

Dokumentace k výsledku typu funkční vzorek (G_{funk})

Autonomní kolorimetrický modul pro detekci fosforu, amoniaku a uranu ve vodě

Autoři: Jaromír Hubálek, Amirmansoor Ashrafi, Jakub Arm, Ondřej Baštán, Jiří Veselý, Lukáš Richtera

Datum vzniku: 19.12.2022

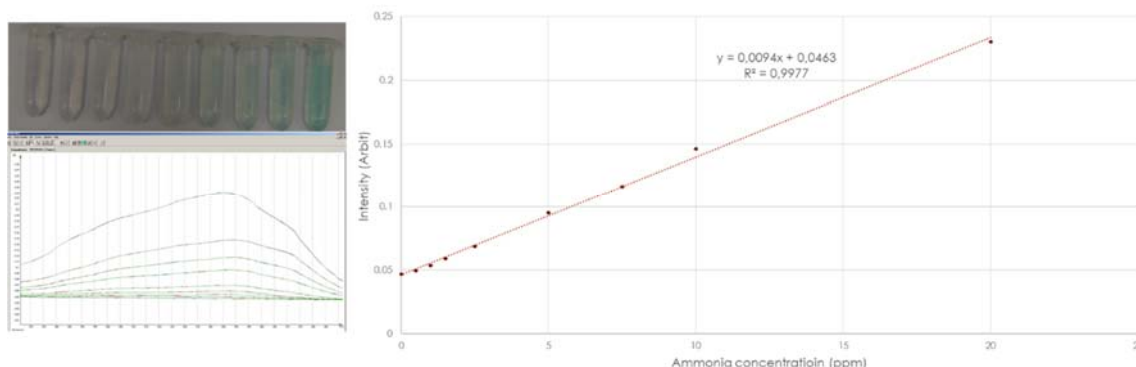
Projekt: H2020 Interreg ATCZ-86 WaterMon

Popis:

Jedná se o analyzátor, resp. optický chemický senzor určený pro detekci fosforu, amoniaku a uranu, který je jedním z měřicích modulů autonomního plovoucího systému pro měření kvality vody v řekách. Modul pro detekci využívá reagenčních roztoků, který po smísení s odebraným vzorkem vody mění zabarvení vzorku v závislosti na přítomnosti a koncentraci sledovaných látek. Jako detektorů je využito RGB senzoru (TCS3472) a širokospektré "bílé" LED (Luxeon 3014) jako zdroje světla.

Metodologie měření a použité reagenty

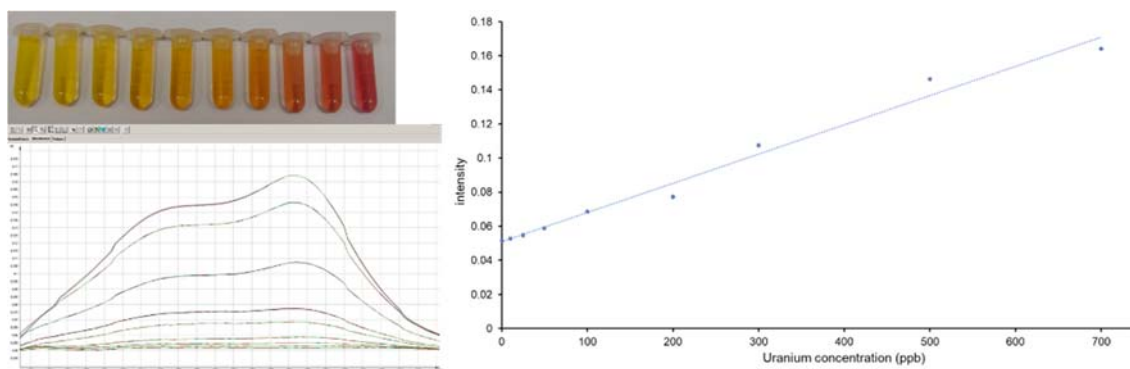
Kolorimetrické stanovení amoniaku bylo provedeno na základě tvorby komplexu mezi těmito dvěma sloučeninami, který byl dříve používán pro stanovení Co (II) [1]. Použitým činidlem byl vodný roztok 0,7 M $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, který byl udržován při teplotě místnosti. Množství 50 μl tohoto připraveného činidla bylo přidáno ke vzorku a zředěno na 2 ml. Vzorek byl přenesen do spektrofotometrické kyvety a absorbance byla zaznamenávána při 645 nm, zatímco ultračistá voda byla použita jako blank. Barva vzorku se změnila z bezbarvé na modrozelenou v důsledku tvorby, jak je znázorněno na obrázku níže. Byla získána kalibrační křivka v koncentračním rozsahu 0 až 20 ppm. Limit detekce (LOD) a limit kvantifikace (LOQ) byly vypočteny na 0,49 a 1,48 ppm, v daném pořadí. Stabilita činidla byla zdůvodněna jeho skladováním po dobu 20 dnů při pokojové teplotě a jeho použitím při stanovení amoniaku.



