



***DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE SENSORES
QUÍMICOS EN ESTADO SÓLIDO. APLICACIÓN DE
MODELOS TEÓRICOS PARA EL ESTUDIO DE
INTERFERENCIAS***

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Roberto Hanoi Labrador Montero

Directores:

Dr. Juan Soto Camino

Dr. Ramón Martínez-Máñez

RESUMEN

En el presente trabajo de tesis se exponen los resultados obtenidos en el diseño y la caracterización de dos tipos de sensores químicos en estado sólido; así como su aplicación en el reconocimiento o determinación de especies químicas de interés.

En la primera parte se expone el diseño y la caracterización de tres tipos de lenguas electrónicas. Un primer dispositivo se prepara para realizar análisis cualitativos y cuantitativos de disoluciones salinas y aguas minerales, utilizando como método de medición la potenciometría. Dicho dispositivo se compone de cinco electrodos de trabajo metálicos (oro, plata, platino, cobre y cinc) encapsulados en un cilindro de acero inoxidable. Se verifica la capacidad de diferenciación del dispositivo sobre muestras de diferente composición aniónica, como por ejemplo, disoluciones salinas preparadas en el laboratorio y aguas minerales comerciales. Se analiza además la capacidad de predecir los niveles aniónicos en las muestras, resultando buena para las determinaciones de cloruros y moderadas para el sulfato y bicarbonato.

Un segundo dispositivo se utiliza en la predicción de bisulfitos en muestras de vinos mediante voltametría de pulsos. El dispositivo se compone de cuatro electrodos de trabajo (oro, platino, acero inoxidable y rodio) encapsulados en un cilindro de acero inoxidable utilizado como electrodo de seudoreferencia/auxiliar. Se realiza además un diseño experimental que incluye el análisis no solo de bisulfitos sino también de ácido ascórbico e histamina. Se realizan experimentos de calibración del sistema y de validación de los modelos de predicción creados. Los resultados de la calibración muestran una capacidad predictiva muy buena hacia el bisulfito, y aceptable hacia el ácido ascórbico y la histamina. En la validación se detecta una disminución de la capacidad predictiva hacia todas las especies, causada por un efecto matriz.

La tercera Lengua Electrónica incluye la utilización simultánea de dos metodologías de medición: voltametría de pulsos y medidas de la impedancia, para la determinación del contenido salino en muestras de carne picada. La capacidad

predictiva de la lengua electrónica “híbrida” resulta buena para el análisis de cloruro y moderadas para nitrito y nitrato.

La segunda parte de esta tesis expone el diseño y caracterización de un dispositivo de capa gruesa de óxido de rutenio utilizado como sensor de pH, así como el planteamiento y verificación de modelos teóricos para el estudio de los procesos de interferencia. El dispositivo presenta una fuerte resistencia mecánica y química, así como una sensibilidad muy cercana al comportamiento nerstiano, y tiempos de respuesta bajos. Se encuentran interferencias debido a la presencia de aniones comunes en las muestras analizadas, causadas por la presencia de óxido de plomo en la pasta comercial de óxido de rutenio utilizada en la preparación del sensor.

Por último, se proponen modelos teóricos capaces de describir el comportamiento de la señal potenciométrica de algunos sensores sólidos y de estudiar procesos de interferencia en estos. La verificación de estos modelos se lleva a cabo en sistemas simples tipo M/MO/MX; así como en el sensor de capa gruesa de óxido de rutenio.

RESUM

En el present treball de tesi s'exposen els resultats obtesos en el diseny i la caracterització de dos tipus de sensors químics en estat sòlid; així com la seua aplicació en el reconeixement o determinació d'especies químiques d'interés.

En la primera part s'exposa el diseny i la caracterització de tres tipus de llengües electròniques. Un primer dispositiu es va preparar per a realitzar anàlisi qualitatives i quantitatives de dissolucions salines i aigües minerals, utilitzant com mètode de mesura la potenciometria. Aquest dispositiu es compon de cinc electrodes de treball metàl·lics (or, plata, platí, coure i zinc) encapsulats en un cilindre d'acer inoxidable. Es verifica la capacitat de diferenciació del dispositiu sobre mostres de diferent composició aniònica, como per exemple, dissolucions salines preparades al laboratori i aigües minerals comercials. Es va analitzar a més la capacitat de predir els nivells aniònics a les mostres, que resulta bona per a les determinacions de clorurs i moderades per al sulfat i bicarbonat.

Un segon dispositiu es va fer servir en la predicció de bisulfits en mostres de vins per mig de voltametria de polsos. El dispositiu es compon de quatre electrodes de treball (or, platí, acer inoxidable i rodi) encapsulats en un cilindre d'acer inoxidable utilitzat com electrode de pseudoreferència/auxiliar. Se realitza a més un diseny experimental que inclou l'anàlisi no sols de bisulfits sinò també d'àcid ascòrbic i histamina. S'han realitzat experiments de calibració del sistema i de validació dels models de predicció aplicats. Els resultats de la calibració mostraren una capacitat predictiva molt bona per al bisulfit, i acceptable per a l'àcid ascòrbic i la histamina. A la validació es va detectar una disminució de la capacitat predictiva per a totes les especies, a causa d'un efecte matriu.

La tercera llengua electrònica inclou la utilització simultània de dues metodologies de mesura: voltametria de polsos i mesures de la impedància, per a la determinació del contingut salí en mostres de carn picada. La capacitat predictiva de la llengua electrònica "híbrida" va resultar bona per a l'anàlisi de clorur i moderada per a nitrit i nitrat.

La segon part d'aquesta tesi exposa el diseny i caracterització d'un dispositiu de capa grossa d'òxid de ruteni utilitzat com a sensor de pH, així com el plantejament i verificació de models teòrics per a l'estudi dels processos d'interferència. El dispositiu va presentar bona resistència mecànica i química, així com una sensibilitat molt propera al comportament nerstià, i temps de resposta baixos. Es van trobar interferències per la presència d'anions comuns en les mostres analitzades, causades per la presència d'òxid de plom en la pasta comercial d'òxid de ruteni utilitzada en la preparació del sensor.

Per últim, es proposen models teòrics capaços de descriure el comportament de la senyal potenciomètrica d'alguns sensors sòlids i d'estudiar processos d'interferència en aquestos. La verificació dels models es va dur a terme en sistemes simples del tipus M/MO/MX; així com al sensor de capa grossa d'òxid de ruteni.

ABSTRACT

In the present thesis, the results obtained in the design and characterization of two different kinds of solid state sensors, as well as their application in the field of recognition and determination of chemical species are exposed.

The first part of the work is focused in the design and characterization of sensor arrays, namely electronic tongues (ET). A first ET based on potentiometry is prepared for the qualitative and quantitative analysis of both saline solutions and mineral waters. The potentiometric ET was composed by five metal-based sensors as working electrodes, namely gold, silver, platinum, copper and zinc; encapsulated into a stainless steel cylinder. The capabilities of the ET for recognition of samples based in the differences in the anionic content have been verified. The capabilities for predicting anionic levels have been verified as well, showing good results in prediction of chloride, as well as moderate results for both sulfate and bicarbonate.

A second ET based on voltammetry was evaluated in the prediction of bisulfites in wine samples. The ET was composed by four metal-based working electrodes (gold, platinum, stainless steel and rhodium) encapsulated in a stainless steel cylinder used as pseudoreference/counter electrode. Ascorbic acid and histamine were also included in the analysis of prediction. Hence, an experimental design was used for explaining the correlation and confounding between the three analytes. Calibration of the measurement system was performed as well as validation of created prediction models. The results of calibration showed good prediction of bisulfites, and acceptable for both ascorbic acid and histamine. In validation process, a decreasing in capabilities of prediction of all species was detected caused mainly due to a matrix effect.

The third ET consisted in the simultaneous use of two measurement methodologies namely pulse voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) for the determination of the saline content in minced meat. The capabilities of the "hybrid" ET resulted good in the analysis of chloride, meanwhile prediction of both nitrite and nitrate can be considered as moderate.

The second part of the thesis describes the design and characterization of a thick-film sensor made of ruthenium oxide used as pH sensor; and the statement/verification/validation of theoretical models for the study of interfering processes in solid state sensors as well. The thick-film sensor showed a strong resistance both chemical and mechanical, as well as a near nerstian sensibility. Interfering process have been found due to the presence of common anions in the samples. The interferences are caused due to reactions between interfering species and the lead oxides included in the composition of the ruthenium oxide resistive paste. Theoretical models able to describe both the behavior of potentiometric response and the interfering process of solid state sensors have been proposed and validated/verified. Validation/verification of models has been carried out for simple systems such as metal-based sensors $M/MO/MX$, and also in a complex system such as the thick-film sensor of ruthenium oxide.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| INTRODUCCION Y OBJETIVOS | 1 |
| CAPÍTULO I. LENGUAS ELECTRÓNICAS | 5 |
| I.i Introducción a la tecnología de las Lenguas Electrónicas | 6 |
| I.i.1 Sentidos humanos y sentidos artificiales. Analogías..... | 7 |
| I.i.11 Sentido del olfato..... | 7 |
| I.i.12 Sentido del gusto..... | 7 |
| I.i.2 Necesidad de las narices y lenguas electrónicas..... | 8 |
| I.i.3 Antecedentes..... | 10 |
| I.i.4 Lenguas Electrónicas: concepto, ventajas y principales aplicaciones..... | 14 |
| I.i.41 Ventajas de las lenguas electrónicas..... | 16 |
| I.i.42 Principales aplicaciones..... | 17 |
| I.i.5 Tipos de sensores usados en las lenguas electrónicas..... | 19 |
| I.i.51 Sensores potenciométricos..... | 20 |
| I.i.52 Sensores voltamétricos..... | 25 |
| I.i.53 Otros tipos de sensores electroquímicos..... | 28 |
| I.i.54 Sensores ópticos..... | 29 |
| I.i.6 Fusión de sensores: lenguas electrónicas híbridas. Dispositivos tipo EN/ET..... | 31 |
| I.i.7 Análisis de la respuesta de los sensores en las ET: Patrones de reco- nocimiento..... | 33 |
| I.i.71 Análisis de Componentes Principales (PCA)..... | 35 |
| I.i.711 Cálculo PCA..... | 36 |
| I.i.72 Regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS)..... | 40 |
| I.i.721 Modelo básico..... | 41 |
| I.i.722 Objeto de la regresión PLS: Predecir Y a partir de X..... | 42 |
| I.i.723 Proceso de cálculo de PLS..... | 43 |
| I.i.724 Gráficos PLS. Evaluación de los modelos de predicción PLS..... | 44 |
| I.1 Lengua electrónica potenciométrica para el reconocimiento y la predicción de aniones en disoluciones salinas y aguas minerales | 47 |
| I.1.1 Introducción..... | 47 |
| I.1.2 Experimental..... | 49 |
| I.1.21 Diseño y preparación de la lengua electrónica..... | 50 |
| I.1.22 Preparación de las muestras..... | 51 |
| I.1.23 Mediciones potenciométricas..... | 55 |
| I.1.24 Tratamiento de datos..... | 56 |
| I.1.3 Resultados..... | 58 |

| | |
|---|------------|
| I.1.31 Análisis cualitativo..... | 58 |
| I.1.32 Análisis cuantitativo. Predicción de las concentraciones aniónicas..... | 70 |
| I.2 Lengua electrónica voltamétrica para la predicción de bisulfitos en vinos..... | 80 |
| I.2.1 Introducción..... | 80 |
| I.2.2 Experimental..... | 86 |
| I.2.21 Lengua electrónica..... | 87 |
| I.2.22 Medidas HPLC..... | 88 |
| I.2.23 Preparación de las muestras..... | 90 |
| I.2.24 Medidas voltamétricas. Voltametría de pulsos..... | 93 |
| I.2.25 Tratamiento de datos..... | 95 |
| I.2.3 Resultados..... | 96 |
| I.2.31 Proceso de calibración..... | 96 |
| I.2.32 Proceso de validación..... | 108 |
| I.3 Lengua electrónica “híbrida” compuesta por sensores voltamétricos e impedométricos para la determinación del contenido de sales en carne picada..... | 113 |
| I.3.1 Introducción..... | 113 |
| I.3.11 Algunos trabajos anteriores sobre aplicaciones de dispositivos artificiales sobre muestras cárnicas..... | 120 |
| I.3.12 Espectroscopía de impedancia electroquímica..... | 125 |
| I.3.2 Experimental..... | 130 |
| I.3.21 Preparación de las muestras..... | 131 |
| I.3.22 Lengua electrónica voltamétrica. Mediciones por voltametría de pulsos..... | 132 |
| I.3.23 Medidas de impedancia. Sensor impedométrico..... | 134 |
| I.3.24 Tratamiento de datos..... | 135 |
| I.3.3 Resultados..... | 136 |
| I.3.31 Medidas voltamétricas en disolución..... | 136 |
| I.3.32 Medidas voltamétricas en carne picada..... | 139 |
| I.3.33 Medidas de impedancia..... | 145 |
| I.3.34 Lengua “híbrida”. Resultados en conjunto..... | 151 |
| I.4 Conclusiones del capítulo..... | 154 |
| I.5 Bibliografía consultada..... | 156 |
| CAPÍTULO II. DISEÑO Y CARACTERIZACIÓN DE UN SENSOR DE CAPA GRUESA DE ÓXIDO DE RUTENIO PARA MEDICIONES DE PH. ESTUDIO DE LOS PROCESOS DE INTERFERENCIA..... | 175 |
| II.1 Introducción..... | 176 |
| II.11 Una panorámica acerca de la tecnología de capa gruesa..... | 178 |
| II.12 Impresión serigráfica..... | 180 |

| | |
|--|------------|
| II.121 Pantallas..... | 181 |
| II.122 Rasquetas..... | 182 |
| II.123 Pastas y Sustratos..... | 184 |
| II.13 Los dispositivos thick-film como sensores..... | 191 |
| II.2 Experimental..... | 194 |
| II.21 Preparación del sensor..... | 194 |
| II.22 Estudio de la resistencia a la corrosión..... | 196 |
| II.23 Mediciones potenciométricas. Acondicionamiento y estudio de los parámetros del sensor..... | 196 |
| II.24 Estudio de los procesos de interferencia..... | 198 |
| II.3 Resultados..... | 199 |
| II.31 Acondicionamiento del sensor..... | 199 |
| II.32 Determinación de los parámetros del sensor..... | 202 |
| II.33 Estudio de los procesos de interferencia..... | 206 |
| II.34 Magnitud de los procesos de interferencia: Coeficiente de Selectividad K^{pot} | 216 |
| II.4 Conclusiones del capítulo..... | 217 |
| II.5 Bibliografía consultada..... | 219 |
| | |
| CAPÍTULO III. MODELOS TEORICOS PARA EL ESTUDIO DE LOS PROCESOS DE INTERFERENCIA EN ELECTRODOS DE ESTADO SÓLIDO..... | 225 |
| III.1 Introducción..... | 226 |
| III.11 Limitaciones de la Ecuación de Nikolski-Eisenman..... | 228 |
| III.2 La hipótesis al modelo: el cambio de actividad en especies sólidas..... | 229 |
| III.3 Otras expresiones equivalentes..... | 237 |
| III.4 Experimental..... | 240 |
| III.41 Verificación del modelo..... | 240 |
| III.42 Electrodo Ag/AgBr en presencia de Cl^- | 245 |
| III.43 Aplicación del modelo en el estudio de las interferencias en el sensor de capa gruesa de RuO_2 | 247 |
| III.5 Epílogo para el Capítulo III: Comparación de modelos teóricos..... | 254 |
| III.6 Conclusiones del capítulo..... | 257 |
| III.7 Bibliografía consultada..... | 258 |
| CONCLUSIONES GENERALES..... | 260 |

Capítulo I

Lenguas Electrónicas

**I.1 INTRODUCCIÓN A LA TECNOLOGÍA DE LAS LENGUAS
ELECTRONICAS**

Los organismos vivos podemos recibir información acerca de cambios en el medio ambiente que nos rodea a través de sentidos especializados para dicha función. Estos sentidos, además de percibir y analizar estos cambios, son capaces también de reaccionar según la necesidad de ello. Una clasificación neurofisiológica enumera en cinco el total de los sentidos presentes en seres humanos: la vista, el tacto, el oído, el gusto y el olfato. Los tres primeros sentidos de la clasificación son considerados físicos, pues estos se adaptan a percibir estímulos del tipo físico; mientras que los dos últimos son capaces de detectar cambios en la composición química del entorno, de ahí que se consideren sentidos químicos.

La comunidad científica se ha volcado recientemente en el intento de reproducir estos sentidos químicos de forma artificial. No obstante, la tarea de diseñar narices o lenguas artificiales resulta un tanto compleja, debido fundamentalmente a que el mecanismo natural de percepción química no está totalmente dilucidado aun [1]. No existe una relación directa entre la estructura de las moléculas y el estímulo que se percibe del contacto con ellas, esto es, moléculas con estructuras similares pueden causar distinta impresión (algunas partes de moléculas de hidrocarburos son dulces y otras no); y por el contrario, moléculas con grupos funcionales diferentes pueden percibirse de forma similar (partes de carbohidratos son dulces y el acetato de plomo también). Más aun, algunos efectos adicionales pueden presentarse, como sinergismo, antagonismo, enmascaramiento, entre otros efectos. En el caso del sentido del olfato, numerosos aromas básicos aun no han sido descubiertos, e incluso, algunos de ellos probablemente no existan.

I.i.1 Sentidos humanos y sentidos artificiales. Analogías.

I.i.11 Sentido del olfato

El sentido humano del olfato es capaz de reconocer y discriminar compuestos volátiles con una exactitud y selectividad considerablemente altas. Algunos olores son detectados en el orden de partes por trillón. Todo esto se hace posible gracias a que entre 10 y 100 millones de receptores de olfato se localizan en el epitelio nasal en un área de aproximadamente 5 cm².

A diferencia del sentido del gusto, el olor no puede ser fácilmente clasificado en sensaciones diferentes. Los humanos podemos distinguir alrededor de 10000 sustancias químicas con los receptores olfativos siendo estimulados estos mediante un limitado número de aromas primarios. Algunos investigadores han sugerido que este número varía entre 7 y 50. Recientemente, se ha propuesto que pueden existir unos 1000 genes olfativos los cuales son adjudicados solamente en la nariz. Los aromas son generalmente moléculas ligeras, de pequeño tamaño, polares, y con frecuencia hidrófobas [2].

I.i.12 Sentido del Gusto

Las papilas gustativas, de las cuales existen alrededor de 10000, las podemos localizar fundamentalmente en la lengua, algunas en el velo del paladar, otras en la parte interna de la mejilla, faringe y epiglotis de la laringe [3]. La sensación de sabor puede clasificarse en cinco categorías básicas: dulce, ácido, salado, amargo y *umami*.

Una papila gustativa contiene entre 50 y 100 células relacionadas con las cinco sensaciones de sabor. Cada una de estas células tiene receptores que se enlazan a las moléculas e iones contenidos en los alimentos que incorporamos a nuestro organismo y de este enlace resultan las distintas sensaciones de sabor. Cada una de estas sensaciones de sabor presenta un nivel de “umbral” distinto en la lengua, del cual la sensación de amargor tiene el nivel más bajo. Esto se puede considerar como una protección ya que muchas de las sustancias tóxicas o venenosas son

amargas [4]. Las sustancias acidas tienen un nivel de umbral intermedio mientras que las saladas y dulces presentan los valores de umbral mas altos.

I.i.2 Necesidad de Narices y Lenguas electrónicas.

Gardner y Bartlett [5] definieron las narices electrónicas como instrumentos compuestos por un grupo de sensores químicos de especificidad parcial y con un apropiado sistema de reconocimiento de patrones, los cuales son capaces de reconocer olores simples o complejos. Por el contrario, las lenguas electrónicas son sistemas multisensores para el análisis de líquidos, basados en “*arrays*” de sensores y patrones de reconocimiento [6].

El sistema del olfato humano puede detectar miles de compuestos distintos con un alto grado de especificidad, y de ahí que las investigaciones dirigidas al diseño de sistemas de narices artificiales han supuesto un avance significativo en los estudios de calidad de aromas en la industria alimenticia. Existe una estrecha relación entre las narices humanas y sus homologas electrónicas. Cada nariz consta de tres regiones principales. La nariz humana cuenta con un sistema de células receptoras de olores, el bulbo olfativo y el cerebro. Las partes equivalentes en los sistemas electrónicos son el conjunto de sensores químicos de olores, el procesador de datos (ordenador) y el sistema para el reconocimiento de los patrones.

Una lengua electrónica, sin embargo, podría ser imaginada como un análogo de ambos sistemas humanos (gusto y olfato), ya que puede ser usada en el reconocimiento de todo tipo de compuestos disueltos, incluidos compuestos volátiles provenientes de los aromas una vez disueltos [6]. Las lenguas electrónicas pueden ser utilizadas no solo para el reconocimiento o clasificación de especies, sino también para determinaciones cuantitativas de las concentraciones de estas.

La similitud entre lengua biológica y lengua electrónica se manifiesta en cada una de sus etapas. Así, en los sistemas de lengua electrónica la función del alimento lo

realizan muestras de carácter líquido, que al tener un contacto íntimo con los sensores actúan de forma similar a la relación de los alimentos con las papilas gustativas. Los sensores no suelen ser todos iguales sino que poseen normalmente diferentes tipos de sensibilidades, de la misma forma que hay diferentes papilas para diferentes gustos. Los sensores del sistema de lengua electrónica realizan medidas que adquieren forma de señal eléctrica, esta señal suele precisar un acondicionamiento antes de ser transmitida a un ordenador de forma semejante a los nervios sensitivos del gusto transmiten la señal nerviosa al cerebro. En el ordenador se realiza un análisis de los datos para reconocer patrones de medidas o realizar clasificaciones por analogía con análisis previos, que equivale al trabajo que realizan las neuronas del cerebro para procesar la información de la memoria y asociar el nuevo producto a un sabor conocido. Un esquema ilustrativo de la analogía del sistema gustativo humano y las lenguas electrónicas se presenta en la **Figura 1.**

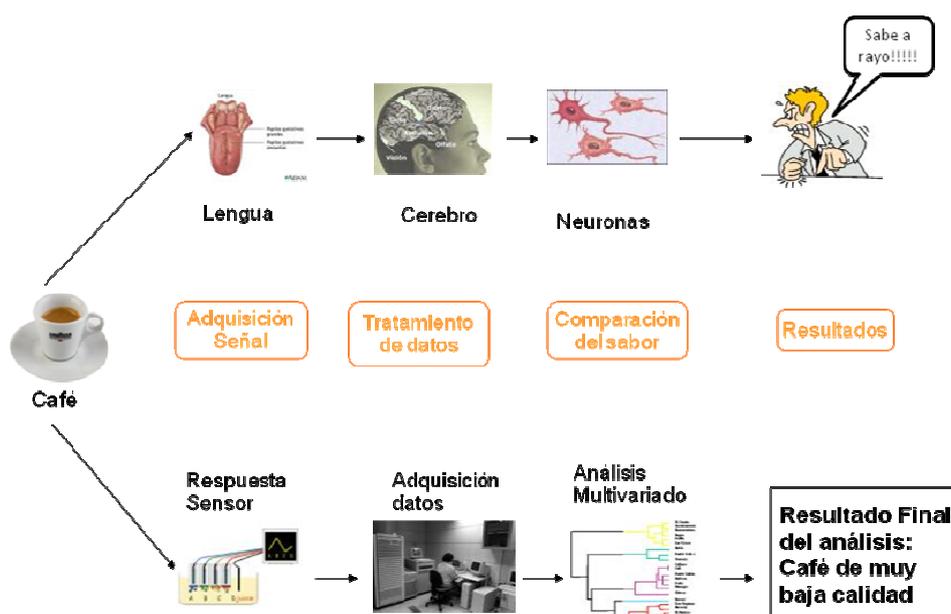


Figura 1. Analogía del sistema gustativo humano con las lenguas electrónicas.

I.i.3 Antecedentes

En los últimos 25 años se han publicado numerosos trabajos acerca del desarrollo de sentidos artificiales. El primer trabajo acerca del tema de la estimulación del sentido del olfato fue presentado por Persaud y Dodds en 1982 [7]. Aquí los autores mostraron los resultados del diseño de un conglomerado de sensores químicos usado para estimular los receptores y el uso simultáneo de métodos de reconocimiento para determinar los patrones de estimulación. Al momento de presentado, el dispositivo fue identificado como una versión electrónica del sentido del olfato. A raíz de ello, el término “nariz electrónica” se hizo popular a finales de la década de los ochenta, y desde entonces muchas estrategias han sido propuestas para el desarrollo de estos dispositivos.

En 1985, Otto y Thomas [8] desarrollaron el primer sistema para análisis en líquidos basado en el uso de un sistema con múltiples sensores. A partir de este año, se comienzan a diseñar y presentar numerosos dispositivos de este tipo, comúnmente llamados “lenguas electrónicas”. En la actualidad existe un gran número de sistemas tipo narices electrónicas disponibles en el mercado, sin embargo, el número de lenguas electrónicas comercialmente disponibles es bastante reducido [9, 10].

Al principio de ser presentadas las lenguas y narices electrónicas, se creó cierta confusión según la denominación, pues algunos métodos como los cromatográficos o los métodos de espectrometría de masas son denominados también como sistemas para el reconocimiento de sabor/olor. Esta confusión se eliminó con el paso del tiempo, quedando los nuevos sistemas desarrollados como únicos testadores de sabor/olor, ya que su diseño siempre estuvo enfocado en la neurofisiología de los sentidos humanos.

El nombre “lengua electrónica” es más popular en los trabajos publicados en Europa, mientras que en América se les conoce como “chips” de sabor y en las publicaciones asiáticas sensores de sabor o sistemas de sabor. Un dispositivo se denomina “sensor de sabor” cuando es usado en la clasificación de sensaciones básicas de sabor, y el resultado es comparado o comprobado mediante un panel de catadores. En el caso de las lenguas electrónicas, su principal aplicación también va dirigida a la clasificación de muestras de alimentos, aunque en este caso los resultados no tienen que ser necesariamente comparados por un panel especializado, sino que se comparan con otras propiedades de la muestra analizada.

A principios de la década de los noventa el diseño y presentación de estos nuevos sistemas tipo narices y lenguas electrónicas se hizo muy popular. Ambos sistemas tenían como punto en común el uso de “arrays” compuestos por un número significativo de sensores (mayormente sensores potenciométricos) para realizar análisis cualitativos de muestras, que incluyen discriminación y detección de especies químicas, identificación de aromas o sabores, separación de productos de mayor calidad de otros de calidad inferior, entre otros aspectos. Entre los grupos de investigación pioneros en el desarrollo de narices electrónicas destacó el Laboratorio de Investigación sobre Sensores, encabezado por el profesor Julian Gardner de la Escuela de Ingeniería de la Universidad de Warwick, en el Reino Unido. Científicos pertenecientes a dicho grupo publicaron numerosos trabajos en los cuales se usaban grupos sensores poliméricos como material sensor, esto para la discriminación de distintos aromas como por ejemplo alcohol, otras bebidas, tabaco y distintos tipos de café. También analizaron aspectos generales de los dispositivos diseñados y señalaron algunas de las limitaciones que surgen en el uso de ellos [11-13]. Otro de los grupos de investigación digno de ser considerado como pionero en el diseño tanto de narices como lenguas electrónicas es el Laboratorio de Física Aplicada de la Universidad de Linköping en Suecia. Sus primeras incursiones en el diseño de sentidos artificiales se centraron en el desarrollo de narices electrónicas. Analizaron la posibilidad del uso de sensores químicos de efecto de campo (CHEMFET) como sensores de gases formando parte de narices electrónicas.

Como aplicación directa, crearon un sistema compuesto no solo por sensores CHEMFET sino también por algunos sensores de gases del tipo “Taguchi” y un sensor infrarrojo de CO₂, y todo ello lo aplicaron en el análisis de la calidad del papel producido por empresas suecas [14, 15].

Desde que en 1992, Toko y colaboradores publicaran el que se considera el primer artículo sobre lenguas electrónicas [16] numerosos han sido los trabajos que se han presentado y que aun se siguen presentando. Las investigaciones sobre el diseño y aplicación de estos dispositivos se han intensificado en los últimos años. Esto queda plasmado en que entre los años 1996 y 2000 se habían presentado alrededor de 20 trabajos, y ya hasta el año 2006, esta cifra había aumentado hasta 80. Muchos de estos trabajos se centran en la industria alimenticia y la industria farmacéutica, que son considerados como los principales campos de aplicación. Otros trabajos centran su atención en el tipo de sensor utilizado.

De entre todos los grupos de investigación que se dedican al diseño de lenguas electrónicas, existen dos grupos que, al igual que los mencionados anteriormente como pioneros en el diseño de narices electrónicas, se pueden considerar como tal para el caso de las lenguas electrónicas. Uno de estos grupos es propiamente el ya mencionado Laboratorio de Física Aplicada de la Universidad de Linkoping, Suecia, que a raíz de sus investigaciones en sensores de gases, extrapolaron sus esfuerzos hacia el análisis en disoluciones, diseñando un número considerable de lenguas electrónicas, las cuales se componen en su mayoría por sensores del tipo voltamétricos [17-19], y extendiendo su campo de aplicación no solo hacia la industria alimenticia, sino también a sectores de la industria básica [20], la industria automovilística, la protección ambiental [21], entre otros.

Otro de los grupos de investigación que goza de cierta jerarquía dada su experiencia en el diseño de lenguas electrónicas es el que dirige el Profesor Andrey Legin del Departamento de Química de la Universidad de San Petersburgo, Rusia. Los primeros trabajos de este grupo se enfocaron en el uso de lenguas electrónicas compuestas por sensores potenciométricos (metálicos, poliméricos) para evaluar la

calidad de distintos tipos de bebida (té, café, cerveza, zumos); así como para analizar las capacidades de estos dispositivos en seguimientos de los procesos de envejecimiento de algunos alimentos [22-24]. Cabe mencionar además otros grupos de investigación como el Departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad *Tor Vergata* de Roma, el Grupo de Sensores y Biosensores de la Universidad Autónoma de Barcelona y el grupo perteneciente a la Universidad de Valladolid, quienes han realizado aportes importantes en las investigaciones sobre el diseño de narices y lenguas electrónicas.

I.i.4 Lenguas electrónicas: Concepto, ventajas y principales aplicaciones.

Una lengua electrónica es un instrumento analítico que reproduce de forma artificial la sensación de sabor. Se compone de un conjunto de sensores químicos de baja selectividad y de especificidad parcial sobre los diferentes componentes de una disolución. Dicha selectividad parcial unida al hecho de que los resultados generados de las mediciones son tratados con herramientas estadísticas hacen estos sistemas de sensores ideales para ser utilizados en muestras de naturaleza química compleja, entiéndase muestras con alto contenido de especies químicas en su composición. Cada sensor del conjunto mide una propiedad (o especie) determinada de la muestra. La respuesta del conjunto de sensores ofrece una huella característica de cada propiedad/especie en la muestra. La suma de todas las huellas ofrece el patrón de reconocimiento. Este concepto queda ilustrado en la **Figura 2**.

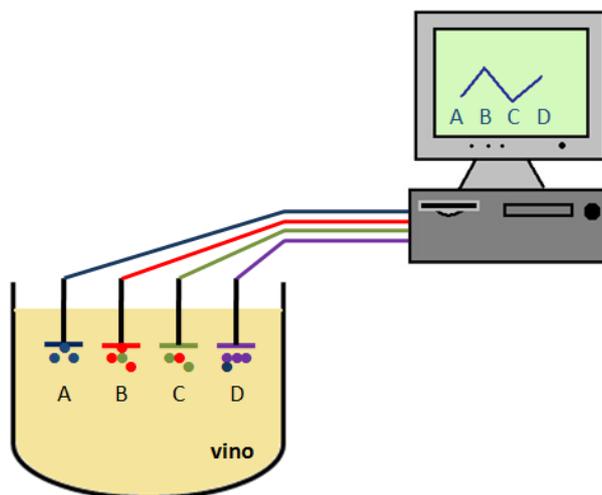


Figura 2. Esquema de una lengua electrónica.

El diseño y construcción de lenguas electrónicas requiere de la fusión de varias ramas de la ciencia, como son la tecnología de los sensores, metodología de los patrones de reconocimiento, inteligencia artificial y herramientas quimiométricas. En este sentido se debe destacar que todas las descripciones o conceptos dados de las lenguas electrónicas puntualizan el hecho de que son sistemas formados por grupos o aglomeraciones de sensores, pero ya sea por ofrecer una imagen más ilustrativa, o simplemente por considerarlo un aspecto obvio, se omite incluir los sistemas de reconocimiento de patrones en los conceptos. Dicho esto, y tomando como referencia el término biológico de la simbiosis, se puede concluir que las lenguas electrónicas, al igual que ocurre en el sistema gustativo humano, son la simbiosis de dos acciones específicas realizadas por distintos actores: la obtención de la información o características de una muestra mediante papilas gustativas/sistema de sensores electroquímicos; y la interpretación de dicha información en nuestro cerebro con la ayuda de las neuronas, o en un ordenador mediante el Análisis Estadístico Multivariado.

I.i.41 Ventajas de las Lenguas Electrónicas

Las ventajas fundamentales que ofrecen las lenguas electrónicas es que son sistemas de sensores simples y robustos los cuales no necesitan procesos especiales de conservación, limpieza ni almacenamiento. Generalmente, los costes de diseño de estos dispositivos son muy bajos. Además de estos, la ventaja fundamental del uso de estos dispositivos es que, en comparación con el sentido del gusto humano, estos no son subjetivos, u adaptativos, no se fatigan ni se infectan, lo cual es muy común en, por ejemplo, grupos de panelistas o catadores de sabor. Además, pueden utilizarse en el análisis de sustancias no digeribles y tóxicas. En la **Tabla 1** se muestra una comparación en la que se pueden verificar algunas ventajas de las lenguas electrónicas sobre las técnicas de análisis químico tradicionales, que incluyen el análisis químico elemental y el análisis mediante equipamiento de alta generación (Cromatografía Gaseosa, HPLC, etc.); así como con paneles o grupos de expertos.

Tabla 1. Ventajas del uso de las lenguas electrónicas sobre los sistemas analíticos de medición.

| | Lenguas Elect. | Anal. Químico. Elemental | Anal. Químico Eq. Alta generación | Paneles de Catadores |
|--|-----------------------|---------------------------------|--|-----------------------------|
| Simpleza, Robustez | si | no | no | si |
| Gastos de diseño o adquisición | bajos | medios | altos | altos |
| Consumo de tiempo de mediciones | bajo | alto | alto | medio |
| Necesidad de personal altamente calificado | no | no | si | si |
| Contaminación/destrucción de la muestra | no | si | si | si |
| Generación de residuos | baja | alta | baja | alta |
| Posibilidad de | si | si | no | no |

| | | | | |
|---|----|----|----|----|
| medición <i>in situ</i> | | | | |
| Posibilidad de incorporación del sistema de medición en líneas de producción (Ind. Alimenticia) | si | no | no | no |

I.i.42 Principales Aplicaciones

Un listado de los campos principales de aplicación de las lenguas electrónicas se muestra a continuación:

- **Industria Alimenticia**

Controles de calidad durante la producción y el almacenamiento (aguas minerales, vinos, zumos, café, leches, etc.)

Optimización de bioreactores

Control de los procesos de envejecimiento (quesos, vinos)

Control automático del sabor

- **Medicina**

Diagnósticos no invasivos (orina, sudor, saliva, etc.)

Monitoreo clínico *in vivo*

Sabor de los productos farmacéuticos (enmascaramiento de la amargura, etc.)

- **Seguridad**

Detección de armas químicas y biológicas

Detección de drogas y explosivos

- ***Vigilancia ambiental***

Monitoreo de la contaminación industrial y agricultura

Identificación de sustancias toxicas

Detección de fugas peligrosas

- ***Industria Química***

Pureza de productos

Detección de grupos funcionales

A continuación se presenta una relación de análisis realizados sobre muestras específicas mediante el uso de lenguas electrónicas.

Tabla 2. Muestras investigadas mediante lenguas electrónicas.

| Muestras |
|--|
| Sustancias Básicas <ul style="list-style-type: none">• Sabor de sustancias básicas [25-29]• Surfactantes [30-32]• Aminoácidos [33-35] |
| Alimentos <ul style="list-style-type: none">• Zumo de frutas y bebidas [23, 33, 36-39]• Leche [33, 40-42]• Agua mineral [24, 33, 43-46]• Bebidas alcohólicas [22, 33, 47-52]• Café [22, 23, 33]• Tomates [19, 53]• Té e infusiones [33, 54-56]• Carne [57, 58] |

- Manzanas [59]
- Aceite de olivas [60-63]
- Arroz [64, 65]
- Pepinillos encurtidos [66]
- Soja [33, 67]

Diagnóstico médico [68-70]

- Orina [71, 72]

Medio ambiente acuático

(Metales pesados, contenido iónico, dureza, plantas de tratamiento de aguas, lavadoras) [73-79]

- Fertilizantes [80, 81]
- Pesticidas [82]

Muestras biológicas. Fermentación.

(Mohos, levaduras, bacterias) [83-87]

I.i.5 Tipos de sensores usados en las lenguas electrónicas

Una amplia variedad de sensores químicos pueden ser empleados en el diseño de lenguas electrónicas. Entre los más utilizados se encuentran los sensores electroquímicos (potenciométricos, voltamétricos), los sensores ópticos y los sensores enzimáticos (o biosensores). Entre todo este grupo, los más utilizados hasta el momento son los sensores potenciométricos, y más específicamente, los electrodos selectivos a iones (ISE).

I.i.51 Sensores potenciométricos

El principio operacional de los ISE se basa en el cambio su potencial contra un electrodo de referencia cuando no circula corriente por el sistema (condiciones de

corriente 0). El potencial del ISE es una función de la actividad de las especies iónicas en la disolución, y surge cuando ocurre transferencia de carga a través de la membrana del electrodo, y de ese modo se logra el reconocimiento del analito. Los principales inconvenientes de las medidas potenciométricas son la dependencia con la temperatura, la influencia de cambios en la disolución y la adsorción de componentes de la disolución que afectan los procesos de transferencia de carga. Estos efectos negativos normalmente se minimizan mediante rigurosos controles de la temperatura mientras se efectúa la medición y mediante el uso de disolventes para lavar los electrodos que limiten la adsorción de especies. De todas formas, las muchas ventajas que ofrecen los ISE como son su bajo costo, fácil fabricación, principio operacional bien conocido, posibilidad de obtener sensores selectivos a muchas especies, y además, su cierta similitud al mecanismo natural de reconocimiento molecular, los convierten en los sensores más populares en el desarrollo y diseño de lenguas electrónicas.

La primera lengua electrónica disponible comercialmente en el mercado estaba compuesta por sensores potenciométricos y fue presentada por Toko y colaboradores [33, 88, 89]. El dispositivo estaba constituido por electrodos de membrana de PVC modificadas con derivados lipídicos, a modo de lograr cierta semejanza entre la capa lipídica de las paredes celulares de las papilas gustativas. Las medidas realizadas con el dispositivo fueron procesadas mediante métodos numéricos de análisis y los resultados se visualizaron en gráficos. Aquí, algunas muestras que presentaban características similares (sabor) se agrupaban cercanas, mientras que otras distintas aparecían ubicadas en áreas distintas del gráfico. De este modo se hizo posible la clasificación de muestras de composición compleja como por ejemplo aguas minerales, cervezas, café, té, sake, pastas de soja, etcétera. El sistema presentado fue capaz de diferenciar además algunos aminoácidos con diferente sabor dulce (glicina, treonina, alanina).

La tarea de este dispositivo en sí fue correlacionar las sensaciones de sabor u otra propiedad con la respuesta de los sensores en varios tipos de alimentos como cerveza (contenido alcohólico, pH), sake (modo de preparación, acidez), leche

(contenido proteico, índice de nitrógeno), café (acidez, amargor), pasta de soja (grado de fermentación) [33]. Se observó que la respuesta de algunas membranas poliméricas aumentaba linealmente con el paso de los días en la fermentación de la pasta de soja, además de que se detectaran patrones de reconocimiento distintos para distintos tipos de brotes (mugi-miso, awase-miso, kome-miso). Incluso el seguimiento del proceso de envejecimiento de las pastas fue realizado de forma satisfactoria.

La que se considera como la segunda versión de una lengua electrónica fue diseñada y presentada por Legin y colaboradores. Este aparato consistía en un conjunto de electrodos selectivos en estado sólido desarrollados a base de vidrio calcógeno [22, 23]. Su uso hizo posible el reconocimiento de numerosos tipos de alimentos como por ejemplo aguas minerales, té, cerveza, café, carne [57] entre otros. Permitió además la realización de análisis detallados en muestras de vino, como el reconocimiento del origen y añada aproximada del producto, todos estos datos con un error absoluto entre el 5 y el 10% [49]. Aplicaciones posteriores de dispositivos de este tipo permitieron la identificación de bebidas y licores como vodka, etanol y *eau de vie* en la producción de coñac [22, 23], el análisis de la contaminación de las aguas por algunos metales con Cu, Cd, Fe, Cr y Zn [74]; y además el seguimiento de los procesos de deterioro de peces de agua dulce y de mar [57].

A pesar de que la eficacia de los electrodos de vidrio calcógeno quedó comprobada, estos fueron parcialmente modificados, acoplándolos junto a electrodos de membrana de PVC [74]. Con estos sensores modificados se logró una mayor selectividad a la hora de discriminar sabores básicos, por ejemplo el reconocimiento de sustancias químicas y sabor de aditivos en productos de la industria farmacéutica [90]. El sistema modificado se aplicó también en el seguimiento de la fermentación de la *Escherichia coli*, en el cual se pudo determinar el contenido de ácidos orgánicos (fundamentalmente ácido acético), y además la correlación existente entre los cambios en la composición química

(amonio y ácidos orgánicos) y el incremento de la biomasa durante la fermentación [83].

Algunos receptores enzimáticos también pueden ser utilizados en la preparación de las membranas selectivas. Estos receptores (como por ejemplo las porfirinas) son anclados dentro de matrices poliméricas de PVC, poliuretanos, etcétera. Algunas lenguas electrónicas compuestas con electrodos potenciométricos derivados de porfirinas han sido aplicadas para la determinación del contenido alcohólico en vinos, cerveza, *grappa* y *whisky* [91]. Otros microsistemas de este tipo utilizaban como receptores anclados en bases poliméricas biosensores de glucosa. Estos sistemas permitieron el reconocimiento de refrescos y cervezas [24]; así como el análisis de café, té negro y té verde coreano, que incluía la determinación de niveles de algunas sustancias como cafeína, azúcares, etcétera [55].

Algunos elementos metálicos han sido y continúan siendo utilizados como electrodos potenciométricos dada su facilidad para interactuar con especies químicas en cualquier medio que les rodea, alterando significativa y espontáneamente su potencial. Entre las aplicaciones que ha generado el uso de electrodos metálicos (o también electrodos derivados tipo metal-metal sal/óxido: M/MX o M/MO) se pueden mencionar las medidas de pH, el uso como electrodos de referencia y las determinaciones iónicas. En las dos primeras aplicaciones, los electrodos metálicos han tenido gran éxito, incluso en la actualidad se sigue considerando al electrodo de Ag/AgCl como el electrodo de referencia por excelencia. No obstante, el papel de electrodos como sensores de iones se ha visto afectado muy frecuentemente debido a la facilidad de reacción, y más aun, a la capacidad de formar compuestos insolubles con otras especies (interferencias) distintas al analito que se mide. De cierta forma, esta respuesta inespecífica de los electrodos metálicos se miraba con malos ojos en tiempos pasados, pero en la actualidad, y sobre todo en el campo del diseño de lenguas y narices electrónicas, la capacidad de responder de forma distinta sobre los componentes de una muestra, unido a su simpleza, robustez y bajo costo, confiere a los electrodos metálicos un papel importante en el diseño de estos dispositivos.

Desde que nuestro grupo de investigación tuvo la idea de comenzar a diseñar dispositivos del tipo lenguas electrónicas, numerosos han sido los trabajos presentados en los cuales, las prestaciones de los electrodos metálicos en conjunción con otros tipos de sensores como los electrodos de capa gruesa se vienen explotando en el análisis cualitativo y cuantitativo de especies químicas en muestras de alimentos, aguas, medioambientales, entre otras. Así, a raíz del estudio de la viabilidad de uso de las pastas comerciales en la preparación de sensores de capa gruesa, y del éxito obtenido en el diseño de sensores de óxido de rutenio para mediciones de pH, se piensa en la utilización simultánea de sensores de capa gruesa y electrodos metálicos como componentes de lenguas y narices electrónicas.

El primer dispositivo estuvo constituido por doce electrodos potenciométricos y fue utilizado en la discriminación de aguas minerales debido a la selectividad parcial de los electrodos sobre los componentes iónicos de las muestras [46]. El “array” se componía de sensores de capa gruesa de RuO₂, C, Ag, Ni, Cu, Au, Al y Pt; y de barritas o alambres metálicos de Sn, Pb, Pt y C (grafito). En el diseño de los sensores de capa gruesa se utilizaron siempre pastas resistivas disponibles en el mercado, con lo cual el gasto de diseño se reducía considerablemente. En una segunda aproximación, se analizaron los resultados del experimento de discriminación de las aguas y se redujo el número de sensores a siete. Aquí se profundizó en la interacción de las especies iónicas con los sensores (más específicamente con los electrodos metálicos) mediante análisis en disoluciones salinas menos complejas que las aguas minerales, y además se comienza a utilizar herramientas estadísticas del tipo Artmap/Fuzzy Artmap para la realización de determinaciones semicuantitativas [92].

Con el objetivo de extender el campo de aplicaciones al análisis de muestras de alimentos, se creó primeramente un dispositivo mixto del tipo nariz/lengua electrónica, formado lógicamente por sensores potenciométricos. Este dispositivo se empleó para el seguimiento del deterioro de muestras de vino. La nariz y lengua electrónica eran dispositivos independientes. En el caso de la lengua, esta se componía solamente de sensores de capa gruesa de Ag, Au, Cu, Ru, AgCl y C. El

diseño de la nariz electrónica estuvo basado en el sistema del olfato humano, con lo que se intentó crear una nariz “húmeda” formada por electrodos metálicos (Al, C, Pt) y de vidrio, cubiertos todos por unas capuchas de nylon las cuales se mantenían constantemente empapadas en agua para facilitar la conductividad de los analitos [93].

Otra lengua electrónica diseñada y presentada por nuestro grupo, en la cual se utilizaban electrodos potenciométricos metálicos, fue utilizada para el estudio de la frescura de pescados de agua de mar (doradas) [94]. Aquí se identificaban patrones de reconocimiento relacionados con el deterioro de la carne del pescado a raíz de derivas en las curvas de potencial de los electrodos. Así, los potenciales de Au, Ag y C se mantenían constantes durante 4 días, y a partir del quinto día se observaba una caída del potencial. Otro tanto ocurría con el Ni, que experimentaba una brusca disminución del potencial a partir del cuarto día hasta el noveno. Lo contrario ocurría con el electrodo de cobre, que experimentaba una subida de potencial.

I.i.52 Sensores voltamétricos

En contraste con los métodos potenciométricos, las medidas voltamétricas se efectúan cuando en el sistema, el estado de equilibrio no se ha alcanzado aun, y por ende, la señal obtenida es una relación corriente-potencial (I/V). El sistema más simple de voltametría emplea tres electrodos: referencia, trabajo y auxiliar. Aquí se asume el potencial de electrodo de referencia como constante por lo que el flujo de corriente ocurre entre el electrodo de trabajo y el auxiliar. La reacción de electrólisis ocurre entonces en el electrodo de trabajo y este proceso es el responsable de la generación de corriente. Así, la corriente generada es una función de la velocidad o grado de electrólisis, la cual es gobernada por el transporte de especies electroactivas de la muestra (por ejemplo: coeficiente de difusión, concentración de las especies).

Los sensores voltamétricos son dispositivos que ofrecen ventajas importantes para el análisis multicomponente como son su alta selectividad y sensibilidad, alta relación señal-ruido, bajo límite de detección y además que con ellos se pueden utilizar varios modos de medición (onda cuadrada, cíclica, pulsos, etc.).

El primer tipo de lengua electrónica voltamétrica fue desarrollado por Winkvist y colaboradores, y se constituía de un conjunto de electrodos de trabajo de varios metales (Cu, Ni, Pd, Ag, Sn, Ti, Zr, Au, Pt), un electrodo de referencia y un electrodo auxiliar. Dependiendo de la aplicación, el conjunto total de electrodos de trabajo se dividía en subconjuntos. Los datos obtenidos de las medidas voltamétricas en sustancias simples pueden ser fácilmente interpretados, pero para el caso de mezclas complejas la señal se superpone con frecuencia y esto deriva en una relación I/E menos clara o explicativa, dependiendo del tipo de electrodo. Sin embargo, esta relación aunque compleja, sigue siendo una imagen única o específica de cada muestra. Considerando este rasgo se hace posible entonces el reconocimiento de varios tipos de zumos de frutas (naranja, kiwi, manzana, melocotón) y además diferenciar entre zumos naturales y aquellos preparados a base de concentrados [17].

La utilización de este dispositivo en plantas de tratamiento de aguas ofreció resultados satisfactorios en los procesos de depuración de las aguas [21], y además fue de gran ayuda a la hora de optimizar los parámetros de funcionamiento en lavadoras (discriminó entre diferentes enjuagues en lavadoras de uso familiar, [76]). Sus aplicaciones en el sector alimenticio fueron numerosas. Ejemplo de ello mencionamos el seguimiento del envejecimiento de zumos y leche [17] y la evaluación de los procesos de limpieza en plantas de producción lechera [42]. Además ofreció una discriminación entre distintos tipos de té con un alto grado de fiabilidad [52]; y entre tomates de origen español y alemán [19]. En el campo de los estudios microbiológicos, la lengua electrónica voltamétrica se utilizó para predecir de forma cuantitativa el crecimiento bacteriano en pulpas y leche [95]. Relacionado con esto se realizó además un análisis más detallado en muestras biológicas en cuanto a la diferenciación entre varias especies (bacterias, mohos,

levaduras) [87]. Investigaciones realizadas sobre procesos de fermentación incluían el seguimiento del crecimiento del moho *Aspergillus oryzae*, lo cual condujo al análisis de la correlación de la respuesta de los sensores con el contenido de ergosterol en biomasa y los cambios de pH del medio [86]. Por último mencionar que la lengua electrónica presentada por Winqvist y col. se aplicó también en el análisis de las aguas residuales en plantas de producción de papel en Suecia [20].

La superficie de los electrodos usados en la preparación de lenguas electrónicas voltamétricas puede ser modificada con varios materiales quimioselectivos, como ocurría con los sensores potenciométricos. El desarrollo de dichos sensores (electrodos metálicos o de pasta de carbón cubiertos con capas selectivas) ofrece algunas ventajas pues estos generan una información o señales un tanto diferentes a la de los electrodos metálicos, lo cual ayuda a mejorar la selectividad o detección de sustancias que generan señales débiles.

Un “array” de sensores voltamétricos modificados diseñado por investigadores del grupo de sensores y Biosensores de la Universidad Autónoma de Barcelona se aplicó para el análisis de disoluciones que contenían sustancias de sabor ácido como cloruro de magnesio, quinina y compuestos fenólicos. Las señales de los sensores fueron posteriormente correlacionadas con las concentraciones reales de dichos compuestos [27, 96]. Otro dispositivo compuesto por pasta de carbón-ftalocianina y otros electrodos cubiertos con capas de polipirrol dopado con varios agentes fue empleado en el reconocimiento de sabores básicos y adulterantes en muestras de vinos [97]. Varias sustancias, cuya presencia afecta considerablemente el sabor del vino fueron determinadas, como por ejemplo alcohol, ácido tartárico, SO₂, ácido acético, sacarosa y etanal. Incluso se analizó el origen y variedad de la uva utilizada en la elaboración, así como la edad aproximada del producto elaborado [50].

Otra modificación realizada a los sensores voltamétricos supuso la aplicación de capas enzimáticas, con lo cual se hizo posible la determinación de analitos como la glucosa. La introducción de reacciones enzimáticas incrementa la selectividad del

reconocimiento molecular, incluso en mayor escala que para el caso de los electrodos químicamente modificados. Aquí, un sistema compuesto por electrodos de enzimas de glucosa oxidasa fue aplicado en la determinación de glucosa en zumos de frutas, esto en presencia de ácido ascórbico como sustancia interferente [38]. Dispositivos similares se usaron para la determinación de aminoácidos en muestras de pienso para animales [35], así como para la determinación simultánea de tres compuestos fenólicos [98].

I.i.53 Otros tipos de sensores electroquímicos

Un nuevo sistema de inyección de flujo basado en el uso de sensores amperométricos fue presentado por Burratti y colaboradores [51]. El análisis de las señales de los electrodos de trabajo permitió el reconocimiento del origen de vinos Barbera italianos y la estimación de la astringencia en muestras de té. Otro sistema similar pero compuesto por electrodos amperométricos enzimáticos se aplicó en el reconocimiento del amargor y acidez en muestras de aceite de oliva virgen [99].

En el año 2003, Riul y colaboradores presentaron un nuevo tipo de lengua electrónica: la lengua electrónica impedométrica [100, 101]. Este dispositivo consistía en un electrodo de barra interdigitalizada cubierta con varios materiales quimiosensibles (polianilina, polipirrol, lípidos, etc.) depositados mediante la técnica de capas o películas Langmuir-Blodgett [82, 102]. Los datos obtenidos del uso de estos nuevos tipos de sensores permitieron discriminar entre varios sabores básicos. Posteriormente, electrodos interdigitalizados de oro cubiertos con films Langmuir-Blodgett de derivados de perileno se aplicaron en la determinación de pesticidas [83]; mientras que otros sensores cubiertos con quitosan y poliestirenos sulfonados fueron utilizados en el reconocimiento de origen y edades aproximadas de muestras de vino [103].

I.i.54 Sensores ópticos

Los sensores ópticos cuentan de tres partes fundamentales: una fuente de luz, un optrodo y un detector. La fuente luminosa se ajusta a la longitud de onda específica para así obtener el mejor grado de sensibilidad de los electrodos. El optrodo se identifica como una capa o fase quimiosensible, por ejemplo, membranas poliméricas que contienen indicadores moleculares apropiados. Aquí, el hecho de que el indicador cambie sus propiedades ópticas cuando interactúa con un analito de interés ejercerá su influencia sobre la absorbancia o la intensidad de la fluorescencia de la membrana. El cambio se registra mediante un detector (normalmente un fotodiodo) cuya función es convertir la señal óptica en una señal eléctrica.

Existe un número considerable de indicadores usados como sensores ópticos, y por ende, muchos han sido los analitos detectados mediante esta tecnología. Más aun, algunas especies difíciles de detectar electroquímicamente (especies no cargadas o no electroactivas) pueden ser analizadas mediante sensores ópticos. Además, se cuenta con muchos posibles modos de medición u operación de los sensores ópticos, adquisición de la intensidad de fluorescencia, absorbancia, señales del tiempo de vida, reflectancia, entre otros. Sin embargo, algunas limitaciones se presentan como la propia preparación de los sensores, durabilidad e interferencia de la señal.

Las lenguas electrónicas compuestas de sensores ópticos, se basan en microesferas poliméricas con superficies químicamente modificadas, las cuales permiten la formación de enlaces covalentes con varios receptores. Las microesferas se depositan en microcanales dentro de estructuras de silicio, donde posteriormente se inyecta la muestra. De este modo se forma una estructura “biónica” de papila gustativa y entonces el dispositivo se denomina “chip” de sabor [68, 104]. Las microesferas modificadas con varios receptores se organizan en el “array” de sensores cuya señal es almacenada mediante un dispositivo de cargas interconectadas (cámara CCD). El cambio de color o fluorescencia de las

microesferas a causa de la interacción con el analito ofrece la huella característica de la muestra, la cual se identifica posteriormente con el patrón de reconocimiento adecuado. Gracias a la amplia variedad de compuestos que pueden ser usados para modificar la superficie de las microesferas (por ejemplo: indicadores colorimétricos, enzimas, anticuerpos, etc.) un número considerable de sustancias pueden ser analizadas: iones metálicos calcio, magnesio, cinc, níquel, plomo, bario, algunos fosfatos nucleótidos como ATP, AMP, GTP, azúcares, proteínas, citocinas, oligómeros, y muchos más [68, 70, 95].

El movimiento de la muestra líquida a través de los multicanales del “array” óptico se efectúa mediante fuerzas capilares, por lo que en estos experimentos no se hace necesario el uso de bombas peristálticas. De este modo fue creado el sistema de micro-análisis-total (μ -TAS) dedicado a las determinaciones de pH, calcio, cinc, níquel, plomo y azúcares. El sistema puede ser aplicado también al análisis biomédico (estimación del riesgo cardíaco, diagnósticos de VIH, ictericia, etc.) [70]. Como aplicaciones futuras para este dispositivo se trabaja para la realización de varios diagnósticos médicos como determinaciones de agentes virales, “chips” bacteriológicos, etcétera [69].

Otra idea de utilización de microesferas fue reportada por Walt y colaboradores [106, 107]. La idea abarcaba el uso de una lengua electrónica formada por varias fibras ópticas, sobre las cuales las microesferas eran depositadas (en cavidades grabadas). Estos sistemas fueron capaces de realizar medidas de alta resolución en análisis de pH, calcio y también fueron aplicados en exámenes biomédicos [106].

Por último, Edelman y Lendl propusieron un dispositivo basado en espectroscopía FTIR [108]. Este dispositivo fue utilizado para estimar la astringencia (relacionada con la concentración de fenoles y taninos) en muestras de vino.

I.i.6 Fusión de sensores: Lenguas electrónicas “híbridas”. Dispositivos tipo Lenguas/Narices electrónicas

La fusión de varias técnicas de medición fue propuesta recientemente con el objetivo de mejorar la capacidad de reconocimiento de las lenguas electrónicas. Una de estas fusiones representaría un conjunto formado por sensores potenciométricos, amperométricos y conductimétricos aplicados en la clasificación de varios productos lácteos (leche, kéfir, yogurt) [18]. Para una aplicación similar se utilizó un sistema clásico de sensores voltamétricos unidos a sensores potenciométricos. El dispositivo diferenció entre muestras de leche fermentadas con microorganismos distintos. Investigadores del IQMA presentaron recientemente un sistema compuesto por dos lenguas electrónicas capaces de detectar niveles de simuladores de gases de guerra química en muestras reales de agua (grifo, río, embalse). El dispositivo “híbrido” se componía de una lengua voltamétrica (cuatro sensores metálicos) y una lengua potenciométrica compuesta por sensores del tipo M/MX/MO [109]. En otro estudio similar, Soderstrom y colaboradores [84] analizaron los datos obtenidos de un sistema de dos lenguas electrónicas potenciométrica y voltamétrica usado en la discriminación de contaminantes tipo mohos y levaduras en alimentos. Aquí también fue estudiada la capacidad de diferenciación de distintos estados de crecimiento de cultivos de estos organismos, aunque en este sentido, los mejores resultados se lograron con la lengua electrónica voltamétrica.

Di Natale y colaboradores presentaron la fusión de una lengua y una nariz electrónica, donde se combinaron sensores para líquidos con sensores de gases [110, 111]. El análisis de vinos con este dispositivo “híbrido” permitió la determinación del origen del vino y algunas de sus características, como el contenido de ácidos tartárico, málico y ácidos lácteos; así como el contenido alcohólico y de azúcares, extractos, polifenoles, pH, acidez y densidad. El dispositivo presentado se aplicó además al diagnóstico médico. Medidas en muestras de orina permitieron la determinación de pH, peso específico y contenido celular en sangre.

Los resultados anteriores demuestran que el uso por separado de narices y lenguas electrónicas ofrecen solamente una información parcial en lo concerniente a una

muestra dada, mientras que la fusión de ambos dispositivos en una especie de “híbrido” mejora considerablemente las capacidades de funcionamiento del sistema. Resultados similares se obtienen en el uso simultáneo de sensores de distinto tipo. En este sentido, medidas espectrofotométricas también pueden ser adicionadas al sistema, lo cual conllevaría a una predicción correcta de parámetros sensoriales. En algunos casos, incluso las propiedades visuales pueden ser investigadas y consideradas con la incorporación de sensores ópticos a los sistemas híbridos. En este sentido, la fusión de datos obtenidos de sensores de gases, sensores líquidos electroquímicos y sistemas ópticos de medición permitieron una buena caracterización de muestras de vino, relativa a su origen y estado de envejecimiento [112].

Sin embargo, la simulación más real a los sentidos naturales requiere a veces la unión de incluso un número mayor de tecnologías de reconocimiento. De acuerdo a la fórmula presentada por Aishima y Nakai [113], el estímulo del gusto se puede expresar de la siguiente forma:

Estímulo de sabor = olor + sabor + textura + color + sonido + temperatura

Por lo tanto, una caracterización completa de una muestra no solo requiere la caracterización química, sino también del análisis y medidas de algunos parámetros físicos. Recientemente se presentó en la Conferencia sobre Robótica llevada a cabo en el año 2002, un robot equipado con un sistema detector de sabor. El sistema detector se basaba no solo en un conjunto de sensores químicos sino también en algunos sensores conductimétricos y de temperatura [114].

I.i.7 Análisis de la respuesta de los sensores en las lenguas electrónicas: Patrones de Reconocimiento

La percepción del estímulo llevada a cabo por los receptores requiere de una adecuada transmisión así como de un adecuado procesamiento por parte del

sistema nervioso. En el caso de los sistemas artificiales, donde los sensores juegan el papel de receptores, estos procesos de interpretación del estímulo se realizan mediante procedimientos numéricos en un ordenador. Estos procesos son denominados Patrones de Reconocimiento (PARC), y su principal objetivo es reconocer los elementos investigados, caracterizarlos y categorizar entre varios de ellos. Las herramientas clásicas de PARC emplean métodos matemáticos, estadísticos, lenguaje de máquina o procesos de reconocimiento de señal, entre otros [115].

