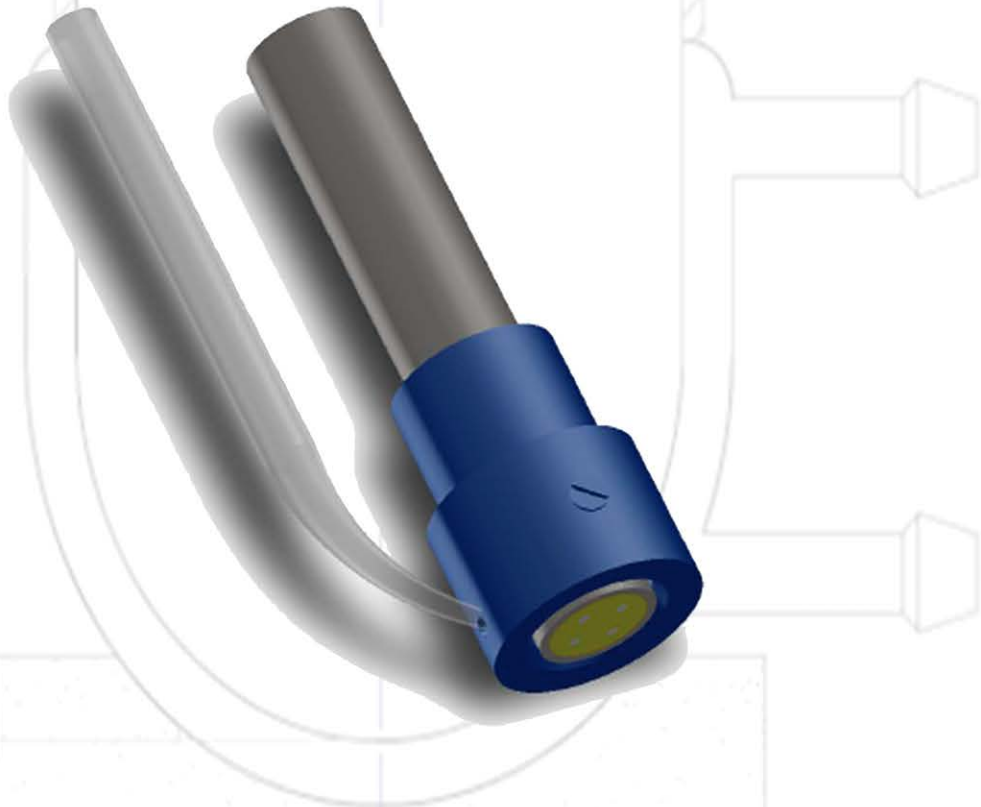




UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELECTRÓNICA



Fabricación y puesta a punto de una nariz electrónica
húmeda para la detección de gases y vapores

TESIS DOCTORAL

Doctorando: Román Bataller Prats

Directores: Juan Soto Camino
Miguel Alcañiz Fillol
Eduardo García Breijo

Valencia, 2017

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELECTRÓNICA



**Fabricación y puesta a punto de una nariz electrónica
húmeda para la detección de gases y vapores**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Román Bataller Prats

Dirigida por:

Dr. Juan Soto Camino

Dr. Miguel Alcañiz Fillol

Dr. Eduardo García Breijo

Valencia, Julio 2017



Dr. Juan Soto Camino, Catedrático de Escuela Universitaria de la Universidad Politécnica de Valencia y Doctor en Química.

Dr. Miguel Alcañiz Fillol, Titular de Universidad de la Universidad Politécnica de Valencia y Doctor en Ingeniería Electrónica.

Dr. Eduardo García Breijo, Titular de Universidad de la Universidad Politécnica de Valencia y Doctor en Ingeniería Electrónica.

CERTIFICAN:

Que el trabajo que presenta don Román Bataller Prats en esta memoria, bajo el título *“Fabricación y puesta a punto de una nariz electrónica húmeda para la detección de gases y vapores”* ha sido realizado bajo nuestra dirección en el Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM) de la Universitat Politècnica de València, Universitat de València. para que así conste, a efectos de su presentación para optar al Grado de Doctor con Mención Internacional, expedimos la presente que firmamos en:

Valencia, a 8 de septiembre de 2017.

Dr. Juan Soto Camino

Dr. Miguel Alcañiz Fillol

Dr. Eduardo García Breijo

A Bárbara

*"La ciencia se construye a partir de aproximaciones
que gradualmente se acercan a la verdad."*

Isaac Asimov

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores de tesis su dedicación y paciencia durante estos años de investigación. Juan, para ti nunca es un mal momento atender y resolver nuestras dudas, tu pasión por la investigación es contagiosa y logras inspirar a todos los que trabajamos a tu alrededor. Miguel, igualmente siempre has sacado tiempo de donde sea para abordar mi cuestiones y tropiezos, atender al modo en que conduces tus explicaciones es algo único y es un placer trabajar a tu lado. Eduardo, gracias por permitirme utilizar tus contactos en mi estancia en Palermo y contar conmigo para los nuevos proyectos.

Gracias a todos los miembros del IDM, antiguos y nuevos, los que están y estuvimos en el departamento de química, los de la CPI, los de la escuela de diseño y a los que estamos en el Laboratorio de Electroquímica de la ETSIE, sobre todo a José Manuel y José Enrique, aunque quizá pasamos demasiadas horas juntos siempre hay buen ambiente y eso no ocurre en todos lados, creo que es lo que nos hace el buen equipo que formamos. A Inma, casi mi mentora en los mundos de la química, me llevo una amiga para toda la vida, gracias Inmi.

Gracias al Istituto di Biofisica U.O.S. del Consiglio Nazionale delle Ricerche di Palermo, en especial a la doctora Valeria Guarrasi, por invitarme a trabajar con ellos durante los tres meses que pasé allí en mi estancia de investigación. Grazie anche a Fabio, Rossana, Ciccio, Agne, Tommy e Franco, mi fa tantissimo piacere formare parte di la vostra famiglia.

Y gracias a quienes no forman parte de mi día a día como investigador, pero que dan sentido a todo lo demás, los amigos: Colegos, grupo Aloha, compañeros de espeleo y todos los demás.

Lo más importante siempre se reserva para el final, la familia. Gracias María, Hugo y Bruno por permitirnos disfrutar de vuestra compañía tan a menudo. A mis abuelos, tíos y primas, por permitirme presumir de una familia tan extensa y unida. A mis padres, que siempre han tenido más fe en mí que yo mismo. A mis hermanos, por compartir toda una vida de alegría y su apoyo incondicional y los nuevos miembros de la familia que están en camino.

Por último, a mi compañera de viaje, Bárbara, que me sufre y acompaña. Gracias por tu paciencia y cuidar de mí del modo que lo haces, son muchos años los que compartimos y si estos han sido maravillosos, los mejores están por venir.

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del programa para la Formación de Personal Investigador (FPI) de la Universitat Politècnica de València 2012 (Subprograma 1).

Resumen

La presente tesis doctoral lleva como título “Fabricación y puesta a punto de una Nariz Electrónica Húmeda para la detección de gases y vapores”. Se fundamenta en el desarrollo de un sistema sensor de gases y vapores, basado en la técnica de voltametría, para medidas sobre electrodos metálicos de muestras complejas en ambiente de humedad. Este tipo de sistema sensor se clasifica como una nariz electrónica, que puede definirse como un instrumento que integra un conjunto de sensores químicos no específicos y un sistema de análisis estadístico para el reconocimiento de patrones. La no especificidad de los sensores posibilita la medida de muestras cuyos elementos puedan presentar interferencias entre sí. El diseño de esta nariz electrónica húmeda nace con el objetivo de resolver la problemática de interferencia que los sensores basados en óxidos metálicos (extensamente utilizados en narices electrónicas) presentan a la presencia del agua.

La tesis comienza con un capítulo introductorio a los sistemas de nariz electrónica, donde se describen los tipos de sistemas sensores, los tipos de nariz electrónica y las técnicas quimiométricas y de medida usadas en el desarrollo de la tesis. A continuación, se describen los objetivos generales y específicos planteados.

El diseño del equipo de medida se ha realizado teniendo en cuenta las conclusiones de las publicaciones en revistas de investigación que forman parte de esta tesis doctoral, las cuales se presentan en los tres capítulos siguientes.

El primer artículo está fundamentado en la prueba de concepto del prototipo de nariz electrónica húmeda, en el que se presenta un diseño basado en ensayos voltamétricos. Para ello se utiliza un conjunto de cuatro electrodos de trabajo metálicos (iridio, rodio, platino y oro) encapsulados dentro de un cilindro de acero inoxidable, que actúa como contraelectrodo, y un electrodo de referencia con puente salino, todos ellos en contacto gracias a una membrana de nylon empapada en una solución acuosa de cloruro de sodio. Este sistema se usa para discriminar siete muestras distintas utilizando las técnicas de análisis de componentes principales (PCA) y un tipo de red neuronal, llamada mapa auto-

organizado (SOM). Los resultados obtenidos son satisfactorios, por ello han motivado el planteamiento del estudio realizado en el siguiente capítulo.

El segundo artículo plantea un estudio más completo para una aplicación muy específica del sistema de nariz electrónica húmeda: la detección de simulantes de agentes nerviosos. En este estudio el conjunto de electrodos de trabajo está formado por ocho electrodos de trabajo metálicos (iridio, rodio, platino, oro, plata, cobalto, cobre y níquel, la membrana de nylon está empapada esta vez en tetraborato de sodio. Para mejorar los resultados de este estudio se diseñan dos trenes de pulsos específicos mediante el análisis de los voltogramas (para la caracterización electroquímica de las muestras.) de los ocho electrodos sobre una muestra de dietil cianofosfato (DCNP). Las medidas se realizan sobre tres simulantes de agentes nerviosos y ocho derivados organofosforados, además de ácido sulfúrico, amonio, etanol, acetonitrilo y hexano. El PCA demuestra que el sistema propuesto es capaz de discriminar los principales simulantes de agentes nerviosos de los otros derivados organofosforados y otros interferentes potenciales. También se ha realizado una regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) que permite la cuantificación de DCNP hasta unos pocos ppm.

El tercer artículo es un estudio en profundidad de los problemas de reproducibilidad que habitualmente se dan en las medidas voltamétricas con el uso de lenguas electrónicas (y la nariz electrónica objeto de esta tesis). El objetivo es mejorar la reproducibilidad de las medidas con estos sistemas a través de un diseño de la celda electroquímica que asegure una distribución homogénea del campo eléctrico, y para mejorar su límite de detección.

Por último, en el capítulo número 4 se ha diseñado un sistema electrónico de medida que integra las técnicas de voltametría y potenciometría. Los elementos que integran este sistema son una aplicación de PC y un equipo electrónico de medida con el que se pueden realizar ensayos con las técnicas de medida mencionadas sobre hasta ocho electrodos de trabajo. La aplicación de PC está diseñada para la ejecución de secuencias de ensayos de potenciometría y voltametría, y para el almacenamiento y representación de las señales muestreadas mediante una interfaz gráfica de usuario simple. Las medidas de voltametría están basadas en el circuito de medida potencióstato, que permite implementar ensayos a 2 y 3 electrodos.

Para finalizar, se exponen las conclusiones a los objetivos generales y específicos planteados al inicio de la tesis.

Resum

La present tesi doctoral es titula “Fabricación y puesta a punto de una Nariz Electrónica Húmeda para la detección de gases y vapores”. Està fonamentada en el desenvolupament d'un sistema sensor de gasos i vapors, basat en la tècnica de voltametria per a mesures sobre elèctrodes metàl·lics de mostres complexes en ambient d'humitat. Este tipus de sistema sensor es classifica com a nas electrònic, que pot definir-se com un instrument que integra un conjunt de sensors químics no específics i un sistema d'anàlisi estadístic per al reconeixement de patrons. La no especificitat dels sensors possibilita la mesura de mostres, els elements de les quals puguen presentar interferències entre elles. El disseny de este nas electrònic naix amb l'objectiu de resoldre la problemàtica de interferència que els sensors basats en òxids metàl·lics (extensament utilitzats en nassos electrònics) presenten a la presència d'aigua.

La tesi comença amb un capítol introductor i als sistemes de nas electrònic, on es descriuen els tipus de sistemes sensors, els tipus de nas electrònic i les tècniques quimiomètriques i de mesura utilitzades en el desenvolupament de esta tesi. A continuació, es descriuen els objectius generals y específics plantejats.

El disseny de l'equip de mesura s'ha inspirat en les conclusions tretes de les publicacions en revistes d'investigació presentades en els tres capítols següents.

El primer article està fonamentat en la prova de concepte del prototip de nas electrònic humit, en el que es presenta un disseny basat en assajos voltamètrics. Per a açò s'utilitza un conjunt de quatre elèctrodes de treball metàl·lics (Iridi, Rodi, Platí i Or) encapsulats en un cilindre d'acer inoxidable, que actua com a contraelectrode, i un elèctrode de referència amb pont salí, tots ells en contacte gràcies a una membrana de niló amerada amb una solució de clorur de sodi. Este sistema s'usa per a discriminar 7 mostres distintes utilitzant les tècniques d'anàlisi de components principals (PCA) i un tipus de xarxa neuronal, anomenada mapa auto-organitzat (SOM). Els resultats obtinguts son satisfactoris, fet que ha motivat el plantejament de l'estudi realitzat en el següent capítol.

El segon article planteja un estudi més complet per a una aplicació molt específica del sistema de nas electrònic humit: la detecció de simulants d'agents nerviosos. En este estudi el conjunt d'elèctrodes està format per huit elèctrodes de treball metàl·lics (Iridi, Rodi, Platí, Or, Plata, Cobalt, Coure i Níquel), la membrana de niló està amerada esta vegada amb tetraborat de sodi. Per tal de millorar els resultats d'este estudi es dissenyen dos trens de polsos específics mitjançant l'anàlisi del voltagrames (per a la caracterització electroquímica de les mostres) dels huit elèctrodes sobre una mostra de dietil cianofosfat (DCNP). Les mesures es realitzen sobre tres simultans d'agents nerviosos i huit derivats organofosforats, a més d'àcid sulfúric, amoni, etanol, acetonitril i hexà. El PCA demostra que el sistema proposat es capaç de discriminar els principals simulants d'agents nerviosos dels altres derivats organofosforats i altres interferents potencials. També s'ha realitzat una regressió per mínims quadrats parcials (PLS) que permet la quantificació de DCNP fins a unes poques ppm.

El tercer article és un estudi en profunditat dels problemes de reproductibilitat que habitualment es donen en les mesures voltamètriques amb l'ús de llengües electròniques (y el nas electrònic objecte d'esta tesi). L'objectiu es millorar la reproductibilitat de les mesures amb estos sistemes mitjançant un disseny de la cel·la electroquímica que asseure una distribució homogènia del camp elèctric, i per a millorar el seu límit de detecció.

Per últim, en el capítol número 4 s'ha utilitzat un sistema electrònic de mesura que integra les tècniques de voltametria i potenciometria. Els elements que integren este sistema son una aplicació de PC i un equip electrònic de mesura amb el que es poden realitzar assajos amb les tècniques de mesura mencionades sobre fins a huit elèctrodes de treball. La aplicació de PC està dissenyada per a l'execució de seqüències d'assajos de potenciometria i voltametria, i per a l'emmagatzematge de les senyals mesurades mitjançant un entorn d'usuari simple. Les mesures de voltametria estan basades en el circuit de mesura potencioestato, que permet implementar assajos a 2 i 3 elèctrodes.

Per concloure, s'exposen les conclusions als objectius generals i específics plantejats al inici de la tesi.

Abstract

The present PhD thesis is entitled “Fabricación y puesta a punto de una Nariz Electrónica Húmeda para la detección de gases y vapores”. It is focused on the development of a gas and vapor sensor system, based on voltammetry, to measure complex samples in a humid environment with metallic electrodes. This type of sensor system is classified as an electronic nose, which may be defined as an instrument that integrates an array of non-specific chemical sensors and a statistical analysis system for pattern recognition. The non-specificity of the sensors enables us to measure samples whose elements may cause interferences when present together. The design of this humid electronic nose arose with the aim to solve the interference problems that sensors based on metal oxides (which are extensively used in electronic noses) exhibit in the presence of water.

I begin this PhD thesis with an introductory chapter about electronic nose systems, where I describe the sensor system types, electronic nose types and the chemometric and measurement techniques employed in the development of the thesis. Next, I define the general and specific objectives of the thesis.

In the following chapters I discuss the different aspects of the measuring device and the journal articles that served as motivation for its design.

The first article is based on the proof of concept of the humid electronic nose prototype, whose design relies on the performance of voltammetric measurements. An array of four metallic working electrodes (iridium, rhodium, platinum and gold), housed inside a stainless steel cylinder that acts as counter electrode, and a reference electrode were all put in contact by a nylon mesh dampened with a sodium chloride aqueous solution. This system is used to differentiate between seven different samples by means of two statistical techniques: principal component analysis (PCA) and a type of neural network called self-organizing map (SOM). The results obtained were satisfactory, thus motivating how I approached the study performed in the following chapter.

The second article contemplates a more complete study for a very specific application of the humid electronic nose system: the detection of nerve agent mimics. In this study, eight

Abstract

metals formed the array of working electrodes (iridium, rhodium, platinum, gold, silver, cobalt, copper and nickel) and the nylon mesh was dampened with sodium tetraborate. In order to enhance the results of the study, we designed two specific pulse patterns by analyzing the voltammograms (for the electrochemical characterization of the samples) of the eight electrodes on a diethyl cyanophosphate (DCNP) sample. We measured three nerve agent mimics and eight organophosphorous derivatives, in addition to sulphuric acid, ammonia, ethanol, acetonitrile and hexane. The PCA demonstrated that the proposed system was capable of distinguishing nerve agent mimics from the other organophosphorous derivatives. We also performed a partial least squares regression (PLS), which allowed DCNP to be quantified with a limit of detection of a few ppm.

The third article is an in depth study about the reproducibility problems that usually arise in voltammetric measurements with the use of electronic tongues (and the electronic nose designed in this PhD thesis). The objective was to improve the reproducibility of the measurements performed with these systems by designing an electrochemical cell that warranted a homogenous distribution of the electric field and improved its limit of detection.

Finally, an electronic measuring system was designed and is presented in chapter 4; it integrates voltammetry and potentiometry techniques. This system is composed of a PC application and an electronic measuring system, which can be used to test both measuring techniques on up to eight working electrodes. The PC application was designed to execute sequences of voltammetry and potentiometry tests, and to store and display the measured signals by means of a simple graphical user interface. The voltammetry measurements are based on the potentiostat measuring circuit, which allows 2 and 3 electrode measurements to be taken.

To finish, I explain the conclusions drawn from both the general and specific objectives considered at the beginning of this thesis.

Producción científica:

Artículos de revistas:

Bataller Prats, R.; Campos Sánchez, I.; Alcañiz Fillol, M.; Gil Sánchez, L.; Martínez Mañez, R.; Soto Camino, J.; Vivancos, J.L. (2012). *A Novel Humid Electronic Nose Based on Voltammetry*. *Procedia Engineering* (47)941 - 944.

Bataller Prats, R.; Campos Sánchez, I.; Laguarda Miró, N.; Alcañiz Fillol, M.; Soto Camino, J.; Martínez Mañez, R.; Gil Sánchez, L.; García Breijo, E.; Ibáñez Civera, F.J. (2012). *Glyphosate Detection by Means of a Voltammetric Electronic Tongue and Discrimination of Potential Interferents*. *Sensors* (12)17553 - 17568.

Escobar-García, J.D.; Masot Peris, R.; Alcañiz Fillol, M.; Fuentes López, A.; Bataller Prats, R.; Soto Camino, J.; Barat Baviera, J.M. (2013). *Quantification of organic acids using voltammetric tongues*. *Food Chemistry* (138)814 - 820.

García Breijo, E.; Masot Peris, R.; Olguín Pinatti, C.A.; Alcañiz Fillol, M.; Ibáñez Civera, F.J.; Bataller Prats, R. (2013). *Low-Cost Electronic Tongue System and Its Application to Explosive Detection*. *Ieee Transactions On Instrumentation And Measurement*, 2 (62), 424 - 431.

Campos Sánchez, I.; Bataller Prats, R.; Gandía Romero, J.M.; Soto Camino, J.; Martínez Mañez, R.; Gil Sánchez, L. (2013). *Monitoring grape ripeness using a voltammetric electronic tongue*. *Food Research International*, 2 (54), 1369 - 1375.

Bataller Prats, R.; Alcañiz Fillol, M.; Campos Sánchez, I.; Gil Sánchez, L.; García Breijo, E.; Martínez Mañez, R.; Pascual Vidal, L.; Soto Camino, J.; Vivancos, J.L. (2013). *A humid electronic nose based on pulse voltammetry: A proof-of-concept design*. *Sensors And Actuators B: Chemical* (186)666 - 673.

Campos Sánchez, I.; Sangrador, A.; Bataller Prats, R.; Aguado García, D.; Barat, R.; Soto Camino, J.; Martínez Mañez, R. (2014). *Ammonium and Phosphate Quantification in Wastewater by Using a Voltammetric Electronic Tongue*. *Electroanalysis*, 3 (26), 588 - 595.

Gandía Romero, J.M.; Monzón-Bello, P.; Bataller Prats, R.; Campos Sánchez, I.; Lloris Cormano, J.M.; Soto Camino, J. (2014). *Principal component analysis applied to study of carbon steel electrochemical corrosion*. *Corrosion Engineering Science And Technology*, 4 (5), 320 - 329.

Pascual Vidal, L.; Campos Sánchez, I.; Bataller Prats, R.; Olguín Pinatti, C.A.; Martínez Mañez, R.; García Breijo, E.; Soto Camino, J. (2014). A "humid electronic nose" for the detection of nerve agent mimics; a case of selective sensing of DCNP (a Tabun mimic). *Sensors And Actuators B: Chemical* (192)134 - 142.

Bataller Prats, R.; Gandía Romero, J.M.; García Breijo, E.; Alcañiz Fillol, M.; Soto Camino, J. (2015). A study of the importance of the cell geometry in non-Faradaic systems. A new definition of the cell constant for conductivity measurement. *Electrochimica Acta* (153)263-272.

Ramón Zamora, J.E.; Gandía-Romero, J.M.; Valcuende Payá, M.O.; Bataller Prats, R. (2016). Integrated sensor network for monitoring steel corrosion in concrete structures. *VITRUVIO: International Journal of Architectural Technology and Sustainability*, 1 (1), 65 - 79.

Gandía Romero, J.M.; Bataller Prats, R.; Monzón-Bello, P.; Campos Sánchez, I.; García Breijo, E.; Valcuende Payá, M.O.; Soto Camino, J. (2016). Characterization of embeddable potentiometric thick-film sensors for monitoring chloride penetration in concrete. *Sensors And Actuators B: Chemical* (222)407 - 418.

Gandía-Romero, J.M.; Ramón Zamora, J.E.; Bataller Prats, R.; Palací-López, D.G.; Valcuende Payá, M.O.; Soto Camino, J. (2017). Influence of the area and distance between electrodes on resistivity measurements of concrete. *Materials And Structures*, 71 (5), 1 - 12.

Capítulo de libro:

Soto Camino, J.; Bataller Prats, R. (2016). Organic gas sensors and electronic noses. *Organic Sensors: Materials and Applications* (219 - 255). IET Digital Library.

Patentes:

Soto Camino, J.; Vivancos, J.L.; Cros Herrero, J.; Martínez Mañez, R.; García Del Puerto, V.; Romare Dal Dosso, Dario; Bataller Prats, R.; Campos Sánchez, I.; Alcañiz Fillol, M. *Equipo y procedimiento con detección amperométrica para aplicaciones de control de calidad de aguas aplicable a la medida de detergentes*. ADASA SISTEMAS, S.A.U., ES2412960. 21 Dic 2012.

Alcañiz Fillol, M.; Bataller Prats, R.; Gandía Romero, J.M.; Ramón Zamora, J.E.; Soto Camino, J.; Valcuende Payá, M.O. *Sensor, red de sensores, método y programa informático para determinar la corrosión en una estructura de hormigón armado*. UNIVERSIDAD POLITECNICA DE VALENCIA, ES2545669. 06 May 2015.

Índice

Introducción	1
1 Concepto de nariz electrónica	4
2 Analogía entre el sistema olfativo biológico y las narices electrónicas	6
3 Tipologías de sistemas sensores múltiples	8
3.1 Sensores híbridos	8
3.2 Sensores redundantes	9
3.3 Sistemas sensores múltiples	10
4 Tipos de Narices Electrónicas	11
4.1 Óxidos metálicos	12
4.2 Polímeros conductores y semiconductores	15
4.3 Piezoeléctricos	18
4.4 Ópticos	19
4.5 Otros tipos	20
5 Quimiometría	21
5.1 Pre-procesado de los datos	23
5.2 Análisis de componentes principales (PCA)	25
5.3 Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS)	28
5.4 Redes Neuronales Artificiales (ANN). Tipo SOM	32
6 Técnicas experimentales	35
6.1 Voltametría	36
6.2 Potenciometría	40
6.3 Conductimetría	42
6.4 Espectroscopía de impedancias	43
7 Referencias bibliográficas	44
Objetivos	55
1 Objetivo general	55
2 Objetivos específicos	55
1. A humid electronic nose based on pulse voltammetry; a proof-of-concept design 57	
1.1 Introduction	60
1.2 Materials and Methods	62
1.2.1 Samples	62
1.2.2 Equipment	62
1.2.3 Measurement procedure	63
1.2.4 Data analysis	65
1.3 Results and discussion	67
1.3.1 PCA	69
1.3.2 Classification with Self-Organized Maps	72
1.4 Conclusions	74
1.5 References	75

2. A humid electronic nose for the detection of nerve agent mimics; a case of selective sensing of DCNP (a Tabun mimic) 79

2.1	Introduction	81
2.2	Materials and methods	83
2.2.1	Sample preparation	83
2.2.2	Measurement principle and procedure	86
2.2.3	Cyclic voltammetry	88
2.2.4	Equipment.....	88
2.2.5	Data management	89
2.3	Results and discussion.....	89
2.3.1	Adsorption studies	89
2.3.2	Cyclic voltammetry studies	90
2.3.3	PCA Classification	93
2.3.4	PLS Quantification.....	95
2.4	Conclusions	97
2.5	References.....	98

3. A study of the importance of the cell geometry in non-Faradaic systems. A new definition of the cell constant for conductivity measurement 105

3.1	Introduction	107
3.1.1	The use of equivalent circuits for the interpretation of solutions' behavior	110
3.1.2	Conductivity cell-constant	111
3.2	Experimental	114
3.2.1	Samples preparation	114
3.2.2	Electrodes	114
3.2.3	Electrochemical Cell.....	115
3.2.4	Internal cross section determination of the electrochemical cell	116
3.2.5	Electronic equipment.....	116
3.3	Results and discussion.....	117
3.3.1	Electrochemical results analysis. Determination of the Ohmic resistance of electrolytic solutions by means of several measuring techniques	118
3.3.2	Ohmic resistance of the ionic solutions over the distance between the electrodes.....	122
3.3.3	Cell constant	125
3.4	Conclusions	132
3.5	References.....	133

4. Diseño del sistema electrónico para la medida de voltametría a partir del potencial a circuito abierto (OCP) 137

4.1	Especificaciones del diseño	139
4.2	Diagrama de bloques del sistema de medida	142
4.3	Descripción del hardware del equipo	145
4.3.1	Bloque de procesamiento digital	145
4.3.2	Circuitos de selección de la técnica	159
4.3.3	Circuitos de adaptación de señal.....	163
4.3.4	Potenciostato.....	168
4.3.5	Circuito de medida potenciométrica (OCP).....	177
4.3.6	Circuito de medida de temperatura.....	178
4.3.7	Alimentación del equipo y gestión del ruido.....	179
4.4	Descripción del software del equipo.....	185

4.4.1	Descripción general del código del microcontrolador	185
4.4.2	Protocolo de comunicación	189
4.4.3	Configuración de las medidas	194
4.5	Aplicación Matlab para PC	197
4.5.1	Módulo de configuración	198
4.5.2	Módulo de generación y carga de ensayos.....	205
4.5.3	Módulo principal.....	210
4.6	Aspecto final.....	220
4.7	Validación experimental del sistema de medida	222
4.8	Conclusiones	226
4.9	Referencias bibliográficas	227
Conclusiones.....		229
1	Conclusiones a los objetivos específicos	231
2	Conclusiones al objetivo general	232
Conclusions		233
1	Conclusions to the specific objectives.....	235
2	Conclusions to the general objective	236

| Introducción

Introducción

De los cinco sentidos que posee el ser humano, probablemente el del olfato sea el menos valorado. Sin embargo, para muchos seres vivos la vista juega un papel secundario en su sistema de percepción, mientras que el oído, el tacto o el olfato son para ellos de gran importancia a la hora de percibir el ambiente que les rodea. Para muchas especies, el olfato es fundamental para garantizar su supervivencia, en tareas como la búsqueda de alimento, el reconocimiento de las crías, el marcado territorial, la identificación de alimentos tóxicos o en mal estado, etc. [1].

Algunos animales poseen un sistema olfativo especialmente sensible. Esto los hace ideales para la detección de ciertos compuestos volátiles tras ser entrenados. Por ejemplo, la sensibilidad de los perros va de 10.000 a 100.000 veces superior a la que poseemos los humanos [2,3]. Así varias razas de perros son reconocidas por ser grandes buscadores de hongos muy apreciados en la cocina, como las trufas, productos químicos peligrosos como drogas [4] y explosivos [5], el rastreo de humanos perdidos o heridos e incluso se ha publicado algún estudio en el que los perros son capaces de reconocer determinadas patologías en base al olor característico de la orina de personas sanas y enfermas[6].

En relación a la especie humana se ha extendido en las últimas décadas el uso de paneles de catadores especializados para evaluar la calidad de determinados alimentos, así como bebidas o perfumes. Estos paneles se necesitan ya de manera extensiva en la industria alimentaria y del perfume. Surgen dos problemas principales con el uso de estos paneles de catadores: el obstáculo principal es el largo proceso de entrenamiento que supone la formación y educación olfativa; el segundo problema es el de la fatiga olfativa, por la que cualquier catador profesional satura sus receptores, lo que ocurre tras periodos relativamente cortos de exposición, necesitando frecuentes periodos de recuperación para restablecer sus capacidades perceptivas. Estos factores hacen de los paneles de catadores una solución inviable para controlar los procesos de producción en continuo que se utilizan en las industrias de producción en masa.

Además, el sentido del olfato humano es una cualidad muy subjetiva, que depende más factores que los mencionados en el párrafo anterior, como son: el estado de salud del individuo, el nivel de fatiga física, la predisposición genética -que está fuertemente condicionada por la edad-, el

tipo y la cantidad de alimentos consumidos, así como la exposición a olores reciente, ser fumador o no serlo, la educación olfativa previa, etc. Por esta gran variedad de factores, cuando un producto en concreto se evalúa por el método de los paneles de catadores, son varios los profesionales que emiten sus valoraciones sensitivas y se recogen valores promedios de las puntuaciones emitidas por este conjunto de expertos. Estos procesos ralentizan los ritmos de producción y aumentan el precio final de los productos, haciendo que el uso de estos paneles de catadores sea más un inconveniente que una ventaja para los procesos de producción en masa.

1 Concepto de nariz electrónica

La solución tecnológica a los problemas derivados de los paneles de catadores es el uso de una Nariz Electrónica. Este concepto fue introducido por G. Dodd y K. Persaud en 1982 cuando publicaron su artículo "Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose" en la revista Nature [7]. Varios años más tarde, J. W. Gardner y P. N. Bartlett definieron la nariz electrónica: "An electronic nose is an instrument, which comprises an array of electronic chemical sensors with partial specificity and an appropriate pattern-recognition system, capable of recognizing simple or complex odours" [8].

De acuerdo con esta definición, una nariz electrónica debidamente diseñada, construida y entrenada debe ser un dispositivo versátil capaz de trabajar en línea de modo continuado sin presentar fenómenos de fatiga, proporcionando información objetiva de las propiedades físicas y químicas del objeto de estudio. Su idoneidad dependerá también de otros factores como el precio del instrumento, las tareas y costes de mantenimiento, la rapidez de las medidas y del tiempo en procesarlas, la repetitividad, precisión y exactitud, etc.

Aquella primera definición hecha por Gardner y Bartlett en 1994 fue evolucionando ligeramente a medida que nuevas metodologías de recogida de datos y análisis de la información se iban introduciendo a estos sistemas de medida [9]. En cualquier caso, estas definiciones dejaron de

ser validas de algún modo cuando técnicas más complejas, como la espectroscopia de masas o la cromatografía de gases, se introdujeron como elementos de sensado de las narices electrónicas.

La definición de Gardner y Bartlett propone que una nariz electrónica consta de dos elementos básicos. El primero se trata de un conjunto de sensores, que deben presentar una especificidad baja a un gas en concreto y cuyas respuestas deben ser distintas entre ellas (fenómeno comúnmente conocido como sensibilidad cruzada); el segundo elemento básico es un sistema de reconocimiento de patrones, que se obtiene mediante el uso de herramientas de análisis estadístico que permiten identificar las semejanzas y diferencias entre las muestras de manera objetiva (referido comúnmente en la bibliografía como Quimiometría). La combinación de este tipo de sensores y el análisis sistemático de los datos es un método que permite mejorar sustancialmente el rendimiento de estos sistemas de medida [10].

Algunos de estos métodos estadísticos se utilizan para identificar y clasificar muestras, por ejemplo, el análisis de componentes principales (PCA, por su acrónimo en inglés). Otras de estas herramientas estadísticas se utilizan para cuantificar y predecir el valor de parámetros específicos en sistemas complejos, como por ejemplo la regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS regresión, es el término comúnmente utilizado) [11].

Éstas técnicas de análisis pueden presentar limitaciones cuando las relaciones entre la señal adquirida a través del sensor y la concentración de la muestra (o algún otro parámetro, como podría ser la presión parcial de alguno de sus componentes) responden a relaciones no lineales. En escenarios como éste, el método PLS no funciona adecuadamente y se hace necesario buscar alternativas. Las redes neuronales artificiales (ANN), son técnicas de modelización estadística que resuelven estos problemas satisfactoriamente.

2 Analogía entre el sistema olfativo biológico y las narices electrónicas

El concepto nariz electrónica se desarrolló a partir de los sistemas olfativos biológicos, ya los primeros en describir su uso (Dodd y Persaud) plantearon una copia técnica del sentido del olfato de los mamíferos. De manera muy similar a como ocurrió con las lenguas electrónicas, en el que se resuelven las analogías de los tres grandes bloques que forman parte del sentido del gusto (papilas gustativas, bulbo gustativo y neuronas), en el caso de las narices los tres bloques serían: receptores olfativos, bulbo olfativo y neuronas.

Así los conceptos generales de las lenguas electrónicas y las narices electrónicas utilizadas para el análisis de líquidos y gases, respectivamente, son semejantes. Implican la aplicación de conjuntos de sensores no específicos o de baja selectividad para generar señales que sean analíticamente útiles en el uso de técnicas quimiométricas. El motivo por el que se utilizan sensores de baja selectividad tiene que ver con su analogía con la organización biológica del sistema olfativo y del gusto que poseen los mamíferos. En las regiones de la nariz y la lengua, se encuentran millones de receptores no específicos y que responden a las diferentes sustancias presentes en las fases gaseosa y líquida. Sin embargo, solo se han identificado unos 100 tipos diferentes de receptores olfativos, mientras que respecto a papilas gustativas son también sólo varias docenas las identificadas en las lenguas de los mamíferos. Las señales de los olores y los sabores de los receptores se transmiten al cerebro, donde son procesadas por las neuronas. Como resultado, se crea una percepción del objeto sentido [12].

Como ya hemos dicho, en muchas de estas analogías las células receptoras se equiparan a los sensores de gases y el proceso neuronal a un software que se ejecuta en un ordenador. De esta comparación podrían esperarse capacidades sensitivas análogas a la de una nariz original, ya que sería el olor el objetivo de dicha medida. Así, el método desarrollado puede enfocarse a la

obtención de información sobre el olor que vaya recogido en las señales obtenidas por las narices electrónicas [13].

Todavía se desconocen muchos de los detalles del sentido del olfato. Desde un enfoque general, el sentido del olfato recoge información de elementos volátiles presentes en el aire, es únicamente una pequeña parte de esos elementos volátiles los que aportan información de interés para los receptores olfativos. El sentido del olfato es un sentido que se ha ido adaptando evolutivamente a la recepción de esos elementos volátiles y sus niveles de concentración. Éste conjunto de volátiles a los que se ha adaptado el olfato de los mamíferos son los llamados olores, que son los que conscientemente reconocemos.

Claramente, hay una notable diferencia entre la medida de elementos volátiles y la percepción de los olores por parte del sentido del olfato. Las medidas se basan en interacciones fisicoquímicas relacionadas con las propiedades de estos elementos volátiles. La percepción del olor, sin embargo, es el resultado de un complejo proceso de reconocimiento de información relevante para la supervivencia o bienestar de quien lo percibe. Mezclar ambos conceptos es un error común y cabe prestar atención a sus significativas diferencias. El olor es parte de la percepción humana (también de muchas otras especies del reino animal) mientras que el campo de los sensores abarca todos los ámbitos de la ciencia. El error más común con el uso de narices electrónicas es el de esperar obtener información acerca del olor de las muestras, ya que el olor únicamente forma parte de la percepción humana, y en el mejor de los casos se podrá obtener información sobre algunos de esos elementos volátiles, que generen esos olores, junto con las señales generadas por los elementos inodoros.

