

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 953 378**

51 Int. Cl.:

G01N 21/27 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

C09B 67/00 (2006.01)

G01N 33/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.07.2016 PCT/US2016/040751**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2017 WO17004553**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2016 E 16748181 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2023 EP 3317644**

54 Título: **Método de calibración para la medición de la dureza del agua**

30 Prioridad:

01.07.2015 US 201562187559 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

10.11.2023

73 Titular/es:

**ECOLAB USA INC. (100.0%)
1 Ecolab Place
St. Paul, MN 55102, US**

72 Inventor/es:

**LI, HUI;
KNOTH, ALEXANDRA;
SCHWARTZ, JOE;
WILSON, CHRISTOPHER, BRANT y
KAHAIAN, ARTHUR**

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 953 378 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método de calibración para la medición de la dureza del agua

5 Descripción

Campo de la invención

10 La invención se refiere a métodos de calibración que usan estándares para el análisis fluorométrico de concentraciones bajas de iones metálicos en sistemas de agua industrial.

Antecedentes de la invención

15 La dureza del agua (es decir, el magnesio y el calcio) en un sistema de agua industrial puede plantear problemas tales como ineficiencias en el proceso y paradas del sistema. Por lo tanto, la concentración de calcio y magnesio en un sistema de agua industrial debe medirse y monitorizarse cuidadosamente. Dado que la concentración de dureza puede ser bastante baja (por ejemplo, intervalo de $\mu\text{g/l}$ (ppb)), la cuantificación de estos cationes metálicos requiere un método de medición delicado y preciso. En la siguiente descripción, la unidad “ppb” debe leerse como “ $\mu\text{g/l}$ (ppb)”. Si la dureza se mide con precisión, se pueden seleccionar métodos adecuados de reducción de dureza (p. ej., filtración, purificación de membrana, intercambio iónico y tratamiento químico), y se pueden usar dosificaciones de tratamiento químico apropiadas para mantener los niveles de dureza bajos.

25 Para medir la concentración de calcio y magnesio en un sistema de agua industrial se puede usar un análisis espectroscópico. Sin embargo, la precisión del método de análisis depende de varios factores. Por ejemplo, las variables operativas tales como el caudal, la presión del agua y la temperatura pueden cambiar entre las ejecuciones experimentales, lo que conduce a un rendimiento inconsistente de las bombas instrumentales. Además, la concentración de reactivos puede variar en función de la fuente comercial, la edad y la fabricación del lote de reactivo. Asimismo, la fluorescencia de fondo de los reactivos empleados puede variar en función de los niveles de impureza presentes en el lote. La variación de componentes del equipo tales como bombas, LED y electrónica del sistema a lo largo del tiempo puede erosionar la precisión analítica y la reproducibilidad.

30 Los métodos de calibración pueden usarse para “poner a cero” un instrumento en el momento de su uso para tener en cuenta estas variables. Preferiblemente, el método de calibración es fácil de ejecutar, requiere un esfuerzo humano mínimo y asegura la precisión y la reproducibilidad del instrumento. Si bien existen muchos métodos de calibración, una mejora adicional siempre es deseable.

40 El documento US 2014/273243 A1 describe métodos automatizados para medir la concentración de magnesio soluble en agua mediante el uso de fluorescencia. Los métodos emplean el uso de un líquido tamponado con pH y un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio. En determinadas realizaciones, los métodos pueden emplear además la medición de la concentración de dureza total del agua desplazando cualquier calcio soluble con magnesio soluble y luego remidiendo la concentración de magnesio soluble. De manera opcional, la concentración de calcio soluble se puede determinar restando la concentración de magnesio soluble medida de la concentración de dureza total medida.

45 Breve resumen de la invención

La presente invención está dirigida a un método, como se define en la reivindicación independiente adjunta 1. Las realizaciones específicas de la invención se definen en las reivindicaciones dependientes adjuntas.

50 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra un diagrama para la calibración de un instrumento de medición de fluorescencia que puede usarse en un método de acuerdo con la invención.

55 La Figura 2 muestra un gráfico que ilustra la precisión de un método de calibración de acuerdo con una modalidad de la invención.

Descripción detallada de la invención

60 Las siguientes definiciones se proporcionan para determinar cómo se usan los términos en esta solicitud y, en particular, cómo deben interpretar las reivindicaciones. La organización de las definiciones es solo por conveniencia y no se pretende limitar ninguna de las definiciones a ninguna categoría en particular. El alcance de la invención está únicamente definido y limitado por las reivindicaciones adjuntas.

65 En lo que respecta a esta descripción, “automático”, “automáticamente” y “automatizado” significan sin intervención humana o sustancialmente sin intervención humana. Por ejemplo, un proceso realizado automáticamente (es decir, un “proceso automatizado”) mediría una variable e intervendría (p. ej., cambiando la

velocidad de una bomba, abriendo o cerrando una válvula, aumentando el calentamiento o enfriamiento, etc.) basándose en una comparación de la variable medida con un valor estándar (es decir, un punto de referencia) sin que una persona tenga que hacer nada para que la acción se lleve a cabo, además de proporcionar inicialmente todo el equipo necesario de fontanería, cableado, energía, programación, ingredientes químicos, etc.

En lo que respecta a esta descripción, “como carbonato de calcio” significa que la medición de concentración particular (magnesio soluble, calcio soluble o dureza total) se informa “como carbonato de calcio”. Un método de informe de este tipo se usa comúnmente en el campo y hace uniforme la medición de cada especie o la dureza total, lo que permite la comparación entre especies.

En lo que respecta a esta descripción, “coordinar” o “coordinado” significa una conexión química de algún tipo que es lo suficientemente estable como para permitir que la concentración y/o la presencia de una especie o compuesto químico se mida por la concentración conocida de otra especie o compuesto químico. Por ejemplo, un reactivo fluorescente puede coordinarse con una especie soluble en agua en una relación de un mol de especie soluble en agua por mol de reactivo fluorescente, lo que permitiría una medición fluorométrica de la especie soluble en agua basada en la cantidad conocida de reactivo fluorescente y/o datos experimentales relacionados con la coordinación de las especies solubles en agua y el reactivo fluorescente. Como alternativa, el reactivo fluorescente puede coordinarse con una especie soluble en agua en una proporción de un mol de especie soluble en agua por dos moles de reactivo fluorescente, lo que permitiría una medición fluorométrica de la especie soluble en agua basada en la cantidad conocida de reactivo fluorescente y/o datos experimentales relacionados con la coordinación de las especies solubles en agua y el reactivo fluorescente (p. ej., una calibración). En otras palabras, la coordinación de la concentración conocida del reactivo fluorescente permite cuantificar la concentración de la especie soluble en agua.

En lo que respecta a esta descripción, “corregir” significa realizar un cambio en un valor medido basándose en una o más variables. Por ejemplo, un valor medido puede verse afectado a sabiendas por otra variable medible. Con el conocimiento de la existencia del efecto, se puede corregir el efecto conocido, eliminando así el efecto en el primer valor medido. Cuando se trata de fluorimetría, los efectos relacionados con la temperatura, la dilución/concentración y la turbidez pueden introducir errores en la medición de fluorescencia sin procesar y con frecuencia requieren la corrección de la medición de fluorescencia sin procesar para reflejar el efecto.

En lo que respecta a esta descripción, un “instrumento de medición de fluorescencia” se hace referencia a cualquier instrumento que pueda usarse para el análisis fluorométrico. El instrumento comprende generalmente una fuente de luz y un detector de fluorescencia (por ejemplo, un fluorómetro) configurado para detectar fluorométricamente la fluorescencia como se conoce en la técnica. El instrumento también puede comprender un ordenador capaz de realizar cálculos y almacenar datos.

En lo que respecta a esta descripción, “agente fluorescente inerte” se refiere a un compuesto fluorescente que no reacciona con otras especies (es decir, es inerte) y fluorescente a una longitud de onda que no interfiere con las longitudes de onda de otras especies fluorescentes presentes.

En lo que respecta a esta descripción, “reactivo fluorescente de coordinación de magnesio” significa un compuesto químico que es capaz de reaccionar con magnesio soluble para producir un compuesto de magnesio coordinado. El compuesto de magnesio coordinado puede variar dependiendo del reactivo fluorescente de coordinación de magnesio particular utilizado, pero será capaz de producir una emisión fluorescente cuando se coordine con magnesio soluble y se excite con luz que tenga una cierta longitud de onda o intervalo de longitudes de onda. Por lo general, cuando se agrega a una muestra de agua que contiene magnesio soluble, una cantidad del reactivo fluorescente de coordinación de magnesio se coordina (se une químicamente al magnesio soluble, lo que permite la medición de la concentración de magnesio soluble a través de la fluorescencia) y una cantidad puede permanecer sin coordinar (p. ej., la cantidad del agente fluorescente de coordinación de magnesio que es residual o excesiva).

En lo que respecta a esta descripción, “reactivo que contiene magnesio” significa un compuesto químico que está compuesto, al menos parcialmente, de magnesio y que reacciona con una especie conocida que puede estar presente en una sustancia. Por ejemplo, en ciertas realizaciones de los métodos descritos en el presente documento, el reactivo que contiene magnesio reacciona con el calcio soluble que está presente en una alícuota de agua, desplazando así el calcio soluble con magnesio soluble.

