

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 958 384**

21 Número de solicitud: 202200054

51 Int. Cl.:

G01N 21/63

(2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

13.07.2022

43 Fecha de publicación de la solicitud:

08.02.2024

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE OVIEDO (100.0%)
C/ San Francisco 3
33003 Oviedo (Asturias) ES**

72 Inventor/es:

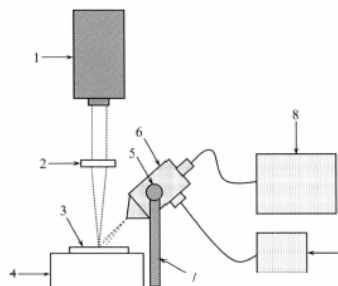
**MÉNDEZ LÓPEZ, Cristina;
FERNÁNDEZ MENÉNDEZ, Luis J.;
ÁLVAREZ LLAMAS, César;
GONZÁLEZ GAGO, Cristina;
PISONERO CASTRO, Jorge y
BORDEL GARCÍA, Nerea**

54 Título: **MÉTODO PARA LA IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE HALÓGENOS EN MUESTRAS LÍQUIDAS MEDIANTE ESPECTROSCOPIA DE RUPTURA INDUCIDA POR LÁSER ASISTIDA POR NEBULIZACIÓN**

57 Resumen:

Método para la identificación y determinación de halógenos en muestras líquidas mediante espectroscopia de ruptura inducida por láser asistida por nebulización, que comprende las etapas: a) nebulizar la muestra sobre un sustrato (3) con elemento alcalino-térreo, b) generar plasma inducido con un láser pulsado (1) enfocado sobre el sustrato (3), c) detectar el espectro de emisión atómica y molecular del plasma mediante un espectrómetro, d) tratar los datos del espectro de emisión, incluyendo la normalización de la señal, e) obtener una curva de calibrado y f) aplicar la secuencia de pasos desde a) hasta d) para la identificación y determinación de halógenos en una muestra. De aplicación en controles de calidad y/o de procesos, y en industrias donde se produzcan o utilicen compuestos que puedan contener halógenos, como en la de la producción tratamiento o distribución de aguas, en la de farmacia o en procesos de control ambiental, entre otros.

FIG. 1



DESCRIPCIÓN

Método para la identificación y determinación de halógenos en muestras líquidas mediante espectroscopia de ruptura inducida por láser asistida por nebulización

5

Sector de la técnica

La presente invención se refiere a una metodología sencilla para la detección y cuantificación de halógenos en muestras líquidas. El método comprende nebulizar la muestra sobre un sustrato con un contenido de un elemento de tipo alcalino-térreo. Simultáneamente o con un cierto retardo, se genera un pulso de radiación láser enfocado sobre el sustrato que induce un plasma cuya emisión analítica es analizada por espectroscopia óptica (por ejemplo, mediante técnica LIBS -espectroscopia de ruptura inducida por láser-). La presencia del elemento alcalino-térreo en el sustrato permite que los halógenos de la muestra se recombinen dando lugar a una emisión molecular, que se detecta con mayor facilidad y sensibilidad. Los datos brutos de la emisión se tratan incluyendo la normalización de la señal de emisión con respecto a una región del espectro y la substracción de la señal de emisión normalizada obtenida de una muestra blanco, donde la muestra blanco se trata de una matriz acuosa sin analito. A través de varios análisis se obtiene una curva de calibrado que permite realizar la detección y cuantificación de halógenos en cualquier muestra líquida. Actualmente esta metodología permite obtener límites de detección de hasta unas pocas partes por millón, dependiendo del halógeno.

Esta metodología es de aplicación en industrias y centros de investigación en los que se trabaje con compuestos acuosos que puedan contener halógenos, y en los que se llevan a cabo controles de calidad y/o de procesos. Por ejemplo, esta metodología se puede emplear en el análisis de aguas que pueden estar accidentalmente (contaminación por pesticidas y residuos industriales), o deliberadamente, fluorinadas (agua potable), clorinadas (agua potable, piscinas) o bromadas (piscinas), y que deben mantenerse por debajo de los límites legales que establezca la legislación. Otra industria para la que resulta de gran interés es la farmacológica, particularmente para productos de higiene dental (colutorios y enjuagues) con concentraciones significativas de NaF, compuestos clorados como ZnCl₂ o cetilpiridinio de zinc y compuestos bromados el bronopol (antimicrobiano). En general, diversos productos químicos podrían ser analizados por esta metodología, destacando hidrocarburos alogenados presentes en fluorosurfactantes (presentes en espumas anti-incendio, artículos de limpieza, adhesivos...), pinturas cloradas y pesticidas halogenados (industria agroalimentaria). Además, la naturaleza espectroscópica de la detección permite monitorear otros elementos presentes en las muestras, de forma simultánea, sin alterar la metodología.

Antecedentes de la invención

El uso y control de halógenos es de marcada importancia en múltiples ámbitos. Numerosos compuestos halogenados tienen propiedades de utilidad que los hacen ser empleados como aditivos, pero también tienen efectos corrosivos por lo que el análisis de halógenos forma parte del proceso de control de calidad de muchos productos.