El reconocimiento de un sabor no es causado por la estimulación de un único receptor sino de muchos de ellos. Este patrón característico de estimulación del receptor es representativo y específico para una muestra dada.

Una muestra analizada puede ser descrita por dos vectores:

- una imagen química de la muestra descrita mediante un vector de n características (vector patrón)

$$x = (x_1, x_2, \dots, x_n)$$

- y un vector objeto, en el cual se incluyen las características a analizar de dicha muestra

Los vectores patrones de todas las muestras forman la matriz X , y los correspondientes vectores objetos formarían las matrices Y . La clasificación de una muestra desconocida se consigue en base a la comparación de su imagen con imágenes almacenadas previamente en la base de datos de los dispositivos artificiales. En la práctica, esta acción se realiza siguiendo dos pasos. Primeramente se procesan los datos obtenidos con el objetivo de que sean independientes de las unidades, eliminar la información redundante y disminuir el ruido de las señales. Posteriormente se creará el modelo que describirá la relación entre X y Y . En muchos casos, el Análisis de Componentes Principales (PCA) se utiliza en el pre-procesamiento de los datos de un dispositivo. Mediante este método, la matriz de datos se descompone en nuevos grupos de variables no correlacionadas entre sí,

comúnmente denominadas componentes principales, las cuales explicarían la máxima varianza entre todos los datos del sistema [116]. Estas nuevas variables determinadas pueden ser representadas en un gráfico de PCA o usadas como información de entrada por otros clasificadores más complejos, como por ejemplo Redes Neuronales.

Las Redes Neuronales Artificiales (*Artificial neural network* ANN) son usadas con frecuencia como métodos PARC en los datos obtenidos de lenguas y narices electrónicas. Estos procedimientos representan de manera muy simplificada el comportamiento del sistema nervioso real, lo cual es muy ventajoso a la hora de reproducir el sentido del gusto en sistemas electrónicos. Gracias a la no-linealidad del proceso, la gran capacidad de generalización y la adaptación a datos incompletos o de alto nivel de ruido, son capaces de modelar relaciones X-Y complejas.

Otra de las herramientas más utilizadas en los métodos PARC en sistemas artificiales es sin duda la Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS), aunque, si bien los PCA se utilizan para realizar análisis cualitativos de las muestras (identificación, discriminación, etc.), las PLS son capaces de predecir cuantitativamente y con grados de exactitud considerables los niveles de las especies químicas que componen una muestra. El objetivo principal de la PLS es predecir Y a partir de X mediante descomposición simultánea de estas matrices o vectores en un grupo de componentes (variables latentes) que explican tanta varianza de X como sea posible con la condición de estar bien correlacionada con Y [117].

PCA, PLS y ANN constituyen las herramientas numéricas más ampliamente utilizadas en los métodos PARC, aunque con frecuencia y en dependencia de la aplicación, pueden ser utilizadas otras técnicas como las basadas en el análisis de regresión múltiple, análisis del discriminante (Análisis lineal del discriminante LDA, PCA-DA), o clasificaciones basadas en la distancia (vecinos más próximos KNN), entre otros procedimientos.

En los siguientes apartados se explicarán de forma más detallada los procedimientos PCA y PLS, y se describirán brevemente algunos aspectos de las redes neuronales.

I.i.71 Análisis de Componentes Principales (PCA)

El Análisis de Componentes Principales (PCA) es una técnica de análisis multivariado que consiste en encontrar nuevas direcciones ortogonales en el espacio de variables, de forma que ofrezcan una información más compacta y cómoda para el usuario de la relación de las medidas entre si. Estas nuevas direcciones se denominan componentes principales (PC).

PCA es un método que asume colinealidad entre las variables que intervienen. Es decir, se trata de un algoritmo lineal que puede funcionar incorrectamente en procesos altamente no lineales como pueden ser las interacciones químicas entre sensores y disoluciones. De todas formas, este análisis funciona suficientemente bien en muchas aplicaciones con lenguas electrónicas en donde el comportamiento de los sensores no sea excesivamente alineal.

La compresión de datos y extracción de información relevante se hace más necesaria en aquellas situaciones en las que existe una falta de selectividad en cada uno de los sensores que componen la lengua electrónica. Por este motivo el análisis de componentes principales es un método idóneo para explotar el concepto de sensibilidades solapadas que se aplica en la mayoría de las lenguas electrónicas.

I.i.711 Cálculo de PCA

El cálculo de PCA consiste en la transformación de un conjunto de variables $x_1 \dots x_p$ (a menudo fuertemente correlacionadas) en otras variables no correlacionadas entre sí: $z_1 \dots z_p$.

Las nuevas componentes $z_1 \dots z_p$ son combinaciones lineales de $x_1 \dots x_p$. La primera componente (z_1) se determina de tal manera, que posea la máxima varianza, es decir que asuma la mayor información posible del conjunto de datos. Con el resto de la información, no asumida por z_1 , se vuelve a realizar el proceso para lograr una segunda componente (z_2) también con la mayor varianza residual posible, y este proceso se repite sucesivamente hasta obtener un número de nuevos parámetros igual a los iniciales pero cada vez con menor varianza representada. Cada nuevo parámetro es ortogonal respecto a los anteriores, es decir no están correlacionados.

De todas formas la varianza total de los datos de partida se mantiene en los nuevos parámetros:

$$\text{Var}[x_1] + \text{Var}[x_2] + \dots + \text{Var}[x_p] = \text{Var}[z_1] + \text{Var}[z_2] + \dots + \text{Var}[z_p]$$

Como la información que aporta los últimos parámetros de z es pequeña se puede considerar que a partir de un parámetro k , los últimos $p-k$ valores son tan pequeños que se puede hacer la aproximación:

$$\sum_{i=1}^p x_i = \sum_{i=1}^k z_i$$

Para lograr un análisis con éxito, k deber ser mucho menor que p . Con este método de aproximación se realiza una proyección de p dimensiones en k dimensiones.

Los resultados del PCA se expresan como parámetros de observación (*scores*) y los pesos de las variables (*loads*). Para lograr la interpretación de los resultados, estos se expresan de forma gráfica de dos dimensiones (PC1 y PC2), aunque dependiendo de la aplicación o el resultado obtenido, algunos autores utilizan un diagrama tridimensional (PC1, PC2, PC3). En la gráfica de las observaciones

(Figura 3), se comprueba las posibles agrupaciones espontáneas de las medidas (denominadas “clusters”), de forma que los puntos que se encuentren cercanos entre sí en el plano PC1-PC2 significa que poseen características comunes, y lo contrario si se encontraran alejados. Sin embargo, la simple representación gráfica podría inducir a engaños pues hay que tener presente cual es el porcentaje de la información total que asume cada uno de los parámetros. En este sentido, el componente PC1 siempre se relaciona con el máximo porcentaje de varianza explicada, luego las variaciones sobre el eje PC1 tendrán mucho más significado que las variaciones sobre el eje PC2 u otro parámetro principal. La gráfica de los pesos (*loads*) ofrece información sobre la relación del comportamiento de los sensores, de tal forma que si están cercanos sobre la gráfica significa que existe correlación entre ellos y ofrecen información similar, mientras que si están alejados la información es diferente. La posición de los puntos de dos sensores respecto al centro ofrece información significativa. Si se encuentran formando un ángulo pequeño respecto al centro significa que existe correlación y ofrecen similar información. Si forman un ángulo de aproximadamente 180° , significa que ambas variables poseen una correlación negativa, por lo que la información que ofrecen es contraria, es decir, si la señal de un sensor aumentara, la señal del otro disminuiría. Y por último, el caso de que los puntos experimentales de ambos sensores formen un ángulo aproximado de 90° , significa que los sensores ofrecen información ortogonal, es decir, que son independientes uno del otro y que no existe correlación entre ellos. En la **Figura 4** se muestra un ejemplo de cada uno de los casos.

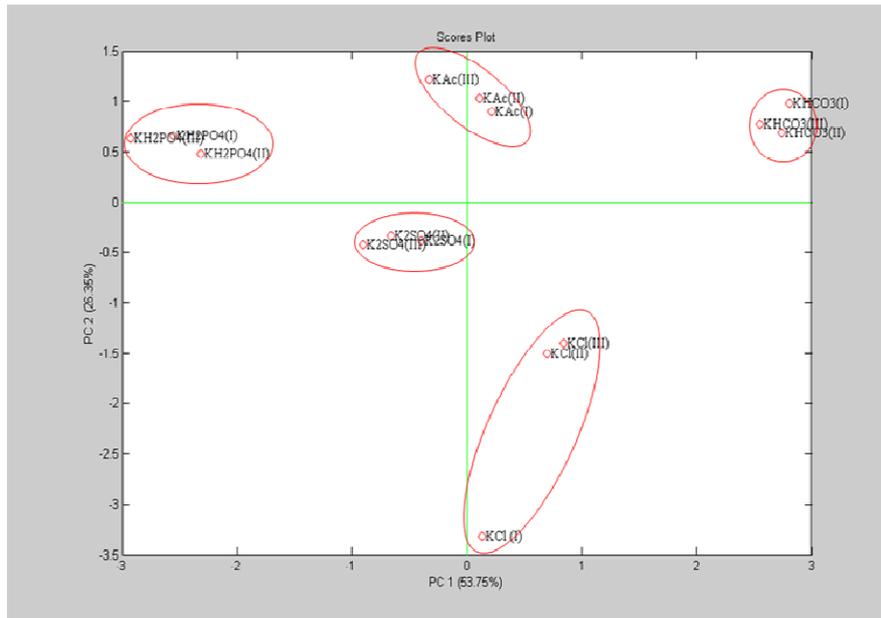


Figura 3. Gráfica de observaciones (scores) en PCA.

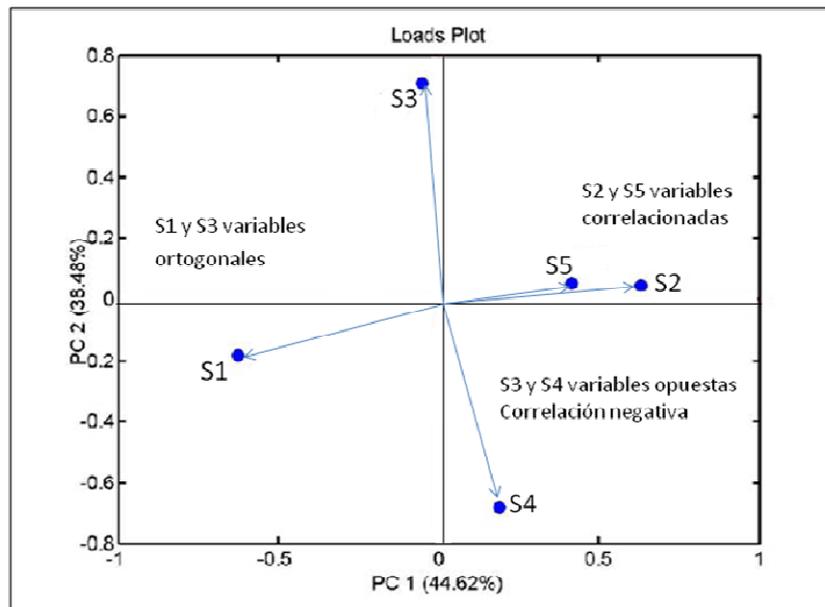


Figura 4. Gráfica de los pesos (Loads) de los sensores.

Aunque en sentido estricto de proceso de datos el algoritmo PCA es una simple técnica de reducción de dimensiones, en la práctica se utiliza más bien como un

método de clasificación de datos, porque en muchas ocasiones los resultados de los sistemas de narices y lengua electrónicas consisten en la representación bidimensional de un conjunto de medidas para ver si se pueden determinar agrupaciones (“cluster”) espontáneas entre las diferentes medidas realizadas previamente. De esta forma, el algoritmo PCA suele ser definido como un método de clasificación no supervisado y no paramétrico de reconocimiento de patrones.

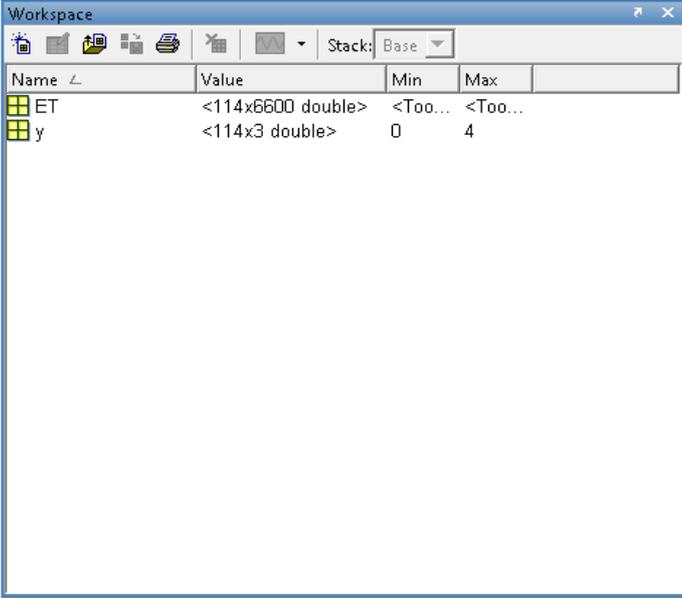
I.i.72 Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS)

La regresión PLS es una técnica que generaliza y combina las características del análisis PCA y la regresión múltiple. El objetivo principal de PLS es predecir o analizar un conjunto de variables dependientes a partir de un conjunto de variables independientes u observables. La predicción se alcanza extrayendo de las variables observadas un conjunto de factores ortogonales denominados variables latentes que representan el mejor poder predictivo sobre las variables dependientes. La regresión PLS es particularmente útil cuando se necesita predecir un conjunto de variables dependientes a partir de un conjunto grande de variables independientes (predictores). Este algoritmo fue desarrollado por Herman Wold en 1966, y en sus orígenes, la técnica fue aplicada fundamentalmente a las ciencias sociales, específicamente a la economía. Su popularidad ha aumentado al ser aplicada en el campo de la quimiometría [118] y en la evaluación sensorial [119]. Este algoritmo fue rápidamente acogido en el entorno estadístico. La principal diferencia con respecto a los métodos de Regresión de Componentes Principales (PCR) es que procura que los componentes principales contengan la mayor información para la matriz de predicción Y. Para ello, durante la etapa de calibración, el algoritmo PLS utiliza la información contenida en la matriz de la propiedad a determinar (Y), obteniéndose variables latentes que actúan como coeficientes. Antes de realizar la descomposición en factores, las matrices X e Y se centran o autoescalan como en el caso de PCA. Cada una de las matrices se descompone simultáneamente en una suma de factores. La descomposición de ambas matrices no es independiente, sino

que se realiza de forma simultánea, estableciéndose una relación interna entre los *scores* de los bloques X e Y.

Ii.721 Modelo Básico

Las I observaciones descritas por K variables dependientes se almacenan en una matriz denominada Y ($I \times K$), mientras que los valores de los J predictores recogidos en esas I observaciones se recogen en la matriz X ($I \times J$). En la **Figura 5** se muestran las dos variables formadas en un experimento en el cual se realizaron mediciones sobre muestras compuestas por tres especies químicas en tres niveles de concentración cada una: ET (correspondiente a la matriz X) y la matriz Y. El número de observaciones (I) igual a 114 refleja en este caso el número de muestras analizadas en el experimento llevado a cabo, mientras que el valor de J igual a 6600 representa el número de sensores utilizados (predictores) y el número K , las concentraciones de los tres compuestos químicos a predecir en el experimento.



The image shows a software workspace window with a table of variables. The table has four columns: Name, Value, Min, and Max. There are two rows of data.

| Name | Value | Min | Max |
|------|-------------------|---------|---------|
| ET | <114x6600 double> | <Too... | <Too... |
| y | <114x3 double> | 0 | 4 |

Figura 5. Matrices X y Y formadas a partir de datos experimentales para un posterior análisis PLS.

I.i.722 Objetivo de la Regresión PLS: Predecir Y a Partir de X

El objetivo de la regresión PLS es predecir Y a partir de X y describir la estructura común de ambas matrices. Cuando Y es un vector y X es un rango completo, este objetivo podría lograrse utilizando la técnica básica de la estadística: Regresión Múltiple Ordinaria. Pero cuando el número de predictores es grande comparado con el número de observaciones, X puede ser singular y el uso de regresión no puede ser factible debido a la multicolinealidad. Se han desarrollado diversas técnicas para resolver este problema. Una primera aproximación consiste en eliminar algunos de los predictores. Otra aproximación es utilizar la Regresión de Componentes Principales (PCR). La ortogonalidad de los componentes principales elimina los problemas de multicolinealidad pero permanece el problema de elegir el subconjunto óptimo de predictores. Una posible estrategia es mantener sólo unos pocos componentes, pero estos se eligen para expresar X más que para explicar Y, y por ello no garantiza que los componentes principales que explican X sean relevantes para Y.

En contraste, la regresión PLS encuentra los componentes de X que también son relevantes para Y. Concretamente, PLS busca un conjunto de componentes (variables latentes) que logren una descomposición simultánea de X e Y con la condición de que esos componentes expliquen tanto como sea posible la covarianza entre X e Y. Este paso generaliza el análisis PCA, porque es seguido por un paso de regresión donde la descomposición de X es utilizada para predecir Y.

I.i.723 Proceso de Cálculo en PLS

Antes de realizar la descomposición en factores, las matrices X e Y se centran o autoescalan como en el caso del PCA. Cada una de las matrices se descompone simultáneamente en una suma de a factores de forma que:

$$X = TP^T + E = \sum_{i=1}^a t_i p_i^T + E$$

$$Y = UQ^T + F = \sum_{i=1}^a u_i q_i^T + F$$

donde T es la matriz de *scores*, P la de *loadings* y E la matriz de residuales para la matriz de datos (matriz X); mientras que U es la matriz de *scores*, Q la matriz de *loadings* y F la matriz de residuales para la matriz de la propiedad a determinar (matriz Y). Si tenemos *m* muestras, *a* factores, *k* variables y *p* analitos, la dimensionalidad de la matriz es la siguiente: T y U (*m* x *a*), PT (*a* x *k*) y QT (*a* x *p*). En este caso, los *loadings* no coinciden exactamente con la dirección de máxima variabilidad de las muestras como en el caso de PCA, ya que están corregidas para obtener la máxima capacidad para la matriz Y.

La descomposición de ambas matrices no es independiente, sino que se realiza de forma simultánea, estableciéndose una relación interna entre los *scores* de los bloques X e Y de forma que para cada componente *a*, se cumple que

$$\hat{u}_a = b_a t_a$$

donde el símbolo $\hat{}$ indica que es un valor calculado (estimado) y b_a es el coeficiente de regresión para cada uno de los componentes. A partir de aquí se calcula el valor de Y utilizando la relación interna \hat{u}_a

$$Y = TBQ^T + F$$

Donde B es la matriz de los regresores b_a , de dimensiones (*a* x *a*), y F la matriz de los residuos de Y.

En el caso de calcular una sola propiedad de la matriz Y el algoritmo recibe el nombre de PLS1 y se determina simultáneamente varias propiedades recibe el nombre de PLS2.

Una vez establecido el modelo de calibración se puede realizar la predicción de la propiedad modelada en un nuevo conjunto de muestras según la expresión:

$$y_i^T = b_0^T + x_i^T B$$

Siendo x_i el vector que define la señal analítica de la muestra, y_i el vector de concentraciones o propiedades a determinar, y b_0

T es un vector que permite realizar la predicción de una muestra sin necesidad de descomponerla en matrices *scores* y *loadings*.

I.i.724 Gráficos PLS. Evaluación de los modelos de predicción PLS.

Una vez formadas las matrices X y Y y calculado el número de variables latentes en el sistema de datos, el siguiente paso consiste en crear los modelos de predicción. Este es un paso que se realiza muy rápidamente cuando se cuenta con las herramientas y conocimientos necesarios. Aunque existen numerosas formas y gráficos para expresar los resultados de los análisis PLS, uno de los métodos más utilizados es mostrar la relación Y-medida *versus* Y-predicha [32, 120]. La **Figura 6** representa un gráfico PLS donde se representan los resultados de un modelo de la predicción de tres niveles de concentración de una sustancia analizados con una lengua electrónica. La ventaja de utilizar este tipo de gráficos se manifiesta en cuanto a que a simple vista se puede realizar un examen visual de la capacidad predictiva del modelo creado. Esto es, según la deriva o la distancia de los valores de Y predichos (puntos) sobre los valores de Y de referencia (línea verde), se puede estimar en cuanto a la exactitud y precisión del ajuste. No obstante, se puede realizar una evaluación más rigurosa del modelo, y una de las formas utilizadas consiste en un ajuste lineal de los datos de Y-predichos. Los datos experimentales son ajustados con un modelo simple del tipo $y = p1*x + p2$, y entonces a raíz del ajuste se obtienen los parámetros evaluativos p1 y p2, además de un parámetro adicional denominado residuos normalizados (NR). En este sentido, el parámetro

$p1$, que no es más que la pendiente de la línea de ajuste, se relaciona directamente con la exactitud del modelo, mientras que el valor de los NR ofrecerá información acerca de la precisión del modelo.

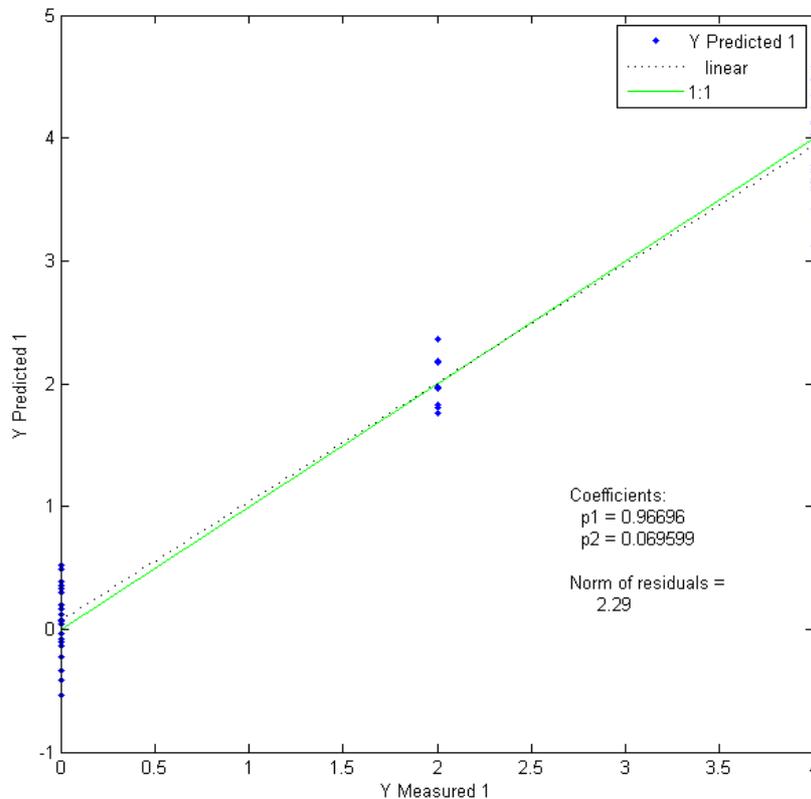


Figura 6. Gráficos PLS: Valores "Medidos" vs. "Predichos" y ajuste lineal de los datos experimentales.

I.i.73 Redes Neuronales Artificiales (ANN)

Un método de clasificación de las medidas, muy utilizado en los sistemas de lenguas electrónicas son las llamadas redes neuronales artificiales. Estas redes comparan el resultado obtenido del análisis con una base de datos, para así decidir

si corresponde con alguna de las clases conocidas o no. Las redes neuronales necesitan una etapa previa de entrenamiento, es decir deberán aprender la relación que existe entre las entradas y salidas y relacionarlas por medio de coeficientes o pesos, para intentar que con muestras similares se obtengan resultados similares.

Una neurona artificial está formada por una serie de n entradas que actúan de forma ponderada, según un determinado peso (W_i), sobre una función de transferencia. El tipo de neurona artificial más común es el *Perceptron*, donde el núcleo de neurona actúa como un sumatorio de las entradas (I), ponderadas según su peso (W), más una componente de continua o umbral (θ). Es decir:

$$x = \sum_{i=1}^n W_i I_i + \theta$$

Las redes de tipo ARTMAP son una clase de redes neuronales que implementan un aprendizaje supervisado y una posterior clasificación de vectores multidimensionales de entrada en una serie de categorías de salida. Estas redes basan su funcionamiento en la Teoría de la Resonancia Adaptativa (ART) que fue introducida como una teoría que intentaba emular la manera de procesar la información por el cerebro humano.

La red Fuzzy Artmap procede de la red Artmap con las mismas transformaciones que permiten definir la red Fuzzy Art como una generalización a vectores analógicos (con componentes comprendidas entre cero y uno) de la red binaria Artmap. La red Fuzzy Artmap presenta múltiples ventajas que la hacen muy interesante para las aplicaciones con narices electrónicas. De entre todas ellas cabe destacar las siguientes:

- **Aprendizaje rápido.** Las medidas que se presentan en entrenamiento necesitan muy poca carga computacional lo que permite programar el algoritmo en dispositivos programables de bajo coste y aplicar validaciones cruzadas de orden 1 y probar con diferentes combinaciones de parámetros.

- **Aprendizaje con un conjunto reducido de medidas de entrenamiento.** La red presenta una habilidad particular para aprender rápidamente eventos singulares, que aparecen muy pocas veces en el conjunto de entrenamiento. Por lo tanto, en

dicho conjunto no es necesario que haya el mismo número de medidas de cada clase para que la red funcione correctamente.

- **Aprendizaje continuo** de nuevas características sin olvidar lo aprendido con anterioridad, algo muy útil para adaptarse a posibles derivas producidas por sensores.

En comparación con otros tipos de redes neuronales, la red Fuzzy Artmap determina automáticamente las neuronas de su capa oculta. Además, maximiza el poder de generalización aprendiendo al 100% el conjunto de entrenamiento. Una vez entrenada, es posible extraer reglas de clasificación a partir de los pesos obtenidos tras el periodo de entrenamiento, lo que puede dar luz sobre los procesos internos y como influyen en la categorización de resultados.

I.1 LENGUA ELECTRÓNICA POTENCIOMÉTRICA PARA EL RECONOCIMIENTO Y LA PREDICCIÓN DE ANIONES EN DISOLUCIONES SALINAS Y AGUAS MINERALES.

I.1.1 Introducción

La idea general en el uso de electrodos metálicos se basa en el hecho de que muchos tipos de superficies metálicas pueden ser polarizadas en medio acuoso debido principalmente a los procesos de fisisorción y quimisorción que experimentan las especies químicas presentes en el medio. Esta polarización espontánea (muy dependiente de las características químicas de la superficie electródica) es, sin embargo, un proceso de especificidad parcial, y es fundamentalmente por este motivo que las superficies activas “no cubiertas” o “no modificadas” no son utilizadas frecuentemente como sensores selectivos. No obstante, esta misma especificidad parcial aparece como una característica interesante que hace que los electrodos metálicos sean tenidos en cuenta a la hora de diseñar dispositivos tipo Lenguas Electrónicas.

Recientemente, investigadores de nuestro instituto han presentado el uso de ciertos tipos de electrodos simples del tipo metal/metal óxido-sal (M/MO/MX), considerados electrodos parcialmente específicos formando parte de lenguas electrónicas del tipo potenciométricas. Aunque estas superficies generan una señal parcialmente selectiva, son capaces de responder y de esta forma, diferenciar entre un grupo grande de especies químicas presentes en muestras analizadas. Específicamente, esta propiedad fue utilizada en el diseño de dichas lenguas electrónicas utilizadas para la diferenciación de algunas muestras de aguas [46], así como para el estudio de la calidad o frescura de pescados [94].

El uso de las lenguas electrónicas aplicadas sobre muestras de aguas minerales se ha generalizado considerablemente debido fundamentalmente a que la única diferencia en este tipo de muestras la constituye la presencia de iones (tanto cationes como aniones) en su seno. Es común encontrar fundamentalmente aniones comunes como cloruros, sulfatos y bicarbonatos; mientras que en el caso de los cationes, el sodio, potasio, calcio y magnesio con frecuencia forman parte de estas muestras. Numerosos han sido los trabajos descritos sobre aplicaciones de lenguas electrónicas en la caracterización de muestras de aguas minerales (se pueden

mencionar un total de doce trabajos desde mediados de los noventa hasta el pasado año [121]. Entre todos ellos, podemos mencionar los realizados por Toko [33, 88, 89] y Legin [22-24].

Nuestro propósito al realizar el estudio que se presenta a continuación, es, además de realizar una caracterización de la capacidad de discriminación de las lenguas electrónicas potenciométricas basadas en electrodos metálicos sobre muestras de aguas minerales, profundizar en la explicación de la señal electródica, para lo cual utilizaremos disoluciones salinas monoiónicas, así como muestras de especies, a modo de analizar la especificidad o selectividad de los electrodos utilizados. Además, como aspecto relevante, realizaremos también un análisis cuantitativo del contenido aniónico de muestras preparadas en el laboratorio, así como muestras reales (aguas minerales, agua del grifo, agua de mar, etc.). Después de numerosos experimentos y mediciones de potencial previos con distintos metales y combinaciones de éstos, el “array” final que conformará la lengua electrónica quedará constituido por cinco electrodos de oro, plata, platino, cobre y cinc.

I.1.2 Experimental

El estudio que se presenta ha sido previamente dividido en dos experimentos generales. En un primer experimento se realiza un análisis cualitativo de muestras de disoluciones salinas y aguas minerales. En un segundo experimento se realiza determinaciones cuantitativas de los niveles de tres especies aniónicas (cloruro, sulfato y bicarbonato) presentes frecuentemente en aguas naturales y minerales.

El primer experimento que incluye el análisis cualitativo también se subdivide en tres subexperimentos. En una primera actividad se analizan muestras de disoluciones salinas con catión común y anión diferente para analizar la capacidad

discriminativa de la lengua siguiendo un patrón de reconocimiento basado en la selectividad parcial de los electrodos de trabajo sobre los aniones. Así mismo, se analizan conjuntos de muestras salinas de dos cationes distintos (aunque de igual valencia) con distintos aniones, para analizar el efecto de la presencia de cationes sobre la señal electródica. En este sentido se analizan también algunas muestras que contienen cationes distintos y de distinta valencia.

En un segundo experimento cualitativo, se analizan mezclas de las especies salinas preparadas y analizadas previamente con el objetivo de identificar un patrón de reconocimiento basado no sólo en la presencia de aniones sino también en diferencias entre los niveles de estos. Este experimento además permite analizar la señal de los electrodos en muestras multicomponentes, y de cierta forma estudiar la correlación de la señal electródica. El tercer experimento sería un seguimiento de los dos anteriores, pero sobre muestras reales de aguas minerales, en las que se puede comprobar la eficacia de la lengua electrónica para definir dos patrones de reconocimiento basados en la presencia de aniones y la diferencia entre los niveles de estas especies.

El análisis cuantitativo se lleva a cabo realizando una calibración previa del sistema. El sistema se confecciona siguiendo un diseño experimental que incluye tres especies aniónicas y tres niveles. Con la cantidad de muestras patrones preparadas para la calibración, se confeccionan los modelos de predicción mediante PLS, y posteriormente se valida el modelo sobre muestras reales de aguas minerales, agua del grifo y agua de mar.

I.1.21 Diseño y preparación de la Lengua Electrónica

El dispositivo se compone de cinco electrodos de trabajo metálicos de oro, plata, platino, cobre y cinc, encapsulados dentro de un cilindro de acero inoxidable que constituye el cuerpo de la lengua electrónica. Los electrodos son alambres de aproximadamente 1 mm de diámetro y los materiales que los conforman alcanzan

un grado de pureza superior al 99% (SIGMA-ALDRICH). El cilindro de acero tiene unas dimensiones de 10 cm de largo por 12 mm de diámetro. Los electrodos han quedado encapsulados mediante una resina epoxi, de forma que la distancia entre ellos sea aproximadamente la misma (Ver **Figura 7**). Después de endurecer la resina, la superficie de la lengua electrónica es pulida con un disco de piedra esmerilada y posteriormente con un material menos agresivo para lograr una superficie bien pulida y una superficie activa uniforme (1 mm² de área de contacto).

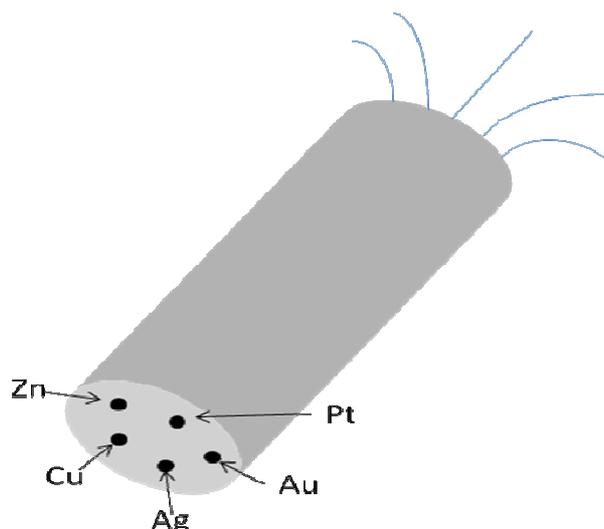


Figura 7. Lengua electrónica potenciométrica.

I.1.22 Preparación de las muestras

Para el análisis cualitativo se prepararon tres tipos distintos de muestras: disoluciones salinas puras, mezclas de sales y aguas minerales. En el primer caso, se prepararon disoluciones salinas de KCl, K₂SO₄, KHCO₃, KH₂PO₄, KC₂H₃O₂, NaCl, Na₂SO₄ y NaHCO₃, tamponadas y no tamponadas. Las disoluciones tamponadas se prepararon por disolución y posterior dilución de las sales en una disolución reguladora de pH de ácido N-[2-hidroxi-etil] piperacín-N'-[2-

etanosulfónico] (HEPES) a pH 7. Las no tamponadas fueron disueltas y diluidas en agua bidestilada. Las muestras preparadas incluyen disoluciones de sales de sodio y potasio con el objetivo de verificar la posible modificación o interferencia sobre la selectividad hacia los aniones que una hipotética afinidad de los electrodos hacia los cationes podría generar. En este sentido, se prepararon además otras disoluciones salinas que incluyen otros cationes, como MgSO_4 y LiCl . La concentración de todas las disoluciones preparadas fue de 0.05 mol/L.

En el caso de las mezclas, estas se prepararon de la siguiente forma: tres muestras denominadas M1, M2 y M3 se prepararon mediante mezclas de las disoluciones salinas puras tamponadas de KCl , K_2SO_4 y KHCO_3 previamente preparadas, con una relación de concentración de 6:3:1 de cada disolución respectivamente. Otras tres muestras se prepararon mediante mezclas de las disoluciones salinas puras no tamponadas siguiendo un mismo proceso. La composición aniónica de cada mezcla (tanto las tamponadas como las no tamponadas) aparece en la **Tabla 3**.

Ocho muestras de aguas minerales adquiridas en el supermercado local fueron analizadas como aplicación de la lengua electrónica sobre muestras reales. Las muestras se seleccionaron de acuerdo a su composición química (compuestas fundamentalmente por aniones cloruro, sulfato y bicarbonato como principales componentes). Entre las muestras existen diferencias en cuanto a los niveles de las especies que la conforman, y a raíz de ello, se puede establecer una clasificación según estos niveles. Aparecen como aguas de “muy débil mineralización” las muestras de Bezoya y Montcalm. Como aguas de “débil mineralización” se incluyen las marcas FontVella y Lanjarón. Algunas aguas carbonatadas fueron seleccionadas, como por ejemplo Primavera, Perrier y VichyCatalán, esta última con un contenido de bicarbonatos considerablemente alto. Las muestras de aguas carbonatadas, así como la marca Primavera (no carbonatada) presentan una mineralización más alta que las anteriores muestras. En la **Tabla 4** se muestra el contenido iónico de las muestras de aguas minerales (según información en la etiqueta de la botella). Las muestras fueron abiertas unos instantes antes de que se realizaran mediciones sobre ellas.

Tabla 3. Composición aniónica de las mezclas (mol/L || g/L).

| | Cl^- | SO_4^{2-} | HCO_3^- |
|-----------|---------------|--------------------|------------------|
| M1 | 0.03 1.75 | 0.015 2.13 | 0.005 0.42 |
| M2 | 0.005 0.29 | 0.03 4.26 | 0.015 1.26 |
| M3 | 0.015 0.88 | 0.005 0.71 | 0.03 2.52 |

Tabla 4. Composición química de las muestras de aguas minerales (mg/L)

| | HCO_3^- | Cl^- | SO_4^{2-} | Ca^{2+} | Na^+ | Mg^{2+} |
|-----------------------------|------------------|---------------|--------------------|------------------|---------------|------------------|
| Bezoya (BEZ) | 18 | <1 | -- | 4 | 1 | 2 |
| Montcalm (MON) | 5.2 | 0.6 | 8.7 | 3 | 1.5 | 0.6 |
| FontVella (FON) | 149 | 16.2 | 16.8 | 38.5 | 13.2 | 9.7 |
| Lanjarón (LAN) | 105 | -- | 17.3 | 27.2 | 4.8 | 8.8 |
| Primavera (PRI) | 297.2 | 35.8 | 43.9 | 88.7 | 18.6 | 23.4 |
| Primavera gas (PRIG) | 297.2 | 35.8 | 43.9 | 88.7 | 18.6 | 23.4 |
| Perrier (PER) | 420 | 23 | 42 | 149 | 11.5 | 7 |
| VichyCatalan (VIC) | 2081 | 584 | 49.6 | -- | 1097 | -- |

En la realización de análisis cuantitativo de las muestras, o sea, la predicción de los niveles de tres especies aniónicas (cloruro, sulfato y bicarbonato), se preparó mediante un diseño experimental, un sistema de tres componentes/ tres niveles, con

el objetivo de comprobar la capacidad predictiva de la lengua electrónica en mezclas multicomponentes, así como de contrarrestar o disminuir la correlación de las señales de los electrodos por cada componente químico. Mediante la utilización de un programa de diseño experimental (MODDE 8.0, Umetrics) se estableció la cantidad de muestras necesarias para el calibrado del método, así como los niveles de los tres componentes en cada una de ellas, de tal forma que toda la información posible del sistema quede incluida, pero a la vez resumida correctamente. De esta forma, se preparó un total de 18 muestras patrones, que incluían los niveles bajo, medio y alto de cada elemento en cada muestra, según el diseño experimental. El nivel bajo representa la no-presencia del componente, mientras que el nivel medio equivale a 0.015 mol/L, mientras que el nivel alto sería el doble de esta concentración (0.03 mol/L). Todas las disoluciones preparadas se tamponaron a pH 7, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. En la **Tabla 5** se representa el diseño experimental realizado, donde se puede observar la concentración de cada componente en cada disolución patrón.

Por último, para la validación de los modelos de predicción PLS creados a partir de la calibración del método, se analizaron algunas muestras reales que incluían aguas minerales Bezoya, Lanjarón y Fontvella; así como muestras de agua del grifo de nuestro laboratorio y una muestra de agua de mar proveniente de la playa de La Malvarrosa. Todas estas muestras fueron tamponadas, y la muestra de agua de mar fue filtrada antes de la medición, para eliminar las partículas sólidas.

Tabla 5. Composición de las disoluciones patrones del set de calibración según

MODDE 8.0 (en mol/L)

| Muestra | HCO ₃ ⁻ | SO ₄ ²⁻ | Cl ⁻ |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|
|---------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------|

| | | | |
|----|-------|-------|-------|
| 1 | 0.03 | 0.03 | 0 |
| 2 | 0 | 0.03 | 0.03 |
| 3 | 0.015 | 0.015 | 0.015 |
| 4 | 0.03 | 0 | 0.015 |
| 5 | 0 | 0.03 | 0 |
| 6 | 0.03 | 0.015 | 0.03 |
| 7 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 8 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 9 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 10 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 0.03 |
| 12 | 0.03 | 0.015 | 0 |
| 13 | 0.03 | 0.03 | 0.03 |
| 14 | 0 | 0 | 0.015 |
| 15 | 0.015 | 0 | 0.03 |
| 16 | 0.015 | 0 | 0 |
| 17 | 0.03 | 0 | 0 |
| 18 | 0.03 | 0 | 0.03 |

I.1.23 Mediciones potenciométricas

Independientemente del tipo de muestra o del tipo de experimento (cualitativo o cuantitativo), se tomaron tres medidas por cada muestra para analizar la reproducibilidad en las mediciones. Cada medida equivale a 300 valores de potencial (un valor cada segundo durante cinco minutos), esto por cada electrodo, tomado contra un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia. Este procedimiento generaría un total de 1500 valores de potencial por cada muestra. Debido a que muchos de los electrodos potenciométricos presentan un tiempo de respuesta que depende del grado de polarización de la superficie, con frecuencia aparecen derivas de potencial en las mediciones, y algunos electrodos tardan un

tiempo en alcanzar su potencial de equilibrio. Por tal motivo, los primeros 100 valores de cada medición son eliminados. Con ello, la cantidad de datos quedará reducida a 1000 valores. En las repeticiones de las medidas de cada muestra, estas fueron realizadas en orden aleatorio con el objetivo de eliminar la dependencia con el tiempo de las medidas potenciométricas. La temperatura a la cual se realizaron todos los experimentos fue de 25°C.

Las medidas fueron tomadas con un amplificador operacional OPA129P de alta impedancia ($10^{15} \Omega$) configurado como seguidor de tensión, y con una tarjeta de adquisición tipo ADLINK-9112. La adquisición y almacenamiento de datos se realizó mediante un programa desarrollado en VEE Pro. El nivel de resolución del equipo utilizado fue de 0.6 mV. El equipamiento experimental utilizado en las mediciones potenciométricas se ilustra en la **Figura 8**.



Figura 8. Equipamiento experimental para medidas con la lengua electrónica potenciométrica.

Además se realizaron medidas simultáneas de pH y Conductividad de las muestras analizadas. El pH (para las muestras no tamponadas) se midió con un equipo

Crison GLP 22 mientras que la conductividad se tomó con la ayuda de un conductímetro Crison GLP 32.

En la **Tabla 6** aparecen los valores medios de potencial de cada una de las muestras tamponadas analizadas en todo el experimento para cada electrodo, así como los datos de conductividad. Por su parte, los valores medios de potencial de las muestras no tamponadas, así como los datos de conductividad y pH de cada una de ellas aparecen en la **Tabla 7**.

Tabla 6. Valores medios de potencial de electrodo y conductividad para cada muestra tamponada analizada. Unidades: Potencial E (V); Conductividad (mS cm⁻¹)

| DISOLUCIONES SALINAS | | | | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|
| Compuesto | Cu | Zn | Au | Pt | Ag | Cond. |
| KCl | -0.109 | -0.894 | 0.119 | 0.214 | -0.235 | 6.22 |
| K₂SO₄ | 0.034 | -0.998 | 0.166 | 0.287 | -0.1 | 10.03 |
| KHCO₃ | -0.022 | -0.765 | 0.125 | 0.284 | -0.02 | 4.84 |
| KH₂PO₄ | -0.03 | -0.65 | 0.126 | 0.311 | 0.009 | 6.37 |
| KC₂H₃O₂ | 0.014 | -0.943 | 0.135 | 0.291 | -0.015 | 4.41 |
| NaCl | -0.12 | -0.941 | 0.114 | 0.247 | -0.003 | 5.09 |
| Na₂SO₄ | 0.032 | -0.978 | 0.143 | 0.297 | 0.062 | 8.22 |
| NaHCO₃ | -0.027 | -0.86 | 0.128 | 0.289 | 0.075 | 3.75 |
| NaH₂PO₄ | -0.094 | -0.77 | 0.127 | 0.312 | 0.072 | 5.36 |
| NaC₂H₃O₂ | 0.022 | -0.934 | 0.146 | 0.3 | 0.099 | 3.54 |
| MgSO₄ | 0.04 | -0.99 | 0.122 | 0.297 | 0.095 | 5.21 |
| LiCl | -0.107 | -0.935 | 0.096 | 0.252 | 0.022 | 4.35 |
| MEZCLAS | | | | | | |
| M1 | -0.101 | -0.952 | 0.128 | 0.27 | 0.058 | 7.1 |
| M2 | -0.024 | -0.94 | 0.14 | 0.273 | 0.074 | 7.97 |

| | | | | | | |
|-----------|-------|--------|-------|-------|-------|------|
| M3 | -0.05 | -0.865 | 0.136 | 0.271 | 0.065 | 5.44 |
|-----------|-------|--------|-------|-------|-------|------|

Tabla 7. Valores medios de potencial de electrodo, conductividad y pH para cada muestra no tamponada analizada. Potencial E (V); Conductividad (mS cm⁻¹).

| DISOLUCIONES SALINAS | | | | | | | |
|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|--------------|-----------|
| Compuesto | Cu | Zn | Au | Pt | Ag | Cond. | pH |
| KCl | -0.109 | -0.945 | 0.12 | 0.305 | 0.038 | 6.06 | 5.53 |
| K₂SO₄ | -0.009 | -0.95 | 0.125 | 0.308 | 0.105 | 9.97 | 5.47 |
| KHCO₃ | -0.035 | -0.93 | 0.05 | 0.281 | 0.04 | 4.59 | 8.3 |
| KH₂PO₄ | 0.002 | -0.865 | 0.145 | 0.43 | 0.121 | 4.06 | 4.6 |
| KC₂H₃O₂ | 0.008 | -0.905 | 0.1 | 0.339 | 0.092 | 4.32 | 6.8 |
| NaCl | -0.104 | -0.912 | 0.113 | 0.35 | 0.035 | 4.93 | 5.6 |
| Na₂SO₄ | 0.007 | -0.946 | 0.115 | 0.391 | 0.092 | 8.16 | 5.63 |
| NaHCO₃ | -0.034 | -0.87 | 0.04 | 0.28 | 0.051 | 3.57 | 8.38 |
| NaH₂PO₄ | -0.014 | -0.797 | 0.124 | 0.455 | 0.106 | 2.99 | 4.64 |
| NaC₂H₃O₂ | 0.009 | -0.872 | 0.193 | 0.362 | 0.085 | 3.4 | 6.75 |
| MEZCLAS | | | | | | | |
| M1 | -0.02 | -0.941 | 0.065 | 0.225 | 0.023 | 7.02 | 8.34 |
| M2 | -0.019 | -0.954 | 0.054 | 0.25 | 0.038 | 7.94 | 8.52 |
| M3 | -0.039 | -0.91 | 0.044 | 0.238 | 0.02 | 5.55 | 8.59 |
| AGUAS MINERALES0 | | | | | | | |
| Bezoya | 0.062 | -0.664 | 0.102 | 0.322 | 0.112 | 37.7 | 6.57 |
| Montcalm | 0.073 | -0.801 | 0.11 | 0.351 | 0.109 | 348 | 6.31 |

| | | | | | | | |
|--------------------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|------|
| Fontvella | 0.018 | -0.856 | 0.082 | 0.304 | 0.07 | 272 | 7.64 |
| Lanjarón | 0.015 | -0.857 | 0.121 | 0.353 | 0.118 | 189.7 | 6.13 |
| Primavera | 0.001 | -0.9 | 0.085 | 0.313 | 0.66 | 550 | 7.4 |
| Primavera.g | -0.012 | -0.959 | 0.122 | 0.396 | 0.08 | 545 | 5.11 |
| Perrier | -0.015 | -0.951 | 0.119 | 0.4 | 0.078 | 620 | 5.25 |
| Vichy Cat. | -0.062 | -0.986 | 0.095 | 0.361 | 0.019 | 3950 | 5.86 |

I.1.24 Tratamiento de los datos

El tratamiento de los datos obtenidos de las mediciones potenciométricas se lleva a cabo mediante Análisis Multivariado, que incluye las herramientas principales PCA (Análisis cualitativo) y PLS (Análisis Cuantitativo). Para realizar todo este análisis, se utiliza el programa Matlab Versión R2006b.

Una vez realizadas las mediciones, los datos se almacenan directamente en forma de ficheros Excel. Posteriormente, estos han de ser importados a Matlab donde se crearán las matrices X para el tratamiento estadístico de los datos. En este sentido, las matrices X tendrán un número de filas que será la cantidad de muestras analizadas; mientras que el número de columnas será igual al número de sensores, y analizando que cada valor de potencial puede considerarse como un sensor, la cantidad de columnas que conformarán las matrices X será siempre 1000.

En cuanto a las matrices Y, estas solamente se crean para los análisis cuantitativos. En el caso específico de las medidas para realizar la calibración del sistema, las matrices Y que se crearán tendrán unas dimensiones de 54 filas por tres columnas. Las 54 filas representan las 18 muestras analizadas (tres veces cada una); mientras que las columnas representan los niveles de los 3 componentes o especies aniónicas del sistema.

En el análisis cualitativo, los resultados se evaluarán en dependencia de la cercanía o alejamiento de cada uno de los grupos de medidas de las muestras (denominados "clusters"). Así, en dependencia de la ubicación de cada cluster en los planos PC1 vs PC2 de los gráficos de PCA, y en dependencia del total de varianza explicada

por cada eje PC1 o PC2 (o PC3 en su caso) se podrán extraer conclusiones de los patrones de reconocimiento seguidos por los electrodos.

En cuanto al análisis cuantitativo, mediante regresión de mínimos cuadrados parciales se crearán los modelos de predicción de cada uno de los aniones estudiados según las medidas de potencial obtenidas en el proceso de calibración (Matriz X) y los valores conocidos de concentración de cada anión en cada muestra (Matriz Y). Previo a la creación del modelo, se realiza una validación cruzada de los datos, con el objetivo de evaluar los datos experimentales y extraer además el número óptimo de variables latentes a ser utilizado en la creación de los modelos de predicción. Además, todas las matrices incluidas en el análisis PLS son estandarizadas mediante un autoescalado de los datos. Creados los modelos de predicción, la capacidad predictiva, relativa a la exactitud y precisión del modelo será evaluada mediante el análisis de los parámetros de ajuste lineal de los valores predichos experimentales (p_1 , p_2 , NR). Una vez calibrado el sistema y evaluado el modelo de predicción, este es validado sobre mediciones de muestras reales, utilizando para ello el modelo matemático creado y la Matriz X, formada con las mediciones potenciométricas sobre las muestras del set de validación.

I.1.3 Resultados

I.1.31 Análisis cualitativo

Como se indicó anteriormente, este análisis cualitativo fue dividido en tres experimentos, en dependencia del tipo de muestra analizada en cada uno. En el primer experimento se analizan los resultados de las mediciones realizadas sobre las disoluciones salinas puras. El primer análisis recoge los resultados en las disoluciones de sales de potasio (KCl, K_2SO_4 , $KHCO_3$, KH_2PO_4 y CH_3COOK). En la **Figura 9** se representan los resultados obtenidos de las mediciones de potencial y conductividad sobre las muestras tamponadas. Los “clusters” de cada disolución aparecen bien separados entre si, fundamentalmente el cloruro y sulfato, situándose

el primero en los valores más negativos del eje que forma el componente PC1, mientras que el sulfato aparece en los valores más positivos del mismo eje. El resto de muestras aparecen ubicadas cercanas entre sí hacia valores positivos tanto de PC1 como de PC2. Si representásemos los datos experimentales en un gráfico PCA que incluyese el primer y tercer componente principal (PC1 vs PC3) la separación sería incluso mejor, aunque en este caso, se explicaría solamente un 59% de la varianza total del sistema (PC1 vs PC2 explican un 86.3 %). La **Figura 10** representa el plano PC1 vs PC3. Aquí el cluster de KCl se ubica nuevamente hacia valores negativos de PC1, mientras que el resto de las muestras se separan mejor entre sí y se ubican a todo lo largo del eje PC3, aunque este eje sólo explica un 11% de la varianza total.

De esta separación mostrada sobre las disoluciones tamponadas formadas por un catión único y distintos aniones se puede asumir la existencia de un patrón de separación debido a la afinidad de los sensores que conforman la lengua electrónica sobre los aniones del medio.

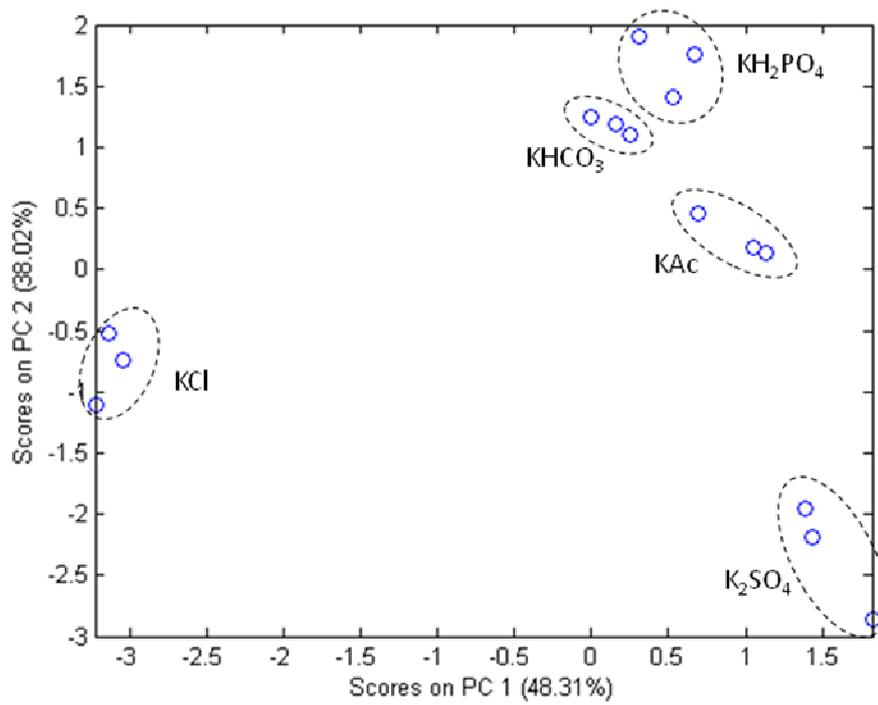


Figura 9. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las disoluciones de sales de potasio tamponadas. PC1 vs. PC2.

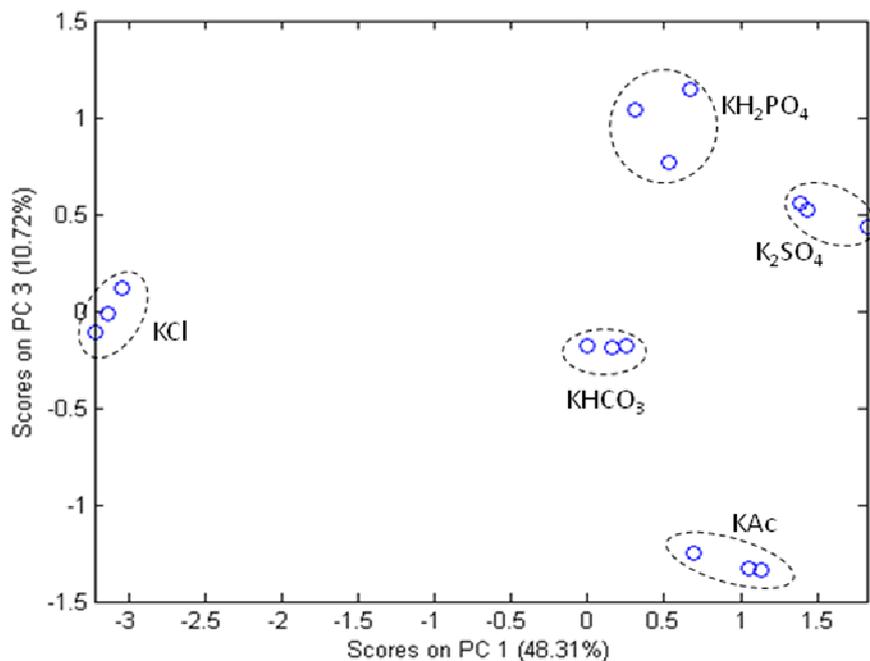


Figura 10. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las disoluciones de sales de potasio tamponadas. PC1 vs. PC3.

Sería interesante analizar la separación mostrada en las figuras anteriores desde un punto de vista teórico acerca de equilibrios de disociación de especies. Por un lado, tenemos que las muestras de KCl y K₂SO₄ se ubican en el plano alejadas del resto de las sales. Las sales de cloruro y sulfato provienen de ácido fuertes, los cuales en disolución están totalmente disociados (Ver **Figura 11**). Por otro lado, las sales de KHCO₃, KC₂H₃O₂ y KH₂PO₄ provienen de ácidos moderadamente débiles, y sus disociaciones ocurren mediante varios procesos de equilibrio, en los cuales algunas especies distintas al anión principal son generadas (Ver **Figura 12**). Estas especies generadas pueden estar en contacto directo con los electrodos, por lo que podría establecerse cierta relación entre la ubicación de los clusters (específicamente respecto al eje PC2) y el tipo y cantidad de especies generadas en los equilibrios de disociación. Así, los clusters de sulfato y cloruro (disociadas sólo en sus iones) aparecen en la zona negativa de PC2, mientras que en los valores positivos

aparecen primeramente $\text{KC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ (dos especies), posteriormente KHCO_3 (tres especies) y por último KH_2PO_4 (con cuatro especies).

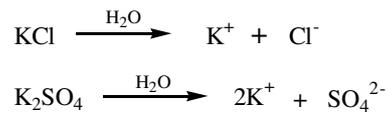


Figura 11. Equilibrios de disociación de KCl y K_2SO_4 .

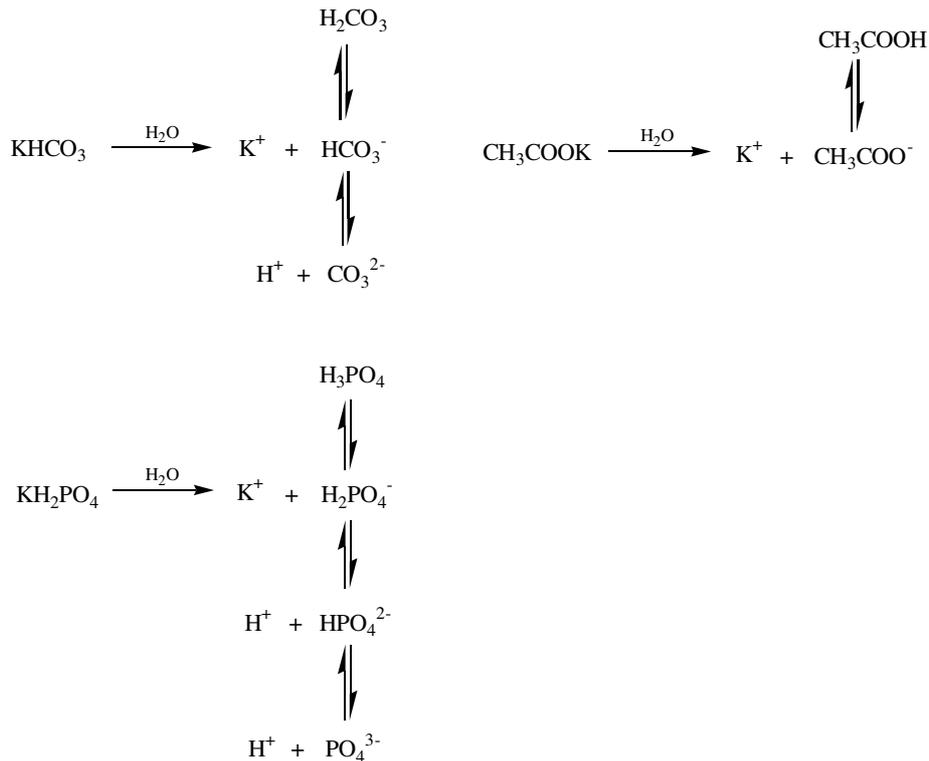


Figura 12. Equilibrios de disociación de KHCO_3 , $\text{KC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ y KH_2PO_4 .

El análisis de las disoluciones de sales de potasio KCl , K_2SO_4 , KHCO_3 , KH_2PO_4 y $\text{KC}_2\text{H}_3\text{O}_2$ no tamponadas se realiza de forma similar al llevado a cabo con las sales tamponadas, esto es, identificación de patrones de reconocimiento mediante PCA con los datos obtenidos de las mediciones de potencial de electrodos, conductividad, y en este caso específico, valores del pH de las disoluciones. En un

primer gráfico PCA se representan los datos de las mediciones potenciométricas y de conductividad (**Figura 13**). Aquí se observa una muy buena separación, con todos los clusters ubicados en toda el área del plano. Si bien la separación es incluso más marcada que para el caso de las disoluciones tamponadas, este resultado puede ser engañoso, pues aquí el patrón de separación puede estar gobernado por la respuesta de los electrodos metálicos al pH. Este efecto del pH de las disoluciones sobre la afinidad de los electrodos queda verificado al observar la ubicación de los clusters sobre el eje del primer componente PC1. Las muestras de KHCO_3 aparecen en los valores más negativos y se corresponden con el pH más alto (8.3) mientras que la disolución más ácida es la de KH_2PO_4 , y se ubica en el extremo positivo de PC1. El resto de las muestras se localizan en valores intermedios de PC1, exceptuando la muestra de cloruro que se aleja del centro. En este sentido y dadas las ubicaciones de los clusters de cloruro y sulfato en el eje PC2, se debe analizar que este eje se correlaciona con la señal (y por ende la afinidad) de los electrodos sobre estos dos aniones. En la **Figura 14** se analizan los mismos resultados, pero en la matriz de datos X se añade el valor de pH medido de cada disolución como una nueva variable. Si bien los resultados son semejantes, con la adición de esta variable se logra un ligero aumento del total de varianza explicada.