Obr. 1 Kolorimetrické stanovení amoniaku po použití reagentu a odpovídajících absorpčních spekter (vlevo) a kalibrační křivky při 645 nm vlnové délky (vpravo).

Pro stanovení uranu byl jako kolorimetrické činidlo použit 2-(5-brom-2-pyridylazo)-5-[N-propyl-N-(3-sulfopropyl)amino]fenol. Ligandy s podobnou strukturou byly použity pro spektrofotometrické

stanovení Ur(VI) [2]. V přítomnosti uranu a vzniku komplexu mezi uranem mění barvu roztoku na červenou. Pro stanovení uranu byl připraven roztok 1 mM činidla. Objem 150 μl činidla byl poté přidán ke vzorku obsahujícímu uran a zředěn na 2 ml a přenesen do spektrofotometrické kyvety. Absorbance při 582 nm byla zaznamenána, zatímco ultračistá voda sloužila jako blank. Lineární chování mezi koncentrací uranu a intenzitou absorbance bylo zjištěno v koncentračním rozsahu 0 až 100 ppb. LOD a LOQ byly vypočteny na 8,98 a 26,92 ppb. Stejně výsledky byly reprodukovány po skladování činidla po dobu 20 dnů při teplotě místnosti, což ukazuje na stabilitu činidel.

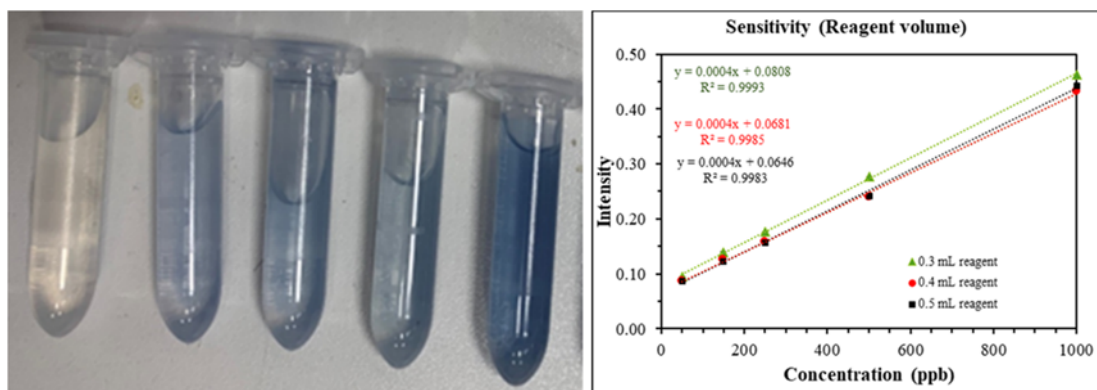


Obr. 2 Kolorimetrické stanovení uranových iontů a odpovídající absorpčních spekter (vlevo) a kalibrační křivky při 582 nm vlnové délky (vpravo)..

Spektrofotometrické stanovení fosforu bylo provedeno podle dříve publikovaných metod [3], které je založeno na tvorbě barevného komplexu molybdenanu a fosforu.

H_2SO_4 -Antimonie: - směs byla připravena přidáním 13,325 ml koncentrované H_2SO_4 do 62,5 ml destilované vody. Byl připraven roztok 0,187 g hydrátu vinanu draselného antimonitého (III) ve 250 ml ultračisté vody. Vytvořená sraženina se musí odfiltrovat.

Roztok molybdenanu: 5,42 g molybdenanu sodného bylo rozpuštěno v 500 ml vody.



Obr. 3 Kolorimetrické stanovení fosforu a odpovídající absorpčních spekter (vlevo) a kalibrační křivky při 650 nm vlnové délky (vpravo).