La invención se dirige generalmente a métodos de calibración que emplean estándares que pueden usarse para calibrar un instrumento de fluorescencia usado para medir las concentraciones solubles de magnesio y/o calcio (es decir, la dureza) en medios acuosos. En ciertas realizaciones, esta descripción se refiere a métodos de calibración automatizados para monitorear la dureza en el agua que entra o vuelve a entrar en un proceso industrial. Se necesita un método de calibración preciso para garantizar la precisión de la medición de concentraciones bajas de magnesio soluble y calcio soluble en agua industrial. El presente método puede usarse para ajustar automáticamente un instrumento de medición de fluorescencia al calibrar la medición de magnesio soluble y la dureza total (es decir, el magnesio soluble total y el calcio soluble). Concretamente, las soluciones estándar de calibración que comprenden cantidades conocidas de magnesio soluble, calcio soluble y un agente fluorescente inerte se miden usando el instrumento de medición de fluorescencia. En ciertas realizaciones, la concentración de magnesio soluble en una solución estándar de calibración se cuantifica usando un reactivo

fluorescente de coordinación de magnesio para coordinar magnesio soluble y medir la fluorescencia del compuesto de magnesio coordinado. En ciertas realizaciones, la dureza total en una solución estándar de calibración se cuantifica mediante el desplazamiento de calcio soluble en la solución estándar usando un reactivo que contiene magnesio, y luego coordinando el magnesio soluble con un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio y midiendo la fluorescencia del compuesto de magnesio coordinado. Las mediciones se usan para generar curvas de calibración lineales o esencialmente lineales, que se usan para calibrar automáticamente el instrumento de medición de fluorescencia.

En un ejemplo, que está fuera del alcance de las reivindicaciones adjuntas pero que es útil para comprender la invención, se proporciona un método para calibrar un instrumento de medición de fluorescencia para la medición de magnesio soluble. El método comprende medir la fluorescencia de fondo de una solución estándar de calibración baja que comprende magnesio soluble; combinar una solución de reactivo de magnesio que comprende un agente fluorescente inerte y un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja combinada que comprende el agente fluorescente inerte y un compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar combinada de calibración baja; medir la respuesta fluorométrica de un agente fluorescente inerte en una solución estándar de calibración alta que comprende magnesio soluble y agente fluorescente inerte; combinar una solución de reactivo de magnesio con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de alta calibración combinada que comprende un agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración alta combinada; calibrar el instrumento de medición de fluorescencia en base a las respuestas fluorométricas medidas y la concentración conocida de agente fluorescente soluble e inerte en la solución estándar de calibración baja y en la solución estándar de calibración alta.

En otro ejemplo, que está fuera del alcance de las reivindicaciones adjuntas pero que es útil para comprender la invención, se proporciona un método para calibrar un instrumento de medición de fluorescencia para la medición soluble de magnesio. El método comprende introducir una solución estándar de calibración baja que comprende magnesio soluble en el instrumento de medición de fluorescencia; medir la fluorescencia de fondo de la solución estándar de calibración baja; combinar una solución de reactivo de magnesio que comprende un agente fluorescente inerte y un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja combinada que comprende el agente fluorescente inerte y un compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar combinada de calibración baja; introducir una solución estándar de calibración alta que comprende magnesio soluble y el agente fluorescente inerte en el instrumento de medición de fluorescencia; medir la respuesta fluorométrica del agente fluorescente inerte en la solución estándar de calibración; combinar una solución de reactivo de magnesio con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de alta calibración combinada que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración alta combinada; calibrar el instrumento de medición de fluorescencia en base a las respuestas fluorométricas medidas y la concentración conocida de agente fluorescente soluble e inerte en la solución estándar de calibración baja y en la solución estándar de calibración alta.

En otra realización, la invención, tal y como se define en la reivindicación adjunta 1 *entre otros* proporciona un método para calibrar un instrumento de medición de fluorescencia para la medición de magnesio soluble y dureza total. El método comprende medir la fluorescencia de fondo de una solución estándar de calibración baja que comprende magnesio soluble y calcio soluble; combinar una solución de reactivo de magnesio que comprende un agente fluorescente inerte y un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja combinada que comprende el agente fluorescente inerte y un compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar combinada de calibración baja; combinar la solución de reactivo de magnesio y una solución de reactivo de dureza total que comprende un reactivo que contiene magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja desplazada por calcio que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración baja desplazada por calcio; medir la respuesta fluorométrica del agente fluorescente inerte en una solución estándar de calibración alta que comprende magnesio soluble, calcio soluble y el agente fluorescente inerte; combinar la solución de reactivo de magnesio con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de alta calibración combinada que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración alta combinada; combinar la solución de reactivo de magnesio y la solución de reactivo de dureza total con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de alta calibración desplazada por calcio que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración alta desplazada por calcio; calibrar el instrumento de medición de fluorescencia en base a las respuestas de medidas fluorométricas y la concentración conocida de magnesio soluble, calcio soluble y agente fluorescente inerte en la solución estándar de calibración baja y en la solución estándar de calibración alta.

En otra realización, la invención, tal y como se define en la reivindicación adjunta 1 *entre otros* proporciona un método para calibrar un instrumento de medición de fluorescencia para la medición de magnesio soluble y dureza total. El método comprende introducir una solución estándar de calibración baja que comprende magnesio soluble y calcio soluble en el instrumento de medición de fluorescencia; medir la fluorescencia de fondo de la solución estándar de calibración baja; combinar una solución de reactivo de magnesio que comprende un agente fluorescente inerte y un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja combinada que comprende el agente fluorescente inerte y un compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar combinada de calibración baja; combinar la solución de reactivo de magnesio y una solución de reactivo de dureza total que comprende un reactivo que contiene magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja desplazada por calcio que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración baja desplazada por calcio; introducir una solución estándar de calibración alta que comprende magnesio soluble, calcio soluble y el agente fluorescente inerte en el instrumento de medición de fluorescencia; medir la respuesta fluorométrica del agente fluorescente inerte en la solución estándar de calibración alta; combinar la solución de reactivo de magnesio con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de calibración alta combinada que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración alta combinada; combinar la solución de reactivo de magnesio y la solución de reactivo de dureza total con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de alta calibración desplazada por calcio que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado; medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración elevada por calcio; calibrar el instrumento de medición de fluorescencia en base a las respuestas de medidas fluorométricas y la concentración conocida de magnesio soluble, calcio soluble y agente fluorescente inerte en la solución estándar de calibración baja y en la solución estándar de calibración alta.

En ciertas modalidades preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia se calibra automáticamente.

De acuerdo con la presente invención, tal y como se define en la reivindicación adjunta 1, se representa una curva de calibración en base a las respuestas fluorométricas medidas y la concentración conocida de magnesio soluble, calcio soluble, dureza total y/o agente fluorescente inerte en la solución estándar de calibración baja y en la solución estándar de calibración alta, y se usa para calibrar el instrumento de medición de fluorescencia. En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia calcula automáticamente la intersección y la pendiente de la curva de calibración.

En ciertas realizaciones, un controlador es un componente del instrumento de medición de fluorescencia, o un controlador está conectado al instrumento de medición de fluorescencia. En ciertas realizaciones preferidas, el controlador tiene un medio para almacenar información, que incluye concentraciones y respuestas fluorométricas medidas. En ciertas realizaciones preferidas, la intersección y la pendiente de la curva de calibración se almacenan en un dispositivo de almacenamiento del controlador (p. ej., un ordenador). En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia comprende una placa de controlador que almacena la ecuación y las variables de la curva de calibración. De acuerdo con la presente invención, tal y como se define en la reivindicación adjunta 1, un controlador almacena una ecuación de la curva de calibración, por ejemplo, en un dispositivo de almacenamiento del controlador (p. ej., un ordenador) y la ecuación se usa para calibrar automáticamente el instrumento de medición de fluorescencia.

En ciertas realizaciones preferidas, la intersección y la pendiente de la curva de calibración se usan para calcular la concentración de magnesio soluble, calcio soluble y/o dureza total en una muestra de agua (p. ej., una muestra de agua industrial). La señal de fluorescencia de la muestra de agua se mide mediante el uso del instrumento de medición de fluorescencia y se convierte en concentración (p. ej. magnesio soluble o dureza total) por una placa de control en el instrumento de medición de fluorescencia mediante el uso de la intersección y pendiente de la curva de calibración almacenadas. En ciertas realizaciones, la precisión del método de calibración puede determinarse midiendo la concentración de magnesio soluble, calcio soluble y/o dureza total en una muestra de agua conocida (p. ej., una muestra de agua industrial), y comparando la concentración medida con la concentración conocida de magnesio soluble, calcio soluble y/o dureza total.

En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia se lava con la solución estándar de calibración baja antes de la calibración del instrumento. En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia se lava con la solución estándar de calibración adecuada (es decir, la solución estándar de calibración baja y la solución estándar de calibración alta) antes de cada etapa de medición. En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia se lava automáticamente con la solución estándar de calibración adecuada (es decir, solución estándar de calibración baja y solución estándar de calibración alta) antes de cada etapa de medición. En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia se lava durante al menos unos 5 segundos con la solución estándar de calibración adecuada.