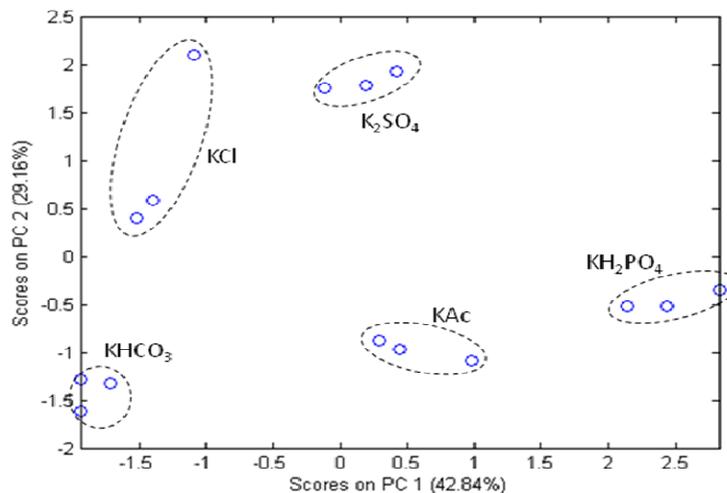


Figura 13. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las disoluciones de sales de potasio no tamponadas.

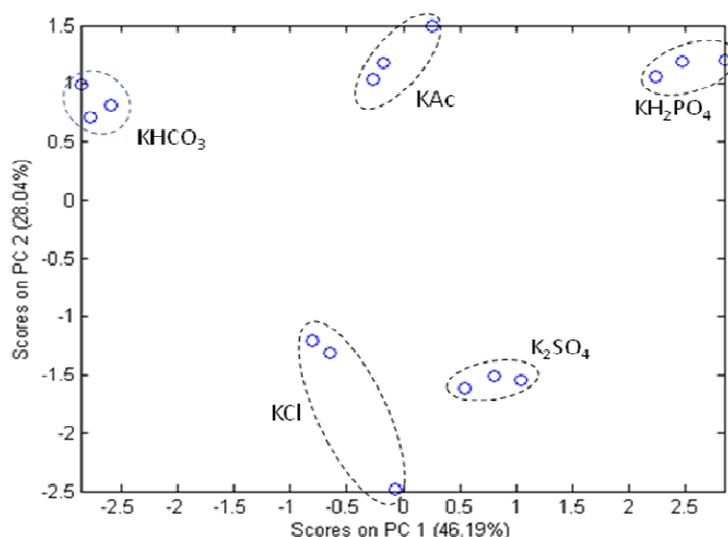


Figura 14. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf, conductividad y pH de las disoluciones de sales de potasio no tamponadas. PC1 vs. PC2.

Con el objetivo de verificar que el patrón de reconocimiento estará gobernado por la mayor afinidad de los electrodos metálicos sobre los aniones que los cationes en las disoluciones tamponadas, se analizan a continuación los resultados de la regresión de componentes principales de las medidas de potencial y conductividad de muestras de cloruros, sulfatos y bicarbonatos de sodio y potasio. En la **Figura 15**, se observa una buena separación entre todos los clusters referidos a las disoluciones, aunque en este sentido se debe indicar una separación menor entre los clusters de diferente catión, comparada con una distancia mayor entre clusters de aniones distintos.

Para realizar un análisis más riguroso de la menor afinidad de los electrodos sobre los cationes, se incluyen también en este análisis muestras de cloruro de litio y sulfato de magnesio. Los resultados experimentales de las mediciones de potencial y conductividad se representan en el gráfico PCA de la **Figura 16**. Aquí, algunos

clusters que incluyen disoluciones de cloruro, sulfato y bicarbonato aparecen cercanos entre sí sobre la zona central de PC1, aunque para el caso de las sales de bicarbonato, esta se puede considerar una ubicación correcta siguiendo el patrón de separación por aniones verificado anteriormente. Los sulfatos de sodio y potasio se localizan hacia los valores más positivos de PC1 manteniendo también el comportamiento anterior; mientras que el cluster de $MgSO_4$ aparece ubicado cercano a la muestra de NaCl y bicarbonatos. En cuanto a las disoluciones de cloruros, dos de ellas (LiCl y KCl) aparecen en el extremo negativo de PC1, sin embargo el cluster de NaCl se mueve hacia el centro del plano. Se plantea entonces analizar estos datos de todas las disoluciones de cationes distintos en un gráfico PCA de tres dimensiones (PC1 vs PC2 vs PC3) pues en los cálculos de la varianza, el tercer componente PC3 explica un 18.58 % de la varianza total (Ver **Figura 17**). Aquí la semejanza o cercanía entre muestras de anión común aparece de forma más clara, sobre todo en el eje PC3, aunque hay que señalar que tanto en este gráfico como en el plano PC1 vs PC2 la distancia entre la ubicación del $MgSO_4$ y el resto de los sulfatos induce a pensar en un nuevo posible patrón de separación debido a la diferencia de valencia de los cationes.

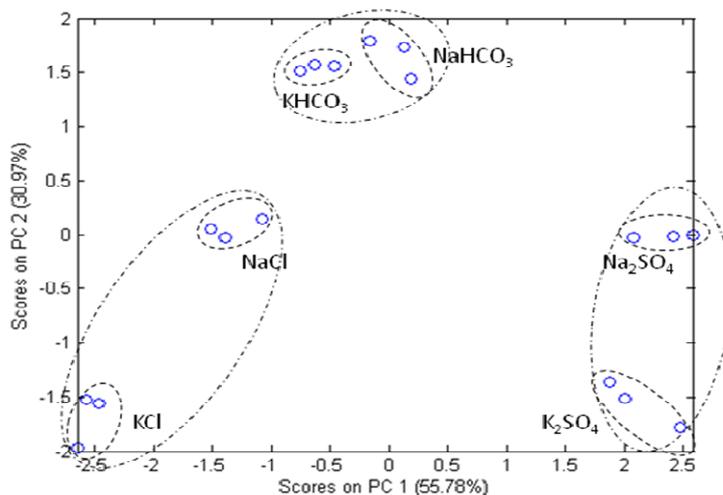


Figura 15. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las disoluciones de sales de sodio y potasio tamponadas.

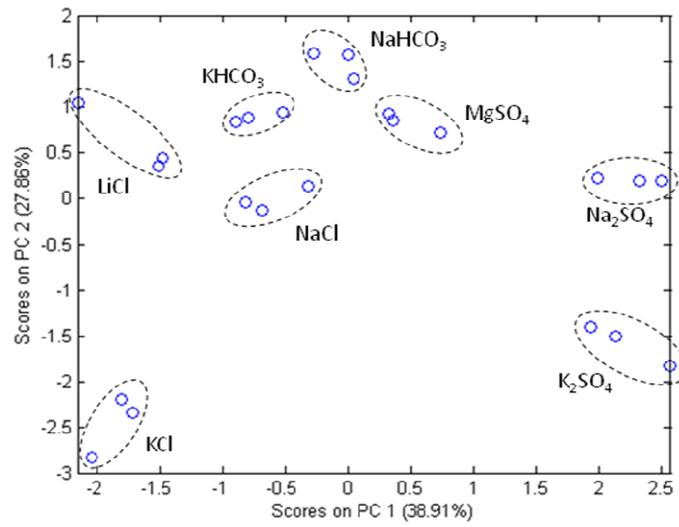


Figura 16. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las disoluciones de sales de sodio, potasio, litio y magnesio tamponadas. PC1 vs. PC2.

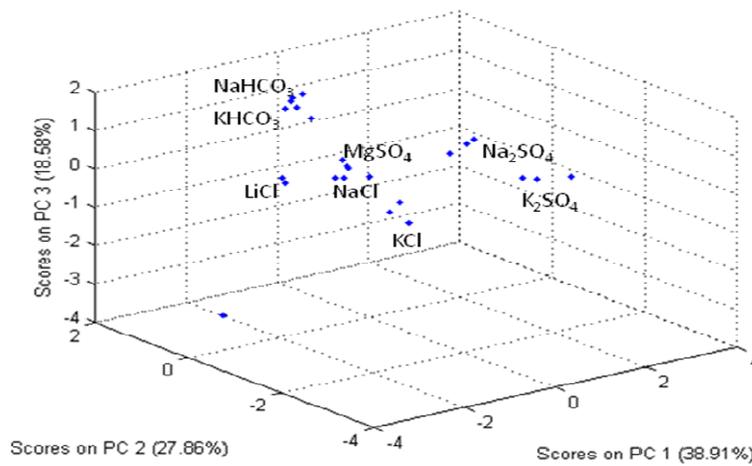


Figura 17. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las disoluciones de sales de sodio, potasio, litio y magnesio tamponadas. PC1 vs. PC2 vs. PC3.

En este punto, la capacidad de la lengua electrónica potenciométrica de separar o discriminar muestras siguiendo un patrón de reconocimiento debido a la cierta afinidad o parcial selectividad de los electrodos metálicos sobre los aniones del medio ha quedado verificada. En los siguientes experimentos nos dispondremos a estudiar la posible existencia de un patrón de reconocimiento debido no sólo a la afinidad de los electrodos sobre los aniones, sino también a las diferencias entre los niveles o concentraciones de estos en las muestras que se analicen. De esta forma, y como segundo experimento, analizaremos los datos obtenidos de las mediciones de potencial de electrodo y conductividad sobre las muestras M1, M2 y M3, preparadas mediante mezclas controladas de las disoluciones tamponadas de KCl, K_2SO_4 y $KHCO_3$.

En el grafico PCA que se muestra en la **Figura 18** aparecen todos los clusters de las mezclas M1, M2 y M3 (**Tabla 3**); así como de las disoluciones de KCl, K_2SO_4 y $KHCO_3$ tamponadas. La separación entre todas las mezclas, pero además entre las sales puras es muy buena, indicando la existencia de un posible patrón de separación debido a diferencias entre las concentraciones aniónicas. En este sentido, si trazáramos un triángulo imaginario con vértices sobre el centro de cada cluster de disolución pura, podremos apreciar cierta correlación entre la posición de cada muestra y su disolución mayoritaria. Obsérvese que M2 se localiza más cerca del vértice del triangulo formado por el cluster de K_2SO_4 y más alejada del vértice KCl (composición de M2: 0.03M de K_2SO_4 , 0.015M de $KHCO_3$ y 0.005M de KCl). Un comportamiento similar se observa para M3, ubicada cercana al vértice de $KHCO_3$ y alejada del vértice de K_2SO_4 (composición de M3: 0.03M de $KHCO_3$, 0.015M de KCl y 0.005M de K_2SO_4). En el caso de M1, aunque la distancia entre su cluster y el vértice formado por KCl sea superior a la distancia sobre el resto de los vértices,

su ubicación en el triángulo, así como su posición con respecto a las otras mezclas corrobora que la separación sigue un patrón similar al resto de muestras.

En el tercer experimento se realiza una verificación más práctica de la existencia de patrones de reconocimiento debidos a diferencias entre los niveles de las especies aniónicas que conforman las muestras. Se analizan los resultados experimentales de las mediciones de potencial y conductividad realizados sobre ocho muestras de aguas minerales, todas ellas compuestas fundamentalmente por aniones cloruro, sulfato y bicarbonato, además de algunos cationes alcalinos o alcalinotérreos. Las diferencias en los niveles iónicos de cada muestra aparecen en la **Tabla 4**. Las mezclas M1, M2 y M3 también han sido incluidas en este análisis dada la similitud en su composición aniónica con las aguas minerales.

En el gráfico PCA representado en la **Figura 19**, los clusters de todas las muestras analizadas se ubican en cuatro zonas bien definidas del plano. En una primera zona formada por los valores positivos de PC1 y PC2 (cuadrante positivo) nos encontramos ubicadas las muestras de aguas minerales Bezoya y Montcalm, las cuales entran en la clasificación como aguas de “muy baja mineralización”. En la zona central (cercano al intercepto de los ejes) aparecen los clusters de Fontvella y Lanjarón, clasificadas como aguas de “baja mineralización”, además de Primavera, la cual presenta una mineralización relativamente alta. Las muestras de aguas carbonatadas aparecen ubicadas separadas del resto de las muestras, en la zona de mínima varianza de PC2. En este sentido, las muestras carbonatadas Perrier y Primavera-gas se localizan cercanas entre sí, mientras que VichyCatalán se aleja del resto de las carbonatadas, hacia valores mínimos de PC1, debido fundamentalmente a su alto contenido iónico, específicamente su alto contenido de bicarbonatos.

Analizando la ubicación de la muestra de agua mineral VichyCatalán (de mayor contenido iónico que el resto) sobre valores muy negativos de PC1, así como de las tres mezclas M1, M2 y M3, con contenidos aniónicos muy superiores incluso que VichyCatalán (apareciendo en los extremos negativos de PC1) se puede señalar que existe correlación entre el primer componente principal y el contenido iónico de las muestras. Este planteamiento se fortalece más aun si analizamos que las muestras de menor contenido iónico (mineralización muy débil) aparecen

localizadas en los extremos positivos de PC1, y además si consideramos que del total de varianza del sistema, el primer componente explica un 66.38%.

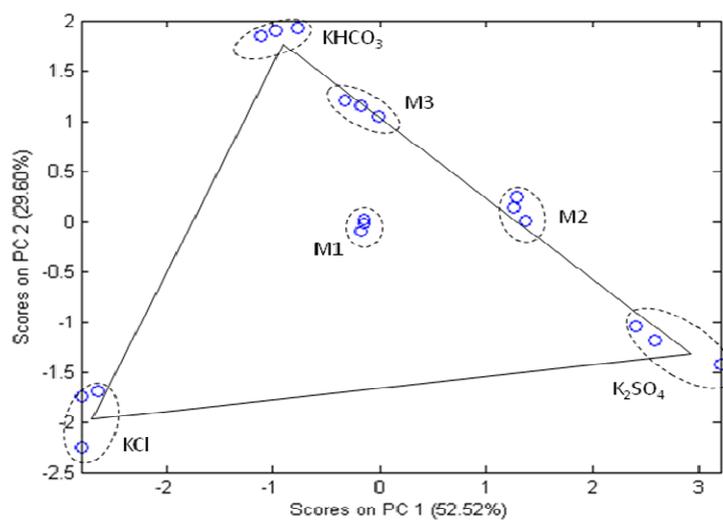


Figura 18. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las mezclas M1, M2 y M3, y de las disoluciones de sales de potasio correspondientes.

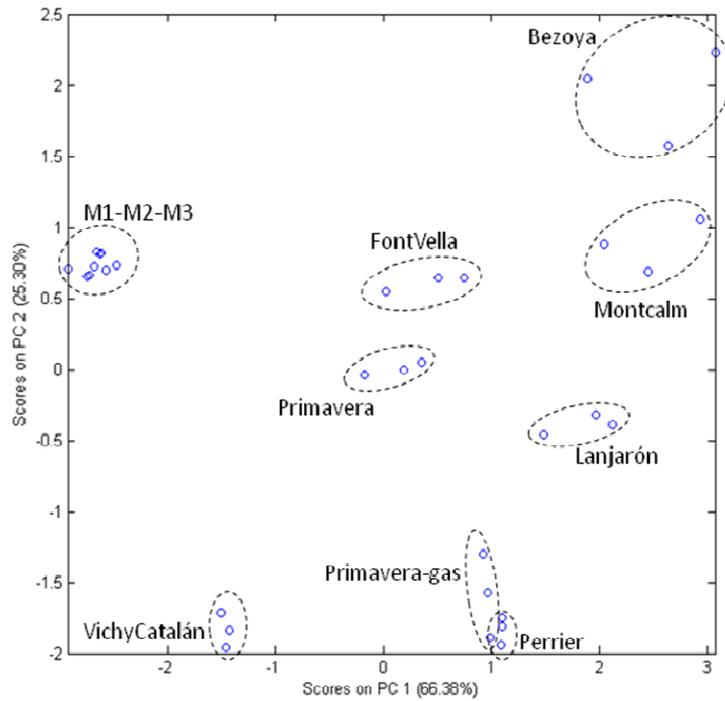


Figura 19. Gráfico PCA de los valores experimentales de emf y conductividad de las muestras de aguas minerales.

I.1.32 Análisis cuantitativo. Predicción de las concentraciones aniónicas

A raíz de encontrar patrones de reconocimiento basados en la selectividad parcial de los electrodos que conforman la lengua electrónica sobre los componentes iónicos de las muestras analizadas, así como de diferencias en las concentraciones de estos, se crean modelos de predicción usando las herramientas estadísticas del Análisis Multivariado, y específicamente Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS) con el objetivo de cuantificar los niveles o concentraciones de los aniones cloruro, sulfato y bicarbonato en muestras acuosas. Como bien se explicó anteriormente, para crear los modelos de predicción se requiere primeramente realizar un entrenamiento o una calibración del sistema. Esto se lleva a cabo

preparando un set de patrones de calibración de concentración conocida, seguido de medidas potenciométricas y conductividad sobre dicho set, y posteriormente se construye el modelo, el cual se verifica sobre muestras reales.

Para la calibración del sistema se ha creado un sistema de tres componentes/ tres niveles. Esto es, tres componentes a analizar (aniones cloruro, sulfato y bicarbonato) y tres niveles de concentración de cada uno de ellos (nivel bajo: 0 molar, nivel medio: 0.015 molar y nivel alto: 0.03 molar). Mediante el programa de diseño experimental MODDE 8.0 se determinan la cantidad de patrones a preparar que incluyan toda la información relevante en este sistema, así como la distribución de los niveles de cada anión en cada muestra (Ver **Tabla 5**).

Posterior a la realización de medidas potenciométricas, los datos son importados a Matlab para crear la matriz X referentes a los datos experimentales. La matriz X tendrá unas dimensiones de 54 filas por 1000 columnas (las 54 filas se refieren al número de muestras, que son 18 pero se realizan tres repeticiones (Ver parte experimental). Lógicamente, la matriz Y tendrá un número de filas igual a la matriz X, y el número de columnas será tres, referentes a los niveles de las especies a predecir. Los datos experimentales se analizan mediante validación cruzada (*cross validation*), y a su vez, esta herramienta nos permite además seleccionar el número de variables latentes a utilizar en la creación de los modelos de predicción *PLS*.

Después de preparadas todas las matrices de datos, se construyen los modelos de predicción sobre el set de calibración. Los resultados de esta calibración se muestran en los gráficos PLS de las **Figuras 20, 21 y 22**, donde se representa la correlación entre los valores de Y conocidos o medidos, y los valores predichos mediante el modelo creado. La evaluación del modelo creado se realiza mediante ajuste lineal de los valores predichos y posterior análisis de los parámetros de ajuste.

La **Figura 20** representa la predicción de los niveles de cloruro para el set de calibración. Mediante un análisis visual previo, se puede deducir a raíz de la menor distancia de los datos experimentales o predichos sobre la línea de referencia de

niveles conocidos (línea verde) que la predicción del cloruro es mejor que la de el resto de los elementos (Ver **Figura 21**: Predicción de sulfatos y **Figura 22**: Predicción de bicarbonatos). Esta deducción queda comprobada mediante la evaluación del modelo de predicción realizando el ajuste lineal de los puntos experimentales. De dicho ajuste se obtuvieron los parámetros p_1 (relativo a la exactitud del método) igual a 0.905, y los residuos normalizados NR, iguales a 2.110 (relacionado directamente con la precisión del modelo). La predicción del sulfato generó parámetros de ajuste $p_1=0.644$ y $NR=3.48$, mientras que para el bicarbonato, los parámetros fueron $p_1=0.685$ y $NR=3.38$. En este sentido se debe indicar que la predicción de sulfato y bicarbonato se considera de exactitud y precisión moderadas.

Si se adicionaran las medidas de conductividad de cada muestra patrón como una nueva variable, los resultados cambiarían significativamente. Al realizar la predicción con la nueva variable formando parte de la matriz de datos X, la predicción de bicarbonato no experimentaría ningún cambio (los nuevos parámetros de ajuste son similares a los mostrados anteriormente: $p_1=0.689$, $NR=3.37$). Sin embargo, para el caso del cloruro, la predicción experimenta un ligero empeoramiento, y contrario a ello, la predicción del sulfato mejora considerablemente, manifestando un aumento en la precisión (traducido como una disminución del parámetro NR) desde 3.48 hasta 1.73, y además aumentando su exactitud reflejada en un aumento de la pendiente de ajuste a 0.94 (Ver **Figura 23**). Este comportamiento es razonable si se tienen en cuenta que la conductividad iónica molar del sulfato ($\lambda^0 = 160 \Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$) es considerablemente más alta que la del cloruro ($\lambda^0 = 76.3 \Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$) y la del bicarbonato ($\lambda^0 = 44.5 \Omega^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$).

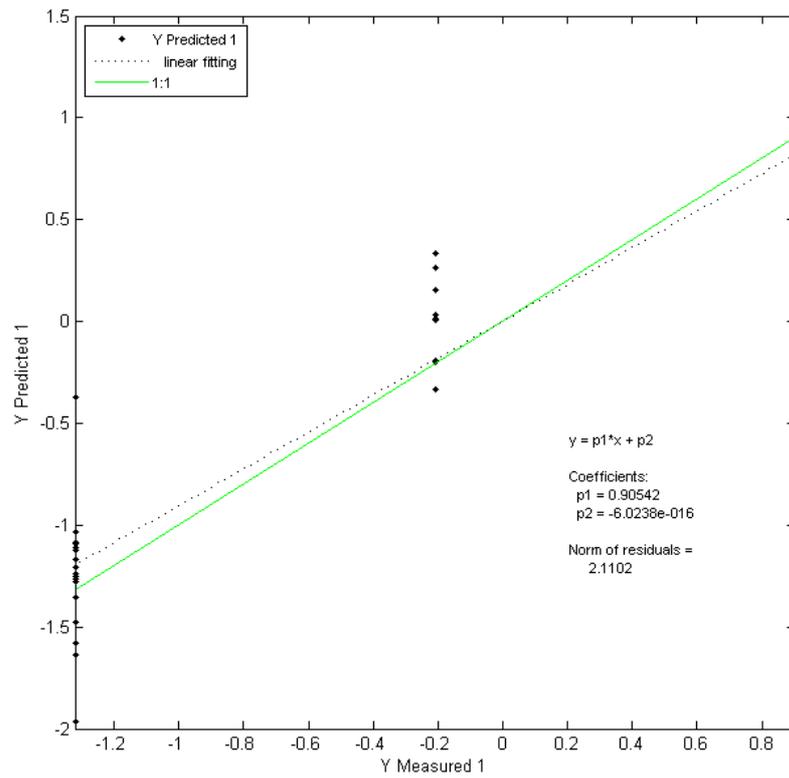


Figura 20. Gráfico PLS de la predicción de cloruros para el set de calibración.

Número de variables latentes: 6.

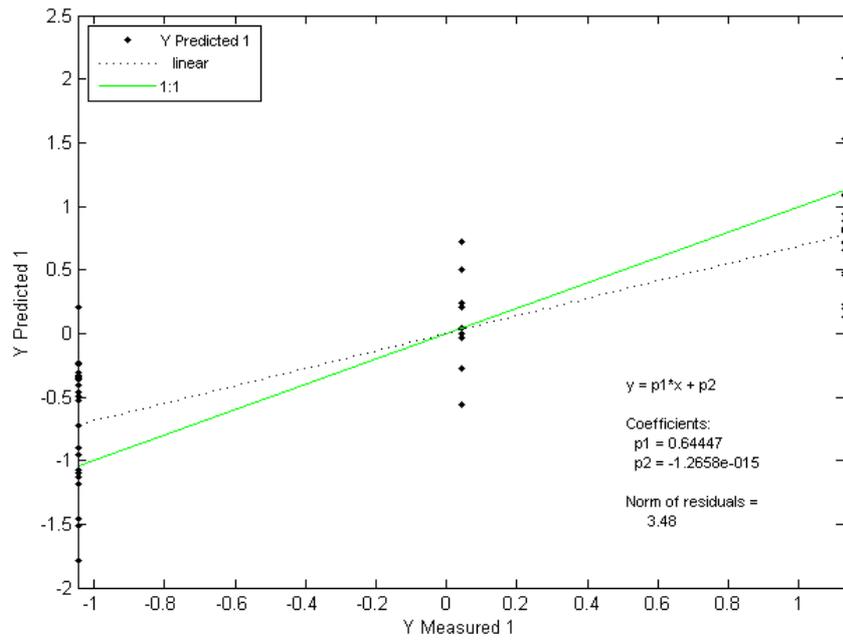


Figura 21. Gráfico PLS de la predicción de sulfatos para el set de calibración. Número de variables latentes: 6.

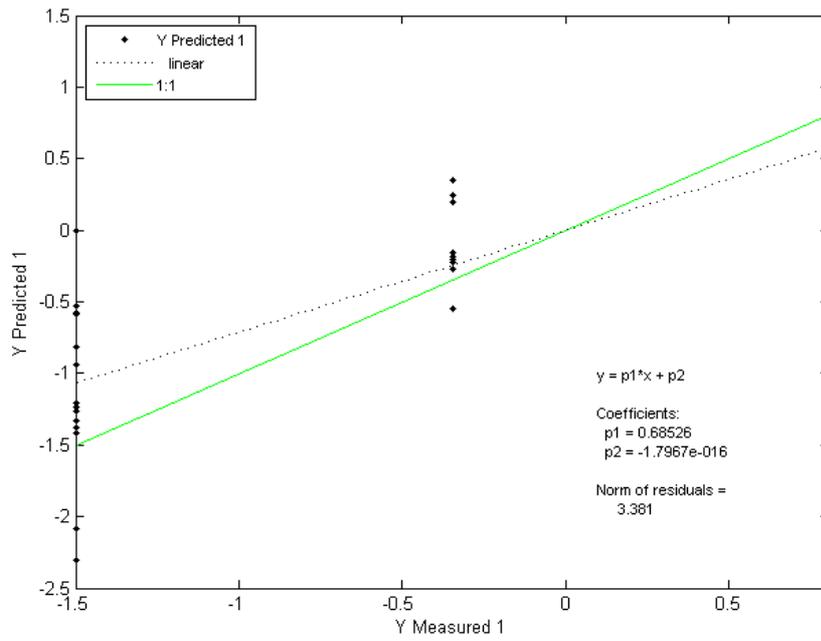


Figura 22. Gráfico PLS de la predicción de bicarbonatos para el set de calibración.

Número de variables latentes: 6.

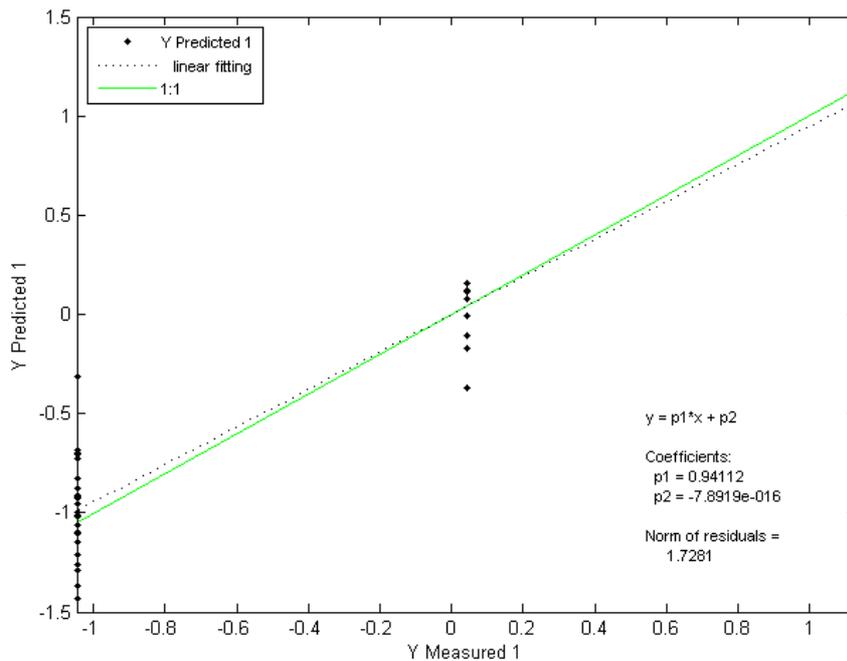


Figura 23. Gráfico PLS de la predicción de sulfatos para el set de calibración (incluida la variable conductividad). Número de variables latentes: 6.

La validación de los modelos de predicción creados se realiza mediante medidas de potencial (y de conductividad cuando se requiera) sobre muestras de concentraciones desconocidas (lo que significa que no existe una segunda matriz Y). Con los datos obtenidos se generará la nueva matriz de datos X, sobre la cual se aplicará el modelo creado previamente en la calibración para de esta forma calcular o predecir los niveles de las especies aniónicas estudiadas. El procedimiento de cálculo, los comandos utilizados y algunos parámetros incluidos en la metodología se explican brevemente a continuación:

Una vez creadas las matrices de datos X y de niveles Y en la calibración, y además determinada la cantidad de variables latentes mediante validación cruzada, se crea el modelo de predicción de cada especie aniónica estudiada:

$$model(X^n) = pls(X, Y, lv);$$

donde:

X^n representa la especie analizada

X y Y : matrices de datos y niveles respectivamente

lv : número de variables latentes

Creado el modelo, se realiza la validación de este mediante predicción de las especies en muestras de concentraciones desconocidas:

$$pred(X^n)=pls(XI, model(X^n));$$

donde:

XI es la nueva matriz de datos de las mediciones sobre las muestras de concentración desconocida.

$model(X^n)$ es el modelo de predicción creado en la calibración.

Los resultados de esta predicción se pueden representar de forma gráfica o simplemente de forma numérica. En la **Tabla 8** se representan los resultados obtenidos de predicción de muestras de concentraciones desconocidas para la validación de los modelos creados. Las muestras analizadas son: aguas minerales Bezoya, FontVella y Lanjarón, agua del grifo del laboratorio y una muestra de agua de mar proveniente de la playa de La Malvarrosa. Además de las medidas potenciométricas sobre estas muestras, se realizaron medidas de la conductividad, aunque según los resultados previos de la calibración, esta variable se incluyó en la matriz X solamente para el cálculo de las concentraciones de sulfato. Los resultados de la predicción son validados mediante comparación con las concentraciones reales de las muestras. Las concentraciones de las muestras de agua de grifo y de mar fueron analizadas mediante los métodos de análisis establecidos para la determinación de aguas y de agua de mar respectivamente [122, 123]; mientras que las concentraciones aniónicas de las muestras de aguas minerales fueron tomadas según la información de la botella.

Los resultados de la validación muestran entonces una capacidad predictiva mayor para las determinaciones de cloruros y sulfatos que para bicarbonatos, lo cual era un resultado esperado según resultados previos. No obstante, esta capacidad predictiva sobre sulfatos y cloruros puede considerarse moderada en términos de exactitud, debido a las diferencias entre los datos predichos y los datos reales de concentración que se manifiestan en algunas ocasiones. La predicción en la muestra de agua de mar (no incluida en la **Tabla 8**) resultó completamente imprecisa lo cual se debe a dos razones: los niveles aniónicos e iónicos en general son mucho más altos que los niveles de las especies usados en la calibración, y además, la presencia de un número considerablemente alto de especies químicas en el agua mar, tanto activas como no activas, afecta con total seguridad la respuesta de los electrodos, lo que se conoce frecuentemente como “efecto matriz”.

Independientemente de las capacidades predictivas moderadas mostradas por la lengua electrónica en estos estudios, esto debe considerarse de forma positiva, pues por primera vez un una lengua electrónica compuesta por electrodos metálicos ha sido utilizada para la determinación de especies aniónicas en aguas.

Tabla 8. Comparación entre los datos de concentración predichos y reales de cloruro, sulfato y bicarbonato sobre el set de validación.

| Muestra | Concentración predicha (mg/L) | | | Concentración real (mg/L) | | |
|-------------------------|----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Cl ⁻ | SO ₄ ²⁻ | HCO ₃ ⁻ | Cl ⁻ | SO ₄ ²⁻ | HCO ₃ ⁻ |
| Bezoya | 4.8 | - | 29.4 | <1 | - | 18 |
| Agua del grifo (Lab) | 89.7 | 240 | 474 | 117 | 286 | 251 |
| Lanjarón | 3.08 | 7.4 | 198 | - | 17.3 | 105 |
| Font Vella | 24.6 | 22.2 | 312 | 16.2 | 16.8 | 149 |

I.2 LENGUA ELECTRONICA VOLTAMETRICA PARA LA PREDICCIÓN DE LOS NIVELES DE BISULFITOS EN VINOS.

I.2.1 Introducción

Desde los primeros tiempos de elaboración del vino, la conservación ha sido considerada como uno de los objetivos más importantes a conseguir. Para ello, se ha llevado a cabo numerosas acciones, como por ejemplo, adicionar sustancias aromáticas provenientes de las plantas (resinas), sales y yesos, concentrar aun más el vino preparado y eliminar el aire usando aceites [124, 125]. Todas estas sustancias y procesos son adicionados o efectuados durante el proceso de preparación del vino. De ellos, los que cumplen la función de eliminar sustancias no deseadas del vino o del mosto son comúnmente denominadas “aditivos” (en ocasiones, se les denomina también “prácticas enológicas”).

Entre el amplísimo grupo de sustancias que pueden ser usadas como aditivos, el anhídrido sulfuroso (antioxidante E-220), o sencillamente SO_2 , es sin lugar a dudas el aditivo más ampliamente utilizado en vinificación y también el más indispensable. Los efectos antioxidante [126-128], antioxidásico [129-131] y antimicrobiano [132-134] del anhídrido sulfuroso, por todos sobradamente conocidos, convierten a esta molécula en una herramienta prácticamente imprescindible, no solo en la elaboración de vinos, sino también en la de otros productos alimentarios [135].

De hecho, el SO_2 se utiliza desde la época romana, lo que le convierte en uno de los aditivos alimentarios más antiguos. Sin la utilización del anhídrido sulfuroso, los vinos que obtendríamos serían muy probablemente peores en color y en aroma, y con claras desviaciones microbianas. Por el contrario, la correcta utilización del SO_2 permite obtener vinos menos oxidados, dotados de un mejor color y aroma, y sin lugar a dudas con una menor acidez volátil. Sin embargo, un exceso en la adición de este aditivo comportaría problemas de diversa índole. Una excesivamente alta concentración de dióxido de azufre puede alterar el aroma y el sabor del vino, puede provocar una excesiva formación de sulfuro de hidrógeno y mercaptanos, e incluso puede ser nociva para la salud del consumidor. Por esta última razón los niveles máximos de anhídrido sulfuroso en el vino están regulados por ley [136].

Cuando añadimos dióxido de azufre al mosto o al vino, en cualquiera de sus posibles formulaciones (metabisulfito, solución sulfurosa, etc.) se produce su hidratación, lo que conlleva a la formación de ácido sulfuroso, el cual estará más o menos disociado en función del pH del medio. La **Figura 23** ilustra estos complejos equilibrios.

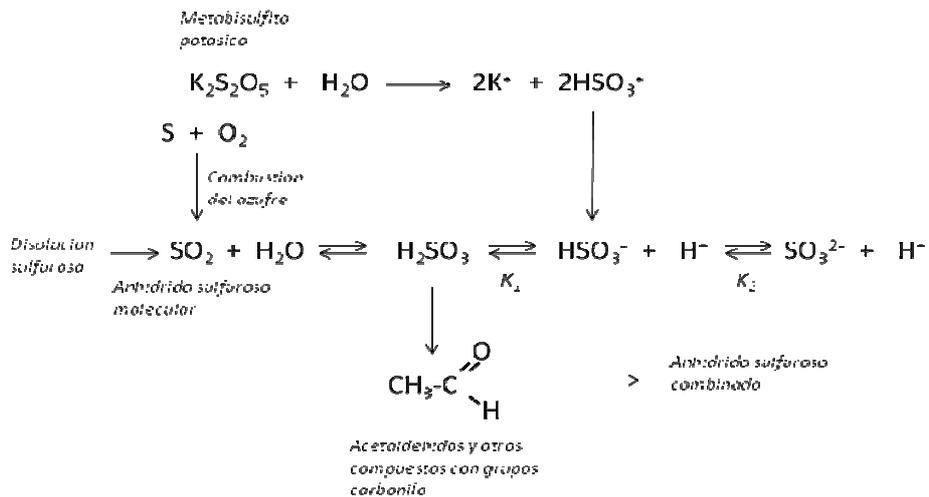


Figura 24. Diferentes formas químicas del SO₂ en vinos.

Por consiguiente en el vino, el anhídrido sulfuroso se haya presente en las tres formas químicas siguientes:

- El anhídrido sulfuroso molecular (SO₂): Esta forma química es la principal responsable de la actividad antimicrobiana [137]. Se considera generalmente que el anhídrido sulfuroso molecular es unas 20 veces más efectivo que el bisulfito en la inhibición de las levaduras y unas 500 veces más en la inhibición de las bacterias. Esta forma química también posee una cierta actividad antioxidante, y es la responsable del desagradable olor picante que presenta el anhídrido sulfuroso [138].
- El bisulfito (HSO₃⁻): Al pH del vino, esta es la forma predominante y es el principal responsable de la inactivación de las polifenoloxidasas [139]. Por tanto la actividad antioxidásica del dióxido de azufre depende de su presencia [131]. Por el contrario sus efectos antimicrobianos y antioxidantes son de poca importancia.

- El sulfito (SO_3^{-2}): Al pH del vino su presencia es mínima y por tanto su posible influencia también lo es. Aún así, el sulfito es capaz de reaccionar directamente con el oxígeno y con el peróxido de hidrógeno y por lo tanto posee una cierta capacidad antioxidante [128].

Evidentemente la proporción entre anhídrido sulfuroso molecular, el bisulfito y el sulfito viene determinado por las constantes de disociación ($K_1 = 1,7 \times 10^{-2}$; $K_2 = 5,0 \times 10^{-6}$) y por el pH del vino. La **Figura 25** muestra las curvas de evolución de las diferentes formas químicas en función del pH [139]. Como se puede ver en dicha figura, al intervalo de pH del vino, la forma mayoritaria es siempre el bisulfito, mientras que el sulfito es prácticamente inexistente. Por su parte, el SO_2 molecular, principal responsable de la actividad antimicrobiana de este aditivo, esta presente en proporciones apreciables a pH muy ácidos (5,52 % a pH = 3,0) y en proporciones muy escasas a pH poco ácidos (0,34 % a pH = 4,0).

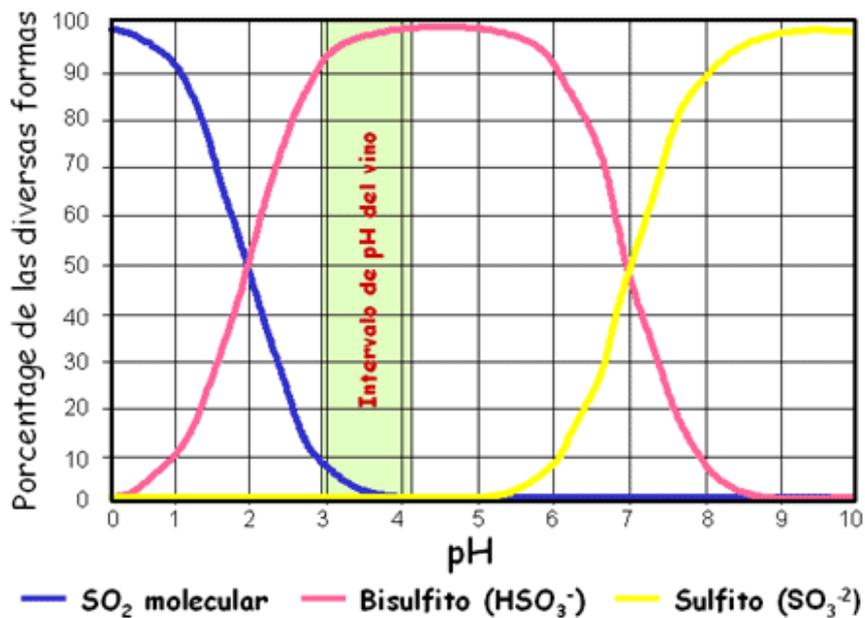


Figura 25. Equilibrio entre las diferentes formas del SO_2 en función del pH del vino

Dado que el bisulfito siempre es mayoritario, sea cual sea el pH, la acción antioxidásica del anhídrido sulfuroso apenas esta influenciada por este parámetro. Sin embargo, la actividad antimicrobiana del dióxido de azufre, al depender de la proporción de SO₂ molecular, estará condicionada no tan sólo por la dosis sino también, y de forma muy patente, por el pH del vino.

En décadas recientes, se han realizado numerosos esfuerzos enfocados en establecer la relación existente entre la composición química del vino y la señal sensorial, fundamentalmente en determinaciones espectrofotométricas y cromatográficas. Sin embargo, este tipo de determinaciones requiere de una gran inversión monetaria por parte de los laboratorios que la realizan, dado el alto costo del instrumental que se requiere. Además, las técnicas cromatográficas y espectrofotométricas consumen un tiempo considerable y requieren de personal cualificado para realizarlas. Por este motivo, el desarrollo de sistemas de análisis que garanticen una reducción en los gastos de inversión y del tiempo de medición en vinos cobra mucha fuerza. En este marco, las lenguas electrónicas representan una alternativa muy interesante, pues además de asegurar bajos costes de diseño como ventaja fundamental, su propia razón de ser como técnica para determinaciones en muestras multicomponentes las convierte en ideales para determinaciones en vinos, que generalmente son muestras complejas compuestas por un número considerable de especies químicas. Como ventaja adicional, las lenguas electrónicas son técnicas no destructivas de la muestra analizada.

Las bebidas alcohólicas en general, y más específicamente los vinos, constituyen el mayor campo de aplicación de las lenguas electrónicas desde su creación [47-52]. Estos estudios han estado enfocados generalmente al análisis de propiedades de vinos, como contenido alcohólico, contenido de polifenoles, etc.; así como también se han aplicado para la identificación o discriminación de muestras según origen de la uva, tiempos de envejecimiento, entre otras propiedades.

Las lenguas electrónicas compuestas por sensores voltamétricos se presentan como una opción interesante en el análisis de vinos, principalmente debido a su alta

selectividad y a la posibilidad de aplicar distintos modos de medidas voltamétricas, que incluirían la voltimetría cíclica y de pulsos, entre otras. Entre los grupos que se han especializado en el diseño de lenguas electrónicas a ser aplicadas en análisis de muestras de vinos, y específicamente, lenguas electrónicas basadas en medidas voltamétricas, se debe destacar el grupo de investigadores de la Universidad de Valladolid, quienes han presentado dispositivos compuestos por sensores químicamente modificados. Como ejemplo de este tipo de dispositivos se puede mencionar una lengua electrónica formada por dos familias distintas de sensores de capa gruesa litografiados sobre sustratos de oro, una de las familias compuesta por electrodos de pasta de carbono modificada con distintos tipos de ftalocianinas, y la otra compuesta por electrodos de polipirrol dopados con seis distintos tipos de aniones inorgánicos y orgánicos. Esta lengua electrónica fue aplicada en estudios en los que se comprobó su poder de discriminación entre vinos tintos envejecidos en barriles de roble y otros madurados en tanques de acero inoxidable y en contacto con astillas de roble [140]. En otros estudios con este mismo dispositivo se diferenciaron muestras en las cuales se adicionaron previamente distintos tipos de adulterantes como azúcares, ácidos tartárico, tánico y acético y etanol, los cuales modificaron las propiedades organolépticas de las muestras analizadas [49]. Se diseñaron además otros tipos de sensores bajo el mismo principio de modificación química de la superficie, como por ejemplo, una lengua electrónica compuesta por electrodos de pasta de carbono modificados con ftalocianina, derivados de perilenos y polímeros conductores. La nueva lengua fue diseñada para verificar la capacidad discriminativa sobre distintos tipos de vinos en dependencia del tipo de uva utilizada en el proceso de producción [50]. Todos los sensores diseñados se utilizaban en medidas voltamétricas que incluían las técnicas de voltimetría cíclica y de onda cuadrada, entre otras.

En el trabajo que se presenta a continuación se analiza la capacidad predictiva de una lengua electrónica para la determinación de los niveles o concentraciones de bisulfitos en muestras de vino. Dicha lengua electrónica se compone de cuatro electrodos de trabajo metálicos que actúan como sensores en medidas de

voltametría de pulsos, así como de un dispositivo automático de pulido de la superficie, que garantiza una limpieza óptima y por lo tanto una regeneración de la superficie activa de los sensores una vez realizada cualquier medición.

I.2.2 Experimental

La parte experimental de este trabajo consiste en la creación de modelos de predicción mediante PLS para la determinación de las concentraciones de bisulfitos presentes en muestras de vinos, a partir de los datos experimentales de medidas de voltametría de pulsos adquiridos mediante una lengua electrónica formada por cuatro electrodos metálicos (oro, acero inoxidable, platino y rodio). Las mediciones se realizan sobre un set de muestras patrones preparadas sobre vino blanco para la calibración del sistema; así como sobre un set de muestras que incluyen vinos blanco, tinto, rosado y zumos de manzana para la validación del modelo creado.

Debido a que los vinos son muestras de composición compleja mezcla de numerosas especies químicas, en este estudio se incluyen, además del bisulfito como especie principal, otras dos especies presentes en la muestra que se analiza, con el objetivo de analizar y contrarrestar el efecto correlativo entre ellas. Las dos especies que se incluyen en el análisis son el ácido ascórbico y la histamina, que con frecuencia forman parte de los vinos. El ácido ascórbico aporta su poder antioxidante, y la histamina se considera en ocasiones como indicadora de procesos de deterioro de alimentos. Así, mediante la aplicación de un diseño experimental, se crea un sistema de tres componentes/tres niveles para obtener toda la información de la forma más precisa y resumida posible.

Los tres niveles o concentraciones que presentarán las especies serán bajo, medio y alto. El nivel bajo quedará establecido como el nivel de fondo de cada especie presente en la muestra de vino utilizada para la calibración. El nivel de fondo de cada especie será previamente determinado mediante medidas en HPLC. Los niveles medio y alto representarán la adición del doble y el cuádruple del nivel de fondo detectado para cada especie respectivamente.

I.2.21 Lengua Electrónica

La lengua electrónica utilizada en este estudio ha sido diseñada por investigadores del Laboratorio de Física Aplicada de la Universidad de Linköping, en Suecia. Como se dijo anteriormente, este “array” está compuesto por cuatro sensores metálicos de oro, acero inoxidable, platino y rodio (aproximadamente 99.9 % de pureza y 1 mm de diámetro) encapsulados dentro de un cilindro de acero inoxidable mediante una resina epoxi. El potenciómetro utilizado para generar los pulsos de potencial, así como el sistema multiplexor que cambia el modo de trabajo en cada sensor también han sido diseñados en el mismo.

Esta lengua electrónica cuenta además con un dispositivo automático de pulido de la superficie, que no es más que un eje rotatorio que atraviesa el cilindro de acero inoxidable con una pequeña barra esmerilada en el extremo, en contacto con la superficie de la lengua electrónica y por ende, de los electrodos metálicos. El sistema de pulido cuenta además con un pequeño eje exterior que gira mientras el sistema pule la superficie, y se detiene al finalizar el tiempo de pulido justo cuando hace contacto con un haz de luz, con lo que se garantiza que la barra esmerilada no se superponga sobre los electrodos. El funcionamiento de este dispositivo automático garantiza una limpieza de la lengua electrónica mediante recuperación de la superficie activa de cada electrodo de trabajo, siempre después de cada exposición a la muestra. La **Figura 26** muestra una foto de la lengua electrónica con todos sus componentes así como un esquema del sistema de pulido de la superficie electrónica.

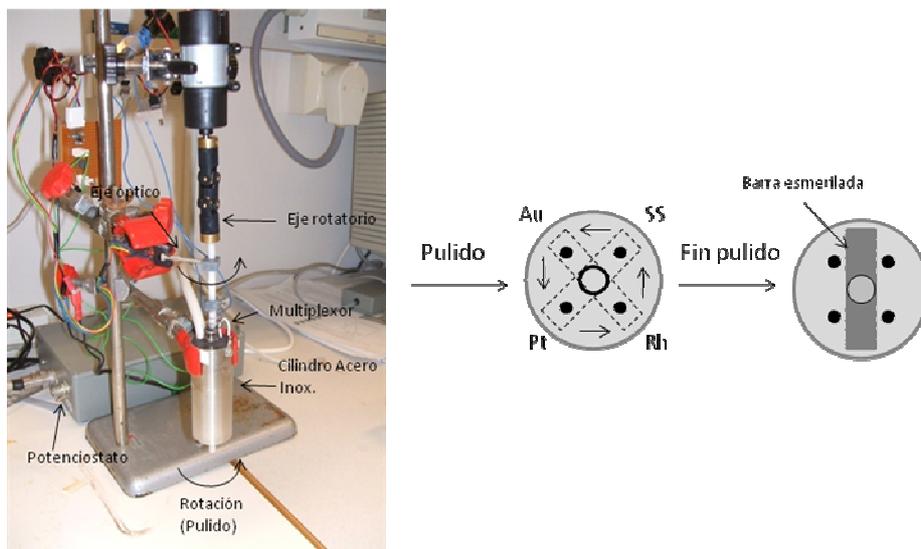


Figura 26. Lengua Electrónica Voltamétrica. Sistema automático de pulido de superficie.

I.2.22 Medidas HPLC

Se llevaron a cabo medidas cromatográficas HPLC con el objetivo de determinar los niveles de fondo de los tres compuestos en la muestra de vino utilizada para la calibración del sistema. El vino utilizado es un vino blanco alemán denominado “Bereich Nierstein” adquirido en el mercado local sueco.

Las mediciones cromatográficas se llevaron a cabo en un Cromatógrafo HPLC Agilent 1100, equipado con un detector de fotodiodos. El método establecido para las determinaciones se describe a continuación:

Columna Aquasil C18, dimensiones 250 x 4.6 mm, tamaño de partículas 5µm.

Sistema de disolventes: Mezcla H₂SO₄ 0.005 molar y Metanol puro.

Flujo: 0.4 ml/min.

Volumen de inyección de muestra: 10 µl.

Longitudes de onda (nm): 190; 210; 230; 254; 280.

Con este método, los compuestos deseados se detectaban en un tiempo de retención nunca superior a los 10 minutos. En la **Figura 27** se muestra el cromatograma de la muestra de vino blanco, así como la de la disolución patrón que incluía la adición de bisulfito, donde se puede establecer el tiempo de retención para esta especie transcurridos los 2.9 minutos. Así, los niveles de bisulfito, ácido ascórbico e histamina presentes en la muestra de vino blanco Bereich Niersten quedan establecidos: 0.18 g/l (bisulfitos); 0.1 g/l (ácido ascórbico) y 0.05 g/l (histamina).

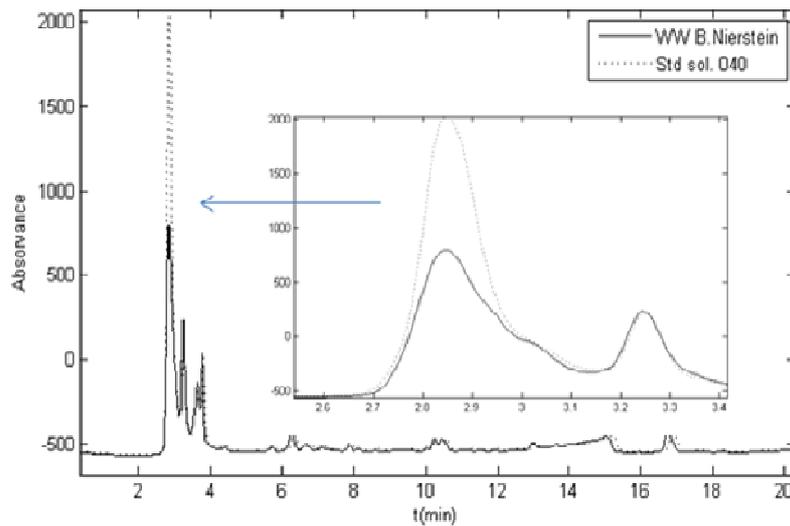


Figura 27. Cromatograma de la muestra de vino Bereich Nierstein y de una disolución patrón de bisulfitos

I.2.23 Preparación de las muestras

Con el objetivo de analizar y de cierta forma contrarrestar la correlación existente entre la señal de los sensores referentes a la presencia simultánea de los tres compuestos en las muestras, se crea un sistema de calibrado compuesto por tres especies químicas (bisulfitos, ácido ascórbico e histamina) y tres niveles de cada

especie en las muestras (bajo, medio y alto). La cantidad de muestras y el nivel de cada compuesto en cada muestra se establecen mediante el programa de diseño experimental MODDE 8.0 (UMETRICS). La aplicación de un diseño experimental nos brinda una rápida información de cómo mezclar los compuestos en las muestras patrones para que así se maximice la variación entre los factores del sistema (analitos) para un número determinado de experimentos y niveles. Así, un total de 18 disoluciones patrones se preparan por adición de los tres compuestos en los niveles establecidos sobre la matriz de vino blanco Bereich Nierstein. Los niveles de cada compuesto en cada disolución patrón se muestran en la **Tabla 9**.

Se crea también un set de muestras para el proceso de validación de los modelos de predicción creados. Este set incluye disoluciones de las especies analizadas en la misma matriz de vino utilizada en la calibración; así como en una matriz de vino blanco diferente al Bereich Nierstein (de características similares) y matrices diferentes como vinos tinto, rosado y dos tipos de zumos de manzana (concentrado y diluido). Los vinos utilizados en la validación son: vino tinto de mesa “Vegas del Rivilla”, vino rosado “Peñascal” y vino blanco “Antonio Barbadillo”, todos ellos adquiridos en Mercadona. Los zumos de manzana (concentrado y diluido) se adquirieron en el mercado local sueco.

Los niveles de los compuestos en cada muestra incluida en el set de validación se presentan en la **Tabla 10**. Teniendo en cuenta las diferencias entre las matrices utilizadas, se han preparado solamente tres muestras de cada matriz, adicionando de forma aleatoria los compuestos en cada muestra y asegurando que cada matriz cuente con su disolución representativa (esto es la matriz pura sin adición o 000). Para el caso de las muestras preparadas con la matriz Bereich Nierstein, aquí se han preparado más de tres muestras, y además se han incluido los dos niveles intermedios adicionales (adición de 0.5 y 3 veces el nivel de fondo) con el objetivo de verificar la capacidad predictiva de la lengua electrónica sobre cinco niveles distintos de cada compuesto.

Tabla 9. Composición de las disoluciones patrones del set de calibración según

MODDE 8.0 (en g/L)

| Muestra | Ácido ascórbico | Bisulf. Sodio | Histamina |
|----------------|------------------------|----------------------|------------------|
| 1 | 0.4 | 0.72 | 0.05 |
| 2 | 0.1 | 0.72 | 0.2 |
| 3 | 0.2 | 0.36 | 0.1 |
| 4 | 0.4 | 0.18 | 0.1 |
| 5 | 0.1 | 0.72 | 0.05 |
| 6 | 0.4 | 0.36 | 0.2 |
| 7 | 0.4 | 0.72 | 0.2 |
| 8 | 0.4 | 0.72 | 0.2 |
| 9 | 0.4 | 0.72 | 0.2 |
| 10 | 0.1 | 0.18 | 0.05 |
| 11 | 0.1 | 0.18 | 0.2 |
| 12 | 0.4 | 0.36 | 0.05 |
| 13 | 0.4 | 0.72 | 0.2 |
| 14 | 0.1 | 0.18 | 0.1 |
| 15 | 0.2 | 0.18 | 0.2 |
| 16 | 0.2 | 0.18 | 0.05 |
| 17 | 0.4 | 0.18 | 0.05 |
| 18 | 0.4 | 0.18 | 0.2 |

Tabla 10. Composición de las disoluciones del set de validacion (en g/L)

| Muestra | Matriz | Ácido ascórbico | Bisulf. Sodio | Histamina |
|----------------|---------------|------------------------|----------------------|------------------|
| 1 | Rw | 0.1 | 0.18 | 0.05 |
| 2 | Rw | 0.2 | 0.36 | 0.1 |
| 3 | Rw | 0.4 | 0.72 | 0.05 |
| 4 | Rs | 0.1 | 0.18 | 0.05 |
| 5 | Rs | 0.1 | 0.72 | 0.05 |
| 6 | Rs | 0.4 | 0.72 | 0.2 |
| 7 | Ww | 0.1 | 0.18 | 0.05 |
| 8 | Ww | 0.4 | 0.72 | 0.2 |
| 9 | Ww | 0.1 | 0.72 | 0.2 |

| | | | | |
|----|-----|------|------|-------|
| 10 | Ajd | 0.1 | 0.18 | 0.05 |
| 11 | Ajd | 0.1 | 0.18 | 0.2 |
| 12 | Ajd | 0.2 | 0.36 | 0.1 |
| 13 | Ajc | 0.1 | 0.18 | 0.05 |
| 14 | Ajc | 0.4 | 0.18 | 0.05 |
| 15 | Ajc | 0.4 | 0.72 | 0.2 |
| 16 | BN | 0.1 | 0.36 | 0.075 |
| 17 | BN | 0.15 | 0.36 | 0.15 |
| 18 | BN | 0.3 | 0.54 | 0.15 |
| 19 | BN | 0.3 | 0.27 | 0.1 |
| 20 | BN | 0.1 | 0.18 | 0.05 |

donde:

Rw: Vino tinto de mesa “Vegas del Rivilla”

Rs: Vino rosado “Peñascal”

Ww: Vino blanco “Antonio Barbadillo”

Ajd: Zumo de manzana diluído

Ajc: Zumo de manzana concentrado

BN: Vino blanco Bereich Nierstein

I.2.24 Medidas voltamétricas. Voltimetría de Pulsos

Las medidas voltamétricas se llevan a cabo aplicando un sistema de pulsos de potencial sobre cada electrodo en cada muestra y registrando posteriormente la respuesta de corriente eléctrica resultante en cada electrodo de trabajo y referida sobre el electrodo de referencia y el contraelectrodo o electrodo auxiliar. En este caso, el propio cuerpo cilíndrico de acero inoxidable de la lengua electrónica se

utiliza como electrodo auxiliar, y teniendo en cuenta que su área es considerablemente mayor que el área de contacto de los electrodos de trabajo, este se utiliza también como electrodo de “seudoreferencia” y de esta forma se simplifica aun más el sistema. El set de pulsos incluye 33 pulsos de potencial que van desde -0.8 a 0.7 V y con una duración de 50 ms cada uno. Los pulsos son generados por el potencióstato, y después de ejecutarse la secuencia de pulsos sobre uno de los electrodos, el multiplexor realiza el cambio automático hacia el otro electrodo. La generación de los pulsos, así como el almacenamiento de los datos de corriente se controlan a través del ordenador, mediante un programa diseñado en LabView. La forma del pulso aplicado, así como la forma de la curva de corriente resultante se ilustra en la **Figura 28**.

Una medición completa sobre una muestra incluye cuatro secuencias de medición, y cada secuencia incluye diez minimediciones. Una minimedición se realiza por la aplicación del set de pulsos sobre todos los electrodos (una vez cada uno). Por lo tanto, una minimedición genera 6600 valores de corriente, que se distribuyen en 1650 valores por cada electrodo (estos valores determinarán el número de columnas en las matrices X). El total de datos de corriente viene determinado por el número de pulsos, el tiempo de duración de cada pulso y la capacidad de memoria del sistema registrador. Los datos de la primera secuencia son siempre eliminados para eliminar así el posible ruido de la señal de los electrodos.

El experimento se lleva a cabo de dos formas: una con pulido de la superficie y la otra sin pulido, con el objetivo de verificar la factibilidad de este proceso. En el experimento con pulido, automáticamente después de cada secuencia de medición se ejecuta la limpieza de la superficie de la lengua electrónica, con una duración de 30 s. Después de este proceso de limpieza, el dispositivo se enjuaga con agua destilada. En el experimento sin pulido se realiza solamente un enjuague del sistema con agua destilada después de cada secuencia. Independientemente del experimento que se realice, cada muestra es medida tres veces para analizar la repetitividad del sistema. Además, las muestras son medidas en orden aleatorio para de esta forma eliminar la dependencia de los sensores con el tiempo.

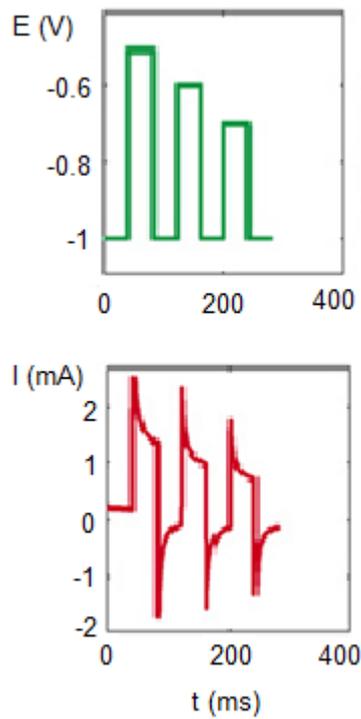


Figura 28. Forma general del pulso aplicado y de la curva de respuesta de la corriente.

I.2.25 Tratamiento de datos

Los datos de corriente registrados en las mediciones son almacenados como ficheros de texto, y posteriormente son importados al Matlab para la creación de las matrices X. Como se comentó anteriormente, el total de columnas (variables) obtenidas en la calibración (experimentos con y sin pulido) es 6600, mientras que el total de filas, que representa de forma directa la cantidad de muestras, fue de 2160, lo cual representa un total de 54 muestras (18 patrones medidos tres veces cada uno), por cuatro secuencias por diez minimediciones cada una. De esta forma se creará la matriz X, de dimensiones 54x6600 (se disminuye el total de filas a 54 después de promediar todos los valores obtenidos para cada muestra); y la matriz Y, de dimensiones 54x3, que representa los niveles de cada compuesto en cada

muestra (esta matriz es equivalente a los datos representados en la Tabla 7). Creadas las matrices X y Y, los datos son analizados mediante validación cruzada, de lo cual además se extraen la cantidad de variables latentes a ser usadas en los modelos de predicción. Con los datos autoescalados, se crean los modelos de predicción mediante PLS y se evalúan mediante ajuste lineal de los datos predichos. Los parámetros de ajuste p_1 , p_2 y NR ofrecerán información relativa a la capacidad predictiva de los modelos creados en términos de exactitud y precisión.