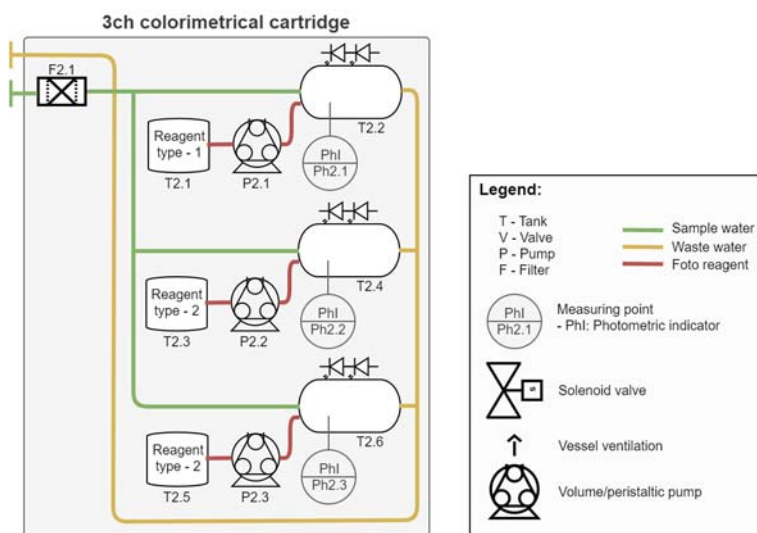
Smíšené činidlo: 6,25 ml roztoku H_2SO_4 -antimon a molybdenan bylo smícháno v 25 ml odměrné baňce. Bylo také přidáno množství 0,2 g kyseliny askorbové. Poté bylo provedeno zředění na 25 ml.

Spektrofotometrické stanovení fosforu bylo provedeno záznamem absorbance při 650 nm, zatímco vzorek byl připraven smícháním 1 ml smíchaného činidla a 1 ml vzorku. Lineární chování mezi absorbancí při 650 nm a koncentrací fosforu bylo pozorováno v koncentračním rozsahu 50 až 500 ppb. Vypočtené hodnoty pro LOD a LOQ byly 6,22 a 20,73. Stabilita činidla byla testována po 30 dnech skladování při 4°C.

Konstrukce a funkce analyzátoru

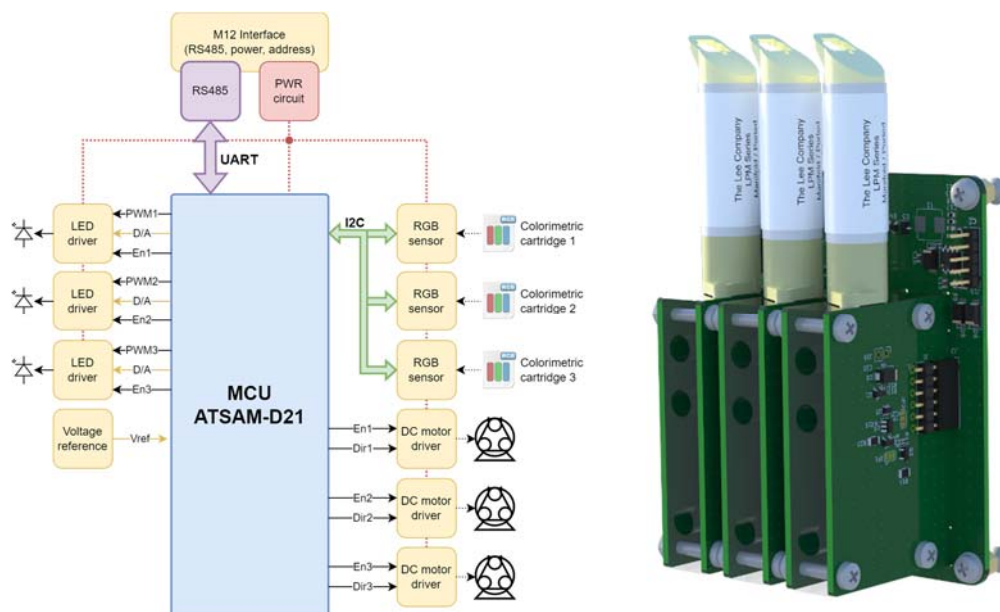
Koncepce

Na Obr. 4 lze vidět diagram procesu. Vzorek říční vody vstupuje do systému přes vstupní rozhraní a je ošetřen pomocí filtru F2.1. Následně protéká třemi měřicími celami T2.2, T2.4 a T2.6, přičemž přebytek vzorku vody pokračuje dále odpadním potrubím ven z modulu. V zásobnících T2.1, T2.3 a T2.5 jsou umístěny různé reagenční roztoky (optimalizované pro jednotlivé detekované látky), které jsou vstřikovány do měřicích cel za pomoci přesných dávkovacích čerpadel P2.1, P2.2 a P2.3. Vzniknuvší roztok je poté prosvícen pomocí širokospektrální LED a následná odezva na zbarvení roztoku je měřena prostřednictvím RGB snímače.



