad óptima de amortiguación en el rango de 3.76-5.76. La solución buffer se ajustó con ácido acético de la misma concentración, la absorbancia varía según los diferentes pH.

Se realizó el estudio en batch con la medición de muestras preparadas a diferentes valores de pH que contenían alícuotas de 2 mL de solución de 2 mgL^{-1} de Cu^{2+} , 2 mL de una solución buffer 0.5 M ácido acético/acetato de sodio pH 7 y 2 mL de solución 1.062 nM nitroso-R sal. Los valores de la señal analítica, absorbancia, fueron obtenidos a una longitud de onda de 500 nm en el espectrofotómetro (Perkin-Elmer Junior III).

3.2.2. Métodos de la cuprína, neocuprína y batocuprína

Bioquinolina 2,2'(cuprína) Batch

Adaptación de Hoste *et al*[40] se refiere al uso de cuprína como reactivo colorimétrico, la muestra real se agita con una solución de alcohol etílico incoloro de cuprína. La adaptación consiste en el cambio de alcohol isoamílico propuesto por alcohol etílico[52].

Se prepara cuprína $2.3 \times 10^{-3} \text{ M}$ en alcohol etílico, está probado que reacciona con los patrones de cobre preparados en agua tridestilada presentando coloración en concentraciones que van desde 0.25 hasta 10 mg/L. Se pudo observar que la cuprína tardó en disolverse aun con el agitador magnético, permaneciendo en agitación 60 s.

Se tomaron 2 ml de cuprína en alcohol etílico y se mezclaron con 2 mL de agua de mina neutralizada, este procedimiento de mezclarlo directamente con agua de efluente de mina se realiza para ver si se formaba un complejo coloreado e iniciar con la experimentación de las variables con este reactivo.

Neocuprína

A diferencia de la cuprína la neocuprína tiene una alta solubilidad en agua, por lo que se probó la metodología propuesta por Ohno *et al* [46] para la preparación de los reactivos y en la experimentación, la concentración del reactivo es de $4.15 \times 10^{-3} \text{ M}$, a este se le agregan 2 mL del buffer 0.5M de acetato de sodio/ácido acético

más 2 mL del estándar de cobre, se mezcla y se lleva al espectrofotómetro para realizar un barrido desde una longitud de onda de 370 a 600 nm.

Batocuproína

Esta se realiza la experimentación siguiendo la metodología propuesta por Horstkotte *et al*[30], a diferencia de la preparación del reactivo colorimétrico este se preparó en propanol. La concentración del reactivo colorimétrico es de 3×10^{-3} M, también se prueba una concentración de 0.25×10^{-3} M[51].

3.3. Adaptación de Metodología Analítica

Se procedió a buscar un buffer selectivo para la detección de metales pesados, específicamente cobre, en sustancias acuosas aplicando pruebas espectrofotométricas. Es importante comparar varios tipos de estas soluciones buffer para encontrar la que mejor funcione con nuestro método.

Se probaron dos variaciones propuestas de la solución de Gomori, una contiene 0.1 M KH_2PO_4 con 0.1 M K_2HPO_4 ; la otra contiene 0.5 M Na_2HPO_4 con 0.5 M NaH_2PO_4 H_2O . La primera se preparó pesando 1.36 g de KH_2PO_4 y 1.742 g K_2HPO_4 se colocaron en un vaso de precipitados de 50 mL con agua bidestilada sobre el agitador magnético hasta que quedaron disueltas, se pasaron a un matraz volumétrico ajustando a 100 mL con agua bi destilada; para el buffer de fosfatos de sodio se pesaron 3.54 g de Na_2HPO_4 y 3.54875 g NaH_2PO_4 H_2O , con el mismo procedimiento de la anterior, fueron preparadas y adaptadas para la experimentación probando con diferentes concentraciones hasta lograr resultados satisfactorios bajando la concentración de estas hasta 0.1 M.

Se prepararon soluciones buffer de concentraciones de 0.5 y 0.1 M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 ajustando los pH 7 con una solución de ácido sulfúrico, cuando fuera requerido. Dado que las muestras reales que se analizarán tienen un pH entre 7-9, se decidió utilizar la solución buffer NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 , cuya capacidad óptima de amortiguación está en el rango de 6.21-8.21.

Los patrones de cobre se prepararon de diluciones a partir de un stock de 1000 mgL^{-1} y de 100 mgL^{-1} , con estos se formó el complejo NRS-Cu

La metodología propuesta en este trabajo está basada en hacer reaccionar diferentes patrones de cobre con una solución buffer de fosfatos buffer 0.5 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ para después adicionar el reactivo colorimétrico 1.062 mM NRS (0.4% w/v). Una vez mezclados se logra obtener una tonalidad para cada concentración de cobre utilizada. Estas muestras fueron leídas es un

espectrofotómetro UV-Vis (Perkin Elmer, Lambda 25, Waltham Massachusetts, USA.). Todos los reactivos fueron grado analítico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Batch

Los experimentos se realizaron siguiendo el siguiente orden de los reactivos, alícuotas de 2 mL de Cu (II), 2mL de Buffer y 2 mL de NRS, se colocan en un tubo para ser agitadas ligeramente y vaciar a la cubeta del espectrofotómetro, en estos por simple inspección se logra distinguir una variación en la tonalidad de las soluciones preparadas, se miden para obtener espectros a diferentes concentraciones a partir de 0.1 0.5, 1, 3, 6 y 10 mgL^{-1} , las mezclas se evaluaron en un espectrofotómetro desde 430 hasta 600nm para determinar la longitud de onda en la cual se obtiene la mejor absorbancia.

El costo de preparación del buffer de fostatos de potasio es 13% más elevado respecto al buffer de fosfatos de Sodio, a pesar de la diferencia de concentración, y su durabilidad es de 72 horas, a partir de este tiempo, la solución empieza a cristalizar, por lo que se prefiere utilizar la solución buffer preparada con los reactivos de fostatos de sodios para mayor autonomía del MIFIACu.

Efecto del pH

Para estudiar el efecto de esta variable en la absorbancia del complejo se probaron dos soluciones buffer-reguladoras. Para la primera serie de experimentos se prepararon soluciones que contenían 1mL de Cu(II) 10 mgL^{-1} , 2 mL de Buffer y 2 mL de NRS 1.062 mM. De acuerdo a bibliografía, la formación del complejo tiene lugar en un intervalo de pH entre 5-9, por lo que se hace necesaria la elección de una solución buffer adecuada para mantener constante este valor en las disoluciones a medirse, se sabe que la muestra real a analizar tienen un pH entre 8-10, se decide probar la solución buffer 0.5 M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 , cuya capacidad óptima de amortiguación está en el rango de 6.21-8.21.

Interferencias

Uno de los puntos destacados de cualquier método nuevo es su límite interferente de otros elementos que puedan estar presentes en la matriz de la muestra. Por definición, la partícula de interferencia se comparte con la deseada en las respuestas instrumentales, en contraste con el efecto de la matriz que reduce la sensibilidad del método. Entonces, para verificar y evaluar la tolerancia de un límite de diferentes interferencias para el modelo propuesto, se estudiaron en detalle las interferencias debidas a varios cationes. Considerando que en la

mayoría de las medidas espectrofotométricas la aparición de interferencias surgen como consecuencia de reacciones competitivas entre el ligando y la especie interferente, por lo que se esperaba que la adición de los cationes a la disolución que contenía el cobre condujera a los resultados con su potencial de interferencia 2:2000. Para este estudio, se agregaron diferentes cantidades de las especies iónicas a una mezcla de cobre. Para ello se observa la variación que presenta la absorbancia de una concentración de 2 ppm, los metales utilizados para el estudio de interferencias se eligieron por información en base a bibliografía, la muestra, agua de efluente, tomada del último represa de la mina desde donde se descarga al arroyo fue analizada por espectroscopia de absorción atómica. Los resultados de la composición elemental por esta técnica de análisis se muestran Tabla 3.2. El análisis fue para conocer el contenido de la muestra, los elementos que pudieran interferir en la determinación del cobre, encontrándose algunos elementos metálicos.

Tabla 3.2 Resultado de análisis por Espectrometría de absorción atómica

Fe (mg/L)	Co (mg/L)	Cu (mg/L)	Zn (mg/L)	Cd (mg/L)	Pb (mg/L)
0.14	< 0,02	0.30	< 0,1	< 0,02	< 0,02

Para el estudio de las interferencias de los cationes todas las muestras y los blancos correspondientes se prepararon en matraces de 50 mL siguiendo el procedimiento descrito.

Tabla 3.3 Tabla de cationes analizados como interferencia

Grupo	Cationes
2	Calcio ²⁺
14	Pb ²⁺
1ª Serie de transición	Mn ²⁺ , Fe ³⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Zn ²⁺
2ª Serie de transición	Ag ¹⁺ , Cd ²⁺

Debido a que el hidróxido de calcio, Ca(OH)₂, se usa para neutralizar el bajo pH del agua de extracción de la mina, se probaron concentraciones aumentadas de Ca²⁺ con concentraciones fijas de Cu²⁺ para determinar su interferencia en la determinación de las concentraciones de Cu²⁺. Las concentraciones de Ca²⁺ analizadas fueron 0, 2, 10, 50, 100, 200, 1000 y 2000 ppm en soluciones que contenían 2 ppm de Cu²⁺. Se usó una solución tampón NaH₂PO₄ / Na₂HPO₄ 0.5 M con pH 7.21, volumen de inyección de 830 µL, caudal 350 µL / min, solución de sal nitroso-R al 1.062 mM

Se estudiaron concentraciones de Cd^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} and Co^{2+} en siguientes concentraciones; 5, 500 y 5000 ppm para verificar sus posibles efectos de interferencia en la determinación de Cu^{2+} . Los estudios se realizaron con una solución buffer $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0.5 M con pH 7.21, volumen de inyección de 830 μL , caudal 350 $\mu\text{L} / \text{min}$, solución de sal nitroso-R al 1.062 mM.

3.4. Diseño y Fabricación de Plataformas micofluídicas

Para la fabricación de las plataformas el procedimiento varía a partir de la etapa de alineación por las características del material.

La figura 3.1 muestra el procedimiento del proceso de fabricación de los dispositivos utilizados en LTCC. El proceso comienza con el diseño de cada una de las capas del dispositivo, para enseguida continuar con el mecanizado de las mismas. Después continúa la alineación y laminación por termo-compresión para finalizar con la etapa del sinterizado.

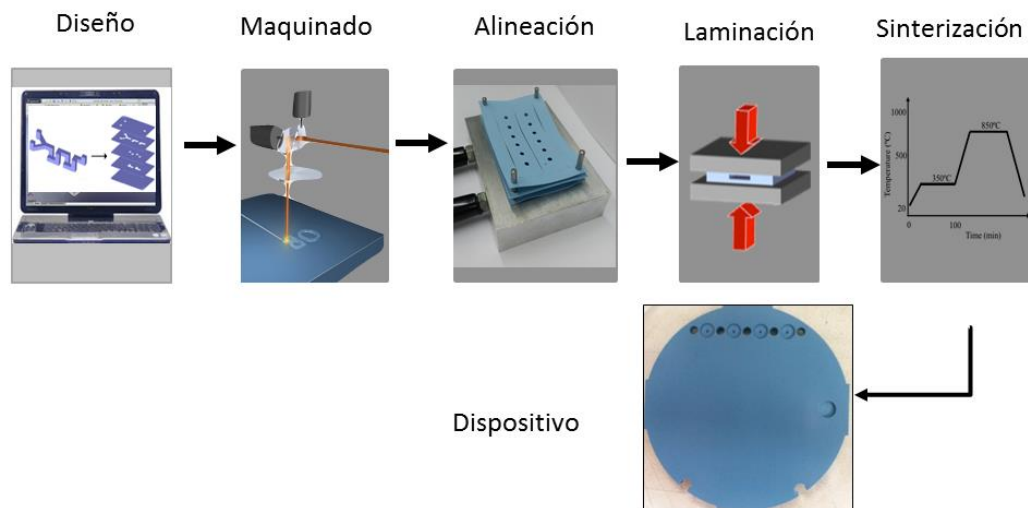


Figura 3.1 Diagrama del proceso de fabricación de plataformas en LTCC

Copolímero de olefina cíclica

En primer lugar se emplea el diseño de la plataforma microfluidico y de cada una de las capas que conforman la estructura tridimensional de la plataforma microfluidico. Posteriormente el microfresado es esencial para la fabricación de las

plataformas desarrolladas en esta tesis. Una vez se han mecanizado todas las capas, se procede al sellado de las plataformas.

El proceso de sellado se lleva a cabo mediante termocompresión para laminar las distintas capas que conforman la plataforma. De esta manera se obtiene un sistema microfluidico tridimensional. El proceso de fabricación se muestra en la Figura 3.2.

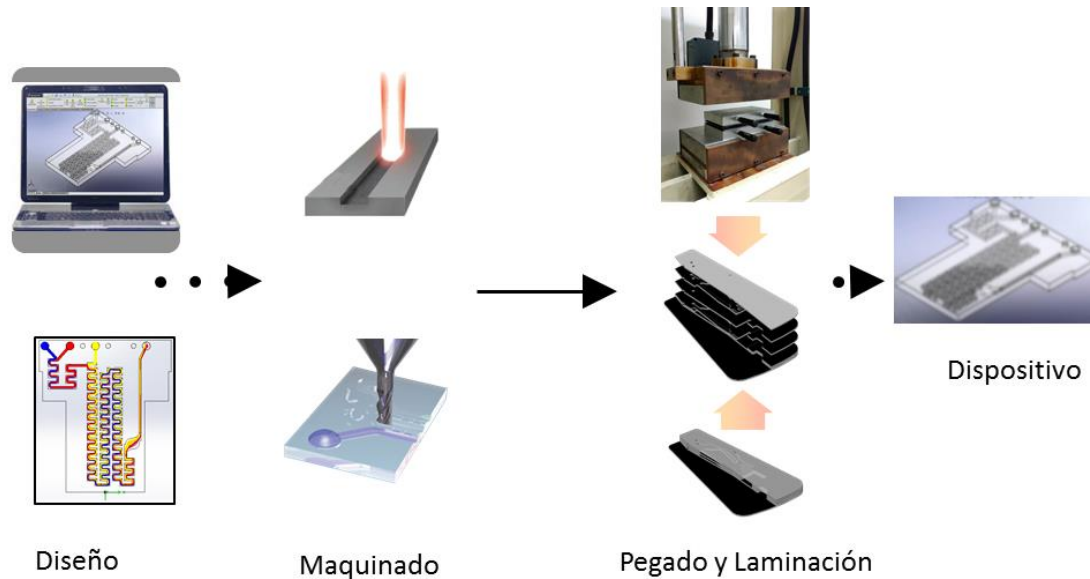


Figura 3.2 Diagrama del proceso de fabricación de plataformas en COC

3.5 Integración de módulos

El Módulo microfluidico está constituido por un dispositivo microfluidico, tubos de diferentes materiales, anillos selladores (*O-Rings*) y conectores, estos son los responsables de la conexión entre el módulo microfluidico y el módulo fluidico.

El Módulo del sistema de detección óptica es constituido por un LED de 505 nm y un fotodiodo integrados en un lector de dispositivos microfluidicos. El lector de dispositivos microfluidicos

El módulo de control electrónico es el encargado de controlar los elementos de acción final (válvulas y bomba), realizar las mediciones y procesarlas. Se trabajó

con un equipo controlador de válvulas y una tarjeta de adquisición de datos que fueron los encargados de controlar los equipos del sistema fluídico así como de transmitir la señal y generarla en la pantalla de la computadora. En lo que el modulo El módulo de control electrónico se estaba trabajando en su desarrollo.

El equipo y el procedimiento del FIA se muestra en la Figura 3.3, La propulsión de las disoluciones es mediante una bomba peristáltica, la solución buffer y el reactivo colorimétrico se mezclan con la muestra en la plataforma fluidica (M), los canales internos del dispositivo de COC son de 1 mm de diámetro permitiendo el paso del flujo a 350 uL/min donde se produce la reacción para formar el complejo NRS-Cu, esta es conducida a la cámara de detección especialmente diseñada en el dispositivo de COC para la detección, se mide la absorbancia del complejo coloreado formado en el espectrofotómetro a través del detector los resultados se envían a una computadora, en dónde podemos observar la señal analítica generada, para formar las curvas de calibración se utiliza un equipo que controla las válvulas, Flow-Test (BioTray ,Villeurbanne, Francia) por medio de multi conmutación, los tiempos de abertura de cada válvula deben ser programados e introducidos a la interface del flow-test. Mientras tanto, la muestra llena un bucle que permite definir un volumen de inyección que se incorpora al sistema de flujo mediante una válvula de inyección controlada para que se mezcle con el resto de las soluciones.

La velocidad de flujo correspondiente en cada tubo se midió durante el tiempo que lleva llenar 5 mL en un tubo de ensayo. El caudal total debe ser la suma del caudal en cada tubo.

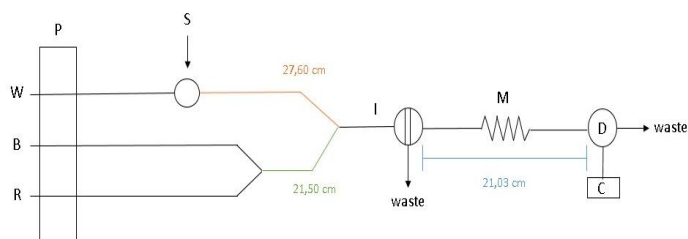


Figura 3.3 Estructura del sistema de inyección de flujo. P - bomba peristáltica; W - agua; B - Solución buffer 0.5M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 ; R - 0.04% (p / v) reactivo nitroso-R; S - muestra; I - válvula de inyección; M - mezclador; D - espectrofotómetro; C - computadora.

En los diferentes microsistemas analíticos utilizados y sus respectivos sistemas de detección implementados se ha utilizado un instrumento virtual programado en LabVIEW que permite visualizar los resultados de las mediciones para su posterior análisis.

3.6 Optimización de parámetros

Utilizando el MFIACu se procedió a la caracterización hidrodinámica del sistema de forma a determinar el volumen de inyección y caudal de forma a obtener una señal analítica en estado estacionario. Para un caudal de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, se obtuvo una señal analítica (Absorbancia), para un volumen de inyección superior a 900 μL .

En la configuración (2) del MFIACu V0 se modificó el módulo fluidoico, utilizando filtros jeringa (Whatman® Puradisc) de forma de eliminar los problemas relacionados con crecimiento de biomasa. Por lo que se procedió verificar a el

funcionamiento del MFIACu descrito, basado en la utilización de la válvula 2 en la inyección de muestras de calibración y de la válvula 1 en la inyección de muestras reales, al agregar a la configuración fluidica del MFIACu los filtros jeringa, se optimizaron los parámetros hidrodinámicos para las distintas configuraciones

Se desarrolló un nuevo software, en el lenguaje C++, que permite programar el microprocesador del módulo electrónico y así operar el MFIACu como un sistema autónomo. El software (SW-MFIACu 2) desarrollado permite el control de todos los actuadores y registro de los datos sensores del MFIACu, así como el procesamiento matemático su señal analítica, tornando el MFIACu un sistema autónomo, independiente de una computadora.

3.7 Instalación del MFIACu

El microanalizador de cobre en flujo continuo se instaló del 16 al 20 de Abril de 2018, en la Mina La Parreña, unidad Milpilllas, Sonora. El MFIACu, al ser instalado en condiciones reales, tiene como finalidad la monitorización online, de forma continua, de la concentración de Cu presente en las aguas de mina que se vierten al arroyo Milpilllas.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

4.1 Métodos de referencia

4.1.1 Método de Buffer de acetato-NRS

El proceso de obtención de los espectros por el sistema en batch para esta metodología se describe a continuación: se toma un alícuota 2 mL de Cu^{2+} , 2 mL de Buffer y 2 mL de NRS, se mezclan en tubos de plástico graduados, en estos por simple inspección se logra distinguir una variación en la tonalidad de las soluciones preparadas, incluido el blanco.

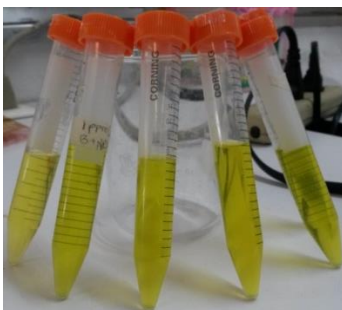


Figura 4.1 Blanco y patrones de cobre a diferentes concentraciones, 1, 3, 6 y 10 mgL^{-1} .

El método de referencia en el que se utiliza como buffer una disolución 0.5 M de Acetato de sodio/ácido acético, ha sido probado en batch, semi continuo, por lo que para la siguiente experimentación como es la elección de la concentración del NRS, calibración, triplicados de calibraciones, entre otros, se harán en sistema de análisis continuo esto debido al número de pruebas y repeticiones que cada una de las variables a experimentar representa. En los espectros de la Figura 4.2, la máxima absorbancia del complejo aparece a alrededor de 495 nm, por lo que en

adelante, los diferentes estudios de optimización del sistema se llevaron a cabo a una longitud de onda de 500 nm.