En la validación, las matrices X y Y tendrán dimensiones un tanto superiores ya que el set de validación presenta un número mayor de muestras. Estas serán de 60x6600 y 60x3 respectivamente. La validación cruzada de los datos, creación de los modelos PLS y evaluación de dichos modelos se realizará siguiendo el mismo procedimiento que para el set de calibrado.

I.2.3 Resultados

I.2.31 Proceso de Calibración

El entrenamiento del sistema mediante las mediciones voltamétricas sobre el set de calibración se lleva a cabo de dos formas distintas: una de ellas incluye un pulido de la superficie de la lengua electrónica automáticamente después de finalizada una secuencia de medición; mientras que la otra forma no incluye este proceso de limpieza. La idea de realizar el pulido de la superficie se basa en el electrodo de gota de mercurio. En este electrodo, la función del goteo es simplemente sustituir la gota de mercurio por una gota nueva sucesivamente, lo cual se traduce en asegurar siempre una superficie de contacto del electrodo limpia y sin impurezas debidas a los procesos redox que ocurren en el electrodo. Aunque la mecánica del proceso de pulido es diferente al goteo de mercurio, el objetivo que se persigue es el mismo, esto es garantizar una superficie electródica limpia cada vez que se entre en contacto con una muestra. Con los datos de corriente obtenidos de cada

experimento se crean dos matrices X distintas y una única matriz Y. Se crea entonces un modelo PLS de predicción para cada especie estudiada y para cada experimento. La evaluación de la predicción de cada elemento, así como para cada experimento se realiza mediante análisis de los parámetros de ajuste de los datos experimentales. Las **Figuras 29, 30 y 31** representan los gráficos PLS del bisulfito, ácido ascórbico e histamina respectivamente, para el experimento con pulido de superficie; mientras que en las **Figuras 32, 33 y 34** se muestran los mismos resultados, pero para el experimento sin pulido. Si se realizara un análisis visual de los resultados de la predicción, en ambos experimentos se llegaría rápidamente a la conclusión de que la predicción del bisulfito aparenta ser mucho más exacta que el resto de los compuestos, pues a simple vista se observa en ambos gráficos de este compuesto una menor distancia o deriva de los puntos experimentales “predichos” sobre la línea de referencia de niveles. Este hecho queda comprobado mediante el ajuste lineal de los puntos experimentales. El valor de los residuales normalizados NR para el bisulfito es muy pequeño (0.678) en comparación con el valor 3.105 obtenido para el ácido ascórbico y 2.907 obtenido para la histamina. Esta diferencia indica una mayor precisión en la predicción del bisulfito. Así mismo, la pendiente de la recta de ajuste (p_1) es mucho mayor para el bisulfito que para el resto, lo que nos indica también una mayor exactitud del modelo de predicción de este compuesto. Según el análisis de los parámetros de ajuste, la predicción de la histamina sería mucho más exacta y precisa que la del ácido ascórbico, aunque la magnitud de los parámetros de ajuste de ambos compuestos hace que se considere la capacidad predictiva de ambos modelos como moderada.

En el experimento sin pulido, la predicción de cada uno de los compuestos sigue un comportamiento exactamente igual que en el experimento con pulido de superficie, esto es una mejor capacidad predictiva para el bisulfito, y moderada para los restantes compuestos analizados. La factibilidad del proceso de limpieza de la superficie de la lengua electrónica queda verificada al analizar la exactitud y precisión de cada modelo de cada especie química que es mayor que su homólogo

en el experimento sin pulido. Un resumen de los parámetros de ajuste de los datos experimentales de ambos experimentos se muestra en la **Tabla 11**.

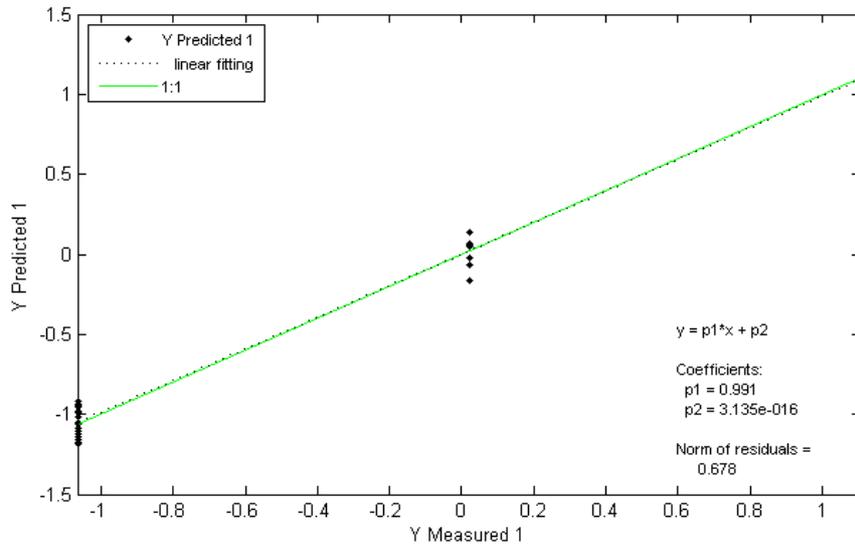


Figura 29. Gráfico PLS de la predicción del bisulfito para el set de calibración. Experimento con pulido de la superficie de la lengua electrónica. Número de variables latentes: 5.

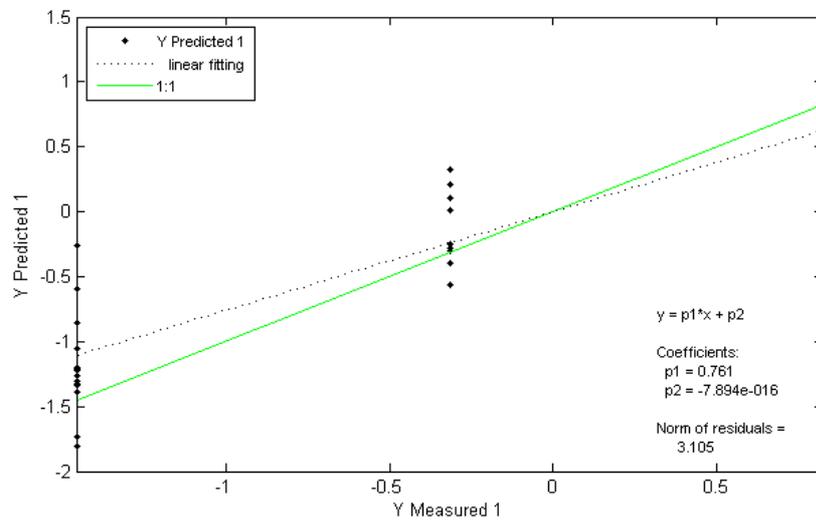


Figura 30. Gráfico PLS de la predicción del ácido ascórbico para el set de calibración. Experimento con pulido de la superficie de la lengua electrónica. Número de variables latentes: 6.

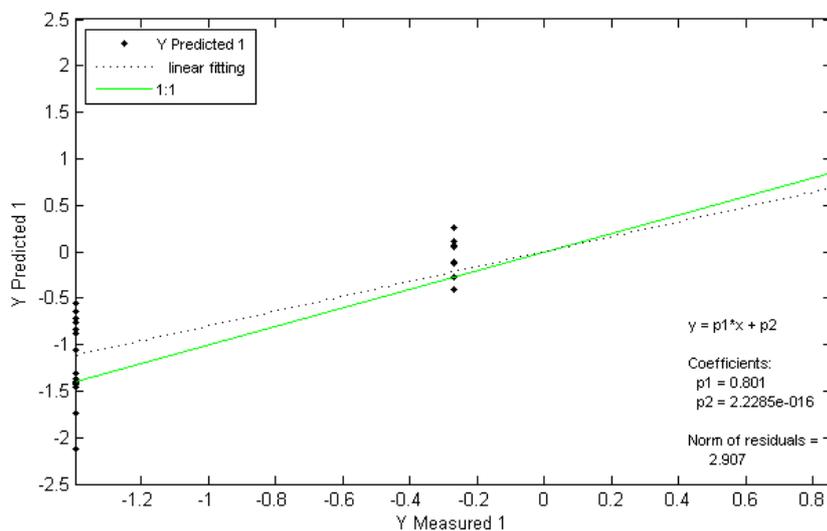


Figura 31. Gráfico PLS de la predicción de la histamina para el set de calibración. Experimento con pulido de la superficie de la lengua electrónica. Número de variables latentes: 6.

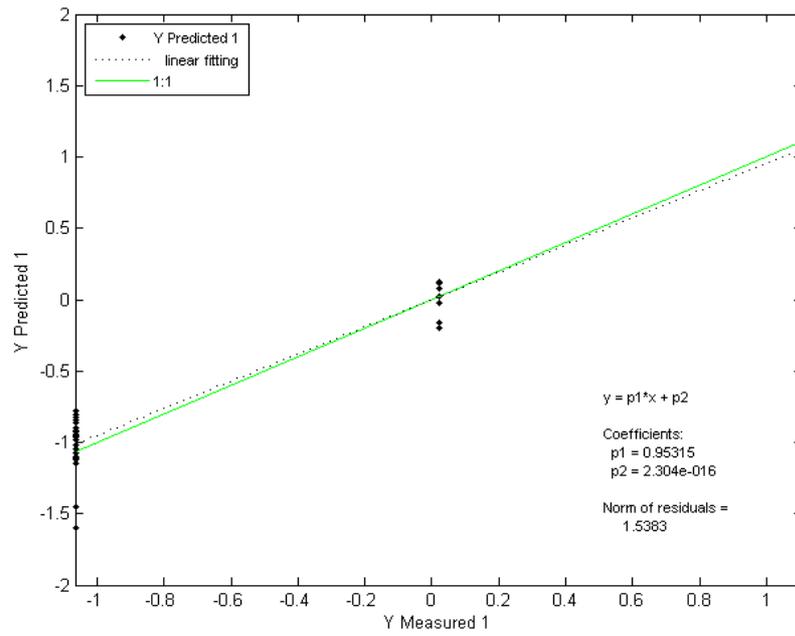


Figura 32. Gráfico PLS de la predicción del bisulfito para el set de calibración.
Experimento sin pulido de la superficie de la lengua electrónica. Número de variables latentes: 5.

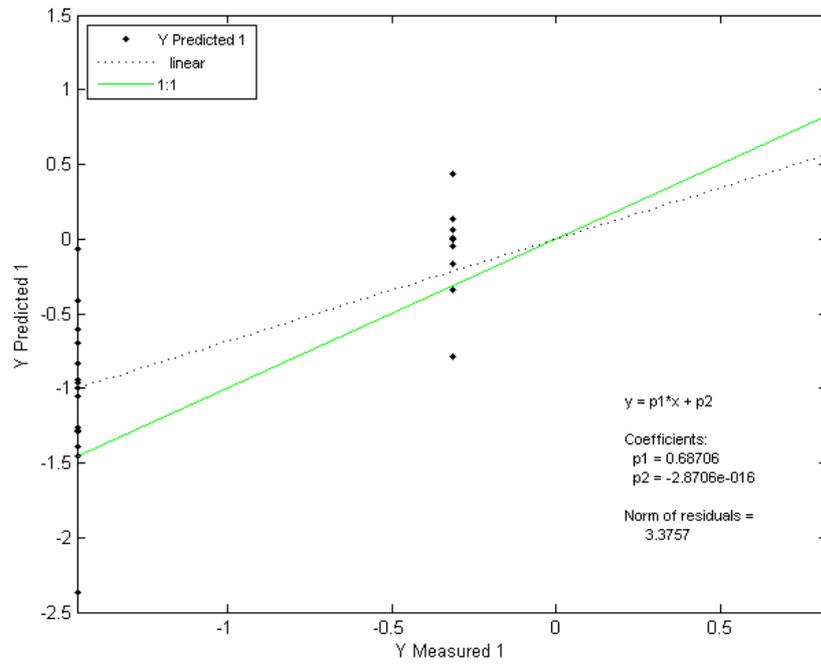


Figura 33. Gráfico PLS de la predicción del ácido ascórbico para el set de calibración. Experimento sin pulido de la superficie de la lengua electrónica. Número de variables latentes: 6.

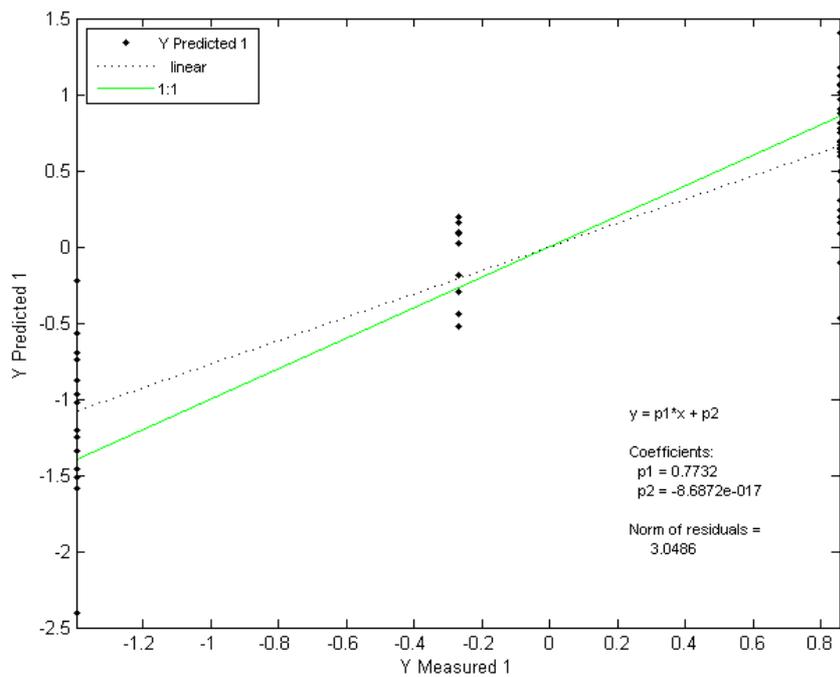


Figura 34. Gráfico PLS de la predicción de la histamina para el set de calibración. Experimento sin pulido de la superficie de la lengua electrónica. Número de variables latentes: 6.

Tabla 11. Comparación entre los parámetros de ajuste de los modelos de predicción PLS para el bisulfito, ácido ascórbico e histamina para los experimentos con y sin pulido de la lengua electrónica.

| Muestra | Experimento con pulido | | | Experimento sin pulido | | |
|------------------|------------------------|---------------------------|-------|------------------------|---------------------------|-------|
| | p1 | p2 (x 10 ⁻¹⁶) | NR | p1 | p2 (x 10 ⁻¹⁶) | NR |
| Bisulfito | 0.991 | 3.13 | 0.678 | 0.953 | 2.30 | 1.538 |
| Ác. Ascórbico | 0.761 | -7.89 | 3.105 | 0.687 | -2.87 | 3.375 |
| Histamina | 0.801 | 2.28 | 2.907 | 0.773 | -0.87 | 3.049 |

Los buenos resultados obtenidos en la predicción del bisulfito para el set de calibración se pueden atribuir a una selectividad superior de los electrodos sobre este elemento. Para verificar este hecho, se realiza un estudio de la actividad redox de los tres compuestos mediante voltametría cíclica. El experimento fue llevado a cabo en un potencióstato AUTOLAB PGSTAT110, sobre una disolución acuosa de cada compuesto, tamponada al pH aproximado del vino Bereich Nierstein (3.5) y utilizando KNO₃ como sal de fondo. El rango de potenciales del barrido comprendía entre -0.8 hasta 0.8 V, con un potencial inicial de 0 V y una velocidad de barrido de 0.1 V/s. El sistema electródico incluía los propios electrodos de trabajo de la lengua electrónica, el cuerpo cilíndrico como electrodo auxiliar y un electrodo Ag/AgCl como electrodo de referencia. Las curvas I vs E obtenidas de este barrido para el electrodo de oro se representan en la **Figura 35**. Precisamente al observar el voltagrama de cada elemento se pueden detectar ciertas diferencias en la actividad redox de cada uno. La curva del bisulfito experimenta una amplia onda que comienza a partir de aproximadamente 0.5 V que se puede atribuir a la oxidación de bisulfito a sulfato (ver **Figura 36**), así como un pico de reducción correspondiente al proceso contrario a aproximadamente -0.7 V. El ácido ascórbico experimenta una oxidación a potenciales cercanos a la onda de oxidación del bisulfito, aunque con una menor intensidad. De acuerdo a esta superposición de la señal, sería difícil para los electrodos distinguir cual de los procesos ocurre a este rango de potenciales, aunque su selectividad podría decantarse hacia la oxidación del bisulfito dada la mayor intensidad que experimenta este proceso. En el proceso de reducción no existe ningún tipo de interferencias por lo que la selectividad de

los electrodos sobre el bisulfito será definitivamente mayor. La histamina no experimenta actividad redox en todo el rango de potencial aplicado, aunque la “moderada” exactitud con que se predicen sus niveles se puede atribuir a la facilidad de formación de complejos con metales como el cinc y el hierro, los cuales con frecuencia aparecen en la composición de los vinos [141]. Aunque el valor de potencial de los pulsos aplicados no es lo suficientemente alto como para inducir una posible reacción redox de los complejos que se pueden formar entre estos metales y la histamina, estos se pueden localizar o moverse por el seno de la disolución cercanos a la superficie activa, con lo cual se podría modificar la respuesta del electrodo en términos de cambio de la corriente de difusión o de formación de la doble capa eléctrica. Olsson y colaboradores demostraron en estudios anteriores la capacidad predictiva de una lengua electrónica voltamétrica sobre surfactantes con actividad redox nula, siguiendo únicamente un patrón de reconocimiento basado en la modificación de la corriente de difusión de los electrodos [32].

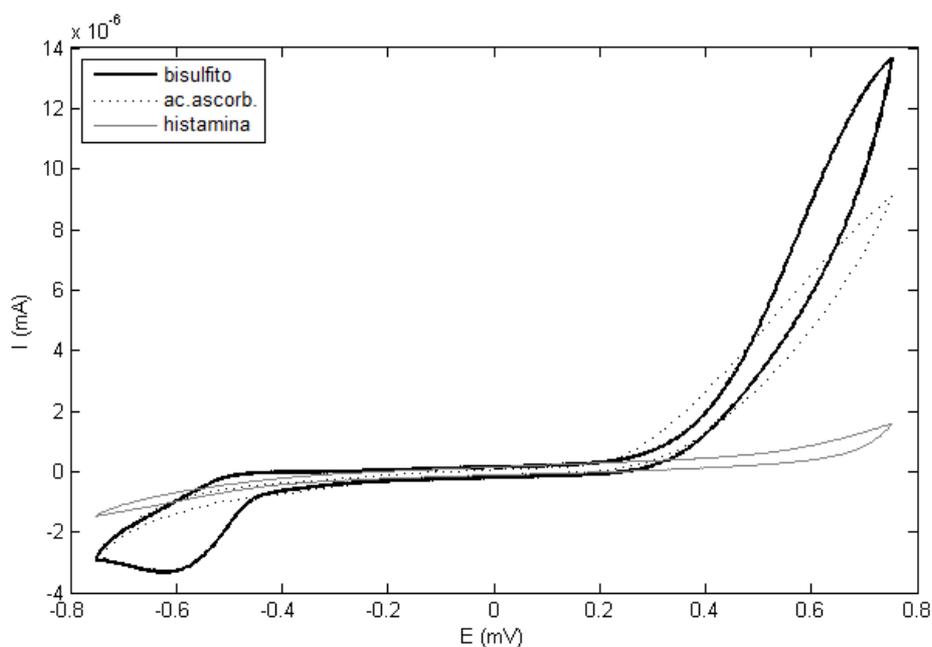


Figura 35. Voltagramas cíclicos de los compuestos estudiados sobre el electrodo de oro.

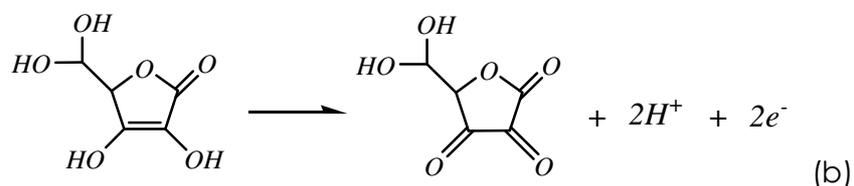


Figura 36. Reacción de oxidación del bisulfito (a) y del ácido ascórbico (b) sobre el electrodo de oro.

La carga (loading) de la señal de cada electrodo sobre la predicción de los elementos se puede analizar mediante validación cruzada de los valores de corriente obtenidos para cada uno de los electrodos. En la **Figura 37** se analiza esta carga de cada electrodo en términos de análisis de los errores de los mínimos cuadrados tanto en la propia validación cruzada (RMSECV) como en la calibración (RMSEC). Para esta validación cruzada, la matriz X de 6600 columnas se subdivide en cuatro matrices referentes a los cuatro electrodos, con un total de columnas de 1650 cada una en dependencia de la cantidad de datos de corriente obtenidos por cada electrodo. Toda la información contenida en las 1650 variables es reducida a 10 variables en la validación cruzada. Así, la mejor validación la ofrece el electrodo de oro, con los valores más pequeños tanto de RMSECV como de RMSEC (para las variables latentes 5 y 6 en las cuales se localiza aproximadamente el mínimo de error) y además muy cercanos entre sí. El acero inoxidable presenta una validación similar, aunque con unos errores ligeramente superiores. La peor validación la ofrecen los electrodos de platino y rodio, específicamente este último con valores de RMSECV y RMSEC alejados entre sí.

A partir de esta información, se analiza entonces la predicción de bisulfito para cada electrodo así como algunas combinaciones, para identificar así las mejores condiciones experimentales. En la **Tabla 12** se muestra un resumen de los parámetros de ajuste de los datos experimentales de predicción según el electrodo o la combinación de estos. Todos los parámetros resultantes del ajuste para cada electrodo son comparados con los valores obtenidos previamente con todo el conjunto de electrodos ($p1=0.991$, $NR=0.678$). Así, aunque los resultados de la validación cruzada arrojaron los menores errores para los datos obtenidos con el electrodo de oro, la predicción teniendo en cuenta únicamente estos datos no es ni más exacta ni más precisa que la obtenida para todo el conjunto. La predicción menos exacta obtenida tanto con el platino como con el rodio concuerda con los resultados de la validación, donde se detectaron los mayores errores. En la combinación de electrodos, los resultados obtenidos siempre y cuando se eliminaran los datos de corriente del platino y rodio (los dos, o al menos uno de ellos) fueron ligeramente superiores en cuanto a exactitud y precisión, aunque la diferencia es poco considerable, lo cual indica que el tratamiento multivariado no es un proceso simple en el cual se puede discriminar algún parámetro por sus aportes individuales. La mejor combinación de electrodos, y por ende, la mejor predicción de bisulfito en cuanto a precisión y exactitud se logró eliminando los datos obtenidos con el electrodo de platino.

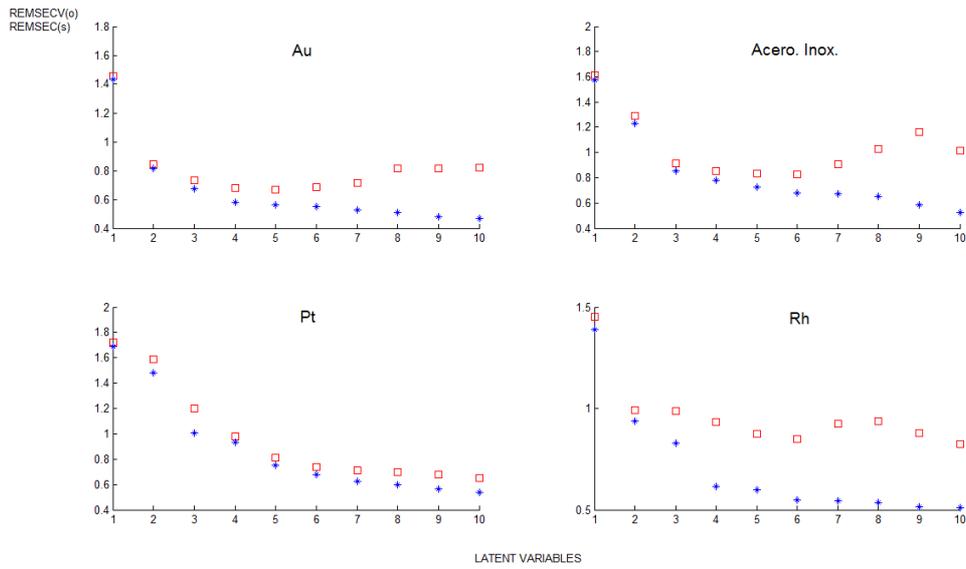


Figura 37. Validación cruzada de los datos experimentales obtenidos para cada uno de los electrodos.

Tabla 12. Parámetros de ajuste de los modelos de predicción de bisulfito creados con los datos de cada electrodo así como combinaciones de estos.

| | Conjunto electrodos | Au | Acero | Pt | Rh | Au+ Acero | Au+ Acero+ Pt | Au+ Acero+ Rh |
|----|---------------------|-------|-------|-------|-------|-----------|---------------|---------------|
| p1 | 0.9910 | 0.986 | 0.985 | 0.973 | 0.975 | 0.991 | 0.991 | 0.992 |
| NR | 0.678 | 0.846 | 0.856 | 1.171 | 1.130 | 0.667 | 0.671 | 0.644 |

I.2.32 Proceso de Validación

Con el objetivo de validar los modelos de predicción creados a partir de la calibración del sistema, se realizan mediciones voltamétricas sobre un set de muestras que incluye, además de nuevos patrones preparados con la matriz de vino blanco *Bereich Nierstein*, otras matrices de distintos tipos de vinos, como vinos tinto, rosado e incluso zumos de manzana (Ver **Tabla 8**). La utilización de distintas matrices tiene como objetivo estudiar las capacidades predictivas de la metodología de análisis propuesta sobre diferentes muestras así como analizar el posible efecto de la matriz sobre tales predicciones.

Las mediciones voltamétricas se llevaron a cabo siguiendo el mismo procedimiento realizado previamente en la calibración, aunque a raíz del resultado obtenido en el cual se verificó la factibilidad del proceso de limpieza de la superficie electródica, este proceso de validación fue realizado con pulido de la superficie. Un aspecto que se debe tener en cuenta es que las medidas para la validación fueron realizadas un mes después de haberse realizado el entrenamiento del sistema. Durante el periodo transcurrido entre los dos procesos, la lengua electrónica fue guardada en un simple armario, sin realizársele ningún tipo de procedimiento de lavado especial ni mantenimiento previo.

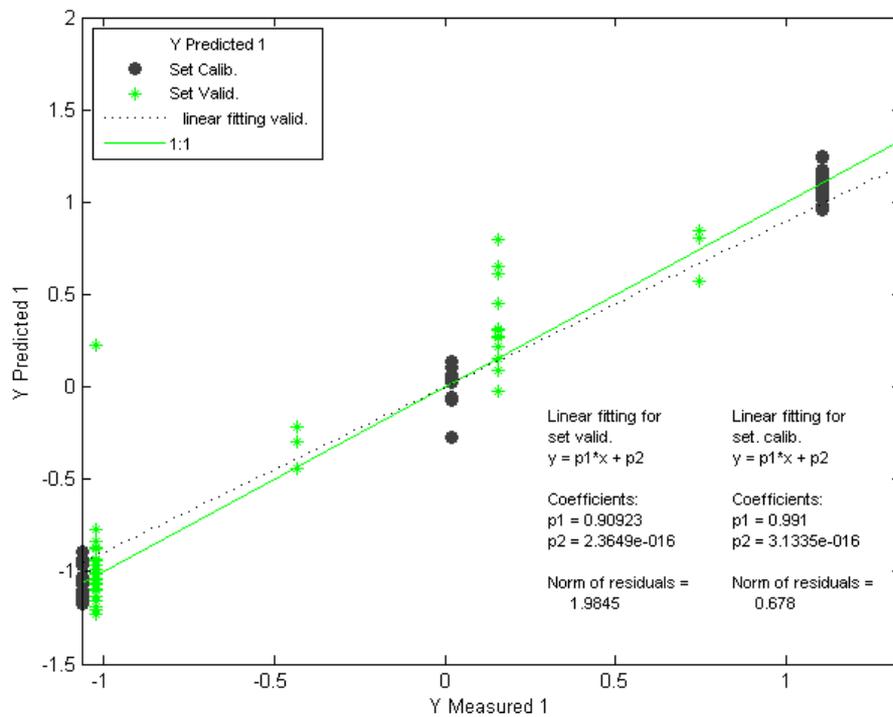
Una vez realizadas las medidas sobre las 20 muestras, se prepararon las matrices de datos X y Y y se crearon los modelos de predicción de cada elemento adicionado siguiendo el mismo procedimiento anterior (y según el análisis individual de la carga de cada electrodo, se utilizaron los datos de la combinación Au+Acero+Rh). El comportamiento obtenido en el patrón de reconocimiento es el mismo, con una mayor selectividad de los electrodos hacia la especie bisulfito en comparación con el ácido ascórbico y la histamina, esto en términos de mayor exactitud y precisión en la predicción de las concentraciones.

No obstante, la predicción de bisulfito muestra algunas diferencias entre el set de calibración y el de validación. En la **Figura 38** se representa el gráfico de valores de Y predichos vs. medidos que incluye los datos de ambos modelos (calibración y predicción). Aquí se observa una clara disminución de la exactitud y precisión de la

capacidad predictiva de la lengua sobre el set de validación, expresada por una disminución de la pendiente de la recta de ajuste (0.909) y un aumento considerable de residuales normalizados (1.984) en comparación a los parámetros de ajuste de los datos experimentales de calibración. Este resultado, si bien no es un resultado deseado, es esperado fundamentalmente por dos motivos, el set de validación incluye matrices de vino muy distintas a la matriz usada previamente en la calibración (efecto matriz), e incluso dos muestras de zumo de manzana, que son muy diferentes en composición y por tal motivo, la señal eléctrica bajo estas diferencias puede generar un patrón de señal un tanto modificado. El otro motivo es el tiempo transcurrido entre la calibración y la validación, aunque teniendo en cuenta la naturaleza poco reactiva de los electrodos usados, la disminución de la capacidad predictiva estará muchísimo más influenciada por el “efecto matriz” que por el “efecto tiempo”.

El efecto matriz se puede analizar mediante ploteo de los datos experimentales de las muestras de vino blanco y las muestra de distinta matriz por separado. Así, se crean entonces dos matrices X distintas, una de ellas formada por los datos de corriente de las mediciones realizadas sobre las muestras de vino blanco (Antonio Barbadillo y Bereich Nierstein); y otra matriz formada por las muestras de vino tinto, rosado y los dos zumos de manzana. Los resultados de la predicción de bisulfito según estas dos matrices de datos de corriente se muestran en el gráfico PLS de la **Figura 39**. Aquí el efecto matriz queda totalmente verificado, pues para el caso de las muestras de vino blanco, las capacidades predictivas arrojan una exactitud considerablemente buena, expresada en términos de valor de la pendiente de ajuste lineal (0.973), en comparación con el 0.904 obtenido para las muestras de distinta matriz. Aunque este valor de p_1 obtenido para los vinos blancos es ligeramente inferior al extraordinario 0.991 obtenido en la calibración, se puede considerar muy bueno, y además, de cierta forma incluso aquí se puede manifestar un ligero efecto matriz pues la disminución en la exactitud puede deberse a que de las dos muestras analizadas, una de ellas (aunque similar), puede presentar algunas características o algunas propiedades químicas que la diferencien de la matriz de

entrenamiento. En esta figura también se puede visualizar y comprobar las capacidades predictivas y de diferenciación del dispositivo utilizado sobre cinco niveles de bisulfitos analizados en las muestras de vino Bereich Nierstein (niveles de fondo, y de adición del 0.5, doble, triple y cuádruple del nivel de fondo). Un aspecto a destacar también sobre la predicción de bisulfito sobre estas matrices de vino blanco es que se alcanzó una precisión ligeramente mayor (NR=0.608) que la obtenida para la calibración (NR=0.678), lo cual no es descabellado pues no siempre un resultado más exacto tiene que ser más preciso, y viceversa. La predicción de bisulfitos sobre las matrices de vino tinto, rosado y zumos de manzana, si bien no puede considerarse muy exacta, el resultado que arroja es bueno teniendo en cuenta las diferencias entre las muestras analizadas y la matriz del calibrado.



**Figura 38. Gráfico PLS y ajuste lineal. Set de calibración (●) y set de validación (*).
 Número de variables latentes: 6.**

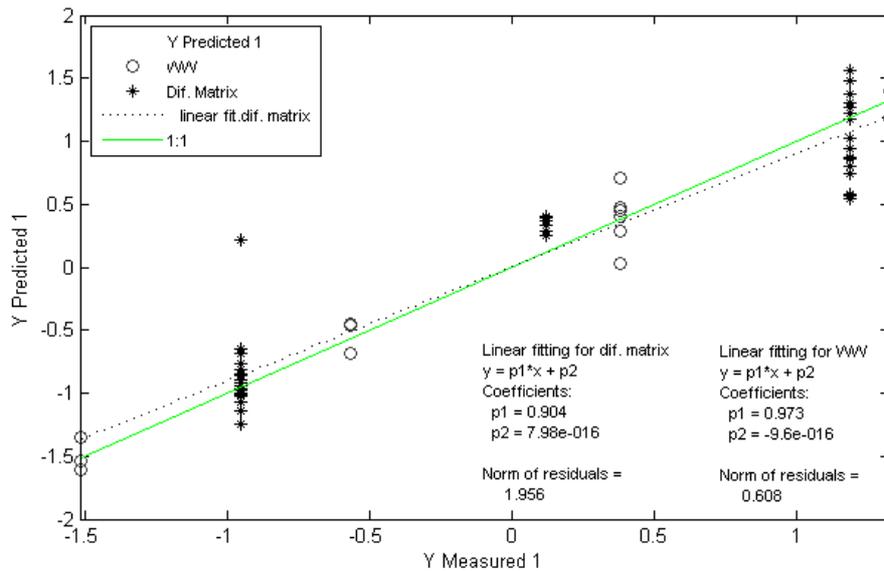


Figura 39. Gráfico PLS y ajuste lineal sobre el set de validación. Vinos blancos (o) y muestras de matrices diferentes a vino blanco (*). Número de variables latentes: 5.

En este resultado se pone de manifiesto la capacidad predictiva de la lengua electrónica utilizada para las determinaciones de bisulfito en muestras de vino, incluso sobre matrices un tanto distintas, y además es de destacar la no necesidad de realizar procesos especiales de lavado, mantenimiento o almacenamiento del dispositivo. Este último aspecto, unido a los bajos costes de diseño, y a la exactitud obtenida en la predicción, le confiere al dispositivo electrónico unas importantes ventajas sobre los procedimientos analíticos tradicionales de determinación de bisulfitos en muestras de vinos.

I.3 LENGUA ELECTRONICA “HIBRIDA” COMPUESTA POR SENSORES VOLTAMETRICOS E IMPEDOMETRICOS PARA LA

DETERMINACION DEL CONTENIDO DE SALES EN CARNE PICADA

I.3.1 Introducción

La conservación de la carne ha sido una constante e importante preocupación para el hombre desde el comienzo de su existencia. La conservación de los productos cárnicos puede realizarse mediante la combinación de varios métodos tanto de tipo físico como de tipo químico, siendo una de las combinaciones más frecuentes en la industria cárnica española el salado-curado-secado, que da lugar, entre otros productos, al jamón y el lomo curados.

El término "curado" se utiliza mucho en varias industrias siempre en relación con un cambio deseable, por ejemplo en la preparación de cuero, fabricación de acero, endurecimiento de morteros y también en la conservación de alimentos. En la industria de los alimentos, la denominación de curado se relaciona únicamente con ciertos productos cárnicos y de pescado y con los quesos. Hasta en estos alimentos la palabra "curado" puede tener distintas connotaciones: a la carne se le adicionan siempre sal y nitrito o nitrato; al pescado, también se le añade siempre sal, mientras que el nitrato se le adiciona en muy raras ocasiones y en el queso, que siempre contiene sal y casi nunca nitrato, el término curado se aplica a la producción de cambios proteolíticos y lipolíticos deseables. De hecho el significado de "curado", incluso en la industria de los alimentos depende de la costumbre; por ejemplo, tanto la manteca como ciertas hortalizas adobadas necesitan sal como parte de su sistema conservador, pero nunca se les denomina productos curados.

En sus comienzos el curado se desarrolló para conservar algunos alimentos mediante la adición de cloruro sódico. Se vio que el nitrato sódico (una impureza de la sal) era responsable de la aparición del pigmento rosa rojizo de la carne, el llamado color de carne curada. Más tarde se comprobó que el compuesto responsable de la aparición del color era el nitrito y no el nitrato que se originaba

por reducción bacteriana del anterior. En la actualidad se consideran sales de curado al cloruro sódico y al nitrito o nitrato de sodio o de potasio [142].

Aunque el curado constituía originalmente un mecanismo de conservación por salado, se desarrollaron simultáneamente con él muchos otros procesos como fermentación, ahumado, desecación y aplicación de calor. En los últimos cincuenta años se idearon una serie de productos curados que sólo son estables en condiciones de refrigeración. De hecho la mayoría de los productos cárnicos curados se deben mantener en refrigeración para que conserven su inocuidad y salubridad y durante las últimas décadas hasta el envasado de muchos tipos de productos curados ha sido un factor importante para prolongar el tiempo durante en el cual el producto mantiene su salubridad.

Además de las sales de curado y de los procesos con ellas relacionados, en muchos productos cárnicos curados se emplean aditivos conocidos como adyuvantes. En ellos se incluyen ascorbatos, fosfatos, gluconato-lactona y azúcares [143]. Los adyuvantes se emplean fundamentalmente para alcanzar o mantener ciertos cambios deseables; los ascorbatos en relación con el color y los demás con respecto al pH, textura y en ciertos casos aroma. Los adyuvantes también pueden afectar a la sanidad del producto.

Las sales de curado, los adyuvantes y los procesos con ellos relacionados, modifican el alimento base; entre las modificaciones se incluyen el color, el aroma, la textura y la sensibilidad al crecimiento microbiano; éste último, dependiendo del producto puede causar alteración u originar una toxiinfección alimentaria.

Actualmente en la mayoría de las carnes curadas se tiende a emplear solamente sal y nitrito, si bien en ciertos productos se utilizan todavía el nitrato o las mezclas de nitrato y nitrito [144].

La concentración de cada uno de los agentes del curado depende de la naturaleza de los alimentos y de la tecnología empleada en cada país; cuando se posee refrigeración suficiente los productos cárnicos más corrientes son los ligeramente

salados que necesitan mantenerse en refrigeración. Por el contrario, en climas cálidos y en donde no se dispone de suficiente refrigeración los productos más corrientes son los fermentados e intensamente salados (autoestables). En consecuencia los productos curados reflejan las economías y climas nacionales, constituyendo parte de las culturas nacionales y hasta regionales. De aquí que haya amplias diferencias entre los embutidos curados preparados en países distintos. Una afirmación similar puede hacerse para el pescado y quesos curados.

Los principales agentes del curado y adyuvantes que afectan a los aromas son la sal, el azúcar, el humo y el nitrito. El azúcar se utiliza en bastante cantidad en ciertos tipos de jamones pero su contribución al aroma en otros productos es todavía objeto de controversia.

Cuando se incorpora nitrito a un alimento cárnico se suceden una serie compleja de reacciones cuya naturaleza depende de las características fisicoquímicas del sistema. Se desconocen muchas de las reacciones. El nitrito adicionado a la carne se convierte en una mezcla en equilibrio de NO_3^- , NO_2^- y NO , dependiendo del pH y del Eh. El nitrito desaparece como resultado de sus reacciones químicas con los componentes de la carne o de la actividad metabólica de los microorganismos. Parte del nitrito se convierte en nitrato mediante diversas reacciones químicas especialmente en presencia de ascorbato y en curaciones prolongadas, con tal que exista oxígeno o algún otro aceptor adecuado de hidrógeno. La velocidad a que desaparece el nitrito de los productos cárnicos tratados por el calor depende del pH y de la temperatura; a medida que desciende el pH y sube la temperatura se acelera la velocidad a que desaparece. El nitrito reacciona con los componentes de la carne, especialmente de la de cerdo, modificando su aroma y este aroma modificado se acepta más que el de la carne de cerdo curada exclusivamente con sal. La concentración óptima oscila entre 15 y 150 ppm de nitrito, dependiendo del producto. Se desconoce el fundamento químico del aroma del curado a pesar de las numerosas investigaciones realizadas, pero se ha sostenido la hipótesis de que parte del aroma a curado se debe a la ausencia de productos de la degradación oxidativa de los lípidos insaturados, por ejemplo hexanal y aldehído valérico. La sal y el

hierro aceleran la oxidación y ésta es más rápida en la carne de cerdo que en la de bovino ya que posee más lípidos insaturados que la última. Las especias y el ahumado pueden mejorar la aceptación organoléptica de los productos elaborados sin nitrito.

La adición de nitrito a la carne transforma los pigmentos cárnicos, en especial la mioglobina y en menor extensión la hemoglobina, en un pigmento rojo, insoluble en agua, la óxido nítrico mioglobina. El calentamiento transforma este pigmento en otro rosa, el nitrosil-hemocromo que se estabiliza con los ascorbatos. Los pigmentos de carne curada pueden originarse por reacciones químicas, bioquímicas o enzimáticas, dependiendo de que se caliente la mezcla carne-nitrito y del tiempo transcurrido entre la adición de nitrito y el calentamiento. La reacción del curado la aceleran el pH bajo, las condiciones reductoras, y las temperaturas altas; en condiciones óptimas la adición de 15 ppm de nitrito sódico produce el máximo color en los productos picados y emulsionados y unas 50 ppm dan el máximo color al jamón. Estas concentraciones de nitrito tienen escaso o ningún efecto antibacteriano; las bacterias no ejercen otro papel fundamental en la producción del color salvo reducir el nitrato a nitrito y en ciertos productos bajar el Eh y el pH. El Eh desciende también bajo la acción del calentamiento y del ascorbato y el pH bajo el efecto de la gluconato-lactona y del pirofosfato ácido de sodio [145].

A las concentraciones y las condiciones corrientemente utilizadas los agentes del curado no causan una destrucción microbiana rápida; más bien retrasan o previenen el desarrollo de los microorganismos perjudiciales de los productos sin tratar por el calor y el de los termotolerantes no esporulados de los productos pasteurizados y evitan el desarrollo de las esporas que sobreviven al tratamiento térmico más drástico aplicado a ciertos productos curados. Desde el punto de vista de conservación y seguridad, el nitrito, a las concentraciones corrientemente utilizadas comercialmente, debe considerarse como bacteriostático o como precursor de un compuesto más estable, el factor de tipo Perigo (PTF), que es inhibidor de los clostridios en las carnes enlatadas estables. El factor de tipo Perigo (PTF) es el nombre que se aplica al producto antimicrobiano formado al calentar el nitrito con

la carne. Durante el tratamiento térmico aplicado a las carnes enlatadas se forma PTF, que ejerce una actividad antibacteriana mínima en la carne

Dentro de la Unión Europea, España ocupa el segundo lugar como productor de carne después de Alemania con un 65% destinado a la producción de productos curados [146]. Uno de los productos más importantes sometidos a este proceso de deshidratación es sin duda el jamón curado. Su elaboración lleva a cabo en cuatro etapas básicas: salado, post-salado, secado y maduración. Durante el salado comienza la deshidratación del producto por la acción de la adición de cloruro de sodio y sales nitrificantes (nitritos y nitratos) con la finalidad de proporcionar color rojo al producto e inhibir el crecimiento microbiano [143].

Durante el periodo de post- salado que se efectúa entre 75-90 días más, se logra una deshidratación parcial por la exudación del agua y por lo tanto depresión de su actividad. Finalmente, en los procesos de secado y la maduración, con el aumento de la temperatura la actividad de agua continúa disminuyendo y debido a la proteólisis y lipólisis se producen compuestos que aportan el sabor-olor típico del jamón así como la textura y el color [147].

La capacidad que tiene la carne fresca para retener agua es una de las características más importante de los productos crudos. Los efectos básicos de la sal en las miofibrillas de la carne continúan investigándose. Comúnmente en todos los métodos de curado la sal debe difundir a través de la matriz y esta difusión dependerá del coeficiente difusional local. El efecto del cloruro sódico en el tejido de la carne depende de los niveles de concentración de la sal [148]. La cantidad de agua ligada para las proteínas es otro factor que incrementa con el aumento de la concentración de sal. Se encontró que a concentraciones entre 45-60g/l sucede la mayor dilatación del tejido [149], esto significa que el aumento del agua libre puede ser atribuido a la expansión lateral de las miofibrillas junto con la solubilización de la proteína. Estas concentraciones alteran irreversiblemente la estructura celular afectando el agua ligada por las proteínas debido a sus efectos en interacciones electrostáticas. No obstante, cuando las concentraciones están entre

100-200g/l sucede lo contrario, el volumen de la fibra disminuye, el tejido pierde agua y las proteínas precipitan causando la destrucción de la matriz. El agua libre disminuye la sal y por tanto esta comienza a salir con concentraciones de sales minerales solubles, albumina, globulina disuelta en el sarcoplasma y pigmentos de mioglobina [150].

El uso de aditivos aumenta el tiempo de almacenaje, pero en ocasiones los agentes curantes son adicionados de forma irracional en grandes cantidades para mejorar las características organolépticas o aumentar el tiempo de frescura del producto. El uso de aditivos se permite solamente en mezclas con el cloruro sódico, las cuales no deben exceder el 0.6 % en peso de producto. Los nitratos de manera aislada solo pueden ser adicionado directamente a carne molida y no deben exceder el 0.5% en peso (100ppm). En la década de los años cincuenta, la asociación reguladora cárnica Fleischverordnung limitó la cantidad residual adicionada a 100 mg nitrito sódico/kg en productos cárnicos listos para consumir. En el caso específico del jamón crudo, la regulación limita hasta 150 mg de NaNO_2 por kg en adiciones de este agente. Los nitratos fueron limitados en productos no precalentados de 100-600 mg/kg de producto. Esta regulación fue seguida por el Parlamento Europeo y el Consejo Directivo al emitir la regulación 95/2/EC [151], en la cual se limita la adición de agentes de curado a 150 mg de nitrito por kg en productos cárnicos, así como 300 mg/kg para el caso de los nitratos.

La determinación de parámetros físicos o químicos que representan índices de calidad y que además cuentan con regulaciones o restricciones de adición en casi todos los alimentos, y más específicamente el caso que nos toca, los productos cárnicos, constituye una necesidad en nuestros días, en los que se viene fomentando unas normas de alimentación adecuadas al modo de vida moderno. Así, el desarrollo de nuevos métodos basados en sensores de materiales no muy costosos, y que al mismo tiempo ofrezcan una respuesta rápida y fiable, se viene convirtiendo en uno de los principales retos de la comunidad científica para encarar los análisis de calidades de productos alimenticios, aunque en el caso de los productos cárnicos surge un reto adicional, y es su matriz sólida. Hay que tener en

cuenta que hasta el momento, la mayoría de los sensores simples (ISE's), así como los nuevos sistemas electrónicos formados por "arrays" de sensores han sido concebidos para análisis en matrices gaseosas (Narices electrónicas) y matrices líquidas (Lenguas electrónicas).

En este trabajo se aceptó el reto de diseñar una lengua electrónica para determinaciones en una matriz sólida. Aprovechando las prestaciones de las técnicas voltamétricas de análisis tales como su alta selectividad y bajos límites de detección, así como la simpleza y rapidez de las medidas impedométricas, se crea entonces una lengua electrónica "híbrida" compuesta por sensores voltamétricos además de un sensor impedométrico para la determinación del contenido de sales adicionadas en muestras de carne picada. Como ya se mencionó anteriormente, la carne y en general los productos cárnicos elaborados tienen la propiedad de retener agua, incluso después de haberse sometido a varios procesos de producción. Esta agua "interna" que se mueve a través de las microfibrillas de la carne, es la responsable de que la sal adicionada se disuelva dentro de toda la masa cárnica. Pues es en sí esta propiedad la que se aprovecha para realizar las mediciones en una matriz aparentemente sólida, pero en la cual, los electrodos que conforman el dispositivo electrónico estarán en contacto con una disolución interna. Teniendo en cuenta que este trabajo constituye uno de los primeros pasos en la aplicación de lenguas electrónicas para determinaciones cuantitativas en carnes, es por este motivo que se escogió una matriz de carne picada, para garantizar una masa no tan compacta de producto y asegurar el contacto con los electrodos. Lógicamente este estudio estará encaminado a diseñar un dispositivo capaz de medir las concentraciones de sales en productos cárnicos ya elaborados como embutidos y jamón, pero los análisis en carne picada constituirán los pasos preliminares para lograr el diseño de tal dispositivo.

I.3.11 Algunos trabajos anteriores sobre aplicaciones de dispositivos artificiales sobre muestras cárnicas

Hasta el día de hoy, hay muy pocos trabajos publicados en los que se diseñen o apliquen “sentidos artificiales” para caracterizar muestras cárnicas, debido fundamentalmente a la dificultad que genera la naturaleza sólida de las matrices cárnicas para la detección de especies químicas de interés.

En este sentido, se ha explotado el hecho de que las carnes durante su deterioro o incluso estando frescas, emiten ciertos aromas característicos que está estrechamente relacionado a algunos compuestos volátiles que se liberan de las muestras. A raíz de esta generación de compuestos volátiles, se pensó entonces en la utilización de narices electrónicas compuestas lógicamente por sensores para gases en la caracterización de muestras de carnes, siguiendo como patrones de reconocimiento las señales generadas por los sensores de gas en contacto con los compuestos que se emiten desde las muestras.

Para el sentido del olfato humano, un pescado, ya sea fresco o deteriorado, emite una sensación aromática muchísimo más fuerte que por ejemplo, algún trozo de carne de cerdo o ternera. Esto ocurre lógicamente dado que cuando nos encontramos cerca de algún pescado o trozo de pescado, nos son muchos más perceptibles los compuestos volátiles que se generan de él. Este hecho ha sido tenido en cuenta por los grupos de investigación que se dedican al diseño de sentidos artificiales, los cuales se han enfocado en el diseño de narices electrónicas aplicadas sobre muestras de pescado, y que tienen como objetivo fundamental el estudio o el seguimiento de la frescura o los procesos de deterioro de este tipo de alimento. Algunos ejemplos de narices electrónicas diseñadas para realizar experimentos en pescados se presentan a continuación.

Investigadores de la Universidad “Tor Vergata” de Roma diseñaron una nariz electrónica compuesta de ocho sensores de capa gruesa cubiertos de films orgánicos de compuestos metaloporfirínicos y poliméricos para realizar análisis discriminativos en un grupo de muestras de alimentos que incluían bacalao, carne de ternera y pulpa de tomate [152]. Posteriormente, este mismo dispositivo con algunas ligeras modificaciones fue utilizado para realizar los análisis de olor en

muestras de sardinas. Los resultados del análisis sensorial de los compuestos volátiles desprendidos de las sardinas se trataron simultáneamente con pruebas preliminares de análisis de color, textura y algunos otros parámetros físicos, lo cual permitió la evaluación de la frescura de cuatro especies distintas de sardinas a tiempo real [153]. Otro ejemplo de nariz electrónica diseñado para análisis en muestras también de sardinas fue presentado por investigadores de la Universidad “Rovira i Virgili” de Tarragona junto a investigadores de la Universidad “Moulay Ismail” de Marruecos. El dispositivo diseñado se componía de seis sensores de gas comerciales del tipo Sensor de Gas Tagushi (TGS), sensibles cada uno a un compuesto volátil específico, y se aplicó para evaluar la frescura de sardinas marroquíes almacenadas en frío [154].

Un último ejemplo que además demuestra los esfuerzos por lograr dispositivos capaces de caracterizar la calidad del pescado de forma rigurosa lo constituye la “Nariz para pescado” (FishNose), que fue diseñada mediante la colaboración de varias instituciones involucradas en el campo del diseño de sensores: Instituto de Investigaciones Alimenticias de Noruega, Empresa Alpha Mos (Diseño de sensores y EN/ET) de Toulouse, Francia, y el Instituto de Investigaciones Pesqueras de Islandia. Una unidad de muestreo de gas fue adaptada a una nariz electrónica comercial modelo GEMINI, de Alpha Mos, para realizar los análisis de calidad del salmón atlántico ahumado mediante caracterización de los compuestos volátiles que se generan en la cámara de muestreo. Los resultados que se obtuvieron de las pruebas preliminares fueron verificados con técnicas tradicionales de análisis químico y microbiológico. Aplicaciones posteriores *in-situ* en plantas de producción de salmón ahumado arrojaron resultados cercanos al 95 y 93 % para rangos de clasificación en cuanto a bueno y mal estado respectivamente [155].

Respecto a la aplicación de narices electrónicas sobre muestras de carne distintas al pescado, se ha publicado muy poco, aunque investigadores del Laboratorio de sensores del CSIC de Madrid diseñaron un “array” compuesto por 15 sensores semiconductores a modo de nariz electrónica para clasificar jamones ibéricos. Los sensores fueron construidos mediante “sputtering” de óxido de estaño sobre

sustrato de alúmina, y algunos de estos fueron dopados con partículas metálicas de cromo e indio para lograr mayores capacidades conductoras. La evaluación de las muestras se realizaba en cámaras específicas para ello, que posteriormente eran “lavadas” con mezclas gaseosas de oxígeno-argón. Los experimentos permitieron clasificar los jamones según el método de alimentación del cerdo utilizado en la producción, ya sea pienso o bellota/pasto. Las señales de los sensores eran más intensas en los jamones de cerdos alimentados con bellota/pasto dado el mayor contenido de compuestos volátiles como aldehídos, hidrocarburos alifáticos y aromáticos, alcoholes, etc., en este tipo de alimento porcino [156].

Muy pocos también son los trabajos presentados sobre el diseño de lenguas electrónicas para carnes. Legin, Rutdniskaya y demás investigadores de la Universidad de San Petersburgo, en un análisis general sobre las prestaciones de una lengua electrónica formada por sensores potenciométricos, demostraron las capacidades reconocitivas del dispositivo sobre distintos tipos de pescados de agua de mar y de agua dulce. No obstante, este experimento no fue llevado a cabo directamente sobre la masa sólida o semisólida de las muestras. Para ello, los investigadores realizaron una trituración de la carne y posteriormente la masa triturada fue depositada en agua durante un tiempo determinado para extraer todos los posibles compuestos solubles. La lengua electrónica fue aplicada definitivamente sobre una muestra líquida, aunque mostró patrones de reconocimiento en dependencia de la composición del “jugo de pescado”, con lo cual se logró el reconocimiento de las distintas especies de pescados [57].

Nuestro grupo de investigación también ha sido tentado al diseño de sentidos artificiales para su aplicación en carnes. En un primer intento se realizaron algunos experimentos que incluían medidas potenciométricas con electrodos metálicos introducidos directamente en la carne de doradas adquiridas en comercios locales. La curva de potencial de cada electrodo se podía correlacionar con el deterioro del pescado, obteniéndose un comportamiento estable en los primeros días de exposición, y una brusca caída o subida de potencial (en dependencia del electrodo) a partir del día específico de comienzo de deterioro. El potencial de

electrodo lógicamente era medido contra un electrodo de referencia de Ag/AgCl, lo cual al principio se presentó como principal dificultad de cómo lograr contacto entre la referencia y la muestra. Este problema se solventó creando un puente salino con una aguja hueca en uno de los extremos del puente, la cual se introducía en la carne de la dorada. En el otro extremo del puente se encontraba un cilindro de vidrio en el cual se encapsulaba el electrodo de referencia de Ag/AgCl, logrando un buen contacto salino de esta forma. Las curvas de potencial obtenidas presentaban una baja señal de ruido. Siguiendo un principio experimental similar, investigadores de nuestro grupo junto a investigadores del Departamento de Tecnología de los Alimentos de esta universidad publicaron el estudio de la frescura de doradas, correlacionando las señales potenciométricas obtenidas de sensores de oro y plata con análisis fisicoquímicos, bioquímicos y microbiológicos. Los resultados mostraron una fuerte correlación entre el potencial de los electrodos usados y el índice K1 (en alimentación, este factor se relaciona con la degradación de los nucleótidos), y por tanto dicha correlación confiere al comportamiento del potencial un papel como indicador de deterioro o frescura de las muestras [94].

El objetivo de diseñar una nueva lengua electrónica compuesta por sensores voltamétricos e impedométricos radica, en primer lugar, en aprovechar la forma de los sensores para sus posteriores aplicaciones sobre muestras sólidas o semisólidas (analicemos la carne picada como una muestra semisólida). Esto es, una lengua electrónica voltamétrica, compuesta por tres electrodos metálicos encapsulados en un cilindro de acero: la forma de la lengua confiere cierta facilidad a ser introducida en el recipiente que contiene la carne picada, y además, el hecho de que no sea necesario usar un electrodo de referencia ni auxiliar debido a que el propio cilindro de acero, dada su forma y tamaño, se utiliza como seudoreferencia /auxiliar, ofrece una gran ventaja. En cuanto al sensor para medidas de impedancia, su forma (aguja hueca) permite el fácil contacto con la muestra. En este sentido, existen trabajos recientes en los que se ha presentado la idoneidad de las medidas impedométricas para análisis del contenido acuoso, salino, lipídico, etc., de muestras de carnes [157, 158].

I.3.12 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica

La Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (*Electrochemical Impedance Spectroscopy* o EIS) es una técnica muy interesante para estudiar procesos electroquímicos. Frente a otras técnicas ofrece la ventaja de que no es destructiva y puede ser usada para investigar procesos tanto en disolución como en la interfase, con constantes de tiempo del orden de minutos hasta microsegundos. Los métodos de impedancia se basan en la perturbación del electrodo con una señal externa de pequeña magnitud permitiendo realizar medidas en el equilibrio o en el estado estacionario. La perturbación puede aplicarse tanto sobre la velocidad de convección del electrodo, intensidad de la luz o potencial aplicado sobre el electrodo.

La impedancia se define de manera análoga a la resistencia en el caso de un circuito de corriente continua como:

$$Z = \frac{V_t}{I_t}$$

y a partir de esta definición, se observa que la impedancia tiene una magnitud $Z_0 = V_0/I_0$ y una fase Φ , y en notación compleja tiene la forma siguiente:

$$Z = Z_0(\cos\Phi + j.\text{sen}\Phi) = Z' + j.Z''$$

donde $j = \sqrt{-1}$ y Z' y Z'' son las partes real e imaginaria de la impedancia respectivamente.

Los valores de impedancia obtenidos experimentalmente se suelen representar mediante los diagramas de Nyquist o Bode, utilizando su carácter vectorial. En los diagramas de Nyquist se representa la parte imaginaria frente a la real. Los diagramas de Nyquist son muy útiles para obtener parámetros de los espectros de

impedancia con arcos simples o múltiples en el plano complejo. Pero la información que generan no es completa debido a que no se puede saber el valor de la frecuencia a la que la impedancia fue medida, por lo que habría que etiquetar los datos con los valores de frecuencia a los que se han obtenido. Por su parte el diagrama de Bode suele representar el ángulo de fase y el logaritmo de magnitud de la impedancia frente al logaritmo de la frecuencia, aunque a veces se representa también el logaritmo de la parte real e imaginaria frente al logaritmo de la frecuencia. En cualquier caso, en los diagramas de Bode sí que se representa toda la información obtenida en las medidas de impedancia.

El tratamiento de los datos obtenidos de mediciones impedométricas se puede realizar de dos formas, bien obteniendo la ecuación de la función de transferencia a partir de la información de los procesos involucrados o bien mediante la obtención de un circuito equivalente que reproduzca el espectro de impedancia obtenido durante el experimento. Estos circuitos están formados por elementos eléctricos como resistencias, condensadores, et., que reproducen el comportamiento de los procesos reales como resistencia del electrolito entre los electrodos referencia y trabajo, la doble capa que se forma en la interface electrodo/disolución, o la transferencia de carga que ocurre durante un proceso farádico. Los valores de impedancia de algunos elementos o combinaciones de estos se muestran en la **Tabla 13**, mientras que el diagrama de Nyquist se representa en las **Figuras 40 y 41**.

Tabla 13. Ecuaciones para expresar la impedancia de algunos elementos de un circuito o combinaciones de estos

| Elemento | Impedancia |
|-------------|------------------------------|
| Resistencia | R |
| Condensador | $-\frac{1}{2\pi f \cdot C}j$ |

| | |
|--|--|
| Bobina | $2\pi f \cdot Lj$ |
| Resistencia + condensador en serie | $R - \frac{j}{2\pi f \cdot C}$ |
| Resistencia + condensador en paralelo | $\left(\frac{1}{R} - \frac{2\pi f \cdot C}{j}\right)^{-1}$ |
| Warburg infinito (Control por difusión) | $\frac{RT}{n^2 F^2 A \sqrt{2}} \left(\frac{1}{\sqrt{D_0} C_0^*} + \frac{1}{\sqrt{D_R} C_R^*} \right) (\omega)^{-\frac{1}{2}} (1-j)$ |
| Warburg finito (Difusión limitada) | $\frac{RT}{n^2 F^2 A \sqrt{2}} \left(\frac{1}{\sqrt{D_0} C_0^*} + \frac{1}{\sqrt{D_R} C_R^*} \right) (\omega)^{-\frac{1}{2}} (1-j) \tan \left(\delta \left(\frac{j\omega}{D} \right)^{1/2} \right)$ |
| Elemento de fase constante | $\frac{1}{C} (j\omega)^{-\alpha}$ |

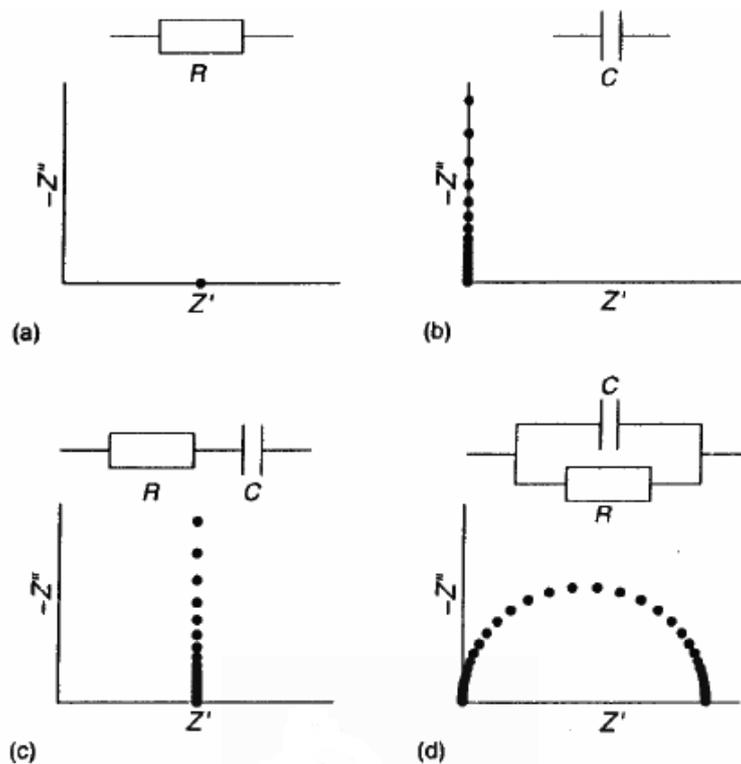


Figura 40. Diagrama de Nyquist de distintos elementos y combinaciones de elementos en circuitos equivalentes.