Además, existe una creciente preocupación debido a los efectos tóxicos de los halógenos sobre el medio ambiente y sobre las personas. Esta exposición indeseada puede tener su origen, por ejemplo, en vertidos ilegales de residuos o filtración de pesticidas a las aguas o por consumo de alimentos o agua contaminada. En estos casos el análisis de halógenos es parte imprescindible del control de contaminación, tal como recomienda la Organización Mundial de la Salud [WHO, *Fluoride in Drinking-water* (2004; WHO/SDE/WSH/03.04/96), *Chlorine in Drinking-water* (2003; WHO/SDE/WSH/03.04/45) y *Bromide in Drinking-water* (2009; WHO/SDE/WSH/03.04/45),

Background documents for the development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, Geneva, World Health Organization].

Respecto a las técnicas empleadas para el análisis de halógenos, una revisión reciente de metodologías para detección de sulfuro y halógenos (Tjabadi, Evah, and Nomvano Mketo. "Recent developments for spectrometric, chromatographic and electroanalytical determination of the total sulphur and halogens in various matrices" *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 118 (2019):207-222) reúne ejemplos representativos de determinación directa en matrices de diversa naturaleza, entre los cuales se encuentran materias líquidas relevantes, como es el caso de la determinación de halógenos en aguas y en bebidas (leche, vino). Las técnicas empleadas son espectrometría de absorción molecular de alta resolución con fuente continua (HR-CS-MAS o HR-CS-GFMAS, que incluye un horno de grafito), fluorescencia de rayos X por reflexión total (TR-XRF) y fluorescencia de rayos X de energía dispersiva (ED-XRF). Estas técnicas ofrecen una altísima sensibilidad, típicamente desde ppm (partes por millón) a ppb (partes por billón). Sin embargo, ninguna de ellas tiene la posibilidad de ser implementada en línea al tratarse de equipos de sobremesa. Además, en el caso de HR-CS-GFMAS, es necesario adicionar reactivos (el componente con elemento alcalino-térreo se adiciona a la solución mediante pipeteo) y llevar a cabo un programa de temperaturas de varios pasos que alarga el proceso de obtención de una única medida en varios minutos.

También es técnica común en los laboratorios de análisis de rutina la Cromatografía Iónica (IC), la cual implica una preparación de muestra muy extensa para poder eliminar interferencias, extraer los analitos o corregir el pH (Michalski, Rajmund, and Paulina Pecyna- Utylska. "Ion chromatography as a parí of green analytical chemistry." *Archives of Environmental Protection* 46.4 (2020)).

Otra revisión más general (Jin, Mengting, et al. "Review of the distribution and detection methods of heavy metáis in the environment." *Analytical Methods* 12.48 (2020): 5747-5766) reúne algunas características favorables y desfavorables de técnicas habitualmente empleadas para la detección de metales pesados pero que también tienen aplicación en el análisis de halógenos en particular. Estas técnicas son ICP-MS (plasma inductivamente acoplado con detección mediante espectrometría de masas) o -AES (con detección espectroscópica de emisión atómica) y AAS (espectroscopia de absorción atómica) (espectroscopia de fluorescencia atómica). Entre las desventajas de estas técnicas se puede citar su alto coste económico, tanto instrumental como de funcionamiento (ICP-MS y -AES), el tiempo relativamente largo por muestra (varios minutos), interferencias en elementos ligeros (ICP-MS), preparación de muestra (todas) y la necesidad de múltiples lámparas en función del elemento a analizar (AAS).

Otras metodologías empleadas para el menester de la determinación de halógenos y particularmente del flúor se recogen en Rigalli, Alfredo, et al. "Determinación de la concentración de flúor en muestras biológicas." (2007):

- Electrodo selectivo de iones: esta técnica potenciométrica es de uso común por su relativa simpleza, pero tiene una serie de inconvenientes como son la necesidad de diferentes electrodos según el analito a determinar, la importancia de usar una solución reguladora de pH y fuerza iónica (que asimismo varía en función del electrodo empleado) y la existencia de interferencias de complicada eliminación.

- Cromatografía de gases: una técnica de altísima sensibilidad y selectividad con dos inconvenientes principales que son el coste del equipo y de su mantenimiento (consumo de columnas y otros componentes) y la imposibilidad de aplicación in-situ. Puede emplearse en conjunto con un espectrómetro de masas (GC-MS).

• Colorimetría: esta metodología puede tener variantes cualitativas (inspección visual) o cuantitativa (medidas de absorción). En ellas es muy importante mantener condiciones adecuadas de la disolución, lo que implica tanto eliminar interferencias por métodos como la destilación, añadir reactivos para ajustar el pH. Recientemente Sídlo y colaboradores (Sídlo, Michal, Premysl Lubal, and Pavel Anzenbacher. "Colorimetric chemosensor array for determinaron of halides." *Chemosensors* 9.2 (2021): 39.) desarrollaron un método para su aplicación a análisis rutinarios, con límites de detección moderados por encima de las ppm.

En relación a lo anteriormente descrito el análisis de halógenos resulta problemático por una serie de motivos que se exponen a continuación de forma sintetizada:

• Extensiva preparación de muestra. De manera general, todas las técnicas de análisis requieren llevar a cabo procesos de preparación que implican consumo de reactivos, lo que equivale a mayor tiempo invertido por muestra, mayor generación de residuos y, también, mayor gasto (Tylenda, C. A. (2003). *Toxicological profile for fluorides, hydrogen fluoride, and fluorine*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Harp, D.L., & Hach, C.C. (2003). *Current Technology of Chlorine Analysis for Water and Wastewater*.) Uno de los motivos que hacen necesaria la preparación de la muestra en los métodos conocidos es la dificultad de romper los fuertes enlaces moleculares en algunos compuestos halogenados a través de la técnica actual.