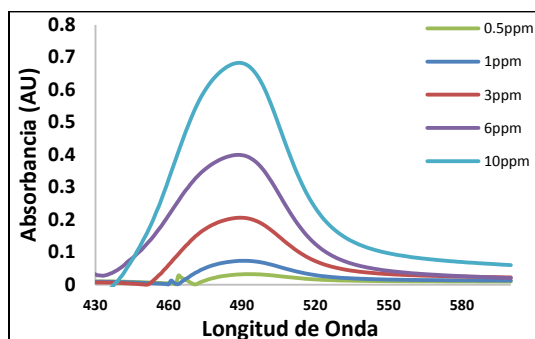


Figura 4.2 Espectros en discontinuo a distintas concentraciones 0.5, 1, 3, 6 y 10 mgL⁻¹

En los espectros de las concentraciones mayores, se tiene coincidencia en la longitud de onda de su señal analítica detectada. En la Figura 4.3 Resultando la ecuación para la determinación de cobre de la manera siguiente: $Y = 0.0623 (\text{Cu}) - 0.0005$, y el coeficiente de correlación fue de 0.999.

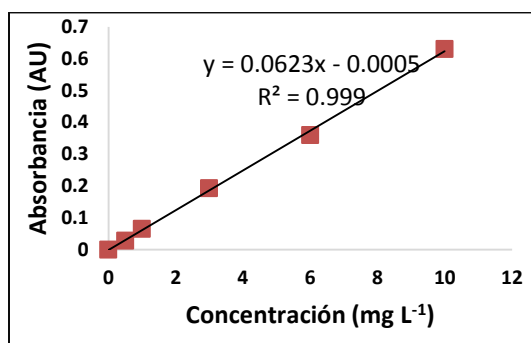


Figura 4.3 Ajuste lineal y coeficiente de correlación de las diferentes concentraciones de Cu²⁺.

En esta etapa se pudo obtener la reacción colorimétrica utilizando la muestra y los patrones de cobre a un pH 7, neutro, debido a que la muestra real, el agua de efluente de mina, se encuentra a 8.5, un pH mayor del neutro. Cabe destacar que la determinación se realizó con los reactivos a temperatura ambiente.

Con la metodología propuesta por Bustos *et al*, se graficó Absorbancias vs pH, en la Figura 4.4 se observa que el pH de la solución buffer afecta significativamente a la Absorbancia. Para pH 7 se obtiene el valor más alto de la absorbancia, por lo que se debe ajustar la solución buffer a un pH 7 manteniéndola neutra.

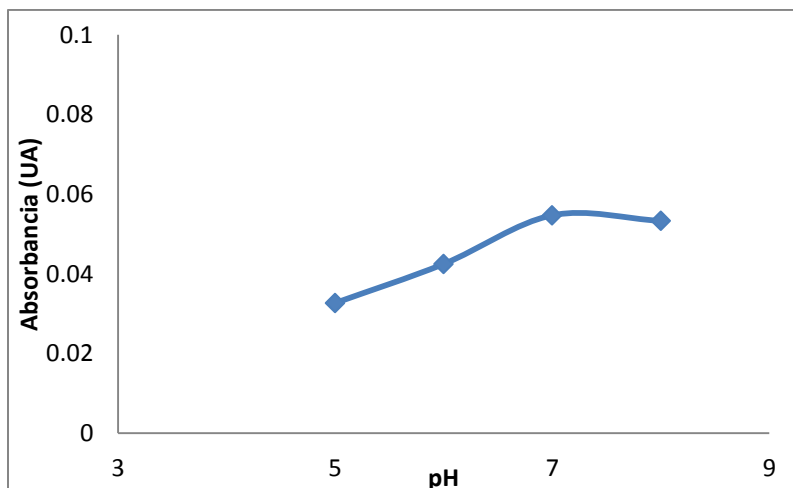


Figura 4.4 Influencia del pH sobre la absorbancia

Efecto de las concentraciones del reactivo colorimétrico NRS

Una vez seleccionado el pH adecuado para la formación del complejo a detectar espectrofotométricamente, se varió la concentración del reactivo colorimétrico (NRS) entre 0.02 y 0.1 % w/v. El complejo de Nitroso-R sal con el cobre tiene una estequiometría Cu (II): nitroso-R sal 1:2 y un exceso de reactivo es necesario para el desarrollo del color. Las concentraciones de Nitroso-R estudiadas fueron 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.08%, 0.1% w/v. Todas las concentraciones de nitroso-R sal probadas fueron suficientes para formar complejos con Cu (II) de manera efectiva, la respuesta de la absorbancia se muestra en la Figura 4.5. Para el estudio se prepararon las diferentes disoluciones, este se realizó con una inyección de una solución estándar de cobre de 20 mgL^{-1} , solución buffer 0.5 M ácido acético/acetato de sodio pH 7, volumen de inyección de $830 \mu\text{L}$, caudal de $350 \mu\text{L} / \text{min}$, se midieron espectrofotométricamente a 500nm .

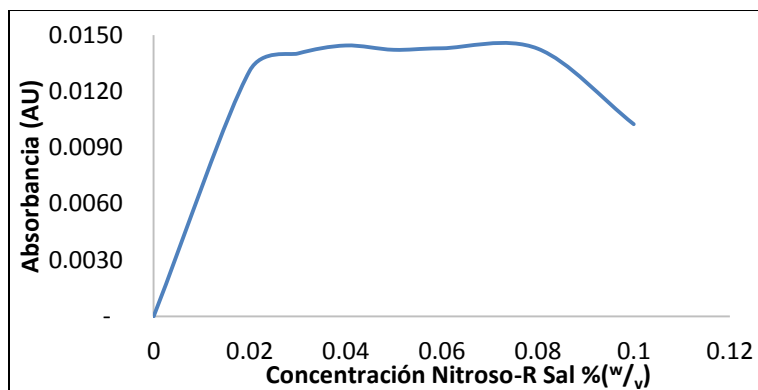


Figura 4.5 Variación de Absorbancia vs Concentración porcentual del Nitroso R-Sal

En estas condiciones el reactivo estaba en exceso y los valores de absorbancia obtenidos para cada una de las muestras ensayadas a partir de una concentración de 0.02% se muestran en el gráfico representado arriba, en donde se observa que la concentración óptima de sal nitroso-R fue de 0.4% igual a 1.062 mM.

Determinación del Caudal

Se decide probar dos valores de caudal para evaluar las mediciones que se muestran gráficamente en la Figura 4.6. Para caudales de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$ y 750 $\mu\text{L}/\text{min}$. Los valores de Absorbancia que se obtuvieron se muestran en la Tabla 4.1 en donde se observa que el mejor caudal fue el de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$; estos experimentos se realizaron utilizando la solución de trabajo de Cu^{2+} de 10 mgL^{-1} , en una solución buffer de 0.5 M ácido acético/acetato de sodio de pH 7, volumen de inyección de 830 μL , solución de sal nitroso-R al 1.062 mM, y con una longitud de onda de 500 nm.

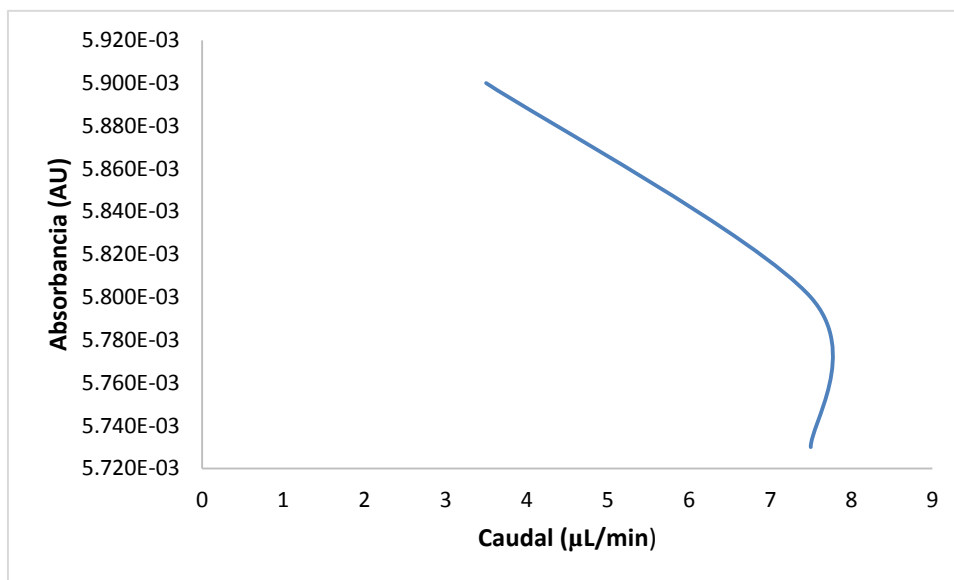


Figura 4.6 Medida de absorbancia para dos caudales 350 y 750 $\mu\text{L}/\text{min}$

Tabla 4.1 Valores de absorbancias para caudales de 350 y 750 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Caudal	Base (Absorbancia)	Altura del pico (Absorbancia)	Resultado
750	-2.500E-04	5.480E-03	5.730E-03
	-6.000E-04	5.200E-03	5.800E-03
350	-2.950E-03	2.950E-03	5.900E-03
	-2.950E-03	2.950E-03	5.900E-03

Volumen de inyección

Los volúmenes de inyección estudiados fueron 250, 580, 830, 1000, 1250 y 1580 μL (Figura 4.7). Para el primer análisis el valor óptimo del volumen de inyección, se utilizó una solución de trabajo Cu^{2+} de 20 mgL^{-1} con los distintos valores de inyección considerados, solución buffer de ácido 0.5 M acético/acetato de sodio pH 7, caudal de $350 \mu\text{L} / \text{min}$, 1.062 mM de solución de sal nitroso-R a una longitud de onda de 500 nm .

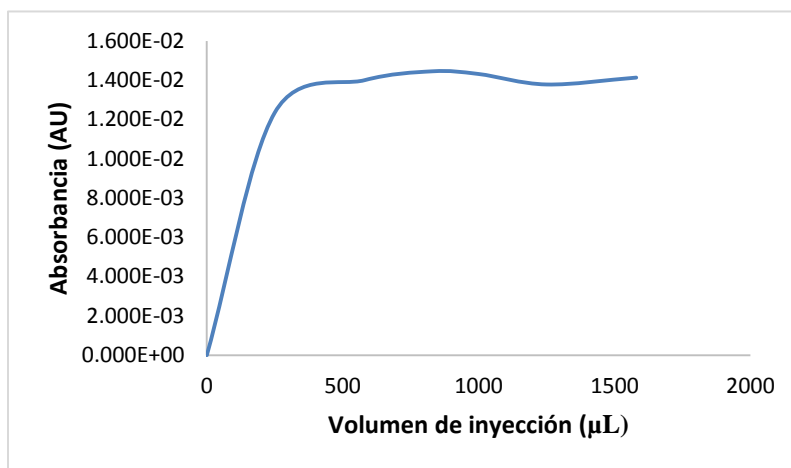


Figura 4.7 valores de Absorbancia VS volúmenes de inyección.

4.1.1.1 Curvas de Calibración.

Una vez que se estudiaron y optimizaron todas las variables químicas e hidrodinámicas que pudieran afectar al sistema de medida, se procede al análisis de aquellas características analíticas que permiten evaluar la bondad de las nuevas metodologías desarrolladas.

La Figura 4.8 muestra la curva de calibración obtenida para un rango de concentraciones entre 0 y 20 mgL^{-1} de Cu^{2+} , observándose un comportamiento lineal. Se realizó con la solución buffer 0.5 M ácido acético / acetato de sodio con pH 7, volumen de inyección de $830 \mu\text{L}$, caudal $350 \mu\text{L} / \text{min}$, 1.062 mM de nitroso-R solución sal, obteniendo como respuesta la ecuación: $y = 7.602\text{E-}04(\text{Cu}) - 1.283\text{E-}04$. $R^2 = 9.995\text{E-}01$

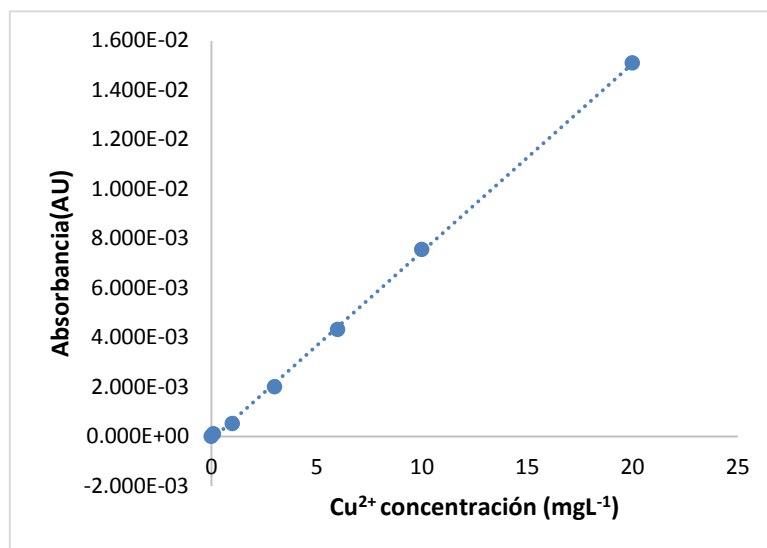


Figura 4.8 Recta de calibración buffer acetato de sodio/ ácido acético

Inicialmente, se prepararon dos soluciones estándar de Cu^{2+} , 1000 mgL^{-1} y 100 mgL^{-1} , a las que se agregaron 1.5 mL ácido nítrico al 65% de pureza. Se utilizó una solución buffer 0.5 M ácido acético / acetato de sodio. La Figura 4.9 muestra la curva de calibración por triplicado para cada concentración medida, en esta se observa inestabilidad para recuperar la línea base después de cada medición, esto se debe a la comunicación del módulo electrónico, con los datos de las absorbancias de las curvas de calibración se pueden obtener los valores de la desviación estándar, límite de cuantificación y límite de detección Tabla 4.2.

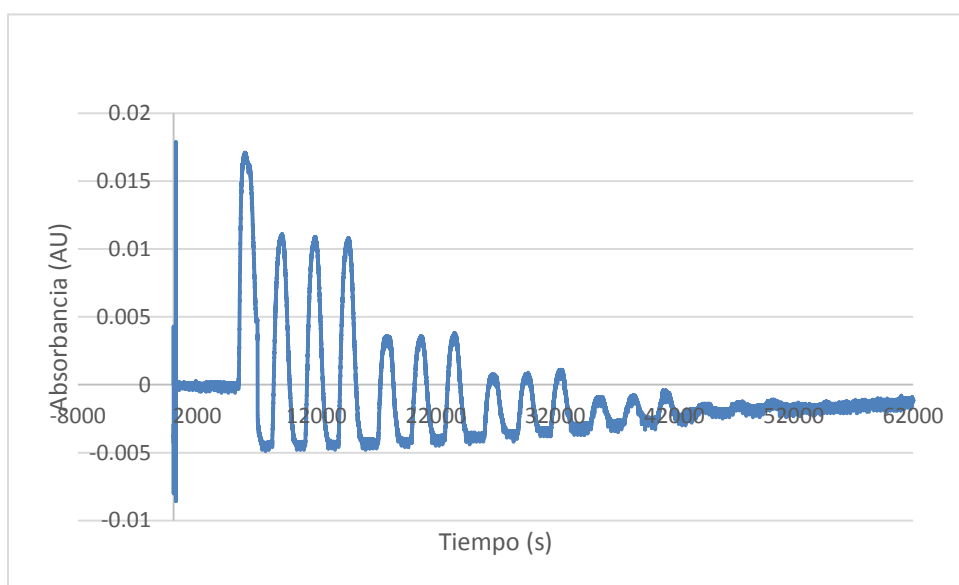


Figura 4.9 Curvas de calibración por triplicado para concentraciones de 20, 10, 6, 3, 1 y 0.1 mgL^{-1} a partir de una solución de 1000 ppm con 1.5 ml de ácido nítrico.

Tabla 4.2 Datos de absorbancia de desviación estándar, límite de cuantificación y detección.

Desviación estándar	1.532E-04
Desviación estándar x 10	1.532E-03
Desviación estándar x 3	4.596E-04
Límite de cuantificación	2.184E+00
Límite de detección	7.738E-01

Después de la medición del pH del producto de la reacción (solución buffer + solución Cu^{2+} + nitroso-R sal), se agregaron solo 15 μL de solución concentrada de ácido nítrico a las soluciones, para mantener el metal en disolución. La altura de pico obtenida con las nuevas soluciones de trabajo es más alta para una concentración de Cu^{2+} de 20 mgL^{-1} , esta se preparó a partir de una solución Stock de 1000 mgL^{-1} . Las soluciones de trabajo Cu^{2+} , cuya concentración fue de 6, 3, 1 y 0.1 mgL^{-1} . Se realizó la recta de calibración Figura 4.10 recta de calibración con 15uL de ácido nítrico con las siguientes condiciones: solución 0.5 M de ácido acético/acetato de sodio con pH 7, volumen de inyección de 830 μL , caudal de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, solución de sal nitroso-R al 1.062mM y como respuesta $y = 1.302\text{E-}03(\text{Cu}) - 1.183\text{E-}03$, $R^2 = 9.790\text{E-}01$

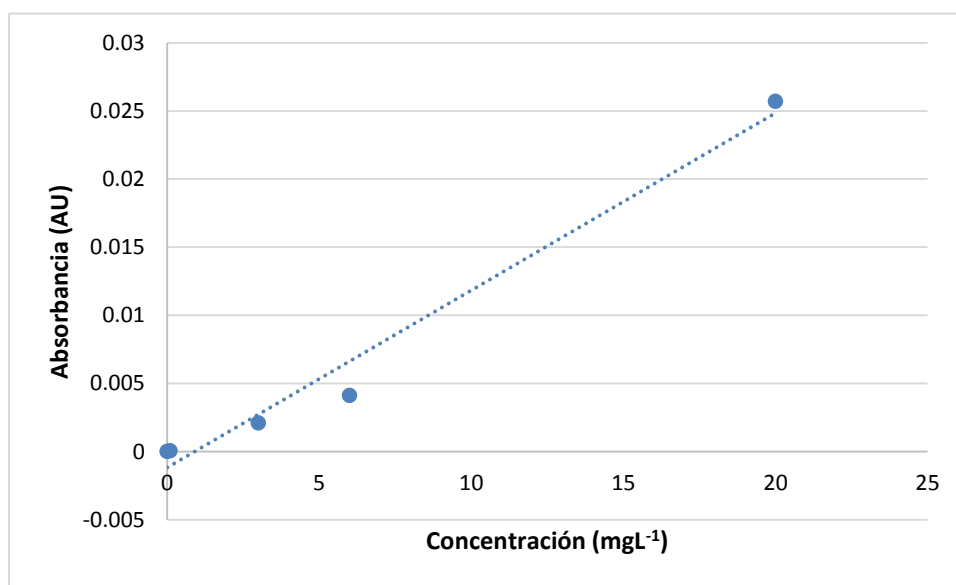


Figura 4.10 recta de calibración con 15uL de ácido nítrico

Se realizó una gráfica de calibración por triplicado, con una solución buffer 0.5 M ácido acético / acetato de sodio con pH 7, volumen de inyección de 830 μL , caudal de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, solución de sal nitroso-R al 1.062 mM, para comparar las medidas

de la absorbancias obtenidas, en la gráfica se observa que las absorbancias fueron mejores para las concentraciones preparadas a partir de la solución de 100 mgL⁻¹ sin agregar ácido nítrico a las mezclas preparadas. La gráfica Figura 4.12 muestra la recta de calibración, la ecuación que resulta de la calibración hecha por triplicado: $y = 1.266E-03(\text{Cu}) + 1.792E-04$, $R^2 = 9.995E-01$. Parámetros estadísticos de la absorbancia de soluciones preparadas a partir de un Stock de 100 mgL⁻¹, sin ácido nítrico se muestran en la tabla 4.3.