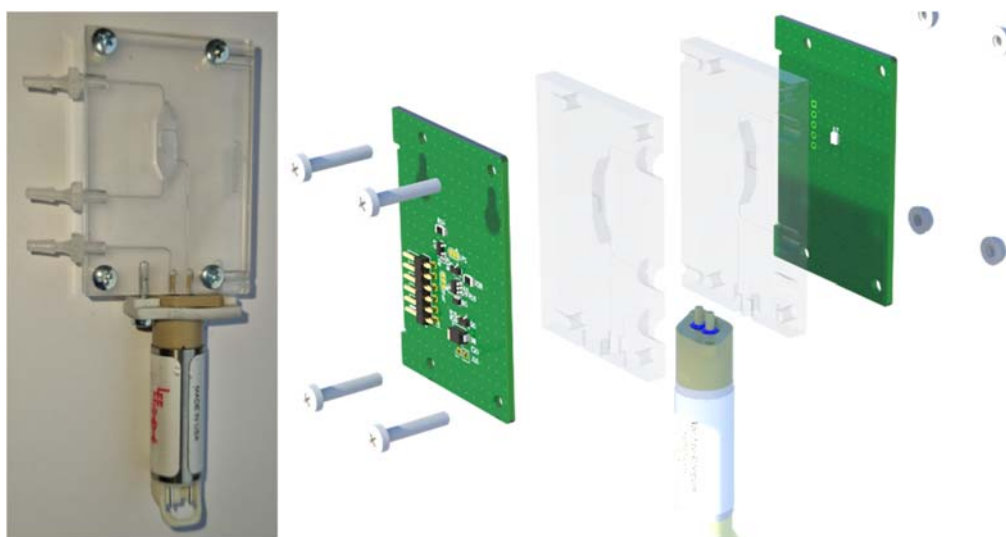
Obr. 4 Procesní diagram kolorimetrického modulu

Pro řízení procesu měření byl navržen proprietární řídicí embedded systém, jehož blokový diagram a vizualizace sestavy jsou uvedeny na Obr. 5. Systém lze ovládat standardním komunikačním a napájecím rozhraním, které je přizpůsobeno pro komunikaci prostřednictvím protokolu Modbus RTU s fyzickou vrstvou RS485 a napájením 12 V_{dc}. Systém je rovněž vybaven třemi kanály pro řízení osvětlení LED, ovládání dávkovacích čerpadel a RGB měření jasu.



Obr. 5 Blokové schéma řídicí elektroniky; Sestavená elektronika včetně měřicích cel a pump.

Jak lze vidět na Obr. 6, jednotlivé měřicí kanály, které se skládají z měřicí cely, zhotovené do podoby mikrofluidního čipu z polymethylmetakrylátu (PMMA) společně z mikrokanálky pro vstup, výstup a dávkování včetně připojené pumpy a desek plošného spoje obsahujících osvit a měření jsou základních složek spektra jsou koncipovány jako samostatné kazety. Hodnoty objemu měřicí cely a objem jedné dávky pumpy se u jednotlivých kazet liší a jsou specifické vzhledem k měřené látce. Tyto kazety lze od základní desky oddělit a libovolně měnit. Toto řešení zvyšuje flexibilitu a možnosti konfigurace měřicího modulu dle aktuálních požadavků. Hotové PMMA čipy jsou vyobrazeny na Obr.7.



Obr. 6 Kolorimetrický PMMA mikrofluidní čip s dávkovací pumpou (vlevo); rozložená kolorimetrický detektor skládající se z (zleva): plošný spoj kolorimetrického snímače, PMMA mikrofluidní tělo, dávkovací pumpa, plošný spoj osvitu cely.



Obr. 7 Konečná podoba všech PMMA čipů před montáží do modulu.