Los métodos anteriores están dirigidos a la calibración de un instrumento de fluorescencia usado para medir la concentración de magnesio soluble y/o de dureza total. Los métodos de calibración de la presente invención, tal y

como se define en la reivindicación independiente adjunta 1, pueden usarse para calibrar un instrumento de medición de fluorescencia usado para medir la concentración de magnesio soluble y/o de dureza total mediante cualquier método adecuado que se encuentre dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. En un ejemplo de la técnica anterior que está fuera del alcance de las reivindicaciones, la concentración de magnesio soluble y/o dureza total en agua puede determinarse como se describe en la patente de Estados Unidos 8,956,875 B2.

El método de calibración comprende medir una cantidad conocida de magnesio soluble y/o dureza total en una solución estándar de calibración. La concentración de magnesio soluble en una solución estándar de calibración (por ejemplo, solución estándar de calibración baja y solución estándar de calibración alta) se mide combinando un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio adecuado con una solución estándar de calibración que comprende magnesio soluble. El reactivo fluorescente de coordinación de magnesio se coordina con el magnesio soluble presente en la solución estándar de calibración, creando un compuesto de magnesio coordinado. La concentración de magnesio soluble en la solución estándar de calibración se determina midiendo la fluorescencia del compuesto de magnesio coordinado.

La dureza total (es decir, el magnesio soluble y el calcio soluble totales) de una solución estándar de calibración se mide mediante el concepto de desplazamiento de calcio. En concreto, el calcio soluble en una solución estándar de calibración se desplaza mediante la combinación de un reactivo que contiene magnesio con la solución estándar de calibración. El reactivo que contiene magnesio desplaza el calcio disuelto en el agua con magnesio soluble a un intervalo conocido, normalmente un mol de magnesio soluble por cada mol de calcio soluble. El desplazamiento permite la determinación de la concentración de dureza total que representa todo el magnesio soluble y el calcio soluble en el estándar de calibración. Como en el caso de la medición de magnesio soluble, un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio adecuado puede coordinarse con el magnesio soluble para formar un compuesto de magnesio coordinado. La concentración de dureza total en el estándar de calibración se determina midiendo la fluorescencia del compuesto de magnesio coordinado. En ciertas realizaciones, la concentración de calcio soluble se determina después restando una primera concentración de magnesio medida (que representa solo magnesio soluble) de la concentración de dureza total medida.

En ciertas realizaciones preferidas, el presente método de calibración proporciona curvas de calibración individuales de 2 puntos para magnesio soluble, dureza total y agente fluorescente inerte. Para cada calibración, las dos soluciones estándar de calibración (p. ej., solución estándar de calibración baja y solución estándar de calibración alta) que tienen concentraciones conocidas de analito se analizan para proporcionar curvas de calibración lineales o esencialmente lineales.

Cuando el método de calibración se usa para calibrar un instrumento de medición de fluorescencia, las curvas de calibración se generan por el ordenador del instrumento de medición de fluorescencia correlacionando las respuestas fluorométricas medidas con la concentración conocida de analito (p. ej., magnesio soluble, calcio soluble y agente fluorescente inerte), creando así una curva de calibración para el agente fluorescente inerte, magnesio soluble y/o dureza total. En ciertas realizaciones, las curvas de calibración son líneas rectas o esencialmente rectas. En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia puede determinar automáticamente la ecuación de la curva de calibración o línea, que incluye la pendiente e intersección. En ciertas realizaciones preferidas, la curva de calibración para el agente fluorescente inerte no pasa por el número cero. Según la presente invención, como se define en la reivindicación adjunta 1, la ecuación de curva de calibración es almacenada por un controlador. La curva de calibración almacenada puede usarse para calcular la concentración de magnesio soluble, calcio soluble y/o dureza total de una muestra de agua.

La dilución de la solución estándar de calibración se produce cuando la solución estándar se combina con la solución de reactivo de magnesio y/o la solución de reactivo de dureza total. Se debe tener en cuenta un factor de dilución cuando el instrumento de medición de fluorescencia calcula la concentración de magnesio soluble y/o dureza total a partir de los valores de fluorescencia. En ciertas realizaciones preferidas, el agente fluorescente inerte se usa para calcular el factor de dilución, corrigiendo el error asociado con la dilución resultante de la adición de reactivos acuosos. En ciertas realizaciones preferidas, la concentración de magnesio soluble determinada mediante la medición de fluorescencia del compuesto de magnesio coordinado se puede corregir utilizando el agente fluorescente inerte para tener en cuenta uno o más de los siguientes: variación en la proporción de mezcla, variación en los efectos de fondo y variación en la temperatura, permitiendo así el cálculo de una concentración ajustada de magnesio soluble en el agua. En determinadas realizaciones, el agente fluorescente inerte se usa para determinar la relación de mezclado adecuada de reactivos (p. ej., reactivo fluorescente de coordinación de magnesio y/o reactivo que contiene magnesio) para calibrar la solución estándar.

En determinadas realizaciones preferidas, el agente fluorescente inerte está presente en la solución de reactivo de magnesio y la solución de reactivo de dureza total para controlar el nivel del reactivo fluorescente coordinante de magnesio y/o el reactivo que contiene magnesio. Sin embargo, en ciertas realizaciones, la solución de reactivo de dureza total no comprende un agente fluorescente inerte.

Para el método de calibración, el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio se combina con la solución estándar de calibración (p. ej., solución estándar de calibración baja o solución estándar de calibración alta) en una proporción de mezcla específica (volumen/volumen). En determinadas realizaciones, la proporción de mezcla de la solución estándar de calibración al reactivo fluorescente de coordinación de magnesio es de aproximadamente 100 a 1 o menos, por volumen. En determinadas realizaciones preferidas, la proporción de mezcla de la solución estándar de calibración baja al reactivo fluorescente de coordinación de magnesio es de aproximadamente 50 a 1 o menos, por

volumen. En una determinada realización preferida, la proporción de mezcla de la solución estándar de calibración baja al reactivo fluorescente de coordinación de magnesio es de aproximadamente 49 a 1, por volumen.

Para la calibración de la dureza total de la presente invención, el agente fluorescente de coordinación de magnesio, el reactivo que contiene magnesio y la solución estándar de calibración (p. ej., solución estándar de calibración baja o solución estándar de calibración alta) se combinan en una proporción de mezcla específica (volumen/volumen). En determinadas realizaciones, la proporción de mezcla de la solución estándar de calibración al reactivo fluorescente de coordinación de magnesio al reactivo que contiene magnesio es de aproximadamente 100 a 1 a 1 o menos, por volumen. En ciertas realizaciones preferidas, la proporción de mezcla de la solución estándar de calibración baja al reactivo fluorescente de coordinación de magnesio al reactivo que contiene magnesio es de aproximadamente 50 a 1 a 1 o menos, en volumen. En una realización preferida determinada, la proporción de mezcla de la solución estándar de calibración baja al reactivo fluorescente de coordinación de magnesio al reactivo que contiene magnesio es de aproximadamente 48 a 1 a 1, en volumen.

La solución estándar de calibración baja y la solución estándar de calibración alta pueden comprender magnesio soluble y calcio soluble en cualquier concentración adecuada dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Los métodos presentes se usan típicamente con el objetivo de calibrar un instrumento para medir concentraciones bajas de magnesio soluble y/o calcio soluble. En ciertas realizaciones, la concentración de magnesio soluble y calcio soluble puede ser de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 200 ppb.

Sin embargo, se obtienen resultados más precisos cuando la concentración de magnesio soluble y calcio soluble es mayor que 0,01 (p. ej., de 50 ppb a 200 ppb). En ciertas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración baja comprende magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 200 ppb. Por lo tanto, en ciertas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración baja comprende magnesio soluble en una concentración de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 100 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 50 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 100 ppb, o de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 200 ppb. En ciertas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración baja comprende además calcio soluble en una concentración de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 100 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 50 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 100 ppb, o de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 200 ppb. La concentración de magnesio soluble y calcio soluble en la solución estándar de calibración baja puede ser igual o diferente. En ciertas realizaciones preferidas, la concentración de magnesio soluble y la concentración de calcio soluble son sustancialmente iguales en una base de peso a peso.

En ciertas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración alta comprende magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb. Por tanto, en determinadas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración alta comprende magnesio soluble en una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 850 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 750 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 300 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 400 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 500 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 600 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 700 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 850 ppb, o de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 800 ppb. En ciertas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración alta comprende además calcio soluble en una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 850 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 750 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 300 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 400 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 500 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 600 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 700 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 850 ppb o de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 800 ppb. La concentración de magnesio soluble y calcio soluble en la solución estándar de calibración alta puede ser igual o diferente. En ciertas realizaciones preferidas, la concentración de magnesio soluble y la concentración de calcio soluble son sustancialmente iguales en una base de peso a peso.

En ciertas realizaciones preferidas, las dos soluciones estándar de calibración tienen una diferencia de concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 850 ppb, es decir, la concentración de magnesio soluble y/o calcio soluble en la solución estándar de calibración baja, restada de la concentración de magnesio soluble y/o calcio soluble en la solución estándar de calibración alta es de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 850 ppb.