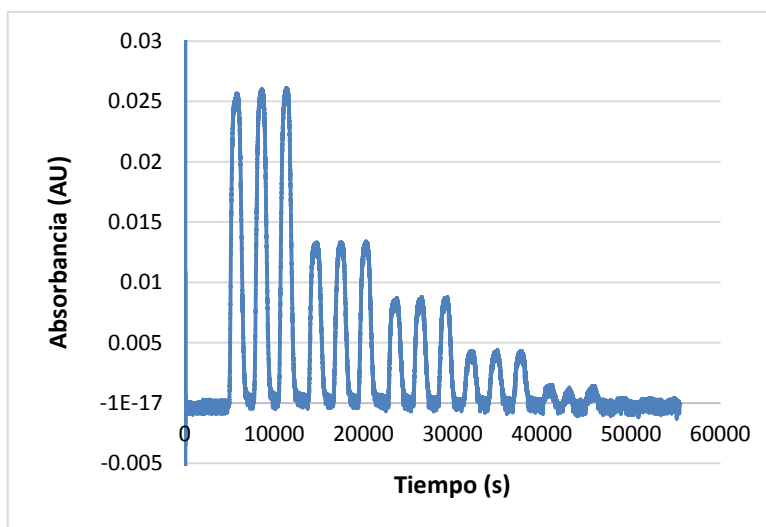


Figura 4.11. Curva de calibración por triplicado de soluciones preparadas a partir de un Stock de 100 ppm sin agregar ácido nítrico

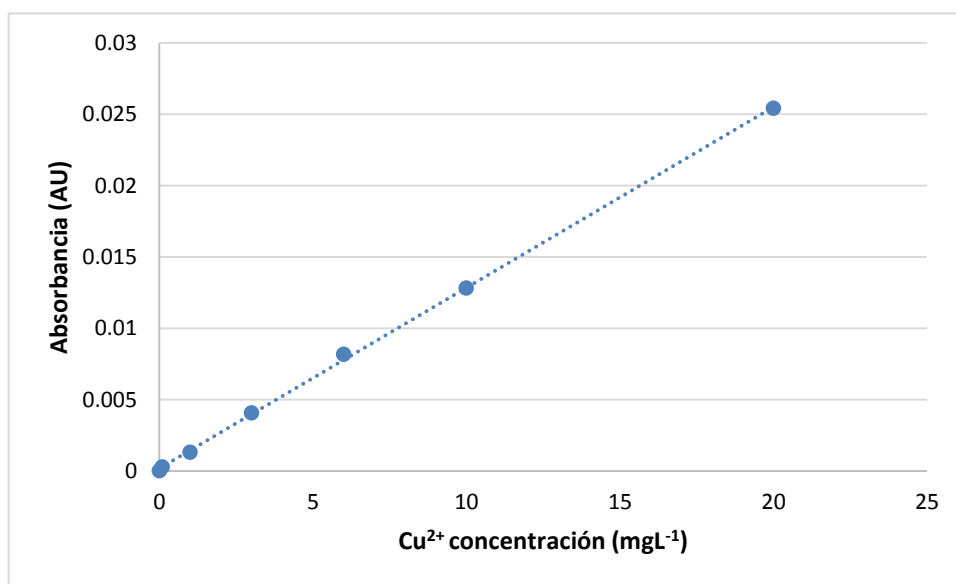


Figura 4.12 Curva de calibración de soluciones preparadas a partir de un Stock de 100 mgL⁻¹ sin agregar ácido nítrico

Tabla 4.3 Parámetros estadísticos de la absorbancia de soluciones preparadas a partir de un Stock de 100mgL^{-1} , sin ácido nítrico

Desviación estándar	1.644E-04
Desviación estándar x 10	1.644E-03
Desviación estándar x 3	4.932E-04
Límite de cuantificación	1.111E+00
Límite de detección	2.258E-01

4.1.2 Métodos de la cuprina, neocuproína y batocuprina

Bioqinolina 2,2'(cuproína) Batch

Se tomaron 2 mL de cuproína en alcohol etílico y se mezclaron con 2 mL de agua de mina neutralizada y 2 mL de solución buffer, este procedimiento de mezclarlo directamente con agua de efluente de mina se realizó para ver si es conveniente iniciar con la experimentación de las variables con este reactivo colorimétrico. El resultado es una mezcla opaca, como se muestra en la Figura 4.13, al hacer contacto las dos soluciones se torna blanca opaca, se puede percibir que la mezcla reacciona exotérmicamente, además con el paso de unos pocos segundos se separan las fases.

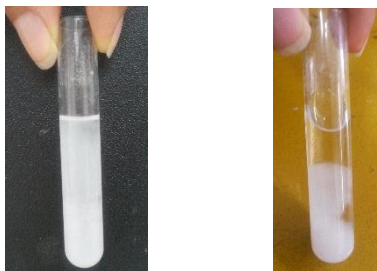


Figura 4.13 Mezcla de Curpoína con muestra real

Se probó la cuproína con los diferentes patrones preparados en agua tridestilada, y el resultado fue una coloración violeta, la tonalidad de la coloración es directamente proporcional a la concentración, es decir, si la concentración del patrón baja la coloración también. En la mezcla con la más baja concentración

casi es imperceptible la tonalidad violeta que da la cuproína. A continuación se muestra el comportamiento de la cuproína con los patrones de cobre (Figura 4.14).

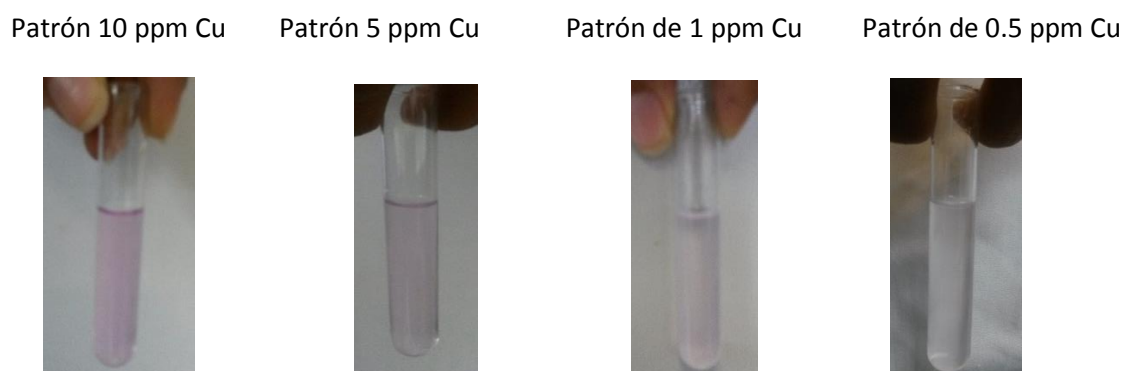


Figura 4.14 Curproína con estándares de cobre

Neocuprina

La mezcla con los estándares de cobre con buffer de fosfatos y este reactivo da una coloración amarillenta muy ligera, utilizando cloruro de hidroxilamina ($\text{H}_3\text{NO HCl}$, sigma aldrich), fue complicado obtener curvas de calibración, en flujo continuo debido a que la reacción con el agente reductor es exotérmica, por lo que se decide cambiar a peróxido de hidrógeno 0.1 M, con este reactivo se logran detectar picos muy pequeños en una longitud de onda de 480 nm, es importante desgasificar previamente la solución de la neocuprina, la gráfica de los espectros para concentraciones igual y menores a 5 mgL^{-1} , se presenta con mucho ruido y es complicada realizarla por triplicado, en flujo continuo, Figura 4.15

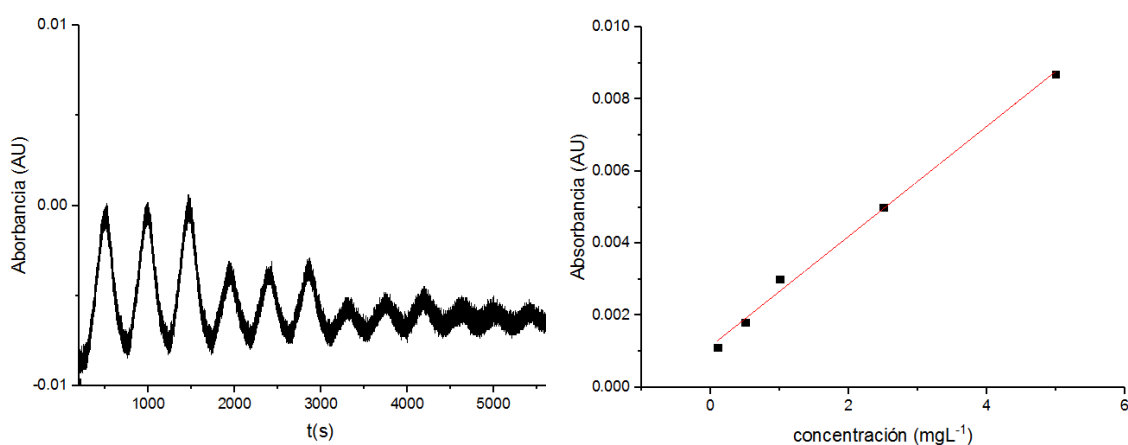


Figura 4.15 curvas y recta de calibración con Neocuprina con estándares de cobre de 5, 2.5, 1 y 0.5 mgL^{-1}

Batocuproína

Se realiza la experimentación siguiendo la metodología propuesta por Horstkotte et al[30], pero la mezcla de la preparación del reactivo colorimétrico se cambia y se prueba con propanol. La concentración del reactivo colorimétrico es de 3 mM, también se prueba una concentración de 0.25 mM [51] picos a 470 nm Figura 4.16.

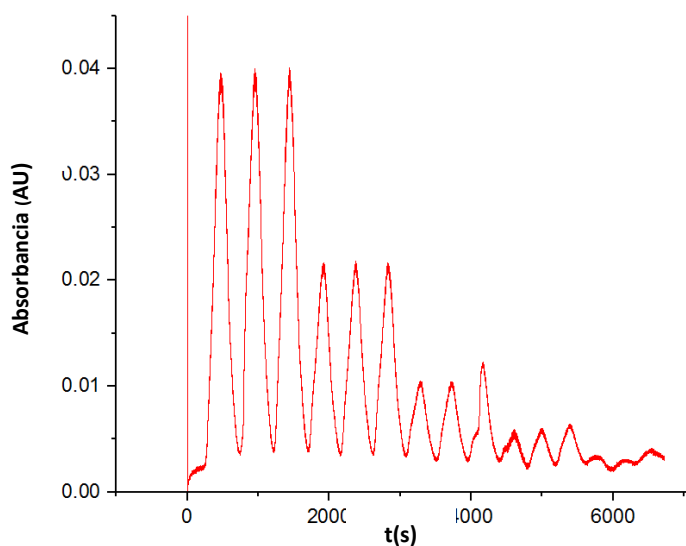


Figura 4.16 curvas de calibración por triplicado con Batocuproína, estándares de Cu^{2+} de 5, 2.5, 1,0.5 gmL^{-1}

4.2 Adaptación de metodología buffer de fosfatos de sodio

Experimentación de la metodología analítica para la detección de cobre $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$.

En primer lugar se comprobó la formación del complejo entre el catión Cu (II) y el reactivo colorimétrico (NRS). El espectro del blanco fue preparado con 1 mL de solución buffer of 0.5 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ y 1 mL solución de NRS 1.062mM frente a la mezcla de las disoluciones de los reactivos, 1 mL de una solución de trabajo a 10 mgL^{-1} de Cu (II) e inmediatamente se registró el espectro del complejo Cu (II)-NRS. Los espectros de absorción del complejo se midieron en un rango de longitud de onda de 370-550 nm. Los resultados se presentan a continuación Figura 4.17.

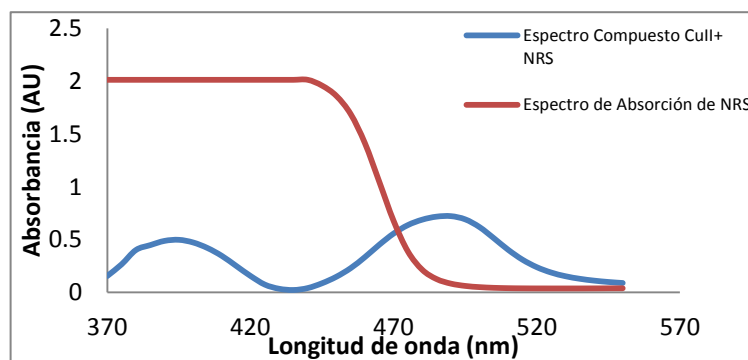


Figura 4.17 Espectro de Absorción blanco: reactivo buffer- NRS y complejo Cu(II)-NRS

La Figura 4.18 y la Figura 4.19, se presentan los espectros con cada buffer preparado: 0.1 M KH_2PO_4 con 0.1 M K_2HPO_4 (Fosfatos de potasio) y 0.25 M Na_2HPO_4 con 0.25 M NaH_2PO_4 (fosfatos de sodio), se observa en cada uno de los espectros que la máxima absorbancia del complejo es a 500 nm, por lo que los diferentes estudios para optimización del sistema se llevaron a cabo con esa longitud de onda.

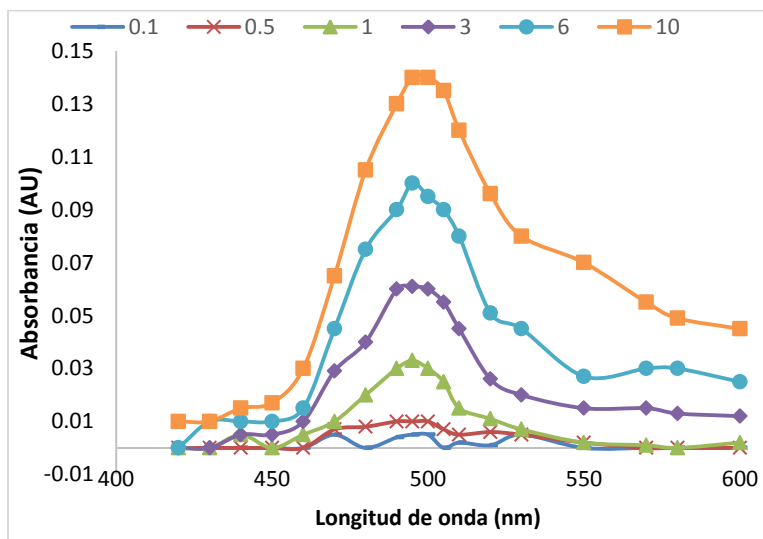


Figura 4.18 Espectro del buffer fosfatos de potasio

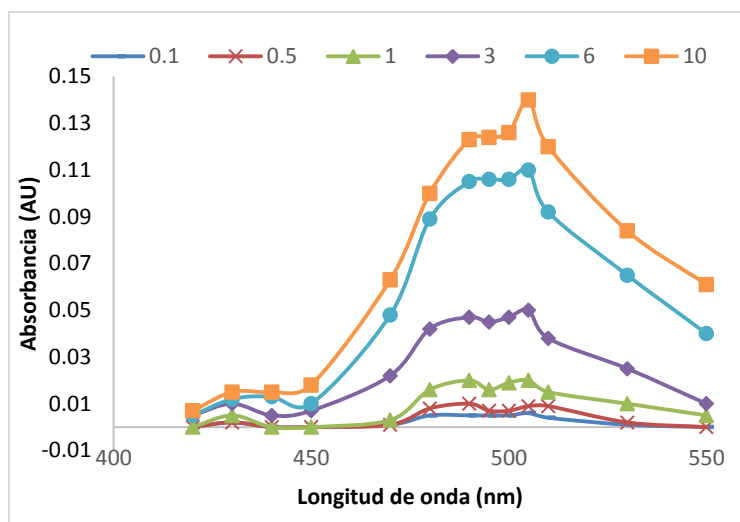


Figura 4.19 Espectro de buffer de Fosfatos de Sodio

Las medidas de absorbancias de ambas soluciones buffer se realizaron en batch, en el espectrofotómetro, se puede observar que la diferencia entre las absorbancias de las concentraciones de 10 mgL^{-1} tiene una diferencia no significativa con un valor de 0.014.

4.2.1 Optimización de las condiciones de formación del complejo

Efecto del pH

Para estudiar el efecto de esta variable en la absorbancia del complejo se probaron dos soluciones reguladoras de pH (buffer). Para la primera serie de experimentos se prepararon soluciones que contenían 1 mL de Cu(II) 10 mgL^{-1} , 2 mL de Buffer y 2 mL de NRS 1.062 mM. De acuerdo a bibliografía, la formación del complejo tiene lugar en un intervalo de pH entre 5-9, por lo que se hace necesaria la elección de una solución buffer adecuada para mantener constante este valor en las disoluciones a medirse, se sabe que la muestra real a analizar tienen un pH entre 8-10, se decide probar la solución buffer 0.5M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$, cuya capacidad óptima de amortiguación está en el rango de 6.21-8.21. Se realizaron experimentos para obtener la medida de la absorbancia a la longitud de onda elegida, 500 nm, para un buffer de fosfatos, la información de estos se encuentra las cuales están graficadas en la Figura 4.20, en esta se puede observar que en el intervalo entre 5-8 de pH la formación del complejo tiene lugar,

se elige trabajar un valor de pH 7, en este podemos tener un valor de absorbancia sin tener que ajustar el pH con una solución ácida. En la Tabla 4.4 se muestra la precisión con los datos del límite de detección (LD) y cuantificación (LC), así como la desviación estándar (SD y SD3) de las mediciones hechas, todos los valores mostrados son resultado de la media de tres medidas repetidas.

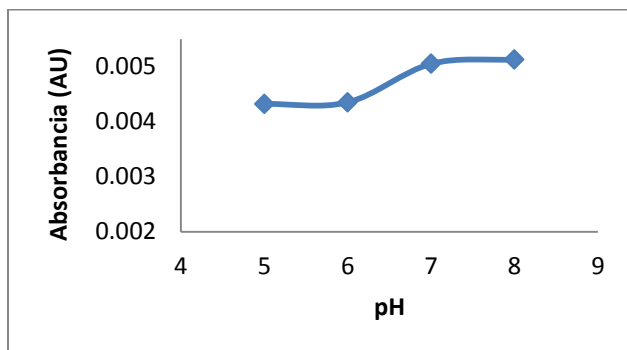


Figura 4.20 Efecto del pH sobre la absorbancia del complejo Cu(II)-NRS.

Tabla 4.4 Datos del límite de detección (LD) y cuantificación (LC), así como la desviación estándar (SD y SD3)

Desviación estándar	7.59E-05
Desviación estándar x 3	2.28E-04
Límite de Cuantificación	0.466
Límite de Detección	0.0658

La disolución reguladora formada por el sistema del ácido fosfórico, puede intercambiar hasta tres protones. La solución se preparó a través de una solución de 0.5 M Fosfatos 2-hidrato de di sodio, con un pH a 7.11, dando como resultado una solución buffer que contiene 0.25 M en forma de H_2PO_4^- y 0.25 M en forma de HPO_4^- . Así la utilización en el intervalo de pH 7-8 vendrá regido por el intercambio de un protón del anión H_2PO_4^- .

Una vez seleccionadas las condiciones de acidez del complejo, se prepararon distintas disoluciones, en las que se varió la concentración de la solución buffer, 0.025 M, 0.05 M y 0.1 M y se midieron en un espectrofotómetro a 500 nm, los resultados de las mediciones se muestran en la Figura 4.21.

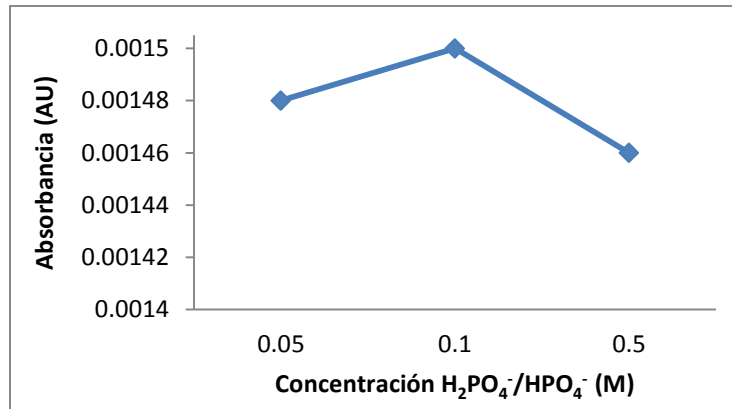


Figura 4.21 Variación de la concentración del buffer de fosfatos de Sodio

El aumento en la concentración de la solución buffer tiene una ligera influencia sobre la absorbancia, siendo la concentración de 0.1 M la elegida para trabajar en la solución buffer, esta tiene un pH de 6.98, sin necesidad de ajustar con alguna solución acida (H₂SO₄) o básica (CaOH).

Con la selección de esta concentración se asegura el aumento de la capacidad reguladora por lo tanto aumenta la robustez del método, en caso de presentarse muestras acidas se forma el complejo durante el análisis.

Todas las pruebas se hacen por triplicado, tomando los valores más precisos y sacando el promedio de las tres.

Parámetros hidrodinámicos

Una vez determinada la longitud de onda 500 nm, el pH y la concentración de la solución buffer, se hicieron las pruebas correspondientes para establecer los parámetros hidrodinámicos, caudal y volumen de inyección, con el sistema electrónico.

Realizándose un diseño de experimentos factorial 2^k, en el que los factores considerados fueron el caudal de inyección y el volumen de inyección, los niveles para este experimento se muestran en la Tabla 4.5., quedando un diseño factorial 2². Para todos los casos se usaron patrones de 5 mgL⁻¹ de cobre.

Tabla 4.5. Diseño de Experimentos 2²

Factor A Tiempo (s)	Factor B Caudal (μLmin ⁻¹)	Nivel		Factor A	Factor B	Absorbancia
100	350	-	-	100	350	0.07939
120	750	+	-	120	350	0.07712
		-	+	100	750	0.07856
		+	+	120	750	0.07986

Se logró obtener un valor detectable de 0.07712 para la absorbancia, con la combinación con del factor A alto (120s) y B bajo 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, sin embargo la absorbancia con la combinación de los niveles más bajos, para un tiempo de 100s y caudal de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$ fue de 0.07939, con esta combinación se tiene un ahorro de reactivos al momento de realizarse las pruebas.