Metodika vyhodnocení RGB signálu

Intenzita měření je udržována na konstantní úrovni, což umožňuje dosahovat reprodukovatelnosti měření i při větší zakalenosti vzorku a případné nestabilitě intenzity LED osvětlení. Získaný RGB signál je upraven dle rovnic (1), pro dosažení hodnot v rozsahu 0-1.

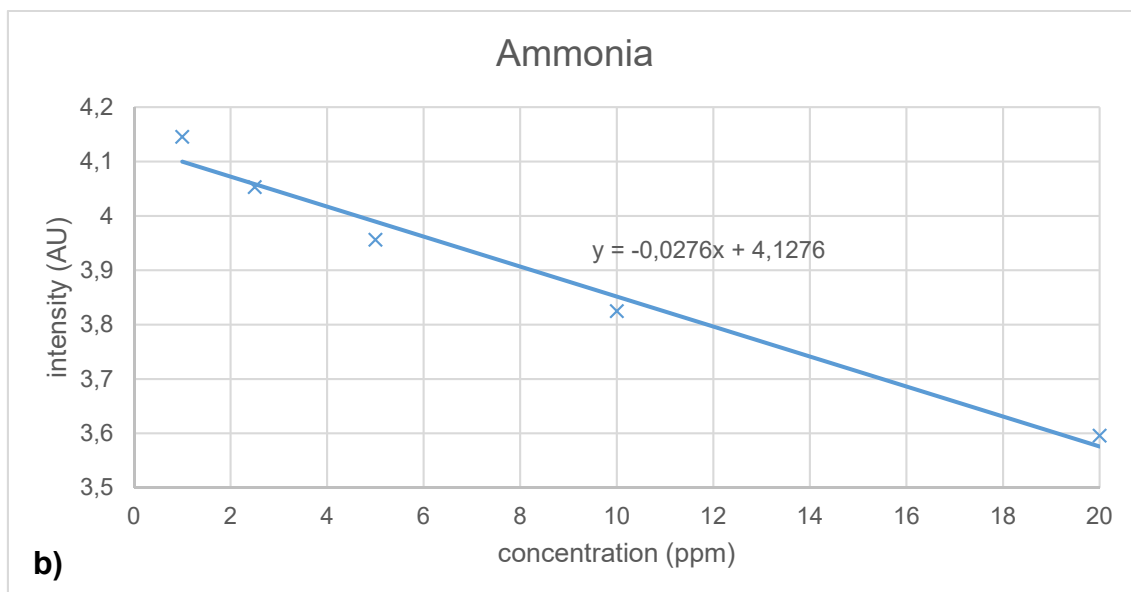
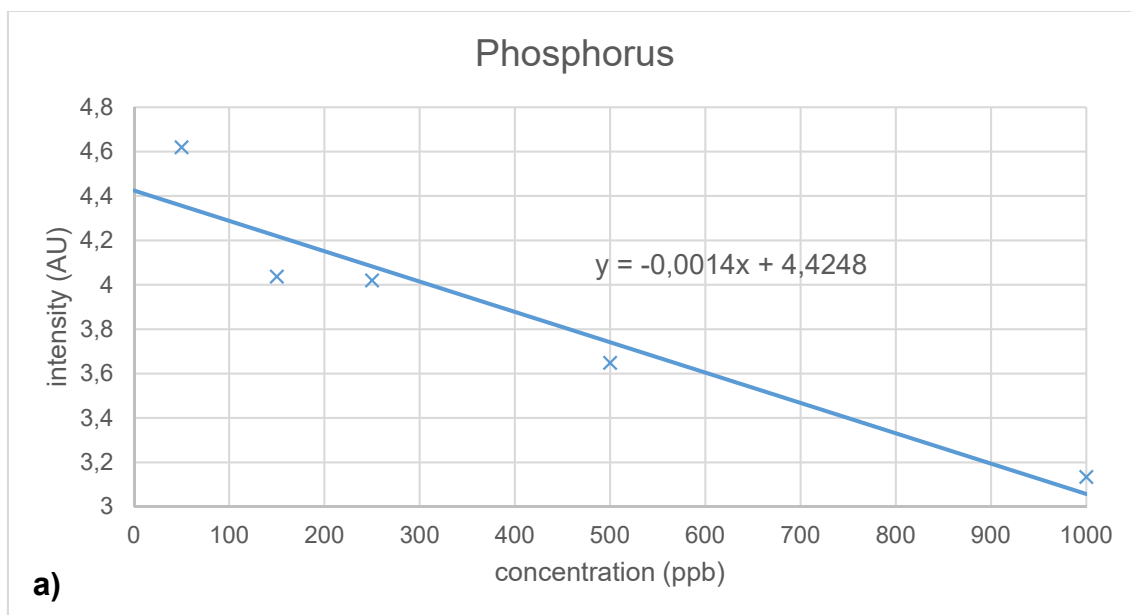
$$R_1 = 1 - \sqrt{\frac{R_0^2}{R_0^2 + G_0^2 + B_0^2}}; G_1 = 1 - \sqrt{\frac{G_0^2}{R_0^2 + G_0^2 + B_0^2}}; B_1 = 1 - \sqrt{\frac{B_0^2}{R_0^2 + G_0^2 + B_0^2}} \quad (1)$$