• Instrumental caro, especializado y muy complejo de operar, que repercute negativamente en la escalabilidad de las metodologías analíticas. Las técnicas más sensibles emplean sistemas experimentales que requieren una gran inversión económica. Ejemplos de ello serían la cromatografía de gases (GC) y la espectrometría de masas (MS). Además de la inversión inicial, también se emplean elementos en mayor o menor medida fungibles como las columnas (GC) o electrodos específicos (técnica de electrodo selectivo de iones, ISE), cuyo coste es elevado.

• Imposibilidad de aplicación fuera del laboratorio. En los métodos conocidos, tanto el procedimiento de preparación de la muestra como las particularidades de los equipos requeridos (dimensiones, método de introducción de muestra, imposibilidad de traslado) hacen que los análisis tengan que hacerse en instalaciones especiales, sin posibilidad de trabajar *on-site* o *in-line*.

Dentro de las técnicas de espectroscopia, y específicamente en la óptica, además de los problemas mencionados anteriormente, hay que añadir la dificultad para producir la excitación de las especies que da lugar a la emisión de radiación característica. Esto se debe a que los halógenos tienen sus primeros niveles excitados a energías muy altas y no es fácil conseguir una emisión considerable a partir de transiciones que los involucren. Además, sus líneas de emisión más intensas están en el ultravioleta de vacío, lo cual implica tanto un encarecimiento como una mayor complejidad del sistema experimental. Otras líneas de emisión en el infrarrojo, menos intensas, pueden emplearse en la detección introduciendo las muestras en atmósferas controladas (de nuevo, mayor encarecimiento y complejidad).

Una metodología para superar este problema sin intervenir en el sistema experimental es el uso de emisión molecular producida por una especie producto de la recombinación del halógeno en cuestión con un alcalino-térreo (Alvarez-Llamas, C., Pisonero, J., & Bordel, N. (2016). *Quantification offluorine traces in solid samples using CaF molecular emission bands in atmospheric air Laser-Induced Breakdown Spectroscopy*. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 123, 157-162.).

Los artículos centrados en el análisis de muestras líquidas mediante Espectroscopia de Ruptura Inducida por Láser suponen un volumen mucho menor que aquellos orientados a análisis de

muestras sólidas. Las problemáticas asociadas a las medidas por LIBS en líquidos tienen que ver con la inestabilidad del propio proceso de inducción y evolución del plasma en una matriz líquida, que se traduce en una emisión inestable (Yu, Xiaodong, et al. "*Laser-induced breakdown spectroscopy application in environmental monitoring of water quality: a review.*" Environmental monitoring and assessment 186.12 (2014): 8969-8980.). Las técnicas existentes para mejorar el análisis de LIBS en líquidos están recogidas en la revisión de Yu y colaboradores (2014), y se pueden resumir en:

- Sometimiento de las muestras a métodos de adsorción para eliminar impurezas o para concentrar el analito en una matriz sólida (pasivamente con un filtro o activamente con electrodos), lo que en la práctica es la conversión líquido a sólido de la muestra.

- En lugar de producir el plasma en un líquido estático se puede poner en movimiento dicho líquido mediante producción de un flujo laminar (jet flow) o de un aerosol (nebulización). En tales casos es necesario contar con sistemas experimentales complejos, ya sea para permitir manejar una gran cantidad de muestra líquida en un circuito cerrado (Lee, Dong-Hyoung, et al. "*Highly sensitive analysis of boron and lithium in aqueous solution using dual-pulse laser-induced breakdown spectroscopy.*" Analytical chemistry 83.24 (2011): 9456-9461.), para producir un aerosol estable (Aras, Nadir, et al. "*Ultrasonic nebulization-sample introduction system for quantitative analysis of liquid samples by laser-induced breakdown spectroscopy.*" Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 74 (2012): 87-94.) o para, además, emplearlo in-situ (Sui, Mingda, et al. "*Online ultrasonic nebulizer assisted laser induced breakdown spectroscopy (OUN-UBS): An Online metal elements sensor for marine water analysis.*" Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 180 (2021): 106201.).

- LIBS con doble pulso: el uso de dos pulsos láser permite tanto estabilizar como incrementar la señal, aunque el instrumental para llevar a cabo estos experimentos se encarece por la necesidad de dos láseres o de un único láser con capacidad de trabajo en doble pulso

Para el caso particular de los halógenos, únicamente hay un reporte de análisis muestra líquida (Tang, Zhiyang, et al. "*Sensitive analysis of fluorine and chlorine elements in water solution using laser-induced breakdown spectroscopy assisted with molecular synthesis*" Talanta 224 (2021): 121784.). En él, los autores realizan la deposición de la muestra líquida sobre pastillas de carbonato cálcico, sometiéndolas después a un incremento de temperatura para producir la evaporación del disolvente y finalmente inducir plasmas sobre los puntos de deposición mediante irradiación de láser pulsado con detección espectroscópica. Esta metodología estaría enmarcada dentro de la primera de las estrategias de análisis anteriormente descritas y, además de no haber sido testada con matrices reales, no puede ser fácilmente adaptada a procedimientos *on-line* o *in-situ* debido a la secuencialidad del proceso de preparación de muestra.