Los diferentes volúmenes de inyección se probaron con una solución de trabajo Cu^{2+} de 20 mgL^{-1} , una solución buffer 0.5 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ con pH 7.21, 1.062 mM Nitroso-R sal, caudal 350 $\mu\text{L} / \text{min}$, en la Figura 4.17, se puede observar que los valores de absorbancia aumentaron rápidamente hasta alcanzar un valor máximo ubicado en el volumen de inyección de 830 μL y después de ese punto el volumen de inyección disminuyó ligeramente

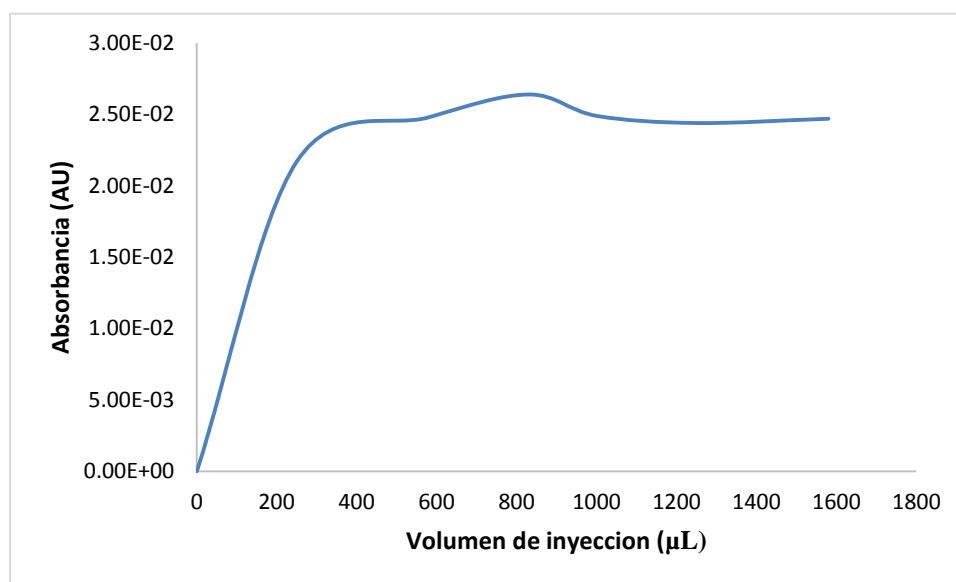


Figura 4.22 Absorbancia vs volumen de inyección para un buffer de Fosfatos de Sodio

En la Figura 4.23 se observa el comportamiento de las calibraciones de cada uno de los volúmenes de inyección probados 250, 580, 830, 1000, 1250, 1580 μL la variación entre los valores de absorbancia para los volúmenes mayores 1000 μL no es significativa, el valor mayor de la absorbancia se tiene a un volumen de 830 μL logrando con esto un gasto de reactivos menor.

En la tabla 4.6 se encuentran concentrados los valores iniciales para cada una de las concentraciones utilizadas, la ecuación de la de recta y la linealidad con los volúmenes probados.

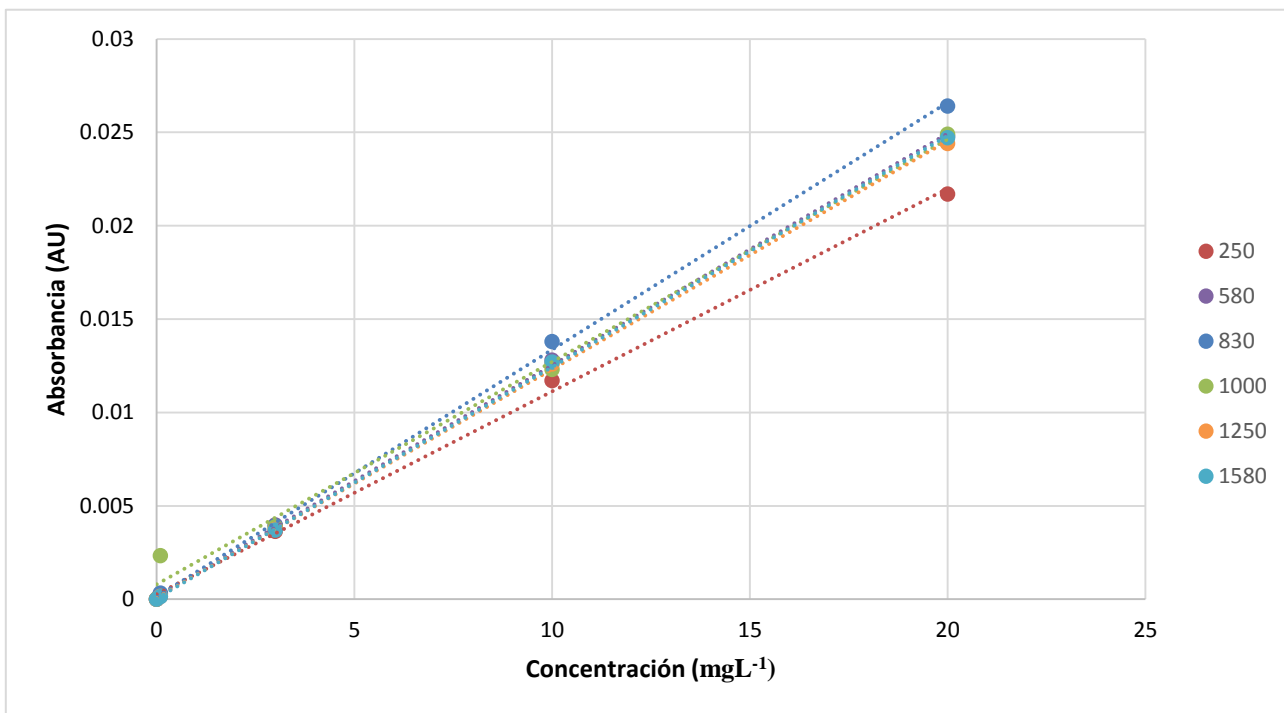


Figura 4.23 rectas de calibración con los diferentes volúmenes de inyección

Tabla 4.6 Ecuaciones de la recta y linealidad de cada uno de los volúmenes probados en el sistema continuo

Volumen	Ecuación recta $Y = m(Cu) + b$	R^2
250	$0.0011x + 0.0003$	0.9985
580	$0.0012x + 0.0001$	0.9997
830	$0.0013x + 0.0001$	0.9994
1000	$0.0012x + 0.0008$	0.9924
1250	$0.0012x + 8E-05$	0.9997
1580	$0.0012x + 5E-05$	0.9998

4.2.1.1 Calibrados

Se realizaron nuevos gráficos de calibraciones por triplicado (Figura 4.24) cambiando la solución buffer por la propuesta en el trabajo 0.5 M de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ con pH 7.21, de las cuales se obtuvieron los siguientes resultados que con la metodología anterior, la ecuación de la recta es: $y = 1.326\text{E-}03(\text{Cu}) + 1.402\text{E-}04$, $R^2 = 9.991\text{E-}01$ (Figura 4.25); para estos se utilizaron las siguientes condiciones: volumen de inyección de 830 μL , caudal 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, solución buffer 1.062mM de nitroso-R sal. Por la información que se tiene en la tabla 4.7 los resultados de esta combinación de reactivos dan mejores condiciones estadísticas.

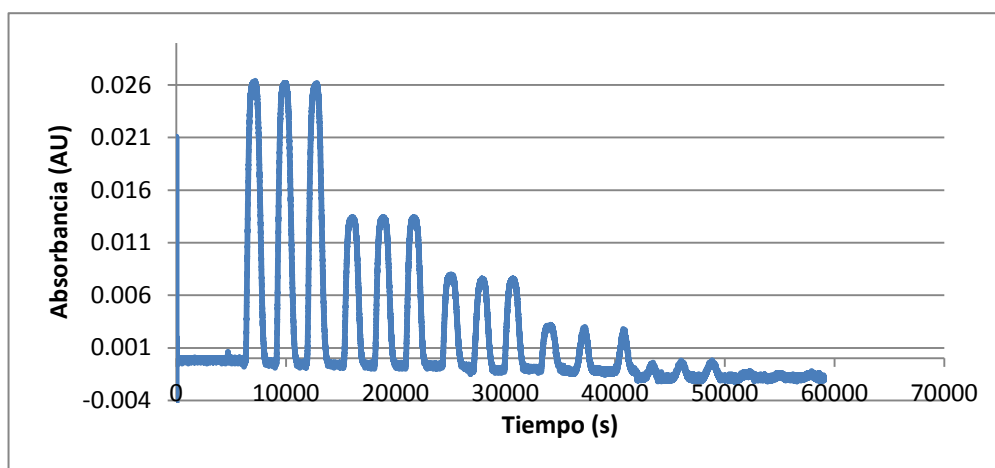


Figura 4.24 Curva de calibración a diferentes concentraciones de soluciones preparadas a partir de un Stock de 100mgL^{-1} sin agregar ácido nítrico

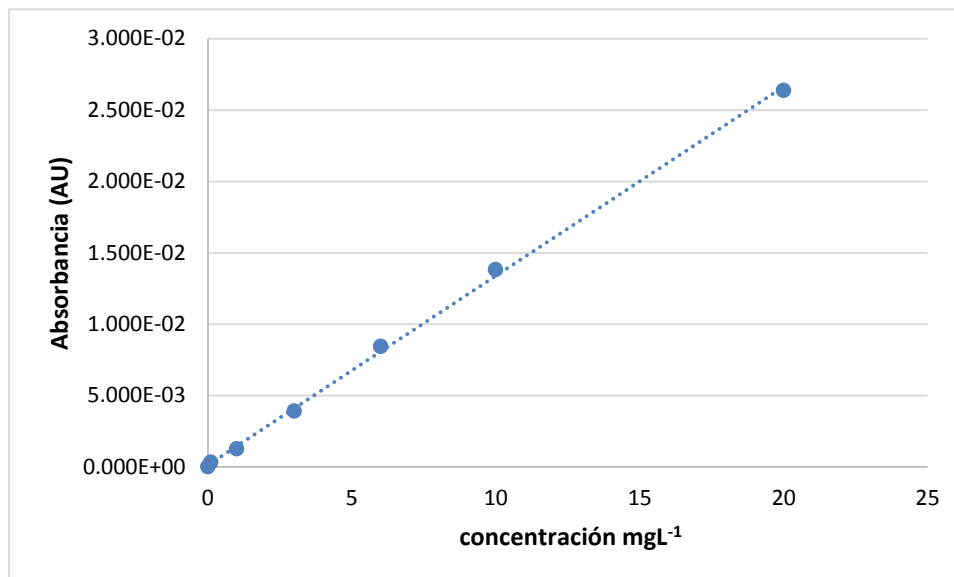


Figura 4.25 Recta de calibración para un buffer de Fosfatos de Sodio para diferentes concentraciones de soluciones de cobre.

Tabla 4.7 Información estadística: Desviación estándar, LC y LQ, LD

Desviación estándar	7.587E-05
Desviación estándar x 10	7.587E-04
Desviación estándar x 3	2.276E-04
Límite de cuantificación	4.665E-01
Límite de detección	6.592E-02

Repetitividad

Este estudio se realizó a través de diez inyecciones de la solución de trabajo de 3 ppm de Cu^{2+} con una solución buffer 0.5 M de NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 con pH 7.21, volumen de inyección de 830 μL , caudal de 350 μL / min, 1.062 mM solución salina nitroso-R.

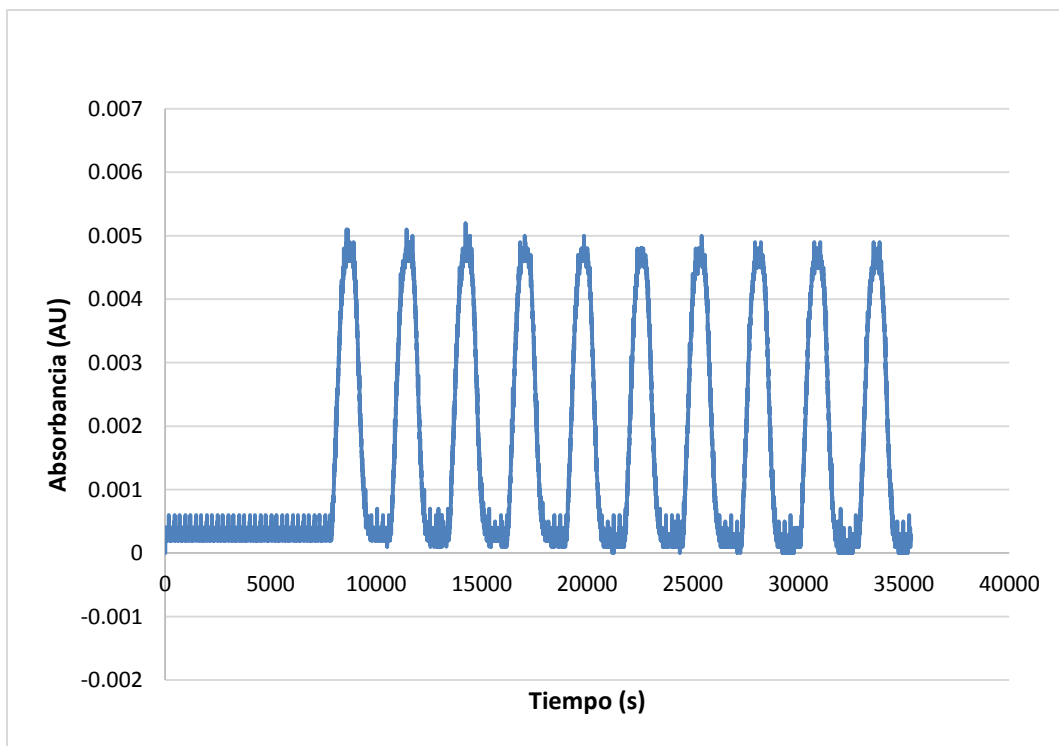


Figura 4.26 Prueba de repetitividad

Se experimentó dejando en funcionamiento el equipo de manera autónoma durante 24 h, haciendo triplicados de las curvas de calibración, para analizar la repetitividad, del sistema electrónico, así como para evaluar la estabilidad de la línea base durante el tiempo de la prueba. La Figura 4.27 muestra repeticiones de calibraciones para observar la estabilidad de la línea base.

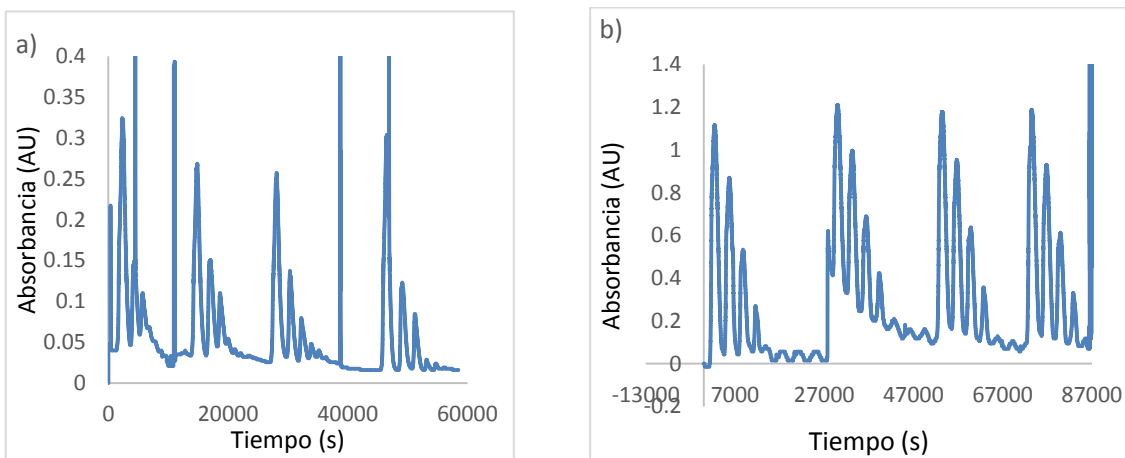


Figura 4.27 Monitoreo de 24h continuas de soluciones de buffer de fosfatos de sodio a) 0.5M y b) 0.1M

4.2.2 Interferencias

Calcio

Debido a que el hidróxido de calcio, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, se usa para neutralizar el bajo pH del agua de extracción de la mina, se probaron concentraciones aumentadas de Ca^{2+} con concentraciones fijas de Cu^{2+} para determinar su interferencia en la determinación de las concentraciones de Cu^{2+} . Las concentraciones de Ca^{2+} analizadas fueron 0, 2, 10, 50, 100, 200, 1000 y 2000 mgL^{-1} (ppm) en soluciones que contenían 2 ppm de Cu^{2+} . Se usó una solución tampón $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0.5 M con pH 7.21, volumen de inyección de 830 μL , caudal 350 $\mu\text{L} / \text{min}$, solución de sal nitroso-R al 1.062 mM Tabla 4.8. Y Figura 4.28

Tabla 4.8 Absorbancias de las mezclas de Cu + diferentes concentraciones de Ca^{2+}

Concentración del interferente (mgL^{-1})	Absorbancia (AU)
2 ppm Cu^{2+}	1.83E-03
2 ppm Cu^{2+} + 2 ppm Ca^{2+}	2.80E-03
2 ppm Cu^{2+} + 10 ppm Ca^{2+}	2.80E-03
2 ppm Cu^{2+} + 50 ppm Ca^{2+}	2.80E-03
2 ppm Cu^{2+} + 100 Ca^{2+}	2.77E-03
2 ppm Cu^{2+} + 200 Ca^{2+}	2.82E-03
2 ppm Cu^{2+} + 1000 ppm Ca^{2+}	3.17E-03
2 ppm Cu^{2+} + 2000 ppm Ca^{2+}	6.37E-03

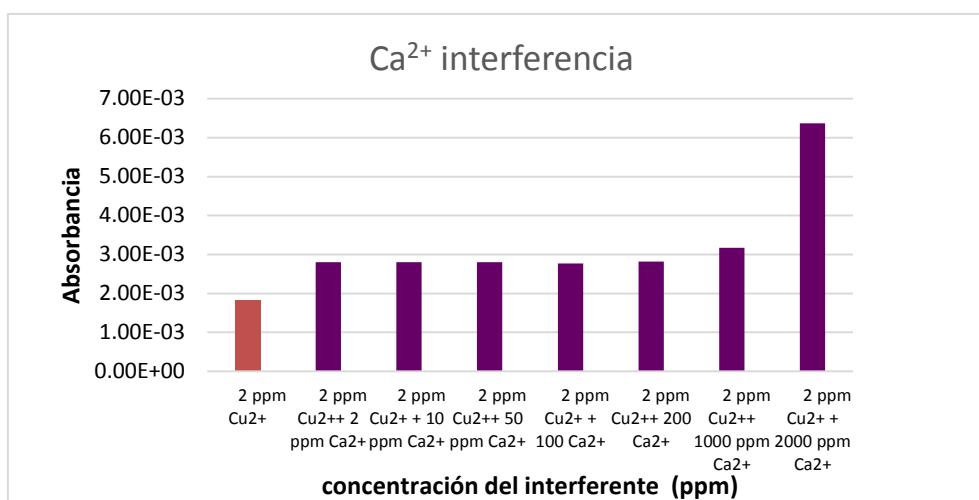


Figura 4.28 Interferencia de diferentes concentraciones de Ca^{2+}

La interferencia del catión Ca^{2+} aparece para las concentraciones más altas, para una relación con el cobre 2:100, mientras que hay un ligero cambio en las absorbancias para la relación 1:1, a partir de esa concentración de calcio la variación de la absorbancia (señal analítica) solo es significativa cuando su concentración fue de 1000 y 2000 ppm.

Efecto de la concentración de los cationes de interferencia

Los resultados de las medidas de las absorbancias con los interferentes de los elementos de la serie de transición 1, 2 y 3 se muestran en las siguientes imágenes. Las concentraciones de los diferentes cationes analizadas fueron 50, 500, 5000 mgL^{-1} (ppm) en soluciones que contenían 2 ppm de Cu^{2+} . Se usó una solución buffer 0.5 M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ con pH 7.21, volumen de inyección de 830 μL , caudal 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, solución de sal nitroso-R al 1.062 mM, las medidas de las absorbancias estudiadas se muestran en las siguientes tablas: Tabla 4.9 Tabla 4.10 Tabla 4.11 y figuras: Figura 4.29 Figura 4.30 Figura 4.31.