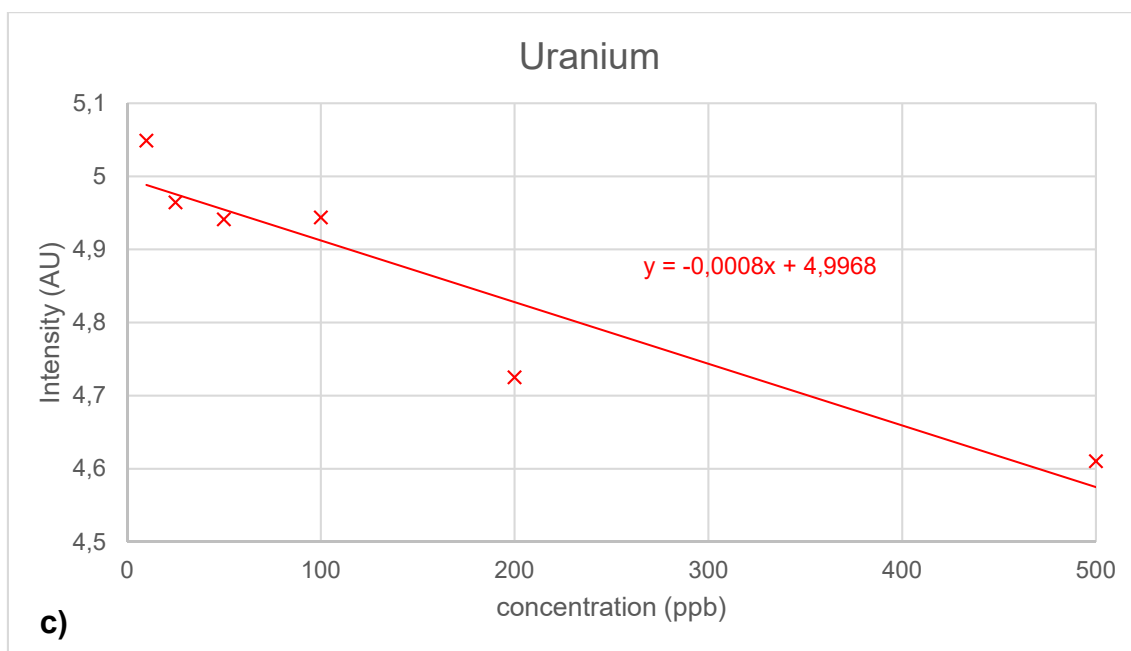
Pro získání pouze jedné kalibrační křivky je ze všech tří hodnot vytvořena jedna hodnota, jedna kalibrační křivka podle vztahu (2).

$$y = \frac{\sqrt{G_1^2 + B_1^2}}{R_1} \quad (2)$$

Kalibrační křivky

Dosažené kalibrační křivky jsou uvedeny v následujících grafech. Rozsahy intenzity v jednotkách AU se liší v závislosti na detekované látce. Největší dosažená citlivost je u detekce fosforu, i přestože rozsah koncentrací je velmi nízký, pod 1 ppm. Citlivost detekce amoniaku je také dostatečná pro daný rozsah měření. Při detekci uranu, je citlivost nejnižší, podařilo se sice určit kalibrační křivku, ale již může docházet k problematickému určení tak nízkých koncentrací vzhledem k šumu, protože citlivost je v tomto případě na hranici reprodukovatelnosti měření.





Obr. 8 Kalibrační křivky pro jednotlivé látky získané vyrobenými detektory po vyhodnocení RGB odezev, a) pro fosfor, b) pro amoniak, c) pro uran.