Así hay que aclarar que el objeto de una nariz electrónica no es el de medir el olor de las muestras, sino el del conjunto de todas las contribuciones que los elementos volátiles (olorosos o inodoros) aportan a la señal que genera el elemento o elementos sensores, para su posterior procesado estadístico. Numerosas publicaciones se preocupan por estos aspectos de planteamiento erróneo de la metodología, que a día de hoy sigue generando alguna controversia [14,15].

Las narices electrónicas están basadas en el uso de conjuntos de sensores que pueden clasificarse en sistemas híbridos y sistemas redundantes.

3 Tipologías de sistemas sensores múltiples

3.1 Sensores híbridos

Tal como se ha comentado en el punto anterior el concepto nariz electrónica se desarrolló a partir de los sistemas olfativos biológicos, como referencia se tomó el sistema sensor de los mamíferos. Éste está formado por un conjunto de órganos llamados órganos de los sentidos (ojos, oídos, lengua, nariz y piel, entre otros), que contienen un cúmulo de células nerviosas (las sensoriales) que recogen información de los alrededores a través de unos mecanismos específicos para cada sentido: radiación visible en el caso de la vista, vibraciones acústicas en caso del oído, composición química no volátil en el caso del gusto, composición volátil olorosa en el caso del olfato y dureza, radiación térmica, rugosidad, etc. en el caso del tacto. El sistema sensorial obtiene esta información y la envía a través del sistema nervioso hasta el cerebro en forma de multitud de impulsos eléctricos. El análisis de la información de orígenes tan distintos tiene lugar en la red neuronal y depende de una serie de patrones adquiridos por el individuo durante su desarrollo. Este análisis proporciona una información considerablemente precisa sobre las características de su entorno y le permite tomar decisiones apropiadas para cada situación en concreto.

Un sistema sensor puede considerarse híbrido cuando los datos que recoge la unidad central de procesado (ya sea un cerebro o un ordenador) provienen de fuentes o estructuras receptoras distintas ya sea por medio de uno o varios sistemas de transducción (ojos, oídos, nariz, etc.), para ser capaz de interactuar con el entorno a través de diferentes canales (radiación visible, radiación infrarroja, radiación ultravioleta, vibración, interacción química con agentes volátiles, etc.). En la naturaleza se puede clasificar a las especies basándose en sus habilidades sensoriales y, aunque existes infinidad de versiones, el sistema híbrido es el más extendido entre los seres vivos. La recogida de datos de fuentes diversas proporciona al individuo una visión más completa

de las condiciones físicas y químicas de su entorno o de un objeto en concreto, como su forma, masa, olor, temperatura y composición química.

En general, un sistema híbrido adecuado debe particularizarse para cada aplicación, así será de utilidad cuando comprenda los sensores necesarios para proporcionar la información necesaria para caracterizar el sistema de estudio. El empleo de sistemas con sensores híbridos habitualmente proporciona un ahorro considerable de recursos a la hora de implementar sistemas sensores avanzados [16,17].

3.2 Sensores redundantes

Se dice que un sensor es redundante cuando en el mismo sistema o conjunto de sensores existe otro sensor que realiza la misma tarea por medio de la misma técnica de medida. En la naturaleza los sensores redundantes y sistemas de sensores redundantes son muy comunes. Algunos ejemplos [18]:

En la retina del ojo humano existe una gran cantidad de sensores de color y brillo (aproximadamente seis millones células de tipo cono y ciento veinte millones de células de tipo bastón [19]). Éste gran número de elementos sensores permiten crear una imagen precisa del entorno, con una distribución de colores y brillos apropiada. Como consecuencia de ello, el ojo humano es capaz de realizar su función durante muchos años incluso cuando algunas de las células y elementos integrantes de la lente se hayan dañado por envejecimiento a lo largo de su vida. Por eso, la retina del ojo es un sistema redundante porque está formada por millones de células sensitivas. Además, la duplicidad de los ojos (redundancia del órgano receptor), permite una percepción tridimensional de la composición del espacio, que se basa en el análisis de imágenes no superpuestas de cada ojo, lo que contribuye a la percepción de distancias entre objetos [20]. Esta visión estereoscópica es el resultado evolutivo por el que la visión cuenta con esta duplicidad del órgano sensor, que ha resultado tremendamente útil para la supervivencia de multitud de especies, además de la humana.

En las serpientes, el órgano vomeronasal, que se sitúa muy cerca de la parte frontal de la boca, y la nariz conforman su sentido del olfato. Su lengua bífida les permite recoger las partículas volátiles y llevarlas sus órganos de Jakobson para obtener información acerca de las diferencias de concentraciones locales de estos compuestos para así percibir donde se encuentra la fuente de ese olor. Además, la intensidad de ese olor les permite estimar a qué distancia se encuentra.

La combinación de ambas funcionalidades les permite formar una imagen tridimensional de su entorno.

La ecolocalización por ultrasonidos es un mecanismo de localización en tres dimensiones que poseen algunos animales [21]. Es muy eficiente y se basa en el análisis de los ecos de los ultrasonidos emitidos por el animal (quirópteros) durante su vuelo, lo que les permite evitar obstáculos, localizar presas e incluso reconocer a otros individuos de su propia especie en entornos completamente oscuros. Además, este sistema de procesamiento de ecos no se ve afectado de manera significativa por los ultrasonidos y ecos emitidos por otros individuos.

Cabe destacar que los sistemas de sensores redundantes además de proporcionar señales de las medidas más fiables y de identificar y descartar datos anómalos en el caso de un defecto de alguno de los elementos integrantes del sistema, gracias al procesado de los datos (que realiza un cerebro o un ordenador), también permite obtener información adicional acerca de las características del sistema observado. Todo esto no puede ocurrir con el uso de un sensor individual.

3.3 Sistemas sensores múltiples

Imitando las ideas extraídas de la naturaleza, se han escrito numerosos trabajos en los que un mismo conjunto de sensores combina diferentes técnicas de medida (sistemas híbridos) o introduce duplicidad o multiplicidad de sensores equivalentes (sistemas redundantes), persiguiendo el objetivo de aumentar la resolución de la medida y mejorar su capacidad de discriminación.

La hibridación de técnicas ha sido ampliamente aplicada en el campo de las lenguas y las narices electrónicas. Combinaciones de sensores potenciométricos, sensores voltamétricos y sensores conductimétricos se han propuesto como lenguas electrónicas híbridas para obtener información de las muestras por medio de varias técnicas de medida. Por citar dos ejemplos: Winqvist utilizó un sistema híbrido para monitorizar procesos de fermentación en leche [16]; Gutiérrez y sus colaboradores combinaron las técnicas de potenciometría, voltametría y absorbancia óptica para cuantificar la composición de las uvas de distintos vinos [17]. Por lo general, y en concreto en estos dos ejemplos, en los que se obtiene una señal híbrida para analizar la información del sistema estudiado, la capacidad de discriminación y la de predicción mejoran considerablemente.

También son sistemas sensores híbridos los dispositivos de medida que permiten realizar medidas de algunas de las propiedades de la muestra en fases físicas diferentes, como gas-liquido. Por lo que sistemas como el propuesto por Di Natale y sus colaboradores, que integran una nariz electrónica y una lengua electrónica, también son sistemas sensores híbridos [22].

También se han propuesto sistemas compuestos por tres técnicas distintas para evaluar la acidez de aceites de oliva: nariz electrónica, lengua electrónica y ojo electrónico [23]. Éste último realiza un barrido de longitudes de onda para obtener el espectro de transmitancia de las muestras. Este sistema híbrido se utilizó para cuantificar el contenido en polifenoles, la acidez y la amargura de veinticinco aceites de oliva españoles.

4 Tipos de Narices Electrónicas

Como ya hemos dicho, una nariz electrónica es un dispositivo cuya función es detectar y discriminar muestras gaseosas complejas. El conjunto de los sensores que la integran deben ser poco específicos y pueden estar orientados o modificados con una amplia variedad de materiales sensibles a las sustancias objetivo, de origen biológico o químico. Desde hace unos años, los sensores clásicos han ido mejorándose y complementándose con otras tecnologías afines a este campo [24]. Por lo general, una nariz electrónica está formada por tres elementos principales: el sistema de muestreo, el sistema de detección y el sistema de análisis de datos. En primer lugar, el sistema de muestreo siempre conlleva el uso de algún tipo de cámara de muestreo. En segundo lugar, el sistema de detección normalmente consiste en un conjunto de sensores de naturalezas muy diversas. Aunque también hay otras técnicas como cromatografía de gases y espectroscopía de masas, estas técnicas analíticas se alejan del propósito de esta tesis doctoral. Por último, el análisis de los datos se lleva a cabo mediante técnicas quimiométricas, que serán cubiertas en el siguiente punto de esta introducción.

En el sistema de detección se encuentran los elementos sensores que pueden estar desarrollados en base a los siguientes materiales:

4.1 Óxidos metálicos

El primer tipo de sensores y que además supone una de las tipologías más utilizadas en el campo de las narices electrónicas son los basados en óxidos metálicos [25,26]. Por lo general, estos sensores están formados por una capa semiconductora de un óxido metálico (como SnO₂, TiO₂, ZnO, ZrO₂, etc.), la cual cubre un substrato cerámico (como puede ser la alúmina) y que habitualmente incorpora un sistema de calefacción para favorecer la desorción de gases o vapores. Estos elementos calentadores son esenciales para el proceso de desorción de la muestra y su posterior regeneración de la actividad de la superficie sensora de semiconductor u óxido metálico. El uso de este tipo de sensores está motivado por su gran capacidad de adsorber vapores y sustancias volátiles, que por norma general se manifiesta a través de grandes variaciones de su conductividad eléctrica. Esto ocurre cuando el material adsorbe partículas volátiles de gases o vapores con polaridades grandes. También depende en menor medida de sus propiedades semiconductoras [27,28].

Los dispositivos del tipo Gas-FET están formados por un transistor de efecto de campo (por su acrónimo en inglés, FET) cuya puerta está metalizada con paladio o platino y que se expone al gas o mezcla de gases que se pretende analizar. Por ejemplo, hidrógeno contenido en la mezcla gaseosa se disocia cuando alcanza la superficie del metal, difundándose a través de la capa. Una vez alcanza la fase semiconductora se oxida y da lugar a protones en la interfase metal/puerta. Este proceso cambia su potencial, lo que afecta al comportamiento semiconductor del elemento sensor. El rango de temperaturas al que puede trabajar este tipo de dispositivos va desde los 200°C a los 300°C cuando el sustrato es silicio. Esta temperatura de trabajo se puede duplicar y llegar hasta los 600°C si se usan sustratos hechos de carburo de silicio. Este tipo de sensores se ha utilizado desde hace muchos años en la fabricación de sondas lambda, actualmente empleadas para el control de la mezcla de gases emitidos por los automóviles[29,30].

Los problemas fundamentales en el uso de esos sensores en aplicaciones de nariz electrónica son los siguientes:

- El tiempo que necesitan los gases y vapores absorbidos por la superficie activa de los elementos sensores es muy largo.
- Para alcanzar un equilibrio dinámico que permita realizar medidas reproducibles en cada uno de los elementos sensores de una nariz electrónica se necesitan también periodos de exposición largos.

- La regeneración de los sensores requiere de un proceso también muy largo. Habitualmente se necesitan etapas de desorción del adsorbato a temperaturas moderadas o altas para producir una oxidación por pirolisis. Este paso, además, requiere un elevado consumo de energía que dificulta su implementación en sistemas portátiles alimentados con baterías.
- Los sistemas sensores de este tipo de narices electrónicas son muy susceptibles a derivas en la lectura de los sensores, provocado por el envejecimiento de los mismos. Este inconveniente requiere de procesos de recalibrado periódico del sistema, por medio de una colección de patrones de absorción.
- Estos sensores son muy susceptibles a interferencias por la presencia de algunas sustancias integrantes de las muestras que se quieren analizar, algunas tan comunes como el vapor de agua (presente, por ejemplo, en cualquier alimento fresco) o el alcohol etílico (en bebidas fermentadas).

Se puede establecer un protocolo de trabajo para mitigar los problemas asociados al uso de este tipo de sensores y regenerar la capacidad sensora de manera sistemática. El objetivo es desorber los restos de moléculas de adsorbato que quedan retenidas en la matriz del sensor por calentamiento o eliminarlas por oxidación (pirolisis). Este proceso depende del tipo de sensores que integran la nariz electrónica y de la composición de las muestras, pero en líneas generales consta de cinco fases claramente diferenciadas, ver figura 1.

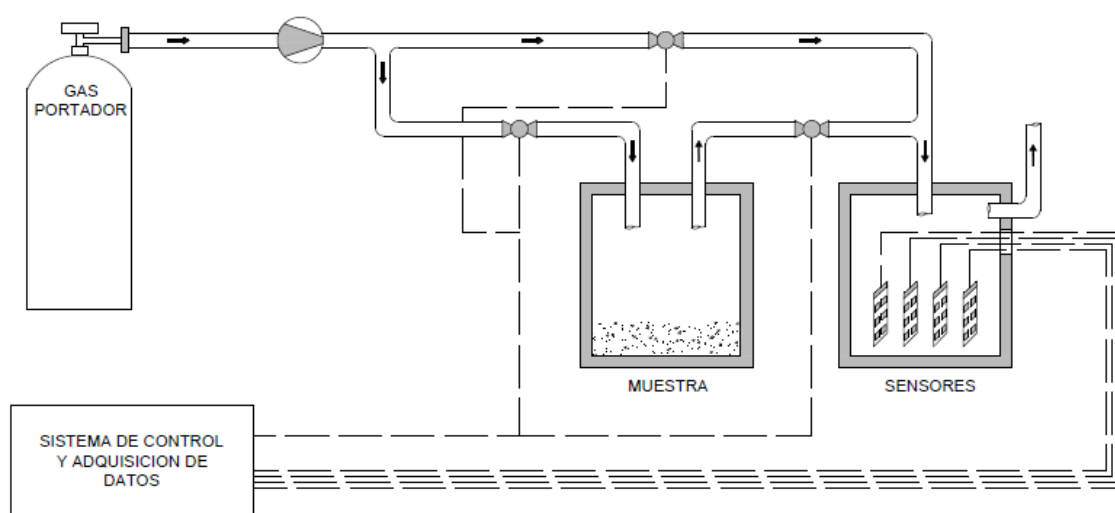


Figura 1. Diagrama general de una nariz electrónica [18].

Introducción

En primer lugar, se hace pasar la muestra a través de un sistema de filtrado, con el objetivo de eliminar cualquier tipo de partícula, por ejemplo, polvo, y dependiendo de la aplicación algún gas o vapor en concreto que pueda interferir con la medida, generalmente vapor de agua.

A continuación, se introduce este gas filtrado en la cámara de adsorción de la nariz electrónica y se recircula el tiempo necesario hasta que los sensores alcanzan un estado de equilibrio.

En el momento en el que se alcanza ese equilibrio, se toman las medidas de los cambios fisicoquímicos manifestados por los elementos sensores de la nariz electrónica.

Una vez tomadas las medidas correspondientes se procede a purgar la cámara de medida y se procede a regenerar los sensores por calentamiento o pirolisis.

Por último, se prepara el sistema para recibir la siguiente muestra. Este paso consiste en reestablecer la temperatura de trabajo de los sensores a su temperatura normal de trabajo.

A pesar los esfuerzos, los resultados que proporcionan las narices electrónicas basadas en óxidos metálicos y/o semiconductores inorgánicos están lejos de cumplir con los requerimientos que establecen la mayoría de aplicaciones para las que estos sistemas sensores podrían ser de mucha utilidad. Los inconvenientes principales relacionados con el proceso de medida de estos sensores son los largos tiempos requeridos para tomar una medida y los altos consumos eléctricos que suponen su regeneración.

Otro gran inconveniente de este tipo de sensores es que la evolución de sus medidas por envejecimiento y dopado de la superficie sensora es un fenómeno que a día de hoy no ha podido resolverse a pesar de los esfuerzos por regenerarlos. Entre otras razones, este proceso se atribuye a cambios estructurales de los óxidos metálicos, a modificaciones en la composición química de los óxidos debido a contaminaciones por agentes dopantes provenientes del adsorbato y a cambios en el estado de oxidación el óxido metálico. Los elementos calefactores y los contactos metálicos de los sensores pueden también sufrir, debido a las altas temperaturas de trabajo y los procesos de regeneración de los sensores. Así, a medida que se incrementan sus horas de uso, la oxidación de los contactos también aumenta y con ella la resistencia eléctrica del sistema. Con todo esto, los tiempos de regeneración aumentan, con lo que aumenta de nuevo el consumo eléctrico y hasta que deja de ser una situación operativa.

A pesar de estos inconvenientes, existen aplicaciones específicas muy efectivas (como las sondas para monitorizar concentraciones de gas en motores de combustión) y multitud de narices electrónicas comerciales [31], basadas en conjuntos de sensores de semiconductores de óxidos

metálicos (MOS, por sus siglas en inglés) y transistores de efecto de campo metal-óxido-semiconductor (MOSFET, por sus siglas en inglés). Aunque algunas ofrecen un comportamiento y fiabilidad aceptables, sigue siendo necesario desarrollar e investigar tecnologías nuevas que permitan caracterizar gases, vapores e incluso olores de un modo rápido, barato y automatizable en la medida de lo posible, para así lograr un uso generalizado de las narices electrónicas tanto en los ámbitos de la investigación como en los procesos industriales.

4.2 Polímeros conductores y semiconductores

Las primeras descripciones de los semiconductores orgánicos datan de los años setenta, pero su importancia fue destacada por Tsumura y Koezuka a mediados de los ochenta [32,33], cuando lograron formar una capa semiconductor activa a través de la electrolisis del politiofeno.

Como resultado del descubrimiento de los polímeros conductores se han dedicado multitud de esfuerzos para estudiar cómo modificar sus estructuras químicas y sus propiedades eléctricas. En concreto, una de sus aplicaciones que presenta especial interés en el ámbito de las narices electrónicas es la que persigue como objetivo potenciar sus características para uso como sensores y mejorar con respecto a los ya mencionados sensores de semiconductores de óxidos metálicos [34,35].

Las bases de funcionamiento de los semiconductores poliméricos siguen siendo objeto de investigación para la ciencia de materiales actualmente. Identificar las conexiones que existen entre la estructura molecular y cristalina del polímero con su capacidad de coordinación y reactividad electroquímica, son esenciales para responder como se favorece o se inhibe el transporte de carga dependiendo de las circunstancias del entorno químico.

En 1976, Heeger et al., descubrieron los polímeros conductores y como doparlos para que se comportaran como los conductores metálicos [36]. Demostraron que las características conductoras de este tipo de compuestos se basan en la alternancia de enlaces de carbono simples y dobles, que se repiten periódicamente a lo largo de su estructura polimérica (conjugación de enlaces). Éste fenómeno, permite establecer estados electrónicos altamente deslocalizados.

Los polímeros conductores son materiales muy adecuados para su uso en la fabricación de dispositivos para detectar compuestos volátiles [37] y se ha demostrado que algunas de sus

Introducción

características con muy convenientes para la fabricación de sensores de gas y narices electrónicas.

Por lo general sus cinéticas de adsorción-desorción son rápidas a temperatura ambiente y no necesitan de elementos calefactores para inducir la desorción de sustancias como ocurre con los sensores basados en óxidos metálicos, que además de simplificar el sistema y reducir el tiempo de regeneración del elemento sensor, supone un importante ahorro energético.

Los polímeros pueden modificarse estructuralmente y orientar su diseño para el reconocimiento específico de las sustancias que necesitan detectarse. Lo que permite también evitar las interferencias con algún compuesto volátil o vapor concreto presente en el sistema que se esté monitorizando.

La detección de sustancias volátiles por medio de polímeros semiconductores se lleva a cabo empleando varias técnicas de medida que monitorizan los cambios de sus propiedades eléctricas, o alguna otra magnitud física, que ocurren en estos polímeros cuando el proceso de reconocimiento del analito acontece en la superficie sensora.

Por ejemplo, algunos sistemas pueden utilizar diferentes técnicas fisicoquímicas para obtener la señal analítica, de este modo se monitoriza la actividad de los analitos por los cambios de impedancia [38], de resistencia eléctrica [39] o de la capacidad interfacial [40] del sensor o sensores que integran el sistema de medida. Otros sistemas abordan la detección midiendo los cambios en las propiedades semiconductoras del polímero sensor [41]. También hay sistemas que emplean los sensores a modo de celda electroquímica, así se correlaciona el potencial, corriente o conductividad del elemento sensor con el contenido en las fases gas o vapor de los compuestos que integran la muestra [42]. Asimismo, las técnicas de espectroscopía se han empleado en situaciones en las que el reconocimiento por parte del polímero está asociado a variaciones significativas del espectro de absorción o fluorescencia [43,44].

Las narices electrónicas basadas en semiconductores poliméricos son también sistemas híbridos, donde la interacción de los sensores con las muestras en forma de gas o vapor se pueden analizar a través de numerosas técnicas distintas. Sin embargo, la combinación de técnicas de medida en narices electrónicas basadas en polímeros semiconductores no está tan extendida y como ya se ha mencionado, suele introducir mejoras de repetitividad, disminución de ruidos o mejoras en la sensibilidad.

Además, es importante recordar que, en ocasiones, la realización de una medida puede alterar significativamente el estado del elemento sensor. Por ejemplo, es sabido que la realización de

una medida amperométrica altera significativamente la interfase electrodo-sensor, debido a que el paso de la corriente farádica provoca una serie de procesos redox que generalmente dejan al dispositivo en una situación de desequilibrio, durante un periodo de tiempo que puede llegar a ser muy largo para sistemas que trabajan en estado sólido [45].

Una metodología recomendada a la hora de trabajar con sistemas de sensores híbridos es comenzar realizando la toma de datos con técnicas de corriente nula, como es la medida del OCP (potencial de corriente nula) del sensor [46]. Este potencial puede correlacionarse con la cantidad de sustancia adsorbida por el polímero y este parámetro puede relacionarse con la presión de gas o vapor a la que ha sido sometido. A partir de este punto se realizarían medidas de otra naturaleza, en el orden en que menos perturben la muestra. Es decir, medidas de tipo óptico (espectroscopías infrarroja y/o de ultravioleta visible, espectrofotometría o fluorescencia), medidas de conductividad y espectroscopía de impedancias, usando una perturbación baja (10 mV, por ejemplo) y en un rango de frecuencias donde no se produzcan reacciones redox (por encima de 100 Hz) y por último medidas que impliquen la excitación del sensor por medio de señales continuas, como voltametrías o procedimientos de caracterización de transistores.

El primer estudio sistemático se realizó en isómeros cis y trans de poliacetileno (PA), donde se investigaron los efectos de dopados tipo N y tipo P por medio de agentes oxidantes y reductores [47]. Siguiendo la propuesta de síntesis de Shirakawa y sus colaboradores, se pueden obtener polímeros del tamaños y espesores deseados, pero aun así siguen presentando problemas de estabilidad en presencia de oxígeno. Otro factor importante a considerar en la utilización de estos polímeros conductores es su limitada solubilidad. Por estos inconvenientes, el poliacetileno raramente se utiliza en la fabricación de dispositivos que requieren estabilidad y fiabilidad en sus medidas.

La estabilidad de las membranas poliméricas puede mejorarse introduciendo compuestos heterocíclicos en la cadena conductora o también con anillos aromáticos de carbono. Los polímeros que se obtienen de la anilina [35], el pirrol [48] y el tiofeno [49] son lo suficientemente estables para utilizarlos en condiciones de trabajo normales. Así, la base de los polímeros conductores y semiconductores está basada en la síntesis de estos tres polímeros: polianilina (PAni), polipirrol(PPy) y politiofeno(PTh). Con ellos se han descrito multitud de aplicaciones [38,50,51,52,53,54,55].

4.3 Piezoeléctricos

Los sensores piezoeléctricos (también llamados acústicos o gravimétricos) se valen del efecto piezoeléctrico, por el que cambios en magnitudes como la presión, tensión, fuerza o aceleración se convierten en señales eléctricas, ya que estas ondas mecánicas son mucho más sensibles a los cambios en los fenómenos físicos del entorno que las señales eléctricas.

Las configuraciones más habituales son los dispositivos de ondas superficiales (SAW, por sus siglas en inglés) o los de microbalanza de cristal de cuarzo (QCM, en inglés, también llamados sensores BAW, por Bulk Acoustic Wave).

Un dispositivo SAW básico consiste en un sustrato piezoeléctrico (habitualmente cuarzo o niobato de litio), un transductor interdigitado de entrada y otro de salida [56]. Estos dos transductores están separados por un espacio por el que se propaga la señal acústica, llamado línea de retardo. Es en este espacio donde la señal sufrirá los efectos del entorno, y modificará la señal original de entrada. Entonces en el dispositivo de salida se evalúan los cambios en amplitud, fase y frecuencia o desfase entre las señales de entrada y salida. Estas diferencias permiten medir el fenómeno físico que se persigue.

Mientras que en un dispositivo tipo SAW la señal se propaga por la superficie del sustrato, en un dispositivo BAW la señal se propaga a través de él.

Existen varias opciones tecnológicas para fabricar este tipo de sensores, procedentes de una familia más grande como los sistemas microelectromecánicos (MEMS, por sus siglas en inglés). Los distintos procesos tecnológicos que permiten fabricarlo son: procesos de deposición (sputtering, electroplating, deposición física o química, etc.); procesos litográficos (fotolitografía, litografías por rayos x, haz de electrones o haz de iones); procesos de grabado (húmedo o mojado, grabado superficial y profundo por iones reactivos).

Habitualmente la línea de retardo de los sensores se recubre con capas poliméricas finas (thin film technology), sensibles al parámetro que se desea monitorizar. Así, si algún fenómeno físico modifica esta capa polimérica (estructura, masa, etc.) esto tendrá un efecto en la señal acústica de origen, que se medirá en el dispositivo de salida y se podrá evaluar por el sistema de procesado.

Aunque, también hay casos en los que se utilizan óxidos metálicos como superficies sensoras en la línea de retardo de sensores SAW.

Una microbalanza de cristal de cuarzo mide las variaciones de masa por unidad de área cuantificando los cambios en la frecuencia de vibración de un cristal de cuarzo, que se ve alterada por la adición o sustracción de pequeñas cantidades masa (cómo pequeñas moléculas). De este tipo de medidas pueden extraerse parámetros como la viscosidad, la elasticidad, la densidad o el grosor de, por ejemplo, sustratos poliméricos [57].

Muchas son las aportaciones que se pueden encontrar en la literatura al uso de estos sensores para la medida de gases, por citar unos ejemplos, se pueden encontrar desde aplicaciones en campos tan específicos como la detección de agentes nerviosos [58] o más habituales como la clasificación de vinos [59], hasta guías para seleccionar el sensor por tipo de aplicación [60].

4.4 Ópticos

El funcionamiento de los sensores ópticos está basado en la emisión o absorción de los diferentes tipos de radiación electromagnética que se producen cuando hay un cambio energético en el sensor al enlazar con un analito objetivo. Los sensores ópticos son altamente selectivos, pueden identificar compuestos dentro de mezclas e incluso pueden medir varios parámetros, sin embargo, son muy caros, complejos de operar y difícilmente portables, debido a que los sistemas ópticos son muy susceptibles a desalinearse. Son por lo general sistemas mucho más complejos que las narices electrónicas basadas en mecanismos de transducción como los óxidos metálicos o los polímeros conductores.

Los sensores ópticos funcionan midiendo los fenómenos de modulación de la luz, y consisten en un conjunto de tecnologías que utilizan desde distintos tipos de excitación luminosa y fibras ópticas hasta fotodiodos y fotodetectores [61]. Existen varios modos de funcionamiento que logran medir cambios en la absorbancia, fluorescencia, polarización del haz luminoso o respuesta colorimétrica. El sensor óptico más simple utiliza indicadores de cambios de color, como las porfirinas metálicas, para medir la absorbancia con un LED y un sistema fotodetector cuando se exponen a muestras gaseosas. Dos métodos más sofisticados y los que tienen más importancia en este campo son los sensores fluorescentes, que emiten este tipo de radiación cuando el sensor reacciona con el analito objetivo, y los colorimétricos, que manifiestan un cambio de color visible al reaccionar con el compuesto para el que se ha diseñado.

Los sensores ópticos basados en fibras de varios tipos es una de las tipologías más comunes en la literatura. Se puede encontrar un amplio número de aplicaciones gracias a su versatilidad en

diseño y configuraciones, lo que les otorga ciertas ventajas como sus reducidas dimensiones, que facilitan tiempos de respuesta rápidos, y su capacidad para muestrear distintos parámetros ópticos a la vez. Por ejemplo, se han usado haces de fibras con microesferas como nariz electrónica con sensores ópticos [62] y un conjunto de sensores colorimétricos para reconocer y discriminar VOCs [63].

4.5 Otros tipos

Cualquier sensor o conjunto de sensores de sustancias volátiles o gaseosas puede, de algún modo, emplearse o clasificarse como nariz electrónica.

Esta sección se ha incluido para poder enmarcar la nariz electrónica objeto de esta tesis doctoral. La nariz electrónica en cuestión no forma parte de ninguna de las clasificaciones anteriores, ya que los sensores utilizados son microelectrodos metálicos simples. Esta configuración es más típica de sistemas de lengua electrónica, en los que el grupo de investigación del que formo parte, el Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), tiene una amplia experiencia, tanto en técnicas de voltametría [64], espectroscopía de impedancias [65] o de potenciometría [66].

El sistema diseñado en esta tesis se inspira en un trabajo concebido en el IDM por el doctor Luís Gil Sánchez et al. [67]. En este trabajo se presenta un sistema combinado de lengua electrónica y nariz electrónica potenciométricas para analizar el deterioro de vinos por el contacto con el aire. La lengua electrónica está formada por nueve electrodos, contruidos con tecnología de serigrafía de capa gruesa (thick film technology) con pastas resistivas comerciales. Los elementos activos de estas pastas son oro, plata, cobre, rutenio, cloruro de plata y grafito. La nariz electrónica húmeda pretende detectar los vapores emanados por el vino dentro de una cámara y que quedan absorbidos en un ambiente húmedo. Este ambiente húmedo se construye usando un trozo de tela cosida humedecida en agua destilada, en el que se acomodan los electrodos para que estén en contacto directo con ella. Se utilizan cuatro electrodos (un electrodo de vidrio y electrodos metálicos de aluminio, grafito y platino en hilo), más un electrodo de referencia (Ag/AgCl).

Vistos los buenos resultados obtenidos y siendo conscientes de la problemática que tienen los sensores más utilizados en narices electrónicas (los basados en óxidos metálicos), sobre todo los motivados por el elevado consumo y el difícilmente evitable deterioro de los sensores, sumado

a la alta interferencia que principalmente el agua supone en estos procesos de medida, se planteó el diseño de un sistema sensor que resolviera la problemática de sus interferencias por ambiente húmedo sin que ello penalice la capacidad sensora del sistema. La alternativa propuesta es un sistema de nariz electrónica húmeda como sustituto a las narices electrónicas clásicas basadas en óxidos metálicos que permita aplicar un mayor número de técnicas electroquímicas, en este caso la de voltametría, para la medida de sustancias volátiles a partir de muestras gaseosas, líquidas o sólidas.

5 Quimiometría

El término quimiometría se introdujo por primera vez en 1971 por B. R. Kowalski y S. Wold, lo que llevó a la fundación de la International Chemometrics Society (ICS) en 1974, estableciendo una primera descripción de la disciplina [68]. La definición más aceptada se le atribuye a la ICS en el año 1975: “Quimiometría es la disciplina química que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para diseñar o seleccionar procedimientos de medida y experimentos óptimos, y para proporcionar la máxima información química mediante el análisis de datos químicos”. Después de aquello se organizaron diversos congresos específicos en la materia, varias revistas le dedicaron secciones exclusivas hasta que finalmente surgieron publicaciones específicas como *Journal of Chemometrics* (Wiley) y *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (Elsevier) [69].

Esta disciplina tiene su origen en la química. Una de las aplicaciones típicas de los métodos quimiométricos es la evaluación de datos analíticos de origen químico, aunque también se utiliza frecuentemente en áreas como la biología, metabolómica, ingeniería, etc. Una de las razones por la que se desarrollan estos métodos quimiométricos es la abrumadora cantidad de datos que genera la instrumentación analítica moderna. Con la aparición de los ordenadores personales a principios de los ochenta, comienza una nueva era para la adquisición, procesado e interpretación de datos.

Los conocimientos de los científicos sobre métodos matemáticos y estadísticos pueden ser muy distintos dependiendo de su campo y/o formación base, es por ello que uno de los objetivos iniciales de la quimiometría es hacer de estos complejos métodos matemáticos algo asumible para cualquier científico. Hoy en día existen numerosas opciones de programas estadísticos y numéricos comerciales que simplifican estos procesos, con ello un análisis en concreto puede llevarse a cabo después de cortas sesiones de aprendizaje sobre el software en cuestión. La clave de esta rama de la ciencia es que no es necesario comprender absolutamente todos los detalles matemáticos que hay detrás de cada método, si no qué método es el adecuado para un problema analítico en concreto y como aplicarlo correctamente.

Existen numerosos métodos quimiométricos para la evaluación e interpretación de datos, el campo más presente son los métodos estadísticos, entre ellos se encuentran [69]:

- **Estadística descriptiva e inferencial:** los datos aleatorios se caracterizan y comprueban por métodos descriptivos e inferenciales, respectivamente (son especialmente útiles en sistemas de gestión de calidad).
- **Procesado de señales:** o pre-procesado de los datos, se lleva a cabo por medio de algoritmos para el suavizado, filtrado, derivación e integración de las señales; métodos de transformación como el de Fourier también forman parte de este grupo.
- **Diseño experimental, modelización y optimización:** la eficiencia en la experimentación se basa en métodos de diseño experimental y sus evaluaciones cuantitativas, que se pueden llevar a cabo a través de modelizaciones matemáticas o representaciones gráficas. Alternativamente, también se aplican otros métodos como el algoritmo simplex en vez de métodos simultáneos de optimización experimental, donde las condiciones óptimas se obtienen por búsquedas sistemáticas del criterio objetivo.
- **Reconocimiento de patrones y clasificación:** los métodos de análisis multivariante se utilizan para hallar patrones en el conjunto de los datos y así asignárselos a muestras, materiales o en general a los objetos que forman parte de esos patrones. El reconocimiento de patrones o la clasificación es posible gracias a métodos de proyección como el PCA o el análisis factorial, o el análisis de grupos (habitualmente referido como clustering). Para la construcción de modelos de clasificación de objetos desconocidos se utilizan los análisis discriminantes.

- **Métodos de inteligencia artificial:** la inteligencia artificial incluye métodos de lógica formal y herramientas para desarrollar sistemas expertos. A parte de los métodos de lógica clásica, se utilizan, por ejemplo, métodos de lógica difusa.
- **Teoría de la información y sistemas:** para caracterizar el contenido de la información de procedimientos analíticos se utilizan técnicas de la teoría de la información.

De todos los métodos que engloban la quimiometría, en esta tesis doctoral se han utilizado las técnicas siguientes:

- Pre-procesado de los datos.
- Análisis de componentes principales (PCA).
- Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS).
- Un tipo de red neuronal conocida como mapa auto-organizado.

De estas cuatro técnicas, las tres últimas son métodos de análisis multivariante, dependiendo de cómo aborden la estrategia de aprendizaje pueden distinguirse en dos grandes familias: las supervisadas y las no supervisadas. En los métodos supervisados se requiere de una etapa de aprendizaje (entrenamiento o calibración) y una etapa de validación, mientras que los no supervisados permiten establecer semejanzas entre muestras sin imponer ningún criterio inicial.

5.1 Pre-procesado de los datos

Una de las particularidades de los sistemas basados en lenguas y narices electrónicas es, por lo general, el elevado número de datos que se generan en las medidas. A priori, esta característica es muy ventajosa, pero requiere de un tratamiento previo de los datos para aplicar convenientemente las herramientas quimiométricas, si no se aplican alguno de estos métodos puede caerse en los inconvenientes de ralentizar los métodos debido a que parte de la información recogida puede ser redundante o poco fiable, e incluso en la obtención de peores resultados debido a la introducción de señales ruidosas.

En el caso de medidas que provienen de sensores de distinta naturaleza, habitualmente es necesario estandarizar los datos, para que las aportaciones de todos los sensores tengan el mismo peso estadístico. En el caso de técnicas como el PCA, se requiere un centrado de los datos previo a la aplicación del análisis.