Como se discutió anteriormente, la solución estándar de calibración alta comprende un agente fluorescente inerte capaz de proporcionar una respuesta fluorométrica. El agente fluorescente inerte puede ser cualquier compuesto fluorescente adecuado. En ciertas realizaciones, el agente fluorescente inerte se selecciona del grupo que consiste en un derivado de rodamina, un derivado de fluoresceína y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones preferidas, el agente fluorescente inerte es rodamina WT. En ciertas realizaciones preferidas, el agente fluorescente inerte se elige de modo que su longitud de onda de fluorescencia no interfiera con la longitud de onda de fluorescencia del agente fluorescente de coordinación de magnesio.

La solución estándar de calibración alta puede comprender un agente fluorescente inerte a cualquier concentración adecuada. Dado que la instrumentación se usa para medir bajas concentraciones de magnesio soluble y calcio soluble, la solución estándar de calibración alta comprende típicamente un agente fluorescente inerte a una concentración de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 20 ppb. Por lo tanto, en ciertas realizaciones preferidas, la solución de calibración alta comprende un agente fluorescente inerte a una concentración de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 20 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 15 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 10 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 9 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 8 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 7 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 6 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 5 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 20 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 15 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 10 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 8 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 6 ppb, de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 20 ppb, de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 15 ppb, de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 10 ppb, de aproximadamente 10 ppb a aproximadamente 20 ppb, o de aproximadamente 10 ppb a aproximadamente 15 ppb.

En determinadas realizaciones, el agente fluorescente inerte es capaz de proporcionar una respuesta fluorométrica a la luz de excitación que tiene una longitud de onda de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 800 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 700 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 600 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 500 nm, de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 400 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 500 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 600 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 450 nm a aproximadamente 750 nm, o de aproximadamente 620 nm a aproximadamente 700 nm.

El reactivo fluorescente de coordinación de magnesio puede ser cualquier compuesto fluorescente adecuado. En ciertas realizaciones, el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio se selecciona del grupo que consiste en un heterociclo de anillo fusionado, soluble en agua, aromático, colorante azoico sustituido con ortohidroxilo y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, donde el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio comprende al menos un colorante azoico sustituido con ortohidroxilo, aromático, soluble en agua, se selecciona del grupo que consiste en Plasmocorin B, Eriochrome Black T, Calmagite, 8-hidroxiquinolona-5-ácido sulfónico, y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio es ácido 8-hidroxiquinolona-5-sulfónico ("HQS"). En ciertas realizaciones preferidas, el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio se añade a la solución estándar de calibración a una concentración de aproximadamente 0,01 ppm a aproximadamente 1000 ppm.

El reactivo que contiene magnesio puede ser cualquier compuesto adecuado que contiene magnesio. En ciertas realizaciones, el reactivo que contiene magnesio comprende un quelante multidentado que contiene magnesio. En ciertas realizaciones, el reactivo que contiene magnesio comprende una dinámica orgánica. En ciertas realizaciones preferidas, el quelante multidentado que contiene magnesio comprende 1,2-diaminociclohexil-*N,N,N,N'* tetraacetato de magnesio disódico. En ciertas realizaciones preferidas, el reactivo que contiene magnesio es magnesio (sal disódica del ácido 1,2, -diaminociclohexanotetraacético). En ciertas realizaciones preferidas, el reactivo que contiene magnesio se combina con la solución estándar de calibración como solución que tiene una concentración de aproximadamente 0,01 ppm a aproximadamente 1000 ppm. En ciertas realizaciones, el calcio soluble se desplaza con magnesio soluble sobredosificando el reactivo que contiene magnesio (p. ej., usando un gran exceso de reactivo con respecto a la dureza).

El agente fluorescente inerte usado en la solución estándar de calibración alta puede ser el mismo o diferente del agente fluorescente inerte usado en la solución de reactivo de magnesio y la solución de reactivo de dureza total. En ciertas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración alta, la solución de reactivo de magnesio y la solución de dureza total comprenden el mismo agente fluorescente inerte. En ciertas realizaciones, la solución estándar de calibración alta, la solución de reactivo de magnesio y la solución de reactivo de dureza total comprenden cada una un agente fluorescente inerte diferente. En ciertas realizaciones, la solución de reactivo de magnesio y la solución de dureza total comprenden el mismo agente fluorescente inerte. En ciertas realizaciones, la solución de reactivo de magnesio y la solución de reactivo de dureza total comprenden cada una un agente fluorescente inerte diferente. En ciertas realizaciones, la solución estándar de calibración alta y la solución de reactivo de magnesio comprenden el mismo agente fluorescente inerte. En ciertas realizaciones, la solución estándar de calibración alta y la solución de reactivo de dureza total comprenden el mismo agente fluorescente inerte.

En ciertas realizaciones, una base no coordinante soluble en agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 puede combinarse con las soluciones de la presente invención. En ciertas realizaciones, una solución estándar de calibración baja comprende una base no coordinante soluble en

agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En ciertas realizaciones, una solución estándar de calibración alta comprende una base no coordinante soluble en agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En ciertas realizaciones, una solución de reactivo de magnesio comprende una base no coordinante soluble en agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En ciertas realizaciones, una solución de reactivo de dureza total comprende una base no coordinante soluble en agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En ciertas realizaciones preferidas, la base no coordinante soluble en agua es una base orgánica o subimpedientes estérico. En determinadas realizaciones preferidas, la base no coordinante soluble en agua es 1,4-diazabicyclo [2.2.2]octano.

Los métodos de la presente invención pueden realizarse de forma manual o automática. En ciertas realizaciones preferidas, el método de calibración se realiza automáticamente. En otras palabras, cada etapa del método se lleva a cabo de forma automática o casi automática, es decir, sin ninguna o con mínima intervención humana. La única intervención humana requerida es el acto mínimo de reemplazar los ingredientes agotados, incluyendo, entre otros, los siguientes ingredientes o cualquiera de sus precursores o subimpedientes: el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio, el reactivo que contiene magnesio, el agente fluorescente inerte; o cualquier solución estándar de calibración.

Los métodos de la presente invención se llevan a cabo generalmente mediante el uso de un instrumento de medición de fluorescencia que comprende un fluorómetro con una fuente de luz y un detector de fluorescencia configurado para detectar fluorescencia como se conoce en la técnica. El instrumento de medición de fluorescencia puede comprender cualquier fluorómetro adecuado. En ciertas realizaciones, los métodos presentes se llevan a cabo usando una fuente de luz capaz de emitir luz a una longitud de onda particular. En ciertas realizaciones, el detector de fluorescencia es capaz de medir la intensidad de la fluorescencia emitida por un analito.

El fluorómetro puede elegirse entre un fluorómetro de filtro o un espectrofluorómetro. En una realización preferida determinada, las técnicas fluorométricas se llevan a cabo usando una fuente de luz de excitación capaz de sacar luz en una longitud de onda particular o intervalo de longitud de onda, tal como una lámpara de arco (p. ej., mercurio, xenón, tungsteno-halógeno o lámpara de arco de mercurio de xenón), un láser o un diodo emisor de luz (LED). En ciertas realizaciones preferidas, la fuente de luz de excitación es un diodo emisor de luz (LED). En ciertas realizaciones, el detector de fluorescencia es capaz de filtrar longitudes de onda de excitación de luz desde la(s) longitud(s) de onda de emisión de luz usando, por ejemplo, un filtro monocromático, filtro dicróico o filtro de paso largo.

En ciertas realizaciones, el instrumento de medición de fluorescencia comprende un fluorómetro y un controlador (p. ej., un ordenador) configurado para medir una señal fluorescente en una muestra. En ciertas realizaciones, la concentración conocida de analito (p. ej., magnesio soluble, calcio soluble y/o dureza total) se introduce manualmente en el controlador. En otras realizaciones, la concentración conocida de analito se mide automáticamente por el instrumento de medición de fluorescencia. Cuando se emplea un ordenador, el ordenador comprende un programa capaz de representar automáticamente la respuesta fluorométrica (p. ej., intensidad de la señal fluorescente) de un analito frente a la concentración conocida del analito para crear una curva de calibración. En ciertas realizaciones preferidas, la curva de calibración y su ecuación de línea se almacenan en la memoria del ordenador (v. g., RAM). La intersección y la pendiente de la curva de calibración almacenada pueden usarse para calcular la concentración de analito en una muestra de agua. En ciertas realizaciones, la ejecución de diversos procesos y etapas implementados por máquina descritos en la presente memoria se produce a través de la ejecución computarizada de instrucciones ejecutables por procesador almacenadas en un medio legible por ordenador no transitorio (p. ej., RAM, ROM, PROM, volátil, no volátil u otro mecanismo de memoria electrónico) por uno o más procesadores correspondientes.

Para realizaciones automatizadas, los diversos componentes también se comunican con una unidad de procesamiento que ha sido programada para controlar lógicamente los diversos componentes activos según parámetros que puede establecer el usuario o determinarse de alguna otra manera. Por ejemplo, en ciertas realizaciones preferidas, un controlador transmite una secuencia preprogramada al instrumento de medición de fluorescencia y cada etapa del método de calibración se realiza automáticamente. En ciertas realizaciones, la unidad de procesamiento puede compartirse con otros sistemas de control empleados con el proceso industrial. En ciertas realizaciones, la unidad de procesamiento comprende un controlador lógico programable ("PLC").