Řídicí systém

Obsluha systému modulu je realizována prostřednictvím Modbus RTU komunikace a je přizpůsobena integraci do celkového plovoucího řešení spojující několik měřicích modulů dohromady. Za tímto účelem byl vytvořen univerzální obslužný datový model, který je pro všechny měřicí moduly totožný, a který umožňuje transparentní obsluhu a sběr dat z libovolného typu měřicího modulu. Datový model měřicího modulu disponuje těmito parametry:

Parametr	Adresa registru	Popis
Typ modulu	0x0000	Kód označující typ měřicího modulu (pro kolorimetrickou jednotku 0x0002)
Čas tlakování potrubí	0x0001	Čas tlakování vstupního potrubí (v sekundách) který jednotka vyžaduje po spuštění měření pro načerpání potřebného množství měřené kapaliny.
Dezinfekční čas	0x0002	Čas tlakování vstupního potrubí (v sekundách) dezinfekčním roztokem, který jednotka vyžaduje po spuštění procesu dezinfekce.
Velikost měřených dat	0x0003	Počet 16bitových registrů, ve kterých jsou uložena měřená data. (Data kolorimetrického modulu jsou uložena v 3 registrech)
Měřená data	0x1000	Počáteční adresa naměřených dat.

Tab. 1 Parametry měřicího modulu

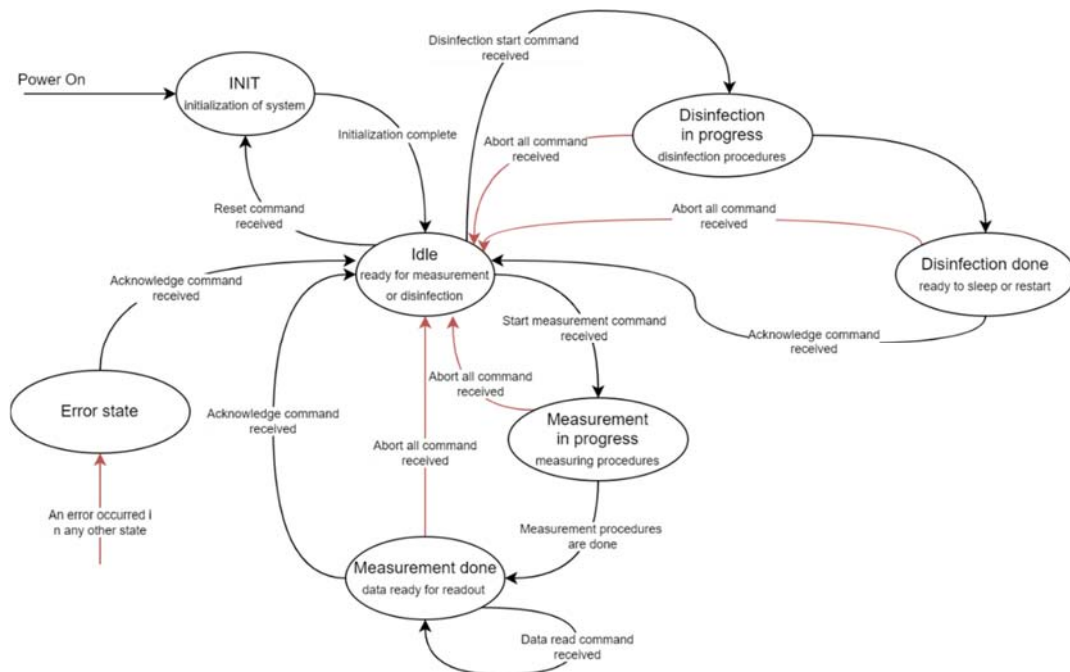
Ovládání funkcí modulu je pak realizováno prostřednictvím dvou ovládacích registrů, z nichž jeden slouží ke čtení aktuálního stavu modulu a druhý k zadávání požadovaného příkazu. Tyto registry jsou popsány v Tab. 2.



Registr	Adresa registru	Popis
Stavový registr	0x0004	Registr ukazuje aktuální stav modulu: 0x0000 – Inicializace. 0x0100 – Klidový stav; připraven pro měření nebo dezinfekci. 0x0200 – Probíhá měření. 0x0300 – Probíhá dezinfekce. 0x0400 – Měření hotovo. 0x0500 – Dezinfekce hotova. 0x80XX – ERROR; XX jsou nahrazeny typem chyby.
Řídicí registr	0x0005	Ovládání měřicího modulu je realizováno zápisem do tohoto registru. 0x0000 – Rezervováno 0x0100 – Reset; restartuje zařízení do klidového stavu. 0x0200 – Start měření. 0x0300 – Start dezinfekce. 0x0400 – ACK – Potvrzení dokončení příkazu. 0xFFFF – Zastavit vše.