Hay varios tipos de pre-procesado que, dependiendo del tipo de datos, de su naturaleza y de la técnica a utilizar convendrá elegir cuidadosamente. Dicho procesado previo se le debe aplicar a los datos (D_{ij}) ya sean variables dependientes como independientes. Los métodos de pre-procesado más habituales son los siguientes:

- **Centrado con respecto a la media:** esta técnica se emplea en casos donde los datos exhiben un desplazamiento con respecto al nivel cero que no aporta información de interés sobre las diferencias entre muestras. Se persigue suprimir este desplazamiento substrayendo el valor promedio de los datos de la variable independiente correspondiente a cada medida, ver ecuaciones 1 y 2:

$$D_{CEN\ ij} = D_{ij} - D_{MED\ j} \quad (1)$$

$$D_{MED\ j} = \frac{\sum_{i=1}^M D_{ij}}{M} \quad (2)$$

Siendo $D_{MED\ j}$ el valor promedio de todas las muestras para una variable independiente X_j .

- **Estandarización:** es necesario homogeneizar los datos cuando sus variables independientes tienen naturalezas distintas. El procedimiento habitual es dividirlos por su desviación estándar para darles el mismo peso estadístico sea cual sea el rango de la magnitud que se almacena, ya que rara vez coinciden datos con orígenes distintos en orden de magnitud, por ejemplo. Ver ecuación 3.

$$D_{STD\ ij} = \frac{D_{ij}}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (D_{ij} - D_{MED\ j})^2}{M-1}}} \quad (3)$$

- **Autoescalado:** combina los dos métodos nombrados que se acaban de describir, el de centrado respecto a la media y el de estandarización. Esto es, se realiza una estandarización de los datos que han sido previamente centrados con respecto a la media. Cabe recalcar que la desviación estándar de los datos (cociente en la ecuación 4) antes y después de la operación de centrado es la misma.

$$D_{AUTO\ ij} = \frac{D_{CEN\ ij}}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (D_{ij} - D_{MED\ j})^2}{M-1}}} \quad (4)$$

- **Normalización:** el objetivo es que todos los datos de la matriz tengan valores entre + 1 y -1. Para ello se dividen los datos de cada variable independiente por valor máximo absoluto de cada una de ellas.

$$D_{\text{NORM } ij} = \frac{D_{ij}}{\max(|D_{ij}|)} \quad (5)$$

Otras técnicas se centran en el uso de algoritmos para la reducción de la dimensión del espacio de variables. Habitualmente estas técnicas se dividen en dos: selección de características (del término en inglés “feature selection”) y extracción de características (del término “feature extraction”). El uso de estas técnicas es objeto de muchas aplicaciones en las que los datos están formados por decenas o centenas de miles de variables. Se utilizan en campos como el procesado de textos en documentos de internet, el análisis de vectores de expresión génica, la química combinacional, etc [70]. Los objetivos de la selección de variables son mejorar las predicciones, encontrar predictores computacionalmente más rápidos y eficaces, y proporcionar una visión más clara del proceso subyacente que genera dichos datos. Por ejemplo, Moreno-Baron et al. [71] y Gutés et al. [72] proponen un método basado en wavelets para comprimir los datos obtenidos de medidas de voltametría diferencial de pulsos. Así consiguen reducir no sólo el número de variables sino también el ruido de alta frecuencia [73].

5.2 Análisis de componentes principales (PCA)

Esta técnica de análisis de los datos es una de las más utilizadas en el campo de lenguas y narices electrónicas. Es una herramienta estadística para comprimir los datos y se basa en la proyección de la matriz de datos sobre un nuevo sistema de coordenadas.

Por ejemplo, en un sistema de muestras M_i , donde para cada muestra se miden las variables X_j , se obtiene una cantidad de datos (D_{ij}) determinada. Con estos datos se forma la matriz de datos de experiencia, que puede llegar a ser realmente grande. El objetivo es representar gráficamente cómo se asemejan o diferencian estas muestras. Los datos se pueden representar al medir una, dos, tres variables (ver figura 2).

Introducción

Muestra	X_1
M1	D_{11}
M2	D_{21}
M3	D_{31}

Muestra	X_1	X_2
M1	D_{11}	D_{12}
M2	D_{21}	D_{22}
M3	D_{31}	D_{32}

Muestra	X_1	X_2	X_3
M1	D_{11}	D_{12}	D_{13}
M2	D_{21}	D_{22}	D_{23}
M3	D_{31}	D_{32}	D_{33}

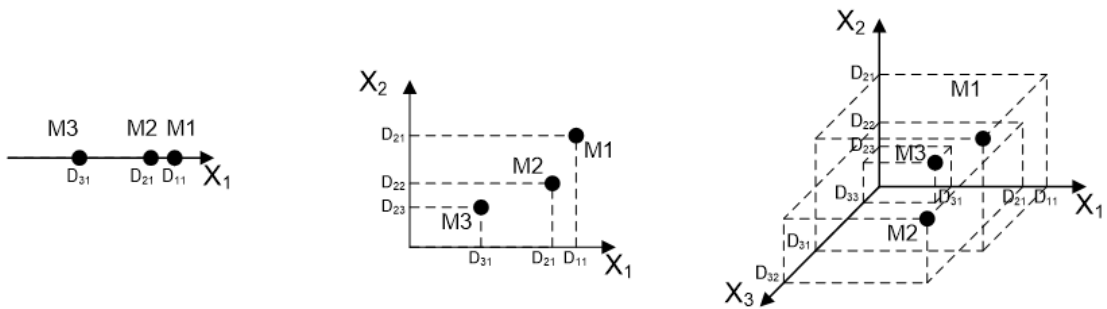


Figura 2: representación de variables en sistemas sencillos [74].

Cuando un sistema tiene más de tres variables linealmente independientes, el sistema no se puede representar gráficamente y resulta necesario reducir la dimensión del espacio de variables, procurando perder la menor cantidad de información. Para establecer este nuevo sistema de coordenadas que reduzca la dimensión de nuestro espacio de variables se debe cumplir que la información esté contenida en los primeros ejes, que estos sean ortogonales entre sí, para que así la información que contengan sea diferente y exclusiva, y que no se pierda información al proyectarla en este nuevo sistema de referencia.

En este nuevo sistema de coordenadas, los ejes se llaman componentes principales, son ortogonales entre sí y están ordenados por la varianza que acumulan. Es decir, la primera componente principal es la combinación lineal de la matriz de datos con máxima varianza; lo que se busca es una dimensión donde las observaciones estén separadas lo máximo posible. La segunda componente principal es la combinación lineal con máxima varianza restante de la misma matriz de datos y ortogonal a la primera componente principal, y así sucesivamente con las siguientes componentes principales. Así se obtiene un nuevo espacio de variables (que contiene toda la información de las muestras), del que normalmente se eligen las 2 o 3 componentes principales (aunque pueden utilizarse más si son necesarias), que son las que contienen la información más relevante, para representar las muestras en un gráfico PCA.

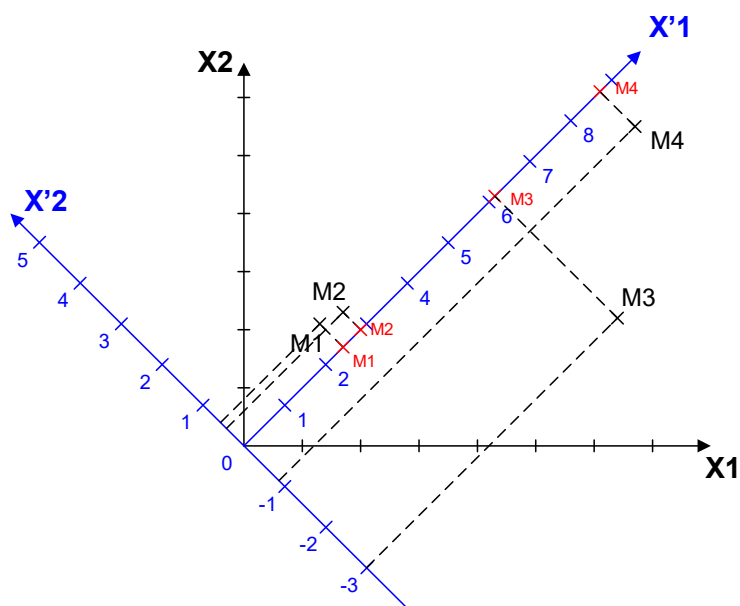


Figura 3: representación de datos en un nuevo sistema de coordenadas [74].

La figura 3 es un ejemplo de cómo en un sistema de referencia nuevo se proyecta la información de los datos del sistema anterior. En este ejemplo se puede reducir la dimensión de los datos de 2 a 1. Así únicamente con una componente principal, que refleja la máxima varianza entre las muestras M1, M2, M3 y M4 del sistema de coordenadas original, se logra trasladar la parte fundamental de la información de dos ejes (X_1 y X_2) a este nuevo sistema unidimensional X'_1 para representar las diferencias entre las muestras.

Habitualmente, esta técnica de análisis se usa para obtener una visualización en dos o tres dimensiones de matrices de datos formadas por un elevado número de variables independientes y así intentar formar agrupaciones para clasificar las muestras. En este tipo de gráficos, se asume que, si las proyecciones de las muestras en los planos formados por las primeras componentes principales están próximas entre sí, denota que tienen propiedades parecidas (sus variables independientes tienen valores similares).

Generalmente, el PCA suele emplearse como un método de clasificación no supervisado. Sin embargo, también puede utilizarse como análisis previo a otros análisis ya que, por ejemplo, esta representación de los datos permite detectar fácilmente datos erróneos (también denominados outliers). Estrictamente, este método es una técnica para la reducción de dimensiones, pero gracias a esta representación bidimensional, se utiliza frecuentemente como método de clasificación por el que se forman grupos de muestras (clusters) de modo espontáneo. Así, el análisis de componentes principales puede considerarse como un método de clasificación no supervisado y no paramétrico de reconocimiento de patrones [75].

5.3 Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS)

La regresión por mínimos cuadrados parciales (Partial Least Square regression, en inglés) es un método que se utiliza cuando se tiene información previa de algún tipo sobre los datos que se están analizando, o sea, en estos datos se encuentran variables independientes y también variables dependientes, donde estas últimas se corresponden con parámetros cuantificables de las muestras. El objetivo de esta técnica es generar modelos de predicción que posibiliten calcular estos parámetros en muestras nuevas a partir de los datos proporcionados por la medida [73].

Si para construir los modelos de predicción se utiliza toda la información que se incluye en la matriz de experiencia, éstos podrán predecir con mucha exactitud las muestras que se han utilizado para su generación. Sin embargo, para predecir los valores de muestras nuevas el modelo no será bueno, ya que contendrá información muy específica sobre las muestras con que se ha calculado. Este fenómeno se conoce como sobre-entrenamiento. Además, en muchas ocasiones la cantidad de variables independientes supera al número de muestras con las que se puede generar el modelo, lo que es una situación inviable para llevar a cabo una regresión múltiple.

Para evitar este último escenario resulta de mucha utilidad reducir la dimensión del espacio de variables independientes. Así, hay que crear un sistema de referencia nuevo donde la máxima información quede recogida por los primeros nuevos ejes de coordenadas. La manera de proceder es semejante al método para realizar un análisis de componentes principales, sin embargo, existe una diferencia significativa. Donde en el PCA se busca que los nuevos ejes de referencia contengan el máximo de la varianza de los datos, en el PLS se busca establecer un nuevo sistema de referencia que maximice la correlación entre las variables independientes y las dependientes, es decir, la covarianza. Los ejes de este sistema de referencia nuevo se llaman variables latentes, y la primera es la que acumula el mayor valor de covarianza entre las variables independientes y las dependientes. La segunda variable latente es la que acumula la mayor covarianza restante y así sucesivamente. De este modo, la información relevante acerca de la relación entre las variables dependientes (que contienen información cuantificable sobre la muestra) y las independientes (que se corresponden con las medidas) queda contenida en las primeras variables latentes. A partir de ellas se construye un modelo de regresión múltiple,

donde se utilizan estas nuevas variables latentes en lugar de las originales variables independientes.

Para proporcionarle robustez al modelo hay que establecer un número óptimo de variables latentes para su construcción. Si el número de variables latentes es pequeño, cabe la posibilidad de que se deje fuera del modelo información relevante para la predicción. Por otro lado, si se utilizan demasiadas variables latentes el modelo no sólo contendrá la información relevante, sino que también las particularidades de las muestras con las que se ha generado, lo que puede mermar sus capacidades predictivas con las nuevas muestras (sobre-entrenamiento).

La validación cruzada es el procedimiento que permite establecer el número óptimo de variables a la hora de generar un modelo para minimizar el error en la predicción. Se procede primero creando modelos con una única variable latente a partir de los datos de una serie de subconjuntos del total de las muestras. Para validar estos datos se utilizan los datos que no se han incluido en estos subconjuntos iniciales. De estos modelos se obtienen los valores de validación con los que se crea una gráfica de observado frente a predicho. Normalmente, en el eje Y se representan los valores observados, es decir, los valores conocidos que se pretenden predecir, y en el eje X los valores que el modelo predice. De esta gráfica se calcula el error cuadrático medio de la validación cruzada (RMSECV, del inglés “Root Mean Square Error of Cross Validation”), que representa el error promedio que existe en la predicción con respecto a las medidas reales. Para su cálculo se utiliza la ecuación 6:

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_i^M (y_{OBS\ i} - y_{PREDCV\ i})^2}{M}} \quad (6)$$

Donde:

- $y_{OBS\ i}$: es el valor del parámetro “y” observado (conocido) para la muestra “i”.
- $y_{PREDCV\ i}$: es el valor del parámetro “y” predicho mediante el modelo de validación cruzada para la muestra “i”.
- M: es el número de muestras.

El cálculo del RMSECV se realiza para cada modelo construido incrementando sucesivamente el número de variables latentes hasta alcanzar el número total de variables que se incorporan en el modelo. Con estos valores se construye una gráfica en la que se representa el RMSECV frente a un número creciente de variables latentes. El criterio correcto es tomar el número de

variables latentes que corresponda con el primer mínimo observado en esa gráfica. Si no se observa ningún mínimo, debe tomarse el número donde se observe la última disminución considerable del RMSECV.

Hay varios tipos de validación cruzada, dependen del modo en que se eligen las muestras para generar y validar los modelos. El software utilizado en la realización de esta tesis doctoral se llama "Solo" de la compañía Eigenvector Research, Inc. Entre las varias opciones de métodos para la validación cruzada que ofrece, cabe destacar las siguientes:

- **Leave-one-out:** se generan los modelos computando todas las muestras menos la que se utiliza para validar. El número de subconjuntos creados para la validación cruzada coincide con el número de muestras. Funciona especialmente bien para matrices pequeñas y se desaconseja utilizar este método cuando el número de muestras es superior a veinte.
- **Venetian blinds:** los modelos toman subconjuntos de muestras seleccionando una de cada "s" muestras. El número de subconjuntos creados para la validación cruzada depende del valor del parámetro "s".
- **Contiguous block:** se opera igual que el método venetian blinds, pero en este caso se forman "s" subconjuntos de muestras contiguas.
- **Random subsets:** se crean "s" subconjuntos, de manera aleatoria y de modo que cada muestra sólo pueda formar parte de uno de ellos, con los que se realiza una validación cruzada. Este proceso se realiza "r" veces, promediando cada vez los datos con el resultado del análisis anterior. El número total de subvalidaciones se corresponde con el producto de "s" por "r".

Una vez construido el modelo con el número de variables latentes que se obtiene por alguno de los métodos de validación cruzada anteriormente descritos, se debe evaluar su robustez. Es aconsejable realizar la validación de un modelo con un conjunto de muestras nuevo, independientes del conjunto anterior, llamado set de validación, cuyo parámetro objetivo (el que se desea predecir) es conocido. Las muestras nuevas se aplican al modelo construido y los resultados de predicho frente a observado se plasman en una gráfica. Analizando esta gráfica se obtiene información relevante sobre la robustez del modelo (ver figura 4).

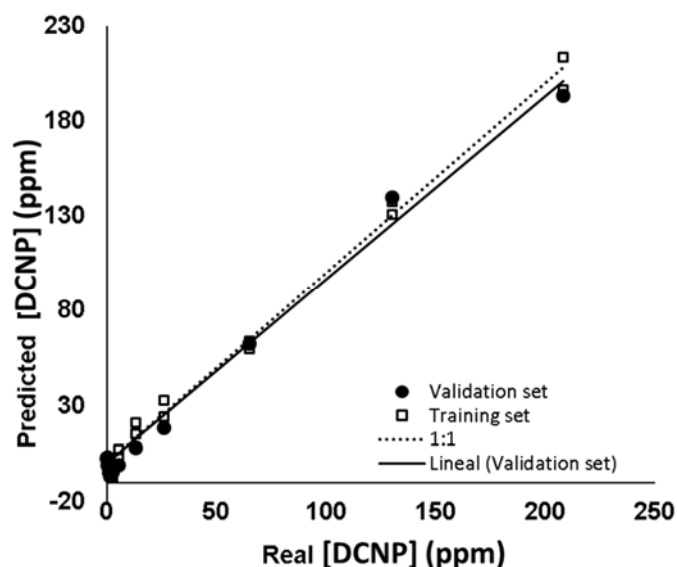


Figura 4: gráfica de medido frente a predicho [76].

En un modelo ideal los puntos de la gráfica predicho frente a medido estarían alineados y sobre la línea de pendiente 1:1, como la punteada en de la figura 4, así el valor predicho coincidiría con el valor medido. En sistemas reales, habitualmente se observa una serie de puntos que se disponen en el gráfico, de los que se calcula una línea de regresión como la continua en la figura 4. Así, la calidad del modelo se observa visualmente teniendo en cuenta el grado de proximidad de los puntos con la recta de regresión, cuanto más cerca estén de ella mejor es la predicción. Además, también se tiene en cuenta la similitud entre la recta de regresión y la línea de pendiente 1, si los datos se alinean con la recta de regresión, pero ésta se separa mucho de la de pendiente 1, ya sea por pendiente o por ordenada, la predicción tampoco es buena.

Aun así, lo más interesante es realizar una evaluación numérica del comportamiento del modelo. Se deben tener en cuenta los siguientes parámetros:

- R^2 : es el cuadrado del coeficiente de regresión de la recta que forman los puntos del gráfico. Muestra el grado proximidad entre los puntos y la recta de regresión.
- Pendiente y ordenada en el origen: muestra numéricamente como de cerca está la predicción de los datos respecto la recta ideal de pendiente 1 y ordenada 0.
- Error cuadrático medio de la predicción (RMSEP, del inglés Root Mean Square Error of Prediction): muestra, en promedio, la diferencia entre los valores medidos y los predichos, atendiendo a la ecuación 7.

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\frac{\sum_i^M (y_{\text{OBS } i} - y_{\text{PRED } i})^2}{M}} \quad (7)$$

Donde:

- $y_{\text{OBS } i}$: es el valor del parámetro “y” observado (conocido) para la muestra “i”.
- $y_{\text{PRED } i}$: es el valor del parámetro “y” predicho para la muestra “i”.
- M: es el número de muestras.

5.4 Redes Neuronales Artificiales (ANN). Tipo SOM

Las redes neuronales artificiales son un método de análisis muy utilizado en sistemas de narices y lenguas electrónicas. La topología de estos algoritmos se inspira en las redes neuronales biológicas.

El desarrollo de las redes neuronales artificiales o los modelos de redes neuronales surgieron motivados por dos razones principales: en primer lugar, para entender mejor el sistema nervioso humano y, en segundo lugar, para tratar de construir sistemas de procesamiento de la información inspirados en sistemas biológicos. Aunque desde hace décadas, los ordenadores son capaces de realizar multitud de tareas mucho más rápido y de modo más eficiente que los humanos, todavía no poseen la capacidad cognitiva, la flexibilidad y robustez de un cerebro humano.

Desde el punto de vista de la ingeniería, una red neuronal puede ser considerada como una caja negra, ya que imita más un comportamiento que una estructura y es capaz de reproducir cualquier función; sin embargo, estudiar la estructura de una red no proporciona información útil acerca del sistema a modelar. La organización física del sistema original no se suele considerar y en vez de ello se utiliza una estructura neuronal flexible capaz de resolver problemas de naturaleza similar. Una ventaja de las redes neuronales es que pueden modelar sistemas no lineales [77].

El número de estructuras de redes neuronales, configuraciones y aplicaciones es tan extenso que en esta sección nos limitaremos a describir la estructura de red neuronal que se utiliza en la primera publicación [78].

Mapa Auto-organizado (SOM)

El primer estudio en la formación de estructuras auto-organizados mediante el uso de aprendizaje competitivo e inspirado biológicamente en la formación de una topología de mapa organizado en el cerebro fue publicado en 1976. La utilidad principal de este tipo de mapa es reconocer como la distribución estadística de la entrada se relaciona con el espacio de salida del sensor. El mapa es no supervisado, esto significa que la estrategia de aprendizaje no requiere de ninguna otra información más que los datos proporcionados por la medida [79].

El mapa auto-organizado (SOM, por sus siglas del inglés “Self-Organizing Map”), también conocido como Kohonen’s map (por quien primero los describió, Teuvo Kohonen [80]), es un modelo neuronal no supervisado que se ha utilizado mucho en el área de reconocimiento de patrones. Este modelo se caracteriza por proyectar un espacio de entrada multidimensional en un espacio de salida habitualmente de una o dos dimensiones, mediante el uso de un entrenamiento no supervisado. Dada su típica morfología bidimensional, este método proporciona una interpretación visual muy sencilla y rápida. Su arquitectura es similar a la de una red competitiva, pero la salida no está sesgada (ver figura 5). Esta función de transferencia competitiva genera 1 para elementos de salida a_i^1 , es decir, la neurona vencedora. Todos los demás elementos de salida en a^1 son 0 [81].

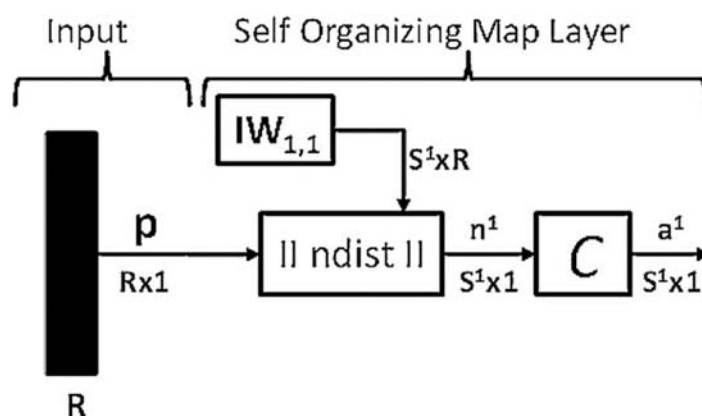


Figura 5: arquitectura de un mapa auto-organizado [78].

Un mapa auto-organizado está formado por un conjunto ordenado de neuronas o nodos, que se distribuyen sobre una red regular, normalmente de dos dimensiones. A cada nodo se le asigna un vector de pesos (m_i) de la misma dimensión que la de los vectores de datos de entrada (o modelo) y una posición en el mapa (ver figura 6). Se calculan los pesos m_i que se asocian a cada neurona y entonces se distribuyen en el mapa dependiendo de la similitud con los datos de entrada, por ejemplo, la proximidad calculada con respecto al dato medido en la

Introducción

escala que corresponda. Entonces se crea una escala de color acorde con el peso de cada neurona en ese espacio de acuerdo a una media ponderada local del valor de las neuronas en ese espacio de datos. Además, se ordenan por similitud de los nodos circundantes, distinguiéndose de los que están más alejados en el mapa de neuronas. De este modo se puede entender que el conjunto de modelos conforma un gráfico de similitudes de los datos de entrada.

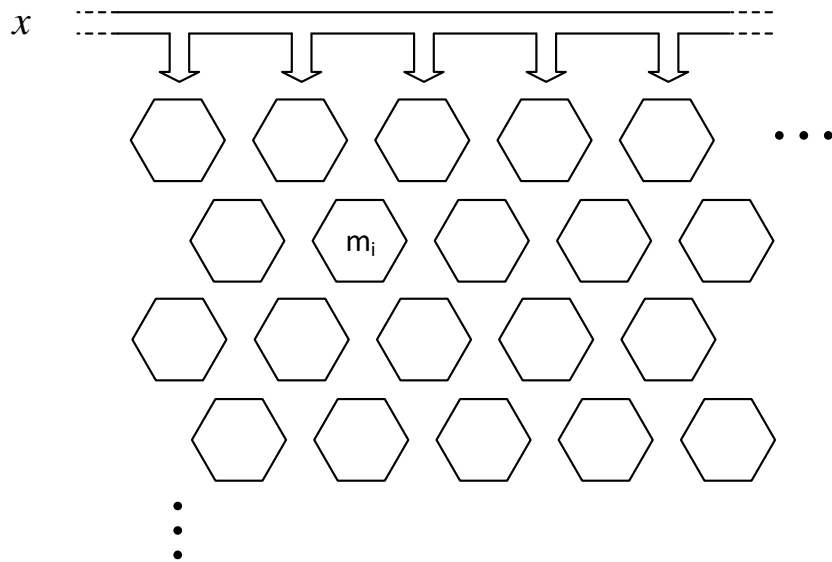


Figura 6: nodos en un SOM de dos dimensiones [76].

Así, se puede decir que los SOMs son una técnica de visualización que reduce la dimensión de un espacio de variables. El problema visual que pretende resolver es que los humanos no somos capaces de visualizar conjuntos de datos de altas dimensiones. Este método logra reducir las dimensiones creando un mapa de una o dos dimensiones en el que las similitudes se trazan agrupando juntos datos que se parecen. De este modo los mapas auto-organizados logran reducir la dimensión y mostrar similitudes.

6 Técnicas experimentales

Existe una gran variedad de técnicas electroquímicas (ver figura 7) que tienen por objetivo cuantificar una variable electroquímica y estudiar los datos que proporcionan sus medidas. En la figura 7 se muestra una de las clasificaciones más comunes en la bibliografía.

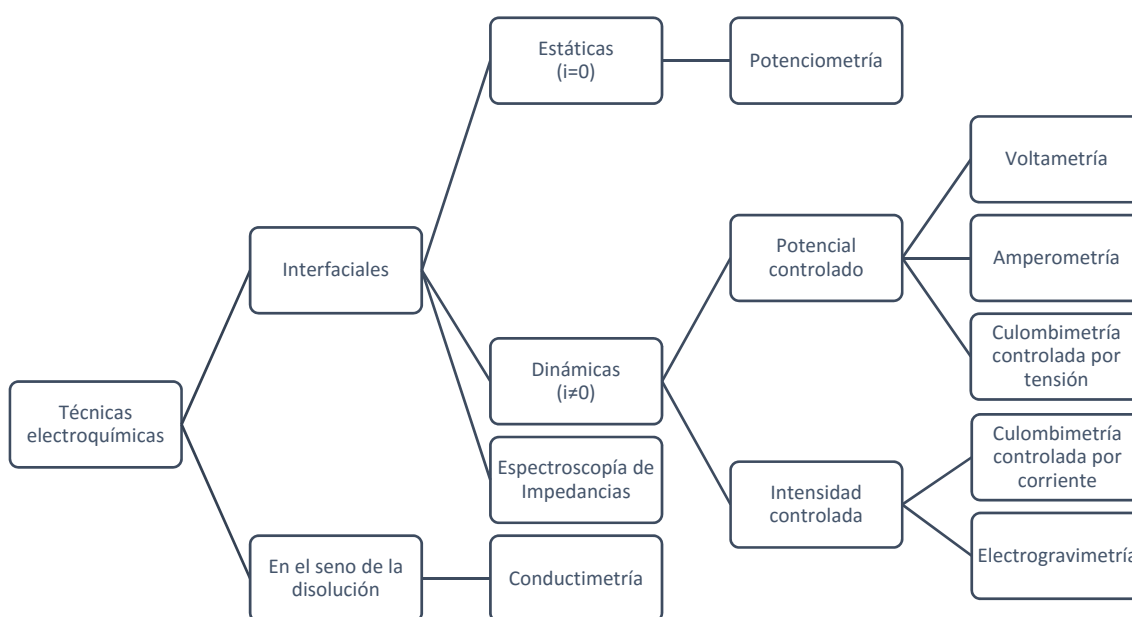


Figura 7: clasificación general de métodos electroquímicos [82].

De todas estas técnicas, en este trabajo se han utilizado las cuatro que se describen en las secciones siguientes:

- Voltametría.
 - Potenciometría.
 - Conductimetría.
 - Espectroscopía de impedancias.
- a) La voltametría se basa en la medida de las corrientes eléctricas que se generan en un electrodo de trabajo de una celda electroquímica cuando se le aplica una diferencia de potencial controlada. De todas las técnicas voltamétricas, se han utilizado dos:

- Voltametría de pulsos: consiste en aplicar patrones de pulsos de la misma duración y valores de tensión variables para analizar los fenómenos que ocurren en la interfaz electrodo-muestra.
 - Voltametría cíclica: consiste en aplicar una rampa o rampas consecutivas de tensión a la muestra. Parámetros como potenciales de inicio y fin, velocidad de barrido o número de ciclos son configurables.
- b) En potenciometría se observa el comportamiento del sistema sin que se le aplique ninguna excitación. Las medidas de potenciometría se realizan en valores de corriente prácticamente cero y en ausencia de polarización del electrodo. En ocasiones una medida potenciométrica puede llevar mucho tiempo y se toman medidas del valor de tensión en el electrodo periódicamente hasta que el valor sea estable.
- c) La medida de la conductividad eléctrica de un electrolito se basa en medir su capacidad para conducir la electricidad. En concreto en el trabajo correspondiente al capítulo 5, para la medida de este parámetro se utiliza un dispositivo comercial.
- d) Finalmente, la espectroscopía de impedancias consiste en la medida de las propiedades dieléctricas o impedancia de la muestra en un determinado rango de frecuencias.

6.1 Voltametría

La voltametría es la técnica electroquímica de medida de la intensidad de corriente que se genera cuando se aplica un potencial o una variación del mismo sobre un electrodo de trabajo, el cual está en contacto con la muestra (que debe contener alguna especie electroactiva). La corriente es una función del potencial aplicado y de la concentración de las especies electroactivas de la muestra, entre otros factores. Estas técnicas son una potente herramienta en multitud de áreas donde se requiere medir procesos de oxidación, reducción y absorción, y representan recurso ampliamente utilizado en determinaciones analíticas debido a su elevada sensibilidad. La medida de la corriente depende de la velocidad de los procesos de electrolisis que se rigen por la presencia de especies electroactivas en la muestra (coeficientes de difusión, concentración de especies, etc.). Las especies químicas son electroactivas cuando son capaces de oxidarse y/o reducirse en la superficie del metal. El parámetro que controla estos procesos es el potencial del electrodo.

Esta rama de las técnicas electroquímicas se basa en el descubrimiento de la polarografía por el químico checo Jaroslav Heyrovský en 1922, quien recibió el premio nobel en química por

este hallazgo en 1959. La polarografía clásica es un método científico para estudiar las curvas de despolarización de la corriente frente al potencial que se obtienen en unas condiciones concretas: la corriente debida al proceso electrodo se controla por la difusión del agente reactivo hacia la superficie del electrodo de gota de mercurio [83]. Sin embargo, la polarografía difiere de casi todas las demás técnicas voltamétricas en su electrodo de trabajo, el de gota de mercurio.

Por lo general, con el objetivo de aumentar su polarización, los electrodos de trabajo en voltametría suelen ser de tamaño reducido. Por ello se suelen denominar como microelectrodos, que tienen áreas superficiales de como máximo unos milímetros cuadrados y, en algunas ocasiones, algunos micrómetros o incluso menos. La desventaja es que la superficie del electrodo debe regenerarse entre ensayos mediante algún tipo de pulido, ya sea mecánico o electroquímico.

Una diferencia importante entre la electroquímica tradicional y los métodos que se utilizan en las lenguas (y algún tipo de nariz) electrónicas es que en la electroquímica tradicional tiende a considerar únicamente la corriente farádica al final de cada pulso de potencial aplicado, mientras que con las lenguas (y nuestra propuesta de nariz) electrónicas se procesa toda la respuesta de corriente a lo largo del pulso de tensión. Además, las técnicas de voltametría se han venido usando de manera extensiva en el diseño de lenguas (y algún tipo de nariz) electrónicas mediante el uso de conjuntos de electrodos adecuados para el desarrollo de sus medidas [64,65,78].

En voltametría, los efectos de la aplicación de un potencial y el comportamiento de las corrientes redox se describe mediante leyes bien conocidas. El potencial aplicado controla la concentración de las especies redox en la superficie del electrodo (C_O y C_R) y la velocidad de reacción (k^0), como se describe en las ecuaciones de Nernst o Butler-Volmer, respectivamente. La interacción entre estos procesos es responsable de las particularidades observadas en los voltagramas de las distintas técnicas [73].

Para reacciones electroquímicas reversibles (esto es, cuando los productos de la reacción se pueden recombinar para volver a convertirse en los reactivos), que pueden describirse mediante la expresión 8:



Introducción

la aplicación de un potencial E modifica la relación de concentraciones respectivas del Oxidante y Reductor sobre la superficie del electrodo (esto es, C_O y C_R) en una proporción que cumpla con la ecuación de Nernst (9), considerando en este caso que no existe una circulación de corriente, es decir, la ecuación 8 está en equilibrio y no hay transferencia de carga entre los miembros de la ecuación:

$$E = E^0 - \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \ln \frac{C_R}{C_O} \quad (9)$$

Donde:

- R es la constante universal de los gases ideales (8.3144 J/mol·K).
- T es la temperatura absoluta en grados Kelvin.
- n es el número de moles de electrones de la reacción.
- F es la constante de Faraday (96485 C/mol).
- E^0 es el potencial de reducción estándar de la pareja redox.

Si el potencial aplicado al electrodo cambia, la relación C_O / C_R en la superficie del electrodo cambia también para satisfacer la ecuación de Nernst. Si el potencial se hace más negativo, esta relación aumenta (cuando se reduce O) y, por el contrario, si el potencial se hace más positivo la relación disminuye (cuando se oxida R). En estos casos se produce una circulación de corriente en un sentido u otro de la ecuación, lo que puede relacionarse mediante la ecuación de Butler-Volmer (10), que enlaza las variables corriente, potencial y concentración:

$$i = n \cdot F \cdot A \cdot k^0 \cdot \left[C_O \cdot e^{-\frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} (E - E^0)} - C_R \cdot e^{-\frac{(1-\alpha) \cdot n \cdot F}{R \cdot T} (E - E^0)} \right] \quad (10)$$

Donde:

- i es la corriente que pasa por la interfaz electrodo-disolución.
- n es el número de moles de electrones de la reacción.
- F es la constante de Faraday (96485 C/mol).
- A es la superficie de contacto entre el electrodo y la disolución.
- k^0 es la velocidad de reacción.
- C_O es la concentración de la especie oxidante.
- α es el coeficiente de transferencia.
- R es la constante universal de los gases ideales (8.3144 J/mol·K).

- T es la temperatura absoluta en grados Kelvin.
- E es el potencial en la interfaz electrodo-disolución.
- E^0 es el potencial de reducción estándar para de la pareja redox.

Existen multitud de versiones de técnicas voltamétricas que depende principalmente del modo en que se aplica la señal, entre ellas se pueden nombrar: voltametría de barrido lineal, voltametría de pulsos cuadrados, voltametría cíclica, voltametría de pulsos diferencial, voltametría de escalones de potencial... Las técnicas utilizadas en el desarrollo de esta tesis doctoral se reducen a dos, la voltametría de pulsos y la voltametría cíclica.

Voltametría de pulsos

Se basa en la aplicación de un tren de pulsos cuadrados cuya amplitud y duración no tienen por qué ser constantes. De modo que dicho tren de pulsos puede diseñarse específicamente para su aplicación a una celda electroquímica en concreto. Comparado con la voltametría cíclica, esta es una técnica más dinámica y su límite de detección puede llegar a ser menor.

En la figura 8 se representa un diagrama básico de la técnica de voltametría de pulsos. Primero se establece o diseña el tren de pulsos de potencial a aplicar (gráfica a la izquierda), mediante un equipo electrónico de medida se le aplica a la muestra (en el centro), y se mide la corriente de respuesta (gráfica de la derecha).

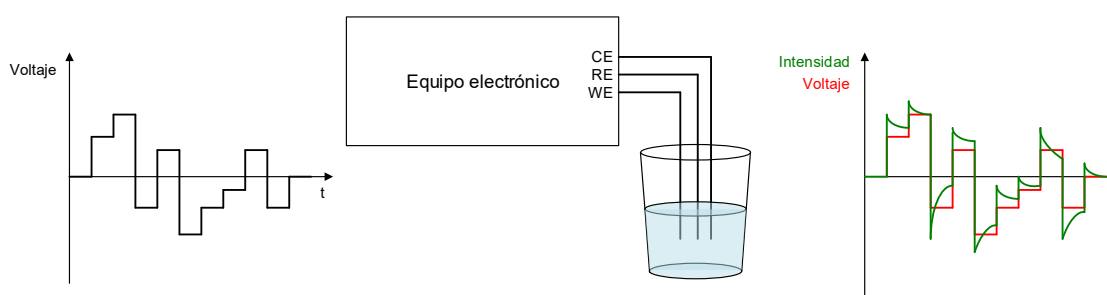


Figura 8: diagrama de funcionamiento de la voltametría de pulsos.

Voltametría cíclica

La voltametría cíclica se caracteriza por aplicar una rampa de potencial en función del tiempo. Normalmente la tensión aplicada parte de un punto inicial hasta el punto final, luego se invierte el barrido hasta el punto inicial y así se forma una señal triangular, como puede observarse en la figura 9.