La **Figura 41a** muestra el diagrama de Nyquist para una celda electroquímica en la cual se produce una reacción farádica no controlada por transferencia de materia. Como se puede observar, el circuito equivalente consiste en una resistencia R_e correspondiente a la resistencia del electrolito en serie con la combinación en paralelo de un condensador C_{dl} , correspondiente a la carga de la doble capa y una resistencia R_{ct} que corresponde a la impedancia farádica en este caso. Cuando se tiene en cuenta el proceso de difusión, el diagrama de Nyquist se torna más complejo (**Figura 41b**), apareciendo en la zona de bajas frecuencias una zona prácticamente lineal con una pendiente cercana a 45° . Para describir este efecto de la difusión se añade un nuevo elemento al circuito equivalente, que recibe el nombre de Warburg infinito (ver expresión en la **Tabla 11**), que depende tanto de las concentraciones o coeficientes de difusión de las especies oxidada y reducida,

como del número de electrones involucrados en la reacción o el área del electrodo. Este elemento tiene como característica que tanto la parte imaginaria como la real tienen el mismo valor por lo que en un diagrama Nyquist es una línea recta con pendiente igual a 45° .

Para la obtención de la expresión de Warburg se asume que el proceso de difusión es seminfinito, pero puede ocurrir que en realidad la capa de difusión tenga un determinado espesor, por lo que en bibliografía también se podría encontrar el valor de impedancia de un elemento Warburg finito, como se observa en la **Tabla 11**, donde también se recoge la impedancia para un elemento de fase constante que suele ser el comportamiento real de los condensadores. En su expresión aparece un exponente α que suele tener un valor inferior a 1 y que aunque varias teorías han tratado de explicar su valor como una indicación de comportamiento no ideal de la doble capa, se recomienda tratarlo como una constante empírica sin base física.

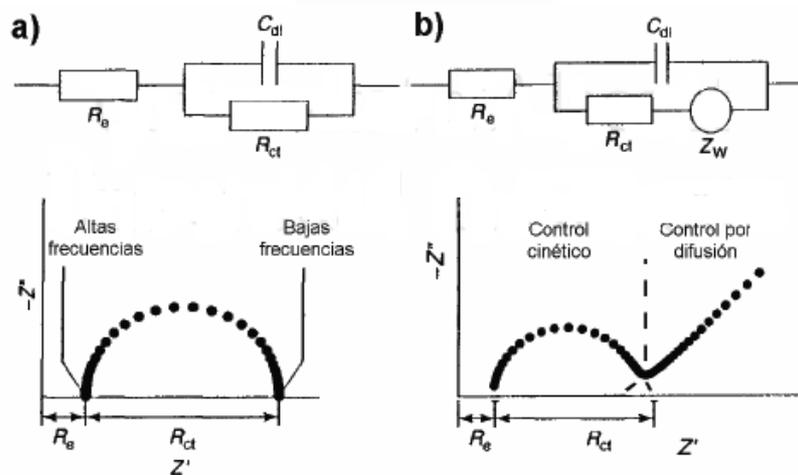


Figura 41. Diagrama de Nyquist y circuito equivalente de una celda electroquímica y un proceso simple $O + ne^- \rightarrow R$: a) sin difusión, b) con difusión.

I.3.2 Experimental

Las capacidades predictivas de una lengua electrónica “híbrida” compuesta por tres sensores voltamétricos y un sensor impedométrico se analizan sobre el contenido de sales en muestras de carne picada. La elección de carne picada como matriz de análisis se realizó para garantizar una masa de carne no tan compacta, que permita la penetración de los sensores así como un contacto adecuado con el agua interna de las muestras. Se analizan las capacidades de respuesta sobre tres sales distintas adicionadas a la carne, así como tres niveles distintos de cada una de ellas (bajo, medio y alto). Teniendo en cuenta que no se tiene constancia previa de trabajos de este tipo que incluyan medidas voltamétricas e impedométricas simultáneas aplicadas para el análisis cuantitativo en muestras semisólidas, en las cuales algunos aspectos podrían afectar seriamente las mediciones como son la propia constitución de la matriz, la no homogeneidad de la sal dentro de la muestra, la contaminación de los electrodos, etc., los experimentos son reproducidos también en disolución, a modo de verificar las capacidades del dispositivo en un medio no tan complejo.

I.3.21 Preparación de las muestras

Una muestra de carne de cerdo picada adquirida en el comercio fue utilizada como matriz en la preparación de las muestras. Se añadieron tres sales comúnmente utilizadas en la elaboración de productos cárnicos a las muestras: NaCl, NaNO₂ y NaNO₃, en niveles bajo, medio y alto. Las sales fueron adicionadas y mezcladas manualmente en la masa cárnica intentando alcanzar el mayor grado de homogeneidad posible. Una vez realizada la adición de las sales, las muestras fueron almacenadas en nevera a 5°C durante cuatro días, para favorecer la penetración de las sales dentro de la masa.

Con el objetivo de ofrecer la mayor información, se desarrolló un diseño experimental similar al utilizado en los anteriores estudios sobre vino y aguas

minerales. Mediante el uso del programa de diseño experimental MODDE 8.0 (Umetrics) se diseñó un sistema de tres compuestos/tres niveles, que generó un total de 18 muestras patrones. Los niveles de cada sal en cada muestra patrón se presentan en la **Tabla 14**.

Así mismo, se preparó otro set de características similares en cuanto a adición y niveles de las sales, pero en una matriz acuosa.

Tabla 14. Composición de las muestras patrones de carne picada según MODDE 8.0

| Muestra | NaNO ₂ (ppm) | NaNO ₃ (ppm) | NaCl (% en peso) |
|---------|-------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 250 | 250 | 0 |
| 2 | 0 | 250 | 3 |
| 3 | 125 | 125 | 1,50 |
| 4 | 250 | 0 | 1,50 |
| 5 | 0 | 250 | 0 |
| 6 | 250 | 125 | 3 |
| 7 | 250 | 250 | 3 |
| 8 | 250 | 250 | 3 |
| 9 | 250 | 250 | 3 |
| 10 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 | 3 |
| 12 | 250 | 0 | 3 |
| 13 | 250 | 250 | 3 |
| 14 | 0 | 0 | 1,50 |
| 15 | 125 | 0 | 3 |
| 16 | 125 | 0 | 0 |
| 17 | 250 | 0 | 0 |
| 18 | 250 | 0 | 3 |

I.3.22 Lengua electrónica Voltamétrica. Mediciones por Voltametría de Pulsos

La lengua electrónica diseñada para el análisis del contenido salino en muestras de carne picada estaba conformada por tres electrodos metálicos (oro, plata y platino; 99.9% de pureza, 1 mm de diámetro), encapsulados en un cilindro de acero inoxidable, que actúa como cuerpo de la lengua y electrodo de seudoreferencia/contraelectrodo.

Las medidas voltamétricas fueron realizadas en un Potenciostato-Galvanostato Autolab modelo PGSTAT100. Para realizar las medidas, un set de 10 pulsos de potencial era aplicado sobre cada electrodo de trabajo. Tanto la generación del pulso como las medidas y almacenamiento de los datos de corriente obtenidos eran controlados mediante el programa *General Purpose Electrochemical System* (GPES Version 4.9), y en este sentido el método de medición utilizado fue *Multi mode electrochemical detection*, y dentro de este, la variante de *Multiple pulse amperometry*. Los pulsos aplicados comprendían un rango entre -0.3 y 0.3 V, con un tiempo de duración del pulso de 50 ms y un tiempo de experimento de 30 s. El set de pulsos fue previamente seleccionado mediante realización de barridos cíclicos en las muestras para obtener potenciales característicos. El método de aplicación de pulsos seleccionado permitiría obtener un total de 10 valores de corriente resultante por cada electrodo, y con una repetición de 60 veces, correspondiente al doble del tiempo de experimento. Realizando tres mediciones por cada muestra (repetitividad), el experimento generaría una matriz X de datos de dimensiones 3240x30 (esto es 60 filas por cada muestra, 18 muestras medidas tres veces cada una; y 10 columnas por cada electrodo, 3 electrodos de trabajo). En este sentido se debe mencionar que en el momento de aplicación de los pulsos, se obtenían algunos valores en la respuesta de corriente con valores anómalos debido

a que ocurren procesos de fisisorción o quimisorción antes de alcanzar el estado estacionario que pueden afectar la señal del electrodo. Una vez alcanzado el estado estacionario, la respuesta de corriente se estabiliza. Por ello, para eliminar el ruido de la señal electrónica, se eliminan los primeros 30 valores (filas) de cada muestra, por lo que la matriz real X a analizar se componía de 1620 filas y 30 columnas.

Como en anteriores experimentos, las muestras fueron analizadas en orden aleatorio para eliminar la dependencia con el tiempo que generan las medidas electroquímicas. Además, teniendo en cuenta la idoneidad previamente verificada de los procesos de limpieza de los electrodos mediante pulido de la superficie, en este experimento se realiza tal acción siempre después de cada contacto con la muestra y utilizando para ello un equipo eléctrico rotatorio en el que se ha acoplado un material esmerilado. Justo antes de realizar el pulido, cuando la lengua se extrae de la muestra de carne picada es lavada con abundante agua destilada y acetona, para eliminar las grasas que se adhieren al dispositivo. Luego de pulida la superficie, la lengua electrónica es lavada nuevamente con agua destilada y secada antes de la exposición en una nueva muestra.

Para el caso de las disoluciones salinas, el protocolo de medición era exactamente el mismo, aunque antes y después del pulido de la lengua electrónica, el dispositivo era únicamente enjuagado con agua destilada.

I.3.23 Medidas de impedancia. Sensor impedométrico

Las medidas de impedancia fueron llevadas a cabo por investigadores del Departamento de Ingeniería Electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia, en el mismo equipo Autolab PGSTAT100, aunque para ello se acopló un módulo analizador de frecuencia *Frequency Response Analyser (FRA)*. El equipo permitió la realización de medidas de impedancia para un rango de frecuencias comprendido entre los 0.01 y 1 MHz. La máxima amplitud pico-a-pico de la señal generada alcanzó los 0.35 V con una resolución superior a los 0.1 mV.

El electrodo usado como sensor impedométrico fue una aguja coaxial tipo TECA N53135 (Oxford FEDELEC) y se seleccionaron 50 valores de frecuencia (entre 0.01 y 1 MHz) para las mediciones. Por cada valor de frecuencia, el equipo de medición registra un valor para la fase real (módulo) y otro referente a la fase imaginaria (fase), con lo cual se obtiene un total de 100 valores de impedancia para cada muestra. En cada muestra se realizaron tres mediciones para analizar la reproducibilidad de estas.

I.3.24 Tratamiento de datos

Los datos de corriente registrados en las mediciones voltamétricas (tanto en las mediciones sobre carne picada como en disolución) son almacenados como ficheros de texto, y posteriormente son importados al Matlab para la creación de las matrices X. Como se comentó anteriormente, el total de columnas (variables) obtenidas en las mediciones de las muestras preparadas es 30, mientras que el total de filas, que representa de forma directa la cantidad de muestras, fue de 3240, lo cual representa un total de 54 muestras (18 patrones medidos tres veces cada uno), medidas durante un tiempo de 30 s. De esta forma se creará la matriz X, de dimensiones 54x30 (se disminuye el total de filas a 54 después reducir el ruido de las mediciones eliminando los primeros 30 valores de cada muestra y posteriormente promediar todos los valores obtenidos); y la matriz Y, de dimensiones 54x3, que representa los niveles de cada compuesto en cada muestra (esta matriz es equivalente a los datos representados en la **Tabla 12**). Creadas las matrices X y Y, los datos son analizados mediante validación cruzada, de lo cual además se extraen la cantidad de variables latentes a ser usadas en los modelos de predicción. Con los datos autoescalados, se crean los modelos de predicción mediante PLS y se evalúan mediante ajuste lineal de los datos predichos. Los parámetros de ajuste p_1 , p_2 y NR ofrecerán información relativa a la capacidad predictiva de los modelos creados en términos de exactitud y precisión.

Al igual que para las mediciones voltamétricas, los datos de impedancia son utilizados para crear modelos de predicción del nivel de cada sal, y su capacidad predictiva se verificará mediante ajuste lineal del modelo.

Para analizar el dispositivo como una lengua “híbrida” y verificar sus prestaciones vinculando ambas medidas, se crea una nueva matriz X que incluye tanto los datos de corriente obtenidos por voltametría como los de impedancia. Además, la cantidad de variantes de sensores utilizadas aquí permitirá también analizar cual de estos parámetros sensoriales o variables influirá en mayor o menor escala sobre las capacidades predictivas del dispositivo híbrido.

I.3.3 Resultados

I.3.3.1 Medidas Voltamétricas en disolución

Teniendo en cuenta que la carne es una matriz de composición compleja, que además de las sales adicionadas presenta un alto contenido de compuestos orgánicos como proteínas, lípidos, etc., y que tanto el posible efecto matriz como el hecho de que la heterogeneidad del seno de la muestra podrían afectar o interferir las determinaciones de las sales, es por ello hemos estudiado primeramente un set de muestras en disolución acuosa, en las cuales se reproducen las adiciones de las tres sales al igual que en la carne picada.

Las **Figuras 42, 43 y 44** muestran los gráficos PLS de la predicción de los niveles de NaCl, NaNO₂ y NaNO₃ en disolución respectivamente. La evaluación de los tres modelos de predicción mediante el ajuste lineal de los resultados experimentales arrojaron una exactitud y precisión excelentes para el cloruro de sodio, mientras que para los iones nitrato y nitrito, estos parámetros de calidad pueden ser considerados adecuados para la predicción. Si bien los parámetros p1 y NR obtenidos en los modelos PLS para ambas sales nitrogenadas no representan una muy buena exactitud y precisión, objetivamente hay que analizar que en los datos

experimentales existe una clara separación entre los niveles bajo, medio y alto, lo cual demuestra las capacidades predictivas del dispositivo.

Estos resultados previos demuestran que el dispositivo diseñado, así como el sistema experimental (set de pulsos aplicados+pulido+orden aleatorio) funcionan adecuadamente a la hora de predecir el contenido salino de muestras en disolución. Para el caso de las muestras de carne cabría esperar una disminución de las prestaciones del dispositivo principalmente por el efecto matriz.

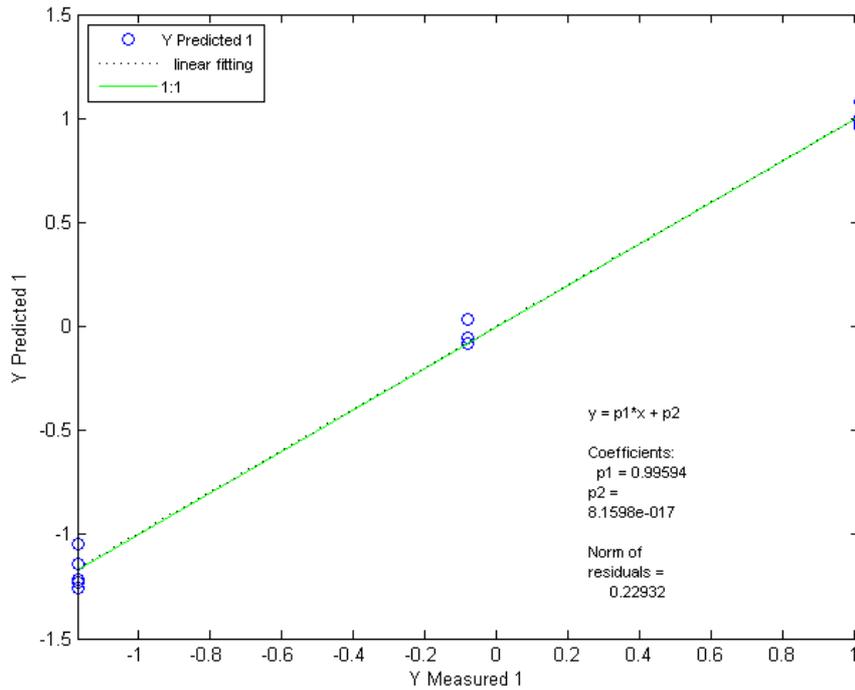


Figura 42. Gráfico PLS de la predicción de NaCl para el set de muestras en disolución. Número de variables latentes: 6.

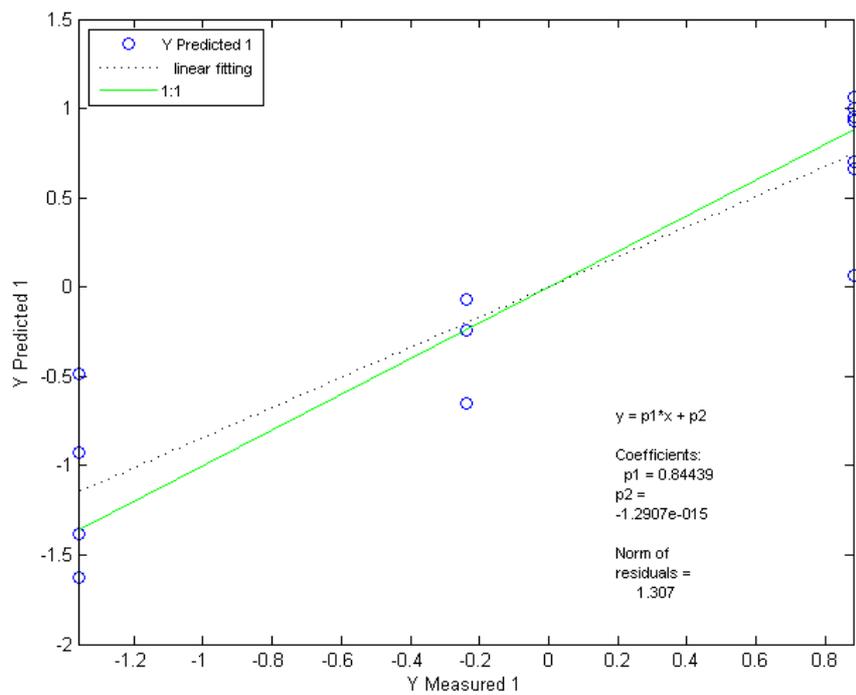


Figura 43. Gráfico PLS de la predicción de NaNO_2 para el set de muestras en disolución. Número de variables latentes: 6.

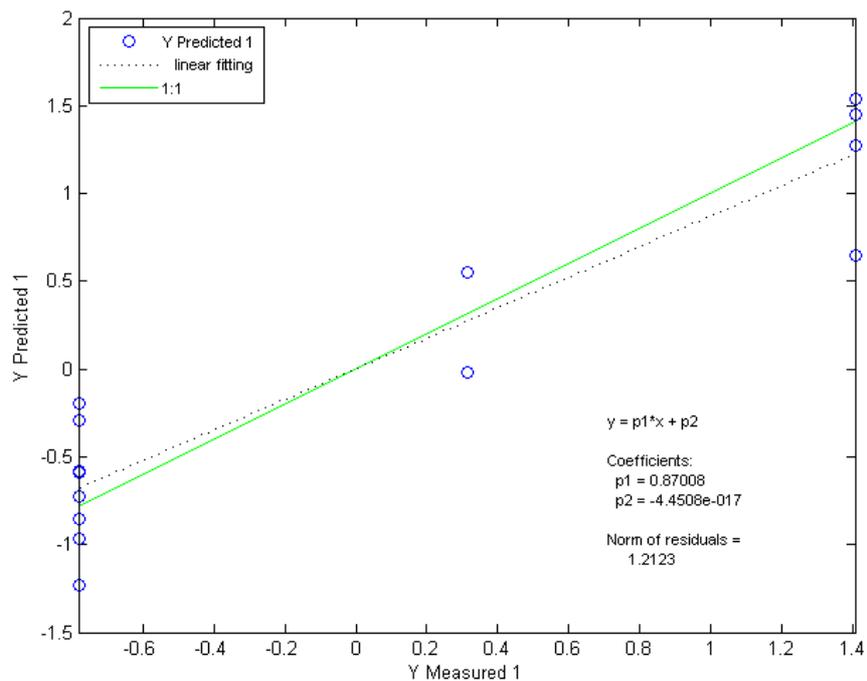


Figura 44. Gráfico PLS de la predicción de NaNO_3 para el set de muestras en disolución. Número de variables latentes: 6.

I.3.32 Medidas Voltamétricas en carne picada

En la realización de las medidas voltamétricas en las muestras de carne picada se tuvo mucho cuidado en algunos aspectos experimentales como fueron el lavado-pulido de la superficie de la lengua electrónica, y en asegurarse de un buen contacto de la muestra con la superficie de los sensores. Las curvas de respuesta I vs E obtenidas para cada muestra después de aplicado el set de pulsos mostraban buena estabilidad y una señal de ruido bastante baja, lo que indicaba un buen contacto electrodo-muestra.

Los resultados de la predicción del contenido de las sales adicionadas en la matriz de carne picada se representan en las **Figuras 45, 46 y 47**. El comportamiento

obtenido en cuanto a exactitud-precisión en la predicción es similar al obtenido para las disoluciones, es decir, una muy buena capacidad predictiva para los niveles de NaCl, y moderada para las sales nitrito y nitrato; aunque lógicamente, la calidad en la predicción en carne disminuye tal como se esperaba, lo cual es atribuible a las posibles interferencias de los compuestos orgánicos presentes en la carne sobre los electrodos y a que se están realizando medidas en muestras semi-sólidas y no en disolución.

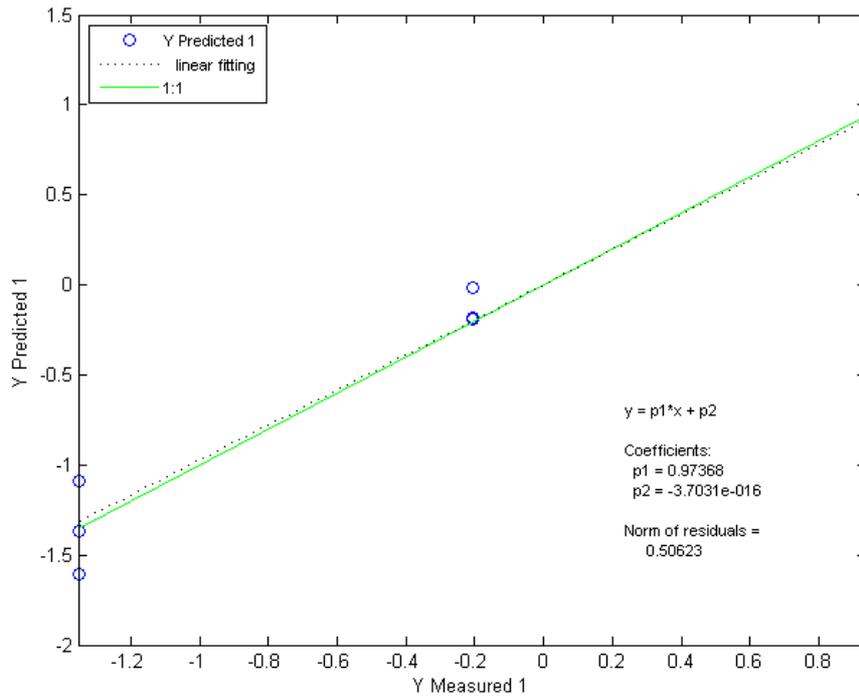


Figura 45. Gráfico PLS de la predicción de NaCl para el set de muestras de carne picada. Medidas voltamétricas. Número de variables latentes: 6.

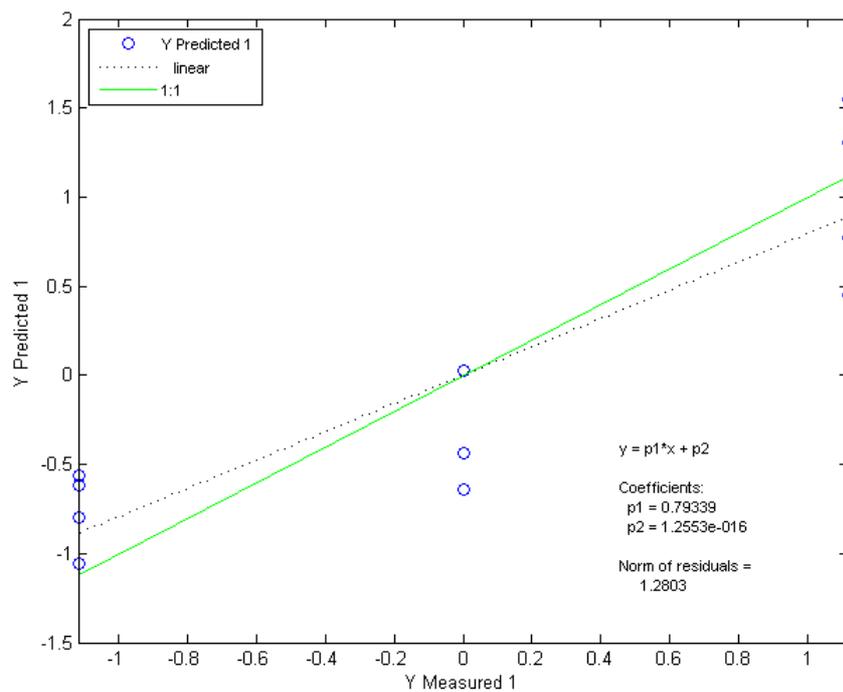


Figura 46. Gráfico PLS de la predicción de NaNO_2 para el set de muestras de carne picada. Medidas voltamétricas. Número de variables latentes: 6.

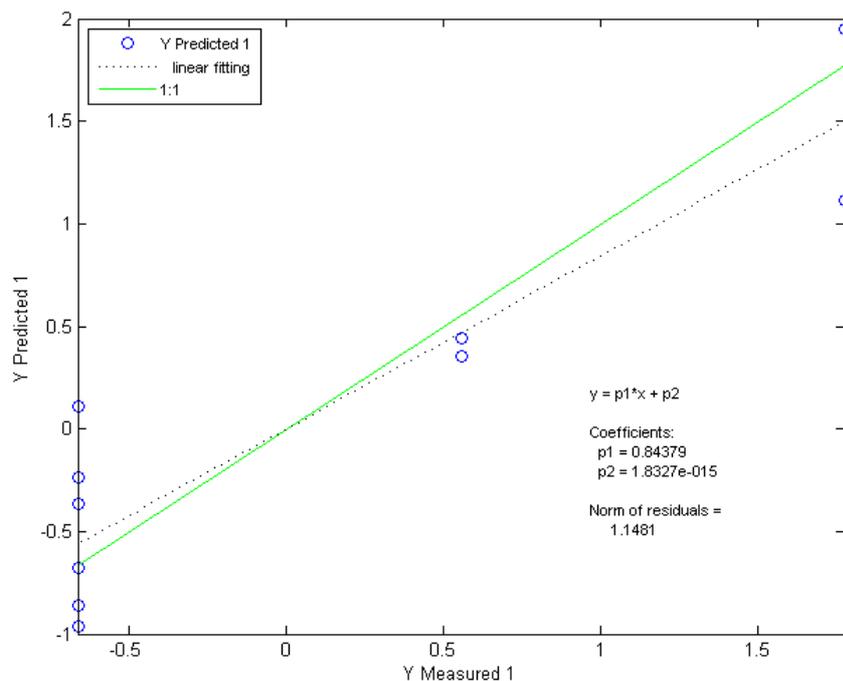


Figura 47. Gráfico PLS de la predicción de NaNO₃ para el set de muestras de carne picada. Medidas voltamétricas. Número de variables latentes: 6.

Un análisis detallado del peso de cada uno de los electrodos sobre la predicción demuestra en este experimento la idoneidad del sistema multisensorial, es decir, que la suma de las contribuciones de cada respuesta de un sensor formando parte de un sistema “array” aportará mucha más información que la respuesta simple de un único electrodo.

El peso de cada electrodo es analizado primeramente mediante validación cruzada, y posteriormente creando un modelo de predicción PLS para cada sal únicamente utilizando como matriz X los datos de corriente obtenidos para cada electrodo. En este caso la matriz X tendría un número de columnas o variables igual a 10. Los resultados de la evaluación de los modelos PLS creados con cada uno de los electrodos para cada sal son mostrados en la **Tabla 15**. Obsérvese que en el análisis

individual por electrodos, los parámetros de evaluación de los modelos arrojan resultados peores que los obtenidos con todos los datos del “array”, excepto para el caso del nitrato, en el que la predicción sólo con los datos obtenidos con los electrodos de oro y platino son ligeramente mejores. En la predicción del cloruro, con una muy buena predicción expresada en términos de exactitud (0.974) y precisión (0.506), solamente los datos obtenidos con el electrodo de platino se acercan a estos resultados ($p1=0.968$; $NR=0.555$); mientras que la predicción con oro ($p1=0.866$; $NR=1,076$) y con plata ($p1=0.673$; $NR=1.48$) se alejan bastante de la predicción general. Un tanto similar ocurre para el caso del nitrito, en el que la predicción individual difiere mucho y negativamente del resultado obtenido con todos los electrodos. El hecho de que en los tres compuestos analizados, los peores resultados individuales se hayan obtenido con el electrodo de plata, viene dado por la mayor reactividad de este metal comparada con el oro y el platino. En la aplicación de los pulsos, la superficie de la plata puede verse modificada por los procesos que en ella ocurren, fundamentalmente con los aniones cloruro de la muestra. Esta modificación de la superficie altera la respuesta del sensor en cada una de las muestras, y en este caso, el proceso de limpieza de la superficie electródica mediante pulido no es suficiente para recuperar la superficie activa inicial.

Al analizar la combinación de dos electrodos, los resultados que se obtienen difieren considerablemente del análisis individual. En la predicción del cloruro, la unión de los datos del platino con cada uno de los restantes sensores mejora la predicción de estos, e incluso la suya propia analizada individualmente. También es curioso como la combinación de los datos de oro y plata alcanzan una exactitud y precisión muy buenas, aun cuando sus aportes individuales eran inexactos e imprecisos. El hecho de que la predicción del cloruro mejore tan marcadamente cuando se utilizan en conjunto los datos del platino y la plata en comparación con los datos de todo el “array”, aun cuando el peso individual de la plata era considerablemente negativo, demuestra las ventajas del uso de sistemas

multielectrónicos, en los que el aporte de cada sensor sobre algunas de los rasgos fundamentales de una muestra conlleva a una caracterización correcta de ella.

En la predicción del nitrito, algunas de las combinaciones de electrodos resultaron mejores que los aportes individuales de los electrodos, aunque solo la combinación oro-platino logró igualar la exactitud y precisión de todo el “array”. En el nitrato, tanto la combinación oro-plata como oro-platino, no solo mejoraron considerablemente los pesos individuales de los electrodos sino que aumentaron considerablemente las capacidades predictivas de todo el “array”.

En resumen, las capacidades predictivas de la lengua electrónica voltamétrica se mejoran para cada uno de los compuestos salinos analizados si se extraen y analizan los datos experimentales de las mejores combinaciones de electrodos en cada caso. Esto sería: para el cloruro, la combinación plata-platino ($p1=0.994$; $NR=0.235$); para el nitrato, la combinación oro-plata ($p1=0.967$; $NR=0.563$); y para el nitrito, la combinación oro-platino ($p1=0.793$; $NR=1.281$). El hecho de seleccionar las mejores combinaciones de electrodos no sólo aumenta las capacidades predictivas de la lengua electrónica, sino que con la eliminación de los electrodos que menos información o peso aporten, se ahorra en gastos y en tiempo de análisis.

Tabla 15. Parámetros de ajuste ($p1/NR$) de los modelos de predicción de $NaCl$, $NaNO_2$ y $NaNO_3$ creados con los datos de cada electrodo así como combinaciones de estos.

| | Au | Ag | Pt | Au+Ag | Au+Pt | Ag+Pt | Au+Ag+Pt |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| NaCl | 0.866/1.076 | 0.673/1.480 | 0.968/0.555 | 0.959/0.626 | 0.980/0.434 | 0.994/0.235 | 0.974/0.506 |
| NaNO ₂ | 0.636/1.521 | 0.353/1.511 | 0.525/1.579 | 0.538/1.576 | 0.793/1.281 | 0.616/1.538 | 0.793/1.280 |
| NaNO ₃ | 0.889/0.993 | 0.539/1.576 | 0.862/1.090 | 0.967/0.563 | 0.945/0.719 | 0.748/1.373 | 0.844/1.148 |

I.3.33 Medidas EIS

En las **Figuras 48 y 49** se muestran los datos obtenidos de las mediciones impedométricas de algunas de las muestras de carne picada analizadas en forma de diagramas de Nyquist (Z' vs $-Z''$). La curva característica para la muestra de carne picada fresca (muestra 000) representa el diagrama para un sistema gobernado por la difusión de algunas especies de la muestra hacia la vecindad de la aguja electródica (**Figura 48**). El elemento o impedancia de Warburg aparece claramente como una línea de puntos de aproximadamente 45° de pendiente y en la zona de las bajas frecuencias. La dependencia de este elemento de Warburg con algunos parámetros de la muestra como por ejemplo las concentraciones o coeficientes de difusión de las especies que interactúan en la superficie del sensor podrían tomarse como patrón de reconocimiento de las sales en la carne picada una vez realizadas las mediciones impedométricas. En la **Figura 49** se visualizan las diferencias existentes en el valor de la frecuencia en el que aparece la impedancia de Warburg para muestras de contenido salino distinto. Aquí, la curva representada por símbolos rojos se corresponde con la muestra de menor contenido salino de todo el set (000); mientras que la curva de símbolos verde oliva representa la más concentrada (alto/alto/alto). Esto nos indica que la amplitud del semicírculo en los diagramas de Nyquist, que representa el valor de la parte real de impedancia, se correlaciona inversamente con el contenido salino, es decir, el medio ejercerá una mayor resistencia mientras más diluido sea, y esto se traducirá como una menor impedancia.

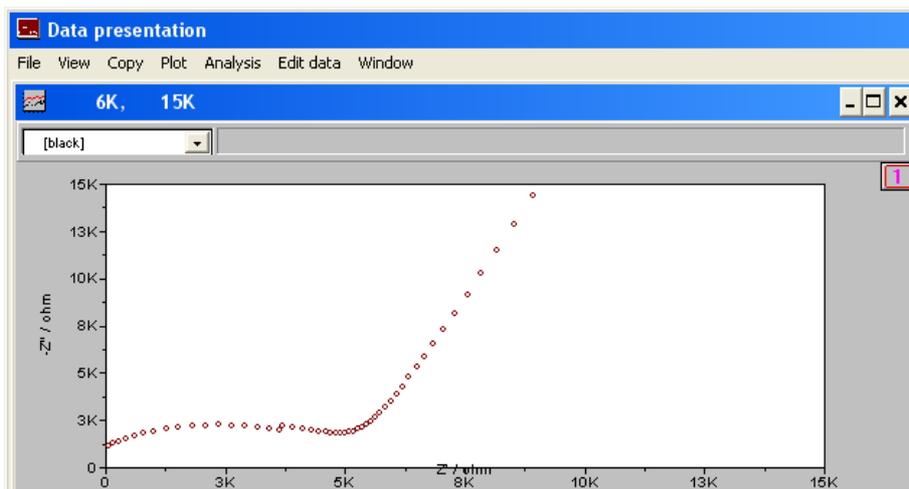


Figura 48. Diagrama de Nyquist de la muestra de carne picada fresca (000).

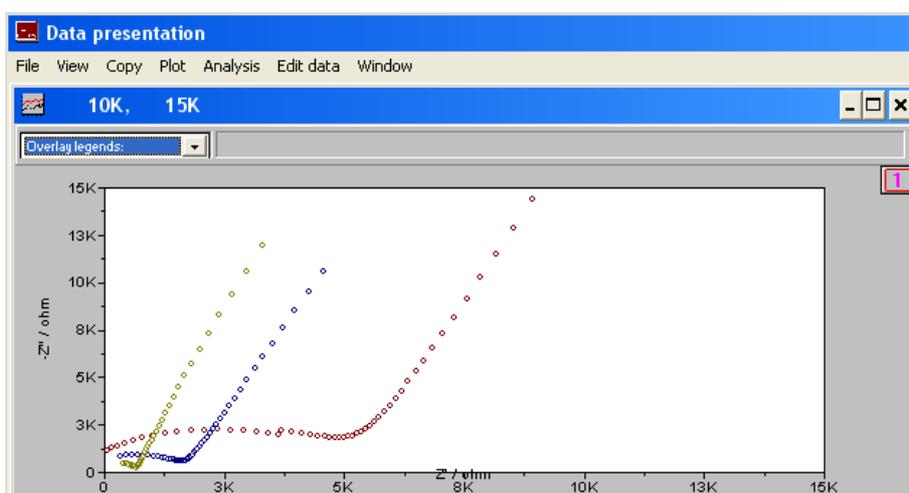


Figura 49. Diagramas de Nyquist de las muestras de carne picada fresca (●), muestra de niveles medio/medio/medio (●) y muestra de niveles alto/alto/alto (●).

Habiendo analizado la posibilidad de diferenciar las muestras con distintos niveles de sales según los diagramas de Nyquist obtenidos de las mediciones impedométricas, se preparan las matrices X y Y para la creación de los modelos de predicción de cada compuesto. Las capacidades predictivas de este sensor se representan en las Figuras 50, 51 y 52, en las cuales se muestra el ajuste lineal de los datos experimentales obtenidos mediante los modelos PLS creados. El

comportamiento del sensor ofrece un patrón similar al obtenido en las mediciones voltamétricas, esto es, una capacidad predictiva para el cloruro de sodio mucho más exacta y precisa que para las dos sales de nitrógeno. Este comportamiento induce a pensar en que los patrones de reconocimiento de estas especies nitrogenadas, al estar regidos por la selectividad de los sensores hacia ellas, pueden verse afectados por cualquier proceso que interfiera la propia selectividad, como por ejemplo, la disolución de estas especies en el agua interna de las muestras puede no estar ocurriendo de forma completa, o que algunos compuestos orgánicos pueden formar combinaciones con los aniones nitrato y nitrito libres, los cuales de esta forma no son reconocidos por los electrodos. La predicción del cloruro de sodio mediante medidas impedométricas resultó ser muy buena ($p_1=0.985$; $NR=0.388$), mientras que la predicción de las sales de nitrato ($p_1=0.648$; $NR=1.511$) y nitrito de sodio ($p_1=0.709$; $NR=1.436$) resultaron inexactas e imprecisas.

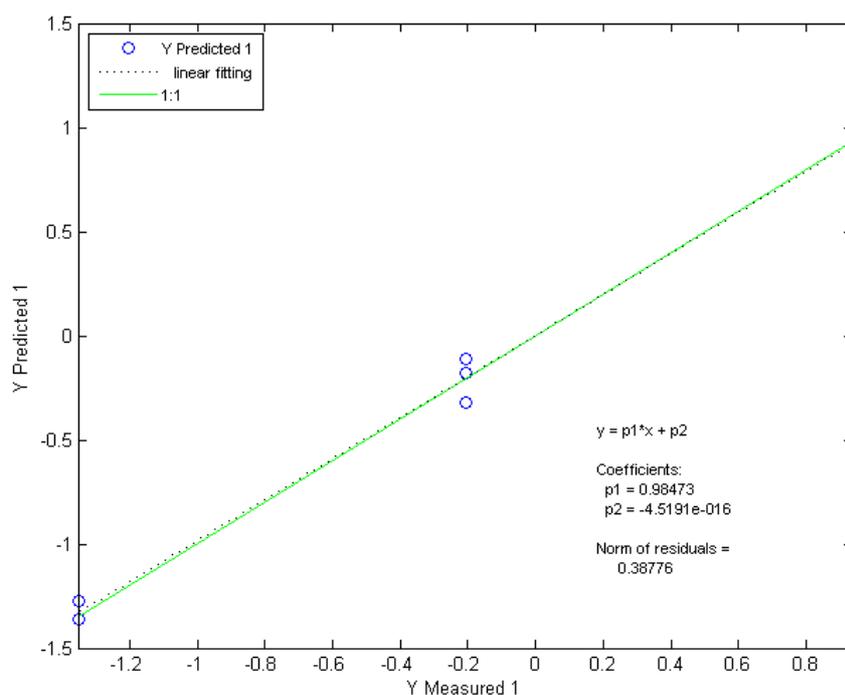


Figura 50. Gráfico PLS de la predicción de NaCl para el set de muestras de carne picada. Medidas EIS. Número de variables latentes: 6.

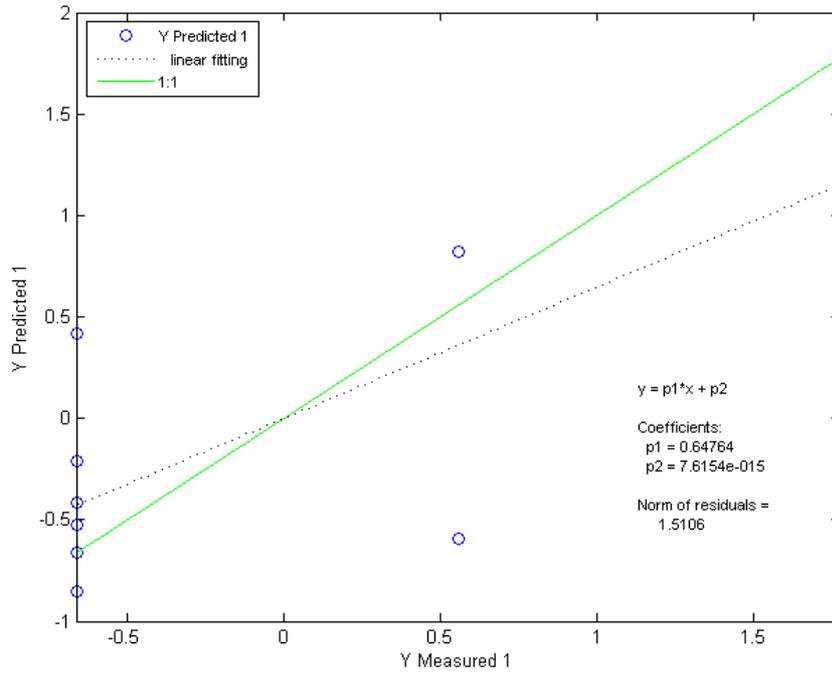


Figura 51. Gráfico PLS de la predicción de NaNO₃ para el set de muestras de carne picada. Medidas EIS. Número de variables latentes: 6.

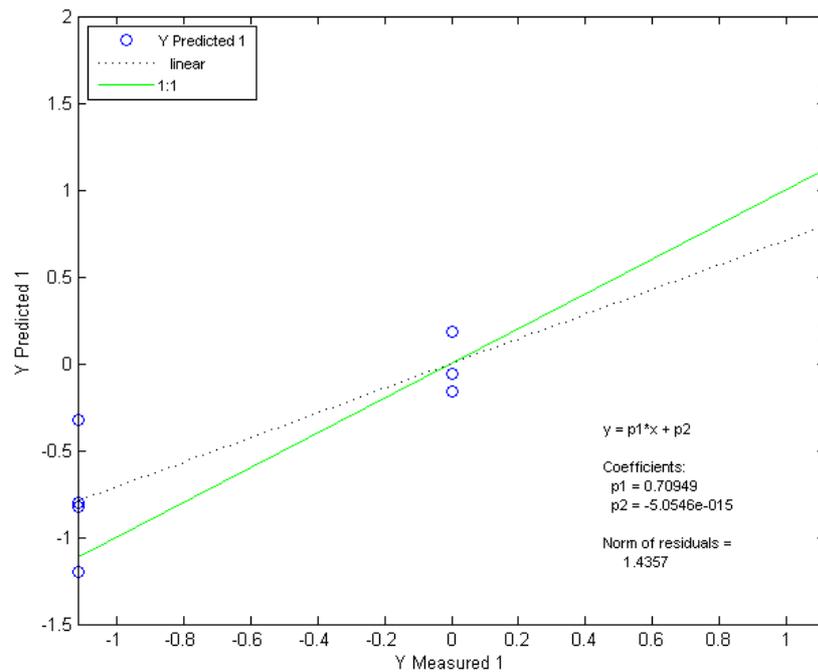


Figura 52. Gráfico PLS de la predicción de NaNO_2 para el set de muestras de carne picada. Medidas EIS. Número de variables latentes: 6.

En este caso en el que se analizan los datos provenientes de las medidas impedométricas, también se podría realizar un análisis del peso de los sensores. Esto puede ser contradictorio según el hecho de que en estas medidas solamente utilizamos un único sensor, pero como se explicó anteriormente para el caso de la voltametría de pulsos, en que independientemente de los sensores utilizados, un pulso único o específico puede considerarse como un sensor pues la respuesta que de él se obtiene puede diferir de la de otro pulso, en el caso que nos toca cada una de las frecuencias utilizadas podría ser analizada como un sensor o variable. Cada una de las frecuencias utilizadas genera dos valores de impedancia, uno referente a la parte real y el otro a la parte imaginaria. Analizar el peso de cada frecuencia sería un proceso engorroso pues el número es alto, y no se tiene información previa

de frecuencias características. En este caso, el peso de las variables lo limitaremos al análisis de la predicción dividiendo las matrices de datos X en dos matrices, de las cuales una representará los datos de la parte real o módulo, y la otra se compondrá de los datos de la parte imaginaria o fase. Con las dos nuevas matrices que tendrán un número de columnas igual a 50, se crean nuevos modelos de predicción y los resultados de estos se muestran en la **Tabla 16**. Los nuevos modelos nos indican que la exactitud y precisión de la predicción del cloruro de sodio disminuiría ligeramente separando ambos parámetros, no obstante, los resultados para la predicción del nitrito mejoran un tanto utilizando los datos de fase, mientras que para el nitrato, el hecho de utilizar solo los datos del módulo mejoran la predicción de esta sal.

Tabla 16. Parámetros de ajuste (p1/NR) de los modelos de predicción de NaCl, NaNO₂ y NaNO₃ creados con los datos de parte real (módulo) e imaginaria (fase) de las medidas de impedancia.

| | Módulo+Fase | Módulo | Fase |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| NaCl | 0.985/0.388 | 0.947/0.707 | 0.967/0.564 |
| NaNO ₂ | 0.709/1.436 | 0.634/1.523 | 0.808/1.245 |
| NaNO ₃ | 0.648/1.511 | 0.704/1.444 | 0.627/1.529 |

I.3.34 Lengua “híbrida”. Resultados en conjunto

Previamente en el análisis de los resultados de la predicción de las sales con los datos obtenidos de las medidas voltamétricas, se verificó el hecho de que las capacidades predictivas de un dispositivo multisensor pueden ser mejoradas cuando las contribuciones o respuestas de los electrodos que lo conforman se suman, independientemente de que las respuestas individuales ofrezcan resultados poco idóneos. Analizaremos entonces las capacidades predictivas del sistema híbrido que incluye medidas voltamétricas e impedométricas. Para ello, crearemos

matrices X que estarán compuestas de las mejores combinaciones de electrodos voltamétricos y los mejores parámetros impedométricos que previamente han sido identificados para cada una de las especies a analizar. Las combinaciones utilizadas, y por ende, el número de columnas (variables) de las nuevas matrices X serán:

Para NaCl: platino+plata+módulo+fase (120 columnas/variables)

Para NaNO₂: oro+platino+fase (70 columnas)

Para NaNO₃: oro+plata+módulo (70 columnas)

Los resultados de la predicción de las especies salinas con las nuevas matrices “híbridas”, así como los obtenidos por cada técnica, se resumen en la **Tabla 17** a modo de comparación. La información que se puede extraer es que la combinación de las medidas voltamétricas e impedométricas mejora considerablemente la predicción del cloruro de sodio y del nitrito de sodio en muestras de carne picada, comparado con las determinaciones mediante las dos técnicas electroquímicas realizadas individualmente. La predicción de cloruro y nitrito de sodio con los datos obtenidos del sistema híbrido se ilustran en las **Figuras 53 y 54** respectivamente.

Tabla 17. Parámetros de ajuste (p1/NR) de los modelos de predicción de NaCl, NaNO₂ y NaNO₃ creados con los datos simultáneos de voltametría de pulsos e impedancia.

| | Lengua “híbrida” | Lengua Voltamétrica | Sensor impedométrico |
|-------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|
| NaCl | 0.994/0.237 | 0.974/0.506 | 0.985/0.388 |
| NaNO ₂ | 0.881/1.026 | 0.793/1.280 | 0.709/1.436 |

| | | | |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| NaNO ₃ | 0.773/1.324 | 0.840/1.148 | 0.648/1.511 |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|

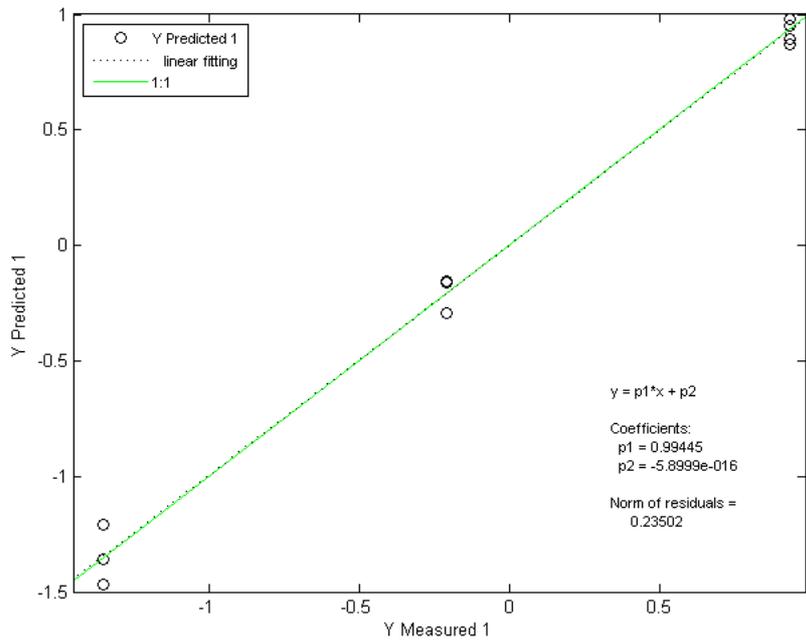


Figura 53. Gráfico PLS de la predicción de NaCl para el set de muestras de carne picada. Sistema “híbrido”. Número de variables latentes: 6.

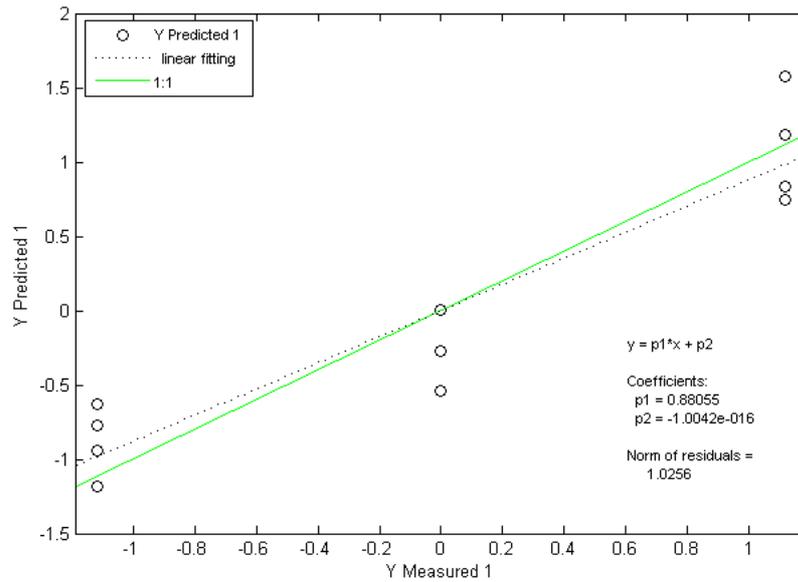


Figura 54. Gráfico PLS de la predicción de NaNO_2 para el set de muestras de carne picada. Sistema “híbrido”. Número de variables latentes: 6.

I.4 Conclusiones del Capítulo

Las lenguas electrónicas se han presentado desde los inicios de su creación como una interesante alternativa a la hora de reproducir artificialmente el sentido del gusto humano. Las ventajas que ofrecen en el campo del diseño de sensores y en el campo de las aplicaciones analíticas, ha hecho que la comunidad científica se haya volcado a realizar investigaciones para mejorar día a día las prestaciones de este tipo de dispositivo. Es por ello que en este capítulo se han presentado los resultados del diseño y caracterización de tres lenguas electrónicas basadas en mediciones electroquímicas, las cuales unidas a procesos de tratamiento estadístico de datos, han convertido estos dispositivos en herramientas útiles para la caracterización de muestras de aguas y alimentos. Los resultados obtenidos se resumen a continuación:

- Se ha diseñado y caracterizado una lengua electrónica basada en medidas potenciométricas y compuesta por cinco electrodos metálicos (oro, plata, platino, cinc y cobre). Gracias a la selectividad parcial de los sensores sobre aniones inorgánicos comunes (cloruro, sulfato, bicarbonato, fosfato, acetato), el sistema electrónico ha sido capaz de diferenciar disoluciones salinas y muestras de aguas minerales en función de la composición de dichas muestras. Además, se encontró que los electrodos mostraban un patrón de reconocimiento basado en diferencias entre las concentraciones de los aniones en las muestras analizadas. Siguiendo este patrón de reconocimiento, la lengua electrónica se aplicó para realizar determinaciones cuantitativas de los niveles de cloruro, sulfato y bicarbonato sobre muestras de disoluciones acuosas y de aguas minerales, exhibiendo unas capacidades predictivas buenas para los iones cloruro y sulfato y moderadas para el bicarbonato.
- Se ha caracterizado una lengua electrónica basada en medidas de voltametría de pulsos compuesta por cuatro electrodos metálicos (oro, platino, rodio y acero inoxidable) encapsulados en un cilindro de acero inoxidable usado a su vez como electrodo de seudoreferencia/auxiliar y que cuenta con un sistema automático de limpieza o pulido de la superficie. Este dispositivo ha sido aplicado para las determinaciones cuantitativas de bisulfitos en muestras de vino blanco, exhibiendo unas capacidades predictivas muy buenas sobre este tipo de muestra y buenas sobre muestras de características similares, como por ejemplo, vinos rosado y tinto. Además, el dispositivo fue capaz de predecir niveles de sustancias que generalmente forman parte de la composición del vino, como son el ácido ascórbico y la histamina, aunque esta predicción exhibió niveles moderados de exactitud y precisión. La idoneidad de la limpieza de la superficie de contacto de la lengua electrónica quedó demostrada en este resultado.
- Se ha diseñado y caracterizado una lengua electrónica “híbrida”, compuesta por dos tipos distintos de sensores electroquímicos, para la determinación de las concentraciones de sales añadidas sobre carne picada de cerdo. Un primer sensor lo constituía una lengua electrónica compuesta por tres electrodos

metálicos (oro, plata y platino), y que su funcionamiento se basaba en medidas voltamétricas de pulsos. El segundo dispositivo se componía de una aguja coaxial utilizada como sensor de impedancia. Los resultados que arrojaron cada uno de los sensores de forma individual mostraban ambos unas capacidades sensoriales excelentes hacia la determinación de los niveles de cloruro de sodio presentes en la muestra, mientras que las capacidades de determinación de otras sales como nitrito y nitrato de sodio eran moderadas. El hecho de simultanear los datos obtenidos de forma individual mediante las dos técnicas en una única matriz de datos hizo que las capacidades predictivas hacia los aniones cloruro y nitrito mejoraran considerablemente, no ocurriendo así para el caso del nitrato.

I.5 Bibliografía consultada

- [1] Y. Huang, X. Chen, M. Hoon, J. Chandrashekar, W. Guo, D. Trankner, N. Ryba, C. Zuker. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature*, 442 (2006), 934-938.
- [2] M. Craven, J. Gardner, P. Bartlett. Electronic noses-development and future prospects. *Trends in Analytical Chemistry*, 15 (1996), 486-493.

- [3] E. Marieb. *The Special Senses in Human Anatomy and Physiology*. 1998, Ed. Benjamin Cummings, Menlo Park, 4th edition. 537–540.
- [4] G. Tortora and S. Grabowski. *Principles of Anatomy and Physiology*. 1996, Ed. Harper Collins, NY. 3th edition. 454–457.
- [5] J. Gardner and P. Bartlett. A history of electronic noses. *Sensors and Actuators B*, 18 (1994), 211–220.
- [6] A. Legin, A. Rudnitskaya and Y. Vlasov. Electronic tongues: sensors, systems and applications. *Sensors Update*, 10 (2002), 143–188.
- [7] K. Persaud and G. Dodd. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. *Nature* 299 (1982), 352-355.
- [8] M. Otto and J. Thomas. Model studies on multiple channel analysis of free magnesium, calcium, sodium, and potassium at physiological concentration levels with ion-selective electrodes. *Analytical Chemistry*, 57 (1985), 2647-2651.
- [9] H. Troy, S. Schiffman and R. Gutierrez. The how and why of electronic noses. *IEEE Spectrum*, 35 (1998), 22-34.
- [10] D. James, S. Scott, Z. Ali and W. O'Hare. Chemical sensors for electronic nose systems. *Microchimica Acta*, 149 (2005), 1-17.
- [11] H. V. Shurmer. Basic limitations for an electronic nose. *Sensors and Actuators B*, 1 (1992), 48-53.
- [12] H. V. Shurmer and J. Gardner. Odour discrimination with an electronic nose. *Sensors and Actuators B*, 8 (1992), 1-11.
- [13] J. Gardner, H. V. Shurmer and T. Tan. Application of an electronic nose to the discrimination of coffees. *Sensors and Actuators B*, 6 (1992), 71-75.
- [14] I. Lundström, T. Ederth, H. Kariis, H. Sundgren, A. Spetz and F. Winquist. Recent developments in field-effect gas sensors. *Sensors and Actuators B*: 23 (1995), 127-133.
- [15] M. Holmberg, F. Winquist, I. Lundström, J. W. Gardner and E. L. Hines. Identification of paper quality using a hybrid electronic nose. *Sensors and Actuators B*, 27 (1995), 246-249.

- [16] K. Toko, T. Murata, T. Matuno, Y. Kikkawa and K. Yamafuji. Taste map of beer by a multichannel taste sensor. *Sens. Mater.* 4 (1992), 145-151.
- [17] F. Winqvist, P. Wide and I. Lundström. An electronic tongue based on voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 357 (1997), 21-31.
- [18] F. Winqvist, S. Holmin, C. Krantz-Rülcker, P. Wide, I. Lundström. A hybrid electronic tongue. *Analytica Chimica Acta*, 406 (2000), 147-157.
- [19] S. Holmin, P. Spångeus, C. Krantz-Rülcker and F. Winqvist. Compression of electronic tongue data based on voltammetry: a comparative study. *Sensors and Actuators B*, 76 (2001), 455-464.
- [20] A. Gutiérrez, F. Cespedes, M. del Valle, D. Louthander, C. Krantz-Rülcker, F. Winqvist. A flow injection voltammetric electronic tongue applied to paper mill industrial waters. *Sensors and Actuators B*, 115 (2006), 390-395.
- [21] C. Krantz-Rülcker, M. Stenberg, F. Winqvist, I. Lundström. Electronic tongues for environmental monitoring based on sensor arrays and pattern recognition: a review. *Analytica Chimica Acta*, 426 (2001), 217-226.
- [22] A. Legin, A. Rudnitskaya, Y. Vlasov, C. Di Natale, F. Davide, A. D'Amico. Tasting of beverages using an electronic tongue. *Sensors and Actuators B*, 44 (1997), 291-296.
- [23] Y. Vlasov, A. Legin, A. Rudnitskaya, A. D'Amico, C. Di Natale. Electronic tongue» — new analytical tool for liquid analysis on the basis of non-specific sensors and methods of pattern recognition. *Sensors and Actuators B*, 65 (2000), 235-236.
- [24] L. Lvova, S. Kim, A. Legin, Y. Vlasov, J. Yang, G. Cha, H. Nam. All-solid-state electronic tongue and its application for beverage analysis. *Analytica Chimica Acta*, 468 (2002), 303-314.
- [25] S. Iiyama, H. Kuga, S. Ezaki, K. Hayashi, K. Toko. Peculiar change in membrane potential of taste sensor caused by umami substances. *Sensors and Actuators B*, 91 (2003), 191-194.
- [26] S. Majumdar, B. Adhikari. Polyvinyl alcohol: A taste sensing material. *Sensors and Actuators B*, 114 (2006), 747-755.