Interferentes con concentración de 50 mgL^{-1}

Tabla 4.9 Valores de absorbancia para cada interferente concentración de 50 ppm

Interferente (mgL^{-1})	Absorbancia (AU)
Pb^{2+}	2.87E-03
Co^{2+}	6.12E-02
Ni^{2+}	7.50E-03
Zn^{2+}	2.43E-03
Mn^{2+}	4.70E-03
Fe^{3+}	8.07E-03
Ag^+	2.28E-03
Cd^{2+}	2.17E-03

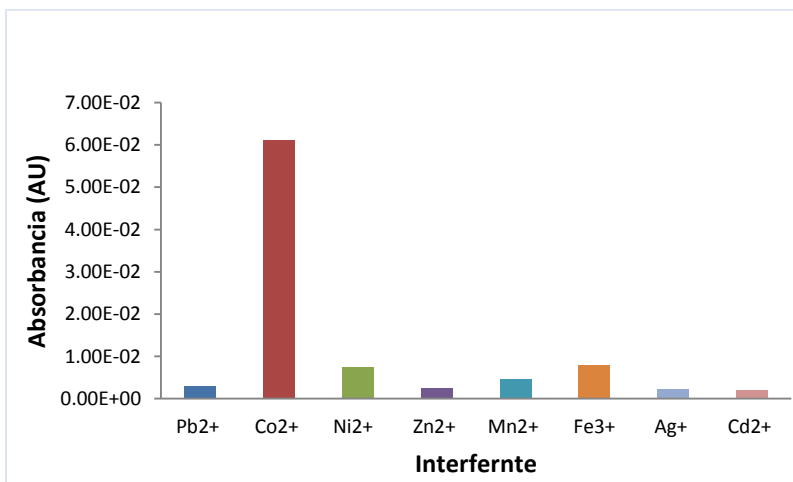


Figura 4.29 Absorbancia Vs concentración de 50ppm por interferente

Interferentes con concentración de 500 mgL⁻¹

Tabla 4.10 Valores de absorbancia para cada interferente concentración de 500ppm

Interferente	Absorbancia (AU)
Cd ²⁺	4.370E-04
Zn ²⁺	6.170E-04
Ag ⁺	2.010E-02
Pb ²⁺	6.300E-03
Mn ²⁺	5.870E-04
Ni ²⁺	6.330E-03
Fe ³⁺	1.980E-02
Co ²⁺	8.660E-02

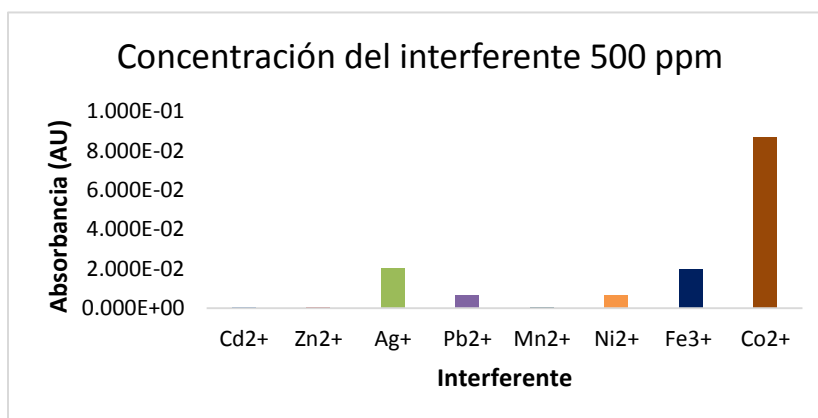


Figura 4.30 Absorbancia Vs concentración de 500 ppm por interferente

Interferentes con concentración de 5000 mgL⁻¹

Tabla 4.11 Valores de absorbancia para cada interferente concentración de 5000ppm

Interferente	Absorbancia (AU)
Cd ²⁺	1.15E-02
Zn ²⁺	2.52E-02
Ag ⁺	1.80E-01
Pb ²⁺	8.92E-03
Mn ²⁺	2.88E-02
Ni ²⁺	6.70E-03
Fe ³⁺	3.27E-02
Co ²⁺	1.16E-01

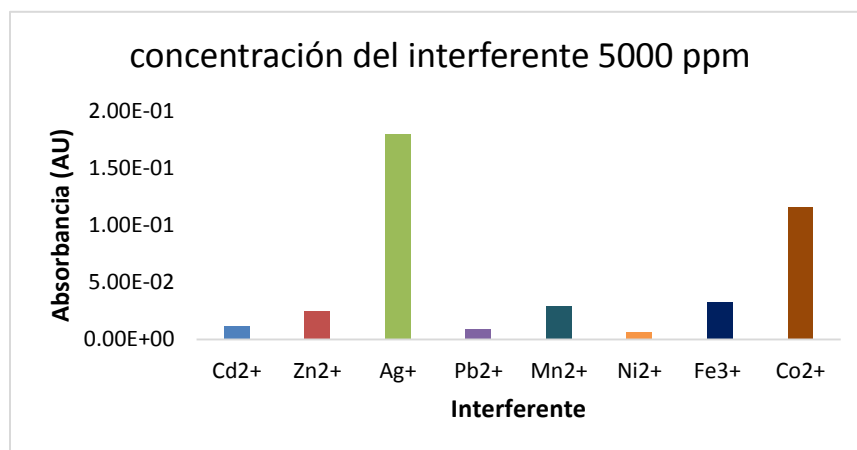


Figura 4.31 Absorbancia Vs concentración de 5000ppm por interferente

Plomo

El plomo presenta un límite de tolerancia más bajo, esto es que en una relación 2:500 hay un cambio significativo en la absorbancia medida.

Cobalto

El cobalto tiene una de las interferencias más importantes ya que produce variaciones significativas en la absorbancia de la muestra a partir de una concentración de 50ppm, lo que es en una relación de 2:50.

Níquel

El Níquel tiene la interferencia más importante de los metales medidos en la segunda serie de transición, así como de todos los cationes estudiados con cobre, debido a que produce el más grande aumento en la absorbancia, a partir de una concentración de 50ppm, lo que es en una relación de 2:50.

Zinc

Este catión muestra un cambio en la absorbancia hasta concentraciones altas en una relación de 2:5000, menores a esta el cambio en la absorbancia de la mezcla no es significativo, por lo que difícilmente se encontrará una concentración tan alta de este catión en la muestra real, pero es importante conocer a partir de que concentración el zinc mostrará un cambio en la absorbancia al estar presente en una mezcla con cobre.

Manganeso

La concentración a la que causan interferencias también es mayor, a una concentración con cobre de 2:5000.

Hierro

Al aumentar el número de oxidación del catión se observa un incremento en la absorbancia, por lo que produce el aumento de la absorbancia en la mezcla Fe:Cu, la relación de la concentración aumenta si la interferencia esta se presenta a partir de 2:50.

Plata (Ag)

Por otro lado las absorbancias obtenidas por la mezcla con plata indican que su presencia en concentraciones altas respecto al cobre no causa interferencias, esta se observa a una relación de Cu:Ag, de 2:5000. Por lo que esta concentración es inusual debido al tipo de mineral con la que el agua tiene contacto durante el proceso de extracción.

Cadmio

El cadmio presenta interferencia importante para relaciones de concentración de 2500, no obstante este elemento suele encontrarse habitualmente a niveles de concentración muy bajos con respecto a cobre en aguas naturales, por lo que su presencia en muestras reales no afectará la medida, además que el agua de extracción es previamente neutralizada para asegurar la precipitación de la mayor proporción de los cationes.

Efecto de la concentración de los iones de interferencia

Las interferencias más graves son causadas, en general, por Co^{2+} , Fe^{3+} , Ag^+ y Mn^{2+} . Al evaluar cada metal por separado, es posible concluir que las concentraciones crecientes de interferentes aumentaron el valor de la absorbancia con respecto a la señal de Cu^{2+} solo. Para aquellos elementos cuyos estados de oxidación son distintos a 2, en nuestro caso sólo el Hierro (Fe III), se obtienen mayores límites de tolerancia. Los elementos de las distintas series de transición cuyo estado de oxidación predominante dos son los que presentan las mayores interferencias, como es el caso del Co, Ni, Zn y Cd, lo cual está relacionado probablemente con la formación de complejos coloreados con el ligante receptor de metales.

4.3 Fabricación de Módulo microfluídico

Como se puede ver en la Figura 4.32 el dispositivo/plataforma microfluídico presenta tres entradas de líquido y una salida. El mezclador, fue diseñado de forma de favorecer la mezcla entre los reactivos utilizados, presenta canales con dimensiones de 1 mm de alto y 1 mm de ancho. El dispositivo/plataforma Microfluídico, fabricado en el polímero transparente co-polímero de olefina cíclica (COC), contiene una celda de detección Óptica, con 1 mm de camino óptico. Este diseño compone el primer microanalizador utilizado, el dispositivo final se multiplicó para ser implementado en la mina así como para tener un sistema de análisis igual en el ITL y en la UAB.

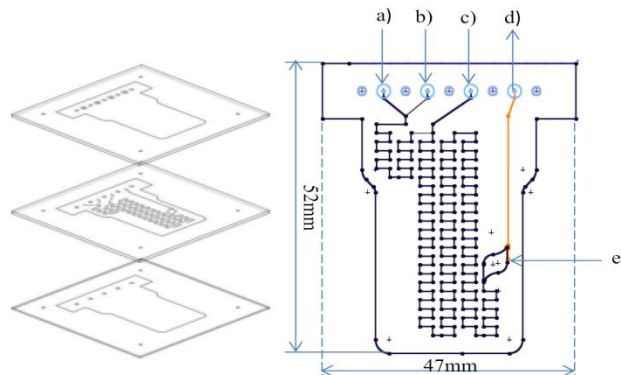


Figura 4.32 Diseño del diagrama multicapa en COC y del dispositivo Microfluídico a) Entrada de muestra; b) entrada del buffer; c) entrada de NRS; d) salida del desecho y e) celda de detección óptica

4.4 Integración de los módulos escala laboratorio

Una vez optimizadas las variables químicas e hidrodinámicas para la determinación de cobre en muestras acuosas por un método espectrofotométrico se describirán las etapas del armado, montaje y análisis con el microanalizador de cobre (MFIACu) así como los resultados obtenidos.

Para el montaje del microanalizador de cobre en el laboratorio, fue necesario conocer el funcionamiento de cada uno de los componentes del sistema en general (Figura 4.33). El sistema de propulsión lo comprende la bomba peristáltica; el sistema de inyección está constituido por 3 válvulas de 3 vías, las

cuales se unieron entre sí y al dispositivo fluidico de COC mediante conexiones con tubería de teflón 1mm de diámetro, verificando que todo el sistema no tuviera fugas y que funcionara de manera óptima para que se registrarán señales en el sistema de detección óptico.

Como se puede ver en la Figura 4.33 se ha configurado módulo fluídico de forma la válvula 1 (V1) sea responsable por la inyección de muestra real, la válvula 2 (V2) se usa en la inyección de muestra de calibración y la válvula 3 (V3) permite la limpieza del sistema con ácido nítrico (HNO₃).

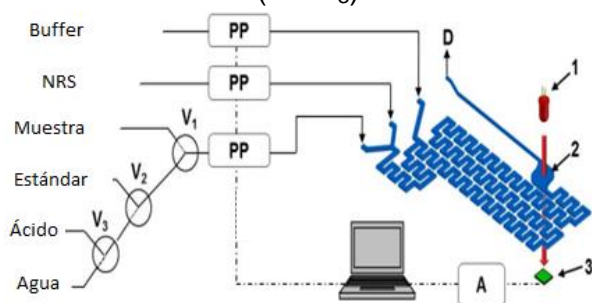


Figura 4.33 Diagrama esquemático del Módulo. PP: bomba peristáltica; V: válvulas de 3 vías; A: Microanalizador; D: desecho; ---conexiones eléctricas; conexiones fluidicas; 1: LED; 2 Cámara de detección; 3: Fotodetector

Cada válvula presenta 2 caminos fluidicos, dependientes del voltaje que se aplique. Así, como se puede ver en la aplicación de V1 (0 V), V2 (0 V) y V3 (0 V) provoca la Inyección de agua bi destilada en la plataforma microfluídica. La aplicación de V1 (0 V) y V2 (24V) permite la inyección de solución stock de Cu²⁺ 10 mgL⁻¹. La posibilidad de controlar el tiempo de actuación de cada válvula permite, para un caudal constante, convertir el volumen de inyección en tiempo de inyección. Considerando un tiempo de actuación constante de las válvulas de 1 s se puede definir la concentración de la Muestra de calibración inyectada como un múltiplo del tiempo de actuación de la V2. Esta técnica, designada como multi-conmutación, permite generar, *in situ* y a partir de una única solución patrón, múltiples patrones de calibración con concentraciones decrecientes.

En la Figura 4.34 se observa el diseño del programa por la multi-conmutación de las válvulas para generar la curva de calibración a partir de un patrón único.

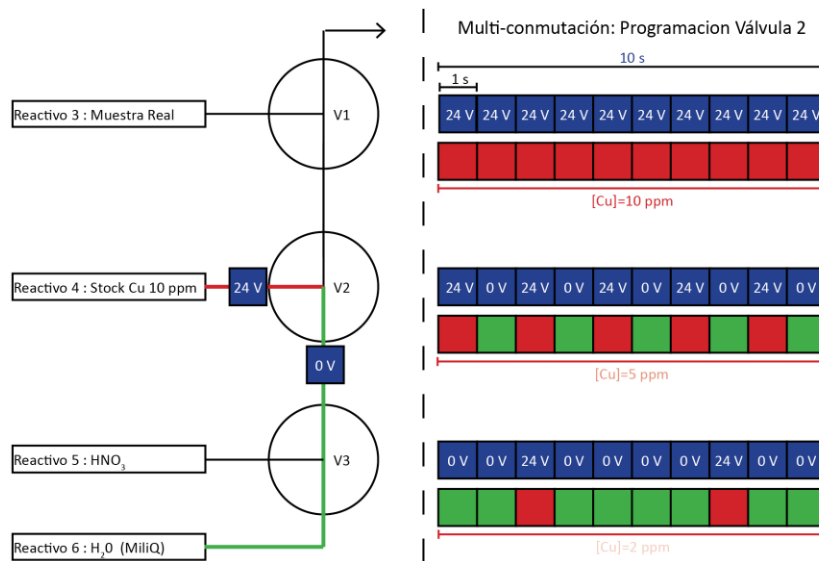


Figura 4.34 Esquema de generación de patrones de calibración in situ, por multi-conmutación de la válvula 2, a partir de un patrón único

4.4.1 Módulo fluidoico

El Módulo microfluídico está constituido por un dispositivo microfluídico, tubos de diferentes materiales, anillos selladores (*O-Rings*) y conectores, estos son los responsables de la conexión entre el módulo microfluidico y el módulo fluidico.

La plataforma microfluidica tiene la adaptación del sistema óptico, al material COC, de donde se obtienen la señal generada del sistema que se va hacia el dispositivo optoelectrónico y esos pueden ser observados en la pantalla de una computadora por medio de un programa diseñado en Labview (Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench, National Instruments).

4.4.2 Módulo de sistema de detección óptica

El Módulo del sistema de detección óptica es constituido por un LED de 505 nm y un fotodiodo integrados en un lector de dispositivos microfluídicos. El lector de dispositivos microfluídicos contiene una cavidad donde encaja el dispositivo microfluídico del módulo.

Como se puede ver en la Figura 4.35, el lector de dispositivos microfluidicos se diseñó de forma que permite el perfecto alineamiento entre el LED, la cámara de detección óptica del dispositivo microfluídico y el fotodiodo, obteniendo mediciones

reproductibles de Absorbancia. Además, su diseño modular permite la fácil sustitución del dispositivo microfluidico, del LED o del fotodiodo caso necesario.

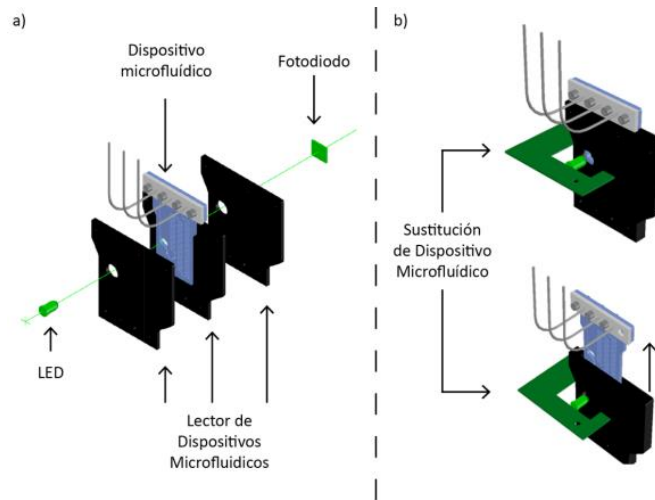


Figura 4.35 Lector de dispositivos microfluidicos

4.4.3 Módulo de control electrónico

El módulo de control electrónico es el encargado de controlar los elementos de acción final (válvulas y bomba), realizar las mediciones y procesarlas. Con un diseño modular basado en el microcontrolador de 32 bits CY8C5868AXI-LP35 (Cypress Semiconductor, San José, California, Estados Unidos) este cuenta con los siguientes recursos electrónicos asociados a distintos elementos del sistema:

- a) Circuito de acondicionamiento de la corriente entregada por el fotodiodo utilizado como elemento transductor de intensidad luminosa.
- b) Circuito de acondicionamiento para la tensión entregada por el integrado LM35 utilizado como elemento transductor de temperatura.
- c) Fuente de corriente para la excitación del LED utilizado como fuente de luz.
- d) Salida de tensión para el control de la velocidad de la bomba peristáltica.
- e) Comunicación estándar SPI opto acoplada para el manejo del módulo de transmisión de corriente 4 – 20 mA.
- f) Tres salidas digitales 0 – 5 V con etapa de potencia opto acoplada para el manejo de tres válvulas.

g) Una salida digital 0 – 5 V con etapa de potencia opto acoplada para el manejo de un ventilador o motores de directa de tensión fija.

h) Módulo de UART para enlace con la computadora o dispositivos inalámbricos.

A partir de los requerimientos iniciales del sistema el diseño final que se muestra en la Figura 4.35 donde las funciones a, b, c, d y h mencionadas se encuentran implementadas dentro del PsoC, mientras que las funciones d, f, g, y h se complementan modularmente con electrónica externa.

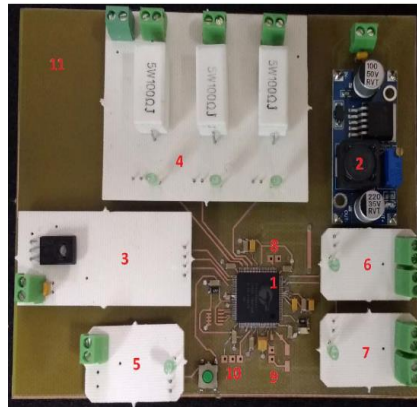


Figura 4.36 Tarjeta principal con dimensiones de 10 x 10 cm, elaborada con la capacidad técnica del Instituto Tecnológico de la Laguna (equipo CNC).

Siguiendo la numeración de la Figura 4.36 se puede apreciar:

1. Microcontrolador PSOC CY8C5868AXI-LP35
2. Fuente de alimentación DC – DC (24V – 5V)
3. Módulo de transmisión de corriente 4 – 20 mA
4. Módulo de accionamiento de válvulas
5. Módulo de accionamiento de bomba peristáltica
6. Módulo de accionamiento de ventilador o motor
7. Módulo de accionamiento de ventilador o motor, o entrada de transductor de temperatura LM35
8. Salida de corriente para fuente de iluminación LED
9. Conexión a fotodiodo utilizado como transductor de intensidad luminosa
10. Terminales de comunicación UART
11. Tarjeta principal

Módulo de control electrónico versión 2

A partir de la experimentación desarrollada con la primera versión del módulo de control electrónico se procedió al rediseño de la tarjeta principal, con el objetivo

fundamental de ampliar las prestaciones del sistema y el número de recursos del microcontrolador PSoC disponibles.

La tarjeta principal versión 2 incluye una fuente de tensión 0 – 5 V opto acoplada, adicionada para el control de dispositivos como las bombas peristálticas por un valor de tensión análogo con la seguridad de aislar ambos componentes.

Las variables más importantes manejadas el son: dos arreglos que contienen el tiempo de duración del evento de la secuencia y el valor codificado del estado de los elementos de acción final (válvulas y bomba), otra variable contiene la cantidad total de eventos de la secuencia.

Para la experimentación y la optimización del sistema utilizando la Tarjeta de control electrónica se desarrollaron varias aplicaciones en LabView 2012 y APP Inventor. Principalmente enfocadas al diseño de las secuencias de eventos y su ejecución, registrando y almacenando las distintas mediciones.

4.5 Pruebas con el prototipo industrial en el laboratorio

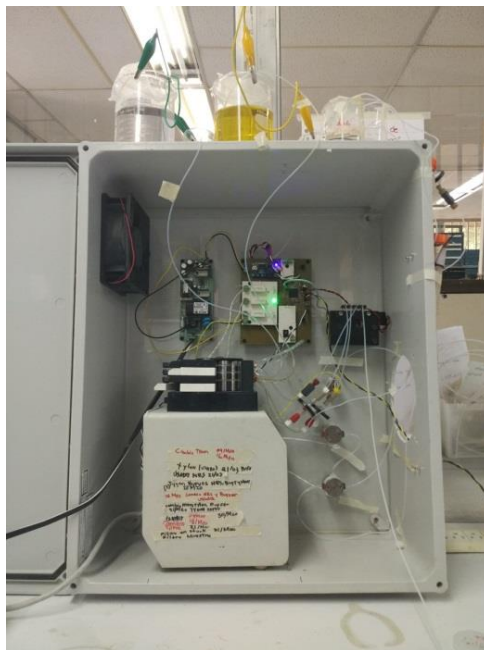


Figura 4.37 Microanalizador de cobre (MFIACu) desarrollado y construido de manera modular.

Módulos que constituyen el MFIACu

1 Electrónica: computadora, tarjeta Electrónica de control, Radio, ventilador, Termopar.

2 Software: software de control (Labview)

3 Sistema de detección óptica: sensor óptico (Hamamatsu S1337-66BR), Led 505 nm (BroadCom Limited HLMP-CE34-Y1CDD), lector de cartucho.

4 Fluídica: Bomba peristáltica, Válvulas 1 (3 válvulas tres vías) (NResearch 161T031 12VDC), tubo tygon (3 ismatec SC0327 2 topes), tubo de teflón (Chemfluor 0.8 x 1.6 mm PTFE)

5 Microfluidica: dispositivo Microfluidica chip que para su utilización necesita 5 tornillos y roscas con una medida de 2.5MM diámetro interno, 4 anillo sellador de líquido de vitón 1.6mm.

6 Química: Reactivos: NRS (nitroso r-sal 1.0602 mM), Buffer fosfato (0.1M pH 6.95)

La primera configuración el MFIACu presenta los elementos necesarios para la gestión de líquidos y registro de señal analítico Tabla 4.12. La primera versión del software, desarrollado en Labview, permite programar, de forma secuencial, la bomba peristáltica y las válvulas de 3 vías, mientras registra los datos obtenidos por el fotodiodo, de forma continua, en una computadora en el laboratorio.

Tabla 4.12 Elementos registradas por el MFIACu utilizando una computadora

Datos registrados por el MFIACu V0			
V_0 (v)	T (s)	V (v)	Abs (Log (V/V ₀))

4.5.1 Caracterización de parámetros hidrodinámicos y puesta a punto

De forma a aumentar la robustez de los sistemas de flujo continuo, siempre que posible, se trabaja en estado estacionario, o sea en condiciones de trabajo, en donde la señal analítica no varíe en el tiempo. En estas condiciones de trabajo se eliminan fluctuaciones, en la señal analítica, debidas a variaciones en el volumen de inyección causadas por imperfecciones mecánicas de los actuadores.