Introducción

Este tipo de voltametría es una fuente de información que no sólo determina el mecanismo de las reacciones, sino que también es capaz de revelar la pureza de una muestra o es estado superficial de un electrodo de trabajo. Rara vez se utiliza para determinaciones cuantitativas, pero habitualmente se utiliza para estudiar procesos redox, para entender reacciones intermedias, para verificar la estabilidad de los productos de reacción y con lenguas electrónicas.

En la figura 9 se representa un diagrama básico de la técnica voltametría cíclica. Primero se establece o diseña el barrido de potencial a aplicar (gráfica a la izquierda), mediante un equipo electrónico de medida se le aplica a la muestra (en el centro), y se mide la corriente de respuesta (gráfica de la derecha).

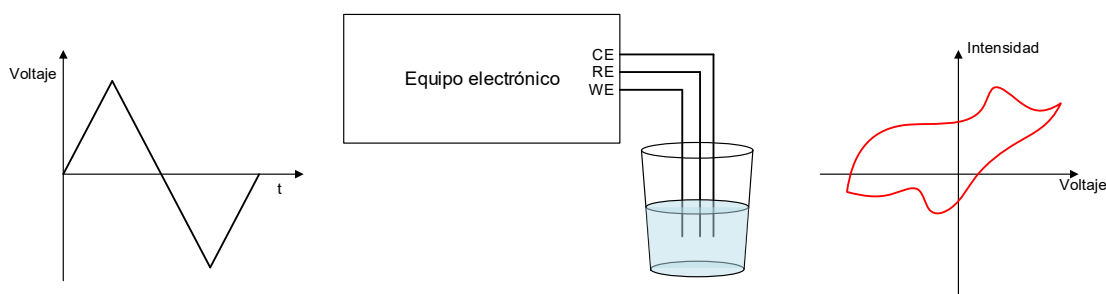


Figura 9: diagrama de funcionamiento de la voltametría cíclica.

Todas estas técnicas pueden describirse como funciones del potencial, la intensidad y el tiempo, por lo que deben considerarse técnicas activas opuestas a técnicas pasivas como la potenciometría, ya que el potencial aplicado fuerza un cambio en la concentración de las especies electroactivas, bien oxidándolas electroquímicamente o reduciéndolas.

6.2 Potenciometría

Las técnicas potenciométricas se basan en la medida del potencial eléctrico de celdas electroquímicas en ausencia de corriente eléctrica apreciable. Desde principios del siglo XX, la potenciometría se ha utilizado para identificar el punto final en métodos de análisis volumétricos. Posteriormente se desarrollaron métodos en los que se pueden determinar las concentraciones iónicas de disoluciones mediante la medida del potencial de un electrodo de membrana selectiva de iones (ISE, del inglés Ion Selective Electrode). Alguno de estos

electrodos no sufren interferencias importantes y proporcionan un método rápido y sencillo para la estimación cuantitativa de multitud de cationes y aniones de interés [84].

Cuando se realiza una medida, no hay circulación de corriente debido a que el equipo electrónico de medida presenta una resistencia de entrada teóricamente infinita, y así el potencial en cada electrodo puede calcularse mediante la ecuación de Nernst (ecuación 9). Por lo tanto, la medida de este potencial depende de varios factores, como la composición y concentración de las especies electroactivas, su temperatura, el material del que están hechos los electrodos, etc. De este modo es posible establecer una relación directa entre el valor del potencial con la concentración de la disolución simple.

Para que esta técnica sea efectiva, el potencial de uno de los electrodos no debe variar (electrodo de referencia) para así evaluar los cambios en el otro electrodo (de trabajo o indicador). Por eso se utilizan electrodos de referencia que sean capaces de mantener un potencial estable frente a cambios en la concentración de la disolución, los más comunes son el de Ag/AgCl y el electrodo de calomelanos.

Contando con la estabilidad del electrodo de referencia es importante elegir correctamente el material del electrodo de trabajo, ya que así será más sencillo establecer una relación directa entre la concentración de la disolución y el potencial medido entre ambos electrodos.

En el caso de disoluciones formadas por varias especies, la ecuación de Nernst ya no depende únicamente de un solo soluto, sino que el potencial depende de la interacción del conjunto de especies electroactivas en la disolución [85], esto impide, obviamente, establecer una relación directa entre el potencial medido entre ambos electrodos y la concentración de una de las especies que conforman esta disolución. Como solución a esta problemática, se suelen utilizar los electrodos ISE, como se ha comentado anteriormente. Sin embargo, no siempre es posible conseguir la selectividad deseada con estos electrodos ISE, esto motivó el uso de conjuntos de sensores con sensibilidad cruzada para cuantificar especies electroactivas en matrices complejas en formato lengua (o nariz) electrónica.

Los dispositivos para la medida de potenciometría son equipos sencillos y relativamente económicos. El sistema requiere de un electrodo de referencia, un electrodo de trabajo y el dispositivo de medida.

6.3 Conductimetría

La conductimetría es el conjunto de métodos de análisis de una disolución basados en la medida de su conductividad eléctrica. Es una magnitud característica de todo conductor de la electricidad y es en valor igual a la inversa de la resistencia específica o resistividad del mismo; en el caso de un conductor electrolítico, la conductividad está relacionada con la movilidad de los iones en disolución, mientras que en los conductores metálicos la conductividad está relacionada con la movilidad electrónica. En disoluciones, la concentración de un electrolito es casi una función lineal de la conductividad, lo que proporciona la base del método analítico. No obstante, la conductividad depende también de la existencia de otros electrolitos presentes y de los distintos tipos de iones que dé lugar a la disociación del electrolito; esto hace que el método no sea muy específico.

Cuando una sustancia química iónica pasa a disolución, se disocia en los correspondientes iones, dando lugar a una disolución conductora, ver ecuación 11:



Esta disociación nunca es totalmente completa, salvo en disoluciones diluidas de electrolitos fuertes. Como los iones tienen una carga eléctrica dada, si se introducen en disolución dos electrodos metálicos y se establece entre ellos una diferencia de potencial, las especies iónicas se desplazarán respectivamente hacia los electrodos con carga eléctrica opuesta. Este movimiento de los iones es lo que hace conductora a la disolución.

Dado que la resistencia (R) es una función de la superficie de electrodos (s) y distancia entre ellos (l), tenemos la ecuación 12:

$$R = \rho \cdot \frac{l}{s} \quad (12)$$

Donde ρ es la resistividad eléctrica del material.

Como la conductividad es la inversa de la resistencia, obtenemos la ecuación 13:

$$\frac{1}{R} = \frac{s}{\rho \cdot l} = \frac{\chi \cdot s}{l} \quad (13)$$

Donde χ es la conductancia o conductividad específica del material, y es la inversa de la resistividad y al valor l / S se le denomina constante de celda. Las unidades de la conductancia son también inversas de la resistencia, ohm^{-1} , cuyo nombre habitual es el Siemens (o mho).

6.4 Espectroscopía de impedancias

La impedancia puede relacionarse a nivel teórico con las propiedades dieléctricas del material. Conceptualmente, la impedancia es la oposición que un material ejerce al paso de una corriente a través de él, lo que es consecuencia directa de su composición y naturaleza interna (número de iones, microestructura electrolítica, etc.). Su respuesta depende tanto de las propiedades dieléctricas del material como de las características físicas y geométricas del electrodo, que viene determinado por la constante de celda.

La espectroscopía de impedancias puede definirse como un método de caracterización de las propiedades eléctricas de un material y de su interfaz con los electrodos. Esta técnica consiste en aplicar estímulos eléctricos a los electrodos, observar su respuesta y determinar las propiedades, interacciones y dependencias con determinados factores. La respuesta eléctrica puede variar substancialmente dependiendo de las cargas presentes (iones libres), la microestructura y naturaleza del material o electrolito y la textura, geometría y naturaleza del electrodo [86].

La espectroscopía de impedancias es una técnica analítica que se basa en la medición de la impedancia de un sistema en función de la frecuencia. Se puede medir la impedancia de muestras líquidas y sólidas. En el campo de la electroquímica suele utilizarse tanto para medidas en el material (o disolución) como en la interfaz con el electrodo.

Las magnitudes de la espectroscopía de impedancias se describen en el plano complejo, por ello se pueden describir en base a su módulo y fase. Cuando se realiza una medida de espectroscopía de impedancias se aplican señales senoidales de tensión a distintas frecuencias, para cada una de estas frecuencias se calcula un valor de impedancia. El cálculo se realiza midiendo la corriente resultante, del cociente entre la amplitud de la tensión aplicada y la intensidad medida se obtiene el valor del módulo de la impedancia; para el cálculo de la fase se multiplica el desfase temporal entre las dos señales por 2π y por la frecuencia, ver figura 10. El espectro de impedancias es el que viene formado por todos los valores de impedancia en el rango de frecuencias en el que se han tomado las medidas.

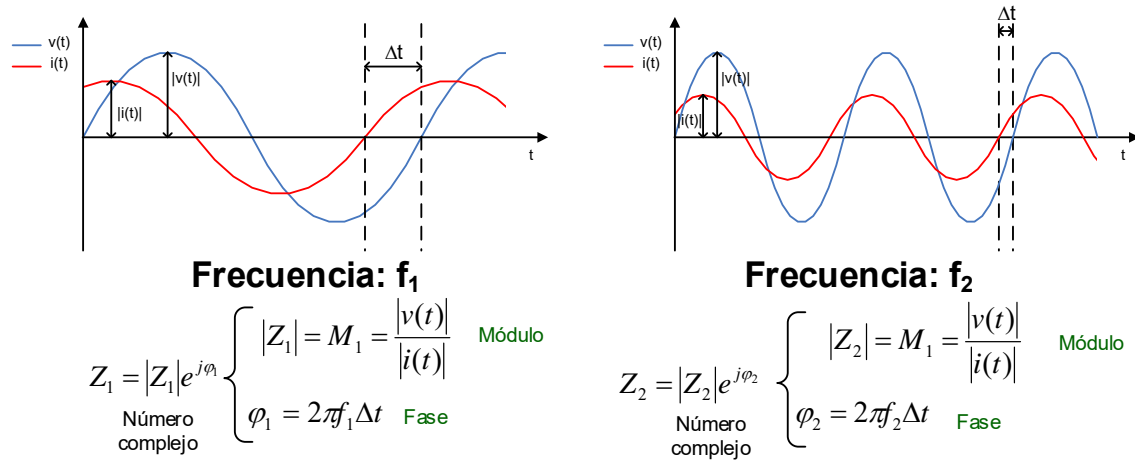


Figura 10: señales en la medida de espectroscopía de impedancias [73].

Las medidas de la impedancia eléctrica se han utilizado en numerosos campos durante décadas en multitud de aplicaciones [87,88]. El valor de una sola frecuencia es limitado y está sujeto a errores y variaciones. Estas medidas son más útiles a la hora de diferenciar cambios apreciables en la conductividad que para medir cambios estructurales en la muestra. La espectroscopía de impedancia, por otro lado, proporciona una información más completa acerca de la estructura eléctrica de la muestra, lo que permite separar los componentes resistivos de los reactivos.

7 Referencias bibliográficas

- [1] Buck, L.B.: ‘The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals’. Cell, 2000, 100, pp. 611–618.
- [2] Walker, D.B., Walker, J.C., Cavnar, P.J., et al.: ‘Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity’. Applied Animal Behaviour Science, 2006, 97(2-4), pp. 241–254
- [3] Craven, B.A., Paterson, E.G., Settles, G.S.: ‘The fluid dynamics of canine olfaction: unique nasal airflow patterns as an explanation of macrosmia’. Journal of The Royal Society Interface, 2010, 7(47), pp. 933–943.

- [4] Furton, K.G., Hong, Y.-C., Hsu, Y.-L., Luo, T., Rose, S., Walton, J.: 'Identification of odor signature chemicals in cocaine using solid-phase microextraction-gas chromatography and detector-dog response to isolated compounds spiked on U.S. paper currency'. *Journal of Chromatographic Science*, 2002, 40(3), pp. 147–155.
- [5] Furton, K.G., Myers, L.J.: 'The scientific foundation and efficacy of the use of canines as chemical detectors for explosives'. *Talanta*, 2001, 54, pp. 487–500.
- [6] Cornu, J.N., Cancel-Tassin, G., Ondet, V., Girardet, C., Cussenot, O.: 'Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis'. *European Urology*, 2011, 59, (2), pp. 197–201.
- [7] Persaud, K., Dodd, G.: 'Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose'. *Nature*, 1982, 299, pp. 352–355.
- [8] Gardner, J.W., Bartlett, P.N.: 'A brief history of electronic nose'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1993, 18, pp. 211-220.
- [9] Holmberg, M., Eriksson, M., Krantz-Rülcker, C., et al.: '2nd workshop of the Second Network on Artificial Olfactory Sensing (NOSE II)'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2004, 101(1-2), pp. 213–223.
- [10] Pravdová, V., Pravda, M., Guilbault, G.G.: 'Role of chemometrics for electrochemical sensors'. *Analytical Letters*, 2002, 35(15), pp. 2389–2419.
- [11] Ciosek, P., Wróblewski, W.: 'The analysis of sensor array data with various pattern recognition techniques'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2006, 114(1), pp. 85–93.
- [12] Vlasov, Y., Legin, A., Rudnitskaya, A., Natale, C. D. I., D'Amico, A.: 'Nonspecific sensor arrays ("electronic tongue") for chemical analysis of liquids (IUPAC Technical Report)'. *Pure and Applied Chemistry*, 2005, 77(11), 1965–1983.
- [13] Boeker, P.: 'On 'Electronic Nose' methodology'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 204(1), pp. 2-17.
- [14] Mielle, P.: 'Electronic noses: Towards the objective instrumental characterization of food aroma'. *Trends in Food Science & Technology*, 1996, 7(12), pp. 432-438.
- [15] Mielle, P., Marquis, F., Latrasse, C.: 'Electronic noses: specify or disappear'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2000, 69(3), pp. 287-294.

- [16] Winquist, F., Holmin, S., Krantz-Rülcker, C., Wide, P., Lundström, I.: 'A hybrid electronic tongue'. *Analytica Chimica Acta*, 2000, 406(2), pp. 147–157.
- [17] Gutiérrez, M., Domingo, C., Vila-Planas, J., et al.: 'Hybrid electronic tongue for the characterization and quantification of grape variety in red wines'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011, 156(2), pp. 695–702.
- [18] *Organic Sensors: Materials and Applications*. Garcia-Breijo, E., Gómez-Lor Pérez, B., Cosseddu, P. (Eds.). IET Digital Library, 2016.
- [19] *Biology: A Modern Introduction*. Beckett, B. S. Oxford University Press, 1986.
- [20] *Binocular Vision and Stereopsis*. Howard, I.P., Rogers, B.J. Oxford University Press, 1995.
- [21] Henson, O.W.: 'The activity and function of the middle-ear muscles in echo-locating bats'. *The Journal of Physiology*, 1965, 180(4), pp. 871–887.
- [22] Di Natale, C., Paolesse, R., Macagnano, A., et al.: 'Application of a combined artificial olfaction and taste system to the quantification of relevant compounds in red wine'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2000, 69(3), pp. 342–347.
- [23] Apetrei, C., Apetrei, I.M., Villanueva, S., de Saja, J.A., Gutierrez-Rosales, F., Rodriguez-Mendez, M.L.: 'Combination of an e-nose, an e-tongue and an e-eye for the characterisation of olive oils with different degree of bitterness'. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 663(1), pp. 91–7.
- [24] Peris, M., Escuder-gilabert, L.: 'A 21st century technique for food control: Electronic noses'. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 638, pp. 1–15.
- [25] Brattain, W.H., Bardeen, J.: 'Surface Properties of Germanium'. *Bell System Technical Journal*, 1953, 32, pp. 1–41.
- [26] Yamazoe, N.: 'New approaches for improving semiconductor gas sensors'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1991, 5(1-4), pp. 7–19.
- [27] Sberveglieri, G.: 'Recent developments in semiconducting thin-film gas sensors'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1995, 23(2-3), pp. 103–109.
- [28] Meixner, H., Lampe, U.: 'Metal oxide sensors'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1996, 33(1-3), pp. 198–202.

- [29] Tobias, P., Mårtensson, P., Baranzahi, A., et al.: 'Response of metal–insulator–silicon carbide sensors to different components in exhaust gases'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1998, 47(1-3), pp. 125–130.
- [30] Lloyd-Spez, A., Tobias, P., Ekedahl, L.-G., Martensson, P., Lundstrom, I.: 'Fast chemical sensors for emission control'. *Journal of The Royal Society Interface*, 1998, 7(4), pp. 34–38.
- [31] Pearce, T.C., Schiffman, S.S., Nagle, H.T., Gardner, J.W. (Eds.): 'Handbook of Machine Olfaction: Electronic Nose Technology'. John Wiley & Sons, Inc., 2006.
- [32] Tsumura, A., Koezuka, H., Ando, T.: 'Macromolecular electronic device: Field-effect transistor with a polythiophene thin film'. *Applied Physics Letters*, 1986, 49, pp. 1210-1212.
- [33] Tsumura, A., Koezuka, H., Ando, T.: 'Polythiophene field-effect transistor: Its characteristics and operation mechanism'. *Synthetic Metals*, 1988, 25(1), pp. 11–23.
- [34] Miasik, J.J., Hooper, A., Tofield, B.C.: 'Conducting polymer gas sensors'. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 1986, 82(4), pp. 1117–1126.
- [35] Jiakun, W., Hirata, M.: 'Research into normal temperature gas-sensitive characteristics of polyaniline material'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1993, 12(1), pp. 11–13.
- [36] Heeger, A. J.: 'Semiconducting and metallic polymers: the fourth generation of polymeric materials'. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2001, 105 (36), pp 8475–8491.
- [37] Bartlett, P.N., Gardner, J.W. (Eds.): 'Odour Sensors for an Electronic Nose - Sensors and Sensory Systems for an Electronic Nose'. Springer Netherlands, 1992, pp. 31–51.
- [38] Fratoddi, I., Venditti, I., Cametti, C., Russo, M.V.: 'Chemiresistive polyaniline-based gas sensors: A mini review'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2015, 220, pp. 534–548.
- [39] Barisci, J.N., Wallace, G.G., Andrews, M.K., Partridge, A.C., Harris, P.D.: 'Conducting polymer sensors for monitoring aromatic hydrocarbons using an electronic nose'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2002, 84(2-3), pp. 252–257.
- [40] Matsuguchi, M., Umeda, S., Sadaoka, Y., Sakai, Y.: 'Characterization of polymers for a capacitive-type humidity sensor based on water sorption behavior'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1998, 49(3), pp. 179–185.

- [41] Crone, B., Dodabalapur, A., Gelperin, A., et al.: 'Electronic sensing of vapors with organic transistors'. *Applied Physics Letters*, 2001, 78(15), pp. 2229.
- [42] Kim, K.C., Cho, S.M., Choi, H.G.: 'Detection of ethanol gas concentration by fuel cell sensors fabricated using a solid polymer electrolyte'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2000, 67, pp. 194–198.
- [43] Patra, D., Mishra, A.K.: 'Fluorescence quenching of benzo[k]fluoranthene in poly(vinyl alcohol) film: a possible optical sensor for nitro aromatic compounds'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2001, 80(3), pp. 278–282.
- [44] Brédas, J.L., Scott, J.C., Yakushi, K., Street, G.B.: 'Polarons and bipolarons in polypyrrole: Evolution of the band structure and optical spectrum upon doping'. *Physical Review B*, 1984, 30(2), pp. 1023–1025.
- [45] Chang, Z.T., Cherry, B., Marosszeky, M.: 'Polarisation behaviour of steel bar samples in concrete in seawater. Part 1: Experimental measurement of polarisation curves of steel in concrete'. *Corrosion Science*, 2008, 50, pp. 357–364.
- [46] Randles, J.E.B.: 'THE DETERMINATION OF KINETIC PARAMETERS OF REDOX REACTIONS FROM CURRENT–POTENTIAL CURVES'. *Canadian Journal of Chemistry*, 1959, 37, pp. 238–246.
- [47] Shirakawa, H., Louis, E.J., Macdiarmid, A. G., Chiang, C. K., Heeger, A. J.: 'Synthesis of Electrically Conducting Organic Polymers: Halogen Derivatives of Polyacetylene, (CH)_x'. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1977, pp. 578-580.
- [48] Bartlett, P.N., Ling-Chung, S.K.: 'Conducting polymer gas sensors part II: response of poly(pyrrole) to methanol vapour', *Sensors and Actuators*, 1989, 19, pp. 141-150.
- [49] Koezuka, H., Tsumura, A., Ando, T.: 'Field-effect transistor with polythiophene thin film'. *Synthetic Metals*, 1987, 18, pp. 699-704.
- [50] Waghuley, S.A., Yenorkar, S.M., Yawale, S.S., Yawale, S.P.: 'Application of chemically synthesized conducting polymer-polypyrrole as a carbon dioxide gas sensor'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, 128, pp. 366–373.
- [51] Cho, J.H., Yu, J.B., Kim, J.S., et al.: 'Sensing behaviors of polypyrrole sensor under humidity condition'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2005, 108, pp. 389–392.

- [52] Pirsá, S., Alizadeh, N.: 'Design and fabrication of gas sensor based on nanostructure conductive polypyrrole for determination of volatile organic solvents'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2010, 147, pp. 461–466.
- [53] Gonçalves, V.C., Balogh, D.T.: 'Optical VOCs detection using poly(3-alkylthiophenes) with different side-chain lengths'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2009, 142, pp. 55–60.
- [54] Li, B., Santhanam, S., Schultz, L., Jeffries-EL, M., Iovu, M.C., et al.: 'Inkjet printed chemical sensor array based on polythiophene conductive polymers'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2007, 123, pp. 651–660.
- [55] Ma, X., Li, G., Xu, H., Wang, M., Chen, H.: 'Preparation of polythiophene composite film by in situ polymerization at room temperature and its gas response studies'. *Thin Solid Films*, 2006, 515, pp. 2700–2704.
- [56] Vellekoop, M.J.: 'Acoustic wave sensors and their technology'. *Ultrasonics*, 1998, 36(1-5), pp. 7-14.
- [57] Johannsmann, D.: 'Viscoelastic, mechanical, and dielectric measurements on complex samples with the quartz crystal microbalance'. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2008, 10(31), pp. 4516–4534.
- [58] Minot, B., Frenois, C., Besnard, S., Bordet, J., Martins, N.: 'Sensitive Materials for chemical agents vapor detection using SAW sensors'. *Procedia Engineering*, 2016, 168, pp. 423-427.
- [59] García, M., Fernández, M.J., Fontecha, J.L., Lozano, J., Santos, J.P., Aleixandre, M., Horrillo, M. C.: 'Differentiation of red wines using an electronic nose based on surface acoustic wave devices'. *Talanta*, 2006, 68, pp. 1162–1165.
- [60] Sunil, T.T., Chaudhuri, S., Mishra, V.: 'Optimal selection of SAW sensors for E-Nose applications'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2015, 219, pp. 238-244.
- [61] Wilson, A., Baietto, M. 'Applications and advances in electronic-nose technologies'. *Sensors*, 2009, 9(7), pp. 5099–5148.
- [62] Aernecke, M.J., Walt, D.R.: 'Optical-fiber arrays for vapor sensing'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2009, 142(2), pp. 464–469.

- [63] Rakow, N.A., Sen, A., Janzen, M.C., Ponder, J.B., Suslick, K.S.: 'Molecular recognition and discrimination of amines with a colorimetric array'. *Angewandte Chemie - International Edition*, 2005, 44(29), pp. 4528–4532.
- [64] Alcañiz, M., Vivancos, J.-L., Masot, R., Ibañez, J., Raga, M., Soto, J., Martínez-Máñez, R.: 'Design of an electronic system and its application to electronic tongues using variable amplitude pulse voltammetry and impedance spectroscopy'. *Journal of Food Engineering*, 2012, 111(1), pp. 122–128.
- [65] Masot, R., Alcañiz, M., Fuentes, A., Schmidt, F.C., Barat, J.M., Gil, L., Soto, J.: 'Design of a low-cost non-destructive system for punctual measurements of salt levels in food products using impedance spectroscopy'. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2012, 158(2), pp. 217–223.
- [66] Escriche, I., Kadar, M., Domenech, E., Gil-Sánchez, L.: 'A potentiometric electronic tongue for the discrimination of honey according to the botanical origin. Comparison with traditional methodologies: Physicochemical parameters and volatile profile'. *Journal of Food Engineering*, 2012, 109(3), pp. 449–456.
- [67] Gil-Sánchez, L., Soto, J., Martínez-Máñez, R., Garcia-Breijo, E., Ibañez, J., Llobet, E.: 'A novel humid electronic nose combined with an electronic tongue for assessing deterioration of wine'. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2011, 171(2), pp. 152–158.
- [68] Hibbert, D.B.: 'Vocabulary of concepts and terms in chemometrics (IUPAC Recommendations 2016)'. *Pure and Applied Chemistry*, 2016, 88(4), pp. 407–443.
- [69] Chemometrics. Matthias Otto. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co., 2007.
- [70] A Guyon, I., Elisseeff, A.: 'An Introduction to Variable and Feature Selection'. *Journal of Machine Learning Research*, 2003, 3(3), pp. 1157–1182.
- [71] Moreno-Baron, L., Cartas, R., Merkoci, A., Alegret, S., del Valle, M., Leija, L., Hernández, P. R., Muñoz, R.: 'Application of the wavelet transform coupled with artificial neural networks for quantification purposes in a voltammetric electronic'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2006, 113, pp. 113, 487.
- [72] Gutes, A., Céspedes, F., Cartas, R., Alegret, S., del Valle, M., Gutiérrez, J. M., Muñoz, R.: 'Multivariate calibration model from overlapping voltammetric signals employing wavelet neural networks'. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2006, 83, pp. 169-179.

- [73] M. Alcañiz. Tesis doctoral: Diseño de un sistema de lengua electrónica basado en técnicas electroquímicas voltamétricas y su aplicación en el ámbito agroalimentaria. UPV (2011).
- [74] J. M. Gandia Romero. Tesis doctoral: Sensores electroquímicos aplicados al estudio de la corrosión en estructuras de hormigón armado. UPV (2014).
- [75] I. Campos. Tesis doctoral: Sensores electroquímicos tipo lengua electrónica voltamétrica aplicados al control medioambiental y a la industria alimentaria. UPV (2013).
- [76] Pascual, L., Campos, I., Bataller, R., Olguín, C., García-Breijo, E., Martínez-Mañez, R., Soto, J.: 'A "humid electronic nose" for the detection of nerve agent mimics; a case of selective sensing of DCNP (a Tabun mimic)'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 192, pp. 134–142.
- [77] Prieto, A., Prieto, B., Ortigosa, E. M., Ros, E., Pelayo, F., Ortega, J., Rojas, I.: 'Neural networks: An overview of early research, current frameworks and new challenges'. *Neurocomputing*, 2016, 214, pp. 242–268.
- [78] Bataller, R., Campos, I., Alcañiz, M., Gil-Sánchez, L., García-Breijo, E., Martínez-Mañez, R., Vivancos, J.L.: 'A humid electronic nose based on pulse voltammetry: A proof-of-concept design'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2013, 186, pp. 666–673.
- [79] Willshaw, D. J., Malsburg, C. V. D.: 'How Patterned Neural Connections Can Be Set Up by Self-Organization'. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 196, 194(1117), pp. 431–445.
- [80] Kohonen, T.: 'Self-organized formation of topologically correct feature maps'. *Biological Cybernetics*, 1982, 43(1), pp. 59–69.
- [81] Di Natale, C., Macagnano, A., Davide, F., D'Amico, A., Legin, et al.: 'Multicomponent analysis on polluted waters by means of an electronic tongue'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 1997, 44(1), pp. 423–428.
- [82] *Handbook of Electrochemistry*. Zoski, C.G. Elsevier B.V, (2007).
- [83] *Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Settle, F.A. Prentice Hall, 1997.
- [84] *Principles of Instrumental Analysis*. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. McGrawHill, 1992.

[85] Vlasov, Y.G., Legin, A.V, Rudnitskaya, A.M.: 'Electronic tongue: Chemical sensor systems for analysis of aquatic media'. *Russian Journal of General Chemistry*, 2008, 78(12), pp. 2532–2544.

[86] *Impedance Spectroscopy: Theory, Experiment, and Applications*. Barsoukov, E., Macdonald, J.R. John Wiley & Sons, Inc., 2005.

[87] Olivati, C.A., Riul, A., Balogh, D.T., Oliveira, O.N., Ferreira, M.: 'Detection of phenolic compounds using impedance spectroscopy measurements'. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2009, 32(1), pp. 41–46.

[88] Pérez-Esteve, E., Fuentes, A., Grau, R., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., Barat, J.M.: 'Use of impedance spectroscopy for predicting freshness of sea bream (*Sparus aurata*)'. *Food Control*, 2014, 35(1), pp. 360–365.

|Objetivos

Objetivos

1 Objetivo general

El objetivo general de esta tesis doctoral es el de desarrollar y validar un sistema de nariz electrónica húmeda para la detección de gases y vapores.

El sistema que se propone viene respaldado por tres publicaciones en revistas de investigación indexadas en el JCR (siglas de Journal Citation Reports, que es una publicación que refleja el impacto de citas en revistas científicas). En la primera publicación se presenta una prueba de concepto de la técnica propuesta y en la segunda se confirma su poder de discriminación con simulantes de agentes nerviosos. En la tercera publicación se lleva a cabo un análisis en profundidad de las medidas proporcionadas por técnicas utilizadas en esta nariz electrónica con el fin de resolver los problemas de reproducibilidad en las medidas voltamétricas.

2 Objetivos específicos

- Realizar la puesta a punto de un sistema de nariz electrónica que permita llevar a cabo ensayos fiables y reproducibles en ambientes de humedad, para evitar la problemática de las narices electrónicas tradicionales basadas en óxidos metálicos, donde la presencia de vapor de agua penaliza el rendimiento del sistema de medida.

Objetivos

- Estudiar la capacidad del sistema de nariz electrónica diseñado para discriminar la presencia de muestras complejas de naturalezas distintas y para la aplicación en concreto de detectar selectivamente la presencia de simulantes de agentes nerviosos.
- Estudiar en profundidad los problemas de reproducibilidad en las medidas voltamétricas que se dan en las lenguas electrónicas y en la nariz electrónica objeto de esta tesis, en particular, para así proponer una mejora de la reproducibilidad de las medidas con estos sistemas a través de un diseño de la celda electroquímica que garantice una distribución homogénea del campo eléctrico, y que suponga una mejora en su umbral de detección.
- A partir de las conclusiones obtenidas en el punto anterior, diseñar un nuevo sistema de nariz electrónica que permita realizar ensayos fiables y reproducibles en ambientes de humedad. El sistema a diseñar debe incorporar una aplicación de PC en Matlab que permita el control del dispositivo electrónico para la generación de las señales a aplicar y la recogida de datos, un equipo electrónico para la realización de ensayos de medidas de potenciometría y voltametría y un conjunto de sensores no específicos.

1. A humid electronic nose based on pulse voltammetry; a proof-of-concept design

Román Bataller Prats; Inmaculada Campos Sánchez; Miguel Alcañiz Fillol; Luis Gil Sánchez; Eduardo García Breijo; Ramón Martínez Máñez; Lluís Pascual Vidal; Juan Soto Camino; José-Luis Vivancos

Sensors and Actuators B: Chemical (2013)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2013.06.033>

Abstract

We report herein the design, manufacture and use of a “humid electronic nose” prototype based on voltammetric techniques. It consists in an array of four working electrodes (i.e., Au, Pt, Ir and Rh) housed inside a homemade stainless steel cylinder, in contact with a fabric mesh made of nylon damped with a NaCl aqueous solution, used as the supporting humid membrane. The “humid electronic nose” was tested for the discrimination of different samples displaying different volatile compounds. The samples chosen involve aqueous solutions of different simple volatile products (i.e., ammonia, acetone, acetic acid and 6-amino-1-hexanol) and different food samples (i.e., onion, coffee and Roquefort cheese). Under working conditions, the volatile compounds from the corresponding sample were generated in the measurement chamber and were partially dissolved in the damped nylon fabric, which was in contact with the set of electrodes. It was envisioned that provided different samples offer different vapours, the application of a suitable set of pulses to the electrodes will differentiate the samples. This proof-of-concept study employed a Large Amplitude Pulse Voltammetry (LAPV) waveform. The increment for the potential steps was of 200 mV and potentials ranged from +1 to -1 V with each pulse applied for 50 ms. PCA studies from the response obtained by the “humid electronic nose” discriminated the different samples studied. The neural network Self Organized Map (SOM) was also used to analyze the electrochemical data obtained from the “humid electronic nose”.

Keywords: Voltammetry; Wet electronic nose; PCA; ANN; SOM.

1.1 Introduction

Dodd and Persaud introduced the idea of an electronic nose as a device to mimic the discrimination of the mammalian olfactory system for smells [1]. With this goal in mind, the authors used three different metal oxide gas sensors and identified several substances by employing the measured steady-state signals of these sensors. In this particular area, one of the initial hopes was to instrumentally assess attributed descriptors such as fruity, grassy, earthy, malty, etc. by relying on the results of electronic nose measurements. The resulting receptor pattern, of biological inspiration, pretends to determine an impression of the odour in an attempt to mimic the principles of smelling. The sensor data are analyzed to extract features, which can be evaluated as a whole to eliminate redundancy and to obtain a description of the overall volatiles mix [2].

In most cases, classical electronic noses are built using metal oxide (MOX) sensors, although new technologies have recently entered this field. For instance, the same application has been found utilizing other transducer principles, such as acoustic wave (SAW, BAW) sensors, metal oxide semiconductor field effect transistors (MOSFETs), conducting polymers (CP), optical sensors, gas chromatography, ion mobility spectroscopy, infrared spectroscopy, etc. [3].

In the past two decades, the applicability of electronic noses has been tested in every imaginable field where odours or odourless volatiles and gases are thought to play a role [4-7]. For historical reasons, the main research fields for electronic nose technologies are still related to those areas where the human olfaction system is relevant. Typical examples have included the determination of the quality of complex food products, such as coffee, tea, olive oil, or wine [8, 9]. In fact in recent years, many efforts have been made in the field of foodstuff and beverages where, in addition to classification, time-dependent processes have been investigated [7-9].

Moreover, several amperometric electrochemical sensors have been developed over the past five decades to measure target gases such as oxygen and carbon dioxide [10-15]. These sensors have varied in their design, specifically in electrode dimension, electrode material, and choice of membrane, to improve performance, lifetime, and reliability, while reducing the cost

and size [16]. The target gas permeates to the working electrode through the gas permeable membrane where it is detected. Recently, the use of ionic liquids as solvents for the electrochemical detection of oxygen, carbon dioxide, and ammonia was reported [17-20]. Signalling of other target gases such as hydrogen have also been reported [21].

As stated above, electronic noses commonly use resistive sensors in most cases, whose impedances vary in the presence of certain gases. However, these sensors work in a “non-humid” environment, therefore the measurement techniques that can be applied under these conditions can be somewhat limited. As an alternative, we were interested in designing a “humid electronic nose” as a substitute for the use of classical electronic noses based on metal oxides. One advantage of employing a “humid electronic nose” design to evaluate the presence of volatile compounds is the possibility of employing a wider range of electrochemical techniques. In fact this allows to use classical techniques used in electronic tongues (such as voltammetry) in the detection of volatile derivatives from liquid or solid samples.

In fact in a recent work, we have shown the conceptual basis of how we can design a “humid electronic nose” [22]. This electronic nose was constructed using an array of potentiometric metal wire electrodes fitted to a wet nylon membrane. The “humid electronic nose” was used to detect the volatile compounds generated during the microbiological spoilage of wines and, together with an electronic tongue, it was employed to evaluate the time evolution of wine samples.

Based on these previous concepts, our aim was to demonstrate that it is possible to design a “humid electronic nose” using voltammetric techniques for the purpose of discriminate some substances and complex products producing volatile compounds. In particular, and partly given our interest in electronic tongues and noses [23-27], we report herein the design and application of a voltammetric “humid electronic nose” that uses a simple set of metallic electrodes placed on a wet setting. This proposed system detects volatile compounds that emanate from the sample and which are apprehended by a moist environment where electrodes are included. The use of such a “humid electronic nose” for the detection of volatile compounds is, as far as we know, new and it allows the employment of classical electrochemical techniques such as voltammetry, commonly used in electronic tongues, to analyze volatile substances.

1.2 Materials and Methods

1.2.1 Samples

The response of the “humid electronic nose” was studied in the presence of seven different samples: ammonia (1 mol dm⁻³, 20ml), acetic acid (1 mol dm⁻³, 20ml), acetone (1 mol dm⁻³, 20ml), onion (chopped, 20 grams), 6-amino-1-hexanol (1 mol dm⁻³, 20ml), coffee (ground, 20 grams) and Roquefort cheese (20 grams). The baseline current (referred to as the control sample) was measured with the “humid electronic nose” using an aqueous solution of NaCl (0.01 mol dm⁻³, 20ml) placed in the measuring chamber. For all the samples, the membrane in contact with the electrodes in the “humid electronic nose” was wet with an aqueous solution containing NaCl (0.01 mol dm⁻³).