Explicación de la invención

La invención se refiere en un método para la identificación y determinación de halógenos en muestras líquidas mediante espectroscopia de ruptura inducida por láser (LIBS) asistida por nebulización sobre un sustrato adecuado. El método comprende las siguientes etapas:

a) Nebulizar la muestra que potencialmente contiene halógenos (analito) en cualquier forma físico-química, a un flujo entre 3 y 10 $\mu\text{L/h}$, sobre un sustrato con un contenido $>10 \text{ wt\%}$ en peso de un elemento alcalino-térreo.

b) Generar plasma analítico, inducido con un láser pulsado enfocado sobre el sustrato durante la nebulización, y con una duración de pulso igual o menor a 5 ns para fomentar la recombinación de halógenos con elementos alcalino-térreos.

5 c) Detectar el espectro de emisión atómica y molecular del plasma analítico inducido en el paso b) mediante un espectrómetro que incluye un detector con resolución temporal para cada pulso de láser pulsado.

10 d) Tratar los datos brutos del espectro de emisión, incluyendo la normalización de la señal de emisión con respecto a una región del espectro, y la substracción de la señal de emisión normalizada obtenida de una muestra blanco, donde la muestra blanco se trata de una matriz acuosa sin analito.

15 e) Aplicar la secuencia de pasos desde a) hasta d) a un conjunto n de muestras líquidas con concentraciones conocidas de analito para obtener una curva de calibrado a partir de la relación entre la señal total de cada analito y la concentración del mismo en la muestra.

20 f) Aplicar la secuencia de pasos desde a) hasta d) para la identificación y determinación de halógenos en una muestra líquida utilizando la curva de calibrado obtenida en el paso e), resultando en la determinación de la concentración del analito.

25 En una realización preferida, el láser pulsado es de Nd:YAG (*neodymium-doped yttrium aluminum garnet*) con emisión en el fundamental (1064 nm) a una energía por pulso en el orden de 10^1 a 10^2 mJ, trabajando entre 5 y 10 Hz de frecuencia.

En otra realización preferida, el nebulizador es de tipo concéntrico con un capilar para la salida del aerosol y cuyo flujo es del orden de 3 a 10 $\mu\text{L}/\text{min}$.

30 En otra realización preferida, se determinan de forma simultánea otros elementos presentes en la muestra, como metales en cualquier forma físico-química.

En una realización específica, el sustrato es un papel que comprende un compuesto con contenido en calcio seleccionado entre CaCO_3 y CaSO_4 .

35 En otra realización específica, durante el paso f) la nebulización de la muestra del paso a) se realiza con un flujo continuo. Además, el sustrato de papel es una tira de papel que se desplaza durante la nebulización, de forma que la zona de incidencia del láser pulsado sobre el sustrato nebulizado se desplaza a lo largo de la tira de papel de forma continua. De esta forma, el método se puede aplicar de forma ininterrumpida, resultando en un proceso de identificación y
40 determinación de halógenos continuo.

45 La metodología aplica un sistema de espectroscopia de ruptura inducida por láser (LIBS) auxiliado mediante nebulización sobre un sustrato adecuado con un elemento alcalino térreo, como, por ejemplo, carbonato cálcico combinado en papel. Esto permite determinar halógenos en muestras acuosas sometiénolas a un tratamiento previo nulo o muy limitado, consistente en su dilución en agua en función de su concentración estimada y/o matriz. La especie halógena de la muestra se recombina con la especie presente en el sustrato, produciéndose después la emisión de radiación característica por parte de las moléculas (por ejemplo, en el caso de que la especie sea un compuesto de calcio, CaF , CaCl , etc.) que puede ser detectada y cuantificada
50 con alta sensibilidad ($\sim\text{ppm}$).

La muestra se introduce en el nebulizador a un flujo muy bajo ($\mu\text{L}/\text{min}$), por ejemplo, por medio de una bomba ya sea de jeringa o peristáltica, lo que, junto a la rapidez de funcionamiento de los láseres pulsados, conlleva la posibilidad de reducir volúmenes de muestra de pocos μL . Cuando se emplean técnicas de nebulización mediante el empleo de gases nobles, como el argón, la nebulización requiere asimismo un bajo consumo de Ar ($1 \text{ L}/\text{min}$), que se puede regular por un controlador de flujo másico.

Una materialización preferida de los elementos para llevar a cabo la metodología podría ser la siguiente combinación, que comprende:

- Un láser pulsado de ns con regulador interno o externo de energía/pulso.

- Un sistema de enfoque (lente convergente u objetivo) asociado al láser.

- Un posicionador motorizado o semimotorizado XYZ del sustrato. La dimensión Z o vertical corresponde al ajuste de la distancia de enfoque y por tanto se mantiene fija tras optimizarla. La posición XY debe ser motorizada para mover el sustrato durante el análisis.

- Un nebulizador colocado mediante un posicionador XYZ y goniómetro, que no requieren motorización puesto que se emplean para la optimización previa y después permanecen fijos.