- [27] A. Arrieta, C. Apetrei, M. L. Rodríguez-Méndez, J. A. de Saja. Voltammetric sensor array based on conducting polymer-modified electrodes for the discrimination of liquids. *Electrochimica Acta*, 49 (2004), 4543-4551.
- [28] A. Riul Jr, R. R. Malmegrim, F. J. Fonseca, L. H. C. Mattoso. An artificial taste sensor based on conducting polymers. *Biosensors and Bioelectronics*, 18 (2003), 1365-1369.
- [29] G. Pioggia, F. Di Francesco, A. Marchetti, M. Ferro, R. Leardi, A. Ahluwalia. A composite sensor array impedentiometric electronic tongue: Part II. Discrimination of basic tastes *Biosensors and Bioelectronics*, 22 (2007), 2624-2628.
- [30] I. Kulapin, R. K. Chernova, E. G. Kulapina, N. M. Mikhaleva. Separate detection of homologous surfactants by means of solid-contact unmodified and modified with molecular sieves potentiometric sensors. *Talanta*, 66 (2005), 619-626.
- [31] E. G. Kulapina, N. M. Mikhaleva. The analysis of multicomponent solutions containing homologous ionic surfactant with sensor arrays. *Sensors and Actuators B*, 106 (2005), 271-277.
- [32] J. Olsson, P. Ivarsson, F. Winquist. Determination of detergents in washing machine wastewater with a voltammetric electronic tongue. *Talanta*, 76 (2008), 91-95.
- [33] K. Toko. A taste sensor. *Meas. Sci. Technol.* 9 (1998), 1919-1936.
- [34] L. Moreno, R. Cartas, A. Merkoçi, S. Alegret, J. Gutiérrez, L. Leija, P. Hernández, R. Muñoz, M. del Valle. Data Compression for a Voltammetric Electronic Tongue Modeled with Artificial Neural Networks. *Analytical Letters*, 38 (2005), 2189-2206.
- [35] L. Moreno-Barón, R. Cartas, A. Merkoçi, S. Alegret, M. del Valle, L. Leija, P. R. Hernández, R. Muñoz. Application of the wavelet transform coupled with artificial neural networks for quantification purposes in a voltammetric electronic tongue. *Sensors and Actuators B*, 113 (2006), 487-499.

- [36] J. Gallardo, S. Alegret, M. del Valle. Application of a potentiometric electronic tongue as a classification tool in food analysis. *Talanta*, 66 (2005), 1303-1309.
- [37] F. Winqvist, E. Rydberg, S. Holmin, C. Krantz-Rülcker, I. Lundström. Flow injection analysis applied to a voltammetric electronic tongue. *Analytica Chimica Acta*, 471 (2002), 159-172.
- [38] A. Gutiérrez, A. B. Ibáñez, M. del Valle, F. Céspedes. Automated SIA e-Tongue Employing a Voltammetric Biosensor Array for the Simultaneous Determination of Glucose and Ascorbic Acid. *Electroanalysis*, 18 (2006), 82-88.
- [39] T. Artursson, P. Spångeus, M. Holmberg. Variable reduction on electronic tongue data *Analytica Chimica Acta*, 452 (2002), 255-264.
- [40] M. Sim, T. Shya, M. Ahmad, A. Ahakaff, A. Othman, M. Hitam. Monitoring of Milk Quality With Disposable Taste Sensor. *Sensors*, 3 (2003), 340-345.
- [41] T. Mottram, A. Rudnitskaya, A. Legin, J. Fitzpatrick, P. Eckersall. Evaluation of a novel chemical sensor system to detect clinical mastitis in bovine milk. *Biosensors and Bioelectronics*, 22 (2007), 2689-2693.
- [42] F. Winqvist, R. Bjorklund, C. Krantz-Rülcker, I. Lundström, K. Östergren, T. Skoglund. An electronic tongue in the dairy industry. *Sensors and Actuators B*, 111-112 (2005), 299-304.
- [43] V. Legin, A. M. Rudnitskaya, Yu. G. Vlasov, C. Di Natale, A. D'Amico. The features of the electronic tongue in comparison with the characteristics of the discrete ion-selective sensors *Sensors and Actuators B*, 58 (1999), 464-468.
- [44] M. Ferreira, A. Riul, J. Karen Wohnrath, F. Fonseca, O. Oliveira and L. Mattoso. High-Performance Taste Sensor Made from Langmuir-Blodgett Films of Conducting Polymers and a Ruthenium Complex. *Analytical Chemistry*, 75 (2003), 953-955.

- [45] L. Moreno, A. Merlos, N. Abramova, C. Jiménez, A. Bratov. Multi-sensor array used as an “electronic tongue” for mineral water analysis. *Sensors and Actuators B*, 116 (2006), 130-134.
- [46] R. Martínez-Máñez, J. Soto, E. Garcia-Breijo, L. Gil, J. Ibáñez, E. Llobet. An “electronic tongue” design for the qualitative analysis of natural waters. *Sensors and Actuators B*, 104 (2005), 302-307.
- [47] A. Legin, A. Rudnitskaya, L. Lvova, Yu. Vlasov, C. Di Natale, A. D’Amico. Evaluation of Italian wine by the electronic tongue: recognition, quantitative analysis and correlation with human sensory perception. *Analytica Chimica Acta*, 484 (2003), 33-44.
- [48] A. Legin, A. Rudnitskaya, B. Seleznev, Yu. Vlasov. Electronic tongue for quality assessment of ethanol, vodka and eau-de-vie. *Analytica Chimica Acta*, 534 (2005), 129-135.
- [49] V. Parra, A. Arrieta, J. Fernández-Escudero, M. Rodríguez-Méndez, J. De Saja. Electronic tongue based on chemically modified electrodes and voltammetry for the detection of adulterations in wines. *Sensors and Actuators B*, 118 (2006), 448-453.
- [50] V. Parra, A. Arrieta, J. Fernández-Escudero, H. García, C. Apetrei, M. Rodríguez-Méndez, J. A. de Saja. E-tongue based on a hybrid array of voltammetric sensors based on phthalocyanines, perylene derivatives and conducting polymers: Discrimination capability towards red wines elaborated with different varieties of grapes. *Sensors and Actuators B*, 115 (2006), 54-61.
- [51] S. Buratti, S. Benedetti, M. Scampicchio, E.C. Pangerod. Characterization and classification of Italian Barbera wines by using an electronic nose and an amperometric electronic tongue *Analytica Chimica Acta*, 525 (2004), 133-139.
- [52] Di Natale, R. Paolesse, M. Burgio, E. Martinelli, G. Pennazza, A. D’Amico. Application of metalloporphyrins-based gas and liquid sensor arrays to the analysis of red wine. *Analytica Chimica Acta*, 513 (2004), 49-56.

- [53] K. Beullens, D. Kirsanov, J. Irudayaraj, A. Rudnitskaya, A. Legin, B. Nicolai, J. Lammertyn. The electronic tongue and ATR-FTIR for rapid detection of sugars and acids in tomatoes. *Sensors and Actuators B*, 116 (2006), 107-115.
- [54] P. Ivarsson, S. Holmin, N. Höjer, C. Krantz-Rülcker, F. Winquist. Discrimination of tea by means of a voltammetric electronic tongue and different applied waveforms. *Sensors and Actuators B*, 76 (2001), 449-454.
- [55] L. Lvova, A. Legin, Y. Vlasov, G. Cha, H. Nam. Multicomponent analysis of Korean green tea by means of disposable all-solid-state potentiometric electronic tongue microsystem. *Sensors and Actuators B*, 95 (2003), 391-399.
- [56] Q. Chen, J. Zhao, S. Vittayapadung. Identification of the green tea grade level using electronic tongue and pattern recognition. *Food Research International*, 41 (2008), 500-504.
- [57] A. Legin, A. Rudnitskaya, B. Seleznev and Yu. Vlasov. Recognition of liquid and flesh food using an electronic tongue, *Int. J. Food Sci. Technol.* 37 (2002), 375-385.
- [58] S. Keisuke, F. Tani, K. Sato, H. Ikezaki, A. Taniguishi, T. Emori, F. Iwaki, K. Chikuni, M. Mitsumoto. Analysis of Pork Extracts by Taste Sensing System and the Relationship between Umami Substances and Sensor Output. *Sens Mater*, 17 (2005), 397-404.
- [59] A. Rudnitskaya, D. Kirsanov, A. Legin, K. Beullens, J. Lammertyn, B. Nicolai, J. Irudayaraj. Analysis of apples varieties, comparison of electronic tongue with different analytical techniques. *Sensors and Actuators B*, 116 (2006), 23-28.
- [60] C. Apetrei, M.L. Rodríguez-Méndez, J.A. de Saja. Modified carbon paste electrodes for discrimination of vegetable oils. *Sensors and Actuators B*: 111-112 (2005), 403-409.
- [61] C. Apetrei, F. Gutiérrez, M.L. Rodríguez-Méndez, J.A. de Saja. Novel method based on carbon paste electrodes for the evaluation of bitterness in extra virgin olive oils. *Sensors and Actuators B*: 121 (2007), 567-575.

- [62] M. Cosio, D. Ballabio, S. Benedetti, C. Gigliotti. Geographical origin and authentication of extra virgin olive oils by an electronic nose in combination with artificial neural networks. *Analytica Chimica Acta*, 567 (2006), 202-210.
- [63] M.S. Cosio, D. Ballabio, S. Benedetti, C. Gigliotti. Evaluation of different storage conditions of extra virgin olive oils with an innovative recognition tool built by means of electronic nose and electronic tongue. *Food Chemistry*, 101 (2007), 485-491.
- [64] T. Tran, K. Suzuki, H. Okadome, H. Ikezaki, S. Homma, and K. Ohtsubo. Detection of Changes in Taste of *japonica* and *indica* Brown and Milled Rice (*Oryza sativa* L.) during Storage Using Physicochemical Analyses and a Taste Sensing System. *J. Agric. Food. Chem.*, 53(2005), 1108-1118.
- [65] T. Tran, K. Suzuki, H. Okadome, S. Homma, K. Ohtsubo. Analysis of the tastes of brown rice and milled rice with different milling yields using a taste sensing system. *Food Chemistry*, 88 (2004), 557-566.
- [66] N. Kim, K. Park, I. Park, Y. Cho, Y. Bae. Application of a taste evaluation system to the monitoring of *Kimchi* fermentation. *Biosensors and Bioelectronics*, 20 (2005), 2283-2291.
- [67] T. Imamura, K. Toko, S. Yanagisawa, T. Kume. Monitoring of fermentation process of *miso* (soybean paste) using multichannel taste sensor. *Sensors and Actuators B: 37* (1996), 179-185.
- [68] J. Wright and E. Anslyn. Differential receptor arrays and assays for solution-based molecular recognition. *Chem. Soc. Rev.*, 35 (2006), 14-20.
- [69] A. Goodey, J. Lavigne, S. Savoy, M. Rodriguez, T. Curey, A. Tsao, G. Simmons, J. Wright, S. Yoo, Y. Sohn, E. Anslyn, J. Shear, D. Neikirk, J. McDevitt. Development of Multi-analyte Sensor Arrays Composed of Chemically Derivatized Polymeric Microspheres Localized in Micromachined Cavities. *J. Am. Chem. Soc.*, 123 (2001), 2559-2570.
- [70] Y. Sohn, A. Goodey, E. Anslyn, J. McDevitt, J. Shear, D. Neikirk. A microbead array chemical sensor using capillary-based sample

- introduction: toward the development of an “electronic tongue. *Biosensors and Bioelectronics*, 21 (2005), 303-312.
- [71] M. Gutiérrez, S. Alegret, M. del Valle. Potentiometric bioelectronic tongue for the analysis of urea and alkaline ions in clinical samples. *Biosensors and Bioelectronics*, 22 (2007), 2171-2178.
- [72] C. Di Natale, R. Paolesse, A. Macagnano, A. Mantini, A. D'Amico, A. Legin, L. Lvova, A. Rudnitskaya, Y. Vlasov. Electronic nose and electronic tongue integration for improved classification of clinical and food samples. *Sensors and Actuators B*, 64 (2000), 15-21.
- [73] Yu. G. Mourzina, J. Schubert, W. Zander, A. Legin, Yu. G. Vlasov, H. Lüth, M. J. Schöning. Development of multisensor systems based on chalcogenide thin film chemical sensors for the simultaneous multicomponent analysis of metal ions in complex solutions. *Electrochimica Acta*, 47 (2001), 251-258.
- [74] A. Rudnitskaya, A. Ehlert, A. Legin, Yu. Vlasov, S. Büttgenbach. Multisensor system on the basis of an array of non-specific chemical sensors and artificial neural networks for determination of inorganic pollutants in a model groundwater. *Talanta*, 55 (2001), 425-431.
- [75] J. Gallardo, S. Alegret, M. del Valle. A flow-injection electronic tongue based on potentiometric sensors for the determination of nitrate in the presence of chloride. *Sensors and Actuators B*: 101 (2004), 72-80.
- [76] P. Ivarsson, M. Johansson, N. Höjer, C. Krantz-Rülcker, F. Winquist, I. Lundström. Supervision of rinses in a washing machine by a voltammetric electronic tongue. *Sensors and Actuators B*: 108 (2005), 851-857.
- [77] H. Men, S. Zou, Y. Li, Y. Wang, X. Ye, P. Wan. A novel electronic tongue combined MLAPS with stripping voltammetry for environmental detection. *Sensors and Actuators B*: 110 (2005), 350-357.
- [78] N. Abu-Khalaf and J. Lønsmann Iversen. Calibration of a Sensor Array (an Electronic Tongue) for Identification and Quantification of Odorants from Livestock Buildings. *Sensors* 7 (2007), 103-108.

- [79] N. Abu-Khalaf and J. Lønsmann Iversen. Classification of Mixtures of Odorants from Livestock Buildings by a Sensor Array (an Electronic Tongue). *Sensors* 7 (2007), 129-143.
- [80] M. Cortina, A. Gutiérrez, S. Alegret, Manuel del Valle. Sequential injection system with higher dimensional electrochemical sensor signals: Part 2. Potentiometric e-tongue for the determination of alkaline ions. *Talanta*, 66 (2005), 1197-1206.
- [81] M. Cortina-Puig, X. Muñoz-Berbel, M. Asunción Alonso-Lomillo, F. J. Muñoz Pascual, M. del Valle. EIS multianalyte sensing with an automated SIA system—An electronic tongue employing the impedimetric signal. *Talanta*, 72 (2007), 774-779.
- [82] J. L. Constantino, P. A. Antunes, E. C. Venancio, N. Consolin, F. J. Fonseca, L. H. C. Mattoso, R. F. Aroca, O. N. Oliveira Jr., and A. Riul Jr. Nanostructured Films of Perylene Derivatives: High Performance Materials for Taste Sensor Applications. *Sens. Letter*, 2 (2004), 95-101.
- [83] C. Turner, A. Rudnitskaya, A. Legin. Monitoring batch fermentations with an electronic tongue. *Journal of Biotechnology*, 103 (2003), 87-91.
- [84] C. Söderström, A. Rudnitskaya, A. Legin, C. Krantz-Rülcker. Differentiation of four *Aspergillus* species and one *Zygosaccharomyces* with two electronic tongues based on different measurement techniques. *Journal of Biotechnology*, 119 (2005), 300-308.
- [85] C. Söderström, H. Borén, C. Krantz-Rülcker. Use of an electronic tongue and HPLC with electrochemical detection to differentiate molds in culture media. *International Journal of Food Microbiology*, 97 (2005), 247-257.
- [86] C. Söderström, H. Borén, F. Winqvist, C. Krantz-Rülcker. Use of an electronic tongue to analyze mold growth in liquid media. *International Journal of Food Microbiology*, 83 (2003), 253-261.
- [87] C. Söderström, F. Winqvist, C. Krantz-Rülcker. Recognition of six microbial species with an electronic tongue. *Sensors and Actuators B: 89* (2003), 248-255.

- [88] K. Toko. Taste sensor with global selectivity. *Materials Science and Engineering*: 4 (1996), 69-82.
- [89] K. Toko. Electronic sensing of tastes. *Sens. Update*, 3 (1998), 131-160.
- [90] A. Legin, A. Rudnitskaya, D. Clapham, B. Seleznev, K. Lord, Y. Vlasov. Electronic tongue for pharmaceutical analytics: quantification of tastes and masking effects. *Anal Bioanal Chem.* 380 (2004), 36-45.
- [91] L. Lvova, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico. Detection of alcohols in beverages: An application of porphyrin-based Electronic tongue. *Sensors and Actuators B*: 118 (2006), 439-447.
- [92] L. Gil, E. Garcia-Breijo, J. Ibañez, R. Labrador, E. Llobet, R. Martínez-Máñez and J. Soto. Electronic Tongue for Qualitative Analysis of Aqueous Solutions of Salts Using Thick-film Technology and Metal Electrodes. *Sensors*, 6 (2006), 697-707.
- [93] L. Gil, E. García, J. Ibañez, R. Labrador, E. Llobet, R. Martínez y J. Soto. Detection of wine spoilage by electronic tongue and nose. XX Eurosensors. Goteborg, Sweden, 2006. 94-95.
- [94] L. Gil, J. Barat, E. Garcia-Breijo, J. Ibañez, R. Martínez-Máñez, J. Soto, E. Llobet, J. Brezmes, M. Aristoy, F. Toldrá. Fish freshness analysis using metallic potentiometric electrodes. *Sensors and Actuators B*: 131 (2008), 362-370.
- [95] F. Winquist, C Krantz-Rülcker, P Wide, and I Lundström. Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry. *Meas. Sci. Technol.* 9 (1998), 1937-1946.
- [96] C. Apetrei, M. L. Rodríguez-Méndez, V. Parra, F. Gutierrez, J. A. de Saja. Array of voltammetric sensors for the discrimination of bitter solutions. *Sensors and Actuators B*: 103 (2004), 145-152.
- [97] A. Arrieta, M. L. Rodríguez-Mendez, J. A. de Saja. Langmuir-Blodgett film and carbon paste electrodes based on phthalocyanines as sensing units for taste. *Sensors and Actuators B*: 95 (2003), 357-365.
- [98] A. Gutiérrez, A.B. Ibañez, F. Céspedes, S. Alegret and M. del Valle. Simultaneous determination of phenolic compounds by means of an

- automated voltammetric “electronic tongue”, *Anal. Bioanal. Chem.* 382 (2005), 471–476.
- [99] J. Busch, K. Hrnčirik, E. Bulukin, C. Boucon, C. Mascini. Biosensor measurements of polar phenolics for the assessment of the bitterness and pungency of virgin olive oil. *J Agric Food Chem.* 54 (2006), 4371-4377.
- [100] A. Riul, Jr, A. M. Gallardo Soto, S.V. Mello, S. Bone D. M. Taylor and L. H. C. Mattoso An electronic tongue using polypyrrole and polyaniline. *Synthetic Metals*, 132 (2003), 109-116.
- [101] M. Ferreira, C. Constantino, A. Riul, K. Wohnrath, R. Aroca, J. Giacometti, O. Oliveira, L. Mattoso. Preparation, characterization and taste sensing properties of Langmuir–Blodgett Films from mixtures of polyaniline and a ruthenium complex. *Polymer*, 44 (2003), 4205-4211.
- [102] A. Riul Jr., H. de Sousa, R. Malmegrim, D. dos Santos Jr., A. Carvalho, F. Fonseca, O. Oliveira Jr., L. Mattoso. Wine classification by taste sensors made from ultra-thin films and using neural networks. *Sensors and Actuators B*: 98 (2004), 77-82.
- [103] D. dos Santos Jr., A. Riul Jr., R. Malmegrim, F. Fonseca, O. Oliveira Jr., L. Mattoso. A Layer-by-Layer Film of Chitosan in a Taste Sensor Application. *Macromolecular Bioscience*, 3 (2003), 591-595.
- [104] J. Lavigne, E. Anslyn. Sensing A Paradigm Shift in the Field of Molecular Recognition: From Selective to Differential Receptors. *Angewandte Chemie International Edition*, 40 (1997), 3118 – 3130.
- [105] S. Li, P. Floriano, N. Christodoulides, D. Fozdar, D. Shao, M. Ali, P. Dharshan, S. Mohanty, D. Neikirk, J. McDevitt, S. Chen. Disposable polydimethylsiloxane/silicon hybrid chips for protein detection. *Biosensors and Bioelectronics*, 21 (2005), 574-580.
- [106] D. Walt. Imaging optical sensor arrays. *Curr Opin Chem Biol.*, 6 (2002), 689-95.
- [107] D. Monk, and D. Walt. Optical fiber-based biosensors. *Anal. Bioanal. Chem.*, 379 (2004), 931-945.

- [108] D. Edelmann, B. Lendl. Toward the Optical Tongue: Flow-Through Sensing of Tannin-Protein Interactions Based on FTIR Spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 124 (2002), 14741-14747.
- [109] I. Campos, R. Labrador, S. Royo, R. Martínez, J. Soto. Predicción de los niveles de simulantes de gases de Guerra en medio acuoso mediante lenguas electronicas. II Workshop on sensors. A local approach. Burjassot, España, 2008.
- [110] A. D'Amico, C. Di Natale, R. Paolesse. Portraits of gasses and liquids by arrays of nonspecific chemical sensors: trends and perspectives. *Sensors and Actuators B*: 68 (2000), 324-330.
- [111] C. Di Natale, R. Paolesse, A. Macagnano, A. Mantini, A. D'Amico, M. Ubigli, A. Legin, L. Lvova, A. Rudnitskaya, Y. Vlasov. Application of a combined artificial olfaction and taste system to the quantification of relevant compounds in red wine. *Sensors and Actuators B*: 69 (2000), 342-347.
- [112] M. Rodriguez-Mendez, A. Arrieta, V. Parra, A. Bernal, A. Vegas, S. Villanueva, R. Gutierrez-Osuna, J. de Saja. Fusion of three sensory modalities for the multimodal characterization of red wines. *IEEE Sensors Journal*, 4 (2004), 348-354.
- [113] T. Aishima, S. Nakai. Chemometrics in flavor research. *Food Rev. Int.* 7 (1991), 33-39.
- [114] J. Krichmar, J.A. Snook. A neural approach to adaptive behavior and multi-sensor action selection in a mobile device. *Proceedings of the 2002 IEEE International Conference on Robotics and Automation*. 3864-3869.
- [115] D. Ripley. Pattern recognition and neural networks. Cambridge University press, 1996. Cambridge.
- [116] J. Jackson. A user's guide to principal components. Ed. John Wiley & sons. NY. 1991.
- [117] P. Geladi, B. Kowalski. Partial least-squares regression: a tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185 (1986), 1-17.

- [118] S. Wold. Personal memories of the early PLS development. *Chemometrics and Intelligent Laboratory systems*, 58 (2001), 83-84.
- [119] H. Martens, T. Naes. *Multivariate calibration*. Ed. Wiley, 1989. London.
- [120] R. Labrador, J. Olsson, F. Winqvist, R. Martinez and J. Soto. Determination of bisulfites in wines with an electronic tongue based on pulse voltammetry. 12th International Conference on Electroanalysis ESEAC. 2002, Prague.
- [121] P. Cyosek, W. Wroblewski. Sensor arrays for liquid sensing-electronic tongue systems. *Analyst*, 132 (2007), 963-978.
- [122] APHA AWWA WPCF, *Standard methods for the Examination of Water and Wastewaters*, 16th Ed., Washington, 1985.
- [123] T. Parsons, Y. Maita, C. Lalli, C. M. A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis. Pergamon Press, Elmsford, 1984. New York.
- [124] J. Robinson. *The Oxford Companion to wine*, 2th Edition, Oxford University Press, 1999. Oxford.
- [125] E. Flancy, *Oenologie, Fondements scientifiques et technologiques*, Ed. Lavoisier, 1998. Paris.
- [126] J. Ough, E. Crowell, E.A. Use of sulphur dioxide in winemaking. *J. Food Sci*, 52 (1987), 386-389.
- [127] J. Poulton, Chemical protection of wine against oxidation. *Die Wynboer*, 466 (1970), 22-23.
- [128] H. Windenrad, V. Singleton, V.L. The production of aldehydes as a result of oxidation of polyphenolic compounds and its relation to wine aging. *Am. J. Enol. Vitic*, 25 (1974), 119-126.
- [129] Y. Amano, M. Kubota, M. Kagami. Oxygen uptake of Kosshu grape must and its control. *Hokkokogaku Kaishi*, 57 (1979), 92-101.
- [130] M. Dubernet, P. Ribéreau-Gayon. Presence et signficance dans les moûts et les vins de la tyrosinase du raisin. *Conn. Vigne Vin*, 7 (1973), 283-292.
- [131] L. Sayavedra-Soto, M. Montgomery. Inhibition of polyphenoloxidase by sulfite. *J. Food Sci*, 51 (1986), 1531-1536.

- [132] C. Beech, L. Burroughs, C. Timberlake, G. Whiting. Progres recents sur l'aspect chimique et antimicrobienne de l'anhydride sulfureux. *Bulletin de l'OIV*, 52 (1979), 1001-1022.
- [133] S. Lafon-Lafourcade, E. Peynaud. Sur l'action antibacterienne de l'anhydride sulfureux sous forme libre et sous forme combinée. *Conn. Vigne Vin*, 8 (1974), 187-203.
- [134] P. Romano, G. Suzzi. Sulfur dioxide and wine microorganisms. En "Wine Microbiology and Biotechnology". Ed. Fleet, G.H. Harwood Academic Publishers, Chur, 1993. Suiza.
- [135] L. Schroeter. Sulfur dioxide application in foods, beverages and pharmaceuticals. *New York Pergamon Press*. 1966. New York.
- [136] A. Madrid, J. Cenzano, A. Cenzano. Tecnología y legislación del vino y bebidas derivadas, Ed. *Mundi Prensa*, 1994. Madrid.
- [137] G. King, J. Ponting, D. Sanshuck, R. Jackson, K. Mihara. Factors affecting death of yeast by sulphur dioxide. *J. Food Prot.*, 44 (1981), 92-97.
- [138] H. Berg, F. Fillipello, E. Hinreiner, A. Webb. Evaluation of threshold and minimum difference concentrations of various constituents of wines: I. Water solutions of pure substances. *Food Tech.*, 9 (1955), 23-26.
- [139] M. Amerine, M. Joslyn. Table wines; The technology of their production. Berkeley and LA. University of California Press. 1951.
- [140] C. Apetrei, I.M. Apetrei, I. Nevares, M. del Alamo, V. Parra, M.L. Rodríguez-Méndez, J.A. De Saja. Using an e-tongue based on voltammetric electrodes to discriminate among red wines aged in oak barrels or aged using alternative methods Correlation between electrochemical signals and analytical parameters. *Electrochimica Acta*, 52 (2007) 2588–2594.
- [141] H. P. Vasantha Rupasinghe and S. Clegg. Total antioxidant capacity, total phenolic content, mineral elements and histamine concentrations in wine of different fruit sources, *J. Food Compos. Anal.*, 20 (2007), 133-137.
- [142] R. Lawrie. Ciencia de la carne. Ed. Acribia. 1966. Zaragoza.
- [143] N. G. Marriott, P. P. Graham, C. K. Shaffer, S. K. Phelps. Accelerated production of dry cured hams. *Meat Science*, 19 (1987), 53-64.

- [144] T. Kemp, J. Fox, W. Moody. Cured ham properties as affected by nitrate and nitrite and fresh pork quality. *Journal of Food Science*, 39 (1998), 972 – 976.
- [145] J. Arnau, L. Guerrero, G. Casademont, P. Gou. Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry cured ham during processing. *Food Chemistry*, 52 (1995), 63-69.
- [146] MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN (MAPA). “La alimentación en España”. Madrid: Secretaría General Técnica, 2001.
- [147] J. Ruiz-Carrascal, J. Ventanas, R. Cava, A. I. Andrés, C. García. Texture and appearance of dry cured ham as affected by fat content and fatty acid composition. *Food Research International*, 33 (2000), 91-95.
- [148] J. Ruiz-Ramírez, J. Arnau, X. Serra, P. Gou. Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. *Meat Science*, 70 (2005), 579-587.
- [149] G. Offer, J. Trinick. On the mechanism of water holding in meat: The swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science*, 8 (1983), 245-281.
- [150] J. Arnau, X. Serra, J. Comaposada, P. Gou, M. Garriga. Technologies to shorten the drying period of dry-cured meat products. *Meat Science*, 77 (2007), 81-89.
- [151] EUROPEAN PARLIAMENT AND COUNCIL DIRECTIVE No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners.
- [152] C. Di Natale, A. Macagnano, F. Davide, A. D’Amico, R. Paolesse, T. Boschi, M. Faccio, G. Ferri. An electronic nose for food analysis. *Sensors and Actuators B*, 44 (1997), 521–526.
- [153] A. Macagnano, M. Careche, A. Herrero, R. Paolesse, E. Martinelli, G. Pennazza, P. Carmona, A. D’Amico, C. Di Natale. A model to predict fish quality from instrumental features. *Sensors and Actuators B*, 111–112 (2005) 293–298.

- [154] N. El Barbri, E. Llobet, N. El Bari, X. Correig, B. Bouchikhi. Application of a portable electronic nose system to assess the freshness of Moroccan sardines. *Materials Science and Engineering*, 28 (2008), 666–670.
- [155] J.E. Haugena, E. Chanie, F. Westad, R. Jonsdottir, S. Bazzo, S. Labreche, P. Marcq, F. Lundby, G. Olafsdottir. Rapid control of smoked Atlantic salmon (*Salmo salar*) quality by electronic nose: Correlation with classical evaluation methods. *Sensors and Actuators B*, 116 (2006), 72–77.
- [156] M. García, M.C. Horrillo, J.P. Santos, M. Aleixandre, I. Sayago, M.J. Fernández, L. Arés, J. Gutiérrez. Artificial olfactory system for the classification of Iberian hams. *Sensors and Actuators B*, 96 (2003), 621–629.
- [157] M. Chanet, C. Riviere, P. Eynard. Electric impedance spectrometry for the control of manufacturing process of comminuted meat products. *Journal of Food Engineering*, 42 (1999), 153-159.
- [158] J. Damez, S. Clerjon, S. Abouelkaram, J. Lepetit. Beef meat electrical impedance spectroscopy and anisotropy sensing for non-invasive early assessment of meat ageing. *Journal of Food Engineering*, 85 (2008), 116–122.

Capítulo II

Diseño y Caracterización de un sensor de capa gruesa de óxido de rutenio para mediciones de pH. Estudio de los procesos de interferencia

II.1 Introducción

En la actualidad, el diseño y desarrollo de sensores químicos en estado sólido se viene incrementando considerablemente. Este hecho obedece a lo simple de su funcionamiento, su pequeño tamaño, resistencia y a lo reducido de su costo, ya que es posible emplear técnicas de fabricación masiva que además significan mayor reproducibilidad en la construcción del dispositivo.

En este contexto se pueden distinguir tres metodologías para construir sensores químicos en estado sólido: manuales, de capa fina (*thin film*) y de capa gruesa (*thick film*); siendo las dos últimas utilizadas principalmente para producir en masa dispositivos de configuración plana.

La tecnología *thin film* se basa en la aplicación de un conjunto de técnicas de deposición y grabado, que junto con la realización de procesos microlitográficos permiten la deposición secuencial de capas de espesor menores a 1 micra. El material es depositado sobre un sustrato (generalmente silicio) mediante procesos tecnológicos microelectrónicos, tales como *sputtering*, deposición química en fase vapor (CVD), entre otros. Indudablemente esta tecnología es altamente recomendable en el desarrollo de dispositivos miniaturizados en estado sólido y tienen la ventaja de poseer una gran reproducibilidad; no obstante, la infraestructura que se requiere para su diseño es muy costosa, por lo que desarrollar una línea de investigación en esta área es en muchos casos económicamente prohibitivo.

Como alternativa intermedia entre la tecnología *thin film* (capa fina) y las metodologías manuales de diseño de sensores, se presenta la tecnología *thick film* (capa gruesa), que permite construir sensores químicos de forma masiva con una infraestructura mínima y buena reproducibilidad. Esta tecnología ha tenido mucho éxito en los últimos años e incluso ya cuenta con representantes disponibles comercialmente, lo cual demuestra su gran potencialidad.

La tecnología de capa gruesa aparece a principios de los años sesenta en el desarrollo de circuitos electrónicos utilizando técnicas serigráficas combinadas con la incorporación de componentes semiconductores. En estas técnicas serigráficas,

los elementos conductores o semiconductores que se presentan en forma de pastas o tintas, son serigrafiados o impresos sobre sustratos sólidos, para luego ser calcinados o endurecidos mediante tratamiento térmico. Con el paso de los años, numerosos investigadores analizaron que de la misma forma que se depositan pastas de elementos eléctricos, se podrían depositar también pastas compuestas por materiales químicamente activos que reaccionen o interactúen con algunos analitos de interés. De esta forma, se presentaron a mediados de los setenta los primeros trabajos acerca del diseño de sensores químicos de capa gruesa para la detección de elementos comunes en la naturaleza. Lucas y colaboradores diseñaron un sensor basado en pastas de oro y platino depositadas sobre alúmina para aplicaciones en el campo de las investigaciones agrícolas, que incluían seguimientos de la temperatura y humedad del suelo, entre otros parámetros [1]. Como dispositivos *thick film* para estudios de la temperatura se presentaron algunos trabajos: Lepavuori y colaboradores [2] diseñaron un sensor de pasta de titanato de bario y estroncio, y algunas combinaciones de estos, las cuales eran sensibles a la temperatura. Con el mismo fin, Janoska y Haskard [3] diseñaron un dispositivo compuesto por combinaciones de pastas dieléctricas estándares.

El uso de pastas resistivas compuestas de elementos de óxido de metal para el diseño de sensores de capa gruesa se viene generalizando desde hace más de veinte años, dada la alta sensibilidad que muestran estos materiales. Pastas compuestas de óxido de estaño y de titanio dopada con óxido de hierro III han sido utilizadas para el diseño de sensores de gases [4, 5]; mientras que con pastas de óxido de rutenio se vienen desarrollando algunos sensores de pH [6, 7].

En este capítulo se expondrán los resultados del diseño de un sensor de capa gruesa de óxido de rutenio concebido como sensor potenciométrico de pH. Para su diseño, se utilizarán pastas resistivas comerciales, lo cual reduce considerablemente los gastos del diseño. Se realizará una caracterización profunda del dispositivo, que incluirá desde pruebas de resistencia del material, determinaciones de tiempo de respuesta, reproducibilidad, sensibilidad, potencial estándar de electrodo, etc.; así

como se llevará a cabo un análisis riguroso de los procesos de interferencia que puedan afectar la respuesta del sensor.

II.11 Una panorámica acerca de la tecnología de capa gruesa

Durante la Segunda Guerra Mundial y a través del programa de misiles, la tecnología de capa gruesa (*thick film*) surge como la más antigua de las técnicas microelectrónicas de producción en masa [8, 9]. Algunas mechas electrónicas para bombas fueron confeccionadas usando tintas o pastas de plata mediante métodos primitivos de serigrafía. No obstante, aunque la industria del *thick film* surge por los años cuarenta, no es hasta los sesenta que la tecnología se comienza a usar con fines meramente comerciales. IBM en conjunción con Du Pont, desarrollaron una serie de pastas de paladio conocidas como la serie 7800. Estas pastas fueron usadas por IBM en la manufactura de los computadores de la serie 360 [10]. Hoy en día, los tipos y rangos conocidos de pastas son numerosos, y la versatilidad y aplicaciones de la tecnología *thick film* sigue creciendo continuamente [11].

Con el paso de los años, la deposición de pastas mediante serigrafía no ha sido el único método usado para producir dispositivos microelectrónicos. Deposición al vacío, electroplateado, pintura, deposición mediante spray, son algunos ejemplos de procesos alternativos. La deposición al vacío es un proceso alternativo que se conoce comúnmente como "*thin film*". Los nombres "*thick*" y "*thin*" sugieren estar referidos al espesor de la capa de pasta que queda al ser depositada, lo cual no es cierto, pues la tecnología *thin film* se relaciona con las deposiciones al vacío (evaporación, *sputtering*, etc.) mientras que *thick film* indica procesos de deposición mediante serigrafía.

El proceso para la preparación de dispositivos de capa gruesa consiste en un número de pasos simples que son repetidos varias veces siguiendo una adecuada secuencia. Estos pasos son: preparación de las pantallas de impresión, impresión serigráfica y por último calcinado. En dependencia del dispositivo que desee

diseñar, algunos procesos electrónicos estándares se pueden adicionar a los pasos fundamentales de la serigrafía, tales como soldadura, pruebas eléctricas y empaquetamiento.

El paso básico en la preparación de *thick films* es lógicamente la impresión serigráfica. Aquí, las pastas o tintas son empujadas a través de las pantallas mediante una rasqueta, hecha de material flexible. La pasta o tinta solamente pasará a través de la pantalla donde existan agujeros (**Figura 55**). De esta forma, el patrón de la pantalla de impresión definirá el patrón de la impresión resultante sobre el sustrato. Como generalmente se imprimen materiales eléctricos para formar circuitos o sensores, el sustrato debe ser de algún material aislante como por ejemplo alúmina, poliéster o acero recubierto de porcelana.

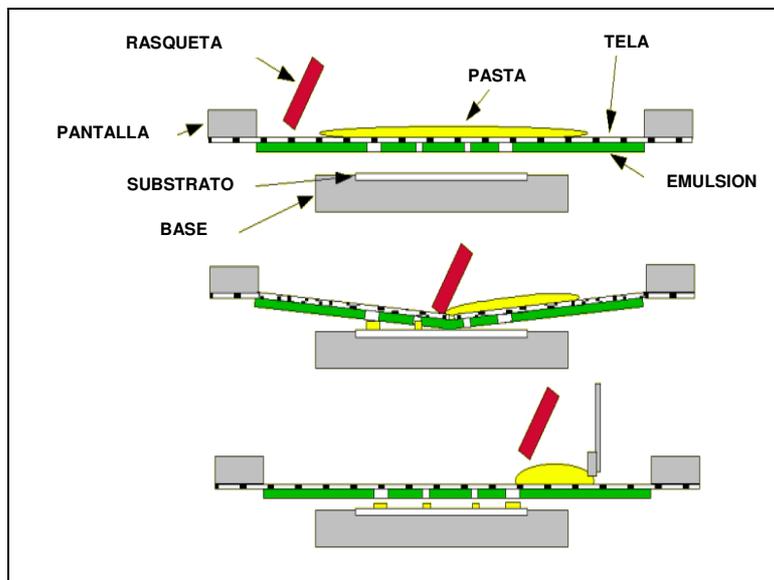


Figura 55. Impresión serigráfica.

II.12 Impresión serigráfica

Como se comentó anteriormente, la impresión serigráfica es la clave de la tecnología de diseño de dispositivos *thick film*. Aquí, la función de la impresión es tomar la cantidad de pasta requerida (y medida) y depositarla en la posición correcta sobre el sustrato. Esto se debe realizar de forma consistente para lograr repetitividad en la deposición.

Algunas de los componentes fundamentales de la técnica de serigrafía se pueden observar en la **Figura 55**. Una descripción de la función de cada uno se ofrece a continuación:

- La pantalla: determina no solo donde se depositará la pasta, sino también determina la cantidad de pasta a depositar.
- La rasqueta: fuerza la pasta a través de la pantalla.
- La base: donde se deposita el sustrato.
- Sistema neumático, de vacío o hidráulico: sistema que opera el sistema de impresión.
- Una estructura consistente en forma de marco: sostiene todos los elementos (pantalla, rasqueta, pastas), y permite el ajuste y la alineación exacta en la posición deseada.

II.121 Pantallas

Las pantallas definen el patrón de impresión y cuantifican la cantidad (espesor) de la pasta a ser depositada. Consiste en un marco resistente, generalmente de aluminio, de forma cuadrada, donde la correspondiente malla es estirada o tensada adecuadamente (**Figura 56**). Algunos aspectos importantes a la hora de seleccionar el tipo de malla para preparar las pantallas son: el tipo de material, el tamaño, la tensión, la orientación y por último, la uniformidad.

Algunas propiedades adicionales son la flexibilidad (que permite mantener contacto con superficies de sustrato irregulares, aunque no debe ser elásticas como para producir elongaciones); dureza (lo cual puede afectar el tiempo de vida de la rasqueta); no atascable (por el sustrato), etc., y deben ser consideradas para la serigrafía.

Debido a que generalmente las mallas son materiales preparados mediante tejido, estas se categorizan a través de un contador, lo cual se representa como el número de fibras tejidas por pulgadas o centímetros. Existen también otros parámetros relacionados con las mallas como son el diámetro de las fibras, apertura y espesor de la malla. El diámetro de la fibra y la apertura de la malla determinan el porcentaje de área abierta a través de la cual pasará la pasta.

La malla es uniformemente estirada a través del marco y fijada a este mediante resinas epoxi. La tensión de la pantalla debe ser estrictamente chequeada, lo cual se realiza aplicando una fuerza de magnitud conocida al centro de la pantalla y midiendo la deflexión con un indicador específico.

Naturalmente, para una impresión consistente sobre toda la pantalla, la malla debe ser uniforme y no tener defectos. Para ello se necesita realizar una inspección minuciosa antes de adquirir la malla y previo a la preparación de la pantalla de impresión.

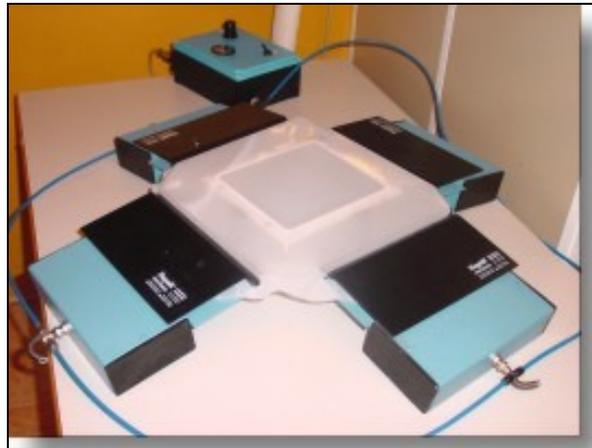


Figura 56. Estirado-tensado de malla de la pantalla.

II.122 Rasquetas

La función de la rasqueta es transferir la pasta al sustrato [12]. Esto se logra forzando la pasta a través de la pantalla, la tensión superficial mantendrá la pasta unida al sustrato cuando la pantalla se separe de este. En este sentido, garantizar un tiempo de vida adecuado de la rasqueta depende fundamentalmente del material de que está hecha y de la presión que se ejerce sobre ella, aunque algunos aspectos son importantes también, como por ejemplo, compatibilidad con las pastas y con los disolventes que generalmente se utilizan en el proceso.

Algunos materiales típicos con los que se confeccionan las rasquetas son el neopreno y poliuretanos. La forma de las rasquetas debe ser tal que posea un borde afilado, que forme un ángulo de “ataque” de entre 45 y 60° cuando entra en contacto con la pasta (**Figura 57**).

La presión que se aplica sobre la rasqueta afecta también la definición de la impresión. Si fuera demasiado ligera, no se forzaría una cantidad suficiente de pasta a través de la pantalla, mientras que si se aplicara una presión excesiva, la pantalla se podría trabar o estirar demasiado y por lo tanto habría que sustituirla. Por lo tanto, previo a la impresión, se debe realizar un análisis de la presión idónea en función del tipo de rasqueta, de pasta, de pantalla, etc.

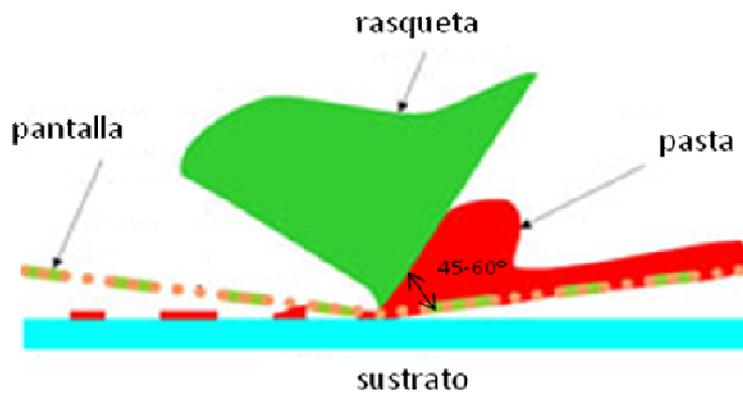


Figura 57. Funcionamiento típico de una rasqueta.

II.123 Pastas y sustratos

Con el paso de los años, muchos son los tipos de pastas y sustratos que están siendo constantemente desarrollados. Es por tal motivo que se hace engorroso el hecho de categorizarlos.

Por lo general, existen dos familias principales de pastas, que son las de metales nobles y las de metales comunes. Una clasificación más específica se puede realizar dentro del grupo de las pastas de metales nobles, esto es: pastas de calcinado a altas, medias y bajas temperaturas. En el presente, sólo los sistemas de alta temperatura de calcinado son adecuados para usos militares o para lograr productos técnicamente adecuados.

Algunos tipos de pastas se caracterizan por la función que se espera de ellas en la aplicación sobre sistemas *thick film*. Así, podemos encontrar pastas del tipo:

- Conductoras: esta propiedad las hace útiles a procesos como soldadura, enlaces, etc.

- Resistivas
- Dieléctricas: diferentes constantes dieléctricas y propiedades de frecuencia.
- De recubrimiento: especialmente usadas como protección (del tipo epoxi o vidrio)
- Especiales: se incluyen aquí algunas “ferritas”, termistoras, voltaje-dependientes, etc.

Así mismo, una parte importante del sistema thick film es sin duda el sustrato. Este no constituye únicamente el soporte mecánico del dispositivo, sino que también ofrece protección mecánica, ayuda a disipar el calor y ofrece además un alto aislamiento eléctrico. En general, un sustrato debe poseer las siguientes propiedades:

- Alta resistencia mecánica
- Alta resistencia a la abrasión
- Alta resistencia térmica
- Estabilidad dimensional
- Correcto acabado superficial
- Buena resistencia eléctrica
- Baja constante dieléctrica
- Estabilidad química y compatibilidad con las pastas
- Buena conductividad térmica
- Baja porosidad
- Bajos costes

Pastas de metales nobles. Como el nombre indica, estas pastas incluyen en su composición uno o más metales nobles. Las primeras pastas de este tipo se prepararon con combinaciones de plata-paladio, y aún hoy en día son utilizadas. La composición de las pastas es secreto de las compañías o empresas que las preparan, no obstante, y de modo general, la composición de las pastas incluye:

1. Metales nobles
2. Material aislante (como por ejemplo, frita de vidrio)
3. Vehículo orgánico para producir mezclas de los componentes en la pasta de impresión
4. Aditivos especiales para mejorar las características de producto

Como se dijo anteriormente, las pastas de metales nobles se clasifican en base a la temperatura de calcinación en pastas de alta, media y baja temperatura. A continuación exponemos algunas de las características de las mismas.

Pastas y sustratos de temperatura alta de calcinado. Debido a que estas pastas generalmente están formadas por mezclas de metales y óxidos de metales, son conocidas como pastas “cermet” (cerámica/metálica). Los metales nobles que la componen generalmente son plata, oro, paladio, rutenio, platino, así como combinaciones de estos. En la preparación de estas pastas, las partículas de metal son finalmente granuladas hasta alcanzar un tamaño aproximado de 10 micras.

Quizá la más conocida de estas pastas conductoras es la compuesta por la combinación de plata-paladio. Aquí, la plata ofrece una muy buena conductividad, mientras que el paladio ayuda a reducir tanto los costes de preparación como el problema de la migración de la plata. Hay que tener control sobre la adición de paladio a la mezcla, pues una cantidad alta resultaría desventajoso ya que disminuiría las posibilidades de soldadura en el dispositivo y además aumentaría la resistencia del conductor.

En ocasiones, los propios metales no tienen adherencia a la superficie del sustrato, por lo que se deben utilizar métodos o aditivos para eliminar esta dificultad. Uno de los métodos consiste en utilizar frita de vidrio (generalmente borosilicatos) mezclada dentro de la pasta. Una frita de borosilicatos está generalmente compuesta por elementos como el plomo, boro, silicio y bismuto, entre otros [13].

En el calcinado, el vidrio se reblandece y humedece el sustrato. De esta forma las partículas de metal quedan atrapadas en una especie de aglomerado. Como el vidrio no se enlaza químicamente a los metales, la adhesión depende de este vínculo mecánico del vidrio, y por ende, se forma un enlace “mecánico”. Las pastas conductoras que emplean este tipo de mecanismo de enlace son denominadas fritas.

Un segundo método para asegurar la adherencia de los metales al sustrato es el uso de aditivos especiales tales como cadmio, cobre u óxido de cobre que se incluyen para lograr enlaces reactivos. Por ejemplo, si usáramos alúmina como sustrato, se formaría aluminato de cobre y algunos compuestos similares en la superficie del sustrato. La fortaleza de la adhesión dependerá de la pureza del sustrato. Típicamente, la alúmina presenta entre un 94 y un 96% de pureza. Las pastas conductoras que utilizan este mecanismo de enlace son denominadas reactivo-enlazantes.

Existe un tercer caso en el cual la preparación de las pastas incluye los dos métodos anteriores para la mejora de la adhesión. Estas se denominan técnicas de enlace-mezcladas.

El material orgánico consiste en un aglomerante (generalmente etil celulosa) y un disolvente (aceite de pino, aguarrás o butil acetato de celulosa). Sus funciones son mantener unida toda la mezcla hasta que finalice el proceso de serigrafía. La porción volátil es evaporada después de la impresión (mediante el secado) mientras el material orgánico es “quemado” durante el proceso de calcinado dentro de la mufla. Como las pastas contienen todo este material orgánico que incluye

compuestos volátiles, es aconsejable su almacenamiento en refrigerador, a temperaturas cercanas a 0° para evitar su evaporación.

Las pastas de alta temperatura son calcinadas generalmente a temperaturas entre 750 y 850°. La temperatura exacta dependerá de la composición de la pasta. Algunas pastas de platino así como algunas pastas dieléctricas pueden necesitar incluso temperaturas superiores a los 950°. Consecuentemente, los sustratos utilizados junto a estas pastas deben ser suficientemente resistentes a estas elevadas temperaturas. Algunos materiales presentan tal resistencia como por ejemplo la alúmina, berilia, algunos titanatos y el nitruro de aluminio. Entre todos estos materiales, la alúmina es el mas conocido y mundialmente utilizado.

Los sustratos de alúmina son generalmente óxidos de aluminio de una pureza entre el 94 y 96%, y el espesor que se viene utilizando en la preparación de dispositivos thick-film oscila entre 625 y 1000 micras. Se pueden adicionar algunos pigmentos al sustrato para darle cierta tonalidad en función del uso posterior que se la vaya a dar, pero normalmente estos son de color blanco. Los sustratos de alúmina se preparan mediante aglomerados de polvo de alúmina a muy altas temperaturas [13]. Para reducir la temperatura de aglomeración, se usan algunos aditivos como óxidos de magnesio, de calcio, o dióxido de silicio. Los polvos de los elementos se mezclan y se granulan a pequeñas partículas. Se adiciona también agua para facilitar la mezcla de todos los componentes. La mezcla resultante es secada y comprimida a la forma deseada; y posteriormente expuesta a temperaturas de hasta 1700°. El tamaño de los sustratos varía entre 10 mm cuadrados hasta incluso alcanzar tamaños exageradamente grandes. El uso típico como sustratos para dispositivos microelectrónicos oscila entre 1x1; 1x2; o 2x2 pulgadas.

Pastas y sustratos de temperatura media de calcinado. Estos sistemas surgieron como un intento por reducir los costes de diseño de algunos productos que requerían dispositivos electrónicos, como algunos electrodomésticos (lavadores, neveras, etc.). Dado que los dispositivos *thick film* necesitan ser impresos sobre

sustratos aislantes, se hizo necesaria la viabilidad del uso como sustrato de acero esmaltado, utilizado generalmente como carcasa del electrodoméstico.

Los sustratos de acero recubierto de porcelana y algunas pastas apropiadas estuvieron desarrollándose durante casi una década, pero no llegaron a hacerse populares. Una razón pudo ser que el sodio contenido en los primeros esmaltados afectaba gravemente el tiempo de vida de las pastas depositadas.

El esmalte se obtiene por la reacción de un material refractario (como por ejemplo, cuarzo o feldespato) con bórax, sosa, criolita o fluorita, para formar un vidrio que al fundirse forma una fritada. Se puede dar pigmentación al material mediante adición de cobalto, lo cual además mejora la adhesión sobre el acero. Este esmalte debe poseer una temperatura de fusión lo suficientemente alta para que no se funda cuando el dispositivo thick film que se prepare se calcine.

Recientemente se han preparado otros tipos de sustrato. La característica principal de estos es que la superficie del sustrato es activada mediante oxidación, por lo cual las pastas dieléctricas pueden ser serigrafiadas directamente en ellos. Algunos ejemplos de estos nuevos materiales son:

- Fecraloy: Mezcla compuesta por hierro, cromo, aluminio, con ciertas adiciones de itrio.
- Sicromal: Acero inoxidable con adiciones de itrio.

Las pastas usadas para estos sustratos de acero esmaltado son muy similares a las de alta temperatura, aunque con una temperatura de calcinado cercana a los 625°.

Pastas y sustratos de temperatura baja de calcinado. Este tipo de pastas fue diseñado para ser compatible con productos de la industria eléctrica los cuales son capaces de soportar temperaturas de hasta 150° durante 2 y 3 horas. Muchos materiales tales como plásticos e incluso fibras de papel podrían ser empleados como sustratos. Naturalmente, también podrían emplearse sustratos de alta y media temperatura.

Dado que incluso las membranas plásticas pueden ser usadas como sustratos, el rango de aplicación de los dispositivos thick film hasta los límites de los interruptores de contacto, tarjetas de cableado eléctrico en la industria automovilística, transductores sensibles a pequeñas presiones, etc. La impresión puede realizarse de forma continua en rollos de sustrato, los cuales posteriormente son cortados a la forma deseada.

Las pastas usadas en este sistema son poliméricas. Existen dos tipos fundamentales. El primer tipo son las termoplásticas, donde la pasta se mantiene en estado líquido con la ayuda del disolvente. El quemado ocurre mediante evaporación del disolvente a temperaturas entre los 70 y los 125° mediante infrarrojos. La principal aplicación es los interruptores de membrana. El segundo tipo lo constituyen las pastas térmicas. Estas son calcinadas a temperaturas cercanas a 150° durante 2-3 horas. Un aumento de la temperatura a 180° podría ser posible con lo que se reduciría el tiempo de secado, pero con frecuencia, el material usado como sustrato no permitiría esta acción.

La viscosidad de la pasta se controla mediante el disolvente o un diluyente funcional (monómero), el cual gobierna la función posterior de la pasta (conductora, resistiva o dieléctrica). El disolvente se evapora mediante infrarrojos mientras que el monómero queda formando parte de la pasta. La ventaja de estas pastas térmicas es su resistencia a los disolventes, baja señal de ruido y bajo costo.

Pastas de metales comunes. El costo elevado de los elementos metálicos nobles es lo que ha hecho a los productores de pastas fijarse en materiales menos caros. El cobre resulta lógicamente una alternativa al oro y la plata, aunque presenta el problema de su fácil oxidación, además de que no es compatible a la soldadura de cables en él. Esto es un hecho (y a la vez la principal desventaja) de todos los metales comunes usados en pastas, ya sea cobre, cromo, níquel o aluminio.

Únicamente el cobre ha sido usado en la preparación de pastas hasta el punto de convertirse en productos comerciales. Para prevenir la oxidación, se ha usado para

el calcinado de las pastas hornos con atmosferas de nitrógeno. Las temperaturas de calcinado de pastas de cobre alcanzan los 900°.

Selección del sistema pasta/sustrato. De todos los sistemas discutidos anteriormente, los sistemas de pastas de metales nobles de temperaturas altas de calcinado son las más usadas universalmente. Están seguidas por las pastas poliméricas de baja temperatura, las cuales se encuentran en ciertas áreas de producción en rápido crecimiento. Los sistemas de temperaturas medias compuestos por sustratos de acero-porcelana y pastas de metales comunes tienden a ser más utilizadas en áreas del campo de las investigaciones.

La encrucijada a la hora de seleccionar un sistema radica en elegir sistemas basados en pastas de metales nobles, de costes elevados pero de magníficas prestaciones; o sistemas de pastas poliméricas, con un nivel de prestaciones medio pero con una considerable reducción de los gastos.

II.13 Los dispositivos *thick-film* como sensores.

La tecnología de capa gruesa ofrece ventajas significativas entre las que destacan la flexibilidad del diseño, variedad de materiales, reducida inversión de infraestructuras de producción y bajo coste del dispositivo. Además, hace posible automatizar el proceso de producción, miniaturizar dispositivos y facilita la transferencia tecnológica. Los dispositivos obtenidos mediante esta tecnología presentan una elevada actividad electroquímica que se deriva de su extraordinaria área superficial debida a su estructura porosa [14, 15].

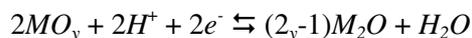
Aunque la tecnología descrita es una opción atractiva para la fabricación de sensores químicos, no significa que no este exenta de problemas y limitaciones. Requiere de complicados ciclos de curado a altas temperaturas y tiempos prolongados. Por otra parte, en ocasiones se obtienen bajos niveles de reproducibilidad debido a la evaporación de disolventes contenidos en las pastas

durante la impresión. Además, la aplicabilidad de esta tecnología está limitada por una resolución máxima de 100 micras [16] y también por la posibilidad de obtener los materiales adecuados para un dispositivo particular. Sin embargo, algunos inconvenientes pueden ser superados mediante el diseño de dispositivos desechables que permiten la simplificación de algunos aspectos de la realización tecnológica, ya que no se requiere de un prolongado tiempo de vida o buena reproducibilidad de la señal por prolongados intervalos de tiempo. En este caso cabe alcanzarse una buena reproducibilidad en la construcción del dispositivo [17].

La comunidad científica ha visto con buenos ojos las posibilidades y ventajas que ofrecen los dispositivos de capa gruesa en el desarrollo de sensores, y por ende, durante ya más de tres décadas se vienen desarrollando dispositivos en los cuales, los transductores electroquímicos (conductimétricos, potenciométricos, amperométricos) generalmente son los más empleados [18-22]. El campo de aplicaciones de los sensores de capa gruesa es amplio. Se pueden mencionar desde un sinnúmero de dispositivos creados para la detección de gases [23-25] (entre ellos el oxígeno disuelto [26-31]), sensores de pH [32-37], de metales pesados [38, 39], de compuestos polifenólicos en células bióticas [18], de urea en exámenes biomédicos [40, 41], entre otros; e incluso podemos llegar a mencionar dispositivos creados a modo de electrodos planos de referencia o pseudoreferencia [42, 43].

Es bien sabido que la capacidad de los sensores de gases compuestos por óxidos metálicos para detectar especies radica en la interacción de las moléculas del analito con la superficie del material sensor. Es incluso aceptado que la presencia de las especies iónicas de oxígeno adsorbido (O^{2-} , O^- , O_2^-) influye decisivamente en la respuesta del semiconductor hacia las formas reducidas u oxidadas del gas a analizar. Las especies iónicas de oxígeno actúan como aceptores enlazantes de electrones desde la banda conductora del material. Se considera que algunos gases reductores como el monóxido de carbono disminuyen la concentración superficial de oxígeno y de esta forma, disminuye también la resistencia del sensor.

En el caso de las medidas de pH, numerosos autores han basado sus estudios en el mecanismo de reacción entre los óxidos metálicos y el pH. Se han planteado numerosas hipótesis en las cuales se analiza una posible reacción en la cual una reacción entre pares de moléculas de óxido metálico esté influenciada por el potencial del pH:



donde se obtiene idealmente una pendiente de $-59 \text{ mV} \times \text{pH}^{-1}$ para 25°C . Cuando está presente más de una forma del óxido metálico, las reacciones combinadas pueden modificar el potencial de electrodo. Así mismo, Fog y Buck, en un trabajo sobre las limitaciones de los óxidos conductores de platino, iridio, rutenio, osmio, talio y titanio como sensores de pH, propusieron algunos mecanismos de reacción y justificaron el uso de estos óxidos porque las formas oxoácidas de los metales de transición pueden ser insolubles y estables en medio acuoso [44]. De las teorías posibles que explican la relación pH/óxidos metálicos, la más probable parece ser la teoría del “mecanismo de intercalación de oxígeno”, que plantea el siguiente mecanismo de reacción:



En este trabajo, los comportamientos más nernstianos se obtuvieron para los óxidos de iridio y rutenio.

II.2 Experimental

II.21 Preparación del dispositivo

El dispositivo thick film cuya preparación se describe a continuación es un dispositivo sensor de pH preparado mediante tecnología de capa gruesa o serigrafía de pasta de óxido de rutenio sobre sustrato de alúmina. Su preparación fue realizada en el Laboratorio de Microelectrónica Híbrida del Instituto de Química

Molecular Aplicada de la Universidad Politécnica, y el diseño utilizado nos ofrece un dispositivo en el que se localizan 18 pequeños sensores de pH, ubicados uniformemente en toda el área del sustrato (nueve en cada cara del sustrato). El objetivo de localizar todos ellos en el área del sustrato es analizar la repetitividad de respuesta de cada sensor (y con ello la eficacia del proceso de impresión); así como analizar la conveniencia de ubicación de un sensor único a la hora de preparar un multisensor. El dispositivo preparado se muestra en la **Figura 58**.

Los sensores se han preparado utilizando pastas comerciales de la marca HERAEUS de la serie R8900. La ventaja de utilizar estas pastas con respecto a las pastas realizadas por el propio usuario es que están totalmente caracterizadas, facilitan la fabricación, tienen un coste sustancialmente menor y son de fácil adquisición. Los sensores fabricados de esta forma tienen baja impedancia en comparación con los electrodos de vidrio y son miniaturizables.