1.2.2 Equipment

A system for pulse voltammetry implementation was designed in the Centro de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM) at the Universidad Politécnica de Valencia (UPV - Spain). The system consists of a software application that runs on a PC and electronic equipment [26-28].

The equipment generates a sequence of up to 50 pulses with an amplitude in the range of [-2V to +2V]. The width of the pulses can also be configured: [1 ms to 800 ms]. The equipment includes a potentiostat, which applies the voltage to the counter electrode of the electrochemical cell and measures the voltage at the reference electrode and the current at the working electrodes (up to 8).

The software application allows the setup of the pulse array parameters: number of pulses, amplitude of each pulse, width of the pulses. A different pulse pattern can be configured for each working electrode. Once the test has been configured, the application sends this information to the electronic equipment, which generates and applies the pulse array to the electrochemical cell, and also samples the voltage and current signals. The system collects

1000 current samples for each applied pulse array. Finally, the equipment sends these samples to the PC where the data are displayed and stored. This procedure is then repeated for the next working electrode of the sequence.

The electronic equipment includes a 16-bit microcontroller (PIC24FJ256), a 12-bit Digital-to-Analogue converter (DAC), two 12-bit Analogue-to-Digital converters (ADC) and a potentiostat that incorporates a current measurement circuit, a working electrode multiplexing block and a stabilization circuit.

1.2.3 Measurement procedure

The measuring chamber (Figure 1.b) consists of a sealed glass cell (750 ml) with a top cover with five inlets. The cell has been designed to avoid gas leaks. One inlet was for the “humid electronic nose”, one for the reference electrode, two for the argon line (inlet and outlet) and one for sample addition. The cell was thermostated with a circulating temperature controller. This glass reactor was used as the measuring chamber in which a given sample was directly introduced.

The “humid electronic nose” device (Item 1 in Figure 1.a) consists of an array of four working electrodes (i.e., Au, Pt, Ir and Rh) with 99.9% purity and 1-mm diameter from ALDRICH which were housed inside a homemade stainless steel cylinder used as the electronic nose body. The different wire electrodes were fixed inside the cylinder using an epoxy RS 199-1468 polymer. Before use, the electrode surface was prepared by mechanically polishing with emery paper and was rinsed with distilled water. Then it was polished on a felt pad with 0.05 μm alumina polish from BAS, washed with distilled water and polished again on a nylon pad with 15, 3 and 1 μm diamond polishes to produce a smooth, mirror-like electrode surface. Later during the development of series of measurements, only one simple diamond polishing was performed.

The fabric mesh (Item 2 in Figure 1.a) was used as the supporting humid membrane where vapours were trapped. The humid membrane came in contact with the electronic tongue. The fabric of the membrane was nylon with a fibre thickness of 350 microns separated by about 150 microns. The membrane was damped with a NaCl aqueous solution (0.01 mol dm⁻³). The role of the moistened fabric was to perform the absorption of the volatile compounds from the sample and to provide a conductive vehicle to the electrode interface. Before a new measurement was taken, the membrane was rinsed with distilled water, dried and then

moistened again with salt solution. The reference electrode was a Saturated Calomel Electrode (SCE), which was connected to the damped fabric with a curved low-density polyethylene (LDPE) tube with cotton at the end (Item 3 in Figure 1.a). The set of electrodes, the nylon fabric and the LDPE tube were held together with a PVC connector which has two pieces (Items 5a and 5b in Figure 1.a). The nylon membrane was trapped between these two pieces and was held still with a nylon screw (Item 4 in Figure 1.a). The LDPE tube was connected to the nylon membrane through a hole on the edge of the outer PVC piece, which allowed contact between the damp nylon fabric in contact with the working electrodes and the reference electrode. The measuring chamber was thermostated at 37°C. All the measurements were made under argon. Prior to the sample addition the argon atmosphere was created by displacing the air for 10 minutes with argon. The argon flow was stopped and then the sample was directly introduced into the measuring chamber and left for at least 5 min before the measurement was taken. This time period was established after studying the absorption processes of volatile substances (NH₃, HCl, etc.) in the nylon fabric membrane. After these 5 min had passed, the measurement was taken: i.e., the pulse pattern was applied and the current response of each electrode was measured and stored in the PC.

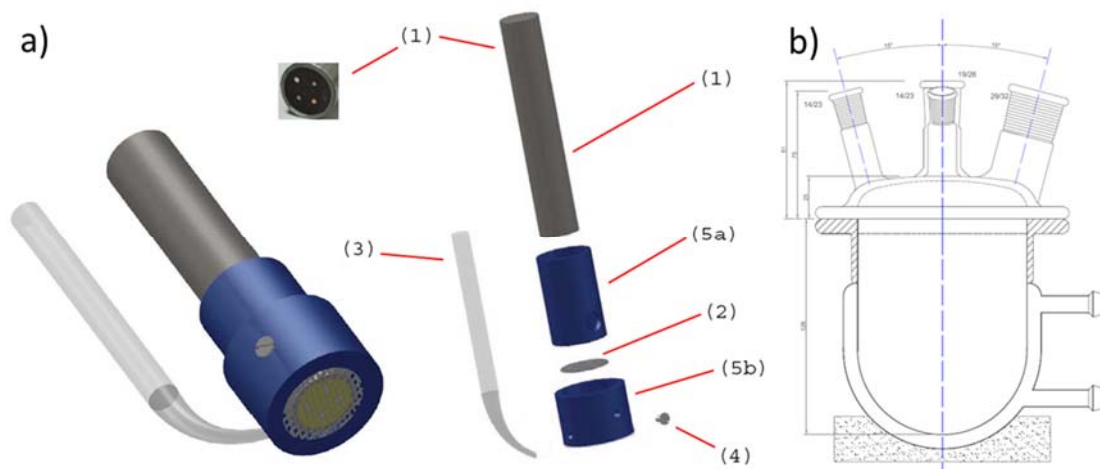


Figure 1. Humid Electronic Nose sketch. Description of parts: a) (1) humid electronic tongue; (2) humid membrane; (3) reference electrode and LDPE adapter; (4) nylon screw; (5) PVC adapters. b) Measuring chamber.

This study employed a Large Amplitude Pulse Voltammetry (LAPV) wave form [29,30]. Figure 2a shows the applied pulse pattern which consists of 40 pulses in a configuration similar to a staircase voltammetry, but the potential was set to 0 after each increment. In particular, the pulse sequence was: 0, 200, 0, 400, 0, 600, 0, 800, 0, 1000, 0, 800, 0, 600, 0, 400, 0, 200, 0, -200, 0, -400, 0, -600, 0, -800, 0, -1000, 0, -800, 0, -600, 0, -400, 0, -200, 0, 0, 0, 0 (mV). Each

pulse was applied for 50 ms. The increment for the potential steps was 200 mV, and the maximum and minimum potentials were chosen in order to avoid water electrolysis phenomena. Figure 2b illustrates the intensity/time diagram for an acetic acid 0.001 mol dm⁻³ solution using iridium as the working electrode, which overlapped the control sample response.

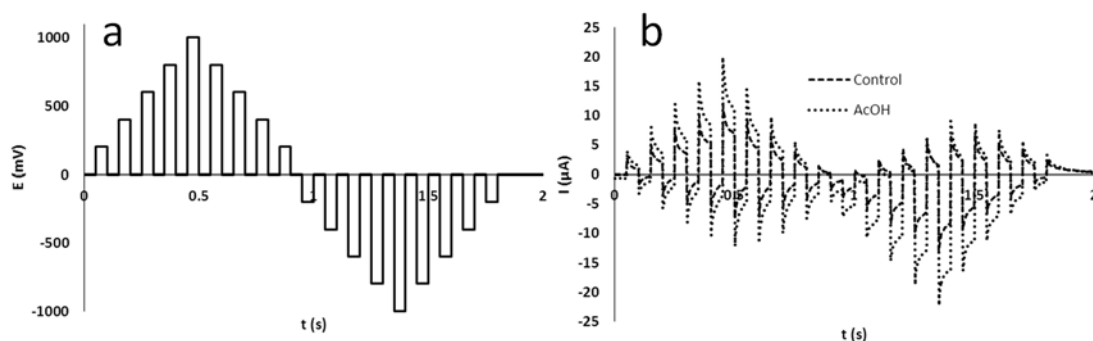


Figure 2. a) Applied voltammetric pulse pattern; b) response for control and AcOH (0.001 mol dm⁻³) samples using an Ir electrode.

1.2.4 Data analysis

In order to show the different responses of the “humid electronic nose” to the different samples, the voltammetric electrochemical response data were combined to form ensembles for pattern recognition in an attempt to discriminate samples. Hence, a multivariate data analysis (MVDA) was used for this purpose. A principal components analysis (PCA) proves an efficient approach for reducing the dimension of a data set [31]. In addition, artificial neural networks analyses have also been carried out to extend the statistical study of the resulting data.

The test settings in the software application were configured to measure five consecutive iterations; that is, the pulse pattern was applied to the four working electrodes (in this order: Ir, Rh, Pt and Au) and the test was run five times before the sealed measuring environment had to be opened to discard the sample and to prepare a new one. The resulting data contains 1000 current values for each applied pulse array, this is: 1000 current values x 4 electrodes x 5 iterations = 20000 current values for each measurement. Three replicates were measured for each of the eight samples, so this sums up: 20000 current values x 8 samples x 3 replicates = 480000 current values. Having this amount of data proved highly valuable to be able to discard

erratic data due to electric noise. These data were then preprocessed by calculating the mean of iterations in order to obtain a favourable signal-to-noise ratio, so the data set was reduced by 5 (480000 current values / 5 iterations = 96000) [26-28]. The last data preprocessing step was to subtract the baseline. The baseline was calculated in the same way as the rest of the samples, the same preprocessing steps were done and the mean of three baseline samples was calculated so that a single data set was used to be subtracted from the rest of the samples. The baseline samples were named control samples and they underwent no subtraction. The measurements were made on different days and for a given day the samples were measured randomly. No replicates were measured on the same day. Only the control sample (NaCl 0.01 mol dm⁻³) was measured at the starting of the experiments each day.

1.2.4.1 Principal Components Analysis (PCA)

Typically, a PCA decomposes the primary data matrix by projecting the multidimensional data set onto a new coordinate base, formed by the orthogonal directions with maximum data variance. The eigenvectors of the data matrix are called principal components and they are not intercorrelated because they are orthogonal. The principal components (PCs) are ordered so that PC1 displays the greatest amount of variance, followed by the next greatest PC2, and so on. The main PCA features are the coordinates of the data in the new base (scores plot) and the contribution of the sensors to each component (loading plot) [32]. In addition, in order to minimize effects that can derive from employing the electrodes (non-specific chemisorption or physisorption), after each voltammetric sequence, the electrodes surface was polished to provide a clean metal surface for the next measurement. Having done all the preprocessing, the PCA was calculated. All the statistical analyses were performed with the Solo application software (version 6.5, Eigenvector Research, Inc.).

1.2.4.2 Artificial Neural Networks

Neural networks constitute simple components that operate in parallel; these components are based on biological nervous systems. As in nature, the connections between components largely determine the network function. A neural network can be trained to perform a particular function by adjusting the values of the connections between elements. Neural networks have been trained to perform complex functions in various fields, including pattern recognition, identification or classification.

Data matrices generated by electronic tongue systems are generally considerable in size and neural networks tools are needed to process them. Among several types of neural networks, the following has been used in this work: Self-Organized Maps (SOM) as unsupervised network.

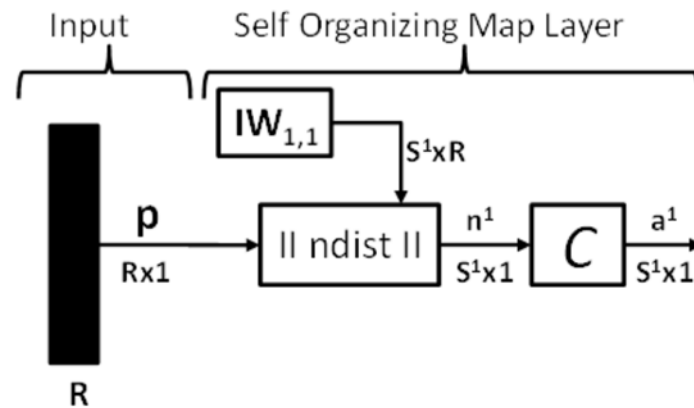


Figure 3. Self-Organizing Map Architecture.

The Self-Organizing Map (SOM), also known as the Kohonen Map, is an unsupervised neural model of widespread use in areas such as pattern recognition. The SOM is a neural network model that projects a high dimensional input space, usually onto one or two dimensional output space(s) by using unsupervised training. Given its typical two-dimensional shape, it is also easy to visualize. This architecture is similar to that of a competitive network, except no bias is used (Figure 3). The competitive transfer function produces 1 for output element a^1_i , the winning neuron. All the other output elements in a^1 are 0. [33]

1.3 Results and discussion

As stated above, due to our interest in designing electronic tongues and noses for different applications, we attempted to test the possible use of a voltammetric “humid electronic nose” for the discrimination of different samples. In our humid nose detection is based on the changes in the electrochemical properties that occur when a gas or vapour is dissolved by a

conductive membrane. The absorption processes of gases and vapours follow Henry's law, which states:

$$(A) = k_H \cdot f_A$$

where (A) is the activity of the absorbed substance in the liquid phase, k_H is the Henry's law constant which is dependent on the working temperature and composition of the liquid and f_A is the fugacity of the gas. As stated above this procedure allows using a wide range of electrochemical techniques (e.g. voltammetry) which could not be employed in classical electronic noses. Moreover the use of humid noses may attain additional advantages. For instance it is known that k_H for vapors in a liquid usually decreases when the temperature increases and this could be used as a preconcentration method for instance via heating up the sample while the temperature of the membrane in the humid nose is reduced. Moreover it is known that gas solubility in liquids depends on the chemical affinity between the liquid and the gas and could be used to modulate the selectivity of the 'humid electronic nose' towards different gases by using a particular solvent or a mixture of solvents in the membrane.

In this proof-of-concept design of a humid electronic nose based on pulse voltammetry we have used a static headspace technique for the volatile generation following similar procedures to those used for classical electronic noses. The samples chosen in this study involve aqueous solutions of different simple volatile compounds (i.e., ammonia, acetone, acetic acid and 6-amino-1-hexanol) and different food samples (i.e., onion, coffee and Roquefort cheese). These systems, showing very different natures, were chosen in order to gain a wide variety of samples which may provide a realistic view of the potential use of this electronic nose format. All the measurements were strictly taken under the same conditions: 37°C, argon atmosphere and polishing the surface of working electrodes before each new measurement. It was envisioned that, as long as different samples provide different vapours, the application of a suitable set of pulses to the electrodes will allow differentiating the samples. In this proof-of-concept study, a Large Amplitude Pulse Voltammetry (LAPV) wave form was used. The increment for the potential steps was of 200mV and potentials ranged from + 1 to -1 V, with each pulse applied for 50 ms. Samples were measured three times following a random sequence. Moreover, pure water containing NaCl was used as a control solution to determine the stability and repeatability of the system versus time.

1.3.1 PCA

The different electrochemical responses of each sample, using the “humid electronic nose”, were analysed by a PCA. This is a powerful linear unsupervised pattern recognition method. PCA is an efficient approach to diminish the dimensionality of a dataset. A PCA study of the full set of patterns revealed a medium degree of dispersion among the independent dimensions created by the linear combinations of the electrochemical responses of the four electrodes used in the array. The first PC contained 67.87% of the variance of the data, whereas the first two components represented 86.24% of total variance, while five PCs were needed to account for 96.06% of variance. This relatively large number of independent dimensions to account for most of the variance may be due to the different composition of the samples used, which generate very different volatile compounds during the experiments. Although a relatively large number of dimensions are required to explain total variance, PCA captured 86.23% of the variance observed in the experiment in the first two PCs. The plot of these two PCs on the x and y axes is shown in Figure 4, which displays the resulting PCA for eight samples (three replicates) when using the response of all four electrodes in the “humid electronic nose”. As observed, it was possible to discriminate among the samples studied. Moreover, when the control data were introduced into the PCA analysis, all the data were situated around the same place, which is in agreement with the systems’ capacity to differentiate the control from the rest of the samples. Moreover, as the control solutions were measured on different days, the results suggest a high degree of repeatability in the electrodes’ response. Clearer differentiation in the PCA plot was observed for the aqueous samples containing ammonia, acetic acid and for the Roquefort cheese. A second PCA plot in which these samples were omitted is shown in Figure 5. In this new plot, the first PC contained 69.69% of the variance of the data, whereas the first two PCs represented 81.31% of total variance. The figure depicts a relatively clear discrimination among the remaining samples.

From the plot, it is apparent that the “humid electronic nose” is able to differentiate not only samples containing simple compounds such as ammonium, acetone, acetic acid and 6-amino-1-hexanol, but also more complex samples with a number of volatile compounds that define their characteristic aroma such as Roquefort cheese, coffee and onion. In fact it has been reported that, for instance, in French blue cheeses, an important amount of methyl ketones was present in the flavour profile and a significant number of secondary alcohols and esters were also present [34]. In coffee, more than one thousand compounds, including furans, ketones, pyrazines, alcohols, aldehydes, esters, etc., are characteristic of their typical aroma

[35,36], whereas in chopped onion, a number of volatile oxygen derivatives (especially carbonyl compounds) and saturated and unsaturated disulphides have been found in the headspace [37]. Despite the presence of some of these compounds at a relatively low concentration, the “humid electronic nose” is able to show an electrochemical fingerprint response that characterizes the aroma of these specific foods.

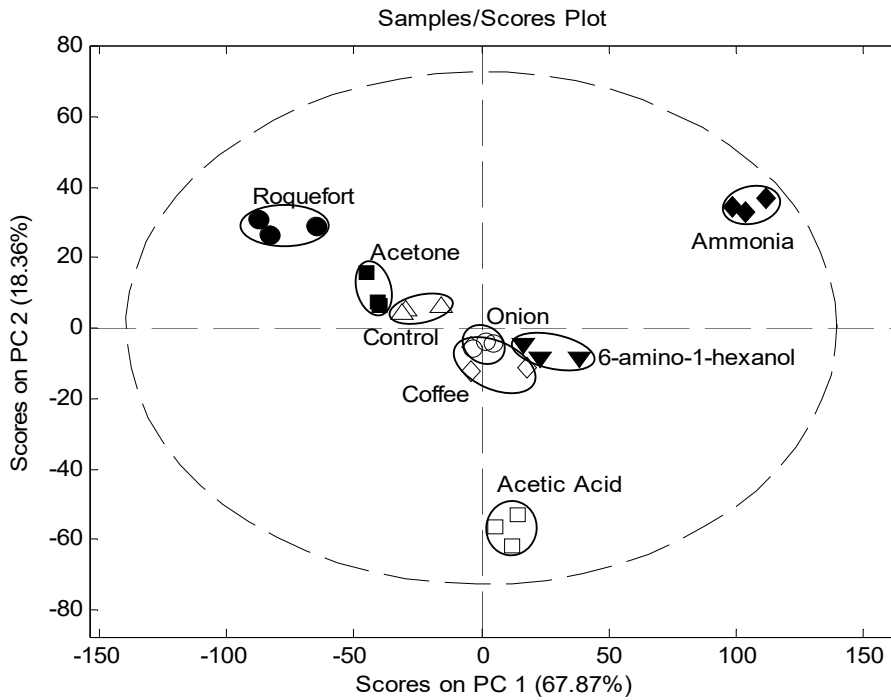


Figure 4. A PCA plot for the complete sample array.

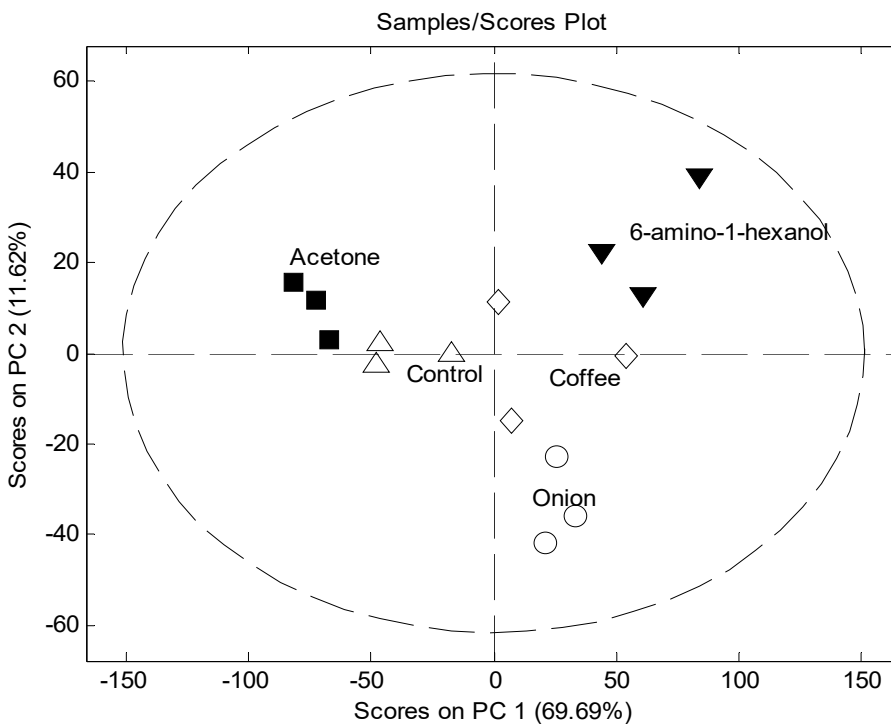


Figure 5. A PCA plot excluding NH₃, AcOH and Roquefort cheese samples.

In order to help identify the signals response of each electrode for the discrimination observed in the current pattern, a loading analysis was carried out. As the data set included a large number of data, the amount of points was reduced to make a loading plot viable, and only one of every 10 data points was used to construct the following plot figure. Most electrode responses are represented in the first two PCs (plot not shown), suggesting that the response of all four electrodes are captured by both PC1 and PC2. Besides when PC1, PC3 and PC4 are considered, the response of the Au electrode (triangles in Figure 6) forms a plane which is orthogonal to the plane of the data from the Ir and Pt electrodes (squares and circles in Figure 6), whereas the Rh electrode response (crosses in Figure 6) forms a third new plane, almost orthogonal to the Au and Ir-Pt planes.

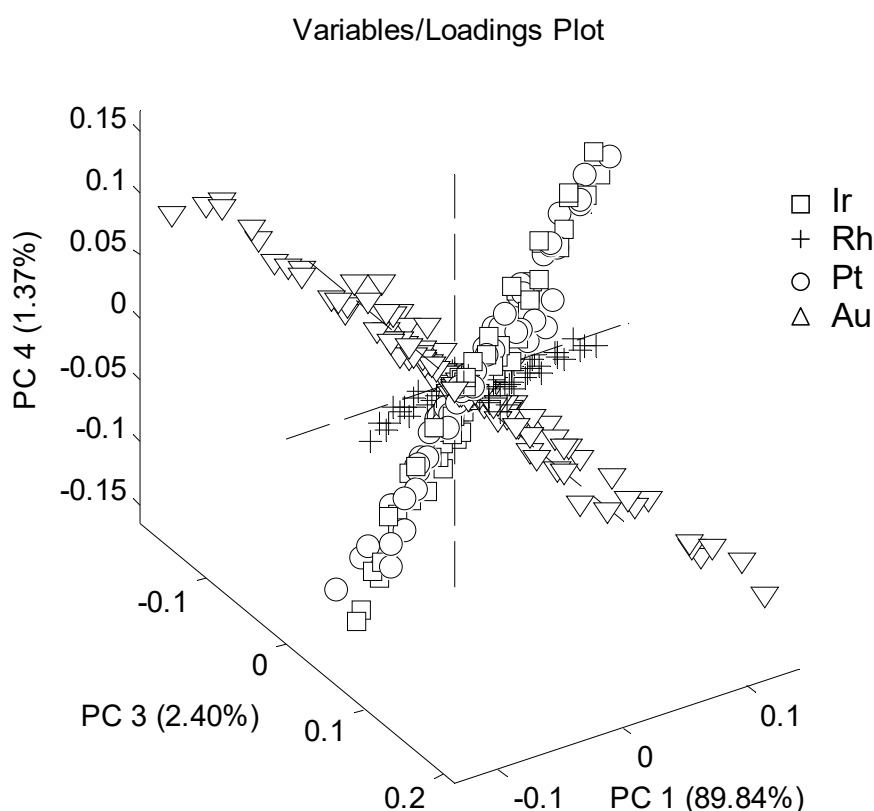


Figure 6. Plot of the loading factors for PC1, PC3 and PC4 using a reduced data set.

Accordingly with the figure the responses of Ir and Pt electrodes appear to be highly correlated. Based in this concept we carried out additional classification studies removing the data from Ir or Pt electrodes. Discarding the data from Ir or Pt sensor results in a very similar classification than when all the electrodes were used, however the systems needs more latent variables to achieve the same performance, which leads us to maintain data from all the electrodes in the dataset. These results make us think that the set of all four electrodes provides valuable and complementary information to help discriminate samples.

1.3.2 Classification with Self-Organized Maps

Apart from the study carried out with PCA analysis, the neural network Self-Organized Maps (SOM) has also been used to analyze the electrochemical data obtained from the “humid electronic nose”. Studies with the SOM neural network were carried out using the software application SOMmine 5 by Viscovery. The number of nodes used in all cases was 1000. The programme calculates a neighbourhood of at least 50 nodes with a linear neighbourhood weight function. Viscovery SOMine divides a map into regions, called clusters. The nodes of a cluster are similar in that they are neighbours in the data space. For this study, in order to reduce the number of data, the value for each pulse was calculated as the corresponding area enclosed by the current signal, so a single value is used for each pulse.

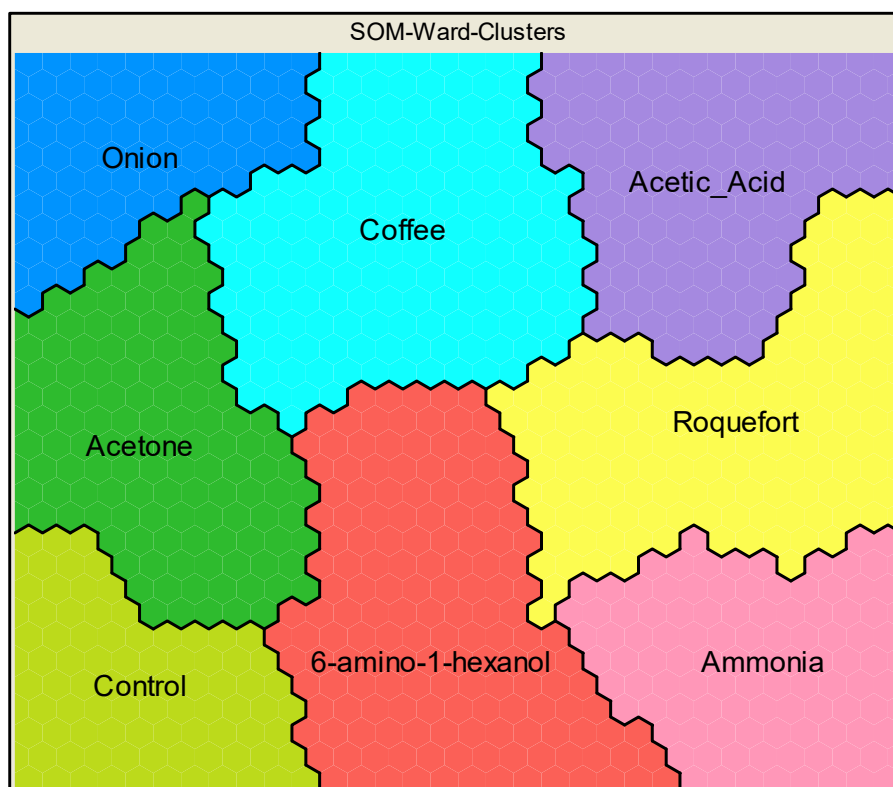


Figure 7. Classification with SOM using pulses P1, P2, P4, P6, P8 and P10.

The SOM neural network allows to carry out a study of the contribution that the different pulses make on the response of a selected electrode and the weight that a certain electrode has in the overall response obtained in the electronic nose in terms of the classification of different substances. In relation to the first issue, it was found that the pulses corresponding to a potential of 0 V (i.e., P1, P3, P5, P7, etc.) provided practically no information, except for pulse 1 (P1). Moreover, it was observed that the pulses with the same potential value (i.e., P2 and

P18, P4 and P16, P6 and P14 and P8 and P12) displayed similar information. The SOM analysis was also repeated for the negative pulses (P21 to P40). The maps reveal that the resemblance between pulses is not so obvious. Certain similarities in terms of response were observed in pulses P28, P26 and P30, but not for the rest of the pulses, and not even the same pulses in different metals were similar, as found for the positive pulses. Nevertheless, additional studies confirmed that negative pulses were not necessary to obtain a good classification as this was achieved using only the above-mentioned positive pulses. The study suggested that for this particular application, the use of pulses P1, P2, P4, P6, P8 and P10 sufficed to achieve a good classification (see Figure 7). As an example Figure 8 shows the SOM map of pulse 4 for the Ir electrode. As it can be observed this pulse has a large contribution to the detection of ammonia, but a medium-low contribution to the rest of samples.

Having studied the set of pulses, the contribution of different electrodes to the “humid electronic nose” response was also carried out. Several combinations of electrodes were tested, but it was generally established that a suitable response in terms of the correct classification of the different samples was observed when all four metal electrodes were in use. Based on these data, further studies were performed using all four metal electrodes and pulses P1, P2, P4, P6, P8 and P10.

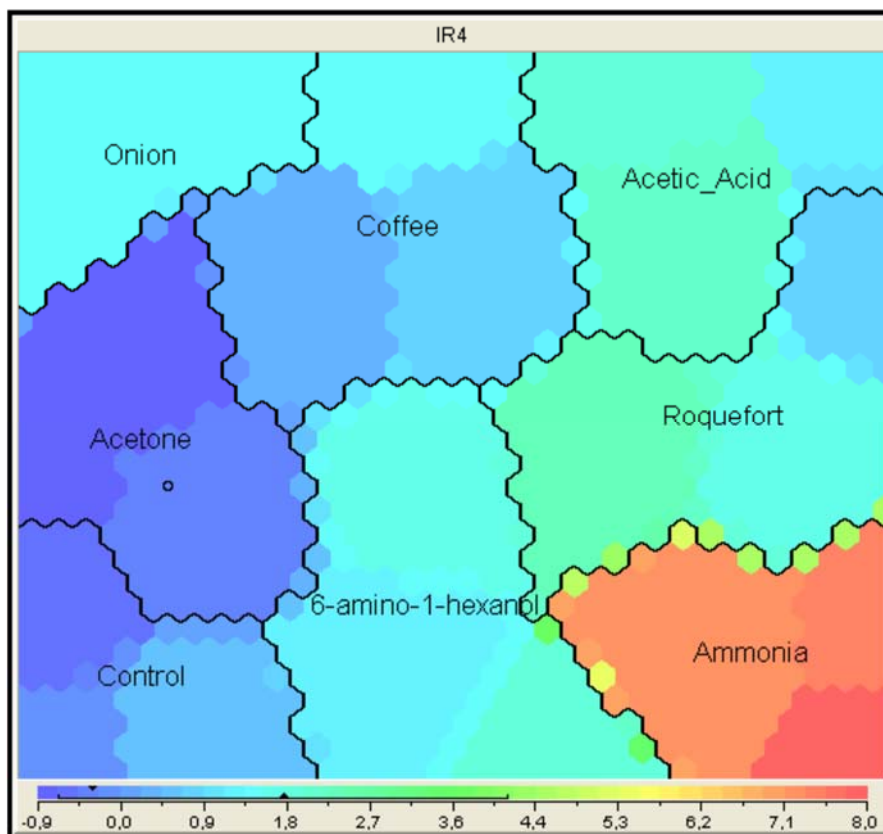


Figure 8. Contribution of P4 of the Ir electrode to the complete SOM classification.

1.4 Conclusions

We report herein the design, manufacture and use of a “humid electronic nose” prototype. This new system entails innovation in the electronic noses field, and it relies on the use of a wet environment to perform pulse voltammetry experiments on an array of four working electrodes (i.e., Au, Pt, Ir and Rh) which were in contact with a fabric mesh made of nylon damped with a NaCl aqueous solution. As a proof-of-concept, the “humid electronic nose” was able to “sense” the presence of aqueous solutions of different simple volatile compounds (i.e., ammonia, acetone, acetic acid and 6-amino-1-hexanol) and different food samples (i.e., onion, coffee and Roquefort cheese). PCA and SOM studies were performed. The neural network SOM allowed us to determine that good classification results were obtained when using all four electrodes and a set of only six pulses. From our point of view this opens new applications and allows to develop electronic noses following classical electronic tongue designs which can be applied to both liquid or solid samples (via the detection of volatile compounds). This preliminary study led us to believe that this “humid electronic nose” may be applied to a wide range of situations, in the food industry (e.g. inspection of food quality control, monitoring fermentation processes, checking rancidity and spoilage, flavor control, etc.) and in environmental monitoring (e.g. for testing ground water for odors, identification of toxic wastes, air quality monitoring, monitoring factory emissions, etc.). Moreover, although we have used in this this proof-of-concept design a static headspace technique for the volatile generation other configurations will be studied in due course.

Acknowledgement

The financial support from the Spanish Government (project MAT2012-38429-C04) and the Generalitat Valenciana (Valencian Regional Government; project PROMETEO/2009/016) is gratefully acknowledged.

1.5 References

- [1] K.C. Persaud, G. Dodd, Nature analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose, *Nature* 299 (1982) 352–355.
- [2] F. Rock, N. Barsan, U. Weimar, Electronic nose: current status and future trends, *Chemical Reviews* 108 (2008) 705–725.
- [3] R.D.S. Yadava, Ruchi Chaudhary, Solvation, transduction and independent component analysis for pattern recognition in SAW electronic nose, *Sensors and Actuators B: Chemical* 113 (2006) 1–21.
- [4] S. Ampuero, J.O. Bosset, The electronic nose applied to dairy products: a review, *Sensors and Actuators B: Chemical* 94 (2003) 1–12.
- [5] D.J. Strike, M.G.H. Meijerink, M. Koudelka-Hep, Electronic noses – a minireview, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 364 (1999) 499–505.
- [6] J.W. Gardner, P.N. Bartlett, A brief history of electronic noses, *Sensors and Actuators B: Chemical* 211 (1994) 18–19.
- [7] I.A. Casalnuovo, D. Di Pierro, M. Coletta, P. Di Francesco, Application of electronic noses for disease diagnosis and food spoilage detection, *Sensors* 6 (2006) 1428–1439.
- [8] S. Capone, C. Distanto, L. Francioso, D. Presicce, A.M. Taurino, P. Siciliano, M.J. Zuppa, The electronic nose applied to food analysis, *Journal of the Argentine Chemical Society* 93 (2005) 123–135.
- [9] A.K. Deisingh, D.C. Stone, M. Thompson, Applications of electronic noses and tongues in food analysis, *International Journal of Food Science & Technology* 39 (2004) 587–604.
- [10] D.E. Carritt, J.W. Kanwisher, Electrode system for measuring dissolved oxygen, *Analytical Chemistry* 31 (1959) 5–9.
- [11] O.J. Jensen, T. Jacobsen, K. Thomsen, Membrane-covered oxygen electrodes: I. Electrode dimensions and electrode sensitivity, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 87 (1978) 203–211.

- [12] W. John Albery, P. Barron, A membrane electrode for the determination of CO₂ and O₂, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 138 (1982) 79–87.
- [13] Z. Cao, W.J. Buttner, J.R. Stetter, The properties and applications of amperometric gas sensors, *Electroanalysis* 4 (1992) 253–266.
- [14] S.C. Chang, J.R. Stetter, C.S. Cha, Amperometric gas sensors, *Talanta* 40 (1993) 461–477.
- [15] F. Tebizi-Tighilt, F. Zane, N. Belhaneche-Bensemra, S. Belhousse, S. Sam, N. Gabouze, Electrochemical gas sensors based on polypyrrole-porous silicon, *Applied Surface Science* 269 (2013) 180–183.
- [16] M.C. Buzzeo, C. Hardacre, R.G. Compton, Use of room temperature ionic liquids in gas sensor design, *Analytical Chemistry* 76 (2004) 4583–4588.
- [17] I.M. AlNashef, M.L. Leonard, M.C. Kittle, M.A. Matthews, J.W. Weidner, Electrochemical generation of superoxide in room-temperature ionic liquids, *Electrochemical and Solid-State Letters* 4 (2001) D16–D18.
- [18] I.M. AlNashef, M.L. Leonard, M.A. Matthews, J.W. Weidner, Superoxide electrochemistry in an ionic liquid, *Industrial and Engineering Chemistry Research* 41 (2002) 4475–4478.
- [19] M.C. Buzzeo, O.V. Klymenko, J.D. Wadhawan, C. Hardacre, K.R. Seddon, R.G. Compton, Voltammetry of oxygen in the room-temperature ionic liquids 1-ethyl-3-methylimidazolium bis((trifluoromethyl)sulfonyl)imide and hexyltriethylammonium bis((trifluoromethyl)sulfonyl)imide: one-electron reduction to form superoxide. Steady-state and transient behavior in the same cyclic voltammogram resulting from widely different diffusion coefficients of oxygen and superoxide, *Journal of Physical Chemistry A* 107 (2003) 8872–8878.
- [20] D. Giovanelli, M.C. Buzzeo, N.S. Lawrence, C. Hardacre, K.R. Seddon, R.G. Compton, Determination of ammonia based on the electro-oxidation of hydroquinone in dimethylformamide or in the room temperature ionic liquid, 1-ethyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imide, *Talanta* 62 (2004) 904–911.