Por ejemplo, un sistema de supervisión automatizado puede estar cableado y conectado por tuberías para realizar cualquier muestreo y medición sin intervención humana, generando un valor medido de forma constante o a intervalos sin que el usuario tenga que iniciar dicho muestreo o medición. Para ciertas mediciones, la combinación de reactivos y disolventes se puede realizar automáticamente usando controles automatizados. En ciertas realizaciones, un sensor motorizado detecta una fluorescencia o absorbancia a una longitud de onda particular. El sensor envía una primera señal eléctrica a un sistema de control que, a su vez, puede enviar una segunda señal eléctrica a una operación motorizada y controlada (p. ej., una bomba o una válvula) basándose en la primera señal eléctrica y la entrada del usuario en forma de un programa de control, al menos un punto de referencia y, opcionalmente, un ajuste preciso. El sistema de control está programado y puede ajustarse con precisión para controlar un punto de consigna particular, por ejemplo, basándose en la dureza medida. El programa de control puede controlar diversas variables, incluyendo caudales y reactivos involucrados en la calibración de la dureza. Las acciones no limitantes que pueden ser llevadas a cabo por el programa de control incluyen cambiar la velocidad o cantidad de reactivo, y/o actuar para diluir reactivos mediante la activación de bombas de agua.

En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia comprende una placa de controlador capaz de configurar los parámetros ópticos del fluorómetro. En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia comprende una placa de agente fluorescente inerte y una placa de dureza. La placa de dureza configura el fluorómetro para la medición de fluorescencia de un compuesto de magnesio coordinado o un agente fluorescente coordinante de magnesio. La placa de agente fluorescente inerte y la placa de dureza pueden tener parámetros ópticos iguales o diferentes. En determinadas realizaciones, el fluorómetro está configurado por la placa de agente fluorescente inerte para emitir luz a una longitud de onda de aproximadamente 310 nm a aproximadamente 400 nm y para detectar fluorescencia a una longitud de onda de aproximadamente 550 nm a aproximadamente 650 nm. En ciertas realizaciones preferidas, el fluorómetro está configurado por la placa de agente fluorescente inerte para emitir luz a una longitud de onda de aproximadamente 325 nm a aproximadamente 375 nm y para detectar fluorescencia a una longitud de onda de aproximadamente 560 nm a aproximadamente 620 nm. En ciertas realizaciones preferidas, el fluorómetro se configura por el controlador de dureza para emitir luz a una longitud de onda de aproximadamente 475 nm a aproximadamente 550 nm y detectar fluorescencia a una longitud de onda de aproximadamente 450 nm a aproximadamente 500 nm. En ciertas realizaciones preferidas, el fluorómetro se configura por el controlador de dureza para emitir luz a una longitud de onda de aproximadamente 450 nm a aproximadamente 575 nm y detectar fluorescencia a una longitud de onda de aproximadamente 425 nm a aproximadamente 525 nm.

En ciertas realizaciones, el instrumento de medición de fluorescencia es como se muestra en la Figura 1. En tales realizaciones, el instrumento de medición de fluorescencia comprende un fluorómetro, recipientes individuales para reactivo y soluciones estándar de calibración, bombas individuales para reactivos y soluciones estándar de calibración, y una zona de mezclado donde el reactivo y la solución estándar de calibración se pueden mezclar.

En ciertas realizaciones, el instrumento de medición de fluorescencia comprende un fluorómetro, un equipo analizador y un controlador. El equipo analizador puede incluir bombas de reactivo, bombas de agua, bombas de solución estándar (p. ej., solución estándar de calibración baja y bomba de solución estándar de calibración alta), recipientes y una cámara de mezclado. En ciertas realizaciones preferidas, los reactivos y las soluciones estándar se almacenan en recipientes (p. ej., bolsas), cada uno conectado a una bomba separada a través de un tubo. Un reactivo (p. ej., reactivo fluorescente de coordinación de magnesio o reactivo que contiene magnesio) se inyecta en una corriente de solución estándar (p. ej., solución estándar de calibración baja o solución estándar de calibración alta) bombeando el reactivo del recipiente de reactivos en una corriente de solución estándar usando una bomba de reactivo. La mezcla se puede mezclar en una cámara de mezclado. En ciertas realizaciones preferidas, la mezcla fluida es empujada por la bomba de agua en el fluorómetro a través de un mezclador estático, lo que ayuda a crear una solución homogénea.

En ciertas realizaciones, la cantidad de solución estándar (p. ej., solución estándar de calibración baja o solución estándar de calibración alta) se determina mediante métodos mecánicos (p. ej., mediciones y/o cálculos de peso/masa, mediciones y/o cálculos de flujo, volumen mediciones y/o cálculos, etc., que pueden determinarse usando, por ejemplo, una o más bombas dosificadoras, básculas, celdas de carga, rotámetros, etc.), fluorimetría, absorbancia de luz, compensación de presión, compensación de flujo y combinaciones de los mismos.

Las soluciones y reactivos de la presente invención se pueden combinar usando cualquier técnica adecuada. En ciertas realizaciones preferidas, un reactivo (p. ej., reactivo fluorescente de coordinación de magnesio o compuesto que contiene magnesio) se combina con una solución estándar de calibración inyectando el reactivo en un flujo de la solución estándar de calibración. En ciertas realizaciones preferidas, la combinación de reactivos y soluciones estándar de calibración se realiza automáticamente.

En ciertas realizaciones preferidas, un método de calibración de la presente invención se realiza periódicamente en el instrumento de medición de fluorescencia. En ciertas realizaciones preferidas, el método de calibración se lleva a cabo en el momento en que el usuario cambia o rellena el lote de reactivos (p. ej., reactivo fluorescente de coordinación de magnesio y reactivo que contiene magnesio). En ciertas realizaciones preferidas, el método de calibración se realiza tras la instalación de un nuevo lote de reactivo porque los reactivos tienen inherentemente variabilidad con respecto al contenido de contaminantes de un paquete al siguiente.

En otro ejemplo, que no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero que es útil para comprender la invención, se proporciona una solución estándar de calibración adecuada para su uso en un procedimiento de medición de dureza fluorométrica. La solución estándar de calibración es un líquido acuoso que comprende una concentración conocida de magnesio soluble y calcio soluble y es adecuada para su uso en un procedimiento de calibración de dureza fluorométrica. La solución estándar de calibración comprende agua, magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 900 ppb, y calcio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 900 ppb.

La solución estándar de calibración del ejemplo, que no está dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas, comprende magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 900 ppb, y calcio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 900 ppb. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la solución estándar de calibración comprende magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 600 ppb, de aproximadamente 0 ppb a

aproximadamente 500 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 400 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 300 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb, 0,01 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 600 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 500 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 400 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 300 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 250 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 300 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 400 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 500 ppb a aproximadamente 900 ppb o de aproximadamente 600 ppb a aproximadamente 900 ppb. En determinadas realizaciones, la solución estándar de calibración comprende además calcio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 600 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 500 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 400 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 300 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb, de 0,01 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 600 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 500 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 400 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 300 ppb, de aproximadamente 0,01 ppb a aproximadamente 250 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 300 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 400 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 500 ppb a aproximadamente 900 ppb o de aproximadamente 600 ppb a aproximadamente 900 ppb. En ciertas realizaciones, la concentración de magnesio soluble y la concentración de calcio soluble son sustancialmente iguales en una base de peso a peso.

En otro ejemplo, que no está dentro del alcance de las reivindicaciones pero que es útil para comprender la invención, se proporcionan soluciones estándar de calibración que comprenden (a) una primera solución estándar de calibración que comprende agua, magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb, y calcio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb; y (b) una segunda solución estándar de calibración que comprende agua, magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb, calcio soluble a una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb, y de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 20 ppb de un agente fluorescente inerte capaz de proporcionar una respuesta fluorométrica a la luz de excitación que tiene una longitud de onda de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 830 nm.

En ciertos ejemplos, que no caen dentro del alcance de las reivindicaciones, pero que son útiles para comprender la invención, la primera solución estándar de calibración comprende magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb, y calcio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la primera solución estándar de calibración comprende magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 100 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 100 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 200 ppb, o de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 150 ppb. En ciertas realizaciones preferidas, la primera solución estándar de calibración comprende además calcio soluble en una concentración de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 0 ppb a aproximadamente 100 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 200 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 150 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 100 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 200 ppb o de aproximadamente 150 ppb a aproximadamente 200 ppb. La concentración de magnesio soluble y calcio soluble en la primera solución estándar de calibración puede ser sustancialmente igual o diferente. En ciertas realizaciones preferidas, la concentración de magnesio soluble y la concentración de calcio soluble son sustancialmente iguales en una base de peso a peso.