Volumen y caudal de inyección

Utilizando el MFIACu se procedió a la caracterización hidrodinámica del sistema. Como se puede ver en la Figura 4.38, para un caudal de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, se obtuvo una señal analítica (Absorbancia), para un volumen de inyección superior a 900 μL .

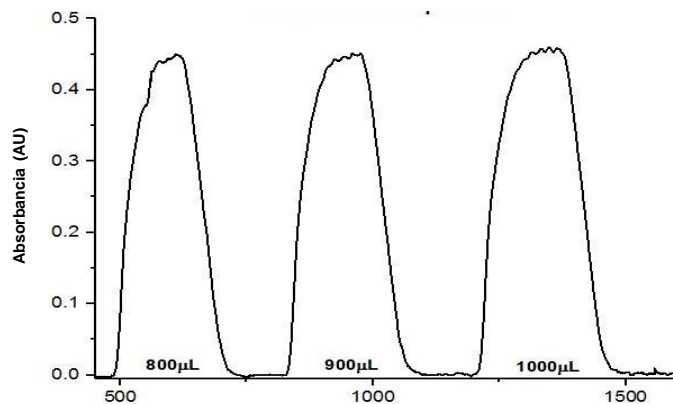


Figura 4.38 Registro de la variación de la absorbancia con la variación del volumen de inyección para un caudal constante de 350mL/min, utilizando la válvula 2

Posteriormente, utilizando un volumen de inyección de 900 μL , se varió el caudal de la bomba peristáltica de forma a optimizar este parámetro. Como se puede ver en la Figura 4.39, utilizando un caudal de 350 $\mu\text{L}/\text{min}$ es posible cumplir el objetivo de minimizar el gasto de reactivos obteniendo una señal analítica en estado estacionario.

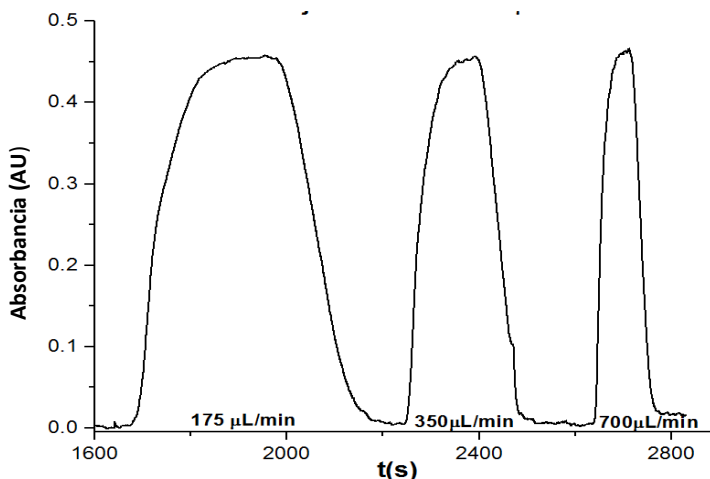


Figura 4.39 Registro de la señal analítico para la variación caudal para un volumen de inyección constante de 900 μL , utilizando la válvula 2

En la tabla 4.13 se muestra la información con la que se concluye que el MFIACu, permite la obtención de información analítica de 8.8 muestras/hora, como se puede ver.

Tabla 4.13 Parámetros de inyección de muestra, para la obtención de Absorbancia en estado estacionario, utilizando la Válvula 2 del MFIACu

Tiempo de Inyección de muestra	Tiempo de Limpieza de muestra	Tiempo Total de Inyección de muestra	Muestras/hora
160 s	250 s	410 s	8.8

Recta de Calibración

Optimizados los parámetros hidrodinámicos del sistema, se procedió a su calibración utilizando una estrategia de multi-conmutación de la válvula 2. Esta estrategia permite la preparación *in situ* de soluciones patrón, por dilución, partir de una única solución stock de 10 ppm.

Teniendo en cuenta que el sistema trabaja en estado estacionario para volúmenes de inyección superiores a 900 μl y escogiendo 1 s como tiempo de actuación de la Válvula 2, se determinó que se usaría un tiempo de inyección de muestra de 160 s, corresponde a un volumen de inyección de 933 μl . A continuación en la Tabla 4.14 muestra los parámetros para realizar la dilución por multi-conmutación.

Tabla 4.14 Algoritmo utilizado para, por multi-conmutación, obtener padrones de concentración decreciente a partir de una solución stockr de Cu de 10 ppm.

Cu (ppm)	Dilución (1/n)	Posición de Válvula 2			
		Tiempo de Inyección de muestra			Tiempo de Limpieza de muestra
		Stock	Agua bidestilada	Ciclos	agua
10	1	160 s	0	x 1	250 s
5	1/2	1 s	1 s	x 80	250 s
2.5	1/4	1 s	3 s	x 40	250 s
1	1/10	1 s	9 s	x 16	250 s
0.5	1/20	1 s	19 s	x 8	250 s

Utilizando estos parámetros se desarrolla un algoritmo que permite calcular y programar la válvula 2 para obtener las diferentes soluciones patrón de Cu a partir de una solución Stok de Cu. A partir de los parámetros descritos se obtuvieron las mediciones analíticas por triplicado para cada concentración preparada tal como se muestra en la Figura 4.40.

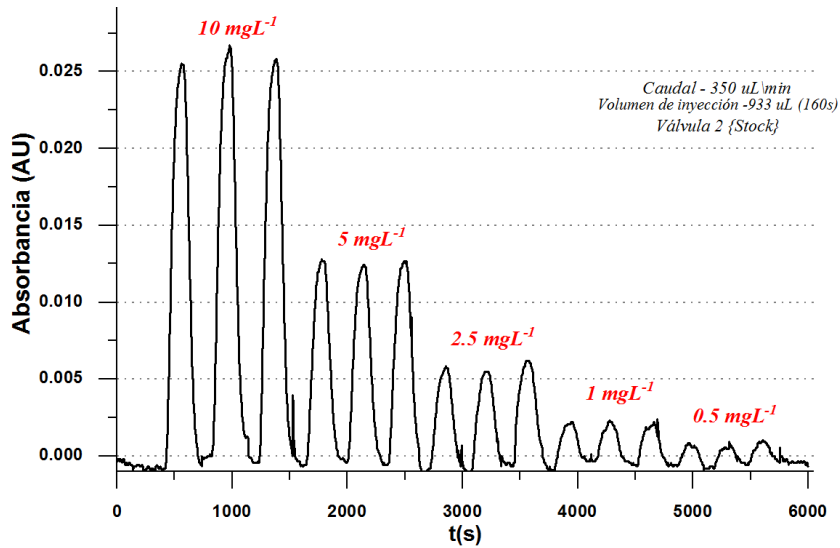


Figura 4.40 Registro de la calibración del MFIACu V0 con patrones de 10, 5, 2.5, 1 y 0.5 ppm de Cu, generados *in situ* por multi-conmutación de la Válvula 2.

Se programó el MFIACu y se procedió a obtener la curva de calibración, con patrones de 10 ppm y concentraciones de 5 ppm, 2.5 ppm, 1 ppm y 0.5 ppm de Cu, generados *in situ* por multi-conmutación de la válvula como se muestra en la Figura 4.41.

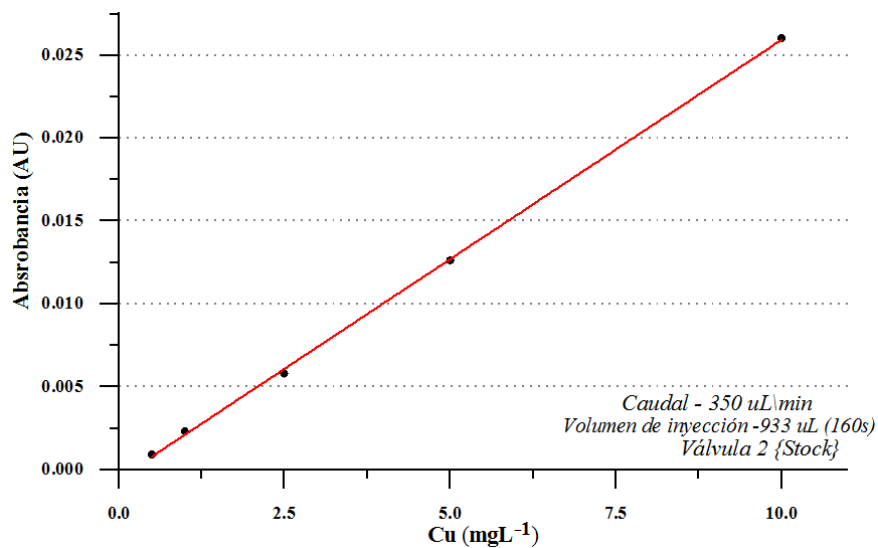


Figura 4.41 Recta de calibración obtenida para MFIACu V0 en el rango de 10 a 0.5 ppm de Cu obteniendo a la ecuación para la determinación de cobre $Y: 0.00264 (Cu) - 5.065 \times 10^{-4}$

Como se puede verificar en la Figura 4.41, el MFIACu V0 presenta un respuesta lineal de la absorbancia con la concentración de Cu en el rango de 10 a 0.5 ppm, con una $R^2 > 0.995$, permitiendo así cubrir el rango de trabajo pretendido.

Se utiliza el programa OriginLab (OriginLab Corporation, Northampton, Massachusetts, USA) para al tratamiento matemático los datos de calibración registrados. El coeficiente de variación de la señal analítica obtenida, para las inyecciones por triplicado de los patrones, ha sido inferior a 5% comprobando el correcto funcionamiento del sistema.

4.5.2 Inconvenientes en la experimentación en condiciones similares a la instalación.

Generación de Biomasa

A pesar del correcto funcionamiento analítico verificado, el MFIACu V0 se presentó el problema relacionado con la generación de biomasa en su interior. Se verificó que la pared del tubo de Tygon (Ismatec SC0013), utilizado en el canal de buffer de fosfatos, funcionaba como punto de formación de biomasa, esto se pude observar en la Figura 4.42. El crecimiento de la biomasa ha originado, en ocasiones, desprendimiento de la misma, dando lugar a la obturación de la cámara de detección óptica del módulo microfluídico, como se puede ver en la figura b).

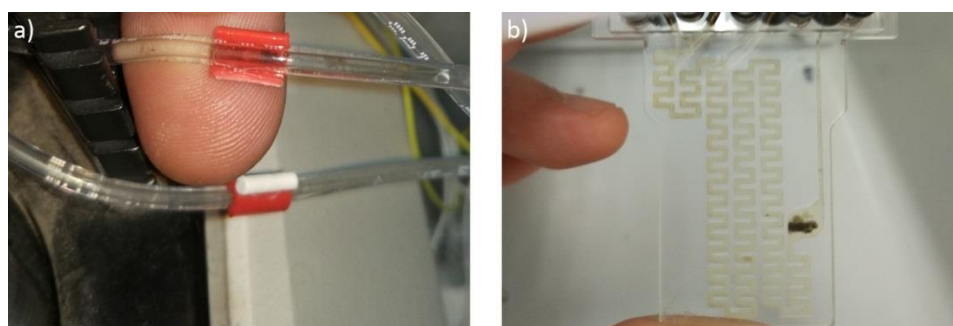


Figura 4.42 Problemas de generación de biomasa en el MFIACu V0 . a) Biomasa anclada a la pared del tubo de Tygon del canal del buffer de fosfato. b) Fracción de biomasa obturando la cámara de detección óptica del Módulo Microfluidico

4.6 Optimización MFIACu Versión 2

Los elementos que constituyen cada uno de los módulos de la configuración 2 de MFIACu son los siguientes:

- 1.- electrónica computadora, tarjeta Electrónica de control, Radio, Ventilador, Temopar
- 2.- Software: software de control
- 3.- Sistema de detección óptica: sensor óptico, LED 505nm, Lector de Cartucho.
- 4.- Fluidica: bomba peristáltica, 3 válvulas de 3 vías (161T031 12VD), 3 tubos tygon (ismatec SC0327 dos topos), tubos de silicón, tubos de teflón, anillo sellador (o-ring), filtros jeringa.
- 5.- Microfluidica: Dispositivo fluidico, sujetador (cartucho), tornillos, roscas.
- 6.- Química: Reactivos NRS 1.062 mM, 0.1M Buffer Fosfatos, 0.5M HNO₃, Agua bidestilada, Biocida Cloroacetamida.

Módulo Fluídico (FLS-MFIACu 2)

De forma a eliminar los problemas relacionados con el crecimiento de biomasa en el MFIACu, se ha modificado su Módulo Fluídico, introduciendo filtros de jeringa en la salida de los tubos de Tygon. Se probaron diferentes configuraciones utilizando diferentes medidas de poro de los filtros jeringa en conexión entre la salida de los tubos de Tygon del Módulo Fluídico y los tubos de Teflón del módulo microfluídico, como se puede ver en la Tabla 4.15 Se han estudiado los tiempos de vida del tubo de Tygon.

Tabla 4.15 Estudio comparativo de variación de tiempo de vida de los tubos de Tygon y de los parámetros hidrodinámicos del MFIACu para diferentes configuraciones del módulo microfluídico

Configuración	Tiempo de Vida del tubo (días)	Tiempo de inyección de muestra (s)	Tiempo de Limpieza de muestra (s)	Tiempo total de Inyección de muestra (s)
Canal Tampón Fosfato – sin filtro Canal NRS - sin Filtro Cana Muestra – sin filtro	15	160	250	410
Canal Tampón Fosfato – 0,45 µm Canal NRS - 0,45 µm Cana Muestra – 0,45 µm	1	160	1500	1660
Canal Tampón Fosfato – 5 µm Canal NRS - 5 µm Cana Muestra – 5 µm	10	160	1500	1660

Canal Tampón Fosfato – 5 μm				
Canal NRS - 5 μm	10	160	440	600
Canal Muestra – sin filtro				

Como se puede verificar en la tabla, la introducción de filtros de jeringa de poro de 0.45 μm en el Módulo Fluídico origina una disminución del tiempo de vida de los tubos de Tygon, siendo esa disminución drástica en el caso de utilización de estos filtros. Esto se debe a que el aumento de la resistencia hidrostática originada por los filtros con tamaño de poro menor. Se observó también un aumento del tiempo de limpieza de muestra, cuando la señal analítica regresa a la línea base. Esto se debe al elevado volumen muerto de los filtros de jeringa, comparado con el volumen total del módulo microfluídico.

Analizando los datos comparativos descritos en la Tabla 4.15, y considerando que el crecimiento de biomasa solo se ha verificado en los tubos de Tygon del canal del buffer de fosfato y en los envases de canal NRS, se eligió la configuración final del módulo fluídico en la que solamente en los canales tampón fosfato y NRS, se utilizan filtros de jeringa de 5 μm de poro, como se puede ver en la Figura 4.43

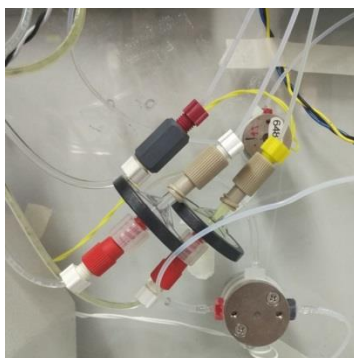


Figura 4.43. Configuración final de filtros utilizados en el Módulo Fluídico, Filtro de jeringa de 5 μm en el Canal Tampón Fosfato (blanco) y en el Canal NRS (amarillo) y sin filtro en el Canal Muestra (rojo)

La forma de minimizar el crecimiento de biomasa dependiente de la fotosíntesis, se realizó mediante la sustitución, en el módulo fluídico, de los tubos de Tygon transparentes por tubos de Tygon opacos. Además, estos presentan, según el fabricante, un tiempo de vida superior (40 días) comparados con los transparentes (15 días), alargando el período de mantenimiento del MFIACu.

Calibración de la Válvula 1 y la Válvula 2.

La Tabla 4.16 muestra la información respecto a los tiempos de funcionamiento de las válvulas que corresponden a la inyección de la muestra y la inyección del stock así como los parámetros de inyección de la muestra para válvula 1 y válvula 2.

Tabla 4.16 Tiempos de funcionamiento de las válvulas

Válvula 1		Válvula 2	
Tiempo de inyección de Muestra	Tiempo de Limpieza de Muestra	Tiempo de Inyección de Muestra	Tiempo de Limpieza de Muestra
200 s	440 s	160 s	440 s

Como se puede ver en la Figura 4.44 Calibración por multi-conmutación del MFIACu V0 (2.) Utilizando la secuencialmente la Válvula 1 y la Válvula 2., para las mismas condiciones hidrodinámicas y la misma concentración, la altura de pico de una Inyección de muestra es menor utilizando la válvula 2 que utilizando la válvula 1. Esto se debe al mayor recogido fluídico, y consecuentemente mayor dispersión de la muestra, cuando se utiliza la válvula 2. El volumen fluídico de las inyecciones de muestra utilizando la válvula 2 origina que el estado estacionario se cumpla utilizando menor Volumen de Inyección de muestra, que cuando se utiliza la válvula 1. Así, cada válvula presenta parámetros hidrodinámicos óptimos propios. Por esta razón es necesario proceder a la calibración de ambas válvulas, de forma a poder relacionar las señales analíticas obtenidas por las dos válvulas.

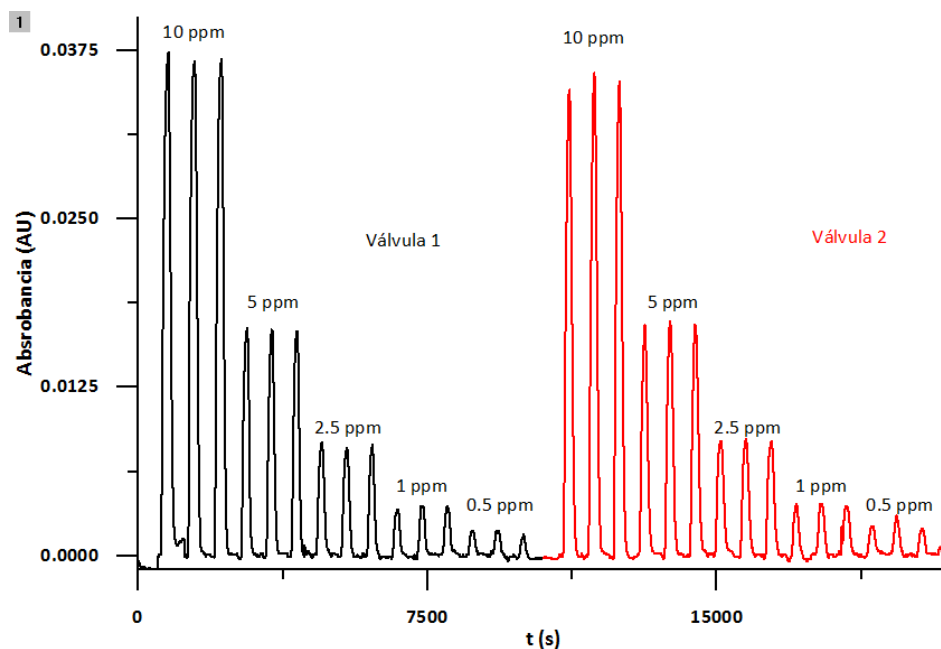


Figura 4.44 Calibración por multi-conmutación del MFIACu V0 (2.) Utilizando la secuencialmente la Válvula 1 y la Válvula 2.

Utilizando los datos de calibración de las válvulas se ha calculado los coeficientes de calibración de las mismas, descrito en la Tabla 4.17 permite relacionar las señales analíticas obtenidas entre los procesos de calibración y de muestreo. Como se puede ver en la Figura 4.45, las rectas de calibración, obtenidas para ambas válvulas, presentan un rango lineal de 10 a 0.5 ppm de cobre y presentan $R^2 > 0.999$.

Tabla 4.17 Comparación de señales analíticas obtenidas en la calibración por multi-conmutación del MFIACu V0 (2) utilizando la secuencialmente la Válvula 1 y la Válvula 2.

Cu	Absorbancia (AU) (Válvula 1)	Absorbancia (AU) (Válvula 2)	Coefficiente de calibración (Abs Válvula 1/Abs Válvula 2)
10 ppm	0.04122	0.03753	1.09856
5 ppm	0.02075	0.01842	1.12608
2.5 ppm	0.0106	0.00959	1.10574
1 ppm	0.00471	0.00451	1.04483

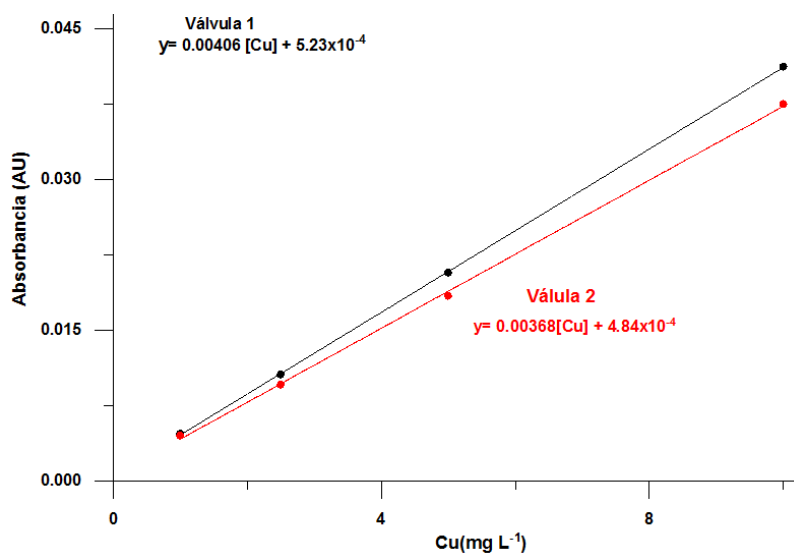


Figura 4.45 Rectas de calibración por multi-commutación utilizando secuencialmente la Válvula 1 y la Válvula 2 del MFIACu V0 (2.).