- [21] K. Okamura, T. Ishiji, M. Iwaki, Y. Suzuki, K. Takahashi, Electrochemical gas sensor using a novel gas permeable electrode modified by ion implantation, *Surface & Coatings Technology* 201 (2007) 8116–8119.
- [22] L. Gil-Sánchez, J. Soto, R. Martínez-Máñez, E. Garcia-Breijo, J. Ibáñez, E. Llobet, A novel humid electronic nose combined with an electronic tongue for assessing deterioration of wine, *Sensors and Actuators A: Physical* 171 (2011) 152–158.
- [23] I. Campos, L. Gil, R. Martínez-Máñez, J. Soto, J.-L. Vivancos, Use of a voltammetric electronic tongue for detection and classification of nerve agent mimics, *Electroanalysis* 22 (2010) 1643–1649.
- [24] I. Campos, R. Masot, M. Alcañiz, L. Gil, J. Soto, J.L. Vivancos, E. Garcia-Breijo, R.H. Labrador, J.M. Barat, R. Martínez-Máñez, Accurate concentration determination of anions nitrate, nitrite and chloride in minced meat using voltammetric electronic tongue, *Sensors and Actuators B: Chemical* 149 (2010) 71–78.
- [25] R.H. Labrador, R. Masot, M. Alcañiz, D. Baigts, J. Soto, R. Martínez-Mañez, E. García-Breijo, L. Gil, J.M. Barat, Prediction of NaCl, nitrate and nitrite contents in minced meat by using a voltammetric electronic tongue and an impedimetric sensor, *Food Chemistry* 122 (2010) 864–870.
- [26] I. Campos, M. Alcañiz, R. Masot, J. Soto, R. Martínez-Mañez, J.-L. Vivancos, L. Gil, A method of pulse array design for voltammetric electronic tongues, *Sensors and Actuators B: Chemical* 161 (2012) 556–563.
- [27] M. Alcañiz, J.-L. Vivancos, R. Masot, J. Ibañez, M. Raga, J. Soto, R. Martínez-Máñez, Design of an electronic system and its application to electronic tongues using variable amplitude pulse voltammetry and impedance spectroscopy, *Journal of Food Engineering* 111 (2012) 122–128.
- [28] I. Campos, M. Alcañiz, D. Aguado, R. Barat, J. Ferrer, L. Gil, M. Marrakchi, R. Martínez-Máñez, J. Soto, J.-L. Vivancos, A voltammetric electronic tongue as tool for water quality monitoring in wastewater treatment plants, *Water Research* 46 (2012) 2605–2614.
- [29] F. Winquist, I. Lundström, P. Wide, The combination of an electronic tongue and an electronic nose, *Sensors and Actuators B: Chemical* 58 (1999) 512–517.

- [30] A. Gutés, F. Cespedes, M. del Valle, D. Louthander, C. Krantz-Rülcker, F. Winquist, A flow injection voltammetric electronic tongue applied to paper mill industrial waters, *Sensors and Actuators B: Chemical* 115 (2006) 390–395.
- [31] R. Labrador, J. Soto, R. Martínez-Máñez, L. Gil, An electronic tongue for qualitative and quantitative analyses of anions in natural waters, *Journal of Applied Electrochemistry* 39 (2009) 2505–2511.
- [32] R.N. Bleibaum, H. Stone, T. Tan, S. Labreche, E. Saint-Martin, S. Isz, Comparison of sensory and consumer results with electronic nose and tongue sensors for apple juices, *Food Quality and Preference* 13 (2002) 409–422.
- [33] C. Di Natale, A. Macagnano, F. Davide, A. D’Amico, A. Legin, Y. Vlasov, A. Rudnitskaya, B. Selezenev, Multicomponent analysis on polluted waters by means of an electronic tongue, *Sensors and Actuators B: Chemical* 44 (1997) 423–428.
- [34] A. Gallois, D. Langlois, New results in the volatile odours compounds of French chesses, *Lait* 70 (1990) 89–106.
- [35] C. Sanz, D. Ansorena, J. Bello, C. Cid, Optimizing headspace temperature and time sampling for identification of volatile compounds in ground roasted Arabica coffee, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (2001) 1364–1369.
- [36] M. Ariyama, K. Murakami, N. Ohtani, K. Iwatsuki, K. Sotoyama, A. Wada, K. Tokuno, H. Iwabuchi, K. Tanaka, Analysis of volatile compounds released during the grinding of roasted coffee beans using solid-phase microextraction, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (2003) 1961–1969.
- [37] M. Boelens, P.J. de Valois, H.J. Wobben, A. van der Gen, Volatile flavour compounds from onion, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 19 (1971) 984–991.

2. A humid electronic nose for the detection of nerve agent mimics; a case of selective sensing of DCNP (a Tabun mimic)

Lluís Pascual Vidal; Inmaculada Campos Sánchez; Román Bataller Prats; Cristian Olguín Pinatti; Eduardo García Breijo; Ramón Martínez Mañez; Juan Soto Camino

Sensors and Actuators B: Chemical (2014)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2013.10.089>

Abstract

A “humid electronic nose” device based on pulse voltammetry has been applied to detect nerve agent simulants in gas phase. The “humid electronic nose” consists in a polypropylene piece which contains an array of eight metallic electrodes (i.e., Ir, Rh, Pt, Au Ag, Co, Cu and Ni) divided into two sets of four working electrodes housed inside a homemade steel cylinder, and a salt bridge connection to a reference electrode. The electrochemical system is fitted to a nylon membrane damped with a background solution of sodium tetraborate 0.01 M by a second polypropylene piece. The PCA analysis demonstrated that the system is able to discern principal organophosphorous nerve agent mimics (DCP, DCNP and DFP) from organophosphorous derivatives and some other potential interferents. Besides, the PLS quantification analysis showed sound accuracy in the concentration prediction for DCNP in air, good linearity and a limit of detection (LOD) of some a few ppm.

Keywords: Voltammetry; Humid electronic nose; Nerve agents; CWA; PCA; PLS.

2.1 Introduction

An electronic nose consists in a device able to mimic the biological olfactory system. An array of non-specific sensors provides a characteristic response pattern which, treated by appropriate data analysis techniques, allows us to identify and quantify certain gas compounds. In the biological olfactory system, olfactory receptors respond non-specifically to smelly compounds and the overall response is interpreted by the brain by providing information about volatile derivatives. The first example of an electronic nose was reported by

Dodd and Persaud who used three different metal oxide gas sensors to identify several substances in the gas phase [1]. Nowadays, a large number of transducer principles and techniques have been applied to electronic noses such as acoustic wave (SAW, BAW) sensors, metal oxide semiconductor field effect transistors (MOSFETs), conducting polymers (CP), optical sensors, gas chromatography, ion mobility spectroscopy, infrared spectroscopy, biosensors, etc. [2-5]. Besides there are many examples of amperometric electrochemical sensors to measure target gases. Some typical examples are sensors for oxygen or carbon dioxide [6-11]. In these systems, the gas sample permeates to the working electrode through the gas permeable membrane where it is detected. More recently, ionic liquids as solvents have been also reported [11] for the electrochemical detection of oxygen, carbon dioxide, ammonia [12-17] and hydrogen [15] through gas absorption processes.

The idea of developing a “humid electronic nose” is based on the concept that such a system may overcome the problems usually found in classical electronic noses based on metal oxides and resistive sensors, such as interference of water vapour. Another advantage of using “humid electronic nose” systems is the possibility of employing typical electrochemical techniques, such as potentiometry, coulometry or voltammetry, as used in electronic tongues [18,19], to analyse volatile derivatives. Recently, we showed the conceptual basis for designing a “humid electronic nose” using an array of potentiometric wire electrodes fitted to a wet nylon membrane [20]. That system was able to detect the volatile compounds generated during microbiological spoilage of wines. Moreover in another recent study, we used a “humid electronic nose” to discriminate between different food samples. The device was based on an array of noble metals electrodes which were in contact with a fabric mesh made of nylon that was damped with NaCl aqueous solution and the use of pulse voltammetry [21].

Furthermore, detection of chemical warfare agents concerns scientists and law enforcement agencies due to terrorist threats based on releasing these agents in public places. According to the Organization for the Prohibition of Chemical Weapons and the Chemical Weapons Conventions, chemical weapons are “any chemical which through its chemical action on life processes can cause death, temporary incapacitation or permanent harm to humans or animals” [22]. In this context, we have recently shown interest in the design of sensing systems capable of detecting warfare agents. In particular, we focused our research on nerve agents, specifically G-type organophosphorous derivatives; i.e., Soman (GD), Sarin (GB) and Tabun (GA) [23]. Nerve agents have rapid, severe effects on human and animal health as either a gas or a liquid, and poisoning may occur through inhalation or consumption of liquids or foods

contaminated with these agents. The effects of these gases are due to their ability to inhibit the action of acetylcholinesterase [24]. Given the high toxicity of these compounds, in these studies we used organophosphorous model compounds, such as diethyl chlorophosphonate (DCP), diethyl cyanophosphate (DCNP), diisopropyl fluoride (DFP), which have a similar structure and reactivity as nerve agents, but display less toxicity.

Several analytical methods and devices have been developed for the detection of nerve agents [25,26]. Current air monitoring systems for nerve agents are based mainly on ion mobility spectroscopy (IMS) or gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS). However these systems commonly present difficulties for being transported to test sites, are complex to operate, and are expensive to maintain and require relatively lengthy analyses and interpretation. Thus, alternative methods have been developed including surface acoustic wave (SAW) devices [27], enzymatic assays [28], electrochemical procedures [29,30], chromo-fluorogenic probes [31, 32, 33, 34], chemiresistive sensors [35], liquid crystals [36], etc. Moreover, some are used as arrays and are based on principles of non-specific responses and multivariate analyses [37-42].

Following our interest in the development of electronic tongues and noses [43-46], we herein report the design of a “humid electronic nose” and its use for the discrimination and detection of nerve agent mimics in the gas phase.

2.2 Materials and methods

2.2.1 Sample preparation

Two types of experiments were carried out: discrimination of samples and prediction of concentration levels. Discrimination studies were done using nerve agent simulants diethyl chlorophosphonate (DCP), diethyl cyanophosphate (DCNP), diisopropyl fluorophosphonate (DFP), and a set of eight similar organophosphorous derivatives: diethyl 1-phenylethyl

phosphonate (OP-1); dimethyl methyl phosphonate (OP-2); diethyl (2-cyanoethyl)phosphonate (OP-3); diethyl (methylthiomethyl)phosphonate (OP-4); triethyl phosphate (OP-5); diethyl (2-oxopropyl)phosphonate (OP-6); dimethyl chlorothiophosphate (OP-7); ethyl dichlorophosphate (OP-8) (the chemical structures of these compounds are shown in Figure 1). Moreover sulphuric acid and ammonia were used to analyse the system's response to acid and basic vapours. In addition, the influence of common solvents was studied using ethanol and acetonitrile as examples of volatile polar solvents and hexane as a volatile non-polar solvent.

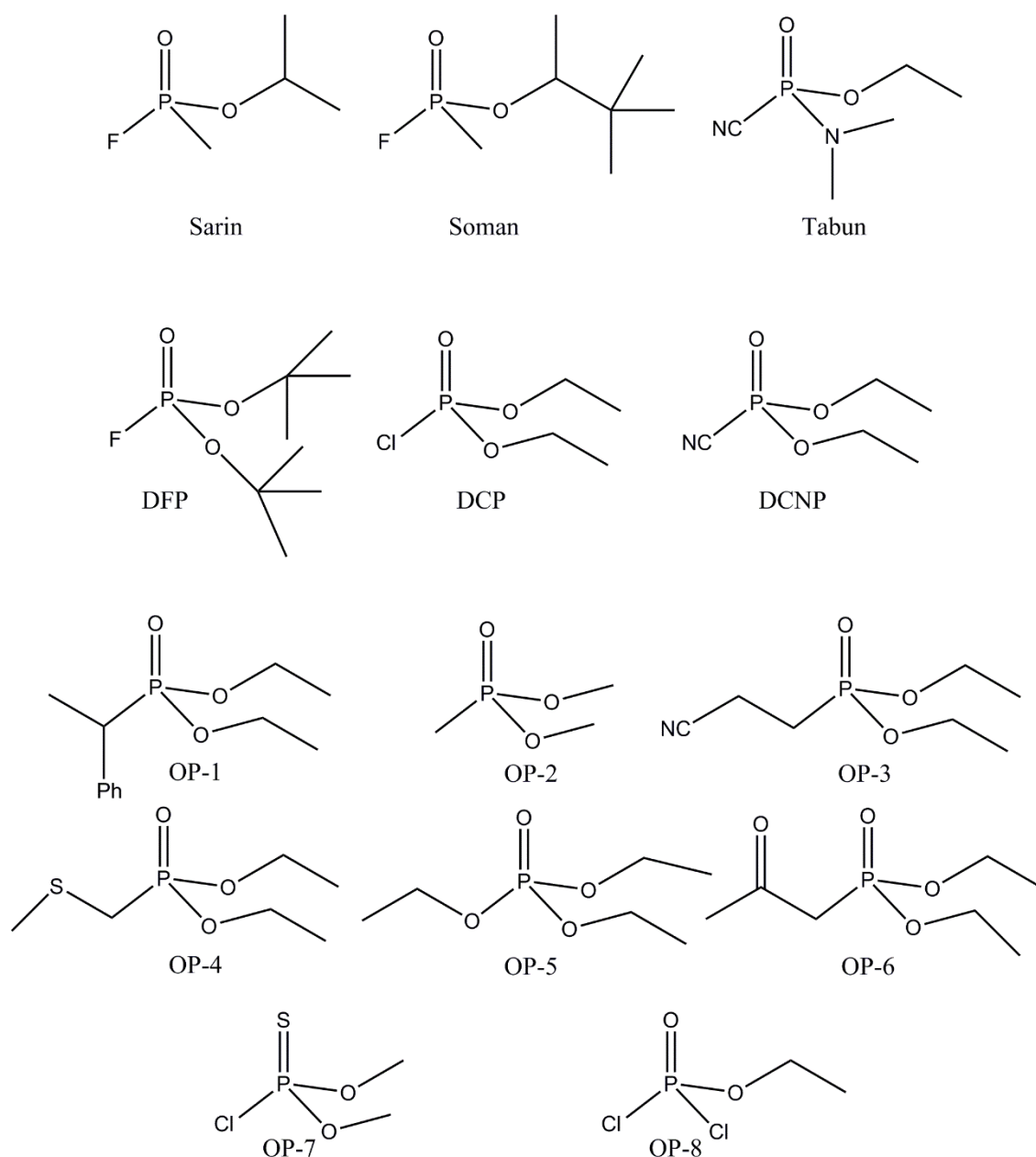


Figure 1. Chemical structures of nerve agents, nerve agent mimics and other organophosphorus derivatives used in this study.

Experimental and predicted vapour pressure values of certain organophosphorous derivatives and other compounds used in this study are summarised in Table 1.

Table 1. Vapour pressure values and saturated vapour concentrations of the selected organophosphorous derivatives and some other compounds used in this study. Experimental values reported from MSDS datasheet and predicted values from Chemspider RSC database.

Product	V. P. (mmHg, 25°C)	S. V. C. (ppm v/v)	Product	V. P. (mmHg, 25°C)	S. V. C. (ppm v/v)
Sarin ^a	2.90	3816	OP-5 ^a	0.08*	99*
Soman ^a	0.40	526	OP-6 ^b	0.01	13
Tabun ^a	0.070	92	OP-7 ^b	0.50	658
DFP ^a	0.58*	762*	OP-8 ^a	0.89	1166
DCP ^a	0.10	132	NH3 ^a	6.65*	8743*
DCNP ^a	0.16	208	H2SO4 ^a	<0.01	<5
OP-1 ^b	<0.01	<5	CH3CN ^a	72.80*	95785*
OP-2 ^b	1.18	1553	EtOH ^a	44.60*	58682*
OP-3 ^b	<0.01	<5	Hexane ^a	132*	173677*
OP-4 ^a	0.03	38			

V. P. : vapour pressure; S. V. C.: saturated vapour concentration

^aExperimental value ^bPredicted value (ACD/Labs) *Data obtained at 20°C

Quantification studies were carried out using DCNP given its better response and selectivity, as observed in discrimination studies. A homemade dosage system was used to introduce different well-known concentrations of DCNP into our system. In a typical procedure, an excess of the corresponding compound (500µL) was deposited and evaporated at vacuum in a 250-mL balloon thermostated at 25°C until gas saturation was reached (ca. 5 min). Then with a syringe connected to a 3-way key, a controlled volume was extracted and was injected into the measurement chamber by changing the 3-way key position. Before sample introduction, an equal volume of air was extracted from the sealed chamber with a second syringe. This second step was performed to avoid overpressure.

2.2.2 Measurement principle and procedure

The “humid electronic nose” measurement principle is based on the absorption of volatile substances by a membrane damped with a conducting solution that was in contact with a set of electrodes. In this particular case, we used a borate (0.01M of sodium tetraborate) solution to damp the membrane, and pulse voltammetry techniques were followed to generate the current signal. Nerve gases and their mimics were degraded by water hydrolysis in various steps until phosphoric acid or alkylphosphonic acids were given [47]. As shown in Figure 2, the first step was fast and produced organophosphorous derivatives and free anions such as cyanide, fluoride or chloride when using DCNP, DFP and DCP, respectively.

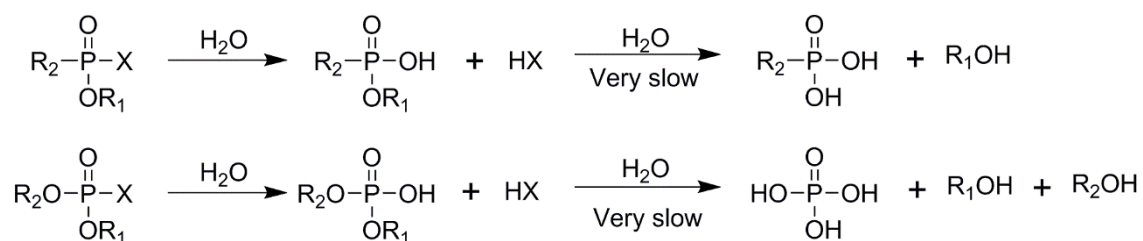


Figure 2. Degradation by hydrolysis of nerve gases and mimics.

In our particular case these reactions were expected to improve given the use of a weak base (i.e., borate) as a background salt. Furthermore, as detection was carried out in an aqueous environment, therefore, the gases that were not miscible in water and humidity will not interfere with the measurements.

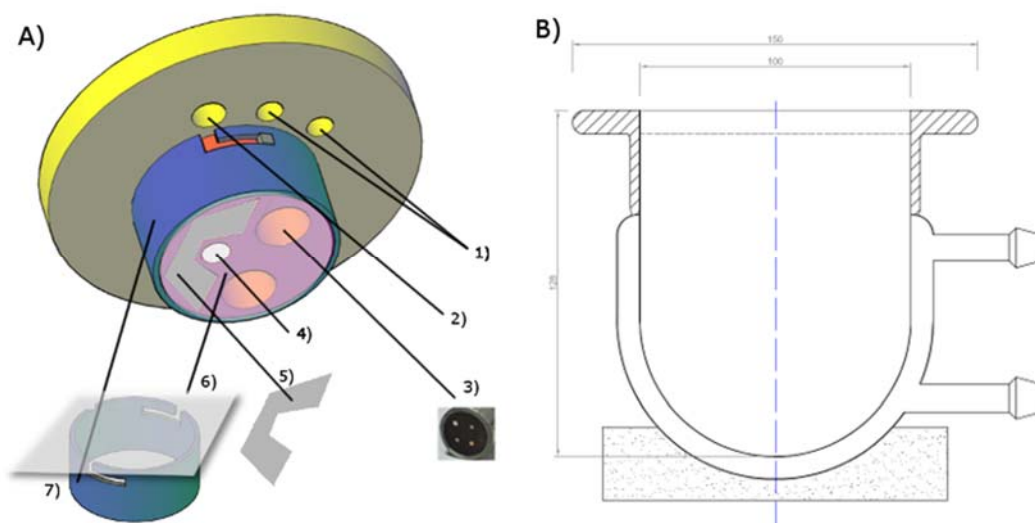


Figure 3. A) Scheme of humid electronic nose. B) Scheme of measurement cell.

The “humid electronic nose” system (Figure 3a) consists of one polypropylene piece formed by two cylindrical parts. The upper cylinder acts as top cover of the cell chamber and contains three inlets; two of them are used as an inlet and outlet for air, argon and vacuum (item 1 in Figure 3a), and the third one is for the introduction of liquids and solids (item 2 in Figure 3a). All the electronic connections between the equipment and electrodes are in this part, outside the measurement chamber. The lower cylinder was used as a support for the voltammetric measurement elements. It has three inlets: two are used for two different sets of working electrodes (item 3 in Figure 3a) and the third one is used for the salt bridge connection with the reference electrode (item 4 in Figure 3a). At the bottom there is a plane steel plate screwed as a counter-electrode (item 5 in Figure 3a).

The fabric of the membrane (item 6 in Figure 3a) was made of nylon with a fibre thickness of 350 microns, separated by about 150 microns. It is fixed with a second polypropylene piece (item 7 in Figure 3a) that fits the inferior cylinder holding, and tenses the membrane and secures the connection with all the electrodes and the salt bridge. Each time a new measurement was taken the membrane was rinsed with distilled water, dried and then moistened again with the salt solution.

The measurement chamber (Figure 3b) consisted in an 800-mL glass cell and the “humid electronic nose” system acted as a tap cover to seal the system. The cell was designed so that no gas leaks take place and it was thermostated with a recirculating temperature controller. The samples inlet was closed with a septum cap and liquid samples were introduced by pricking with a needle. Gas samples were introduced by the gas inlet.

The “humid electronic nose” use an array of eight working electrodes (Ir, Rh, Pt, Au, Ag, Co, Cu Ni) with a purity of 99.99% and a 2-mm diameter from Goodfellow divided into two sets (noble and non-noble metals). Each set was formed by four metal wire electrodes housed inside a stainless steel cylinder that was used as the body of the working electrode set. The different wire electrodes were fixed inside the cylinder using an epoxy RS 199-1468 polymer. This system was proposed by Winqvist et al. for constructing electronic tongues [48]. Before use, the electrode surface was prepared by mechanical polishing with emery paper, and was rinsed with distilled water. Then it was polished on a felt pad with a 0.05 μm alumina polish from BAS, washed with distilled water and polished again on a nylon pad with 15, 3 and 1 μm diamond polishes to produce a smooth, mirror-like electrode surface. Later while a series of measurements was taken, only the simple diamond polishing was done. As a reference

electrode, a Saturated Calomel Electrode (SCE) submerged in a glass tube bridge filled with background salt solution which was in contact with the membrane was used.

Each sample was measured in five consecutive iterations per electrode. In order to increase the signal/noise ratio, the mean of the iterations were calculated in a pre-processing step. Data with more than 4% standard deviation were discarded. For the classification experiments, excess sample was introduced and evaporated in the measurement cell. For the quantification studies, a well-known volume of gas-phase sample was introduced into the cell. All the experiments were done in triplicate in both the classification and quantification studies.

2.2.3 Cyclic voltammetry

Electrochemical characterisation was carried out using the DCP and DCNP samples. A 100 μL drop of each compound was deposited in the measurement chamber, and was allowed to evaporate and to absorb into the membrane (ca. 5 min). This absorption time was corroborated suitable by making kinetic studies (*vide infra*). All the measurements were taken at 25°C. Electrochemical experiments were carried out using the “humid electronic nose” system containing two working electrodes sets and a saturated calomel electrode (SCE) was employed as a reference electrode. The cyclic voltammetry experiments were carried out at a scan rate of 100 mVs^{-1} .

2.2.4 Equipment

A system for the implementation of cyclic and pulse voltammetry was designed in the Center of Molecular Recognition and Technological Development (IDM) at the Polytechnic University of Valencia. The system consists in a software application that runs on a PC and electronic equipment [45,49]. The equipment generates a sequence of up to 50 pulses with an amplitude within the [-2V to +2V] range. The width of the pulses can also be configured [from 1 ms to 800 ms]. The equipment includes a potentiostat that applies the voltage to the counter electrode of the electrochemical cell and measures the voltage at the reference electrode and the current at the working electrodes (up to 8). The software application allows the setup of the pulse array parameters: number of pulses, amplitude of each pulse and width of pulses. A different pulse pattern can be configured for each working electrode. Having configured the test, the application sends this information to the electronic equipment, which generates and

applies the pulse array to the electrochemical cell, and samples the voltage and current signals. The system collects 1000 current samples for each applied array pulse. Finally the equipment sends this information to the PC where data are displayed and stored. This procedure is then repeated for the next working electrode of the sequence. The electronic equipment includes a 16-bit microcontroller (PIC24FJ256), a 12-bit Digital-to-Analogue converter (DAC), two 12-bit Analogue-to-Digital converters (ADC) and a potentiostat that incorporates a current measurement circuit, a working electrode multiplexing block and a stabilisation circuit.

2.2.5 Data management

Two different multivariate analysis techniques, i.e principal components analysis (PCA) and partial least square (PLS) regression, were used to analyze the data obtained with the “humid electronic nose”. All the statistical analyses were performed with the Solo software application (version 7.0.3, Eigenvector Research, Inc).

2.3 Results and discussion

2.3.1 Adsorption studies

In order to characterise our system, several kinetic studies of the absorption of selected samples on the damped nylon membrane were conducted. By way of example, Figure 4 shows the current increase in a selected pulse (pulse 4 in the cobalt electrode) at different times when a drop of DCNP was included in the measurement chamber. Data are represented as the mean of current intensity during the pulse and were obtained as the mean value of three independent experiments. The figure shows current increase due to the absorption process of DCNP on the damped membrane. As expected, absorption shows a typical Langmuir-shaped

isotherm. At earlier times, fast gas absorption took place and the signal increased quickly. For longer times, the current response slowly increased until no significant changes were observed. Moreover, the signal seemed to increase gradually and linearly with time even in this zone. This is tentatively ascribed to the fact that the absorption and hydrolysis processes were simultaneous and, at the same time that the membrane absorbed DCNP, a hydrolysis of the compound occurs. From these studies it was established that 5 min was a suitable time to perform the measurements with the “humid electronic nose”.

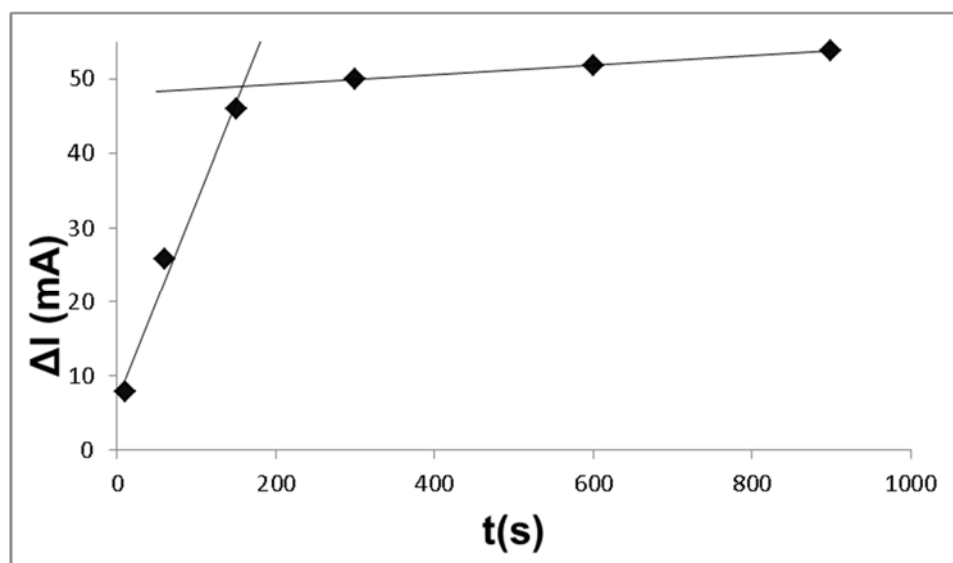


Figure 4. Plot of current increase variations during time-absorption process.

2.3.2 Cyclic voltammetry studies

Prior to the experiments with the “humid electronic nose”, a voltammetric study was carried out in order to determine the electrochemical behaviour of the species absorbed into the membrane solution using different metallic electrodes (noble metals: Au, Pt, Ir, Rh and non-noble metals: Cu, Co, Ni and Ag) and to design the pulse sequence that will be applied. Voltammetric characterisation studies were performed for the nerve agent simulants DCP and DCNP at saturation conditions.

As it is known, the electrochemical response of a given compound depends on the intrinsic chemical nature of both the electrode and the redox behaviour of the product itself. Additionally the transient response of each electrode depends on the diffusion coefficients of the oxidised or reduced species and on the possible presence of specific chemical or

electrochemical reactions between the electrode and the redox-active species. The “humid electronic nose” device relies in the concept that subtle differences between relatively similar compounds might be reflected in a specific differential voltammetric response of the electrode ensemble. Different compounds used in this study are expected to produce different mixture of chemical species at the membrane solution due to particular absorption and hydrolysis process. A summary of some remarkable observed redox response in the voltammetric studies (electrochemical window in the -1.0 to 1.0 V range vs SCE) is detailed below to show how the pulse sequence used in the electronic tongue for this particular application was designed.

As it is well known, [50, 51, 52] noble metals and non-noble metals presents different reactivity. Noble electrodes are expected to oxidise and reduce the studied compound in the damped membrane, while non-noble electrodes are more reactive and the metal cations generated after oxidation of the electrode may additionally be able to react with dissolved species to form precipitates or complex species. Taking into account the different electrochemical behaviour of each electrode in presence of nerve agent mimics DCP and DCNP, two pulse sequences were designed, one for the noble electrodes (Au, Pt, Ir, Rh) and another for non-noble electrodes (Ag, Co, Cu, Ni).

When using noble metals DCP and DCNP did no display in general well-defined redox process. Only subtle differences in the current intensity appear when the applied potential is higher or lower than ± 650 mV. An exception was found when using gold as working electrode in presence of DCNP. In this case a large current increase was observed producing two distinguished oxidation and reduction peaks at ca. 750 and -500 mV respectively related to an irreversible process.

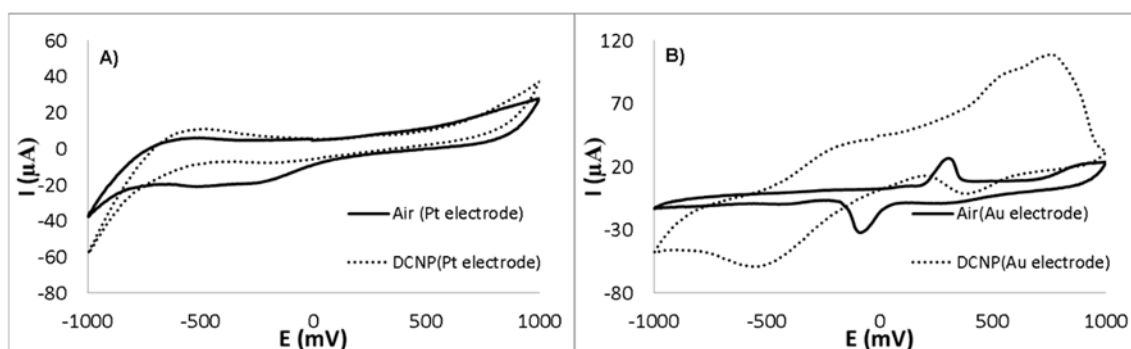


Figure 5. Cyclic voltammograms of a 0.01 M of tetraborate background solution in the absence (solid line) and in the presence (dashed line) of DCNP using A) Pt or B) Au as working electrode.

Scan rate 100 mVs^{-1} .

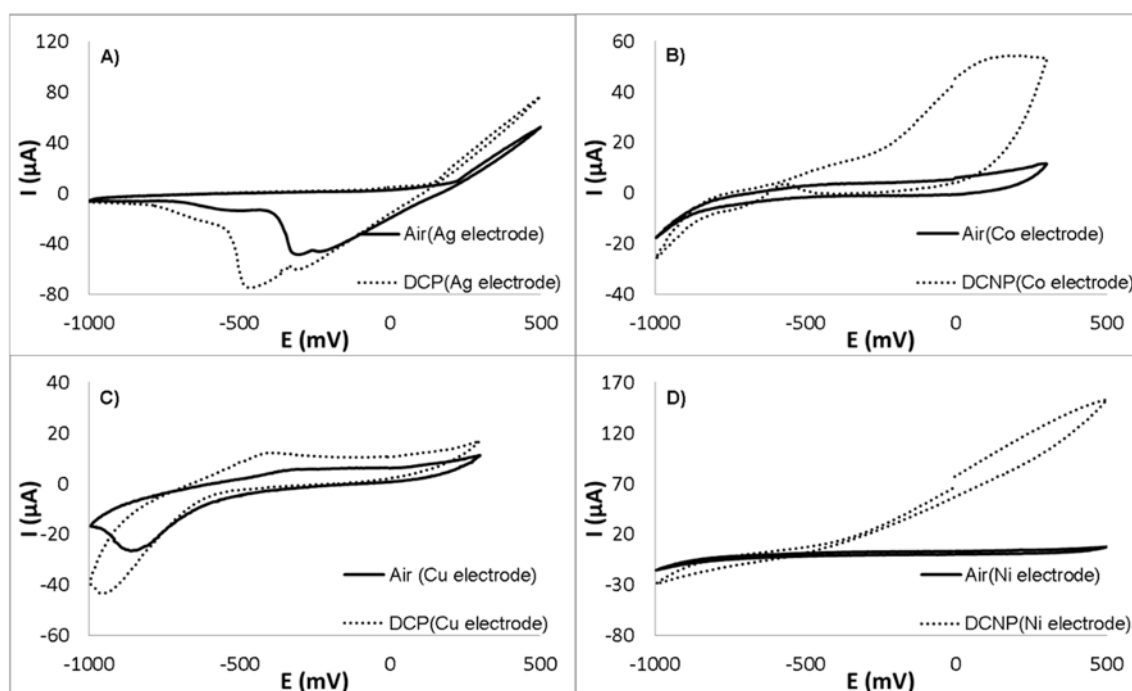


Figure 6. Cyclic voltammograms of a 0.01 M of tetraborate background solution in the absence (solid line) and in the presence (dashed line) of DCNP or DCP using A) Ag as electrode and DCP, B) Co electrode and DCNP, C) Cu electrode and DCP and D) Ni electrode and DCNP. Scan rate of 100 mVs^{-1} .

In contrast, the response of non-noble metals showed in general more information about oxidation and reduction process on the electrode surfaces. DCP displays a significant and varied electrochemical behaviour depending on the electrode used. For instance, for silver electrode an increase in the corrosion current and an irreversible reduction peak at -500 mV vs. SCE is observed. When copper was used as working electrode, irreversible oxidation and reduction peaks appeared at -350 and -800 mV in presence of air. However in presence of DCP both peaks were displaced to -450 and -900 mV , respectively, and the current intensity increased. Furthermore, DCNP provides a corrosion increase in silver, copper and nickel electrodes. DCNP also shows an oxidation process at 50 mV on the cobalt electrode. For nickel electrode a corrosion current starting at -400 mV approximately appears in presence of DCNP (Figures 5 and 6).

According to the electrochemical information obtained from the cyclic voltammograms a pulse array was designed for each set of working electrodes (noble and non-noble). The applied pulse was formed by 22 pulses (see below). Each pulse was applied for 50 ms. For noble electrodes a staircase-like pulse sequence focusing in the regions with potentials higher than $\pm 650 \text{ mV}$ was designed. Pulse 8 and 9 correspond to the irreversible process observed on the

gold electrode. Additionally pulse 10 at 400 mV was included in order to re-oxidise the metal before applying cathodic pulses. For non-noble electrodes, a second pulse array containing the electrochemical information obtained from the cyclic voltammetry studies was design. For instance, the first pulse applied was 0 mV. Under these conditions the corrosion of the metals occurs. Pulses 2 and 3 and pulses 10 and 11 are specifically used to detect DCP when using silver and copper electrode, respectively. The number of pulses and the duration was the same as noble electrodes. In both cases, a total of 7920 values (45 data points for pulse x 22 pulses x 8 electrodes) were recorded for each sample. Figure 7 shows the final design of pulses and the current response obtained for DCNP when using Au and Co electrodes.