En ciertas realizaciones, la segunda solución estándar de calibración comprende magnesio soluble a una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb, y calcio soluble a una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la segunda solución estándar de calibración comprende magnesio soluble en una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 850 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 750 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 300 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 400 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 500 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 600 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 700 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 850 ppb o de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 800 ppb. En ciertas realizaciones, la segunda solución estándar de calibración comprende además calcio soluble en una concentración de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 850 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 800 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 750 ppb, de aproximadamente 50 ppb a aproximadamente 700 ppb, de aproximadamente 100 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 300 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 400 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 500 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 600 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 700 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 850 ppb o de aproximadamente 200 ppb a aproximadamente 800 ppb.

aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 400 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 500 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 600 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 700 ppb a aproximadamente 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a 900 ppb, de aproximadamente 200 ppb a 850 ppb o de aproximadamente 200 ppb a 800 ppb. La concentración de magnesio soluble y calcio soluble en la primera solución estándar de calibración puede ser sustancialmente igual o diferente. En ciertas realizaciones preferidas, la concentración de magnesio soluble y la concentración de calcio soluble son sustancialmente iguales en una base de peso a peso.

En ciertas realizaciones, la primera solución estándar de calibración comprende una base no coordinante soluble en agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En ciertas realizaciones, la segunda solución estándar de calibración comprende una base no coordinante soluble en agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En ciertas realizaciones, la primera solución estándar de calibración y la segunda solución estándar de calibración comprenden una base no coordinante soluble en agua capaz de tamponar una solución acuosa a un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 12. En ciertas realizaciones preferidas, la base no coordinante soluble en agua es una base orgánica con impedimento estérico. En ciertas realizaciones preferidas, la base no coordinante soluble en agua es 1,4-diazabicio [2.2.2] octano.

Las soluciones estándar de calibración de la presente descripción pueden formarse mediante el uso de cualquier sal de magnesio o sal de calcio adecuadas. En ciertas realizaciones, se forma una solución estándar de calibración combinando un magnesio soluble en agua y/o una sal de calcio soluble en agua con agua. En ciertas realizaciones, la solución estándar de calibración se forma combinando con agua una sal de magnesio seleccionada del grupo que consiste en cloruro de magnesio, acetato de magnesio, bromuro de magnesio, yoduro de magnesio, nitrato de magnesio, clorato de magnesio y sulfato de magnesio. En ciertas realizaciones, la solución estándar de calibración se forma adicionalmente combinando agua que comprende una sal de magnesio, una sal de calcio seleccionada del grupo que consiste en cloruro de calcio, acetato de calcio, bromuro de calcio, yoduro de calcio, clorato de calcio y nitrato de calcio. En ciertas realizaciones preferidas, la solución estándar de calibración se forma mediante la combinación de cloruro de magnesio y/o cloruro de calcio con agua.

La segunda solución estándar de calibración comprende un agente fluorescente inerte capaz de proporcionar una respuesta fluorométrica. El agente fluorescente inerte puede ser cualquier compuesto fluorescente adecuado. En ciertas realizaciones, el agente fluorescente inerte se selecciona del grupo que consiste en un derivado de rodamina, un derivado de fluoresceína y combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones preferidas, el agente fluorescente inerte es rodamina WT. En ciertas realizaciones, la segunda solución estándar de calibración comprende un agente fluorescente inerte a una concentración de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 20 ppb. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, la segunda solución de calibración comprende un agente fluorescente inerte a una concentración de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 20 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 15 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 10 ppb, de aproximadamente 1 ppb a aproximadamente 5 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 20 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 15 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 10 ppb, de aproximadamente 2 ppb a aproximadamente 5 ppb, de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 20 ppb, de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 15 ppb, o de aproximadamente 5 ppb a aproximadamente 10 ppb.

Como se discutió anteriormente, el agente fluorescente inerte es capaz de proporcionar una respuesta fluorométrica a la luz de excitación que tiene una longitud de onda de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 830 nm. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, el agente fluorescente inerte es capaz de proporcionar una respuesta fluorométrica a la luz de excitación que tiene una longitud de onda de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 700 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 600 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 500 nm, de aproximadamente 210 nm a aproximadamente 400 nm, de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 400 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 450 nm a aproximadamente 750 nm, de aproximadamente 500 nm a aproximadamente 830 nm, de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 700 nm, o de aproximadamente 300 nm a aproximadamente 600 nm.

En ciertas realizaciones, la presente invención se usa para calibrar un instrumento de medición de fluorescencia usado para analizar el agua que comprende magnesio soluble y/o calcio soluble a una concentración de 3000 ppb o menos, medida como carbonato de calcio.

En ciertas realizaciones preferidas, la concentración de dureza se calcula como partes por mil millones de carbonato de calcio.

En ciertas realizaciones preferidas, la presente invención se usa para calibrar automáticamente un instrumento de medición de fluorescencia capaz de medir continuamente la concentración de dureza (p. ej. magnesio soluble, calcio soluble y/o dureza total) en agua industrial. En ciertas realizaciones preferidas, la presente invención se usa para ajustar la respuesta del detector de fluorescencia en un método de medición de dureza.

En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia que comprende un fluorómetro, el equipo analizador y un controlador es de aproximadamente 60.96 cm x 60.96 cm x 60.96 cm (2 pies x 2 pies x 2 pies) o menos. En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia que comprende un fluorómetro, el equipo analizador y un controlador es de aproximadamente 45,72 cm x 45,72 cm x 45,72 cm (1,5 pies x 1,5 pies x 1,5 pies) o menos.

En ciertas realizaciones preferidas, el instrumento de medición de fluorescencia que comprende un fluorómetro, el equipo analizador y un controlador es de aproximadamente 30,48 cm x 30,48 cm x 30,48 cm (1 pie x 1 pie x 1 pie) o menos.

En ciertas realizaciones, un método de la presente invención se usa para determinar si se debe reemplazar un reactivo. En ciertas realizaciones, un método de la presente invención se usa para determinar si un componente del instrumento de medición de fluorescencia debe reemplazarse o repararse (p. ej., sensor, fuente de luz o bomba).

Los siguientes ejemplos ilustran aún más la invención, pero, por supuesto, no se deben interpretar como limitantes de su alcance de ninguna manera. El alcance de la invención es únicamente limitado y definido por las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra un método de calibración de un instrumento de medición de fluorescencia para medir magnesio soluble y dureza total de acuerdo con una realización de la invención.

Todas las concentraciones de dureza se calculan como partes por mil millones de carbonato de calcio. Se autocalibró un instrumento de medición de fluorescencia mediante el uso de un estándar de calibración baja, un estándar de calibración alta, una solución de reactivo de magnesio que comprende un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio y una solución de reactivo total de dureza que comprende un reactivo que contiene magnesio. El estándar de calibración baja comprendía 0 ppb de rodamina WT, 100 ppb de magnesio soluble y 100 ppb de calcio soluble. El estándar de calibración alta comprendía 8 ppb de rodamina WT, 800 ppb de magnesio soluble y 800 ppb de calcio soluble. La solución de reactivo de magnesio comprendía ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfónico (HQS), 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octano (Dabco®) y rodamina WT. La solución de reactivo de dureza total comprendía magnesio (sal disódica del ácido 1,2-diaminociclohexaneteacético) (Na 2MgCDTA), Dabco® y rodamina WT. HQS y Dabco® se adquirieron de Aldrich. La rodamina WT se adquirió de Turner Scientific. Na 2 El MgCDTA se adquirió de Hach.

Preparación de soluciones estándar de calibración. Se preparó una solución de 100 ppm de calcio soluble disolviendo $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (1,470 g, 10 mmol) en 1,0 litro de agua desionizada y, además, diluir una alícuota de 100 ml de la solución con agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1,0 litro. Se preparó una solución de 100 ppm de magnesio soluble disolviendo $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (2,033 g, 10 mmol) en 1,0 litro de agua desionizada y diluyendo una alícuota de 100 ml de la solución con agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1,0 litro. La solución estándar de calibración baja se preparó añadiendo 1,0 ml de solución de calcio soluble de 100 ppm y 1,0 ml de solución de magnesio soluble a 100 ppm a un matraz volumétrico y diluyendo la solución con agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1,0 litro.

Se preparó una solución de 200 ppb de rodamina WT añadiendo 1 ml de rodamina WT (solución ac. de 20 %) a un matraz volumétrico de 1,0 litro y añadiendo agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1,0 litro. Se diluyó una alícuota de 1,0 ml de la solución con agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1,0 litro. El patrón de calibración alta se preparó añadiendo 8,0 ml de solución de calcio soluble de 100 ppm, 8,0 ml de solución de magnesio soluble de 100 ppm y 40 ml de solución de rodamina WT 200 ppb a un matraz volumétrico y diluyendo con agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1,0 litro. La solución de calcio soluble de 100 ppm y la solución de magnesio soluble de 100 ppm se preparó a partir de las mismas soluciones madre descritas anteriormente.

Preparación de los reactivos. La solución de reactivo de magnesio se preparó combinando ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfónico (HQS, 750 mg, 3,3 mmol), DABCO® (15,0 g, 133 mmol) y una solución acuosa de rodamina WT (1 ml de solución de 200 ppm) en un matraz volumétrico de 1 litro y diluyendo con agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1,0 litro. La solución de reactivo de dureza total se preparó disolviendo Na_2MgCDTA (15,0 g, 36,2 mmol) y Dabco® (15,0 g, 133 mmol) en agua desionizada. La mezcla se filtró, se añadió a un matraz volumétrico de 1 litro y se cargó con una solución acuosa de rodamina WT (1 ml de solución de 200 ppm). La mezcla se diluyó con agua desionizada hasta que el volumen total fue de 1 litro.