- Unos controladores de flujo de muestra y de gas de nebulización, necesarios para el funcionamiento de este último. El controlador de flujo de muestra puede ser una bomba de jeringa, si no hay necesidad de aplicación on-line, o bien una bomba peristáltica. El único requisito es la posibilidad de trabajar a flujos muy bajos

- Un sistema de detección óptica (lentes de recogida con o sin fibra óptica, espectrómetro, CCD o ICCD)

La invención proporciona un método para la identificación y determinación de halógenos que permite resolver los problemas presentes en las técnicas conocidas a través de los siguientes atributos:

- Reducción o eliminación de la preparación de muestra. El único requisito químico de la muestra líquida es que pueda ser nebulizada mediante un nebulizador, es decir, que esté adecuadamente disuelta en agua, para asegurar el correcto funcionamiento del nebulizador. Esto minimiza dramáticamente el consumo de reactivos.

- La presencia de las especies en forma atómica o molecular resulta irrelevante al romperse todos los enlaces en el proceso de ablación láser, por lo que no es necesario un conocimiento profundo previo de la muestra y, de nuevo, tampoco modificar propiedades como el pH.

- Generalidad de la detección. Al tratarse de un sistema con detección espectroscópica, es posible emplearlo para analizar no solo la emisión molecular de los halógenos, sino la mayor parte de los elementos de la tabla periódica (típicamente entre $Z=1$, hidrógeno, y $Z=92$, uranio). Por tanto, además de la detección de halógenos, se pueden hacer análisis cualitativos muy completos de las muestras.

- Posibilidad de tener siempre un blanco para la construcción de los calibrados. La metodología en su forma más simple requiere la nebulización de agua ultrapura sobre el sustrato para obtener

un espectro blanco. Incluso se puede particularizar el blanco a necesidades específicas si las muestras lo requiriesen por tener matrices que difieran en exceso del agua.

- 5 • Simplicidad y flexibilidad de los medios para aplicar el método. Los componentes básicos del sistema, tanto para la generación del plasma analítico como para la posterior detección óptica son de fácil acceso y muy comunes. Se pueden adquirir de forma individual minimizando el gasto y adaptándolo a las necesidades del usuario, por ejemplo, con un sistema de reducidas dimensiones o transportable.
- 10 • Potencial para su aplicación *on-site*. La nueva metodología descrita en este documento, al permitir introducir la muestra líquida de forma continua mediante el nebulizador, podría adaptarse para uso fuera de un laboratorio y escalarse industrialmente sobre todo a través de las realizaciones donde el sustrato se desplaza de forma continua a medida que se usa.
- 15 La presente invención resulta de aplicación en aquellas industrias donde se produzcan o utilicen compuestos que puedan contener halógenos, como, por ejemplo, en la de producción, tratamiento o distribución de aguas, acuicultura o piscinas, o en la de farmacia y productos de higiene personal, entre otros

20 Breve descripción de los dibujos

- La **Fig. 1** muestra los elementos de una posible materialización para llevar a cabo la metodología. En esta figura se representa un láser pulsado (1), un elemento de enfoque (2), un sustrato (3) con calcio, una plataforma móvil (4) en los tres ejes espaciales, un soporte con goniómetro (5),
 25 un nebulizador (6), un soporte ajustable (7) en los tres ejes espaciales, un controlador de flujo de muestra (8), y un controlador de flujo de gas de nebulización (9).

Realización preferente de la invención

- 30 Para una mejor comprensión de la presente invención, se exponen los siguientes ejemplos de realización preferente, descritos en detalle, que deben entenderse sin carácter limitativo del alcance de la invención.

35 Ejemplo 1. Detección de flúor mediante nebulización sobre un sustrato de calcita. Evaluación de muestras reales de colutorios.

- Para realizar el calibrado de flúor, se prepararon 12 muestras acuosas disolviendo NaF en agua ultrapura. Las concentraciones se muestran en la Tabla 1. Como sustrato (3) se elaboraron
 40 pastillas prensadas, de 32mm de diámetro, a partir de una mezcla de 5 g de carbonato cálcico con un 0.5g de aglomerante orgánico.

Muestra	[F] (ppm)	Muestra	[F] (ppm)
1	12	7	342
2	25	8	481
3	54	9	613
4	112	10	860
5	161	11	1429
6	252	12	2146

Tabla 1. Concentraciones de las doce muestras de flúor empleadas en el calibrado

Se llevó a cabo la nebulización secuencial de cada una de las muestras, comenzando por un blanco de agua ultrapura. Sobre cada cara de los sustratos (3) se realizaron 40 líneas de disparos de 1cm de largo, correspondiéndose a un total de 4 muestras diferentes siempre en orden creciente de concentración. Las líneas se espaciaron 1 mm entre sí. Antes de cada línea de disparos, el sustrato (3) se desplazó bajo el nebulizador (6) para hacer una primera deposición de la muestra. A continuación, se volvió a desplazar en dirección contraria al tiempo que se realizaban los disparos del láser pulsado (1) a 5Hz, sin dejar de nebulizar en ningún momento hasta el cambio de muestra. La detección se llevó a cabo en la ventana espectral de 516.4 a 549.6nm y estableciendo un retardo de medida de 30µs con un tiempo de integración de 5µs. En esta región se recoge la emisión de las secuencias $\Delta v = 0$ del sistema $B^2 \Sigma - X^2 \Sigma$ de CaF.