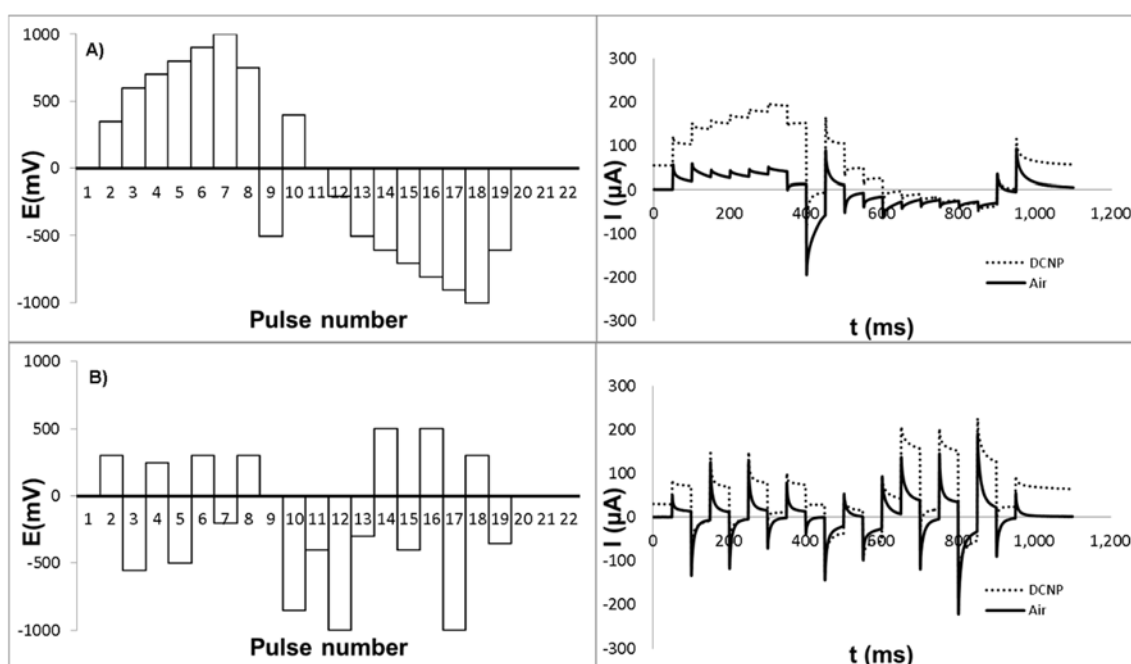


Figure 7. Applied pulse sequence for noble and non-noble electrodes, and obtained response from DCNP for Au(A) and Co(B) electrode.

2.3.3 PCA Classification

The electrochemical response obtained with the “humid electronic nose” for the different organophosphorous derivatives and potential interferences was analysed by PCA in order to determine the applicability of our system. PCA is a powerful linear unsupervised pattern recognition method able to reduce the dimensionality of a dataset. A PCA study of the full set of patterns revealed a certain degree of dispersion among the independent dimensions created by the linear combination of the electrochemical responses of the electrodes used in

the array (data not shown). Moreover some different combinations of working electrodes dataset were performed in order to improve the analysis result. The maximum explained variance for PC1 and PC2 was achieved using a combination of Au, Ag, Co and Cu electrodes. All the following results are from the information provided by these four electrodes.

A first PCA analysis was developed using data from all the samples (see Figure 9). The first PC contained 55.51% of data variance, the first two components represented 90.81% of total variance, while three PCs were needed to account for 96.10% of variance. In a first sight it can be clearly distinguish DCNP from all other samples. OP-7, OP-8 and ammonia also appear well separated, while the remaining samples are gathered in the same zone of the score plot (see figure 8A). Those results were consistent with the large signal increase observed in the current response for DCNP, OP-7, OP-8 and ammonia (data not shown). When a zoom was done to the cluster in the left part of the score plot the samples, DCP, DFP, OP-4, ethanol and acetonitrile can also be distinguished (see figure 8B).

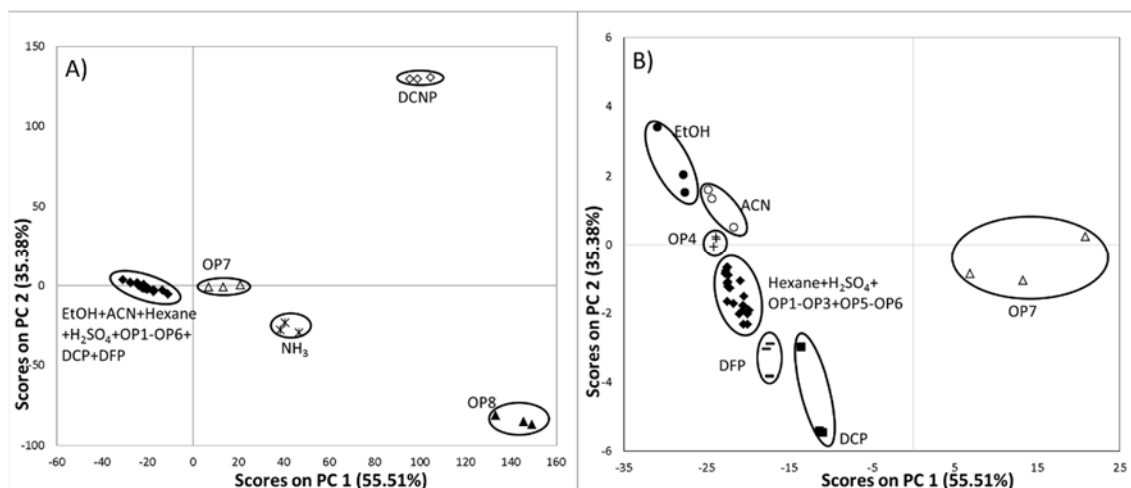


Figure 8. PCA score plot for A) all samples and B) selected samples using the response obtained from Au, Ag, Co and Cu electrodes.

According to the results the “humid electronic nose” is able to discriminate between DCP, DFP, and DCNP over other organophosphorous derivatives of similar structure and from some potential interferences such as acid and basic vapours and different organic solvents. As a remarkable result DCNP is clearly detected and appears well separated from other compounds in the score plot. Data obtained with DCP and DFP also cluster but their discrimination in relation to other studied substances is lower when compared with DCNP. Those results are consistent with current response signals. Note that vapor pressures for those three nerve agent simulant (i.e., DCP, DCNP and DFP) are quite similar and therefore the different response

observed for DCNP must be due to the specific redox activity of this simulant. In particular note that the hydrolysis of DCNP results in the formation of cyanide that display a differential electrochemical behaviour when compared with the anions chloride than fluoride obtained from the hydrolysis of DCP and DFP, respectively. The importance of hydrolysis in the electrochemical detection of these compounds is also demonstrated when it is taken into account that in general easily hydrolysable organophosphorous derivatives (such as OP-7 and OP-8) also cluster separately in the PCA plots whereas other organophosphorous difficult to hydrolyze group together in the score plot.

In relation to the remaining compounds studied sulphuric acid did not provide a significant response most likely due to its low volatility and poor redox activity. By contrast ammonia has a higher vapour pressure and it appears well separated in the PCA plot. Besides polar solvents miscible with water such as acetonitrile and ethanol induce a decrease of conductivity of the solution in the damped membrane that tentatively explain their differential response. On the other hand, hexane is non-polar and poorly soluble in water and therefore the interaction with our system was very weak.

2.3.4 PLS Quantification

According to the results obtained in the PCA plots the nerve agent mimic DCNP was selected for PLS studies. A PLS prediction model was created with the experimental data collected by pulse voltammetry. PLS is a multivariate projection method for modelling a relationship between dependent variables (Y) and independent variables (X). The principle of PLS is to find the components in the input matrix (X) that describe as much as possible the relevant variations in the input variables and at the same time have maximal correlation with the target value Y, giving less weight to the variation that are irrelevant or noisy.

For a PLS calibration the information from the concentration values is introduced into the calculation via the so-called latent variables. The number of latent variables in PLS is a metaparameter of the procedure whose value is to be estimated from the calibration data. According to cross-validation variance studies, 4 latent variables were used in our study. Following a similar approach to that used in PCA studies different combinations of working electrodes were used in order to optimise the construction of the PLS model. As it was expected the same combination than that in the PCA studies provided the best results: i.e. Au,

Ag, Co and Cu electrodes. A total of 30 samples of DCNP in the concentration range of 0-208 ppm were measured and analyzed by PLS. In a first step the calibration of the model was performed using 20 training samples whereas the remaining 10 samples were used in a second step to validate the model. Figure 9 shows the predicted versus the actual values for DCNP. Ideal prediction would place the points along the diagonal line. The linear fitting shown in the figure was calculated by using a linear model typed $y = p1 * x + p2$ where $p1$ is the slope of the curve fitting and $p2$ the intercept. The parameters $p1$ and $p2$ are related with the accuracy in prediction, whereas RMSEP deals with the precision of the model. Thus PLS model is much better as the value of $p1$ approaches to 1 and the value of RMSEP approaches to 0.

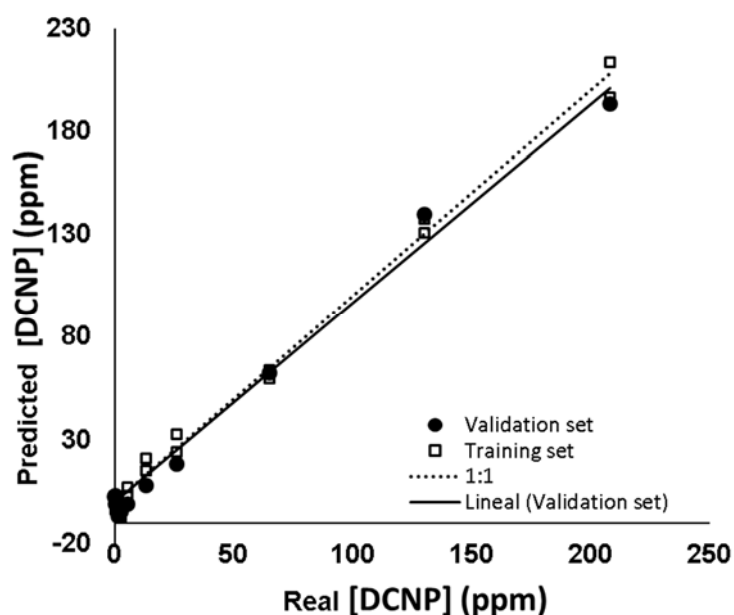


Figure 9. PLS prediction models in the 10 validation samples. The plot also shows the 20 model samples of the training set.

From a simple visual inspection of the Figure 9, the spread of the experimental points along the straight line (reference line) providing an accurate prediction. Values obtained for r^2 and $p1$ for the validation set were 0.9904 and 0.9801 respectively indicating good linearity of the prediction model, whereas RMSEP value was 7.2371. For low concentrations of DCNP (less than 15 ppm) an increase of the dispersion of data was observed. The estimated limit of detection (LOD) was 1.33 ppm as lower values did not display a clear electrochemical response. Moreover a detailed study of certain characterisation parameters (i.e. r^2 , $p1$, $p2$, RMSEP and LOD) for each electrode was also calculated and shown in Table 2.

Table 2. Fitting parameters of PLS models using pulse voltammetry data for each electrode and for the best combination of electrodes (i.e. Au, Ag, Co and Cu).

	Linearity (r2)	Sensitivity (p1)	p2	Precision (RMSEP)	LOD (ppm)
Au-Ag-Co-Cu	0.990	0.980	-2.030	7.237	1.33
Ir	0.687	0.471	7.637	42.594	5.20
Rh	0.633	0.764	17.840	41.712	25.98
Pt	0.904	0.444	10.770	39.314	12.99
Au	0.985	0.916	5.237	9.371	25.98
Ag	0.978	0.934	2.969	10.030	5.20
Co	0.863	0.866	1.987	24.329	12.99
Cu	0.872	0.830	10.019	23.661	25.98
Ni	0.945	1.097	2.964	19.553	25.98

2.4 Conclusions

A new method for detection of nerve agents mimics is proposed using “humid electronic nose” device based on pulse voltammetry. The main feature, when compared with other reported electronic noses, is the use of a damped nylon membrane containing a conducting solution which allows the absorption of vapours and the use of pulse voltammetry in simple metallic electrodes. Studies by PCA show that the “humid electronic nose” displays a differential response for G-type nerve agent mimics DCP, DFP and DCNP versus other organophosphorous derivatives and some acidic, basic vapours and solvents. Especially the “humid electronic nose” shows a remarkable specific response for DCNP most likely due to the hydrolysis of this nerve gas mimic in the nylon membrane which results in the release of the cyanide anion. Moreover PLS data analysis using DCP at different concentration levels showed a fairly good accurate concentration prediction for this nerve agent mimic in vapour samples. These preliminary

investigations suggested that “humid electronic noses” could be a valid alternative system for semi-quantitative nerve agent determination and pointed towards the possibility of designing similar electronic alert devices for the detection of the presence of Chemical Weapons.

Acknowledgements

Acknowledgements Financial support from the Spanish Government (project MAT2012-38429-C04) and the Generalitat Valenciana (project PROMETEO/2009/016) is gratefully acknowledged. L.P. is grateful to the Universitat Politècnica de València for her grant.

2.5 References

- [1] K.C. Persaud, G. Dodd, *Nature*, Analysis of discrimination mechanism in the mammalian olfactory system using a model nose, *Nature* 299 (1982) 352-355.
- [2] F. Rock, N. Barsan, U. Weimar, *Electronic nose: Current status and future trends*. *Chem. Rev.* 108 (2008) 705–725.
- [3] R.D.S. Yadava, R. Chaudhary, *Solvation, transduction and independent component analysis for pattern recognition in SAW electronic nose*, *Sens. Actuators B: Chem.* 113 (2006) 1-21.
- [4] E. H. Oha, H. S. Songb, T. H. Park, *Recent advances in electronic and bioelectronic noses and their biomedical applications*, *Enzyme and Microb. Technol.* 48 (2011) 427–437.
- [5] A. D. Wilson, *Review of Electronic-nose Technologies and Algorithms to Detect Hazardous Chemicals in the Environment*, *Procedia Technol.* 1 (2012) 453 – 463.
- [6] D. E. Carritt, J. W. Kanwisher, *Electrode System for Measuring Dissolved Oxygen*, *Anal.Chem.* 31 (1959) 5-9.
- [7] O. J. Jensen, T. Jacobsen, K. Thomsen, *Membrane-Covered Oxygen Electrodes: I. Electrode Dimensions and Electrode Sensitivity*, 87 (1978) 203-211.

- [8] W. John Albery, P. Barron, A Membrane Electrode for the Determination of CO₂ and O₂, 138 (1982) 79-87.
- [9] Z. Cao, W. J. Buttner, J. R. Stetter, The Properties and Applications of Amperometric Gas Sensors, 4 (1992) 253-266.
- [10] S. C. Chang, J. R. Stetter, C. S. Cha, Amperometric Gas Sensors, Talanta 40 (1993) 461-477.
- [11] F. Tebizi-Tighilt, F. Zane, N. Belhaneche-Bensemra, S. Belhousse, S. Sam, N. Gabouze, Electrochemical Gas Sensors Based on Polypyrrole-Porous Silicon, Appl.Surf.Sci. 269 (2013) 180-183.
- [12] M. C. Buzzeo, C. Hardacre, R. G. Compton, Use of Room Temperature Ionic Liquids in Gas Sensor Design, Anal.Chem. 76 (2004) 4583-4588.
- [13] I. M. AlNashef, M. L. Leonard, M. C. Kittle, M. A. Matthews, J. W. Weidner, Electrochemical Generation of Superoxide in Room-Temperature Ionic Liquids, Electrochem. Solid-State Lett. 4 (2001) D16-D18.
- [14] I. M. AlNashef, M. L. Leonard, M. A. Matthews, J. W. Weidner, Superoxide Electrochemistry in an Ionic Liquid, Ind. Eng. Chem. Res. 41 (2002) 4475-4478.
- [15] M. C. Buzzeo, O. V. Klymenko, J. D. Wadhawan, C. Hardacre, K. R. Seddon, R. G. Compton, Voltammetry of Oxygen in the Room-Temperature Ionic Liquids 1-Ethyl-3-Methylimidazolium Bis((Trifluoromethyl)Sulfonyl)Imide and Hexyltriethylammonium Bis((Trifluoromethyl)Sulfonyl)Imide: One-Electron Reduction to Form Superoxide. Steady-State and Transient Behavior in the Same Cyclic Voltammogram Resulting from Widely Different Diffusion Coefficients of Oxygen and Superoxide, J. Phys. Chem. A 107 (2003) 8872-8878.
- [16] D. Giovanelli, M. C. Buzzeo, N. S. Lawrence, C. Hardacre, K. R. Seddon, R. G. Compton, Determination of Ammonia Based on the Electro-Oxidation of Hydroquinone in Dimethylformamide Or in the Room Temperature Ionic Liquid, 1-Ethyl-3-Methylimidazolium Bis(Trifluoromethylsulfonyl)Imide, Talanta 62 (2004) 904-911.
- [17] K. Okamura, T. Ishiji, M. Iwaki, Y. Suzuki, K. Takahashi, Electrochemical Gas Sensor using a Novel Gas Permeable Electrode Modified by Ion Implantation, Surface and coating technology 201 (2007) 8116-8119.

- [18] P. Ivarsson, S. Holmin, Nils-Erik Höjer, C. Krantz-Rülcker, F. Winqvist, Discrimination of tea by means of a voltammetric electronic tongue and different applied waveforms, *Sens. Actuators B* 76 (2001) 449-454.
- [19] L. Lvova, E. Martinelli, E. Mazzone, A. Pede, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, Electronic tongue based on an array of metallic potentiometric sensors, *Talanta* 70 (2006) 833–839.
- [20] L. Gil-Sánchez, J. Soto, R. Martínez-Máñez, E. García-Breijo, J. Ibáñez, E. Llobet, A novel humid electronic nose combined with an electronic tongue for assessing deterioration of wine, *Sens. Actuators A* 171 (2011) 152–158.
- [21] R. Bataller, I. Campos, M. Alcañiz, L. Gil-Sánchez, E. García-Breijo, R. Martínez-Máñez, L. Pascual, J. Soto, J.L. Vivancos. A humid electronic nose based on pulse voltammetry; a proof-of-concept design, *Sens. Actuators B* 186 (2013) 666-673.
- [22] Convention on the prohibition of the development, production, stockpiling and use of chemical weapons and on their destruction, 29th July 2005.
- [23] W.S. Angerson, Volume 5: Chemical and Biological Warfare Agents, in: corporation (ed.), *A Review of the Scientific Literature as it Pertains to Gulf War Illnesses*, Santa Monica, 2000
- [24] S. M. Somani, *Chemical Warfare Agents*, Academic Press, San Diego 1992
- [25] H. H. Hill, S. J. Martin, Conventional analytical methods for chemical warfare agents, *Pure Appl. Chem.* 74 (2002) 2281-2291.
- [26] X. Du, Z. Ying, Y. Jiang, Z. Liu, T. Yang, G. Xie, Synthesis and evaluation of a new polysiloxane as SAW sensor coatings for DMMP detection, *Sens. Actuators B* 134 (2008) 409-413.
- [27] A. T. Nimal, U. Mittal, M. Singh, M. Khaneja, G. K. Kannan, J. C. Kapoor, Vinita Dubey, P.K. Gutch, Gobardhan Lal, K.D. Vyas, D.C. Gupta, Development of handheld SAW vapor sensors for explosives and CW agents, *Sens. Actuators B* 135 (2009) 399-410.
- [28] A.J. Russell, J.A. Berberich, G.F. Drevon, R.R. Koepsel. Biomaterials for mediation of chemical and biological warfare agents, *Annu Rev Biomed Eng.* 5 (2003) 1–27.

- [29] J. Wang, Carbon-Nanotube Based Electrochemical Biosensors: A Review, *Electroanalysis* 17 (2005) 7–14.
- [30] M. H. Hammond, K. J. Johnson, S. L. Rose-Pehrsson, J. Ziegler, H. Walker, K. Coudy, D. Gary, D. Tillett, A novel chemical detector using cermet sensors and pattern recognition methods for toxic industrial chemicals, *Sens. Actuators B* 116 (2006) 135-144.
- [31] G.J. Mohr, New chromogenic and fluorogenic reagents and sensors for neutral and ionic analytes based on covalent bond formation—a review of recent developments, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (2006) 1201–1214.
- [32] S. Royo, R. Martínez-Mañez, F. Sancenón, A. M. Costero, M. Parra, S. Gil, Chromogenic and fluorogenic reagents for chemical warfare nerve agents' detection, *Chem. Commun.* (2007) 4839-4847.
- [33] A. M. Costero, S. Gil, M. Parra, P. M. E. Mancini, R. Martínez-Mañez, F. Sancenón, S. Royo, Chromogenic detection of nerve agent mimics, *Chem. Commun.* (2008) 6002-6004.
- [34] E. Climent, A. Martí, S. Royo, R. Martínez-Mañez, M.D. Marcos, F. Sancenón, J. Soto, A.M. Costero, S. Gil, M. Parra, Chromogenic Detection of Nerve Agent Mimics by Mass Transport Control at the Surface of Bifunctionalized Silica Nanoparticles, *Angew. Chem. Int. Ed.* 49 (2010) 5945–5948.
- [35] F. Wang, H. Gu, T.M. Swanger, Carbon Nanotube/Polythiophene Chemiresistive Sensors for Chemical Warfare Agents, *JACS* 130 (2008) 5392-5393.
- [36] H. J. VanTreeck, D.R. Most, B. A. Grinwald, K. A. Kupcho, A. Sen, M. D. Bonds, B. R. Acharya, Quantitative detection of a simulant of organophosphonate chemical warfare agents using liquid crystals, *Sens. Actuators B* 158 (2011) 104–110.
- [37] D. Matatagui, J. Martí, M.J. Fernández, J.L. Fontecha, J. Gutiérrez, I. Gràcia, C. Cané, M.C. Horrillo, Chemical warfare agents simulants detection with an optimized SAW sensor array, *Sens. Actuators B* 154(2011) 199– 205.
- [38] D. Matatagui, M.J. Fernández, J.L. Fontecha, J.P. Santos, I. Gràcia, C. Cané, M.C. Horrillo, Love-wave sensor array to detect, discriminate and classify chemical warfare agent simulants, *Sens. Actuators B* 175 (2012) 173-178.
- [39] K. Chulvi, P. Gaviña, A. M. Costero, S. Gil, M. Parra, R. Gotor, S. Royo, R. Martínez-Mañez, F. Sancenón, J.L. Vivancos, Discrimination of nerve gases mimics and other

organophosphorous derivatives in gas phase using a colorimetric probe array, *Chem. Commun.* 48 (2012) 10105–10107.

[40] A. Ponzoni, C. Baratto, S. Bianchi, E. Comini, M. Ferroni, M. Pardo, M. Vezzoli, A. Vomiero, G. Faglia, G. Sberveglieri, Metal Oxide Nanowire and Thin-Film-Based Gas Sensors for Chemical Warfare Simulants Detection, *IEEE Sensors Journal* 8 (2008) 735-742.

[41] A. A. Tomchenko, G. P. Harmer, B. T. Marquis, Detection of chemical warfare agents using nanostructured metal oxide sensors, *Sens. Actuators B* 108 (2005) 41-55.

[42] I. Campos, L. Gil., R. Martínez-Mañez, J. Soto, J.L Vivancos., Use of a Voltammetric Electronic Tongue for Detection and Classification of Nerve Agent Mimics, *Electroanalysis* 22 (2012) 1643–1649.

[43] I. Campos, R. Masot, M. Alcañiz, L. Gil, J. Soto, J. L. Vivancos, E. Garcia-Breijo, R. H. Labrador, J. M. Barat and R. Martínez-Mañez, Accurate concentration determination of anions nitrate, nitrite and chloride in minced meat using voltammetric electronic tongue, *Sens. Actuators B* 149 (2010) 71–78.

[44] R. H. Labrador, R. Masot, M. Alcañiz, D. Baigts, J. Soto, R. Martínez-Mañez, E. García-Breijo, L. Gil, J. M. Barat, Prediction of NaCl, nitrate and nitrite contents in minced meat by using a voltammetric electronic tongue and an impedimetric sensor, *Food Chem.* 122 (2010) 864–870.

[45] I. Campos, M. Alcañiz, R. Masot, J. Soto, R. Martínez-Mañez, J. L. Vivancos, L. Gil., A method of pulse array design for voltammetric electronic tongues, *Sens. Actuators B* 161 (2012) 556-563.

[46] I. Campos, M. Alcañiz, D. Aguado, R. Barat, J. Ferrer, L. Gil, M. Marrakchi, R. Martínez-Mañez, J. Soto, J.L. Vivancos, A voltammetric electronic tongue as tool for water quality monitoring in wastewater treatment plants, *Water Res.* 46 (2012) 2605-2614.

[47] N. B. Munro, S. S. Talmage, G. D. Griffin, L. C. Waters, A. P. Watson, J. F. King, V. Hauschild, The Sources, Fate, and Toxicity of Chemical Warfare Agent Degradation Products, *Environ Health Perspect.* 107 (1999) 933–974.

[48] F. Winquist, C. Krantz-Rülcker, P. Wide, I. Lundström, Monitoring of freshness of milk by an electronic tongue on the basis of voltammetry, *Measurement Sci. Tech.* 9 (1998) 1937-1946.

- [49] I. Campos, M. Alcañiz, R. Masot, J. Soto, R. Martínez-Mañez, J.-L. Vivancos, L. Gil., A method of pulse array design for voltammetric electronic tongues, *Sens. Actuators B* 161 (2012) 556-563.
- [50] A.C.A. de Vooy, M.T.M. Koper, R.A. van Santen, J.A.R. van Veen, The role of adsorbates in the electrochemical oxidation of ammonia on noble and transition metal electrode, *J. Electroanal. Chem.* 506 (2001) 127-137.
- [51] S.L. Michelhaugh, C. Bhardwaj, G.J. Cali, B.G. Bravo, M.E. Bothwell, G.M. Berry, M.P. Soriaga, The influence of chemisorbed organic monolayers on electrode surface oxidation, *Corrosion* 47 (1991) 322-328.
- [52] K.H. Lee, T. Ishikawa, S.J. McNiven, Y. Nomura, A. Hiratsuka, S. Sasaki, Y. Arikawa, I. Karube, Evaluation of chemical oxygen demand (COD) based on coulometric determination of electrochemical oxygen demand (EOD) using a surface oxidized copper electrode, *Anal. Chim. Acta* 398 (1999) 161-171.

3. A study of the importance of the cell geometry in non-Faradaic systems. A new definition of the cell constant for conductivity measurement

Román Bataller Prats; José Manuel Gandía Romero; Eduardo García Breijo; Miguel Alcañiz Fillol; Juan Soto Camino

Electrochimica Acta (2015)

<http://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.12.014>

Abstract

A new definition for the electrochemical cell constant in conductivity measurements is presented in this paper. Electrochemical Impedance Spectroscopy and DC pulses measurements have been carried out in non-Faradaic conditions in order to evaluate the effects of the cell geometry. The results obtained demonstrate that conductivity measurements are affected not only by the electrodes surface and separation but also by the cross section of the electrochemical cell. In order to obtain a linear behavior of the resistance versus the distance between electrodes, the cross section of the cell should be equal to the electrodes surface. Differences between the cell cross section and the electrodes surface produce a heterogeneous distribution of the electric field that causes the non-linear behavior for low values of the electrodes separation. This study shows that the reproducibility in electronic tongue and humid electronic nose measurements can be improved by designing an electrochemical cell structure that warrants a homogeneous distribution of the electrical field, which results in a reduction of the detection threshold in these types of system.

Keywords: conductivity; cell constant.

3.1 Introduction

The use of voltammetric techniques with electronic tongues and with some types of electronic noses combined with statistical analysis tools in the chemometrics discipline unfolds great opportunities for their application to non-destructive quality controls. This type of surveys is of great interest when online inspections are applied to complex systems, such as natural waters,

sewage waters or many foodstuffs (drinks, milk, fruits, fish, meat, etc.). The importance of these techniques lies in that they can provide information about systems properties related to their composition or quality in a non-destructive, economic and fast manner.

A series of works devoted to the application of electronic tongues in several fields of great scientific and technical interest (environmental, food technology, warfare nerve agent gas detection, etc.) have been published in the last years [1–3]. In addition, a few prototypes have been developed, to mention one example a Wet Electronic Nose has been designed for the detection of vapors and gases [4,5].

One of the most important difficulties in the development of electronic tongues and wet electronic noses, especially in solid sample systems (fruits, meats, fish, etc.), is the problematic reproducibility of the measurements [6,7]. These reproducibility problems can be caused by different factors:

- i. Local variations of the resistivity in the samples. This is a common problem when heterogeneous solid materials (such as fruits, fish or meat) are measured with an electronic tongue. In the case of the Wet Electronic Nose, the reproducibility issues are probably caused by the reticular structure of the membrane (nylon, cotton, cellulose) supporting the absorbent liquid; the disposition of the fibers embedding the membrane is only anecdotally coincident onto the surface of the electrodes in consecutive measurements. According to our experience, the homogeneity of the applied electric field is a critical parameter for the success of this kind of applications.
- ii. The geometry of the measurement cell. Parameters such as distance, surface and position of the electrodes and size and thickness of the sample are of great importance. The Fringe field effect plays a relevant role in the processes occurring during measurements [8].
- iii. Temperature. Temperature variations affect ionic mobility and therefore conductivity. An efficient thermostatic control is enough to assure experimental repeatability.
- iv. Laminar or turbulent matter flow. Electrochemically active matter transport towards the electrodes provides higher current signals. Measurement techniques such as Rotating Disc Electrode (RDE) or Flow Injection Analysis (FIA) benefit from this effect.

In this paper the focus is set on the second factor, and in particular on how the performance of the three-electrode electrochemical cell used in electronic tongues and humid electronic nose can be affected by the cell geometry.

Two types of events can conduct electric current throughout an electrode-electrolyte interface. Non-Faradaic currents concern those events associated to the movement of electrolyte ions, adsorption and desorption processes, reorientation of solvent dipoles leading to the formation of the double layer or increasing it, etc. at the electrode-electrolyte interface; while Faradaic processes comprise direct transference of electrons caused by chemical reactions (oxidation at one electrode and a reduction at the other).

The use of a three-electrode configuration including a Working Electrode (WE), a Reference Electrode (RE) and an Auxiliary or Counter Electrode (AE/CE) in Electronic Tongues and Wet Electronic Noses systems warrant an accurate measurement of the Faradaic current (as the potential between the RE and the WE is kept constant). This potential is affected by the Ohmic drop of the system, a change in the position of the RE with respect to the WE produces a change in the non-Faradaic current. But there are other factors, as the electrodes surface and the sample size that affect this current. In two-electrode configurations, a change in the distance between electrodes produces a dramatic variation in the non-Faradaic current of the system.

The study of how the cell geometry influences non-Faradaic current is of great importance when evaluating reproducibility problems in Electronic Tongue and Wet Electronic Nose systems.

For the purpose of simplicity a two electrode system has been used in this work to analyze and discuss from an electrochemical point of view the relation between cell geometry and non-Faradaic current.

In two electrode measurements charge circulation occurs when an electric field is applied between the two electrodes in contact with the sample. This electric field can produce Faradaic and non-Faradaic processes. The non-Faradaic processes are generally associated to the reorganization of the electrical double layer or the movement of ions inside the media. Faradaic processes are the result of the electron transfers between electrodes and ions or neutral species in the interfacial area (redox processes); they occur when oxidisable or reducible species reach the surface of an electrode whose surface electric potential is appropriate for the redox process.

When the electric conditions are suitable, for instance because the applied electric potential is small and/or of alternating current at medium or high frequencies, it can be considered that only non-Faradaic processes take place. The most direct information obtained when working in non-Faradaic conditions is the system's conductivity.

It was early proved that the conductivity of electrolytic solutions depends on the dissolved salt, its concentration and the dissociation degree. This behavior led since the end of the nineteenth towards the mid twentieth century to the use of alternating current to study the properties of electrolytic solutions. The period comprising 1920 and 1940 was the most productive time for the implementation of this technique and so for the results obtained, which allowed the development of the theoretical models that explain the behavior of electrolytic solutions nowadays [9,10].

Over the time the use of classic conductometry has been losing relevance progressively due to the appearance of more advanced and versatile techniques such as impedance spectroscopy. However despite the amount of publications in this electrochemical area, conductometry is still widely used as an auxiliary control technique, essentially due to the low cost of the instruments and its wide application range. For instance, the measurement of the conductivity in potable, mineral or waste waters provides an idea of their content in salts; the control of conductivity in waste water treatment plants provides an idea of the evolution of the pollutant load during the physicochemical or biological purification processes. In food technology, the monitoring of conductivity is a very useful tool for composition control and also to control the salinity of brines used in processes such as fermentation, pickling, curing, etc.

Data obtained from electrochemical impedance spectroscopy (EIS) provides a lot more information than the gathered from a simple conductimeter which performs the measurements at a single frequency. This frequency scan makes up the frequency spectrum and its analysis permits to obtain useful information for the analysis and characterization of the system under study.

3.1.1 The use of equivalent circuits for the interpretation of solutions' behavior

In the first works about conductivity determination of electrolytic solutions the usefulness of equivalent circuits was already demonstrated for a better understanding of their behavior [9–11]. The model generally accepted for the interpretation of the current flowing through a conductive solution where a Faradaic process occurs is shown in figure 1-A, and for non-Faradaic charge transport processes in figure 1-B.

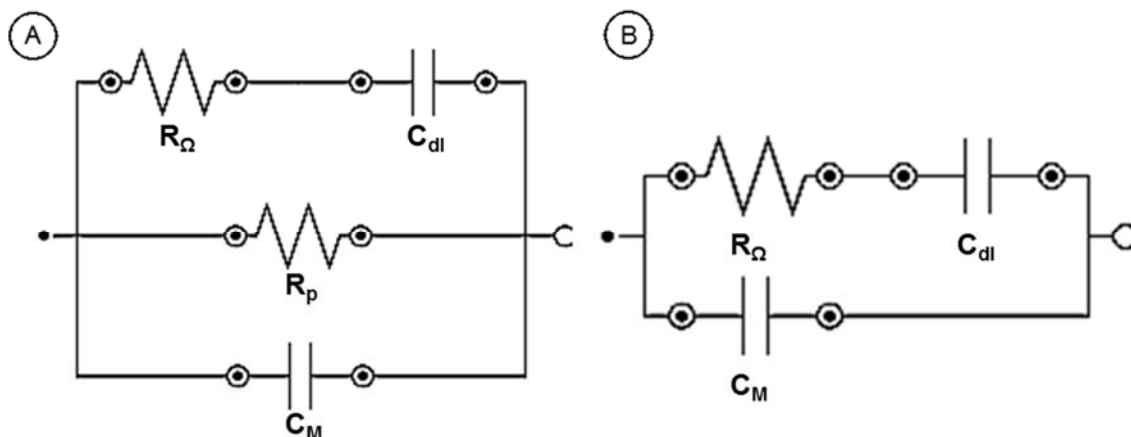


Figure 1. Equivalent circuits of an electrolytic solution: 1-A (left), Faradaic process, 1-B (right) non-Faradaic process.

In this schematic circuits, C_{dl} represents the total capacity of the electrical double layer formed between the electrodes and the ions in the solution, R_{Ω} is the Ohmic resistance of the solution, R_p is the resistance of the redox electronic transfer and C_M is the macroscopic capacity associated to the capacitive effects that take place between the working electrode and the auxiliary electrode immersed in the solution with a dielectric constant ϵ .

3.1.2 Conductivity cell-constant

The determination of molar or equivalent conductivity of electrolytic solutions is done from the specific conductivity according to the expression:

$$\chi_T = \frac{l}{R_T \cdot S} \quad (1)$$

Where l is the distance between electrodes, R_T is the total resistance of the solution and S is the cross section of the ionic conductor. The quotient l/S is traditionally known as cell-constant (K).

However, it is a parameter which is rarely determined directly based on the physical dimensions of the electrochemical cell and the electrodes. This is traditionally justified because the surface of the commercial electrodes is very difficult to determine as they are usually platinized in order to obtain a much larger effective surface. Another reason is the edge effect on the electric field between the measurement electrodes.

There are many problems, some of them still have not been explained, in the determination of the cell-constant so it has to be done indirectly based on the resistive value of a pattern solution of KCl, whose resistivity is known. The ratio between the expected resistance and the real resistance allows the evaluation of the cell-constant l/S . For a better understanding of some aspects that have created some confusion and are still confusing, a small historical review is done for the concept "cell-constant".

Kohlrausch defined the cell-constant as a purely geometrical factor which was obtained directly from the quotient of the distance between the electrodes in the electrochemical cell and their surface area. In 1916 E. Washburn [12] in a paper devoted to the methodology in the measurement of electric conductivity of solutions recommended the use of circular electrodes of similar diameter to the cylindrical deposit containing the solution whose conductivity is to be measured. By this time, both Washburn and Wien [13], interpreted the behavior of a solution by means of an equivalent circuit represented by a resistance and a series capacitor. This interpretation influenced significantly the design of first measurement devices which introduced a variable resistor and a variable capacitor in the measurement bridge to compensate the capacitance of the solutions.