Programa de calibración y muestro

Como se describió anteriormente, la utilización de filtros de jeringa, con el objetivo de impedir la entrada de biomasa en el módulo microfluidico, originó un aumento del tiempo de limpieza de una inyección de 250 para 440 segundos, lo que significa un aumento de 46% en el Tiempo Total de Inyección de Muestra. Por esa razón y de forma de minimizar este efecto en el tiempo de análisis, se decidió suprimir el patrón de 0.5 ppm de Cu, calibrando el MFIACu V0 (2), con inyección de muestras por triplicado, con 4 puntos en el rango de 10 a 1 ppm, como se puede ver en la Tabla 4.18.

Tabla 4.18 Comparación del tiempo de calibración para diferentes configuraciones de MFIACu

Configuración	Tiempo total Inyección de Muestra	Muestras/Hora	Tiempo de Calibración (10, 5, 2.5, 1, 0.5 ppm)	Tiempo de Calibración (10, 5, 2.5, 1 ppm)
MFIACu V0 (1) (Sin Filtros)	410 s (160 + 250 s)	8.8	6150 s	4920 s
MFIACu V0 (2) (2 Filtros)	600 s (160 + 440s)	6	9000 s	7200 s

Aún que, en su configuración (2) el MFIACu V0 pueda funcionar como un sistema autónomo, este se conectó a una computadora, para poder, en tiempo real,

monitorizar las señales analíticas obtenidas. Como se ve en la Tabla 4.19, el software SW-MFIACu 2, desarrollado en lenguaje C++ de forma a programar el microprocesador del Módulo Electrónico, permite registrar como mínimo 12 variables. Estas variables se dividen en 3 categorías.

Tabla 4.19 Variables registradas por el MFIA V(2)

Datos registrados por el MFIACu V2							
Tiempo real	t (s)	V0 (v)	V (v)	Abs	Abs Micro		
Calibración	Abs (10 ppm)	Abs (5 ppm)	Abs (2.5 ppm)	Abs (1 ppm)	m (Pendiente)	n (Ordenada en el origen)	R ² (coeficiente de determinación)
Muestra Real	[Cu] ₁ [Cu] ₂ [Cu] ₃ ... [Cu] _x						

Las variables de tiempo real (t, V0, V, Abs, Abs Micro) permiten hacer la monitorización en continuo del proceso analítico. La variable Abs, calculada a partir de los datos de V0 y V, contiene todos los datos del proceso analítico mientras que en la variable Abs_Micro, se registran solamente los datos analíticos existentes entre 2 referencias. Los datos registrados en la variable Abs Micro son utilizados en el procesamiento de señal analítica, efectuado por el microprocesador.

Se puede programar el MFIACu V0 (2) de forma que este registre en tiempos específicos, en la variable Abs Micro, Referencias con alturas de pico muy superiores a los datos del proceso analítico, que se usarán en el procesamiento matemático de la señal analítica, como se puede ver en la Figura 4.46.a) y b).

Utilizando el Software MFIACu 2, se desarrolló una secuencia de programación a que se denominó programa 24h (Prg 24h). Este consiste en una secuencia de 23 programas que se repiten cada 24h. El Prg 24h está constituido por el programa de Calibración (Prg Calibración), con una duración 8100 s (2h15 min), y 22 programas de muestreo (Prg Muestreo), cada uno con una duración de 1 hora. Como se puede ver en la figura d), el Prg Calibración es compuesto por un paso de limpieza del sistema fluídico (inyección de HNO₃ por actuación de la Válvula 3) seguido de una calibración, con inyecciones de muestras por triplicado, utilizando

patrones de 10, 5, 2.5 y 1 ppm (preparados *in situ* por multi-conmutación de la Válvula 2).

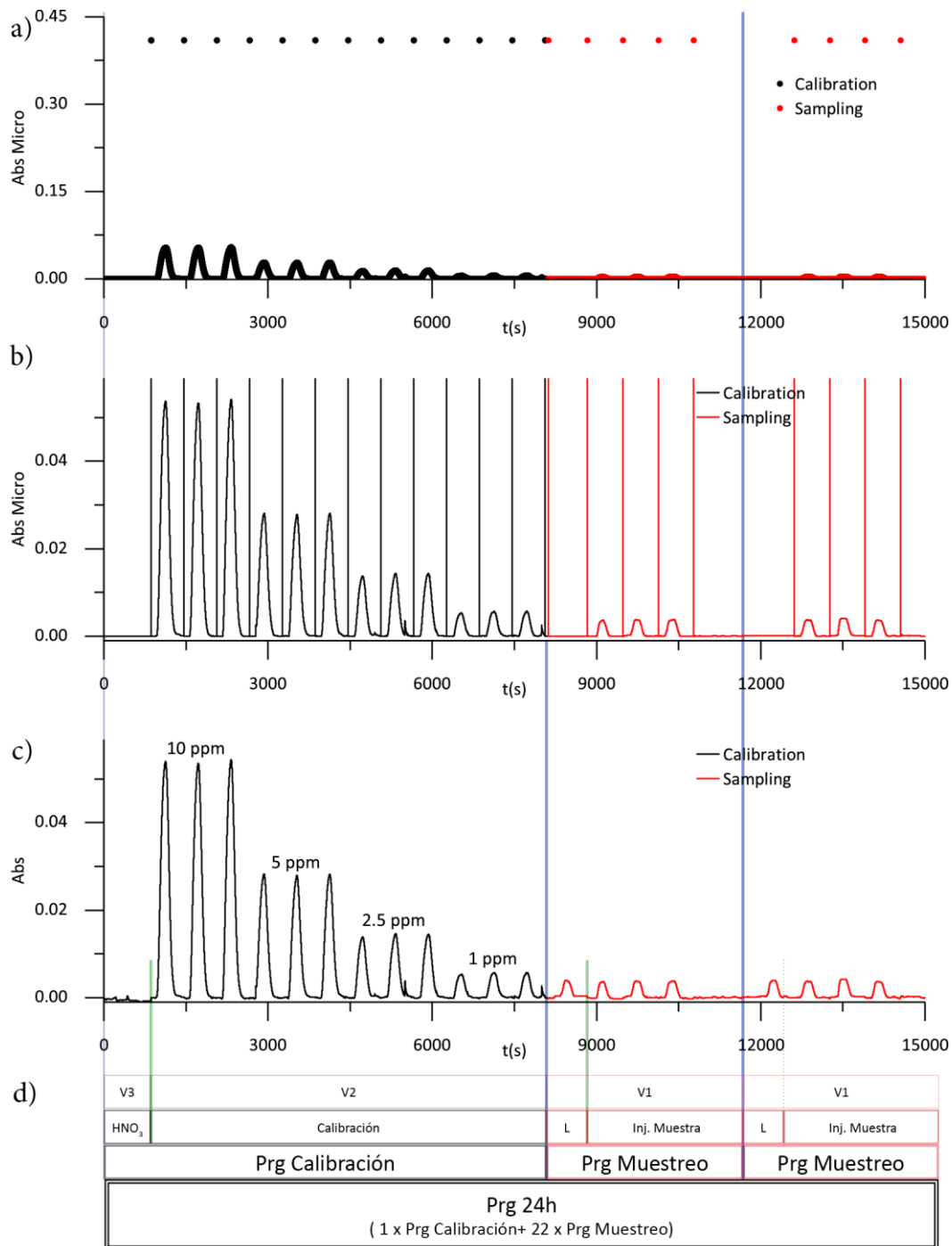


Figura 4.46 a) Señal analítica, graficado como diagrama de dispersión, registrada en la Variable Abs Micro utilizando el MFIACu V0 (2.). b) Señal analítica, graficado como diagrama de línea, registrada en la Variable Abs Micro utilizando el MFIACu V0 (2.). c) Señal analítica, graficado como diagrama de línea, registrada en la Variable Abs utilizando el MFIACu V0 (2.). d) Esquema de la estructura del Prg 24h y su consecuente señal analítica.

Las Referencias tienen una doble función, permiten utilizar el sistema de detección óptico como un espectrofotómetro de eje único miniaturizado, eliminando posibles derivas del voltaje del fotodiodo con la temperatura, ya que en cada referencia se aumenta el voltaje del fotodiodo a su valor máximo. Por otro lado, el procesamiento matemático de la señal analítica utiliza el método de mínimos cuadrados para calcular los máximos locales entre dos referencias. Es así posible programar el MFIACu V0 (2) de forma compleja, definiendo Inyección de Muestra, por no presentar referencias, como la inyección de HNO_3 al inicio del programa de calibración, no entrarán en el procesamiento matemático.

El PRG Muestreo es constituido por 4 inyecciones de muestra real. La primera inyección, no contiene referencia y como tal no es usada en el procesamiento matemático. Esta Inyección tiene como función limpiar el tubo de muestra analizada anteriormente, de forma que el muestreo sea significativo. Sus parámetros hidrodinámicos dependen de la distancia del analizador a la punto de recoja de muestra real, así que, estos tendrán siempre que ser optimizados para cualquier aplicación en campo. Las 3 inyecciones de muestra siguientes contienen referencias que se usan para calcular de las concentraciones reales de Cu.

El procesamiento matemático del Prg de Calibración se basa en el cálculo de las alturas de pico de las Inyecciones de Muestra que contengan Referencias, siendo el valor medio del triplicado registrados en las variables Abs (10 ppm), Abs (5 ppm), Abs (2.5 ppm) y Abs (1 ppm) respectivamente. Estos valores, ajustados de acuerdo con los coeficientes de calibración entre la válvula 1 y válvula 2, son usados en la determinación de la recta de calibración lineal. Los datos referentes a esta recta son registrados en las Variables m, n y R^2 . El procesamiento matemático del Prg Muestreo permite determinar la altura de pico de cada Inyección de muestra real que contenga Referencias, calcular el valor medio del triplicado de Inyecciones de Muestra Real, interpola ese valor en la recta de calibración y finalmente registra el valor de la concentración de Cu en la variable $[\text{Cu}]_x$, siendo x el índice de hora de Prg Muestreo.

4.7 Instalación de MFIACu en la mina



Figura 4.47 a) Localización del MFIACu V1 en la Mina La Parreña, unidad Milpillás. b) Represa 5. c) Colector de salidas de agua de mina del Represa 5 d) Salidas de agua de mina del Represa 5 e) Gabinetes Industriales del MFIACu

Como se puede ver en la Figura 4.47, el MFIACu Versión 1 (V1) se instaló en el colector de salidas de agua del Represa 5, para esta se construyó una estructura metálica de soporte, visible en la Figura 4.47 c), donde se montaron 3 gabinetes industriales de dos medidas diferentes; en los dos gabinetes pequeños, instalados en la parte superior del soporte metálico, están los contenedores de reactivos, como se puede ver en la Figura 4.47e). El almacenaje de cada uno de los reactivos es el siguiente: 4 Litros de buffer de fosfatos, NRS y agua bi destilada, respectivamente; 1 Litro de solución stock de Cu y 1 Litro HNO_3 . En el gabinete industrial instalado en la parte inferior de la estructura metálica se ensamblaron los módulos de fluídica, microfluídica, electrónica y sistema de detección óptica del MFIACu.

Comunicación MFIACu V1 - USB - Computadora

Para verificar el correcto funcionamiento del MFIACu V1, instalado en el Represo 5 de la mina, se conecta el MFIACu V1 a una computadora vía USB, en la cual se transfieren los datos registrados por el microprocesador en tiempo real.

Optimización de Parámetros Hidrodinámicos

En la mina se optimizaron los parámetros hidrodinámicos de la primera inyección de muestra del Prg Muestreo, que tiene la función de limpiar el tubo de muestra analizada anteriormente de forma que el muestreo sea significativo y estos dependen de la distancia del MFIACu a la toma de muestra, de esta forma se definieron la totalidad de parámetros hidrodinámicos usados en el Prg 24h, como se puede ver en la Tabla 4.20. Utilizando el Prg 24h el MFIACu V1 (3.) tiene una autonomía de 8.7 días.

Tabla 4.20 Parámetros hidrodinámicos utilizados para controlar el funcionamiento del MFIACu

Prg 24H							
Prg Calibración				Prg Muestreo			
Inyección de muestra (HNO3)		Inyección de muestra (Patrones)		Limpieza de muestra (real)		Inyección de muestra (real)	
Tiempo de Inyección de Muestra	Tiempo de Limpieza de Muestra	Tiempo de Inyección de Muestra	Tiempo de Limpieza de Muestra	Tiempo de Inyección de Muestra	Tiempo de Limpieza de Muestra	Tiempo de Inyección de Muestra	Tiempo de Limpieza de Muestra
190 s	500 s	160 s	440 s	300 s	500 s	200 s	440 s

Verificación del funcionamiento del MFIACu V1

Del MFIACu V1 instalado en la mina La Parreña, se pudieron obtener datos de la primera calibración y muestra real del día 19 de Abril de 2018. Para verificar el correcto funcionamiento del MFIACu V1, este se conecta a la computadora y se ejecuta el Prg 24 h, permitiendo así la monitorización en tiempo real de la señal analítica. Los datos registrados se procesaron en el programa OriginLab y se compararon con los obtenidos del procesador, de forma independiente, por el microprocesador del MFIACu V1. Como se puede ver en la Figura 4.48 se verificó un correcto funcionamiento del MFIACu V1 y se obtuvo una respuesta lineal de la Absorbancia con la concentración de Cu en el rango de 10 a 1 ppm, con una $R^2 > 0.995$ (Figura 4.49), permitiendo así cubrir el rango de trabajo pretendido.

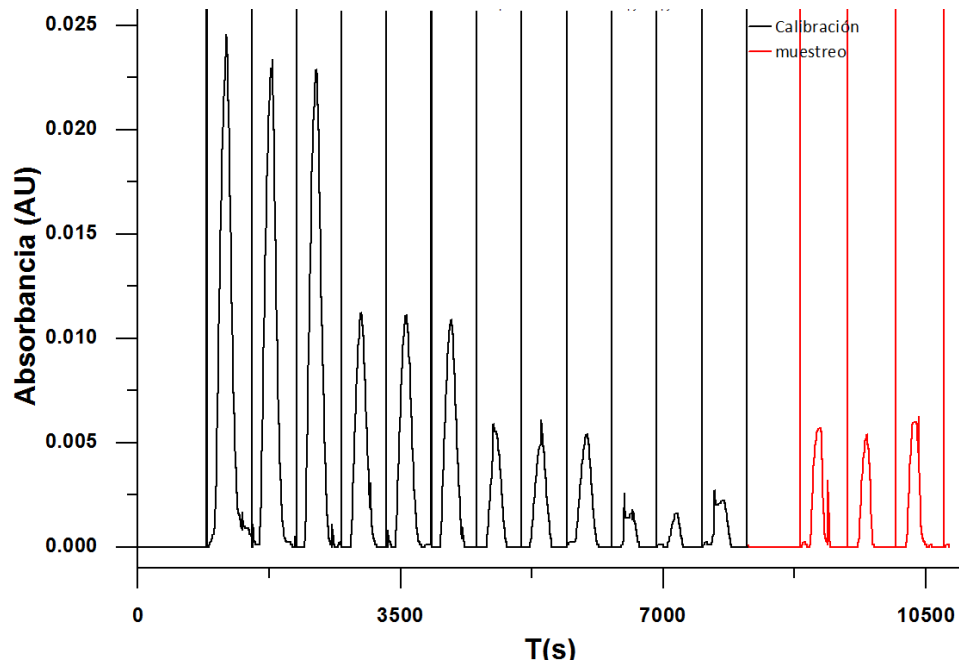


Figura 4.48 Registro de la variable Abs Micro del Prg 24h utilizando el MFIACu V1 (3.), obtenido conectando el MFIACu V1 ,vía USB, a la computadora

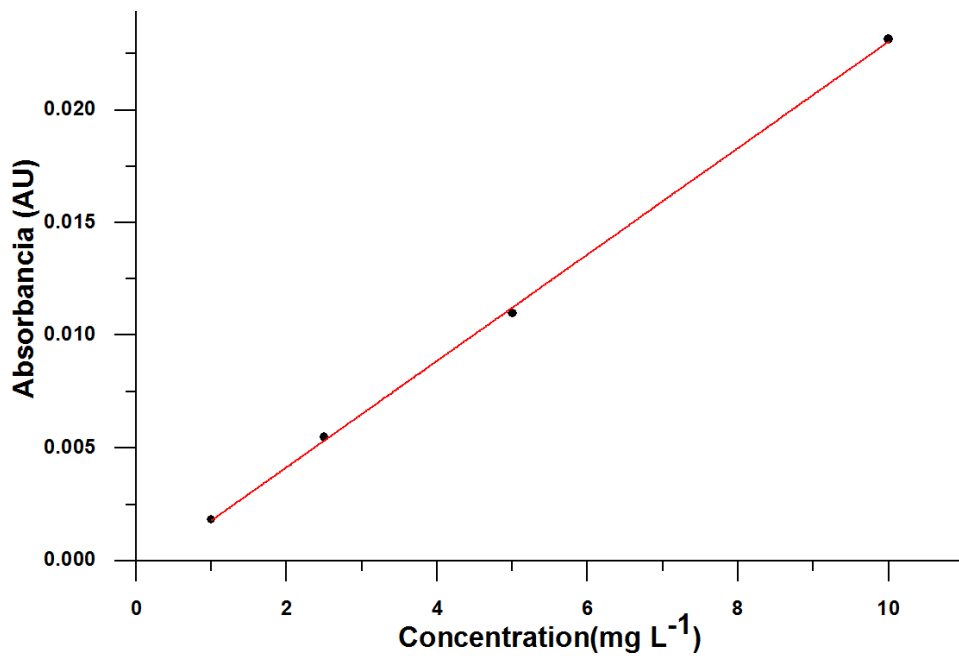


Figura 4.49 Recta de calibración obtenida para MFIACu V1 en el rango de 10 a 1 ppm de Cu, obtenido conectando el MFIACu V1 ,vía USB, a una computadora

Comunicación

Verificado su correcto funcionamiento, se ha conectado el MFIACu V1 al radio existente en el pHímetro instalado en el Colector de Salidas de agua del Represa

5. El radio utilizado tiene 2 canales, uno dedicado a la transmisión de datos del pHímetro. Teniendo 1 canal de comunicación libre, se ha decidido transmitir los datos registrados por el MFIACu en la variable Abs Micro. De esta forma es posible analizar la totalidad de la señal analítica del Prg 24h. Sin embargo, los datos tienen que ser procesados posteriormente, utilizando el programa OriginLab para obtener el valor de las concentraciones de las muestras reales.

El sistema de comunicaciones vía radio, entre el MFIACu V1 y el Centro de comunicaciones sufre pérdidas de paquetes de información, por lo que se modificó el Prg 24 h, para transmitir datos cada 20s, en lugar de cada 1s como se había planteado en un principio, disminuyendo la pérdida de datos.

Análisis de Datos de Muestras Reales para el Periodo de 19 de Abril a 16 de Mayo de 2018

Los datos registrados por el MFIACu V1 en la Variables Abs Micro se transfieren vía radio para el Centro de Comunicaciones de la Mina La Parreña y de ahí al Centro de Comunicaciones del Peñoles en Torreón. Estos registros se envían posteriormente al ITL y a la UAB, donde se analizaron.

Concentración de Cu en el Represa 5 presenta una variación gaussiana con el tiempo, con una periodicidad de 1 día, en el rango de 0.9 a 8.5 ppm de Cu y máximos de concentración al redor de las 16:00.

Preparación de Reactivos

Se logró optimizar los parámetros químicos e hidrodinámicos por el uso del biosida 2cloroacetamida (C_2H_4ClNO) (Sigma-Aldrich) para descartar problemas de biomasa, Actualmente en la mina se preparan los reactivos con la siguiente concentración se redujó la concentración del reactivo de limpieza HNO_3 de 1 M a 0.5 M

Química

Reactivo NRS 1.060mM Nitroso R-Salt + **1.3g 2Cloroacetamida**

Reactivo Buffer Fosfatos 0.1 M pH 6.75 + **1.3g 2Cloroacetamida**

Reactivo estándar Cu ($10mgL^{-1}$)

Reactivo HNO_3 1M \rightarrow 0.5M

Reactivo 5 (H_2O) MiliQ

Se logra apreciar en la Figura 4.50 que el uso del biosida evita la formación de la biomasa en las tuberías utilizadas en el módulo fluídico, descartando con esto la

posibilidad de que esta llegue a obstruir la cámara de detección en el dispositivo fluídico de COC, se utilizó cabe resaltar que sólo se utilizó en estos dos reactivos NRS y Buffer, debido a que es en los únicos canales que se observó la generación de biomasa, quedando descartada la posibilidad de preparar la solución estándar de 10mgL^{-1} con el uso del biosida.