Los espectros obtenidos se normalizaron a la región espectral de 545.5 a 550.0nm, correspondiente a la emisión de CaOH y CaO producto del sustrato (3) empleado, y se sustrajo el valor promedio del blanco a cada espectro obtenido. A continuación, se integró la señal de CaF entre 528.8-534.0nm y entre 535.5-538.0nm, siendo el área total integrada el punto representado en el calibrado.

Los parámetros resultantes del calibrado se recogen en la Tabla 2. El límite de detección se ha obtenido mediante su definición habitual “3σ”: tres veces la desviación estadística del blanco partida por la pendiente del calibrado.

Relación área integrada-concentración (PPm)	$I = (0.100 \pm 0.005)[F] + (0.0 \pm 0.3)$
Coeficiente de correlación (R^2) del ajuste	0.982
Rango dinámico	Hasta 900 ppm
Límite de detección (ppm)	10

Tabla 2. Parámetros del calibrado de flúor sobre pastilla

Esta curva de calibrado y metodología se aplicaron sobre tres colutorios comerciales presentados en la Tabla 3. Los colutorios fueron diluidos en agua ultrapura en proporción 1:1 (colutorios 1 y 2) y 1:4 (colutorio 3), a fin de minimizar efectos de matriz. La determinación se validó mediante cromatografía iónica, obteniendo resultados satisfactorios para los tres colutorios.

Colutorio	[F] validado por IC (PPm)	[F] determinado (ppm)
1	54.8±0.2	57±6
2	370.8±0.9	386±54
3	46.4±0.4	40±4

Tabla 3. Concentraciones de flúor validadas mediante cromatografía de iones y determinadas mediante la presente metodología en tres colutorios comerciales.

Ejemplo 2. Detección de flúor mediante nebulización sobre un sustrato de papel.

Se emplearon once muestras (Tabla 4) para evaluar el uso de un sustrato (3) de menor coste y mayor versatilidad, en este caso papel de dibujo que previamente fue testado para comprobar la ausencia de emisión de especies halógenas dentro de, al menos, el límite de detección del método. Para cada medida se realizó una línea de 1 cm (25 disparos a 5Hz) con dos pasadas previas de nebulización, llevando a cabo 10 repeticiones de cada medida. La ventana temporal de adquisición fue de 35 a 60µs, manteniendo la exposición espectral en 516.4-549.6nm.

Muestra	[F] (ppm)	Muestra	[F] (ppm)
1	12	7	342
2	25	8	481
3	54	9	613
4	112	10	860
5	161	11	1429
6	252		

Tabla 4. Concentraciones de las once muestras de flúor empleadas en el calibrado

El tratamiento de datos de los espectros obtenidos tras nebulizar las muestras consistió en, primero, llevar a cabo una normalización a la emisión molecular de óxido de calcio (rango 544-545nm). Después, se sustrajo la emisión del blanco normalizado. A continuación, se suprimió la emisión atómica de Ca I en 534.95nm y se corrigió la línea de base de la banda de CaF. Finalmente se integró la emisión entre valores comprendidos en el rango 528.49 y 544.00 nm para los cuales la intensidad de emisión era un 2% de la máxima (igualando o estrechando los límites de integración respecto a la concentración superior). Los valores de la curva de calibrado se recogen en la Tabla 5. El rango dinámico es igual al obtenido para el calibrado sobre pastilla de carbonato cálcico, habiendo reducido el límite de detección debido a la implementación del tratamiento de datos con rango de integración variable. La muestra de menor concentración (12 ppm) se evaluó visualmente para verificar la detección de la emisión de CaF en la proximidad del LOD, validando así el resultado obtenido.

Relación área integrada-concentración (ppm)	$I = (1.25 \pm 0.05) \cdot 10^{-2} [F] + (0.00 \pm 0.02)$
Coeficiente de correlación (R^2) del ajuste	0.9881
Rango dinámico	Hasta 900 ppm
Límite de detección (ppm)	5

Tabla 5. Resultados de la calibración de flúor sobre un sustrato (3) de papel.

Ejemplo 3. Detección de cloro y zinc mediante nebulización sobre un sustrato de papel.

Se prepararon doce muestras acuosas de ZnCl_2 para realizar un estudio análogo enfocado en la detección de cloro, con papel como sustrato (3), así como de una especie atómica que no requiera recombinación molecular para ser detectada con sensibilidad (en este caso, zinc).

Muestra	[Cl] (ppm)	[Zn] (ppm)	Muestra	[Cl] (ppm)	[Zn] (ppm)
1	18	16	7	1761	1530
2	124	108	8	2438	2118
3	255	221	9	3625	3149
4	449	390	10	4590	3988
5	734	638	11	6261	5440
6	1153	1001	12	8410	7307

Tabla 6. Concentraciones de las doce muestras de cloruro de zinc preparadas para los respectivos calibrados. Las muestras 1-2 no se emplearon para la calibración de cloro al estar por debajo de los límites de detección.

El procedimiento de nebulización también consistió en dos pasadas previas seguidas de una tercera pasada disparando, completando una línea de 1 cm (25 disparos, 5Hz) y repitiendo 10 medidas por concentración. La detección se realizó en la ventana temporal de 22 a 30 μs , recogiendo emisión en la región espectral 576.5-609.5nm. En esta región se tiene emisión de dos secuencias del sistema $\text{B}^2\Sigma - \text{X}^2\Sigma$ de CaCl , así como una gran emisión de CaO .