Método de calibración automática. El instrumento de medición de fluorescencia se inyectó con el estándar de calibración baja durante aproximadamente 2 minutos. Después de enjuagar el instrumento, se realizó una medición de fluorescencia para determinar la fluorescencia de fondo. A continuación, se inyectó solución de reactivo de magnesio en la corriente del estándar de calibración baja durante 30 segundos en una relación volumétrica de 1:49 (solución de reactivo de magnesio a un estándar de calibración bajo). Se midió la fluorescencia tanto de rodamina WT como de magnesio coordinado para detectar la concentración de magnesio soluble. A continuación, se inyectó el estándar de calibración baja durante 2 minutos para eliminar el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio residual del instrumento. La solución de reactivo de dureza total y la solución de reactivo de magnesio se inyectaron en la corriente del estándar de calibración baja durante 30 segundos en una relación volumétrica de 1:1:48 (solución de reactivo de dureza total a solución de reactivo de magnesio a estándar de calibración baja). La inyección de solución de reactivo de dureza total, solución de reactivo de magnesio y patrón de calibración baja se detuvo y la mezcla se dejó reposar durante 5 minutos. Después de 5 minutos, se midió la fluorescencia tanto de rodamina WT como del compuesto de magnesio coordinado (que representa la dureza total).

A continuación, se inyectó el instrumento de medición de fluorescencia con el estándar de calibración alta durante aproximadamente 2 minutos. Después de enjuagar el instrumento, se midió la fluorescencia de rodamina WT en el estándar de calibración alta. A continuación, se inyectó solución de reactivo de magnesio en la corriente del estándar de

calibración alta durante 30 segundos en una relación volumétrica de 1:49 (solución de reactivo de magnesio a estándar de calibración alta). Se midió la fluorescencia tanto de rodamina WT como de magnesio coordinado para detectar la concentración de magnesio soluble. A continuación, se inyectó el estándar de calibración alta durante 2 minutos para eliminar el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio residual del instrumento. La solución de reactivo de dureza total y la solución de reactivo de magnesio se inyectaron en la corriente del estándar de calibración alta durante 30 segundos en una relación volumétrica de 1:1:48 (solución de reactivo de dureza total a solución de reactivo de magnesio a estándar de calibración alta). La inyección de solución de reactivo de dureza total, solución de reactivo de magnesio y estándar de calibración alta se detuvo y la mezcla se dejó reposar durante 5 minutos. Después de 5 minutos, se midió la fluorescencia tanto de rodamina WT como del compuesto de magnesio coordinado (que representa la dureza total).

El instrumento de medición de fluorescencia generó y almacenó automáticamente ecuaciones de curva de calibración para rodamina WT, dureza de magnesio y dureza total (es decir, magnesio soluble y calcio soluble) en base a las concentraciones conocidas y la fluorescencia medida. El instrumento de medición de fluorescencia puede usar las ecuaciones de la curva de calibración para calcular la concentración de magnesio soluble, calcio soluble y dureza total de una muestra. El instrumento puede usar la ecuación de curva de calibración para rodamina WT para determinar el factor de dilución, que se usa durante la calibración, así como para las mediciones de dureza posteriores.

Ejemplo 2

Este ejemplo ilustra la utilidad del método de calibración automática del Ejemplo 1 para medir el magnesio soluble y la dureza total en una muestra.

El método de calibración automática del Ejemplo 1 se validó midiendo magnesio soluble, calcio soluble y dureza total en dos muestras que contenían cantidades conocidas de magnesio soluble y calcio soluble. Una muestra que comprende 200 ppb de calcio soluble y 200 ppb de magnesio soluble, y una muestra que comprende 500 ppb de calcio soluble y 500 ppb de magnesio soluble se analizaron usando el mismo instrumento de medición de fluorescencia autocalibrado en el Ejemplo 1. Los resultados de estos experimentos se muestran gráficamente en la Figura 2.

Como se muestra en la Figura 2, el instrumento de medición de fluorescencia autocalibrado produjo lecturas de concentración cercanas a la concentración conocida de las muestras.

Este ejemplo demuestra que un instrumento de medición de fluorescencia calibrado de acuerdo con un método de una realización de la invención puede usarse para medir con precisión concentraciones bajas de magnesio soluble, calcio soluble y dureza total.

El uso de los términos “un” y “una” y “el” y “al menos uno” y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) se debe interpretar para recubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otra forma en la presente descripción o que el contexto lo contradiga claramente. El uso del término “al menos uno” seguido de una lista de uno o más incisos (p. ej. “al menos uno de A y B”) se debe interpretar como un inciso que se selecciona de los incisos enumerados (A o B) o cualquier combinación de dos o más de los incisos enumerados (A y B), a menos que se indique lo contrario en la presente descripción o que el contexto lo contradiga claramente. Los términos “que comprende”, “que tiene”, “que incluye” y “que contiene” se deben interpretar como términos de extremo abierto (es decir, que significa “que incluye, pero no se limita a”) a menos que se indique de cualquier otra manera. La enumeración de intervalos de valores en la presente descripción está destinada simplemente a servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que se encuentre dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en la presente descripción, y cada valor separado se incorpora en la especificación como si se enumerara individualmente en la presente descripción. Dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas, todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o lenguaje ilustrativo (por ejemplo, “tal como”) proporcionado en la presente descripción, está destinado simplemente a clarificar mejor la invención y no supone una limitación en el alcance de la invención a menos que se reivindique lo contrario. Ningún lenguaje en la especificación debe interpretarse en el sentido de que indica algún elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

Las modalidades preferidas de esta invención se describen en la presente descripción, que incluye el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Las variaciones de esas modalidades preferidas pueden resultar evidentes para los expertos en la técnica al leer la descripción anterior. Los inventores esperan que los expertos en la técnica empleen tales variaciones según sea apropiado, y los inventores pretenden que la invención, definida por las reivindicaciones adjuntas, se practique de otra manera que como se describe específicamente en la presente descripción, sin apartarse del alcance definido por las reivindicaciones. Por consiguiente, esta invención incluye todas las modificaciones y equivalentes del objeto descrito anteriormente que caen dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Además, dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas, cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las variaciones posibles de los mismos está abarcada por la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método de calibración de un instrumento de medición de fluorescencia para medir bajas concentraciones de magnesio soluble y dureza total en el rango $\mu\text{g/l}$ (ppb), el método que comprende:

medir la fluorescencia de fondo de una solución estándar de calibración baja que comprende magnesio soluble y calcio soluble;

combinar una solución de reactivo de magnesio que comprende un agente fluorescente inerte y un reactivo fluorescente de coordinación de magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja combinada que comprende el agente fluorescente inerte y un compuesto de magnesio coordinado; el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio siendo un compuesto químico capaz de reaccionar con magnesio soluble para producir un compuesto de magnesio coordinado, teniendo una conexión química suficientemente estable para permitir medir la concentración y/o presencia de una especie química o compuesto por la concentración conocida de otra especie química o compuesto, y el agente fluorescente inerte siendo un compuesto fluorescente que no reacciona con otras especies y fosforesce a una longitud de onda que no interfiere con las longitudes de onda de otras especies fluorescentes presentes;

medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar combinada de calibración baja;

combinar la solución de reactivo de magnesio y una solución de reactivo de dureza total que comprende un reactivo que contiene magnesio con la solución estándar de calibración baja, formando de este modo una solución estándar de calibración baja desplazada por calcio que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado;

medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración baja desplazada por calcio;

medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte en una solución estándar de calibración alta que comprende magnesio soluble, calcio soluble y el agente fluorescente inerte;

combinar la solución de reactivo de magnesio con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de alta calibración combinada que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado;

medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración alta combinada;

combinar la solución de reactivo de magnesio y la solución de reactivo de dureza total con la solución estándar de calibración alta, formando de este modo una solución estándar de alta calibración desplazada por calcio que comprende el agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado;

medir las respuestas fluorométricas del agente fluorescente inerte y el compuesto de magnesio coordinado en la solución estándar de calibración alta desplazada por calcio;

calibrar el instrumento de medición de fluorescencia sobre la base de las respuestas fluorométricas medidas y la concentración conocida de agente fluorescente soluble, calcio soluble e fluorescente en la solución estándar de calibración baja y en la solución estándar de calibración alta,

en donde la solución estándar de calibración baja comprende magnesio soluble a una concentración de $0,01 \mu\text{g/l}$ (ppb) a $200 \mu\text{g/l}$ (ppb) y calcio soluble a una concentración de $0,01 \mu\text{g/l}$ (ppb) a $200 \mu\text{g/l}$ (ppb); y la solución estándar de calibración alta comprende magnesio soluble a una concentración de $50 \mu\text{g/l}$ (ppb) a $900 \mu\text{g/l}$ (ppb), calcio soluble a una concentración de $50 \mu\text{g/l}$ (ppb) a $900 \mu\text{g/l}$ (ppb), y el agente fluorescente inerte a una concentración de $1 \mu\text{g/l}$ (ppb) a $20 \mu\text{g/l}$ (ppb);

en donde el instrumento de medición de fluorescencia se calibra trazando una curva de calibración para magnesio soluble, la dureza total y el agente fluorescente inerte sobre la base de las respuestas fluorométricas medidas y la concentración conocida de magnesio soluble, calcio soluble y agente fluorescente inerte en la solución estándar de calibración baja y en la solución estándar de calibración alta y la curva de calibración; y

en donde un controlador almacena una ecuación de la curva de calibración y usa la ecuación para calibrar automáticamente el instrumento de medición de fluorescencia.