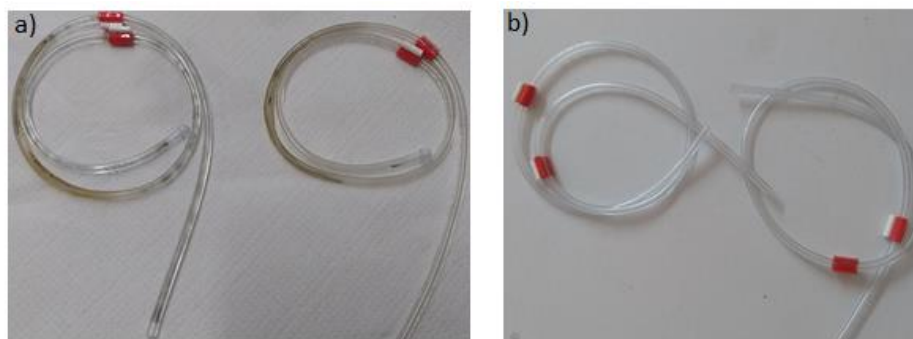


Figura 4.50 Imágenes de tubería de tygon tiempo promedio de uso 10 días continuos a) sin el uso de biosida b) uso de biosida

Los parámetros hidrodinámicos se mantienen sin cambios, al remover los filtros y utilizar el biosida

Parámetros hidrodinámicos

Caudal de $350\ \mu\text{L}/\text{min}$

Volumen de inyección $>900\ \mu\text{L}$.

En la siguiente Tabla 4.21 se puede observar la variación en el tiempo de limpieza así como la inyección de la muestra, con esto se reduce el tiempo de calibrado por lo que aumenta el número de muestras real a determinar con esto se reduce el tiempo de calibrado por lo que aumenta el número

Tabla 4.21 Reducción del tiempo de limpieza y de inyección de muestra

Tiempo de Inyección de la muestra (s)	Tiempo de limpieza de muestra(s)	Tiempo total de inyección de la muestra(s)
160	440→250	600→410

Al reducir 190s el tiempo de limpieza y de inyección de la muestra se permite tener una hora más de muestreo y monitoreo del agua que fluye hacía el arroyo fuera de la mina.

Cabe recalcar que el valor máximo permitido legalmente en México de

concentración de cobre para aguas vertidas en bienes naturales debe ser menor a 4 mgL^{-1} . No obstante, los datos deberán ser comparados con las concentraciones obtenidas utilizando la técnica de espectroscopia de absorción atómica por el Laboratorio de Química de la mina La Parreña.

CONCLUSIONES Y OBSERVACIONES

- En el marco del proyecto *MFIACu*, se desarrolló, en colaboración entre la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB) y el Instituto Tecnológico de la Laguna (TEC Laguna), un Micro Analizador de Cobre de Flujo Continuo (MFIACu). Se instaló en la Mina La Parreña Unidad Milpillas, en el mes de Abril de 2018, optimizándolo en Agosto 2018, Enero y Abril 2019, el MFIACu tiene la finalidad de monitorizar, de forma continua, la concentración de Cobre en las aguas de mina que se vierten al arroyo Milpillas.
- De las metodologías analizadas para la determinación del cobre, se logró establecer una adaptación para realizarla de forma en continua, directamente de un efluente de mina de cobre, esta adaptación de la muestra, se lleva a cabo por la mezcla de los reactivos, buffer de fosfatos 0.1 M, reactivo colorimétrico NRS 1.06 mM, obteniendo un pH neutro que permite realizar lecturas espectrofotométricas a una longitud a 500 nm.
- El estudio de interferencias sirvió para conocer los elementos que pudieran intervenir en la cuantificación del cobre, encontrándose sólo para cantidades significativas de diversos elementos.
- Una vez diseñadas las etapas que son referidas en módulos, se optimizan las variables de operación siendo la primera en el módulo de la química, reactivos químicos y microfluidica, está definido por una bomba peristáltica, válvulas selenoides y la plataforma fluidica. El sistema para inyección de volumen es estable para volúmenes mayores a 900 μL . La válvula usada para producir las diluciones por multi conmutación, es activada para ciclos de 1 s, el tiempo en el cual se abre la válvula, para hacer pasar el stok de 10 ppm de forma intermitente para realizar la curva de calibración.
- El MFIACu se diseñó como un micro analizador automático que permita la monitorización on-line y en tiempo real de la concentración de Cu, en un rango de 0.5 a 10 ppm. La determinación de Cu se hace utilizando una reacción colorimétrica, presentando el MFIACu un sistema de calibración automático con generación *in situ* de patrones de calibración de concentración decreciente, a partir de la técnica de multi-conmutación de una única solución patrón.
- El MFIACu instalado tiene una autonomía de ocho días y permite hacer

calibraciones de forma automática y una muestra, por triplicado, por hora. Para comprobar el correcto funcionamiento del MFIACu en condiciones reales, se decidió, en conjunto con el Departamento de Comunicaciones de la mina La Parreña, transmitir la totalidad de las señales analíticas del sistema, vía radio. Los datos de las muestras reales registrados, en el periodo de 19 de abril de 2018 a 16 de Mayo de 2018, describen una variación cíclica de la concentración de cobre, con periodicidad de 1 día en el rango de 0.9 a 8.5 ppm de cobre.

- En la visita realizada en Abril 2019 fue posible aumentar la infraestructura de comunicación en la Mina La Parreña, utilizando las potencialidades de procesamiento de señal del MFIACu. Actualmente se transmiten 4 señales: Absorbancia, concentración de Cobre, Temperatura ambiente y tensión, por lo que los dos únicos datos registrados (Absorbancia vs tiempo) por la versión del software anterior, han dejado de ser procesados matemáticamente por el programa Origin Lab. Por lo que actualmente es posible la determinación de la concentración de Cobre en muestras reales en promedio por hora.
- No obstante, es importante que los datos sean comparados con las concentraciones obtenidas utilizando la técnica de Espectroscopia de Absorción Atómica por el laboratorio de Química de la mina La Parreña.
- En la actualidad, el problema relacionado con el crecimiento de biomasa en el Módulo Fluídico, se resolvió adicionando biocida en la preparación de los reactivos, específicamente la solución buffer y el reactivo colorimétrico NRS, con esto se remplazaron los filtros en los canales de los reactivos: cloroacetamida (SigmaAldrich, San Luis, Misuri, Estados Unidos) el biocida evita la formación de biomasa en los tubos tygon y el ser arrastrada hacia la cámara de detección del módulo microfluidico, el uso del biocida permitió reducir los tiempos de calibración y de limpieza, por lo que el tiempo de autonomía del MFIACu aumentó a 10 días.
- La infraestructura del sistema de comunicación de radio, permite la utilización del MFIACu de forma Autónoma, así como la verificación de la periodicidad del Prg 24h, que permite obtener una calibración diaria del sistema, por lo que el MFIACu actualmente está siendo utilizado con un mayor potencial. Cabe mencionar que el monitoreo de Cu en tiempo de verano, se ve afectada por la utilización del agua de la represa 5 es utilizado en el procesamiento del mineral, debido a la alta evaporación de agua que se sufre durante el periodo de Mayo- Agosto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] A. Manz, N. Graber, and H. M. Widmer, "Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 1, no. 1–6, pp. 244–248, Jan. 1990.
- [2] Z. M. Da Rocha, C. Martínez-Cisneros, M. R. Góngora-Rubio, J. Alonso, F. Valdés, and A. C. Seabra, "Versatile and automated continuous flow colorimetric microanalyzer for environmental determinations," *Ibersensor 2010*, vol. IB40, no. November, pp. 9–11, 2010.
- [3] D. R. Reyes, D. Iossifidis, P. A. Auroux, and A. Manz, "Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology," *Anal. Chem.*, vol. 74, no. 12, pp. 2623–2636, 2002.
- [4] Z. M. Da Rocha, C. S. Martínez-Cisneros, A. C. Seabra, F. Valdés, M. R. Góngora-Rubio, and J. Alonso-Chamarro, "Compact and autonomous multiwavelength microanalyzer for in-line and in situ colorimetric determinations," *Lab Chip*, vol. 12, no. 1, pp. 109–117, 2012.
- [5] G. Luka *et al.*, "Microfluidics integrated biosensors: A leading technology towards lab-on-a-chip and sensing applications," *Sensors (Switzerland)*, vol. 15, no. 12, pp. 30011–30031, 2015.
- [6] I. Grabowska, M. Sajnoga, M. Juchniewicz, M. Chudy, A. Dybko, and Z. Brzozka, "Microfluidic system with electrochemical and optical detection," *Microelectron. Eng.*, vol. 84, no. 5–8, pp. 1741–1743, 2007.
- [7] F. Habashi, "A short history of hydrometallurgy," *Hydrometallurgy*, vol. 79, no. 1–2, pp. 15–22, Sep. 2005.
- [8] E. (contralinea) Mendoza, "Contaminados, siete de cada 10 ríos de México," 2014.
- [9] S. Daniel, "Derrame en el río, mayor desastre ecológico en Sonora," Hermosillo, Son., 2014.
- [10] C. S. Wang J1, Ren L, Li L, Liu W, Zhou J, Yu W, Tong D, "Microfluidics: a new cosset for neurobiology.," *Lab Chip.*, vol. 9, no. 5, pp. 644–52, 2009.
- [11] M. Sequeira, "Towards autonomous environmental monitoring systems," *Talanta*, vol. 56, no. 2, pp. 355–363, 2002.
- [12] J. Ruzicka, "Flow injection-renewable surface techniques," *Anal. Chim. Acta*, vol. 308, no. 1–3, pp. 14–19, 1995.
- [13] R. N. J. Mancera and L. R. Álvarez, "Estado del conocimiento de las concentraciones de

- mercurio y otros metales pesados en peces dulceacuícolas de Colombia,” *Acta Biológica Colomb.*, vol. 11, no. 1, pp. 3–23, 2006.
- [14] S. Babel and T. A. Kurniawan, “CAB Direct,” *African J. Range Forage Sci.*, vol. 22, no. 1, pp. 73–74, 2010.
- [15] V. Krstić, T. Urošević, and B. Pešovski, “A review on adsorbents for treatment of water and wastewaters containing copper ions,” *Chemical Engineering Science*, vol. 192. Pergamon, pp. 273–287, 31-Dec-2018.
- [16] Ó. Raúl MANCILLA-VILLA, H. Manuel ORTEGA-ESCOBAR, C. Ramírez-ayala, E. Uscangamortera, R. Ramos-bello, and A. Laura REYES-ORTIGOZA, “Metales Pesados Totales Y Arsénico En El Agua Para Riego De Puebla Y Veracruz, México,” *Rev. Int. Contam. Ambie*, vol. 28, no. 1, pp. 39–48, 2012.
- [17] Semarnat, “Nom-001-Ecol-1996,” 1996.
- [18] DOF, “NOM 159 Semarnat 2011,” Distrito Federal, 2011.
- [19] N. Kuyucak, “Acid mine drainage prevention and control options,” in *In: Proceedings of the Congress of the International Mine Water Association*, 1999, p. 599–606.
- [20] W. A. M. Fernando, I. M. S. K. Ilankoon, T. H. Syed, and M. Yellishetty, “Challenges and opportunities in the removal of sulphate ions in contaminated mine water: A review,” *Miner. Eng.*, vol. 117, pp. 74–90, Mar. 2018.
- [21] WHO, “World Health Organization,” 2019. [Online]. Available: <https://www.who.int/es>.
- [22] A. de sustancias tóxicas y registro de Enfermedades, “ASTD,” 2004.
- [23] L. F. Londoño Franco, P. T. Londoño Muñoz, and F. G. Muñoz Garcia, “Los Riesgos De Los Metales Pesados En La Salud Humana Y Animal,” *Biotecnología en el Sect. Agropecu. y Agroindustrial*, vol. 14, no. 2, p. 145, 2016.
- [24] D. Skoog, Douglas; West, *Introducción a la Química Analítica*. Barcelona, España, 2002.
- [25] R. M. J. Páscoa, I. V. Tóth, and A. O. S. S. Rangel, “Spectrophotometric determination of zinc and copper in a multi-syringe flow injection analysis system using a liquid waveguide capillary cell: Application to natural waters,” *Talanta*, vol. 84, no. 5, pp. 1267–1272, 2011.
- [26] A. González *et al.*, “Microsequential injection lab-on-valve system for the spectrophotometric bi-parametric determination of iron and copper in natural waters,” *Talanta*, vol. 167, pp. 703–708, May 2017.
- [27] O. N. Bustos López, F. V. Perezgasga, H. A. Moreno Casillas, J. A. Chamarro, and H. C. Fuentes, “Analytical microsystem for the monitoring and analysis of cobalt in aqueous solutions using LTCC technology,” *J. Mex. Chem. Soc.*, vol. 58, no. 4, pp. 411–415, 2014.

- [28] Y. Hayashibe, "Determination of cobalt in zinc electrolyte by an automated flow-injection system," *Talanta*, vol. 41, no. 4, pp. 531–536, Apr. 1994.
- [29] I. C. Santos, R. B. R. Mesquita, and A. O. S. S. Rangel, "Micro solid phase spectrophotometry in a sequential injection lab-on-valve platform for cadmium, zinc, and copper determination in freshwaters.," *Anal. Chim. Acta*, vol. 891, pp. 171–8, Sep. 2015.
- [30] B. Horstkotte, M. Alexovič, F. Maya, C. M. Duarte, V. Andruch, and V. Cerdá, "Automatic determination of copper by in-syringe dispersive liquid-liquid microextraction of its bathocuproine-complex using long path-length spectrophotometric detection.," *Talanta*, vol. 99, pp. 349–56, Sep. 2012.
- [31] M. R. Ullah and M. E. Haque, "Spectrophotometric determination of toxic elements (cadmium) in aqueous media," *J. Chem. Eng.*, vol. 25, no. 1, pp. 1–12, 2010.
- [32] S. Stets, T. M. Tavares, P. G. Peralta-Zamora, C. A. Pessoa, and N. Nagata, "Simultaneous Determination of Rifampicin and Isoniazid in Urine and Pharmaceutical Formulations by Multivariate Visible Spectrophotometry," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 24, no. 7, pp. 1198–1205, 2013.
- [33] N. Mergu and V. K. Gupta, "A novel colorimetric detection probe for copper(II) ions based on a Schiff base," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 210, pp. 408–417, Apr. 2015.
- [34] M. Blanco *et al.*, "On the electrochemical behavior of Cu–16%Zn–6.5%Al alloy containing the β' -phase (martensite) in borate buffer," *Electrochim. Acta*, vol. 107, pp. 238–247, Sep. 2013.
- [35] A. M. Bond, "200 years of practical electroanalytical chemistry: past, present and future directions illustrated by reference to the on-line, on-stream and off-line determination of trace metals in zinc plant electrolyte by voltammetric and potentiometric techniques," *Anal. Chim. Acta*, vol. 400, no. 1–3, pp. 333–379, Nov. 1999.
- [36] J. Ghasemi, N. Shahabadi, and H. R. Seraji, "Spectrophotometric simultaneous determination of cobalt, copper and nickel using nitroso-R-salt in alloys by partial least squares," *Anal. Chim. Acta*, vol. 510, no. 1, pp. 121–126, May 2004.
- [37] A. Jędrychowska, K. Malecha, J. Cabaj, and J. Sołoducho, "Laccase biosensor based on low temperature co-fired ceramics for the permanent monitoring of water solutions," *Electrochim. Acta*, vol. 165, pp. 372–382, 2015.
- [38] B. Purachat, S. Liawruangrath, P. Sooksamiti, S. Rattanaphani, and D. Buddhasukh, "Univariate and simplex optimization for the flow-injection spectrophotometric determination of copper using nitroso-R salt as a complexing agent.," *Anal. Sci.*, vol. 17, no. 3, pp. 443–7, 2001.
- [39] O. N. B. López, H. C. Fuentes, F. V. Perezgasga, H. A. M. Casillas, and J. A. Chamarro,

- "Detection and analysis of cobalt in continuous flow using an analytical microsystem based on LTCC technology," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 227, pp. 11–16, 2016.
- [40] J. Hoste, J. Eeckhout, and J. Gillis, "Spectrophotometric determination of copper with cuproine," *Anal. Chim. Acta*, vol. 9, no. C, pp. 263–274, 1953.
- [41] A. Calvo-López, E. Arasa-Puig, M. Puyol, J. M. Casalta, and J. Alonso-Chamarro, "Biparametric potentiometric analytical microsystem for nitrate and potassium monitoring in water recycling processes for manned space missions," *Anal. Chim. Acta*, vol. 804, pp. 190–196, 2013.
- [42] A. Calvo-López, O. Ymbern, M. Puyol, J. M. Casalta, and J. Alonso-Chamarro, "Potentiometric analytical microsystem based on the integration of a gas-diffusion step for on-line ammonium determination in water recycling processes in manned space missions," *Anal. Chim. Acta*, vol. 874, pp. 26–32, 2015.
- [43] K. Oguma, "Flow-injection simultaneous determination of iron(III) and copper(II) and of iron(III) and palladium(II) based on photochemical reactions of thiocyanato-complexes," *Talanta*, vol. 58, no. 6, pp. 1077–1087, Dec. 2002.
- [44] C. C. et al. Oliveira, "Multicommutation in flow analysis . Part 4 . Computer-assisted splitting for spectrophotometric determination of copper and zinc in plants," *Anal. Chim. Acta*, vol. 2670, no. 96, pp. 173–178, 1996.
- [45] M. A. Taher, "Determination of trace copper in biological and environmental samples by third derivative spectrophotometry after pre-concentration with the ion pair of nitroso-R and tetradecyldimethylbenzylammonium chloride on microcrystalline naphthalene," *Anal. Chim. Acta*, vol. 408, no. 1–2, pp. 153–161, 2000.
- [46] S. Ohno, N. Teshima, H. Zhang, and T. Sakai, "Utilization of activating and masking effects by ligands for highly selective catalytic spectrophotometric determination of copper and iron in natural waters.," *Talanta*, vol. 60, no. 6, pp. 1177–85, Aug. 2003.
- [47] H. . Klooster, "Nitroso R-Salt, a new Reagent for the detection of cobalt," vol. 46, no. 1885, pp. 46–49, 1921.
- [48] O. N. (Instituto T. de la L. Bustos, "DESARROLLO DE SENSORES Y MICROSISTEMAS ANALÍTICOS PARA CONTROL MEDIOAMBIENTAL E INDUSTRIAL MEDIANTE LA TECNOLOGÍA LTCC," 2014.
- [49] K. Sözgen, S. D. Cekiç, E. Tütem, and R. Apak, "Spectrophotometric total protein assay with copper(II)-neocuproine reagent in alkaline medium," *Talanta*, vol. 68, no. 5, pp. 1601–1609, 2006.
- [50] NMX-AA-66-1981, "Norma Mexicana Nmx-Aa-66-1981 , "Análisis De Agua-Determinación De Cobre- Metodo Clorimétrico De La Neocuproína ".," *D. Of. la Fed.*, pp. 1–6, 1992.

- [51] C. Campos, R. Guzmán, E. López-Fernández, and Á. Casado, "Evaluation of the copper(II) reduction assay using bathocuproinedisulfonic acid disodium salt for the total antioxidant capacity assessment: The CUPRAC–BCS assay," *Anal. Biochem.*, vol. 392, no. 1, pp. 37–44, 2009.
- [52] S. A. do Nascimento Rocha, A. F. Dantas, H. V. Jaeger, A. C. S. Costa, E. dos S. Leão, and M. R. Gonçalves, "Spectrofotometric determination of copper in sugar cane spirit using biquinoline in the presence of ethanol and Triton X-100.," *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 71, no. 4, pp. 1414–8, Dec. 2008.
- [53] P. Cañizares, "Análisis por inyección en flujo : herramienta clave para la automatización analítica," *J. Mex. Chem. Soc.*, vol. 46, pp. 167–174, 2002.
- [54] A. N. Araújo, R. C. . Costa, and J. Alonso-Chamarro, "Colorimetric determination of copper in aqueous samples using a flow injection system with a pre-concentration poly(ethylenimine) column," *Talanta*, vol. 50, no. 2, pp. 337–343, Sep. 1999.
- [55] L. Marle and G. M. Greenway, "Microfluidic devices for environmental monitoring," *TrAC - Trends Anal. Chem.*, vol. 24, no. 9, pp. 795–802, 2005.
- [56] G. A. Groß, T. Thelemann, S. Schneider, D. Boskovic, and J. M. Köhler, "Fabrication and fluidic characterization of static micromixers made of low temperature cofired ceramic (LTCC)," *Chem. Eng. Sci.*, vol. 63, no. 10, pp. 2773–2784, May 2008.
- [57] M. R. Gongora-Rubio, P. Espinoza-Vallejos, L. Sola-Laguna, and J. J. Santiago-Avilés, "Overview of low temperature co-fired ceramics tape technology for meso-system technology (MsST)," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 89, no. 3, pp. 222–241, 2001.
- [58] M. Karol, D. Marek, P. Dorota G., and G. Leszek J., "LTCC Microfluidic Systems for Biochemical Diagnosis," *Biocybern. Biomed. Eng.*, vol. 31, no. 4, pp. 31–41, 2011.
- [59] H. Becker and L. E. Locascio, "Polymer microfluidic devices," *Talanta*, vol. 56, no. 2, pp. 267–287, 2002.
- [60] C. S. Martínez-Cisneros, N. Ibáñez-García, F. Valdés, and J. Alonso, "LTCC microflow analyzers with monolithic integration of thermal control," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 138, no. 1, pp. 63–70, 2007.
- [61] J. Rubio, M. L. Souza, and R. W. Smith, "Overview of flotation as a wastewater treatment technique," *Miner. Eng.*, vol. 15, no. 3, pp. 139–155, Mar. 2002.
- [62] R. W. SMITH, *Liquid and Solid Wastes from Mineral Processing Plants*, vol. 16. 1996.
- [63] Taersa, "Diagrama de Solubilidad," 2019. [Online]. Available: <https://www.taersa.com/tecnologias-procesos/tratamiento-de-efluentes/pre-tratamiento/precipitacion-de-metales-pesados/>.