Las pastas susceptibles de obtener mejores resultados se encuentran entre las series R8911 (de 1.04 Ω /sq de resistencia) y la R8921 (99.5 Ω /sq) por ser las que tienen mayor proporción de RuO₂ y las que poseen mayor tamaño de grano, aunque la primera presenta un problema debido a su alto contenido de Ag y Pd que puede afectar al sensor sobre todo a pH básicos. Por tal motivo, la pasta resistiva de RuO₂ utilizada es la de la serie R8921.

La pasta de RuO₂ se ha serigrafiado sobre pastas conductoras HERAEUS de Ag/Pd de la serie C1214D, y se ha protegido con una pasta *overglace* HERAEUS serie IP9029H resistente al baño ácido. Como se ha comentado anteriormente, el sustrato utilizado ha sido alúmina RUBALIT 708S de CeramTec, de 50x20x0.5 mm.



Figura 58. Sensor de pH de RuO₂ (una cara)

En la preparación se utilizaron tres pantallas debido a las impresiones de las tres pastas utilizadas (RuO₂, Ag/Pd y *overglace*). La pantalla para la capa conductora (Ag/Pd) se ha preparado con tela de poliéster de 230 mesh (Saatilene Hitech 90/48) y film de 30 µm (Ulano CDF3). Para la capa resistiva (RuO₂) se empleó una pantalla de tela de poliéster de 350 mesh (Saatilene Hitech 120/40) y film de 30 µm (Ulano CDF3). Por último, en la preparación de la capa protectora de *overglace* se utilizó una pantalla de tela de poliéster de 180 mesh (Saatilene Hitech 71/55) y film de 50 µm (Ulano CDF5).

El calcinado de la pasta conductora de Ag/Pd se realizó a 850°C en un ciclo de 60 minutos, con un pico de 10 min. Para la pasta dieléctrica protectora, el proceso de quemado se efectuó a 600°C en ciclo de 30 min y pico de 5 min. Para la pasta resistiva de RuO₂, se utilizó una temperatura de quemado de 700°C, con ciclo de 60 min y pico de 10 min. La temperatura requerida por el fabricante para este tipo de pasta es de 850°C, pero en estudios previos [45] se encontró que algunos sensores de pH de pastas de RuO₂ de la serie R8921 quemadas a 850°C ofrecían una baja sensibilidad (inferior a 40 mV/pH), debida fundamentalmente a que estas pastas utilizan polvo de vidrio en su composición, el cual, al calcinarse, obstruye las partículas de RuO₂ y causa la mala respuesta potenciométrica del sensor.

II.22 Comprobación de la resistencia a la corrosión

Dispositivos de dimensiones más pequeñas (10x10x0.5 mm) que el sensor de pH, pero preparados siguiendo el mismo proceso de impresión y quemado de las tres capas fueron utilizados para el estudio de la resistencia a la corrosión del material preparado. Para ello, algunos de estos dispositivos fueron expuestos a distintos medios y distintos disolventes durante tiempos definidos de 1, 3 y 7 días. Los medios y sistemas de disolventes estudiados fueron: agua, H₂SO₄ 10⁻³ molar, HNO₃

10^{-3} molar, NaOH 10^{-3} molar; así como los disolventes orgánicos etanol y acetona, ambos puros y al 50% en agua destilada. Para todos los medios y para todos los tiempos de exposición, el material mostró una fuerte resistencia a la corrosión.

II.23 Mediciones potenciométricas. Acondicionamiento y estudio de los parámetros del sensor

Las medidas de potencial de electrodo fueron efectuadas con un equipo potenciométrico fabricado también por el Grupo de Microelectrónica Híbrida, el cual permite mediciones simultáneas de sensores *thick-film* como el que se preparó mediante conexión directa de este a la tarjeta de adquisición; así como mediciones individuales a través de 15 canales externos, en los cuales se puede conectar un sensor a la vez en el canal deseado. El equipo está provisto de un amplificador operacional OPA129P de alta impedancia ($10^{15}\Omega$) configurado como seguidor de tensión. Posee además una tarjeta de adquisición ADLINK-9112. El programa para la adquisición y tratamiento de datos fue desarrollado en VEE Pro. La resolución de la adquisición de datos es de ± 0.6 mV. La **Figura 59** muestra el equipamiento utilizado para las mediciones potenciométricas.

Posterior a la preparación, el sensor fue acondicionado mediante inmersión alternada y mediciones del potencial en medios ácido y básico fuertes (HNO_3 10^{-2} molar, NaOH 10^{-2} molar), durante aproximadamente ocho horas hasta estabilización del potencial de cada sensor.

La determinación de los parámetros del sensor, que incluye sensibilidad, potencial estándar, tiempo de vida, tiempo de respuesta, repetibilidad, etc. se efectuó mediante inmersión del sensor en disoluciones tampón de cinco valores de pH distintos: 4, 5, 7, 9 y 11. Las disoluciones tampón fueron: Hidrogenofalato de potasio 0.1 M (pH 4 y 5), ácido N-[2-hidroxietil]piperacín-N´-[2-etanosulfónico] (HEPES 0.1 M) (pH 7), α,α,α -tris-(hidroxetil)-metil-amina (TRIS 0.1 M) (pH 9) y

bicarbonato de sodio 0.05 M (pH 11). Todas las disoluciones fueron preparadas con agua bidestilada.

Todas las medidas de potencial fueron realizadas usando como referencia un electrodo de Ag/AgCl. El tiempo de medición en cada disolución era de dos a cinco minutos (120 a 300 segundos), con un muestreo de 1 valor de potencial por segundo. Después de cada inmersión, el sensor era enjuagado con abundante agua bidestilada.

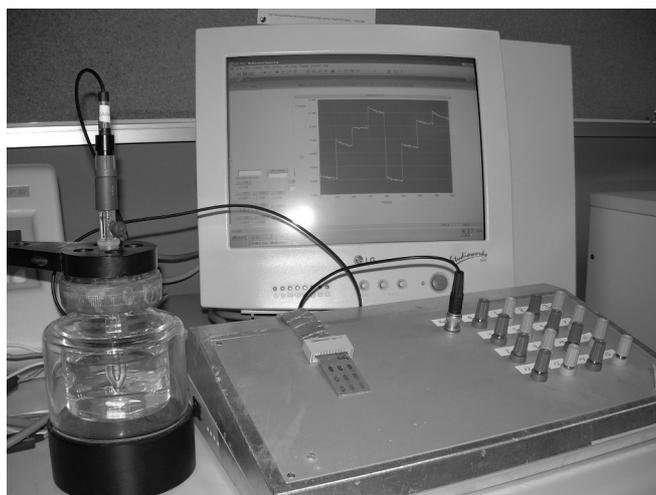


Figura 59. Equipamiento utilizado en las mediciones potenciométricas.

II.24 Estudio de los procesos de interferencia

Los procesos de interferencia de iones comunes tales como cloruro, sulfato, bromuro, ioduro, bicarbonato y cationes alcalinos fueron analizados sobre la respuesta de potencial del sensor. Siguiendo las recomendaciones de la IUPAC [46], el estudio se llevó a cabo mediante el método del interferente fijo y el método del ión primario fijo. En el primer método, la respuesta potenciométrica del sensor fue analizada en disoluciones de cada interferente de concentraciones 10^{-3} , 10^{-2} y 10^{-1} molar, y variando el pH entre 3 y 11. El método del ión primario fijo se utilizó debido a que algunos de los interferentes estudiados son afectados por los cambios de pH (bicarbonato, ioduro). El estudio se llevó a cabo entonces manteniendo el pH

fijo (valores 5, 7 y 9) y variando la concentración del interferente desde 10^{-7} hasta 10^{-2} molar.

II.3 Resultados

Antes de entrar a describir los resultados obtenidos en la preparación y caracterización del sensor de capa gruesa para mediciones de pH, comentaré el resultado logrado con el uso y preparación del equipo para mediciones potenciométricas mostrado anteriormente en la **Figura 59**. Dichas mediciones, anteriormente se llevaban a cabo utilizando potenciómetros portátiles que permitían las mediciones en un único sensor, y esto hacía muy engorroso y casi imposible las mediciones en los nuevos sensores o multisensores fabricados. El equipo permite la realización simultánea de mediciones potenciométricas tanto en dispositivos multisensores como en sensores simples, permitiendo así la realización de comparaciones entre ellos. Otra ventaja que ofrece es el seguimiento del comportamiento o la curva de potencial de cada electrodo estudiado en la pantalla del ordenador acoplado al equipo; así como la posibilidad del cambio de parámetros de medición (periodo de medición, datos por unidad de tiempo, promedio de datos, etc.) justo cuando se efectúa el experimento.

Un dato adicional: justo antes de realizar la caracterización del sensor de pH que nos proponemos describir, el equipo fue optimizado para disminuir el ruido de la señal potenciométrica lo máximo posible. La optimización consistió en la incorporación de bandas de aluminio adhesivas tanto en el interior como el exterior del equipo (a modo de caja de Faraday), y una correcta conexión a tierra. Los cables internos de conexión también fueron apantallados, y además las ecuaciones de conversión de datos fueron reajustadas. Esto se logró de forma considerable, obteniéndose curvas de potencial con valores que no excedían los 2 mV de ruido.

II.31 Acondicionamiento del sensor

Una vez preparado el dispositivo, la superficie activa necesita hidratarse para responder a las variaciones de pH, tal y como lo explica la teoría de intercalación de oxígeno de Fog y Buck [44]. Además de hidratarse, el sensor debe habituarse a variaciones bruscas de pH, y para ello, se realiza el proceso de acondicionamiento, que consiste en la inmersión alternada del sensor durante aproximadamente ocho horas en disoluciones ácida y básica fuertes de ácido nítrico e hidróxido de sodio, de pH 2 y 12 respectivamente. En la **Figura 60** se muestra una sección de este experimento de acondicionamiento, en el que se observa claramente una respuesta adecuada de algunos de los sensores del dispositivo a las variaciones bruscas de pH. Dos aspectos importantes se deben comentar aquí: la sensibilidad o respuesta del dispositivo expresada como mV/unidad de pH es ligeramente superior a los 59 mV, lo cual es significativo si se tiene en cuenta que el sensor se encuentra en proceso de acondicionamiento, únicamente expuesto a disoluciones “drásticas”. El otro punto a destacar es el tiempo de respuesta del sensor, expresado de forma gráfica en la **Figura 60** como el tiempo en que se alcanza la estabilidad en la respuesta potenciométrica. Es lógico esperar un tiempo de respuesta alto en este proceso de acondicionamiento, no obstante, se puede observar que los sensores responden o alcanzan un potencial estable más rápidamente cuando están expuestos al medio básico (zona baja de la curva). A raíz de este comportamiento, se decidió que en todo el experimento, el dispositivo se almacenaría a pH básicos (en la disolución buffer de pH 9). Es importante destacar además la repetibilidad lograda después de cada inmersión del sensor en el mismo medio.

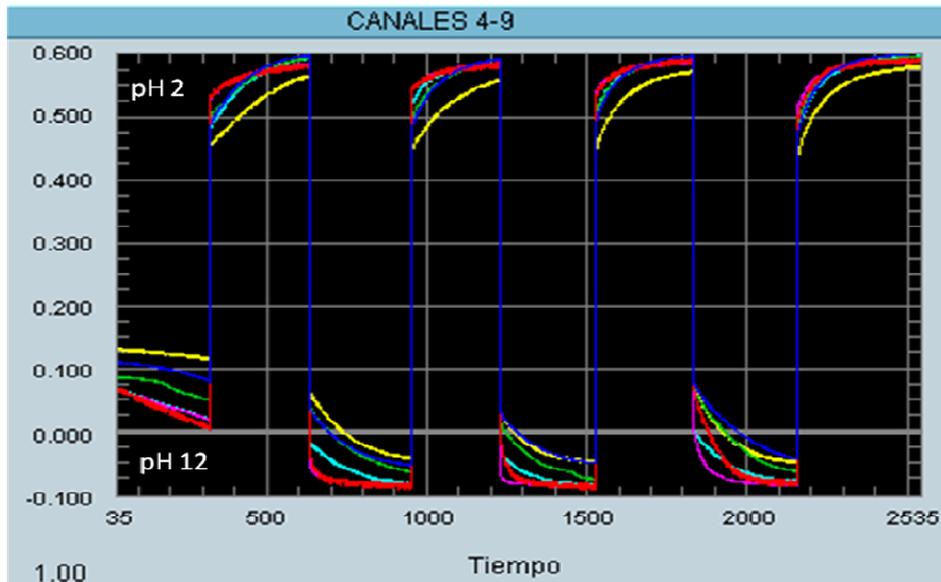


Figura 60. Proceso de acondicionamiento del dispositivo thick-film, medios ácido (HNO_3 10^{-2} molar) y básico (NaOH 10^{-2} molar). Se representa la respuesta potenciométrica de algunos sensores.

II.32 Determinación de los parámetros del sensor

La determinación de los principales parámetros del sensor de pH preparado por impresión serigráfica de pasta de RuO_2 se llevó a cabo mediante inmersión continua del dispositivo en cinco disoluciones de distinto pH (4, 5, 7, 9 y 11). Los parámetros analizados fueron sensibilidad, potencial estándar de electrodo, tiempo de vida, tiempo de respuesta y repetibilidad.

La sensibilidad es el parámetro que caracteriza la respuesta del electrodo. Se expresa en el caso de sensores potenciométricos en mV por década, y en el caso de la medida del pH, en mV por unidades de pH (mV/pH) y en el caso de obtenerse curvas potencial de electrodo/pH sería la pendiente de esta. En función de la cercanía de ésta a 59 mV, se evalúa si la respuesta del sensor es nernstiana o no.

La sensibilidad de cada sensor incluido en el dispositivo *thick-film* creado se analiza mediante análisis estadístico durante todo el tiempo de medición de la

respuesta potenciométrica que se obtenía después de la inmersión en las cinco disoluciones tampón. En las **Figuras 61 y 62** se muestran las respuestas de potencial de algunos de los sensores que forman parte del dispositivo para cada disolución referente a distintas etapas del experimento. En ambas gráficas se observa una clara respuesta hacia los cambios de pH, con escalones bien definidos y con los potenciales más altos referidos a las disoluciones más ácidas. La respuesta de cada sensor que compone el dispositivo es muy similar, aunque algunos presentaron derivas de potencial un tanto alejadas del comportamiento promedio. No obstante, se identificó que estos sensores en el momento de la medición se encontraban ubicados en la cara opuesta respecto al electrodo de referencia.

Con los datos obtenidos de respuesta de potencial de cada uno de los 18 sensores se construyó la curva potencial/pH, con el objetivo de calcular la sensibilidad expresada como pendiente de la curva; así como calcular además el potencial estándar de electrodo, expresado como la ordenada de la curva de potencial con el eje x o a pH 0. El resultado de este análisis determinó un valor de pendiente-sensibilidad media del dispositivo de 57 ± 3 mV/pH, lo cual se considera una respuesta muy cercana al comportamiento nerstiano. El potencial estándar del dispositivo resultó ser 650 ± 20 mV.

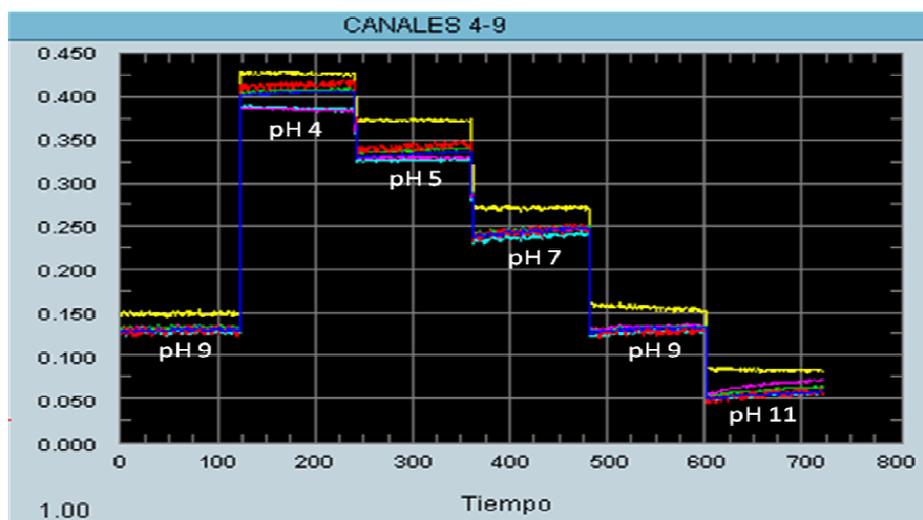


Figura 61. Respuesta potenciométrica de algunos sensores del dispositivo thick-film frente a las disoluciones buffer de pH 4, 5, 7, 9 y 11. 25 de mayo de 2004.

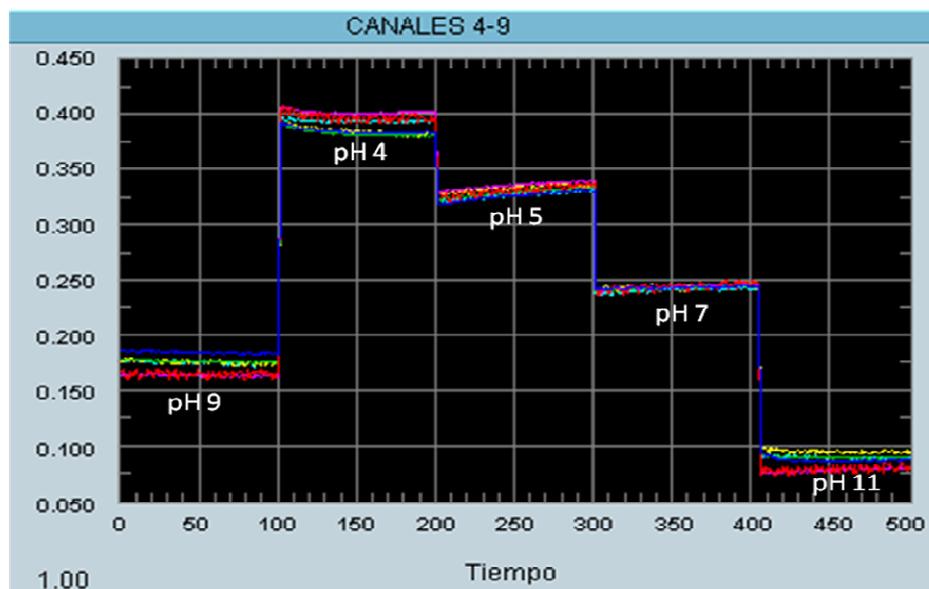


Figura 62. Respuesta potenciométrica de algunos sensores del dispositivo thick-film frente a las disoluciones buffer de pH 4, 5, 7, 9 y 11. 9 de junio de 2004.

El tiempo de respuesta determina la rapidez con que el sensor marca el potencial de la disolución en la que está inmerso. Este parámetro es muy importante desde el punto de vista que determina la viabilidad del uso del sensor. El tiempo de respuesta también se determinó en el experimento anterior mediante la inmersión en las cinco disoluciones tampones de pH, y se correspondió a la medición del tiempo de respuesta para alcanzar el 95% del valor de potencial estable o final. Si realizáramos una comparación entre la respuesta del dispositivo recién preparado (Acondicionamiento, **Figura 60**) y la respuesta una vez hidratada su superficie activa (**Figuras 61 y 62**) observamos una clara diferencia entre los tiempos de respuesta. En el proceso de acondicionamiento, cada sensor tarda un tiempo considerable hasta alcanzar un potencial lineal o estable, incluso se observan derivas que no se llegan a estabilizar a los 5 min de exposición en la muestra. Por el contrario, una vez activada la superficie, la respuesta es muy rápida para todos los sensores, obteniéndose líneas de potencial muy estables inmediatamente

después del contacto del dispositivo con una disolución de pH distinto. Después de realizar algunos análisis se determinó que el tiempo medio de respuesta del dispositivo oscilaba entre 3 y 5 s.

Para la determinación del tiempo de vida, se analizaron las respuestas de todos los dispositivos creados en todo el período del experimento (6 meses). Analizando primeramente el resultado obtenido en el experimento previo del comprobación de la resistencia mecánica y resistencia a la corrosión, y comprobando posteriormente que el dispositivo ofrecía una respuesta similar al inicio y al final del periodo experimental de seis meses, consideramos que el tiempo de vida del dispositivo sería igual a seis meses (utilizándolo en mediciones diarias). En experimentos anteriores, García-Breijo [45], basándose en un seguimiento del tiempo y eliminando electrodos que por problemas de fabricación, mecánicos o de deterioro conducían a respuestas potenciométricas anómalas, encontró que el tiempo de vida de dispositivos similares era superior a los 24 meses.

La repetibilidad de la señal consiste en la capacidad del dispositivo en entregar una misma lectura o respuesta cuando se repite el mismo valor de la variable medida. En la **Figura 61**, aunque solamente nos muestre una porción de la curva de respuesta del dispositivo, podemos observar la repetibilidad de señal para el tampón de pH 9 (el experimento comienza a pH 9, y luego se repite a tiempo aproximado de 480 segundos). Sin embargo, existe una ligera deriva entre las mediciones realizadas en distintos momentos del experimento. En la **Figura 62** se observa una respuesta con potenciales ligeramente superiores a los obtenidos previamente (**Figura 61**), aunque en ambos casos, la sensibilidad es la misma.

II.33 Estudio de los procesos de interferencia

En estudios anteriores se han detectado procesos de interferencia a la señal de electrodos *thick-film* de RuO₂ frente a iones comunes como el cloruro. En la tesis doctoral presentada por García-Breijo [45], el autor detectó que para

concentraciones de cloruro superiores a 10^{-2} molar, la señal del electrodo expuesto a disoluciones de pH 7 y 9 sufría interferencias. Así mismo, Atkinson y Cranny [47] encontraron que los electrodos *thick film* hidratados en disolución de HCl y expuestos constantemente a pH ácido sufrían un cambio en su sensibilidad y en su potencial estándar.

El estudio de los procesos de interferencia en el dispositivo creado se lleva a cabo frente a iones comunes tales como cloruro, sulfato, bromuro, yoduro, bicarbonato, fosfato y cationes alcalinos, en disoluciones de pH 5, 7 y 9. Como se comentó en la sección experimental, estos estudios se realizan mediante dos métodos de análisis estipulados por la IUPAC: método del interferente fijo y método del ion primario (en este caso pH) fijo.

En el método del interferente fijo, el sensor se sumergía en disoluciones de cada ion interferente y se variaba el pH desde 3 hasta 11. Las concentraciones de cada disolución de interferente eran de 10^{-3} , 10^{-2} y 10^{-1} molar. El efecto de la interferencia se detectó mediante disminución de la sensibilidad media del sensor obtenida en cada una de las disoluciones en comparación con la sensibilidad obtenida previamente sobre las disoluciones buffer. La disminución de la sensibilidad fue detectada en casi todas las especies aniónicas estudiadas, siendo el ion yoduro el causante de la mayor disminución (la sensibilidad cayó a 48 mV/pH para concentraciones de 10^{-2} M y 41 mV/pH para 10^{-1} M). Lógicamente, al igual que para el yoduro, el efecto de la disminución de la sensibilidad del sensor era más marcado en las disoluciones interferentes más concentradas. Frente a cationes alcalinos, la señal del dispositivo no experimentó cambios considerables.

En el método del ion primario fijo, el sensor se sumergía en disoluciones reguladoras de pH, y se realizaba un seguimiento de la respuesta de potencial realizando adiciones de cantidades conocidas de especies interferentes. El comportamiento se estudió a pH 5, 7 y 9. Al igual que ocurrió en el experimento anterior, en este experimento, la señal estable del sensor experimentó disminuciones bruscas de potencial una vez las concentraciones de los aniones

interferentes superaran los 10^{-4} moles por litro. Se encontró que todas las especies aniónicas adicionadas inducían tal variación en la señal, la cual se acrecentaba a medida que el sensor se exponía a concentraciones mayores de interferente. En las **Figuras 63 y 64** se pueden observar los comportamientos de la curva de potencial en el método del ion primario fijo para adiciones de cloruro y yoduro, todas manteniendo un pH fijo de 7. Los saltos bruscos de potencial de electrodo quedan bien definidos una vez se realiza la adición del interferente (a la concentración capaz de interferir en la señal), y se puede determinar el grado de interferencia reflejado por la caída de potencial que se genera, siendo claramente mucho mayor para el yoduro (**Figura 64**), causante de una disminución de más de 20 mV en casi todos los sensores del dispositivo, en comparación al potencial inicial de electrodo. En la **Figura 65** se representa el estudio a pH 9, donde la respuesta de potencial del sensor en función de la concentración de cada especie interferente muestra un comportamiento similar al detectado a pH 7. En el estudio a pH 5, la respuesta del sensor mostró algunas anomalías, que aunque no se representan, inducen a pensar que el patrón de comportamiento frente a los aniones es similar al mostrado anteriormente. En la aplicación de este método tampoco se encontraron interferencias significativas de las especies catiónicas.

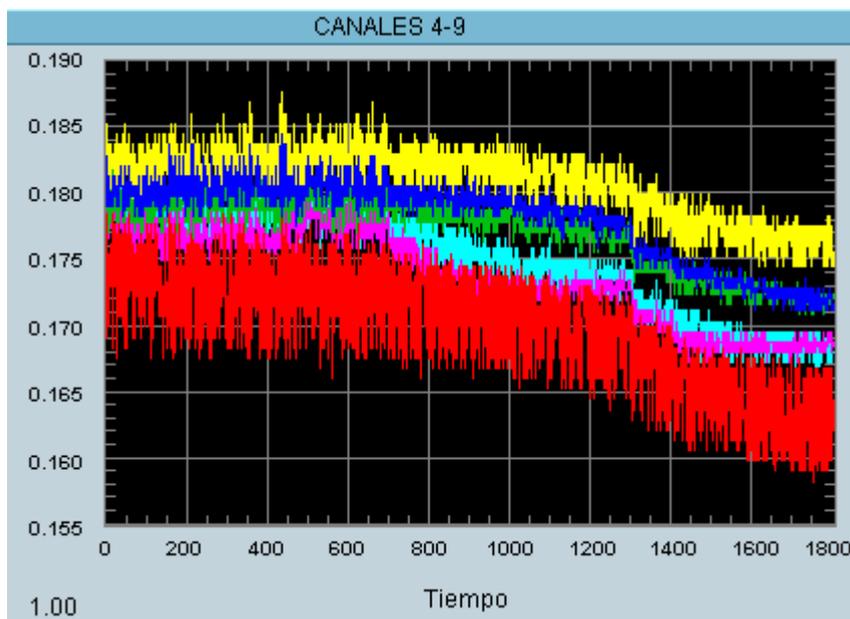


Figura 63. Estudio de la interferencia del cloruro. Método del ion primario fijo. pH 7.

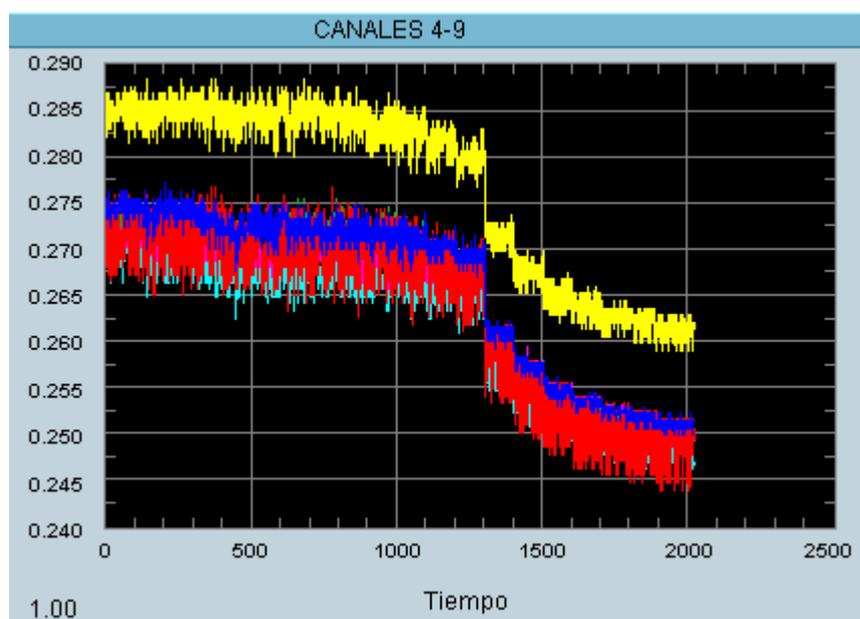


Figura 64. Estudio de la interferencia del yoduro. Método del ion primario fijo. pH 7.

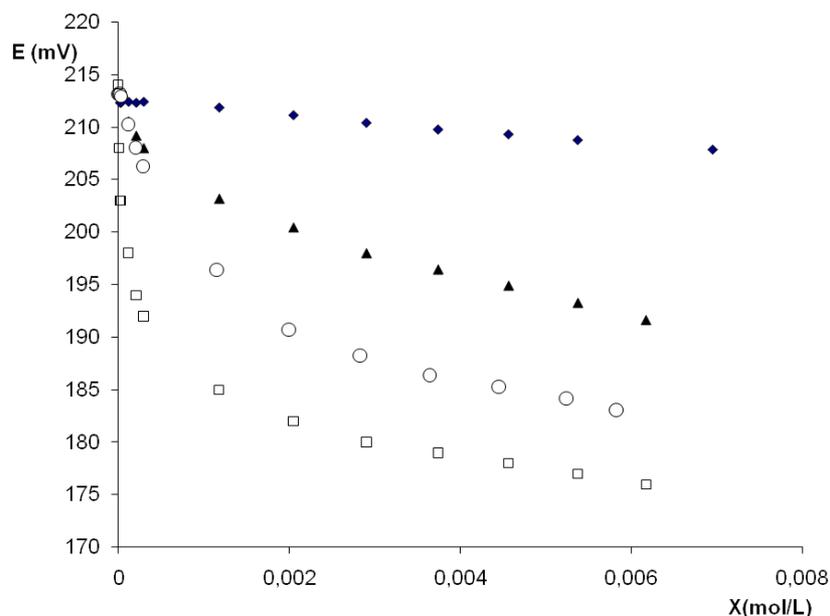


Figura 65. Respuesta de potencial del sensor de capa gruesa en función de la concentración de interferente (Método del ion primario fijo pH 9). (Cl⁻ (♦); Br⁻ (▲); SO₄²⁻ (○); I⁻ (□)).

El hecho de casi todas las especies estudiadas (a excepción de los cationes) interfieran en la señal del sensor, induce a pensar que existen en la superficie del dispositivo especies que presentan cierta afinidad con los interferentes, y que por ende, dicha afinidad afectará la señal del electrodo en las medidas de pH en presencia de ellos, ya sea por apantallamiento, adsorción superficial o por simple afinidad química (reacciones redox).

Existen dos posibles alternativas que podrían generar tal afinidad con los interferentes: que el RuO₂ interactúe con los interferentes, o que algunas especies (incluidos óxidos de metales) que se encuentran formando parte de la composición de la pasta de RuO₂ utilizada sean los causantes de tal afinidad.

Es bien sabido que debido a su función, las pastas resistivas tienen una formulación más compleja que las conductoras, normalmente formadas por aleaciones de óxidos. El polvo de RuO₂ está comercialmente disponible en rangos de tamaños de

partículas de 5 a 100 nm, y como las partículas de RuO_2 son muy pequeñas, el polvo tiende a aglomerarse. Para eliminar esto, las casas comercializadoras de pastas suelen utilizar algunas sustancias, entre ellas polvos de vidrio. El polvo de vidrio que se suele utilizar es borosilicato. Una composición típica de borosilicato incluye los óxidos de plomo, boro, silicio, y algunos otros, como componentes principales y en niveles nada despreciables en comparación al RuO_2 como parte activa de la pasta. Además de la función anterior, el vidrio de borosilicato es determinante en algunas de las características de la pasta.

Para analizar entonces si el RuO_2 como parte activa de la pasta utilizada es el causante de la afinidad con los elementos interferentes, se lleva a cabo un estudio que incluye la preparación y caracterización de un electrodo de Ru/RuO_2 , confeccionado mediante oxidación controlada de una barra de rutenio metálico de 25x2x2 mm y de una pureza superior a 99.9% (Adquirida en la casa Goodfellow). El proceso de oxidación se llevó a cabo usando un potencióstato, la barra metálica se sumergió en medio básico a pH 9 y se aplicaron ciclos de potencial de 0 a 1.5 V. Posteriormente se introdujo la barra en la estufa a 120°C durante ocho horas hasta obtener una capa de óxido adecuada. Debido a que este experimento constituyó una prueba adicional para identificar las causas de la afinidad con las especies interferentes, todo el proceso de caracterización y estudio de interferentes no será descrito detalladamente en esta tesis, sino que solamente se expondrán los resultados finales.

El electrodo mostró una muy buena respuesta frente al pH, cercana al comportamiento nernstiano, con una sensibilidad de 58 ± 1 mV/pH, un potencial estándar de 606 ± 1 mV, y reproducibilidad alta/tiempos de respuesta bajos (Ver **Figura 66**). El hecho de que la pendiente obtenida sea cercana a los 59.16 mV/pH (comportamiento nernstiano) indica que en el proceso redox de este electrodo se intercambia un único electrón, por lo cual un posible esquema de reacción cuando el electrodo se sumerge en disolución involucraría una mezcla superficial de dos especies de óxidos de rutenio. La probabilidad de que esta mezcla esté presente también en el dispositivo thick-film, y por ende, ocurra el mismo proceso de

reacción y respuesta al pH es evidente. El esquema de reacción se presenta a continuación:

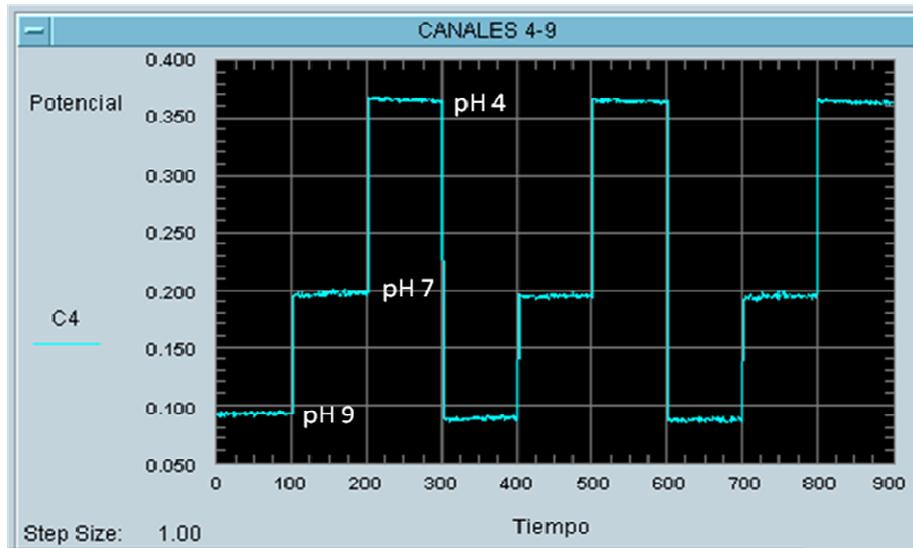
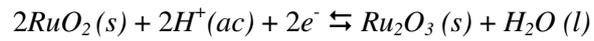


Figura 66. Respuesta potenciométrica del electrodo Ru/Ru₂O₃/RuO₂.

En el estudio de los procesos de interferencia sobre la respuesta del electrodo de barra de Ru se siguió el mismo procedimiento que para el sensor de capa gruesa. Como resultado, se encontró que la señal potenciométrica no se ve interferida por la presencia de iones comunes en concentraciones hasta 0.1 molar, a excepción del ion yoduro, que induce una caída de potencial extrema del electrodo cuando se encuentra sumergido en disoluciones de concentración superior a 10⁻³ molar de este anión y a pH 5 o inferior (**Figura 67**), producto de un proceso de oxidación del ion I⁻ por el RuO₂. Este proceso no ocurre para el Cl⁻ ni el Br⁻ pues los potenciales de oxidación de estos aniones son mayores que los del par RuO₂/Ru₂O₃.

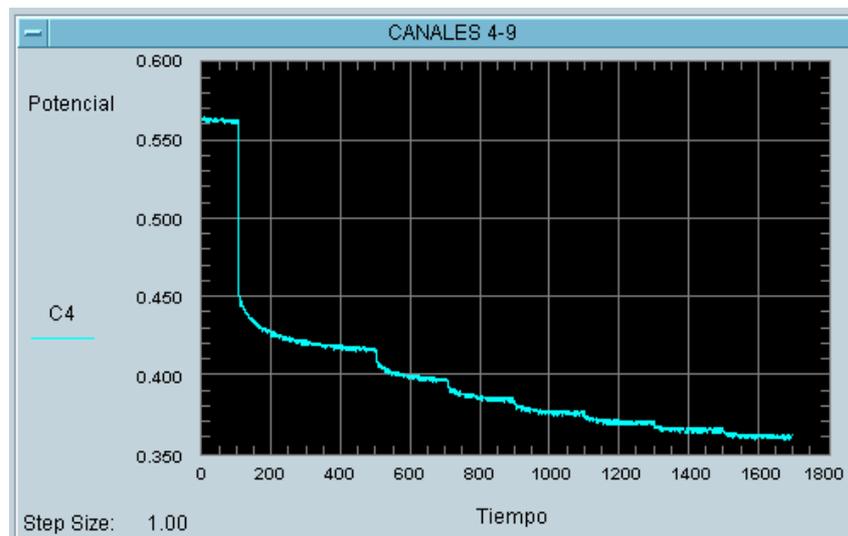


Figura 67. Estudio de la interferencia del yoduro para el electrodo Ru/Ru₂O₃/RuO₂. Método del ion primario fijo. pH 5.

El hecho de que en un electrodo puro de rutenio/óxidos, en el que únicamente podrían ocurrir procesos redox o superficiales en los que sólo se verían involucradas (por parte del electrodo) las distintas especies de rutenio, y en el que no se ha detectado afinidad alguna por especies interferentes de aniones comunes (excepto yoduro) indica claramente que la causa fundamental de la interferencia en la señal potenciométrica del dispositivo *thick-film* de pasta de RuO₂ es la cierta afinidad entre los aniones interferentes con otras especies activas que se encuentren formando parte de la composición de la pasta resistiva. Como se ha comentado previamente, las pastas resistivas utilizan vidrios en su composición, que incluyen cantidades de óxidos de metales como plomo, silicio, entre otros, los cuales en un momento dado podrían convertirse en sustancias activas en dependencia del medio. Para conocer con exactitud la composición de la pasta de RuO₂ serigrafada en el dispositivo, se realizaron pruebas microscópicas (*Scanning Electron Microscopy*) en un equipo JEOL JSM 6300 provisto de un detector EDX (*Energy dispersive X-Ray absorption*) sobre la superficie de uno de los sensores. Los resultados de este análisis se muestran en la **Tabla 18**. El componente mayoritario es el silicio (posiblemente formando silicatos de calcio u otros). El rutenio se encuentra en

niveles considerables, aunque otras especies como el plomo, que podrían formar óxidos superficiales activos, también se encuentran en concentraciones altas. El magnesio, aunque podrían formar óxidos superficiales, se encuentra en niveles bajos en comparación con el resto de los componentes.

Tabla 18. Composición superficial del sensor thick-film de RuO₂

| Elemento | Fracción molar (%) |
|----------|--------------------|
| Si | 46.5 |
| Ca | 7.8 |
| Mn | < 5 |
| Ru | 24.0 |
| Pb | 16.7 |

Analicemos las especies de óxidos de plomo como posibles especies activas en la superficie del sensor. Según Schock y Gardels [48], los óxidos de plomo (específicamente II y IV) en contacto con el medio acuoso pueden sufrir un número de reacciones tales como la disolución a pHs ácidos formando las especies iónicas Pb_2^+ , Pb_4^+ , $Pb_3(OH)_4^{2+}$ y $Pb(OH)^+$; así como la disolución a pHs básicos debido a la formación de hidroxocomplejos del tipo $Pb(OH)_3^-$, PbO_2H^- , PbO_3^{2-} , etc. Además, en presencia de algunos aniones, podrían formar especies insolubles del tipo PbX_{n+m}^{-m} . En el esquema de la **Figura 68** se representan algunas de las posibles reacciones de los óxidos de plomo en medio acuoso.

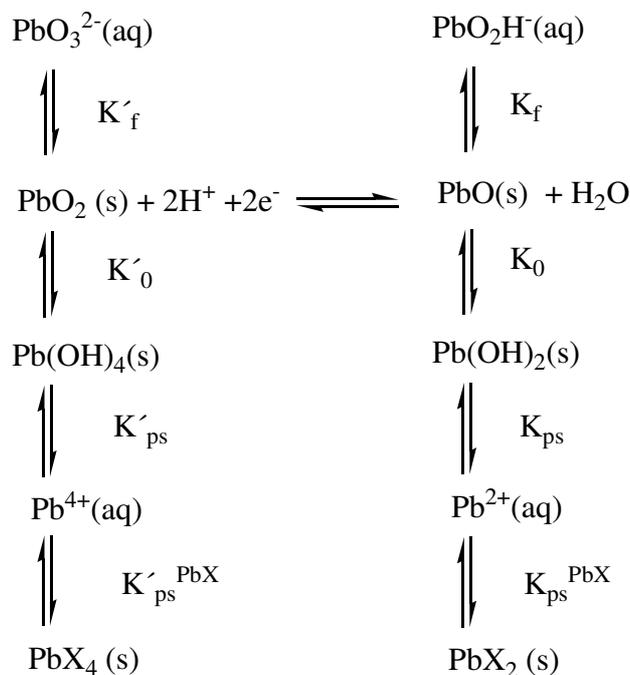


Figura 68. Especies involucradas en reacciones directas con los óxidos de plomo II y IV en medio acuoso.

Teniendo en cuenta el esquema anterior, y además analizando la escasa o nula afinidad de los óxidos de rutenio por los aniones capaces de interferir la señal del electrodo de capa gruesa, asumiremos que dicha interferencia ocurre por la afinidad que existe entre las especies de óxido de plomo presentes en la superficie del sensor, capaces de formar especies insolubles del tipo PbX_2 o PbX_4 , en función del medio y de las especies aniónicas presentes.

II.34 Magnitud de los procesos de interferencia: Coeficiente de selectividad potenciométrico K^{pot}

La magnitud o grado de un proceso de interferencia se puede determinar mediante el cálculo del coeficiente de selectividad potenciométrico (K^{pot}), el cual define la capacidad de un electrodo selectivo de distinguir una especie respecto a otras presentes en el medio de medición.

A finales de la década de los sesenta, numerosos investigadores comenzaron a aplicar la ecuación de Nikolski-Eisenman (NE) [49, 50] para calcular los coeficientes de selectividad en procesos de interferencia de electrodos. De esta forma, la ecuación se hizo muy popular, e incluso hoy en día, se sigue utilizando como una herramienta para describir el comportamiento del potencial de un electrodo en presencia de especies interferentes.

$$\Delta E_{i,j} = \Delta E_i^0 + \frac{RT}{z_i F} \ln \left[a_i + K_{i,j}^{pot} a_j^{\frac{z_i}{z_j}} \right] \quad \text{Ec. de Nikolski-Eisenman.}$$

donde:

a_i , a_j son las actividades del ion primario i y el interferente j respectivamente, mientras que z_i y z_j son sus cargas.

$K_{i,j}^{pot}$ es el coeficiente de selectividad (o constante de interferencia) de j con respecto a i .

R , F son las constantes de gases y de Faraday respectivamente.

T es la temperatura absoluta (expresada en K)

Sin embargo, durante algunos años se generó cierta controversia en lo concerniente al uso incorrecto de la NE para la caracterización electroquímica de los electrodos. En el artículo de Umezawa y colaboradores [51] se analizan algunas de las causas por las cuales los cálculos de los coeficientes de selectividad potenciométricos se realizan de forma incorrecta. Las causas que más destacan son la poca validez de las suposiciones teóricas usadas en el cálculo y las diferencias entre los mecanismos de respuesta de los electrodos que se estudian comparados con mecanismos de transferencia de carga, para los cuales la NE fue establecida.

En el cálculo de los coeficientes de selectividad potenciométricos del dispositivo *thick-film* preparado previamente, el primer modelo utilizado para ello fue la ecuación de Nikolski-Eisenman. Lógicamente, los resultados iniciales mostraron coeficientes de selectividad anómalos y cuyo valor no aseguraba una validez física, todo ello por dos motivos: el dispositivo es un electrodo de composición compleja, que presenta varias especies/sistemas activos los cuales gobiernan la respuesta potenciométrica del sensor; y además, el sensor es un electrodo en estado sólido, en el cual los procesos de transducción, ya sean reacciones redox, adsorciones físicas, etc., ocurren en la superficie del dispositivo siguiendo mecanismos distintos a la transferencia de carga a través de una membrana selectiva.

En el siguiente Capítulo de esta tesis se expondrán los resultados obtenidos en la preparación y aplicación de modelos teóricos que describen los procesos de interferencia en electrodos en estado sólido que siguen un mecanismo de transducción diferente al transporte a través de membranas. Los modelos que se presentarán a continuación permitirán realizar un análisis del comportamiento del potencial del sensor de capa gruesa de RuO₂ mediante el cálculo de los coeficientes de selectividad potenciométrico de cada una de las especies que interfieren en las medidas de pH.

II.4 Conclusiones del Capítulo

La tecnología de capa gruesa se presenta como una alternativa interesante en la preparación de sensores químicos en nuestros días. Cualquier tecnología en la que la disminución de los costes de producción unida a la creación de dispositivos fiables, resistentes y que ofrezcan una rápida respuesta en un análisis químico resulta sustancialmente explotable tanto por la comunidad científica, que se encarga de realizar las investigaciones, como de las industrias encargadas de explotar su aplicabilidad.

En este capítulo se expuso el resultado de la preparación y caracterización de un sensor de pH, fabricado mediante la tecnología de capa gruesa, utilizando para ello pastas comerciales de óxido de rutenio. El hecho de analizar la viabilidad del uso de pastas comerciales en la creación de un sensor de pH resulta de interés ya que permitiría reducir los costes de producción de este tipo de dispositivos.

Las conclusiones del capítulo se presentan a continuación:

- Se diseña un sensor de pH mediante tecnología de capa gruesa utilizando como sustancia activa una pasta resistiva comercial de RuO₂ de la casa HERAEUS. El dispositivo creado presenta una alta resistencia mecánica y a la corrosión en medios drásticos. Los parámetros del dispositivo mostraron una alta sensibilidad al pH (comportamiento cercano al nerstiano con 57 mV/pH), bajos tiempos de respuesta (entre 3 y 5 segundos), alta repetibilidad y tiempos de vida elevados (superiores al tiempo de experimento de 6 meses).
- Como dato menos significativo, el dispositivo creado mostró cierta selectividad hacia aniones comunes, los cuales interferían la señal potenciométrica de las mediciones de pH. Dicha interferencia se debió a la presencia de cantidades de óxidos de plomo en la composición de la pasta resistiva utilizada.

El dato de la selectividad del sensor creado hacia algunos interferentes debido a la presencia de óxidos de plomo en la pasta comercial podría ser tomado como punto negativo para este. Sin embargo, la respuesta cruzada de este sistema u otros similares podría ser usada en el desarrollo de lenguas y narices electrónicas.

II.5 Bibliografía consultada

- [1] M. S. P. Lucas, L. E. Stephens, W. H. Dawes, M. R. Casey. Thick-film sensors for agricultural applications. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 21 (1976), 1-8.

- [2] S. Leppavuori, T. Hannula, A. Uusimaki. A thick film capacitive temperature sensor using barium strontium titanate glass formulations. *Microelectronics and Reliability*, 20 (1980) 389-397.
- [3] I. Janoska, M. R. Haskard. Thick film standard paste temperature sensor applications. *Sensors and Actuators*, 8 (1985), 3-9.
- [4] P. Romppainen, H. Torvela, J. Väänänen, S. Leppavuori. Effect of CH₄, SO₂ and NO on the CO response of an SnO₂-based thick film gas sensor in combustion gases. *Sensors and Actuators*, 8 (1985), 271-279.
- [5] T. Kobayashi, M. Haruta, H. Sano, M. Nakane. A selective CO sensor using Ti-doped α -Fe₂O₃ with coprecipitated ultrafine particles of gold. *Sensors and Actuators*, 13 (1988), 339-349.
- [6] M. Lambrechts, W. Sansen, J. Suls, S. Paszczynski. Thick-film voltammetric sensors based on ruthenium dioxide *Sensors and Actuators*, 13 (1988), 287-292.
- [7] J. A. Mihell, J. K. Atkinson. Planar thick-film pH electrodes based on ruthenium dioxide hydrate. *Sensors and Actuators B*, 48 (1998), 505-511.
- [8] M. Haskard. Thick-Film Hybrids. *Manufacture and Design*. Ed. Prentice Hall, 1988, Australia.
- [9] R. Cadenhed, D. DeCoursey. The history of Microelectronics. Part I. *International Journal for Hybrid Microelectronics*, 8 (1985), 14-30.
- [10] E. Davis, W. Harding, R. Schwartz, J. Corning. Solid logic technology: Versatile, high performance. *IBM Journal*, April (1964), 102-104.
- [11] C. Lucat, P. Ginet, C. Castille, H. Debéda, F. Ménil. Microsystems elements based on free-standing thick-films made with a new sacrificial layer process. *Microelectronics Reliability*, 48 (2008), 872-875.
- [12] D. Reimer. Ink Hydrodynamics of screen printing. *Proc. International Symposium on Microelectronics*. Nov. 1985, Anaheim.
- [13] D. Hammer, J. Biggers. The fundamentals of thick-film hybrid technology. *State of Arts, Inc.* 1973, State College, Philadelphia.
- [14] M. Prudenziati. Thick film sensors. Ed. Elsevier, 1994, Amsterdam.

- [15] X. Xing, T. Tan, M. Shao, C. Liu. Electrochemical oxidation of L-ascorbic acid at the graphite electrode and its monitoring by thick film graphite sensor assembly. *Electroanalysis*, 4 (1992), 191-197.
- [16] S. Leppavouri, J. Vaananen, M. Lhati, J. Remes, A. Uusimaki. A novel thick film technique, gravure offset printing, for the realization of fine-line structures. *Sensors and Actuators A*, 41 (1994), 593-597.
- [17] J. Wang, Q. Chen. Enzyme microelectrode array strips for glucose and lactate. *Analytical Chemistry*. 66 (1994), 1007-1011.
- [18] U. Bilitewski, W. Drewes, R. Schmid. Thick film biosensor for urea. *Sensors and Actuators B*, 7 (1992), 321-326.
- [19] U. Bilitewski, P. Ruger, W. Drewes, F. Bechtold, R. Schmid. Biosensors: Fundamentals technologies and applications. *F. Scheller & R. Schmid Ed.* 1992, VCH, Weinheim.
- [20] D. Craston, C. Jones, D. Williams. Microband electrodes fabricated by screen printing processes: application in electroanalysis. *Talanta*, 38 (1991) 17-26.
- [21] P. Atanasov, A. Kaisheva, S. Gamburgzev, I. Iliev. Metallocene-mediated amperometric biosensors for one-shot glucose determination. *Sensors and Actuators B*, 8 (1992), 59-64.
- [22] U. Bilitewski, C. Chemnitius, P. Ruger, R. Schmid. Miniature disposable biosensors. *Sensors and Actuators B*, 7 (1992), 351-355.
- [23] S. A. Patil, L. A. Patil, D. R. Patil, G. H. Jain, M.S . Wagh. CuO-modified tin titanate thick film resistors as H₂-gas sensors. *Sensors and Actuators B*, 123 (2007) 233–239.
- [24] X. Chu, D. Jiang, Ch. Zheng. The gas-sensing properties of thick film sensors based on nano-ZnFe₂O₄ prepared by hydrothermal method. *Materials Science and Engineering B*, 129 (2006) 150–153.
- [25] B. L. Zhu, C. S. Xie, J. Wu, D. W. Zeng, A. H. Wang, X. Z. Zhao. Influence of Sb, In and Bi dopants on the response of ZnO thick films to VOCs. *Materials Chemistry and Physics*, 96 (2006) 459–465

- [26] R. Martínez-Máñez, J. Soto, J. Lizondo-Sabater, E. García-Breijo, L. Gil, J. Ibáñez, I. Alcaina, S. Alvarez. New potentiometric dissolved oxygen sensors in thick film technology. *Sensors and Actuators B*, 101 (2004) 295–301
- [27] E. Sotter, X. Vilanova, E. Llobet, A. Vasiliev, X. Correig. Thick film titania sensors for detecting traces of oxygen. *Sensors and Actuators B*, 127 (2007) 567–579.
- [28] Y. Z. Lam, J. K. Atkinson. Transient and steady-state responses of thick-film oxygen sensors. *Measurement*, 34 (2003) 355–361
- [29] N. Izu, W. Shin, N. Murayama, S. Kanzaki. Resistive oxygen gas sensors based on CeO₂ fine powder prepared using mist pyrolysis. *Sensors and Actuators B*, 87 (2002), 95-98.
- [30] P. Schmidt-Zhang, K. -P. Sandow, F. Adolf, W. Göpel, U. Guth. A novel thick film sensor for simultaneous O₂ and NO monitoring in exhaust gases. *Sensors and Actuators B*, 70 (2000), 25-29
- [31] H. Zheng, O. T. Sørensen. Integrated oxygen sensors based on Mg-doped SrTiO₃ fabricated by screen-printing. *Sensors and Actuators B*, 65 (2000), 299-301.
- [32] H. N. McMurray, P. Douglas, D. Abbott. Novel thick-film pH sensors based on ruthenium dioxide-glass composites. *Sensors and Actuators B*, 28 (1995), 9–15.
- [33] M. J. Tarlov, S. Semancik, K. G. Kreider, Mechanistic and Response Studies of Iridium Oxide pH Sensors. *Sensors and Actuators B*, 1 (1990), 293–297.
- [34] R. E. Belford, A. E. Owen, R. G. Kelly. Thick-film hybrid pH sensors. *Sensors and Actuators*, 11 (1987), 387-398.
- [35] J. H. Liu, Y. H. Zhang, Z. Y. Zhang, L. Ni, H. X. Li. Study of thick-film pH sensors *Sensors and Actuators B*, 14 (1993), 566-567.
- [36] R. Koncki, M. Mascini. Screen-printed ruthenium dioxide electrodes for pH measurements. *Analytica Chimica Acta*, 351 (1997), 143-149.

- [37] J. A. Mihell, J. K. Atkinson. Planar thick-film pH electrodes based on ruthenium dioxide hydrate. *Sensors and Actuators B*, 48 (1998), 505-511.
- [38] G. S. Reeder, W. R. Heineman. Electrochemical characterization of a microfabricated thick-film carbon sensor for trace determination of lead. *Sensors and Actuators B*, 52 (1998), 58-64.
- [39] K. Z. Brainina, N. Yu. Stozhko, G. M. Belysheva, O. V. Inzhevatova, L. I. Kolyadina, C. Cremisini, M. Galletti. Determination of heavy metals in wines by anodic stripping voltammetry with thick-film modified electrode. *Analytica Chimica Acta*, 514 (2004), 227-234.
- [40] S. Timur, N. Pazarliolu, R. Pilloton, A. Telefoncu. Detection of phenolic compounds by thick film sensors based on *Pseudomonas putida*. *Talanta*, 61 (2003), 87-93.
- [41] L. Tymecki, R. Koncki. Thick-film potentiometric biosensor for bloodless monitoring of hemodialysis. *Sensors and Actuators B*, 113 (2006), 782-786.
- [42] L. Tymecki, E. Zwierkowska, R. Koncki. Screen-printed reference electrodes for potentiometric measurements. *Analytica Chimica Acta*, 526 (2004) 3-11.
- [43] A. Simonis, H. Lüth, J. Wang, M. J. Schöning. New concepts of miniaturised reference electrodes in silicon technology for potentiometric sensor systems. *Sensors and Actuators B*, 103 (2004) 429-435.
- [44] A. Fog, R. P. Buck. Electronic semiconducting oxides as pH electrodes. *Sensors and Actuators B*, 5 (1984), 137-146.
- [45] E. García-Breijo. Diseño de un sistema multisensor en tecnología *thick-film*; fabricación, caracterización y estudio de su aplicabilidad a la medida de parámetros físico-químicos. *Tesis Doctoral*. Valencia, 2004.
- [46] Commission on Analytical Nomenclature, *Pure & Applied Chemistry*. 48 (1975), 129-135
- [47] J. Atkinson, A. W. Cranny. An investigation of the performance characteristics and operational lifetimes of multi-element thick film

- electrode arrays used in the determination of water quality parameters. *Sensors and Actuators B*, 54 (1999), 215-231.
- [48] M. Schock, M. Gardels. Plumbosolvency reduction by high pH and low carbonates-solubility relationships. *Ed. Jawwa*, (1983), 75-87.
- [49] B. P. Nikolski. Theory of the glass electrode. I. Theoretical. *Zh. Fiz. Khim.*, 10 (1937), 495-503.
- [50] G. Eisenman, D. Rudin, J. Casby. Glass Electrode for Measuring Sodium Ion. *Science*, 126 (1957), 831-834.
- [51] Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato. Selectivity coefficients for ion-selective electrodes: recommended methods for reporting K^{pot} values. *Pure & Applied Chemistry*, 67 (1995), 507-518.

Capítulo III

Modelos teóricos para el estudio de los procesos de interferencia en electrodos de estado sólido

III.1 Introducción

Durante mucho tiempo, los electrodos simples metálicos se han utilizado en numerosas aplicaciones, por ejemplo: con electrodos de oro y platino se puede llegar a determinar el potencial redox de algunos sistemas [1, 2]; mientras que electrodos de platino, iridio titanio, plomo, estaño, rutenio, etc., han sido utilizados en mediciones de pH [3-6]. Algunos sistemas/electrodos metálicos recubiertos con sales u óxidos propios (del tipo M/MX/MO), se han aplicado en determinaciones del contenido aniónico en disolución o incluso como electrodos de referencia [7, 8].

Como ya se comentó en el **Capítulo II** de esta tesis, para el estudio de procesos de interferencia de electrodos selectivos se comenzó a aplicar de forma masiva a finales de los años sesenta la ecuación de Nikolski-Eisenman (NE), la cual se hizo muy popular, e incluso hoy en día se sigue aplicando para las determinaciones de los coeficientes de selectividad K^{pot} . Sin embargo, con el paso de los años, en la comunidad científica se han generado ciertas dudas sobre el uso de la NE fundamentalmente para el cálculo de los K^{pot} en sistemas electrodo/interferente, debido a que en ocasiones se calculan valores de coeficientes de selectividad sin sentido físico. Estas incongruencias vienen generadas fundamentalmente por la poca validez de las suposiciones teóricas usadas en el cálculo y aplicaciones erróneas del modelo NE sobre mecanismos de respuesta electródica distintos de transferencias de carga a través de membranas, para los cuales la NE fue establecida. En nuestra opinión, la segunda causa es la más importante para una correcta solución de los problemas surgidos en los estudios previos.

Una clasificación general establece que existen dos tipos de electrodos: electrodos farádicos y no farádicos. Los electrodos farádicos se denominan de esta forma propiamente pues su potencial eléctrico vienen generado a raíz de un proceso redox (potenciometría farádica). Este grupo se puede subdividir en: electrodos de orden cero (que incluyen los sistemas metal inerte/par redox), electrodos de primer orden (sistemas del tipo M/M⁺), de segundo orden (M/MX/X⁻) y por último, de tercer orden (M/MX/NX/N⁺).

En los electrodos no farádicos, el potencial eléctrico es causado por procesos de absorción o adsorción, así como por intercambio iónico en la interface electródica (o transferencia de carga a través de una membrana).

Para los electrodos no farádicos de membrana, el potencial generado se asocia al trabajo eléctrico del transporte iónico a través de la membrana permeable. La ecuación de Nikolski-Eisenman fue concebida específicamente para electrodos de este tipo o similares, por lo tanto constituye las bases para las metodologías de cálculo de los coeficientes de selectividad de los procesos de interferencia sobre este grupo de electrodos.

En resumen, la aplicación de modelos del tipo NE sobre estudios de procesos de interferencia de electrodos distintos a los electrodos de membrana conllevaría incongruencias debidas a asumir, entre otros aspectos, falsos mecanismos de generación de potencial eléctrico. El objetivo fundamental en este capítulo es dilucidar y proponer modelos teóricos que expliquen o describan de forma adecuada los procesos de interferencia en electrodos en estado sólido, los cuales generalmente presentan mecanismos de respuesta distintos a la transferencia de carga a través de una membrana. La hipótesis a seguir en el planteamiento del modelo es que el potencial de electrodo se genera debido a los cambios en la actividad de las especies en la superficie electródica debido a reacciones heterogéneas entre dichas especies. Los modelos se plantearán y verificarán en electrodos metálicos simples del tipo M/MX/MO, y como objetivo final, se aplicarán en el estudio de los procesos de interferencia obtenidos para el dispositivo *thick-film* de RuO₂ diseñado y caracterizado en el **Capítulo II**.

III.11 Limitaciones de la Ecuación de Nikolski-Eisenman

Hacia finales de los años sesenta, numerosos investigadores estudiaron procesos de interferencia en electrodos ISEs siguiendo las indicaciones de la Ecuación de Nikolski-Eisenman o proponiendo nuevas ecuaciones que de una forma u otra estaban emparentadas con la NE. Garrels y colaboradores introdujeron en 1962 una ecuación empírica que describía el potencial no sólo de cationes monovalentes (la

NE se aplicaba únicamente sobre sistemas catiónicos monovalentes) sino también sobre divalentes [9]. Con la ecuación propuesta se lograba una descripción del potencial de electrodo, sin embargo, en el estudio de las interferencias, el análisis no mostraba con claridad hasta que punto los resultados obtenidos en los cálculos de los coeficientes de selectividad podrían ser usados de forma apropiada. En el estudio de la respuesta de un electrodo selectivo a Ca^{2+} en presencia de K^+ como interferente, se analizó la interferencia con concentraciones de ambos iones superiores a 10^{-4} molar. La curva de potencial mostró una respuesta mucho más nerstiana para el ion calcio, indicando la mayor selectividad del electrodo hacia esta especie. Teóricamente, un valor de K^{pot} cercano a 1 indicaría que el electrodo responde de forma similar hacia ion primario e interferente. Sin embargo, los autores encontraron valores de K^{pot} de 42.8 para este sistema estudio, que resultan exageradamente altos para ser tenidos en cuenta como un resultado analítico.