2. El método de la reivindicación 1, en donde el instrumento de medición de fluorescencia se lava con la solución estándar de calibración baja o la solución estándar de calibración alta antes de cada etapa de medición.
- 5 3. El método de la reivindicación 1 o reivindicación 2, en donde el agente fluorescente inerte es rodamina WT.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el reactivo fluorescente de coordinación de magnesio es ácido 8-hidroxiquinolona-5-sulfónico.
- 10 5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el reactivo que contiene magnesio es magnesio (sal disódica del ácido 1,2-diaminociclohexanotetraacético).
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde las soluciones estándar de calibración bajas y altas tienen una diferencia de concentración de magnesio soluble desde 50 ppb a 850 ppb.
- 15 7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde las soluciones estándar de calibración bajas y altas tienen una diferencia de concentración de calcio soluble desde 50 ppb a 850 ppb.

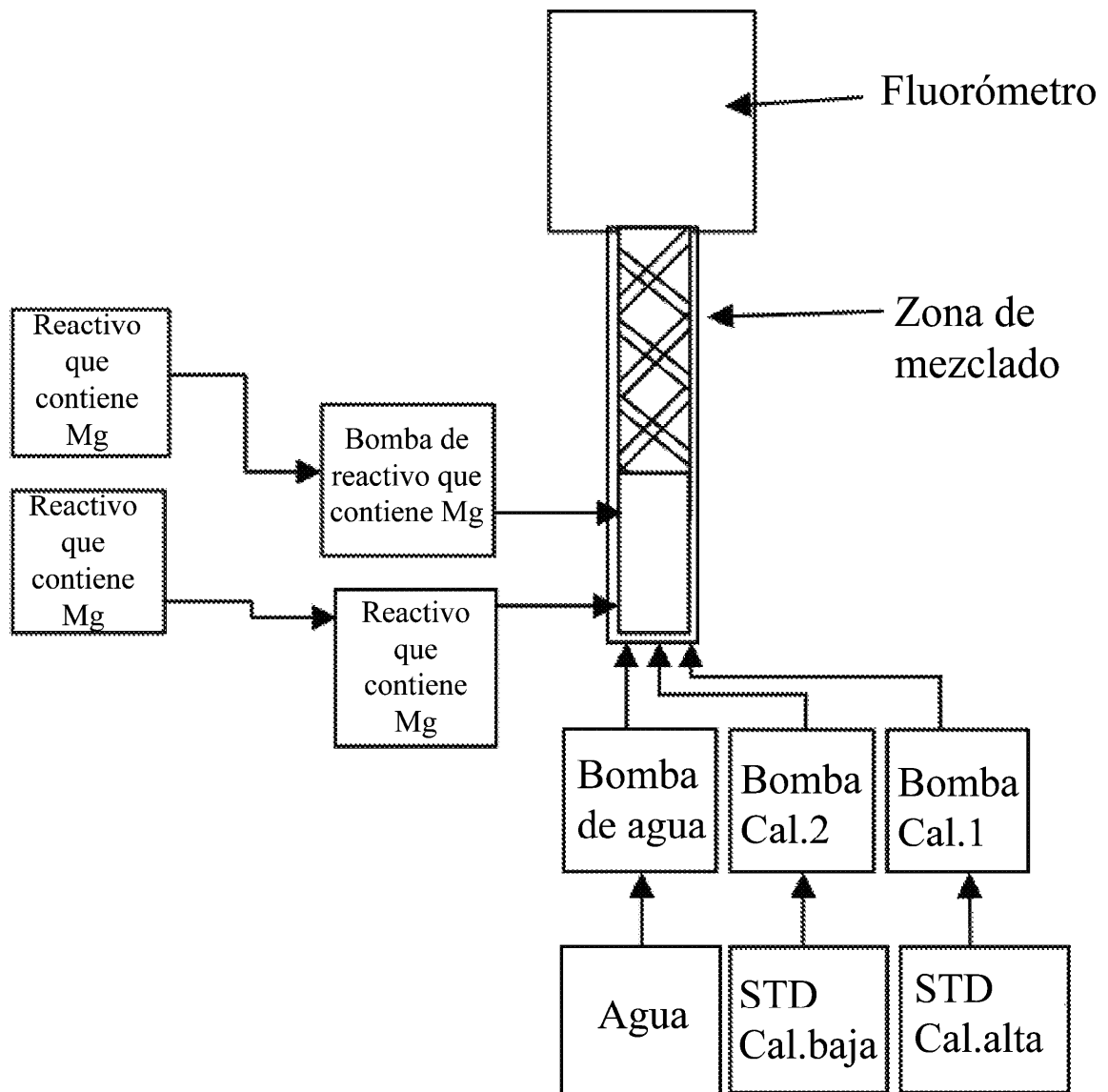


Figura 1

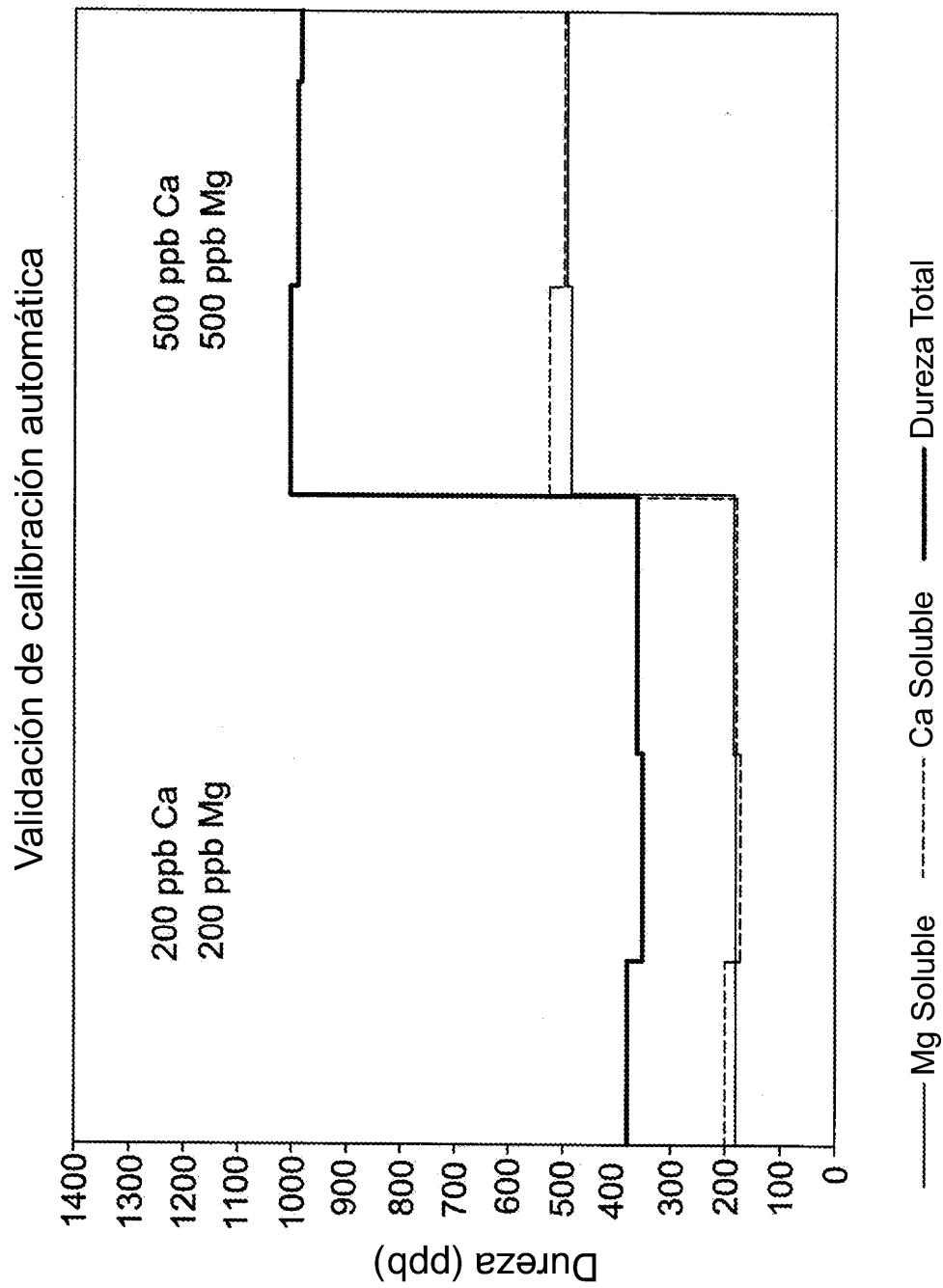


Figura 2