El tratamiento de datos consistió, asimismo, en normalizar a la emisión molecular de óxido de calcio (596-597nm), sustraer el blanco normalizado, eliminar la emisión atómica de Ca I (585.75 nm) y Na I (588.99 y 589.59nm), corregir la línea de base e integrar en un rango variable dentro del intervalo 578.20-596.25nm, comprendiendo la emisión de dos secuencias de CaCl . Los límites para cada concentración se establecieron con el criterio del 2% de intensidad.

Los resultados del calibrado se presentan en la Tabla 6. El rango dinámico es muy elevado, incluyendo todas las muestras consideradas sin llegar a observar pérdida alguna en la linealidad. El límite de detección es mayor que para el flúor, habiendo validado visualmente la detección inequívoca de emisión de CaCl para la menor concentración considerada en este calibrado (255 ppm).

Relación área integrada-concentración (ppm)	$I = (11.8 + 0.2) \cdot 10^{-5}[\text{Cl}] + (0.004 \pm 0.002)$
Coeficiente de correlación (R^2) del ajuste	0.9967
Rango dinámico	Al menos 0.9%
Límite de detección (ppm)	193

Tabla 7. Resultados de la calibración de cloro sobre sustrato (3) de papel.

Para el zinc se seleccionó la ventana espectral en 461.3 a 494.7nm a un tiempo de detección de 4 a 5 μs , más apropiado para la detección de emisión atómica. En particular se tomó como señal de interés la suma de emisión de las líneas 472.22nm y 481.05nm de Zn I . El procedimiento de nebulización fue análogo al caso anterior, usando las 12 muestras mostradas en la Tabla 4. Se realizó una normalización de los espectros a la suma de toda la emisión de la exposición, excluyendo pequeñas franjas en las que se tiene la emisión de Zn I . Se sustrajo el blanco a los espectros normalizados y se realizó el procedimiento de integración con márgenes variables para

cada línea, sumando después la señal de ambas. La curva de calibrado consta de dos rectas para concentraciones mayores y menores de 638 ppm, respectivamente. Los parámetros de ambas se recogen en la Tabla 8.

[Zn] ≤ 638 ppm	
Relación área integrada-concentración (ppm)	$I = (48 \pm 1) \cdot 10^{-6} [\text{Zn}] + (-2 \pm 3) \cdot 10^{-5}$
Coefficiente de correlación (R2) del ajuste	0.9980
Rango dinámico	hasta 638 ppm
Límite de detección (ppm)	2

5

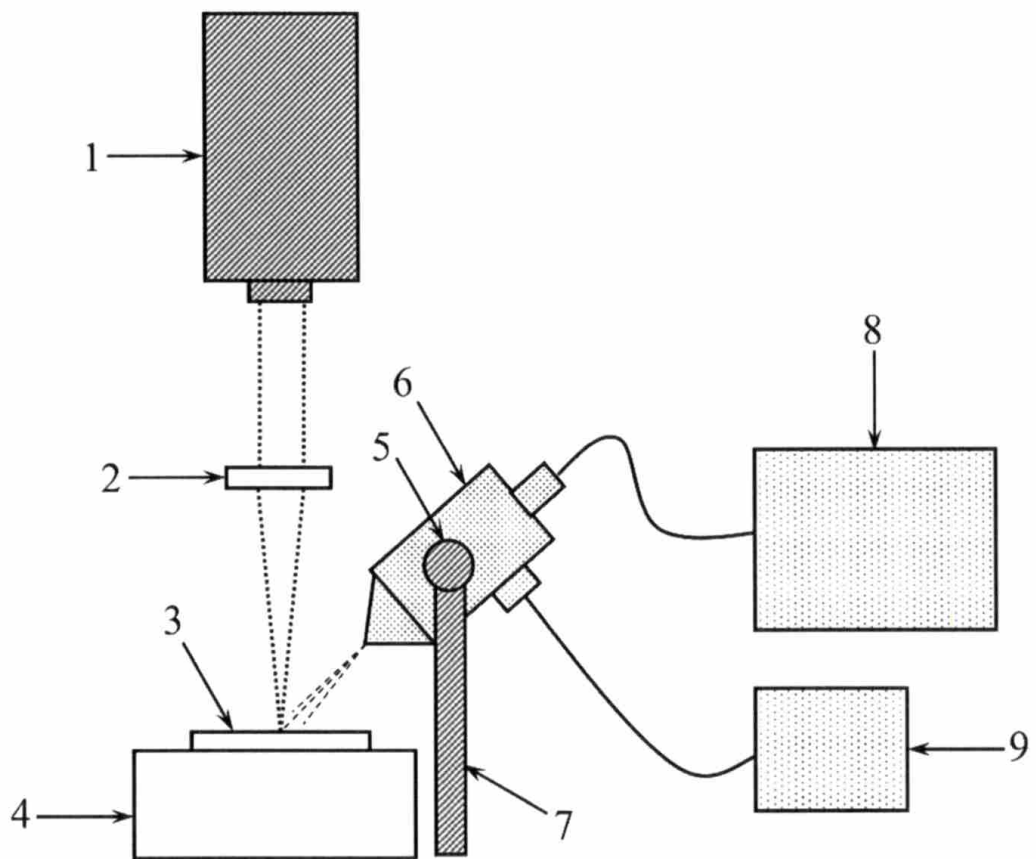
[Zn] ≥ 638 ppm	
Relación área integrada-concentración (ppm) I	$I = (186 \pm 6) \cdot 10^{-7} [\text{Zn}] + (178 \pm 7) \cdot 10^{-3}$
Coefficiente de correlación (R2) del ajuste	0.9948
Rango dinámico	De 638 hasta, al menos, 8000 ppm
Límite de detección (ppm)	---