Tab. 2 Popis ovládacích registrů

Přechody mezi jednotlivými stavy a jejich chování popisuje stavový diagram na Obr. 9. Jak lze vidět, spuštění měření nebo dezinfekce je možné pouze v klidovém stavu. Příkaz zastavit vše lze naopak použít kdykoliv. Po dokončení měření, dezinfekce nebo vzniku poruchy setrvává systém ve stavech done nebo ERROR do doby, než je tato potvrzen zadáním příkazu ACK.



Obr. 9 Stavový diagram obsluhy modulu.

V této době je vhodné například v případě stavu *Měření hotovo* provést vyčtení měřených dat, neboť je v tomto stavu zaručena jejich platnost. Formát dat v datové oblasti je popsán v Tab. 3.

Parametr	Adresa registru	Popis
1	0x1000	Naměřená koncentrace amoniaku [ppm]
2	0x1001	Naměřená koncentrace fosforu [ppb]
3	0x1002	Naměřená koncentrace uranu [ppb]

Tab. 3 Popis oblasti naměřených dat

Proces měření je odstartován příkazem (zápisem do registru). Každá z měřicích cel postupně prochází těmito fázemi:

- Fáze odběru vzorku vody pro testování – modul čeká po definovaný čas, až přívodem proteče čerstvý vzorek vody, který se má otestovat. Vzorek vody protéká rovnoměrně všemi měřicími celami.
- Fáze měření – měření vzorku vody bez reagentu pro vyhodnocení diferenční metodou. Fáze měření se sestává z regulace svitu prosvětlovací LED diody a samotného měření barvy v komoře cely. Regulace nastavuje po krocích jas LED diody, než bude v definovaném rozmezí. Následné měření tedy probíhá za definovaného jasu a kromě jasu se vyhodnocují RGB (červená, zelená, modrá) složky tekutiny v komoře. Přesnost jasu měření je zatíženo dynamickým poklesem jasu při oteplování LED diody.
- Fáze napouštění reagentu – pomocí injekčních pump se do měřicích cel přivede přesné množství příslušného reagentu.
- Fáze reakce – modul čeká definovaný čas, než proběhne chemická reakce vzorku vody s reagentem, která změní barvu emulze.
- Fáze měření – měření vzorku vzniklého z reakce vody a příslušného reagentu.
- Fáze vyhodnocení – pomocí diferenční metody vyhodnocení ARGB vzorku vody před a po reakci s reagentem se vypočítá koncentrace sledované látky ve vzorku vody.



Obr. 10 Kompletní autonomní kolorimetrický modul pro detekci fosforu, amoniaku a uranu ve vodě

Parametry modulu:

Rozměry: 120 mm x 120 mm x 160 mm

Napájení: 12 Vdc

Proudový odběr (průměrný): 60 mA

Proudový odběr (špičkový): 500 mA

Komunikační interface: Modbus RTU – RS485

Použité optické spektrum: VIS

RGB senzor: TCS3200

Rozsah měření: fosfor (50-1000 ppb), amoniak (1-20 ppm), uran (10-500 ppb)

Citlivost detekce: fosfor (- 0,0014 AU/ppb), amoniak (- 0,028 AU/ppm), uran (- 0,0008 AU/ppb)

Reference.

1. Kang, S. M., Jang, S. C., Kim, G. Y., Lee, C. S., Huh, Y. S., Roh, C., A Rapid In Situ Colorimetric Assay for Cobalt Detection by the Naked Eye, Sensors (Basel) (2016) 16 (5)10.3390/s16050626
2. Florence, T. M., Johnson, D. A., Farrar, Y. J., Spectrophotometric determination of uranium(VI) with 2-(2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol, Analytical Chemistry (1969) 41 (12), 1652, 10.1021/ac60281a030
3. Eisenreich, S. J., Bannerman, R. T., Armstrong, D. E., A Simplified Phosphorus Analysis Technique, Environmental Letters (1975) 9 (1), 43, 10.1080/00139307509437455