En el momento en que la NE se hizo popular, problemas similares como el ejemplo anterior surgieron sobre la determinación de coeficientes de selectividad para sistemas ion primario/interferente de cargas desiguales [10-13]. Después de numerosas consideraciones sobre este aspecto, se llegó a la conclusión de que el cálculo de los coeficientes de selectividad mediante la NE o ecuaciones modificadas basadas en ella resulta inadecuado para sistemas en los que las especies primaria e interferente tengan carga distinta.

Otro factor causante de algunos errores en las determinaciones de coeficientes de selectividad mediante la NE es, sin duda, el comportamiento no nerstiano de la respuesta potenciométrica de los interferentes. En el estudio realizado por Umezawa y colaboradores [14] sobre las incongruencias generadas en el uso de la NE, se analizaron las curvas de potencial obtenidas para algunos de los electrodos selectivos típicos, como por ejemplo: F^- ISE, Br^- ISE, NO_3^- ISE, Ca^{2+} ISE y K^+ ISE. Dichas curvas mostraron con claridad que la mayoría de los interferentes exhibían pendientes no nerstianas (el electrodo de fluoruros basado en LaF_3 mostró una típica respuesta de -59 mV/década, mientras que el OH^- como interferente mostró -32 mV/década). Nuevamente, suponer la aplicabilidad de la NE sin tener en cuenta

algunos aspectos sobre los cuales esta fue dilucidada conlleva errores. La NE fue previamente establecida para el electrodo de vidrio y la interferencia de iones alcalinos, por lo que inicialmente no se esperaba que fuese usada universalmente para cualquier tipo de electrodo selectivo moderno, para los cuales lógicamente los interferentes no exhiben un comportamiento nerstiano.

III.2 La hipótesis al modelo: el cambio de actividad de especies sólidas

La hipótesis al planteamiento del modelo que proponemos para el estudio de los procesos de interferencia en electrodos sólidos consiste en los cambios que se observan en el electrodo cuando una reacción heterogénea ocurre en la superficie (ejemplo, una reacción metatética). Comenzaremos la introducción del modelo planteando ciertos aspectos teóricos plenamente establecidos con el objetivo de entender que el cambio en la actividad ocurre como consecuencia de las transformaciones de un sólido en otro.

Es bien conocido que la actividad tanto de un líquido como un sólido en estado estándar es igual a la unidad. Es bien conocido también que para una mezcla ideal de líquidos (sistema binario, por ejemplo: un líquido A y un líquido B ambos en equilibrio con sus fases vapor), la actividad de A es igual a su fracción molar (y además a su presión o actividad del vapor A):

$$a(\text{vapor})_A = \frac{P_{vA}}{P_{vA}^0} = \frac{\chi_A \cdot P_{vA}^0}{P_{vA}^0} = \chi_A = a(\text{liquido})_A$$

donde:

P_{vA} y P_{vA}^0 son las presiones parciales y parcial estándar de A

χ_A es la fracción molar de A

a_A es la actividad de A en fase vapor y líquida

De forma similar, la actividad (o fracción molar) de un sólido C que se va transformando parcialmente en un nuevo sólido D cambiará de acuerdo con el cambio en las fracciones molares de ambos sólidos. Así, si asumimos que ocurre una reacción metatética, por ejemplo: la transformación de AgCl en AgBr en presencia de ion bromuro, la actividad de AgCl variaría desde 1 (cuando Br⁻ no está presente) hasta 0 (cuando todo el Cl⁻ fue sustituido por Br⁻):

$$a(\text{AgCl}) = \chi_{\text{AgCl}} = \frac{n_{\text{AgCl}}}{n_{\text{AgCl}} + n_{\text{AgBr}}} = \frac{n_{\text{AgCl}}}{n_{oi}} \quad \rightarrow \quad a(\text{solid})_i = \frac{n_i}{n_{oi}}$$

(1)

donde:

χ_{AgCl} es la fracción molar de AgCl

n_{AgCl} , n_{AgBr} son las cantidades molares de AgCl y AgBr respectivamente

n_{oi} es la cantidad molar inicial de i

Esta aproximación está de acuerdo con la definición de actividad como un número adimensional a_i igual al cociente ($\gamma C_i / C_{oi}$), donde γ sería el coeficiente de actividad. Cuando asumimos un comportamiento ideal ($\gamma=1$) la actividad será igual al cociente de concentraciones o moles:

$$a_i = \frac{C_i}{C_{oi}} = \frac{n_i/V}{n_{oi}/V} = \frac{n_i}{n_{oi}} \quad (2)$$

Donde C_i es la concentración de i y C_{oi} es la concentración de referencia (normalmente igual a 1). Obviamente, esta relación sería real si el volumen ocupado por i permaneciera constante o con muy poca variación durante la reacción.

Para comenzar el planteamiento del modelo, analizaremos una situación general en la cual un electrodo metálico (M), parcialmente cubierto por su propio óxido (MO) se encuentra en contacto con una disolución la cual contiene la especie aniónica X^- , capaz de formar un precipitado insoluble con el metal. Esta situación se representa en el esquema de la **Figura 69**.

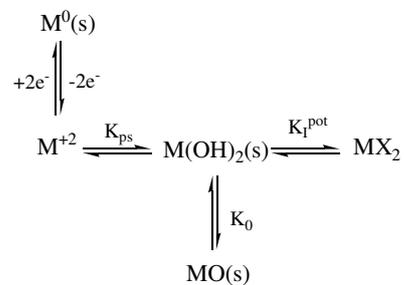
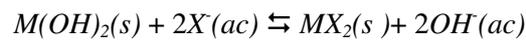


Figura 69. Especies involucradas en los procesos de equilibrio para un sistema M/MO en presencia de un anión interferente X^- .

Si asumimos por conveniencia que el sistema M/MO responde al pH, podremos definir la reacción del proceso de interferencia como:



$$K_I^{pot} = \frac{a_{MX_2} (OH^-)^2}{a_{M(OH)_2} (X^-)^2} \quad (3)$$

donde K_I^{pot} es la constante de interferencia del proceso debido a la presencia de X.

Para el sistema simple M/M^{2+} la ecuación de Nerst correspondiente sería:

$$E = E_{M^{2+}/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{a_M}{(M^{+2})} \quad (4)$$

En condiciones de comportamiento potenciométrico ideal, donde la intensidad a través del electrodo es nula, no se deberían esperar cambios debidos a procesos en la superficie, y por lo tanto:

$$a_M = \frac{n_M}{(n_M)_0} = 1$$

y consecuentemente:

$$E = E^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{1}{(M^{+2})}$$

$$(E^0 = E_{M^{2+}/M}^0)$$

donde ha sido asumido que la actividad del metal M es igual a la unidad. En general, esta aproximación es adecuada para un sólido en contacto con una disolución simple. Sin embargo, en una mezcla de sólidos presentes en el mismo electrodo y que se pueden reconvertir unos en otros, tal aproximación no sería aceptable. Un esquema general de esta situación se muestra en la **Figura 70**.

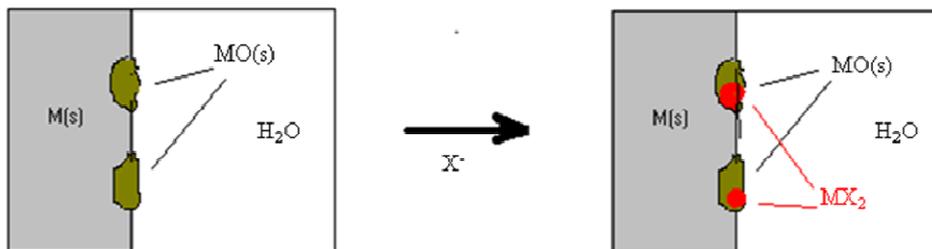


Figura 70. Desplazamiento del equilibrio del sistema M/MO en presencia de X⁻.

En este caso, al alcanzar el equilibrio, se puede establecer que:

$$(n_{MO})_0 = n_{M^{+2}} + n_{M(OH)_2} + n_{MO} + n_{MX_2} \quad (5)$$

donde $(n_{MO})_0$ es la cantidad inicial de moles de MO a la superficie del metal.

Entonces, tenemos que:

$$1 = \frac{V(M^{+2})}{(n_{MO})_0} + \frac{n_{M(OH)_2}}{(n_{MO})_0} + \frac{n_{MO}}{(n_{MO})_0} + \frac{n_{MX_2}}{(n_{MO})_0} = \frac{(M^{+2})}{C_0} + a_{M(OH)_2} + a_{MO} + a_{MX_2} \quad (6)$$

Aquí $a_{M(OH)_2}$, a_{MO} and a_{MX_2} se corresponde con las actividades de las especies sólidas $M(OH)_2$, MO y MX_2 respectivamente. Además, hemos definido previamente C_0 como el cociente $(n_{MO})_0/V$. En principio, C_0 puede ser definido para cada estado de oxidación del proceso redox, referido a cualquier especie involucrada en el equilibrio. Despejando el término actividad de MX_2 de la ecuación 3 tenemos que:

$$a_{MX_2} = K_I^{pot} \cdot \frac{a_{M(OH)_2} \cdot (X^-)^2}{(OH^-)^2} \quad (7)$$

Por otra parte, para el equilibrio $MO(s) + H_2O \rightleftharpoons M(OH)_2(s)$, tenemos que:

$$K_0 = \frac{a_{M(OH)_2}}{a_{MO} a_{H_2O}} = \frac{a_{M(OH)_2}}{a_{MO}} \text{ y además } a_{MO} = \frac{a_{M(OH)_2}}{K_0} \quad (8)$$

$$K_{ps} = \frac{(M^{+2})(OH^-)^2}{a_{M(OH)_2}} \text{ despejando } a_{M(OH)_2}: a_{M(OH)_2} = \frac{(M^{+2})(OH^-)^2}{K_{ps}} \quad (9)$$

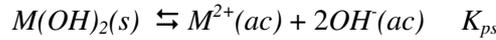
Posteriormente, sustituyendo las ecuaciones 7 y 9 en 6, y despejando el término (M^{+2}) obtendremos:

$$(M^{+2}) = \frac{1}{\frac{1}{C_0} + \frac{(OH^-)^2}{K_{ps}} + \frac{(OH^-)^2}{K_0 K_{ps}} + \frac{K_I^{pot} (X^-)^2}{K_{ps}}} \quad (10)$$

Esta nueva ecuación puede ser combinada con la ecuación 4 para dar:

$$E = E_{M^{+2}/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log \left(\frac{1 + K_0}{K_0 K_{ps}} (OH^-)^2 + \frac{1}{C_0} + \frac{K_I^{pot}}{K_{ps}} (X^-)^2 \right) \quad (11)$$

Esta ecuación representa la respuesta potenciométrica de un sistema electródico M/MO como sensor de pH y en presencia del anión interferente X⁻. Un ciclo termodinámico simple permitirá obtener una relación entre el coeficiente de selectividad de la interferencia K_I^{pot} y algunas constantes de productos de solubilidad de las especies $M(OH)_2$ (K_{ps}) y MX_2 (K_{ps}^{MX}):



$$K_I^{pot} = \frac{K_{ps}}{K_{ps}^{MX_2}} \quad (12)$$

En este punto, sería importante aclarar que las ecuaciones 11 y 12 son soluciones particulares para un problema específico y por lo tanto, un sistema electroquímico distinto tendría una solución o soluciones diferentes. La ecuación 11 puede ser reescrita como:

$$E = E_{M^{+2}/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{1 + K_0}{K_0 K_{ps}} - \frac{59.16}{2} \log \left((OH^-)^2 + \frac{K_0 K_{ps}}{C_0(1 + K_0)} + \frac{K_0 K_I^{pot}}{1 + K_0} (X^-)^2 \right) \quad (13)$$

aquí, si K_0 fuera mucho mayor que 1, el cociente $K_0/(1+K_0)$ sería aproximadamente igual a 1, entonces la ecuación 13 puede ser expresada de la siguiente forma:

$$E = E_{M^{+2}/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{1}{K_{ps}} - \frac{59.16}{2} \log \left((OH^-)^2 + \frac{K_{ps}}{C_0} + K_I^{pot} (X^-)^2 \right) \quad (14)$$

sería fácil verificar que: $E_{M(OH)_2/M}^0 = E_{M^{+2}/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{1}{K_{ps}}$ (15)

por lo tanto, sustituyendo 15 en 14, tendremos:

$$E = E_{M(OH)_2/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log \left((OH^-)^2 + \frac{K_{ps}}{C_0} + K_I^{pot} (X^-)^2 \right) \quad (16)$$

El uso de las ecuaciones 13 y 16 permitiría la predicción e interpretación de la respuesta potenciométrica de un electrodo tipo $M/MO/MX_2/H^+$, X en función del pH y de la concentración del anión X . Además, considerando al OH^- como ion primario, la ecuación 16 indica que la respuesta del electrodo es interferida por los aniones que forman sales insolubles con el ion metálico y permite determinar el correspondiente coeficiente de selectividad de este proceso. La ecuación 16 además establece una relación matemática similar a la ecuación de Nikolski-Eisenman, pero con algunas diferencias importantes a destacar:

- i. La ecuación 16 ha sido obtenida a partir de un modelo basado en una reacción de equilibrio redox en fase heterogénea $M/MO/MX_2/H^+$, X , donde las diferentes fases físicas han sido tenidas en cuenta.
- ii. El signo que precede al término logarítmico en la ecuación 11 es siempre negativo, mientras que en la NE dependerá del signo del ion transportado a través de la membrana.
- iii. En la ecuación 16 existen tres términos, el primero relacionado con el ion primario, el segundo con el cociente K_{ps}/C_0 , y el último relacionado con la especie interferente X . La NE está únicamente concebida para dos términos relacionados con las especies primaria e interferente respectivamente. El

término K_{ps}/C_0 representa las características físicas y la “historia” del electrodo (desgaste, memoria, etc.) y puede contribuir considerablemente a la respuesta electródica.

- iv. El modelo propuesto establece que el coeficiente de selectividad K_I^{pot} puede ser calculado a partir de constantes comunes de equilibrio relacionadas con las especies involucradas (K_{ps} , K_w , etc.). El K_I^{pot} en la NE está relacionado con las movilidades iónicas u_+ o u_- a través de la membrana.

III.3 Otras expresiones equivalentes

Relaciones equivalentes pueden ser establecidas a partir de las ecuaciones 13 y 16. Por ejemplo, sustituyendo (OH^-) en 16 a partir de:

$$K_w = (OH^-)(H^+) \rightarrow (OH^-)^2 = \frac{K_w^2}{(H^+)^2}$$

obtendremos entonces que:

$$E = E_{M(OH)_2/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log K_w^2 - \frac{59.16}{2} \log \left[\frac{1}{(H^+)^2} + \frac{K_{ps}}{C_0 K_w^2} + \frac{K_I^{pot}}{K_w^2} (X^-)^2 \right] \quad (17)$$

Esta ecuación podría ser reajustada a una estructura similar a la NE donde el ion primario sea el H^+ y el interferente sea X^- :

$$E = E_2^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[\frac{1}{(H^+)^2} + \frac{K_{ps}}{C_0 K_w^2} + K_I^{pot'} (X^-)^2 \right] \quad (18)$$

Comparando las ecuaciones 17 y 18, es obvio que:

$$E_2^0 = E_{M(OH)_2/M}^0 - 59.16 \log K_w \quad (19) \quad \text{y} \quad K_I^{pot'} = \frac{K_I^{pot}}{K_w^2} \quad (19)$$

Una relación similar puede ser obtenida se consideramos X como ion primario y OH^- como interferente. Para ello, despejamos K_I^{pot} en la expresión 16 para finalmente obtener:

$$E = E_3^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[(X^-)^2 + \frac{K_{ps}}{C_0 K_I^{pot}} + K_I^{pot''} (OH^-)^2 \right] \quad (20)$$

donde: $E_3^0 = E_{M(OH)_2/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log K_I^{pot}$ (22) y $K_I^{pot''} = \frac{1}{K_I^{pot}}$ (21)

Así mismo, considerando M^{2+} como ion primario y H^+ u OH^- como interferente, se obtendría entonces la siguiente expresión:

$$E = E_{M^{+2}/M}^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[\frac{1}{C_0} + \frac{1}{K_{ps}} (OH^-)^2 + \frac{K_I^{pot}}{K_{ps}} (X^-)^2 \right] \quad (22)$$

Observando estas ecuaciones, se ve claramente que cuando el ion primario fuera un cation, el potencial de electrodo es proporcional al logaritmo del inverso de la actividad del cation; mientras que para un sistema con un anión como ion primario, el potencial es proporcional al logaritmo de la actividad del anión. La **Tabla 19** resume las expresiones obtenidas para el potencial electródico y para el coeficiente de selectividad de algunas combinaciones de sistemas ion primario/interferente.

Tabla 19. Expresiones matemáticas para el potencial de electrodo y los coeficientes de selectividad de algunas combinaciones de sistemas ion primario/interferente.

| Ion | Interf. | $E(mV)$ | K_I^{pot} | $E^0(mV)$ |
|-----|---------|---------|-------------|-----------|
|-----|---------|---------|-------------|-----------|

| Prim. | | | | |
|----------|---------|---|---------------------------------|--|
| OH^- | X^- | $E_1^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[(OH^-)^2 + \frac{K_{ps}}{C_0} + K_I^{pot} (X^-)^2 \right]$ | K_I^{pot} | E_1^0 |
| H^+ | X^- | $E_2^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[\frac{1}{(H^+)^2} + \frac{K_{ps}}{C_0 K_w^2} + K_I^{pot} (X^-)^2 \right]$ | $\frac{K_I^{pot}}{K_w^2}$ | $E_1^0 - 59.16 pK_w$ |
| X^- | OH^- | $E_3^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[(X^-)^2 + \frac{K_{ps}}{C_0 K_I^{pot}} + K_I^{pot} (OH^-)^2 \right]$ | $\frac{1}{K_I^{pot}}$ | $E_1^0 - \frac{59.16}{n} \log K_I^{pot}$ |
| X^- | H^+ | $\Delta E_4^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[(X^-)^2 + \frac{K_{ps}}{C_0 K_I^{pot}} + \frac{K_I^{pot}}{(H^+)^2} \right]$ | $\frac{K_w^2}{K_I^{pot}}$ | $E_1^0 - \frac{59.16}{n} \log K_I^{pot}$ |
| M^{2+} | H^+ | $E_0^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[\frac{1}{C_0} + K_I^{pot} \frac{1}{(H^+)^2} \right]$ | $\frac{(1+K_0)K_w}{K_0 K_{ps}}$ | $E_{M^{+n}/M}^0$ |
| M^{2+} | X_i^- | $E_0^0 - \frac{59.16}{2} \log \left[\frac{1}{C_0} + \sum K_I^{pot} (X_i^-)^2 \right]$ | $\frac{1}{K_{ps}^{MX_2}}$ | $E_{M^{+n}/M}^0$ |

Nota: $K_I^{pot} = \frac{K_{ps}^{M(OH)_n}}{K_{ps}^{MX_n}}$, $E_1^0 = E_{M(OH)_n/M}^0$ y $E_0^0 = E_{M^{+n}/M}^0$

Si quisiéramos ser más rigurosos en el planteamiento del modelo se debería tener en cuenta que además de los procesos anteriormente incluidos en las reacciones a nivel superficial, el electrodo metálico en contacto con una disolución podría experimentar un número de equilibrios adicionales, como por ejemplo redisolución a pHs básicos que incluyen la formación de hidroxocomplejos o la formación de especies solubles del tipo MX_{n+m}^{-m} . Incluso el nivel de dificultad se incrementaría si admitimos que la superficie metálica podría ser atacada mediante transferencia electrónica entre los iones del medio y el propio metal (ejemplo: reacción oxidativa

del metal con H^+). Con el objetivo de evitar esto, supondremos el metal lo suficientemente noble para no ser corroído y limitaremos los estudios a ciertos rangos de pH para evitar la formación de hidroxocomplejos.

III.4 Experimental

III.41 Verificación del modelo

Con el objetivo de validar y verificar el modelo previamente establecido, la respuesta potenciométrica de algunos electrodos/sistemas comunes será estudiada utilizando las ecuaciones anteriores.

El primer sistema que se analizará es un electrodo del tipo Ag/Ag^+ . Para este sistema electroquímico, se representan en el esquema de la **Figura 71** algunos de los equilibrios químicos y electroquímicos más importantes. Como consecuencia de la estequiometría del óxido de plata formado (Ag_2O), el modelo adquirirá una forma matemática un tanto diferente a las ecuaciones previas.

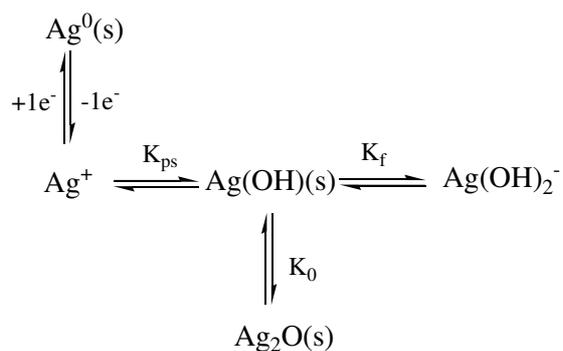


Figura 71. Especies involucradas en los equilibrios de un electrodo de Ag/Ag+ en contacto con el agua.

La expresión de Nernst para este electrodo quedaría establecida de la forma siguiente:

$$\Delta E = \Delta E_{Ag^+/Ag}^0 - \frac{59.16}{1} \log \frac{a_{Ag}}{a_{Ag^+}}$$

y teniendo en cuenta algunas de las consideraciones discutidas anteriormente, se plantea el siguiente balance:

$$(n_{Ag^+})_0 = n_{Ag^+} + n_{Ag(OH)_2^-} + 2n_{Ag_2O} + n_{Ag(OH)} \quad (23)$$

y además:

$$1 = \frac{(Ag^+)}{(Ag^+)_0} + \frac{(Ag(OH)_2^-)}{(Ag^+)_0} + a_{Ag(OH)} + 2a_{Ag_2O} = \frac{(Ag^+)}{C_0} + \frac{(Ag(OH)_2^-)}{C_0} + a_{Ag(OH)} + 2a_{Ag_2O} \quad (24)$$

A partir de las constantes K_f , K_0 y K_{ps} , podremos obtener la siguiente expresión:

$$(Ag^+)^2 + \frac{1}{2} \left(\frac{K_0^2 K_{ps}^2}{C_0 (OH^-)^2} + \frac{K_f K_0^2 K_{ps}^2}{C_0} + \frac{K_0^2 K_{ps}}{(OH^-)} \right) (Ag^+) - \frac{K_0^2 K_{ps}^2}{2(OH^-)^2} = 0 \quad (25)$$

denominando B la siguiente expresión:

$$B = \frac{1}{2} \left(\frac{K_0^2 K_{ps}^2}{C_0 (OH^-)^2} + \frac{K_f K_0^2 K_{ps}^2}{C_0} + \frac{K_0^2 K_{ps}}{(OH^-)} \right)$$

entonces sustituimos en la expresión de Nernst para el electrodo y quedará:

$$E = E_{Ag^+/Ag}^0 - \frac{59.16}{1} \log \frac{a_{Ag}}{a_{Ag^+}} = E_{Ag^+/Ag}^0 - \frac{59.16}{1} \log \frac{2}{-B + \sqrt{B^2 + 2 \frac{K_0^2 K_{ps}^2}{(OH^-)^2}}} \quad (26)$$

La ecuación 26 podría ser simplificada si se toma en cuenta que el término de orden dos en la ecuación 25 sería despreciable frente al término lineal. Entonces, admitimos que:

$$\frac{1}{2} \left(\frac{K_0^2 K_{ps}^2}{C_0 (OH^-)^2} + \frac{K_f K_0^2 K_{ps}^2}{C_0} + \frac{K_0^2 K_{ps}}{(OH^-)} \right) (Ag^+) - \frac{1}{2} \frac{K_0^2 K_{ps}^2}{(OH^-)^2} \approx 0 \quad (27)$$

y por lo tanto:

$$E = E_{Ag^+/Ag}^0 - \frac{59.16}{1} \log \left(\frac{1}{C_0} + \frac{K_f (OH^-)^2}{C_0} + \frac{(OH^-)}{K_{ps}} \right) \quad (28)$$

Para validar la ecuación 28 hemos estudiado la variación del potencial de un electrodo tipo Ag/Ag^+ en función del pH. Un alambre de plata (ALDRICH, 0.1 mm de diámetro, 99% de pureza) fue inmerso en disoluciones de $AgNO_3$ 10^{-5} y 10^{-3} molar respectivamente (KNO_3 0.01 molar fue usado como electrolito soporte). Para este sistema, la respuesta de potencial a las variaciones de pH (de 2 a 13) fue analizada, utilizando los valores de producto de solubilidad K_{ps} y constante de formación K_f del $AgNO_3$ de la bibliografía y ajustando los valores del potencial estándar $E_{Ag^+/Ag}^0$. La **Figura 72** muestra los resultados de este análisis. Aquí, los valores “teóricos” de potencial de electrodo calculados usando la ecuación 28 (línea) coinciden en todo el rango de pH con los resultados experimentales (símbolo) obtenidos mediante las mediciones directas de potencial de electrodo. Este comportamiento se presentó para las dos concentraciones de Ag^+ utilizadas.

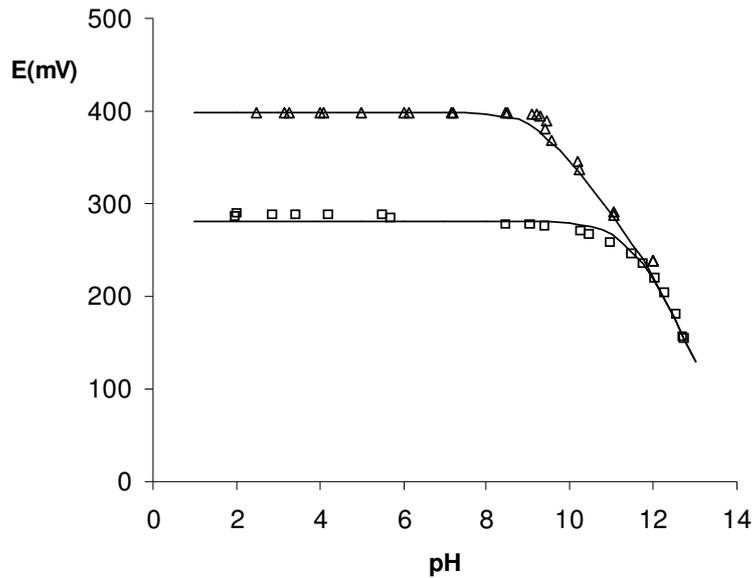


Figura 72. Respuesta de potencial del electrodo de Ag/Ag+ en función del pH (Rango de pH: de 2 a 13). Disoluciones de AgNO_3 10^{-5} molar (□) y 10^{-3} molar (Δ).

Para el mismo sistema en presencia de una especie X^- capaz de formar un precipitado insoluble del tipo AgX , la ecuación 28 se transformaría en:

$$E = E_{\text{Ag}^+ / \text{Ag}}^0 - \frac{59.16}{1} \log \left(\frac{1}{C_0} + \frac{K_f (\text{OH}^-)^2}{C_0} + \frac{(\text{OH}^-)}{K_{ps}} + \frac{(X^-)}{K_{ps}^{\text{AgX}}} \right) \quad (29)$$

y siguiendo un procedimiento similar al anteriormente expuesto, la ecuación de Nernst para este sistema quedaría establecida de la siguiente forma:

$$E \approx E_{\text{Ag}^+ / \text{Ag}}^0 - 59.16 \log \left(\frac{1}{C_0} + \frac{(\text{OH}^-)}{K_{ps}} + \frac{(X^-)}{K_{ps}^{\text{AgX}}} \right) = E_{\text{Ag}^+ / \text{Ag}}^0 - 59.16 \log \left(\frac{1}{C_0} + \sum_{i=1}^n \frac{(X^-)_i}{K_{ps}^{MX_i}} \right) \quad (30)$$

Esta ecuación es similar a la presentada anteriormente en la **Tabla 19**. En la verificación de esta ecuación se optó por analizar la respuesta potenciométrica de un electrodo Ag/AgCl preparado mediante electrolisis controlada de un alambre de

Ag (ALDRICH, 0.1 mm de diámetro, 99% de pureza) en disolución de NaCl 0.1 molar. Se estudió la respuesta de potencial del electrodo preparado en función de la concentración de Cl⁻, en dos disoluciones de pH diferentes (6 y 12.5). Para realizar las simulaciones o cálculos teóricos, fueron tenidos en cuenta algunos parámetros como potencial de contacto, coeficiente iónico de Debye-Huckel (γ_{\pm}) y concentración de Cl⁻ causada por la propia redisolución de la capa superficial del electrodo. Bajo todas estas condiciones experimentales, la concentración C_0 igual a 1.24×10^{-3} mol/L (necesaria para la ecuación 30) fue calculada como el cociente n_0/V (n_0 igual a 6.22×10^{-5} moles determinada según la cantidad de AgCl generada en la electrolisis). En la **Figura 73** se muestran el seguimiento de la respuesta potenciométrica del electrodo, en la cual los valores teóricos (línea) y experimentales (símbolo) coinciden plenamente, al igual que ocurría para el electrodo Ag/Ag⁺. Estos resultados demuestran la idoneidad del modelo propuesto para el estudio o seguimiento de la respuesta potenciométrica de los electrodos estudiados.

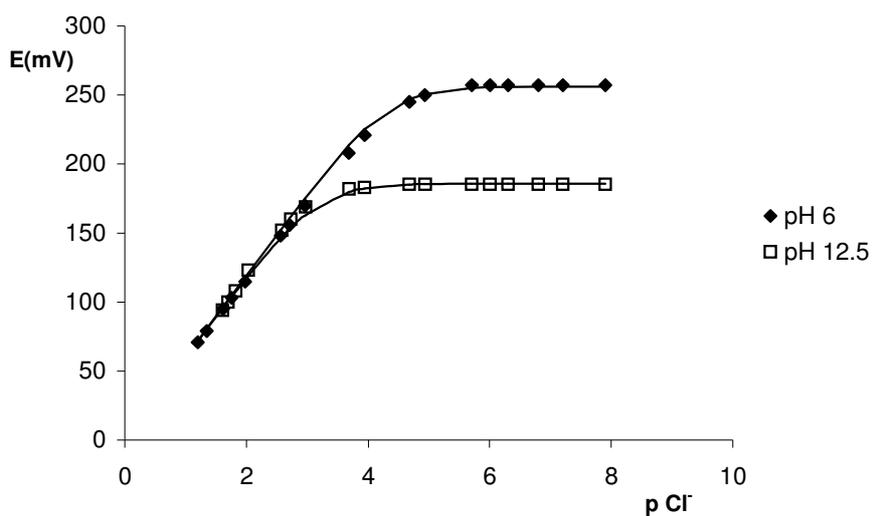
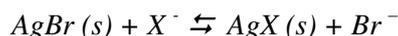


Figura 73. Respuesta de potencial del electrodo de Ag/AgCl en función de la concentración de Cl⁻.

III.42 Electrodo Ag/AgBr en presencia de Cl⁻

El siguiente ejemplo consiste en un electrodo de Ag/AgBr concebido como electrodo selectivo a bromuros, el cual se encuentra en contacto con una disolución que contiene además cantidades de cloruro capaces de sustituir al bromuro para formar AgCl en la superficie del electrodo. En este caso, planteamos el siguiente equilibrio:



con un coeficiente de selectividad expresado por: $K_I = \frac{a_{AgX}(Br^-)}{a_{AgBr}(X^-)}$

La ecuación que describirá el potencial del electrodo será:

$$E = E_{Ag^+/Ag}^0 - 59.16 \log \left(\frac{1}{C_0} + \frac{(OH^-)}{K_{ps}} + \frac{(Cl^-)}{K_{ps}^{AgCl}} + \frac{(Br^-)}{K_{ps}^{AgBr}} \right) = E_{Ag^+/Ag}^0 - 59.16 \log \left(\frac{1}{C_0} + \sum \frac{(X^-)}{K_{ps}^{AgX}} \right) \quad (31)$$

Para analizar la respuesta potenciométrica del sistema, se preparó un electrodo Ag/AgBr siguiendo un procedimiento similar al realizado previamente para el electrodo Ag/AgCl, o sea, mediante electrolisis controlada de un alambre de plata sumergido en disolución de NaBr 0.1 molar, que da como resultado un valor de C_0 igual a 1.24×10^{-3} mol/L. El electrodo se sumerge en disoluciones de cloruro de 0.01; 0.1 y 1.0 molar (todas a un pH constante de 6); y la respuesta potenciométrica se analiza en función de la concentración de bromuro. La **Figura 74** representa los resultados de este análisis así como la comparación entre los valores experimentales de potencial (símbolo) y los teóricos (línea) obtenidos aplicando la ecuación 31. Además de la coincidencia que experimentan nuevamente los valores de potencial teóricos y experimentales, en la Figura se puede apreciar que la presencia del cloruro como interferente en las determinaciones de bromuro induce una caída de potencial, esto con respecto al potencial estándar del electrodo

Ag/AgBr (235 mV bajo las condiciones experimentales existentes); además de una disminución en el límite de detección de bromuros (definido como la intersección de las regiones lineales en la curva de calibración), la cual es lógicamente proporcional a la concentración de cloruro presente en el momento de la determinación selectiva.

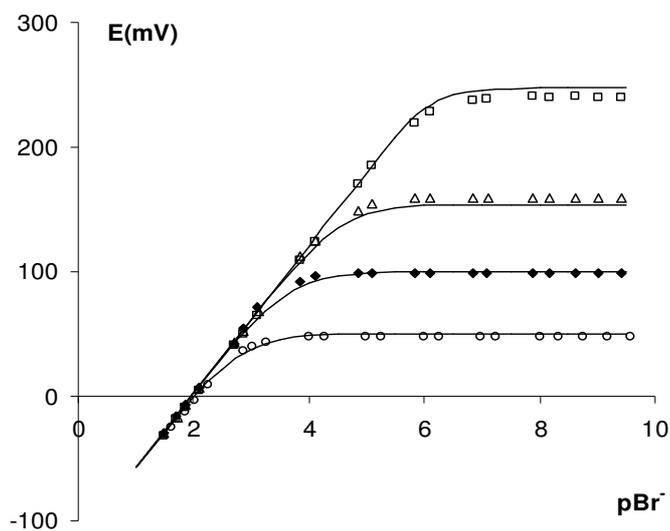


Figura 74. Respuesta de potencial del electrodo de Ag/AgBr en función de la concentración de Br⁻ y en contacto con disoluciones de cloruro como interferente (Concentraciones de cloruro: 1.0 molar (○); 0.1 molar (◆); 0.01 molar (Δ)). Los datos en (□) representan la ausencia de Cl⁻.

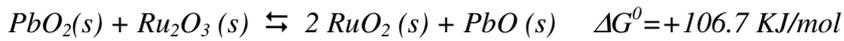
III.43 Aplicación del modelo teórico en el estudio de las interferencias en el sensor de pH de capa gruesa de RuO₂

Realizados los estudios previos que demuestran la idoneidad de los modelos y ecuaciones establecidas para describir la respuesta potenciométrica de electrodos comunes sencillos, se intentará aplicar la misma hipótesis para el planteamiento de

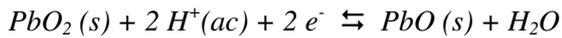
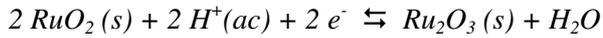
ecuaciones capaces no solo de describir la respuesta del potencial del sensor de capa gruesa de RuO₂, descrito previamente en el Capítulo II de esta tesis, sino también de determinar la magnitud de los procesos de interferencia de aniones comunes que experimentaron las determinaciones de pH mediante este dispositivo.

Resumiendo las causas de tales procesos de interferencia: el electrodo se preparó usando una pasta resistiva comercial de RuO₂, que además del óxido de rutenio como especie activa, contenía otros óxidos y mezclas de estos, especialmente mezclas de óxidos de plomo, causantes de una parcial afinidad sobre los aniones que resultaron interferir en las señal del sensor.

Para abordar este estudio, analizaremos la contribución de cada especie o par redox (óxidos de rutenio- óxidos de plomo) por separado. Primeramente determinaremos que especies de óxidos de plomo podrían estar involucradas, y para ello, calculamos las variaciones de energía libre de Gibbs para los posibles pares frente al par RuO₂/Ru₂O₃. Tales resultados demuestran que el par PbO₂/PbO es estable, y por lo tanto compatible con el par RuO₂/Ru₂O₃.



Por lo tanto, asumiremos que en nuestro sistema activo tienen lugar las siguientes reacciones redox:



Entonces, la respuesta del sensor thick-film será planteada como la suma de la contribución de cada componente de la mezcla:

$$\Delta G_{mezcla} = \sum_{i=1}^m \chi_i \Delta G_i \quad (32)$$

donde m es el número de componentes de la mezcla y χ_i es la fracción molar del componente i . Como $\Delta G_i = -nFE_i$, y aplicando la expresión de Nerst para el proceso electroquímico total, se puede describir el potencial de la mezcla como:

$$E = \sum_{i=1}^n \chi_i E_i = \chi_{Ru} \left(E_{RuO_2}^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{a_{Ru_2O_3}}{a_{RuO_2}^2 \cdot (H^+)^2} \right) + \chi_{Pb} \left(E_{PbO_2}^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{a_{PbO}}{a_{PbO_2} \cdot (H^+)^2} \right) \quad (33)$$

Analizaremos primeramente la contribución del par del rutenio. La ecuación de Nerst para este sistema sería:

$$E = E_{RuO_2 / Ru_2O_3} - \frac{59.16}{2} \log \frac{a_{Ru_2O_3} \cdot a_{H_2O}}{a_{RuO_2}^2 (H^+)^2} \quad (34)$$

Trabajando en condiciones de corriente 0, y sabiendo de antemano que la actividad de los óxidos de rutenio no se modifica por la presencia de interferentes (resultados obtenidos en la caracterización del electrodo de barra de rutenio), entonces el potencial del par RuO_2/Ru_2O_3 dependerá únicamente del pH:

$$E = E_{RuO_2 / Ru_2O_3}^0 - \frac{59.16}{2} \log \frac{1}{(H^+)^2} = E_{RuO_2 / Ru_2O_3}^0 - 59.16 pH \quad (35)$$

Para la contribución del sistema PbO_2/PbO , el análisis resultará un tanto complicado si se tienen en cuenta los procesos que pueden tener lugar en la superficie, incluyendo la formación de especies insolubles entre el plomo y los aniones interferentes, según Shock y Gardels [15] (Ver **Figura 75**).

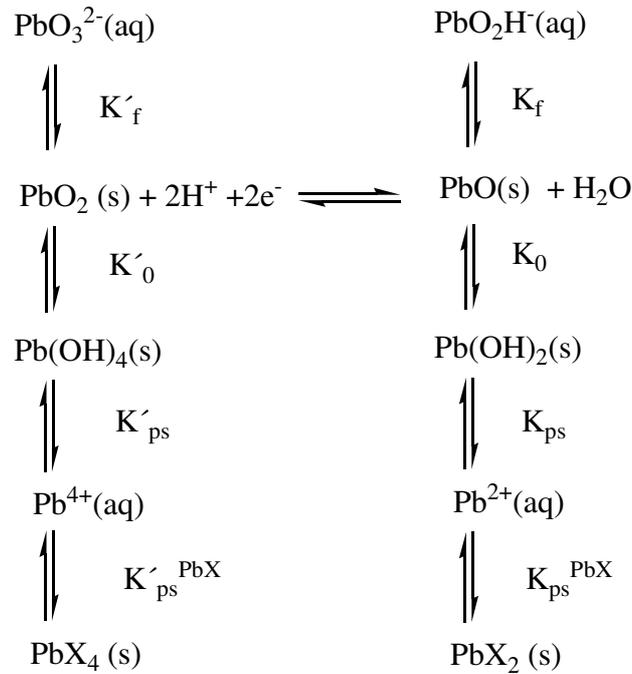
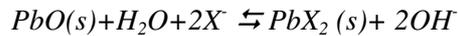


Figura 75. Especies involucradas en reacciones directas con los óxidos de plomo II y IV en medio acuoso.

Teniendo en cuenta que el desarrollo de los modelos ha sido previamente detallado para casos anteriores, nos limitaremos a presentar directamente las expresiones para las actividades de los óxidos de plomo, obviando los balances de carga y masa así como las expresiones para determinar C_0 . Una posible reacción metatáctica entre el PbO y un anión X sería:



para el cual, el coeficiente de selectividad quedaría establecido por K_I . De su expresión, se puede despejar la actividad de la especie formada entre el ion plomo y el anión:

$$a_{\text{PbX}_2} = K_I \frac{a_{\text{PbO}} (X^-)^2}{(\text{OH}^-)^2} \quad (36)$$

Un simple ciclo termodinámico permitirá relacionar las constantes del producto de solubilidad de PbO y PbX₂ con el coeficiente de selectividad:

$$K_I = \frac{K_{ps}}{K_{ps}^{PbX_2}} \quad (37)$$

Según los balances de carga y masa (omitidos), las relaciones establecidas entre las constantes del producto de solubilidad de las especies sólidas formadas y el coeficiente de selectividad del proceso de interferencia, se puede plantear la expresión de la actividad del total del PbO de la siguiente manera:

$$a_{PbO} = \frac{1}{1 + \frac{K_{ps}}{C_0(OH^-)^2} + \frac{K_{ps}(X^-)^2}{K_{ps}^{PbX_2}(OH^-)^2}} \quad (38)$$

Siguiendo un razonamiento similar, se puede llegar a expresar la actividad de PbO₂.

$$a_{PbO_2} = \frac{1}{1 + \frac{K'_{ps}}{C'_0(OH^-)^4} + \frac{K'_{ps}(X^-)^4}{K_{ps}^{PbX_4}(OH^-)^4}} \quad (39)$$

Introduciendo entonces en la ecuación 33 la ecuación obtenida de la contribución del par RuO₂/Ru₂O₃ (Ecuación 35) y las expresiones de las actividades de las especies PbO y PbO₂ que determinan la contribución del par PbO₂/PbO (Ecuaciones 38 y 39), se establecería entonces la expresión general para describir la respuesta del sensor thick-film de óxido de rutenio en función del pH y en presencia de especies interferentes.

$$E = E^0 - 59.16pH - \chi_{Pb} \frac{59.16}{2} \log \frac{1 + \frac{K'_{ps}}{C'_0(OH^-)^4} + \frac{K'_{ps}(X^-)^4}{K_{ps}^{PbX_4}(OH^-)^4}}{1 + \frac{K_{ps}}{C_0(OH^-)^2} + \frac{K_{ps}(X^-)^2}{K_{ps}^{PbX_2}(OH^-)^2}} \quad (40)$$

Sustituyendo la concentración de OH⁻ por H⁺, la nueva expresión mostrará claramente que el potencial del dispositivo de capa gruesa dependerá no sólo del pH sino también de la concentración de la especie interferente X⁻.

$$E = E^0 - 59.16pH - \chi_{pb} \frac{59.16}{2} \log \frac{1 + \frac{K'_{sp}}{C_0 K_w^4} (H^+)^4 + \frac{K'_{ps} (X^-)^4}{K_{ps}^{PbX_4} K_w^4} (H^+)^4}{1 + \frac{K_{ps}}{C_0 K_w^2} (H^+)^2 + \frac{K_{ps} (X^-)^2}{K_{ps}^{PbX_2} K_w^2} (H^+)^2} \quad (41)$$

Aquí, la concentración inicial C_0 tiene en cuenta la cantidad de PbO existente en la composición de la pasta utilizada en la preparación del sensor. Los valores de las constantes K_{ps} y $K_{ps}^{PbX_2}$ que representan el producto de solubilidad de los hidróxidos y sales insolubles de Pb (II); así como $K_{ps}^{PbX_4}$ (producto de solubilidad de la sal insoluble de Pb (IV)), han sido extraídos de la bibliografía [15]. Los parámetros K'_{ps} y C_0 representan la constantes del producto de solubilidad de los hidróxidos de Pb (IV) y su concentración inicial. Teniendo en cuenta que estos compuestos son inestables y dichas constantes no están reportadas, ambos valores se han calculado utilizando la herramienta *Solver* de Microsoft Excel con el objetivo de optimizar la ecuación 41.

En la verificación experimental del modelo, los datos de potencial (símbolo) medidos en función del pH y la concentración de interferentes muestra una gran similitud a los calculados teóricamente (línea) mediante las ecuaciones 40 o 41. Las **Figuras 76 y 77** representan el comportamiento del potencial del dispositivo *thick-film* cuando este se encuentra en contacto con disoluciones que contienen especies interferentes. Los datos experimentales fueron obtenidos aplicando los dos métodos de evaluación de interferentes descritos en secciones anteriores: interferente fijo (**Figura 76**) e ion primario fijo (**Figura 77**). El ajuste que se logra con el uso de las ecuaciones desarrolladas demuestra que la respuesta del sensor de

capa gruesa hacia ciertos aniones se debe a la formación de especies sólidas del tipo PbX_2 y PbX_4 .

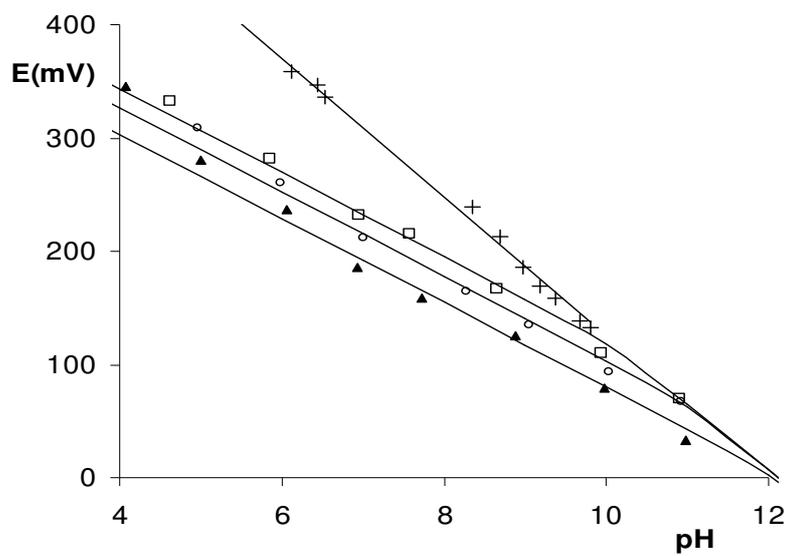


Figura 76. Respuesta de potencial del sensor de capa gruesa de RuO₂ en función del pH y en contacto con disoluciones de especies interferentes (Método del interferente fijo: Cl⁻ (□); Br⁻ (○); SO₄²⁻ (▲) y NO₃⁻ (+).

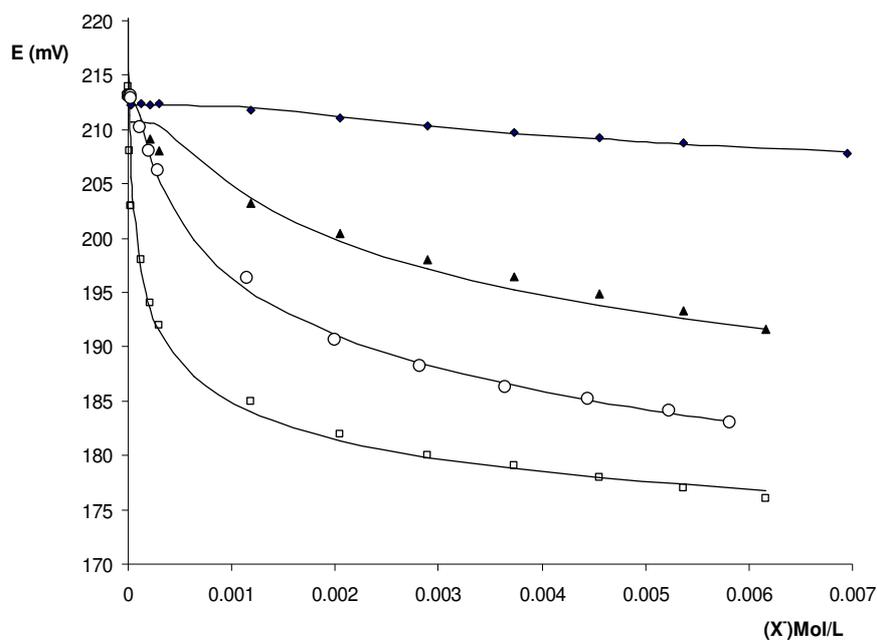


Figura 77. Respuesta de potencial del sensor de capa gruesa de RuO₂ en función de la concentración de X⁻ a pH 9 (Método del ion primario fijo) (Cl⁻ (♦); Br⁻ (▲); SO₄²⁻ (○); I⁻ (□))

III.5 Comparación de modelos teóricos

La idoneidad de los modelos y ecuaciones establecidas para describir la respuesta potenciométrica de los electrodos sólidos simples en presencia de interferentes nos impulsó a escribir un artículo incluso antes de adecuar el modelo al dispositivo de capa gruesa. En el proceso de revisión del documento, uno de los revisores se mostró dubitativo, explicando que en los electrodos del tipo M/MX/MO, la capa que recubre el metal se puede considerar como una membrana que permite el transporte de carga, y que por lo tanto, la ecuación de Nikolski-Eisenman sería suficiente para explicar tanto el comportamiento de potencial como los procesos de interferencia.

La opción que escogimos fue realizar, a modo de comparación, cálculos teóricos del potencial de un electrodo simple de Ag/AgCl utilizando tres modelos distintos: nuestro modelo, la ecuación de Nikolski-Eisenman y un modelo establecido por los autores Hulanicki y Lewenstam [16]. Este último constituye, según nuestro punto de vista, uno de los modelos teóricos más adecuados para el estudio de coeficientes de selectividad en electrodos en estado sólido.

El resultado de esta comparación se visualiza en las **Figuras 78 y 79**. Se obtienen resultados coincidentes entre los valores teóricos (línea) calculados con los tres modelos y los datos experimentales (símbolos), pero esto se cumple únicamente para pHs básicos, pero a pHs neutros o ácidos, las curvas teóricas de los modelos de Hulanicki-Lewenstam y de la NE se alejan de los datos experimentales y solo nuestro modelo los ajusta de forma satisfactoria.

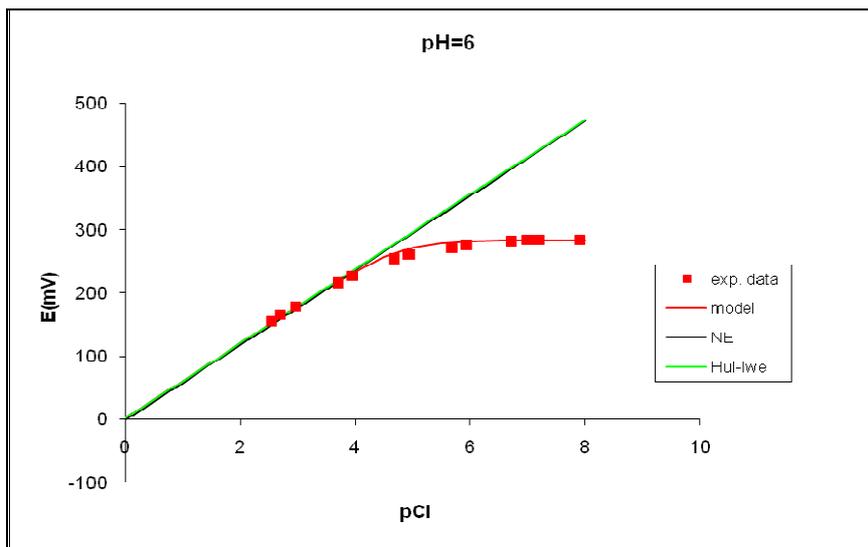


Figura 78. Respuesta de potencial de un electrodo Ag/AgCl en función de la concentración de Cl⁻ a pH 6.

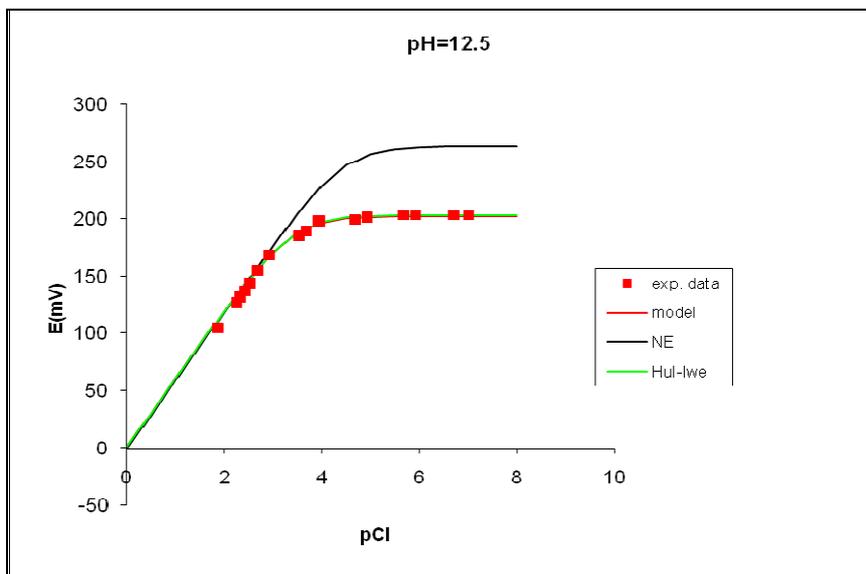


Figura 79. Respuesta de potencial de un electrodo Ag/AgCl en función de la concentración de Cl⁻ a pH 12.5.

III.6 Conclusiones del Capítulo

A raíz del auge que viene tomando el diseño y desarrollo de sensores de estado sólido en nuestros días, el desarrollo de modelos teóricos que describan la respuesta potenciométrica y que además evalúen los procesos de interferencia de forma adecuada constituye un resultado importante, fundamentalmente porque el tema de las interferencias en sistemas en estado sólido no ha sido tratado a profundidad desde un punto de vista teórico. En este Capítulo se han identificado algunos de los problemas generados por el uso incorrecto de modelos teóricos establecidos previamente, y se han propuesto además modelos basados en procesos propios de transformaciones superficiales en electrodos de estado sólido.

Las conclusiones de este Capítulo se presentan a continuación:

- Se proponen y desarrollan modelos basados en los cambios de actividad de las especies sólidas en la superficie de electrodos simples en estado sólido, y que son capaces de describir de forma adecuada el comportamiento del potencial de

electrodo y de los procesos de interferencia. Las ecuaciones presentadas permiten estudiar la respuesta potenciométrica de electrodos tipo Ag/Ag^+ , Ag/AgBr , con o sin presencia de especies interferentes. Además, se establecen expresiones generales para distintos tipos de sistemas ion primario/interferente.

- Siguiendo la misma hipótesis de las variaciones de actividad de las especies sólidas, se desarrolla un modelo teórico para describir el potencial del sensor de capa gruesa de RuO_2 y estudiar los procesos de interferencia de los aniones debido a la presencia de óxidos de plomo en la composición de la pasta de óxido de rutenio utilizada. El modelo se plantea como la suma de las contribuciones de cada uno de los pares redox activos a la respuesta potenciométrica total del sensor.

Todos los modelos y ecuaciones establecidas se verificaron mediante comparación de los resultados de cálculos teóricos de potencial usando las ecuaciones y análisis experimentales. Los resultados fueron coincidentes en todos los sistemas estudiados.

III.7 Bibliografía consultada

- [1] C. Degueldre, F. Rocchiccioli, A. Laube. Accelerated measurement of groundwater redox potentials: method and application. *Analytical Chimica Acta*, 396 (1999), 23-31.
- [2] R.D. Lindberg, D. D. Runnells. Ground Water Redox Reactions: An Analysis of Equilibrium State Applied to Eh Measurements and Geochemical Modeling. *Science*, 225 (1984), 925-927.
- [3] K. Kinoshita, M. J. Madou. Electrochemical Measurements on Pt, Ir, and Ti Oxides as pH Probes. *Journal of Electrochemical Society*, 131 (1984), 1089-1094.
- [4] A. Eftekhari. pH sensor based on deposited film of lead oxide on aluminum substrate electrode. *Sensors and Actuators B*, 88 (2003), 234-238.

- [5] C. Tsai, J. Chou, T. Sun, S. Hsiung. Study on the sensing characteristics and hysteresis effect of the tin oxide pH electrode. *Sensors and Actuators B*, 108 (2005), 877-882.
- [6] M. Wang, S. Yao, M. Madou. A long-term stable iridium oxide pH electrode. *Sensors and Actuators B*, 81 (2002), 313-315.
- [7] D. E. Watson, M. Yee. Behaviour of Ag/AgCl electrodes in solutions containing both Cl⁻ and I⁻. *Electrochimica Acta*, 14 (1969), 1143-1153.
- [8] A. W. J. Cranny, J. K. Atkinson. Thick film silver-silver chloride reference electrodes. *Measurement, Science and Technology*, 9 (1998), 1557-1565.
- [9] R. Gardels, M. Sato, M. Thompson, A. Trusdell. Glass Electrodes Sensitive to Divalent Cations: Ion exchange models for new electrode glasses simplify analyses for calcium and other ions. *Sciences*, 135 (1962), 1045-1048.
- [10] J. Harrels, A. Jones, G. R. Choppin. Liquid ion-exchange membrane electrodes for polyvalent cations. *Analytical Chemistry*, 41 (1969), 1459-1467.
- [11] A. Craggs, L. Keil, G. Moody, J. D. Thomas. An evaluation of solvent mediators for ion-selective electrode membranes based on calcium bis(dialkylphosphate) sensors trapped in poly(vinyl chloride) matrices. *Talanta*, 22 (1975), 907-910.
- [12] J. Bagg, R. Vinen, J. Nicholson. Bionic potentials of a liquid-membrane electrode selective toward calcium. *Journal of Physic Chemistry*, 75 (1971), 2138-2143.
- [13] R. Cattrall, D. Drew, I. Hamilton. Some alkylphosphoric acid esters for use in coated-wire calcium-selective electrodes. Part I. Response characteristics. *Analytical Chimica Acta*, 77 (1975), 9-15.
- [14] Y. Umezawa, K. Umezawa, H. Sato. Selectivity coefficients for ion-selective electrodes: recommended methods for reporting K^{pot} values. *Pure & Applied Chemistry*, 67 (1995), 507-518.
- [15] M. Schock, M. Gardels. Plumbosolvency reduction by high pH and low carbonates-solubility relationships. *Ed. Jawwa*, 1983, 75-87.

- [16] A. Hulanicki, A. Lewenstam. Model for treatment of selectivity coefficients for solid-state ion-selective electrodes. *Analytical Chemistry*, 53 (1981), 1401-1405.

CONCLUSIONES GENERALES

- **Se ha diseñado y caracterizado una Lengua Electrónica basada en medidas potenciométricas para el análisis cualitativo y cuantitativo de disoluciones salinas y aguas minerales. Compuesta por electrodos metálicos, la lengua electrónica diseñada mostró un patrón de reconocimiento debido a la selectividad parcial de los electrodos sobre aniones inorgánicos comunes. El sistema ha sido capaz de diferenciar disoluciones salinas y aguas minerales debido a diferencias en la composición aniónica. Se encontró también un patrón de reconocimiento basado en diferencias entre los niveles de dichas especies aniónicas, lo que permitió realizar análisis cuantitativos de cloruros, sulfatos y bicarbonatos.**
- **Se ha caracterizado una Lengua Electrónica compuesta por cuatro electrodos metálicos y basada en medidas de voltametría de pulsos para la determinación de los niveles de bisulfitos en muestras de vino. Se realizó un diseño experimental que permitió el análisis simultáneo de otras especies presentes en vinos como ácido ascórbico e histamina. La mayor afinidad de los electrodos hacia el bisulfito permitió realizar determinaciones cuantitativas de los niveles de este compuesto con altos grados de exactitud y precisión, mientras que para el resto de compuestos analizados, las capacidades predictivas se consideraron moderadas. Se analizó además la conveniencia de realizar un pulido de la superficie antes del contacto con cada muestra, mejorando las capacidades predictivas del dispositivo diseñado.**

- **Se ha diseñado y caracterizado una Lengua Electrónica “híbrida” basada en medidas de voltimetría de pulsos e impedancia, para la determinación de los niveles salinos en muestras de carne picada. Se analizó la viabilidad de análisis del contenido salino en una muestra de naturaleza semisólida, obteniéndose resultados satisfactorios en los análisis de cloruro de sodio, y moderados en el caso del nitrato y nitrito de sodio.**
- **Se ha diseñado y caracterizado un sensor de pH de óxido de rutenio mediante tecnología de capa gruesa, el cual mostró una respuesta muy cercana al comportamiento nernstiano, así como una gran resistencia mecánica, bajos tiempos de respuesta y altos niveles de repetibilidad. El dispositivo diseñado mostró además una cierta afinidad hacia aniones comunes, debido a la presencia de plomo en la composición de la pasta utilizada en su preparación, lo cual afectaba la respuesta hacia el pH. La posibilidad del uso de pastas resistivas comerciales en la preparación de este tipo de sensores ha sido verificada.**
- **Se han desarrollado y verificado modelos teóricos útiles para el estudio de los procesos de interferencia en electrodos en estado sólido. Los modelos han sido planteados basados en los cambios de actividad que sufren las especies sólidas cuando en la superficie de un electrodo ocurren procesos que conlleven dicha variación. Los modelos propuestos han sido verificados de forma satisfactoria en el seguimiento del comportamiento del potencial de electrodos simples tipo M/MX/MO, o sistemas más complejos como el sensor de capa gruesa de RuO₂ diseñado en el Capítulo II.**