Tabla 8. Resultados de la calibración de zinc sobre sustrato (3) de papel.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para la identificación y determinación de halógenos en muestras líquidas mediante espectroscopia de ruptura inducida por láser asistida por nebulización que comprende:
 - 10 a) nebulizar la muestra que potencialmente contiene halógenos (analito) en cualquier forma físico-química, a un flujo entre 3 y 10 $\mu\text{L/h}$, sobre un sustrato (3) con un contenido $>10\text{ wt\%}$ de un elemento alcalino-térreo;
 - 15 b) generar plasma analítico, inducido con un láser pulsado (1) enfocado sobre el sustrato (3) durante la nebulización, y con una duración de pulso igual o menor a 5ns para fomentar la recombinación de halógenos con elementos alcalino-térreos;
 - 20 c) detectar el espectro de emisión atómica y molecular del plasma analítico inducido en el paso b) mediante un espectrómetro que incluye un detector con resolución temporal para cada pulso de láser pulsado (1);
 - 25 d) tratar los datos brutos del espectro de emisión, incluyendo la normalización de la señal de emisión con respecto a una región del espectro y la substracción de la señal de emisión normalizada obtenida de una muestra blanco, donde la muestra blanco se trata de una matriz acuosa sin analito;
 - 30 e) aplicar la secuencia de pasos desde a) hasta d) a un conjunto n de muestras líquidas con concentraciones conocidas de analito para obtener una curva de calibrado a partir de la relación entre la señal total de cada analito y la concentración del mismo en la muestra;
 - 35 f) aplicar la secuencia de pasos desde a) hasta d) para la identificación y determinación de halógenos en una muestra líquida utilizando la curva de calibrado obtenida en el paso e), resultando en la determinación de la concentración del analito.
- 35 2. Método según la reivindicación 1, caracterizado por que el láser pulsado (1) es de Nd:YAG con emisión en el fundamental (1064nm) a una energía por pulso en el orden de 10^1 a 10^2 mJ, trabajando entre 5 y 10 Hz de frecuencia.
- 40 3. Método según la reivindicación 1, caracterizado por que el nebulizador (6) es de tipo concéntrico con un capilar para la salida del aerosol y cuyo flujo es del orden de 3 a 10 $\mu\text{L/min}$.
- 40 4. Método según la reivindicación 1 caracterizado por que se determinan de forma simultánea otros elementos presentes en la muestra, como metales en cualquier forma físico-química.
- 45 5. Método según la reivindicación 1, caracterizado por que el sustrato (3) es un papel que comprende un compuesto con contenido en calcio seleccionado entre CaCO_3 y CaSO_4 .
- 45 6. Método según la reivindicación 5, caracterizado por que durante el paso f) la nebulización de la muestra del paso a) se realiza con un flujo continuo, y por que el sustrato de papel es una tira de papel que se desplaza durante la nebulización, de forma que la zona de incidencia del láser pulsado sobre el sustrato nebulizado se desplaza a lo largo de la tira de papel de forma continua, resultando en un proceso de identificación y determinación de halógenos continuo.

FIG. 1





- ②① N.º solicitud: 202200054
②② Fecha de presentación de la solicitud: 13.07.2022
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. cl.: **G01N21/63** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ALVAREZ-LLAMAS, C., et al., A novel approach for quantitative LIBS fluorine analysis using CaF emission in calcium-free samples, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 01/01/2017, Vol. 32, Nº 1, páginas 162-166, ISSN 0267-9477(print) ISSN 1364-5544(electronic), <DOI: doi:10.1039/c6ja00386a>; resumen y apartado: "Experimental".	1-6
A	FERNANDEZ-MENENDEZ, L.J., et al., A critical evaluation of the chlorine quantification method based on molecular emission detection in LIBS, Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy, 01/04/2022, Vol. 190, ISSN 0584-8547 (print), <DOI: doi:10.1016/j.sab.2022.106390>; resumen y apartado: "Experimental".	1-6
A	WO 2014191999 A1 (LASER DISTANCE SPECTROMETRY) 04/12/2014, resumen.	1-6
A	MENDEZ-LOPEZ, C., et al., Laser induced plasmas at different nebulization conditions: Spatio-temporal distribution of emission signals and excitation temperatures, SPECTROCHIMICA ACTA. PART B: ATOMIC SPECTROSCOPY, 29/06/2020, Vol. 170, ISSN 0584-8547, <DOI: doi:10.1016/j.sab.2020.105906>; resumen.	1-6

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
14.04.2023

Examinador
M. d. García Poza

Página
1/2

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INSPEC, EMBASE, NPL, MEDLINE, BIOSIS, COMPENDEX