In the period comprehended between 1922 and 1924, Parker published a series of works that contradicted the working methodology proposed by Kohlrausch, he showed that the cell-constant in the electrochemical cell had to be an apparent value, not real and presented a series of data showing that this value depended on the measured resistances of the solutions [14,15]. In a later work he proposed the use of cylindrical cells with diameters of electrodes and cells as alike as possible, by using several diameters of cell and different distances between electrodes [16]. The Geometric Cell Constant was calculated from the quotient l^2/V where l was the distance and V the volume of the cylindrical cell which was calculated by weighing the mercury that it contained.

In 1927, Randall and Scott [17] were working at a fixed frequency of 1000 Hz with four different electrolytes and two geometrically different conductivity cells and came to similar conclusions to Parker's. Between 1929 and 1931, Jones and Bollinger [18–20] present a series of works that coincide with Parker's proposal about the variations observed and demonstrate that different electrochemical cells show different values of conductivity. In order to avoid undesired parasitic capacitances they propose to separate the electrodes, increase the surface of the electrodes and platinize them so more reproducible results can be obtained. In addition, they showed that

the conductivity variations with respect to the frequency did not present the importance that it had been attributed so far.

Another recognized electrochemist, Shedlovsky [11,21], between 1930 and 1932, obtained the conductivity of several salts at different frequencies to confirm the validity of data and detect erratic values while he built and checked many measurement cells designed with the aim of eliminating any effects that could disturb the measurement of conductance, specially polarization and adsorption. So he could state that immersion electrodes directly introduced in the problem solution are not appropriate due to reproducibility issues.

In the early fifties Randles made great contributions to the kinetics of electrode reactions [22], rate constants and activation energies of electrode reactions [23], electron exchange reactions [24], metal ion exchange reaction at amalgam electrodes [25] and many more publications. From these works the well-known equivalent Randles circuit was deduced, which is still widely used.

In the early sixties John Newman started a series works related with current distribution [26,27], limiting currents [28] and the development of the theory of electrochemical systems [29] that are ahead of the latest research improvements in this field.

Despite the great number of publications devoted to conductivity and cell constant determination there are still some non-linear behaviors in the conductivity measurements that have not been explained so far in the field of electronic tongues and noses. The understanding of all the phenomena related with non-Faradaic current in two electrodes configuration is a crucial factor to reduce the reproducibility problems when designing the measurement cell for Electronic Tongue and Wet Electronic Nose systems. In the present work different Impedance Spectroscopy and DC pulses studies have been carried out in order to analyze the non-linear behaviors in conductivity measurements and to understand how the geometry of the cell affects the non-Faradaic current.

3.2 Experimental

3.2.1 Samples preparation

Electrochemical studies were carried out using KCl, KNO₃ and Na₂SO₄ (of analytical grade and from Sigma–Aldrich) in water. Several KCl concentrations were analyzed: 3, 2.5, 2, 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1, 0.01 and 0.001 molal. KCl has been used, as it is a traditional reference solution in conductivity measurements, in order to compare the data obtained in this work with the tabulated values found in bibliography. The concentrations studied for KNO₃ and Na₂SO₄ were 1, 0.75, 0.5, 0.25, 0.1, 0.01 and 0.001 molal.

3.2.2 Electrodes

All the measurements have been performed using the two electrodes measuring technique. The conductors used for the present study were electrodes of graphite, platinum, gold (which are commercial electrodes) and stainless steel (have been manufactured in the laboratory). Different surface sizes have been used:

- 0.0707 cm² for Au, Pt and C.
- 1.440 cm², 1.960 cm² and 5.474 cm² for stainless steel.

The electrodes of 0.0707 cm² surface are the tips used in the rotating disk electrode by Metrohm.

Several electrode morphologies have been used while defining the working conditions of the experiments. Squared, circular and ring shapes have been used in the preliminary tests. The stainless steel electrodes of 1.440 and 1.960 cm² surface cross sections were squared and the ones of 5.474 cm² were circular and almost equal to the total cross section of the larger electrochemical cell.

3.2.3 Electrochemical Cell

Four different thermostated cells were made. A cylindrical geometry was used with internal diameters of 13.2 (Cell 1), 16.3 (Cell 2), 20.8 (Cell 3) and 26.9 (Cell 4) mm (corresponding cross sections of 1.368, 2.087, 3.398 and 5.683 cm² which were the available tube diameters found). The electrodes described in Section 2.2 were used in the designed cells. In all the measurements the pair of electrodes performing the test was of the same dimensions and material.

The electrochemical cells consist of two cylindrical bodies of approximately 50 cm each (see Figure 2). The main body includes the thermostatic cell and it is built with two concentric tubes of a polymeric material (marked with parallel lines), which create a chamber in which the thermostating liquid flows from the circulating bath. In the bottom edge it can be placed any of the previously described electrodes (wired at WE1), which is immobilized with a female screw of the same polymeric material in the inner cylinder of the cell.

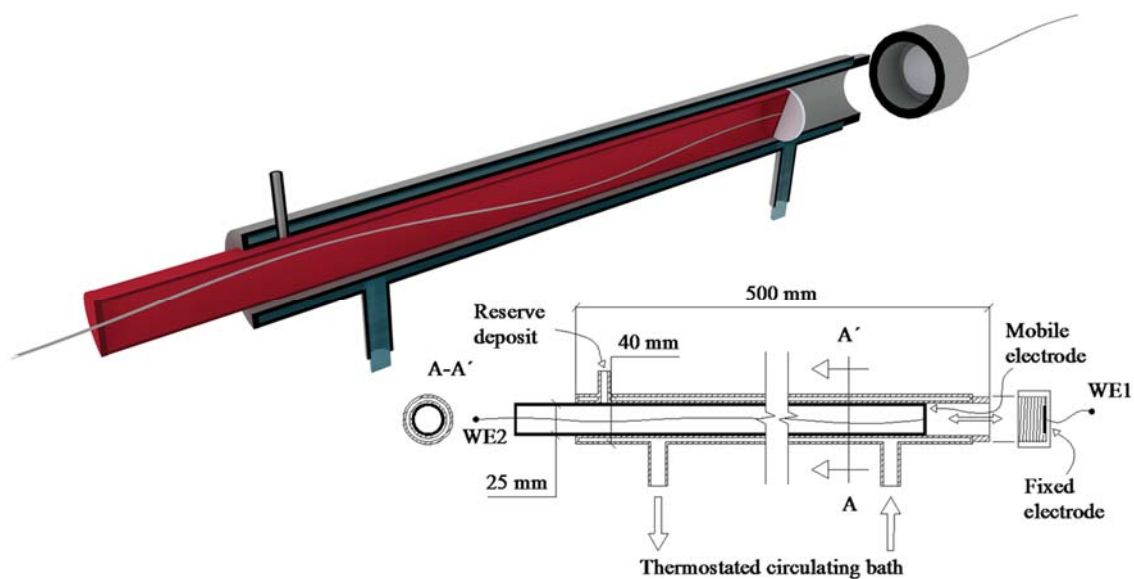


Figure 2. Conductivity cell 4 diagrams (horizontal view).

In the upper part of the cell a T connection has been installed so a reserve thermostated deposit is connected. This reserve deposit contains the solution under study, so it refills the electrochemical cell as the mobile electrode (wired at WE2) displaces the solution in the measuring chamber while the measurements take place. The mobile electrode body is made with a cylinder of almost the same diameter as the measuring chamber, in which edge the corresponding electrode is attached. This mobile part can be displaced in a distance range between 0 and 40 cm approximately. The mobile part is fixed at the required distances with an

external auxiliary element (if the tubes are similar enough no external fixing assistance is needed). The measurement of the separation between the electrodes is made with a precision of ± 0.05 mm by using a Vernier caliper.

All the electrochemical measurements have been performed working in the described electrochemical cells at 25°C. For the temperature control a refrigerated/heated circulating bath from PolyScience¹ has been used, with a precision of ± 0.005 °C.

3.2.4 Internal cross section determination of the electrochemical cell

The internal cross section average of the electrochemical cell has been determined from the weight difference between the cell empty and filled with distilled water at 25°C. The cell volume is then obtained from the quotient between the mass of the contained water over the density of the liquid at the working temperature. From the calculated volume and the known cell's length it can be determined the internal cross section of the cylindrical chamber. The determination of the parameter has been realized five times for each electrochemical cell prototype.

3.2.5 Electronic equipment

As first measuring technique for the determination of the resistance of solutions it has been used Electrochemical Impedance Spectroscopy. A Metrohm Autolab B.V. potentiostat PGSTAT100 with a FRA2 module has been used for the performance of these measurements. The software application Nova, from Autolab as well, has been used for the data preprocessing and for the circuits fitting simulations.

For this study fifty frequency steps (logarithmic distribution) have been configured, from 1 MHz to 100 Hz with an AC perturbation with amplitude of 10 millivolts to minimize the occurrence of polarization phenomena. The noisy or erratic data have been discarded previously based on Kronig-Kramers analysis [30]. On the other hand, the impedance value at 10 kHz has been used as a rough approximation to the resistance value because at this frequency the observed capacitance values represent a minor component of the total impedance. For the data analysis

the basic equivalent circuit has been discarded due to its inefficacy in the fitting of the experimental data.

As second measuring technique a commercial conductimeter (Crison GLP32) has been used. It has been previously calibrated with a series of known resistors. The device works with squared wave alternating current at 2500 Hz and 100 mV amplitude. For this particular case (and based on the calibration) it has been assumed that the inverse value of the measured conductance directly provides the resistance value of the solution under study.

The last measuring device used has been developed in the Centro de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM) to perform the pulse voltammetry measurements [31].

The applied pulses had an amplitude of 10 mV and a duration of 2 ms for the least concentrated samples and 5 ms for the concentrations 1 m and above. Three consecutive pulses where applied and individual analyses of each pulse where performed to calculate the corresponding values of proposed circuit in figure 6. The parameters were fitted via iterative calculation using the Microsoft Excel tool Solver.

All the electrochemical measurements have been performed inside a Faraday cage at 25.0°C.

3.3 Results and discussion

According to the previously presented ideas, there is a series of problems which should be studied to fulfill the proposed objectives. In first place it is necessary to do a comparative analysis between the results of the different electrochemical techniques (pulse voltammetry and impedance spectroscopy), which can be combined when working with electronic tongues. This is why it is important to realize a comparative analysis of the behavior of the proposed equivalent circuits for the interpretation of the experimental results.

In second place, it is necessary to determine the most appropriate geometry for the measuring cell depending on the particularities of the system under study (solid, liquid, gas or vapor) and to be able to determine with accuracy the cell constant in order to normalize the results.

3.3.1 Electrochemical results analysis. Determination of the Ohmic resistance of electrolytic solutions by means of several measuring techniques

The value of the electric resistance of an electrolytic solution can be conditional to the electrochemical technique employed in its determination. It is known that the response of solvated ions in the presence of an electric field depends on two factors: the magnitude of the electric field and its frequency if it is an oscillating wave [32,33].

The resistivity is linear with the electric field when this field is small, which is the reason why in this study the working potentials are set to just a few millivolts. On the other hand the effect of the frequency on the resistivity of solutions has been described and discussed widely. It might be the reason to justify the possible differences between the obtained results for the electric resistivity when working with continuous or alternate measuring techniques. Another reason might be that the equivalent circuits employed for the calculation of the resistance are not the adequate for the analysis of the experimental data.

For the measurement of the conductivity in a non-Faradaic process the accepted equivalent circuit is the one shown in figure 1-B. For this equivalent circuit the impedance modulus is shown in equation 2:

$$|Z| = \sqrt{\frac{R_{\Omega}^2 + \left(\omega \cdot C_M \cdot R_{\Omega}^2 + \frac{1}{\omega \cdot C_{dl}} + \frac{C_M}{\omega \cdot C_{dl}^2} \right)^2}{\left(1 + \frac{C_M}{C_{dl}} \right)^2 + \omega^2 \cdot C_{dl}^2 \cdot R_{\Omega}^2}} \quad (2)$$

And the phase angle for this model is shown in equation 3:

$$\phi = -\arctan \frac{Z''}{Z'} = -\arctan \left(\frac{-\left(\omega \cdot C_M \cdot R_{\Omega}^2 + \frac{1}{\omega \cdot C_{dl}} + \frac{C_M}{\omega \cdot C_{dl}^2} \right)}{R_{\Omega}} \right) \quad (3)$$

Figure 3 displays the logarithmic variation of the impedance modulus figure (3-A) and phase (3-B) versus the frequency of a KCl 3 molal solution at 25°C and the corresponding simulation with equations (2) and (3) of the non-Faradaic equivalent circuit of figure 1-B.

The differences between the theoretical and experimental results of the modulus and phase impedance versus frequency reveal that the first circuit is not appropriate.

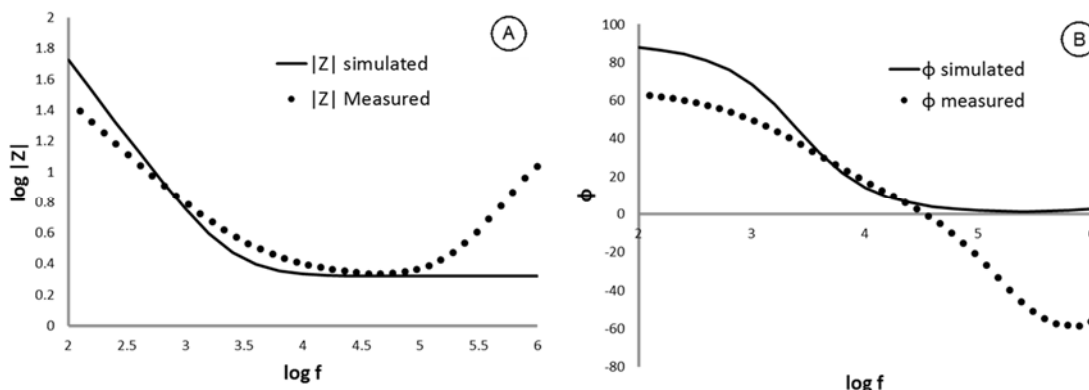


Figure 3. $\log Z$ and phase for a KCl 3 m solution at 25°C. 3-A: logarithm of the modulus and the simulated modulus (continuous line); 3-B: logarithm of the phase and simulated phase (continuous line).

It is again easy to demonstrate that the simplest equivalent circuits (figure 1) are not the most adequate for the simulation of electrolytic solutions. A double branched model formed by two parallel RC branches can be explained based on the independent migration process of ions and the formation of two electrical double layers on the electrodes' surfaces.

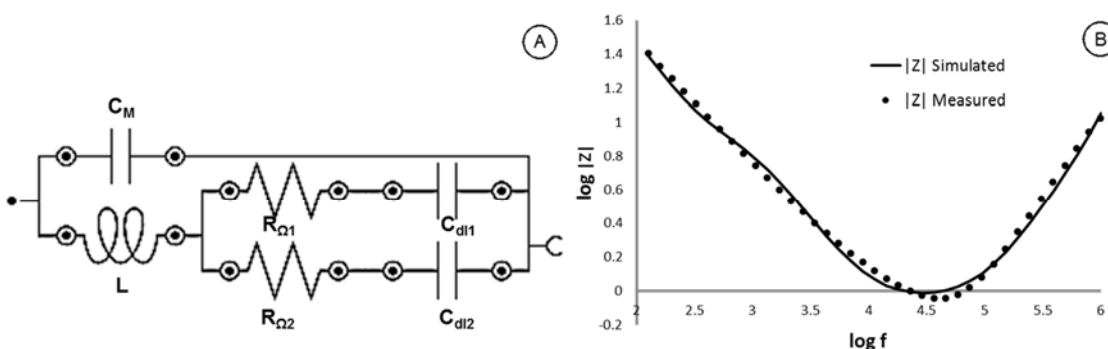


Figure 4. Logarithm of the impedance spectrum of a KCl 3 molal solution (points) and the model fitting (continuous line) (4-B) separated 3 cm by using the equivalent circuit in 4-A.

The proposed model is shown in figure 4-A, in which a double branch circuit has been used in order to consider independent ions migration and in which is further added an inductive

element. It has been checked that the simulations improve significantly when an inductance L (LCR equivalent circuit) is included in the basic circuit. This is not a crazy idea because of the demonstrated existence of the magnetohydrodynamic effect [34]. The results improve noticeably compared to the simple circuits (figure 1) model, but yet do not present a satisfactory fitting as it can be seen in figure 4-B.

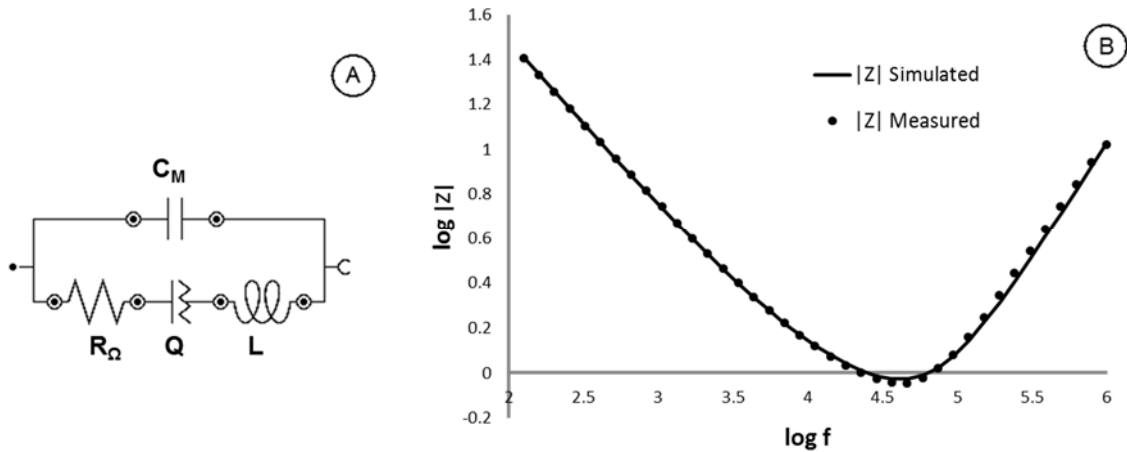


Figure 5. Logarithm of the impedance spectrum of a KCl 3molal solution (points) and the model fitting (continuous)(5-B) at 1, 3, 7 and 20 cm by using the equivalent circuit $(RQL)C_M$ (5-A)

However a better approximation is obtained by using an equivalent circuit $(RQL)C_M$ (see figure 5), where component Q is a constant phase element. This element is normally used to simulate the double-layer capacitance at solid electrodes by means of impedance spectroscopy studies, which usually show deviations from ideal behavior. This capacitance dispersion strongly depends on the state of the electrode's surface, its roughness and also on anion adsorption. The deviations from ideal capacitive behavior can be empirically represented by the so-called CPE [35]. This model has been used to adjust the impedance spectra and obtaining the resistance value (R_Ω) of the studied solutions.

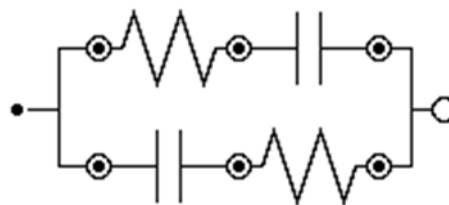


Figure 6. Equivalent circuit $(RC)_2$ for the analysis of the intensity vs. time response when applying a DC pulses.

For the realized tests applying DC pulses an $(RC)_2$ equivalent circuit (figure 6) has been used as model. The inductive component in the case of direct current signals is not relevant.

The resistance values have been calculated with Solver, a tool of Microsoft Excel. The charge/discharge equations (see equation 4) of the two parallel branches have been programmed to obtain the value of the four components of the circuit in figure 6 (two resistors and two capacitors; the total resistance is calculated as a parallel resistor).

$$i(t) = \frac{\Delta V}{R_+} e^{-t/(R_+ \cdot C_+)} + \frac{\Delta V}{R_-} e^{-t/(R_- \cdot C_-)} \quad (4)$$

The conductivity values of the samples measured with the commercial conductimeter have also been registered and so Table 1 contains the measured values of the resistances obtained with the three just accounted techniques. The data contain the information of a set of KCl solutions of different concentrations at 25°C measured with two platinum electrodes with a surface of 0.0707 cm² separated 1 cm in a cylindrical cell whose cross section was 1.368 cm². In the first column the modulus of the impedance at 10 KHz measured with EIS has been also introduced.

Table 1. Resistance values of five KCl solutions at 25°C by means of EIS, pulse voltammetry and conductometry.

molality	Z (10KHz)	R (EIS)	R (DC pulses)	R (Cond.)
0.010	2261	2253	2265	2049
0.015	1502	1497	1509	1430
0.025	912.9	909.2	921.0	899.0
0.100	245.5	243.3	255.0	209.0
0.500	73.30	69.10	81.10	42.30

The resistance values in Table 1 for the different KCl solutions basically show that the obtained values depend on the used measurement technique. On the other hand, small excitation potentials are being used (10 mV for EIS and 10 mV in pulse voltammetry) with the intention of obtaining linear responses from the media, so the effect described by Wien about the variation of the resistivity in the presence of an electrical field does not manifest. Otherwise, although little variations of the resistance with the frequency seem to arise (Debye-Falkenhagen effect) it seems to have a minor effect because it is possibly mathematically encompassed by the constant phase element (Q).

3.3.2 Ohmic resistance of the ionic solutions over the distance between the electrodes

Figure 7 shows the variation of the resistance value of a 0.250 m KCl solution at 25°C from the data corresponding to the EIS measurements when using two platinum electrodes which surface is 0.0707 cm² and two stainless steel electrodes which surface is 5.474 cm² over the distance and in two different electrochemical cells (inner cross sections of 1.368 cm² and 5.683 cm² respectively).

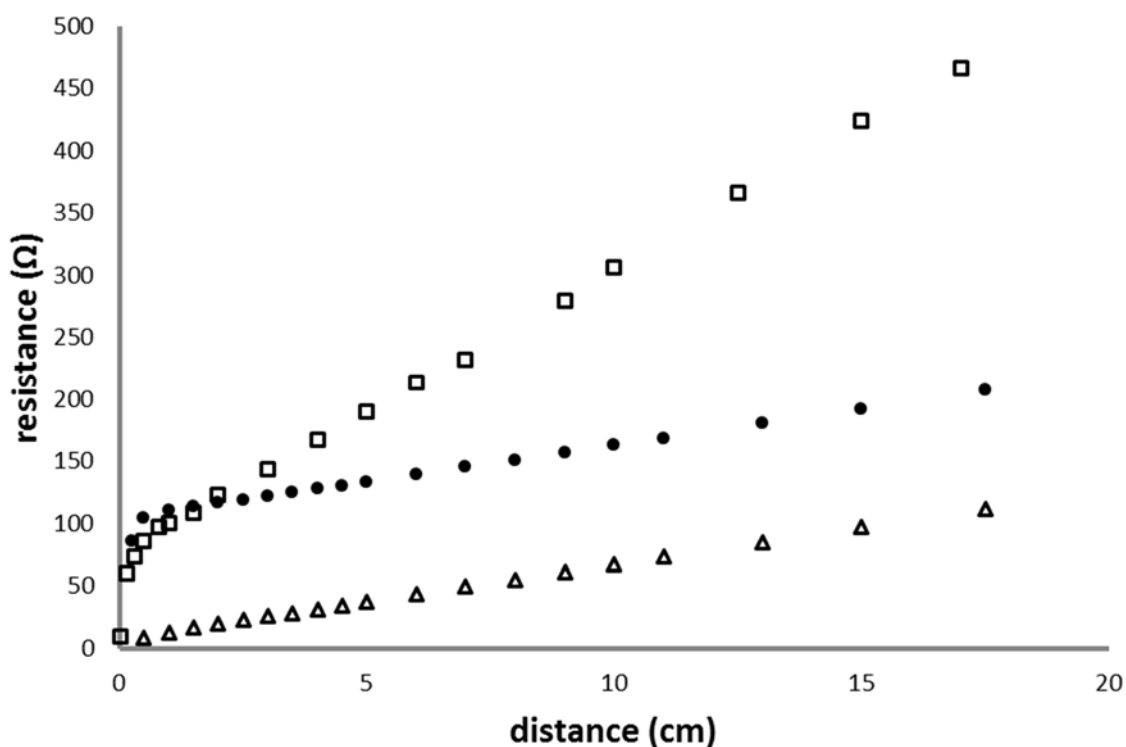


Figure 7. Resistance vs. distance graph of a 0.25 m KCl solution and three electrode-cell configurations (□ electrode surface 0.0707 cm², cell cross section 1.368 cm²; ● electrode surface 0.0707 cm², cell cross section 5.683 cm²; Δ electrode surface 5.474 cm², cell cross section 5.683 cm²) with EIS at 10 kHz.

From this figure it can be observed that in some situations resistance is not linear with respect to distance, as equation 1 stands. In fact, in two of the represented data sets (symbols '□' and '●') an initial curvilinear section is displayed until almost 1 cm; the rest of the response is linear. Besides, the intercept extrapolating from the rectilinear section is considerably different from the zero value proposed in this equation. Only the 'Δ' symbols representation is linear and its intercept agrees with the expected behavior.

Moreover, it should be noted that the slopes of the data sets with symbols '●' and 'Δ' are very similar, despite the electrodes surfaces considerably different (0.0707 and 5.474 cm²). In this case the cross section of the measuring cell has to be pointed out to be responsible for this outcome, as in both cases it is the same (5.683 cm²).

On the contrary, the responses of the series represented by '□' and '●' are dissimilar although the same electrodes have been used. The difference in the cross section of the cells (1.368 and 5.683 cm²) seems to be reason. According to these observations it is easier to confirm that the slopes of the rectilinear sections are an inverse function of the cross section of the electrochemical cells and independent of the surface of the electrodes.

Figure 8 represents the evolution of the resistance over the distance between the electrodes of three electrolytic solutions (0.100, 0.250 and 0.500 m KCl at 25°C); measured in an electrochemical cell which cross section was 1.368 cm² and with two platinum electrodes whose surface was 0.0707 cm².

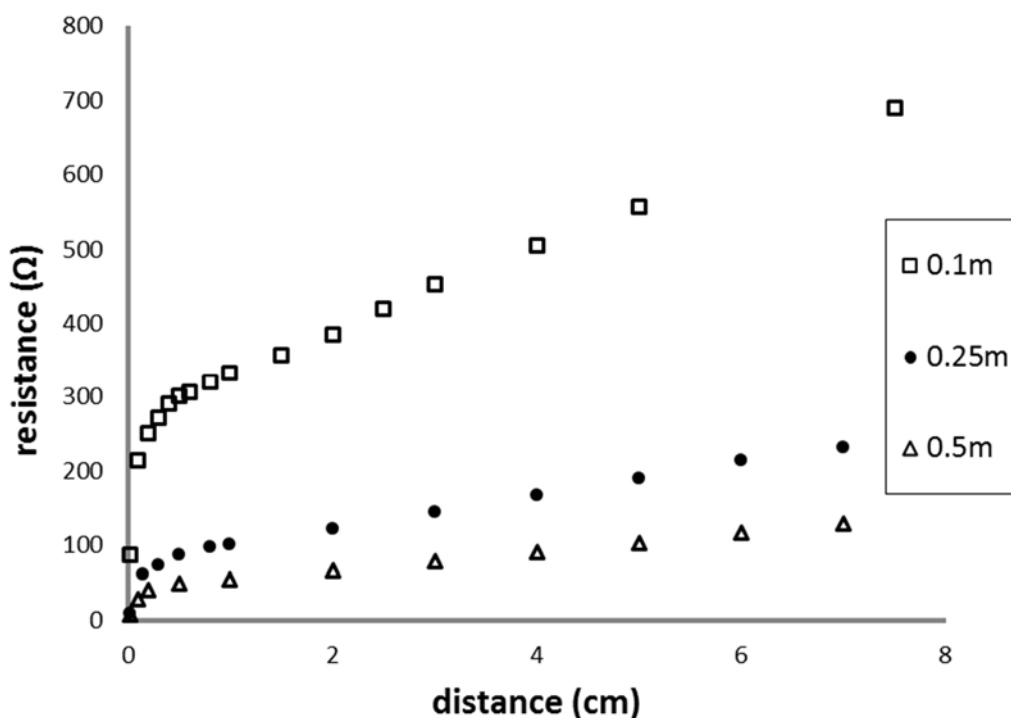


Figure 8. Resistance vs. distance graph of three KCl solutions (0.100, 0.250 and 0.500 m) in a cell with a cross section of 1.368 cm² measured with two platinum electrodes (surface of 0.0707 cm²) with EIS at 10 kHz.

Data in this figure show that when working in the same cell the slope in the linear section of the measured resistance over the distance between the electrodes is approximately an inverse function of the concentration of the electrolyte. It can also be observed that the extrapolated intercept of the rectilinear section also seems to obey this mathematical statement.

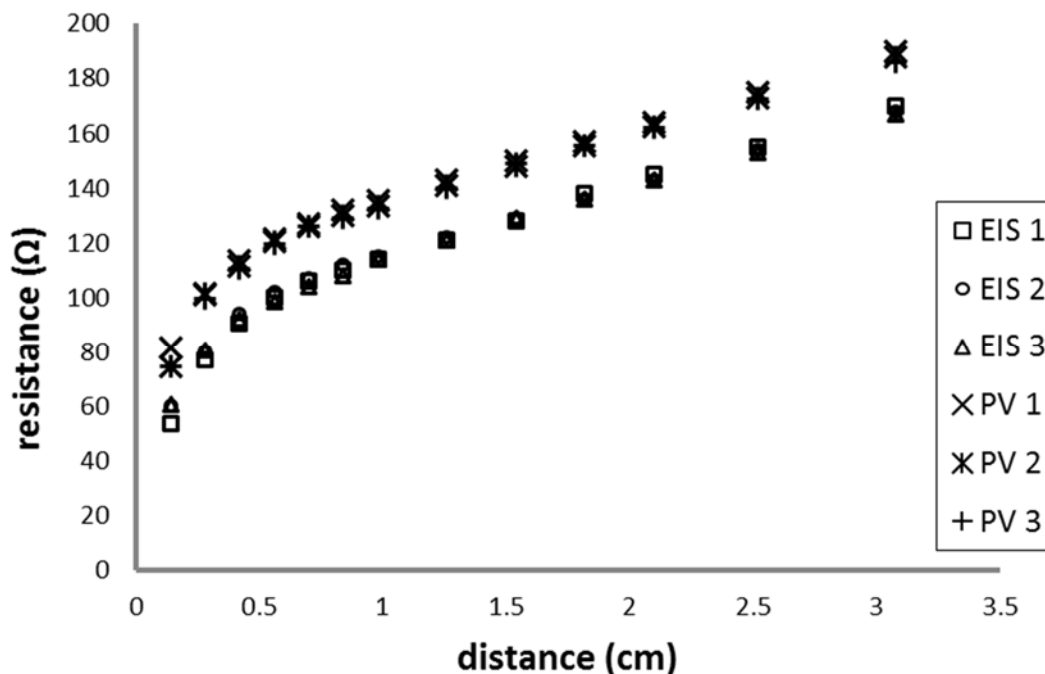


Figure 9. Resistance vs. distance graph of a 0.250 m KCl solution in a cell with a cross section of 1.368 cm² measured with two platinum electrodes (surface of 0.0707 cm²) by means of EIS and PV at 25.0°C.

In Table 1 it has been shown that the different electrochemical measurement techniques lead to similar resistance values, but not to the exact same results if the experimental error ranges of each of the techniques are considered. Figure 9 displays a detailed study of the evolution of the resistance of a 0.250 m KCl solution over the distance in a cell with a cross section of 1.368 cm² measured with two platinum electrodes (surface of 0.0707 cm²) by means of Impedance Spectroscopy (10 mV amplitude sinusoidal perturbation) and pulse voltammetry (with same amplitude). The models used for the data analysis have already been introduced in section 3.1. (EIS 1, EIS 2 and EIS3 modelled with the (RQL)C_M equivalent circuit; and Pulse Voltammetry PV1, PV2 and PV3 modelled with (RC)₂ equivalent circuit).

The data displayed in the figure show two well defined groups of resistance values versus the distance, which are separated about 20 Ohm. The obtained resistance values by means of EIS reveal smaller resistance values than those obtained from the pulse voltammetry technique.

These differences seem to be caused by the relaxation effect, which appears at high frequencies. Nevertheless, the slopes within the linear sections are equal within the experimental errors, regardless of whether the measurement technique is of alternating or direct current basis.

The slope value is related to the total resistivity of the solution. Operating equation 1 and considering that the total resistivity of the solution is the inverse of the total conductivity, then:

$$\frac{\partial R_T}{\partial l} = \frac{\rho_T}{S} \quad (5)$$

Therefore, the graphical representation of the measured resistance versus the distance in the linear section presents a slope equal to the total resistivity of the solution divided by the cross section of the cell. The slope values by means of EIS and pulse voltammetry are 24.114 V cm⁻¹ and 24.096 V cm⁻¹ respectively, which come to molar conductivity values of 122.48 and 122.57 S mol cm⁻¹ which fit with the data found in the literature for the same sample (KCl 0.250 molal at 25°C): 122.55 S mol cm⁻¹.

For the calculation of these two conductivity values of the KCl solutions, the following simplified expression has been used:

$$\Lambda = \frac{1000 \cdot \chi_{\text{solute}}}{C} \cong \frac{1000}{\rho_T \cdot C} = \frac{1000}{\text{Slope} \cdot S_c \cdot C} \quad (6)$$

Where C is the molar concentration of solute and S_c is the cross section of the cell.

We would like to highlight that the non-linear response of the resistance of electrolytic solutions versus the distance shown in figures 7–9 has not been described so far.

3.3.3 Cell constant

According to figures 7–9 the measured resistance when the electrodes are at a fixed distance (l > 0.75 cm) can be considered as the sum of two contributions: a resistance R₀ (which is the value of the obtained resistance at the intercept of the linear section) plus the contribution of the solution resistance under study R_i, which depends on the separation between electrodes and on the cross section of the cell. Figure 10 details these proposed arguments.

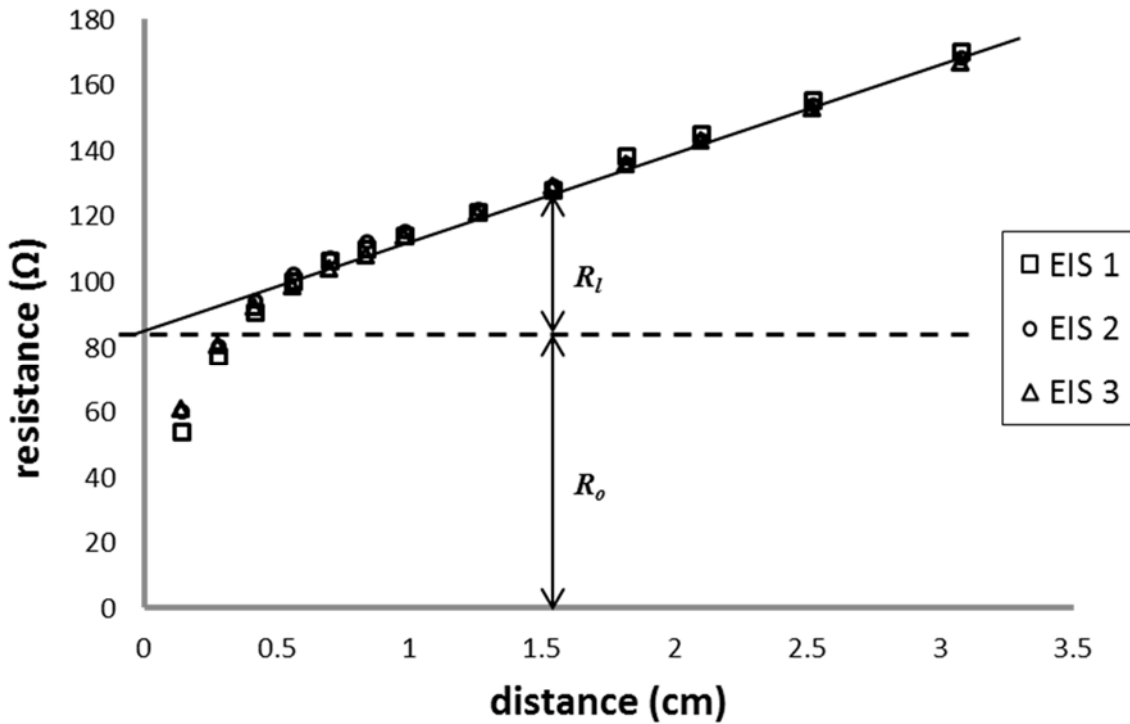


Figure 10. R_0 and R_l definitions referred to the total measured resistance.

According to Fig. 10, the following equation 7 can be written:

$$R_T = R_0 + R_l \quad (7)$$

It is obvious then that R_l can be related to the total resistivity of the solution with the distance between electrodes and the cross section of the conductive solution container, so the following expression can be written:

$$R_T = R_0 + \rho_T \cdot \frac{l}{S_c} = (R_0 \cdot S_c + l) \cdot \frac{\rho_T}{S_c} \quad (8)$$

Figure 11 reveals the dependency of the intercept R_0 to the concentration of the electrolyte or resistivity of the solution. A systematic study about the determination of the connection between the slope (ρ_T/S_c) of the linear section of the solution's resistance and the intercept is shown in Tables 2 and 3.

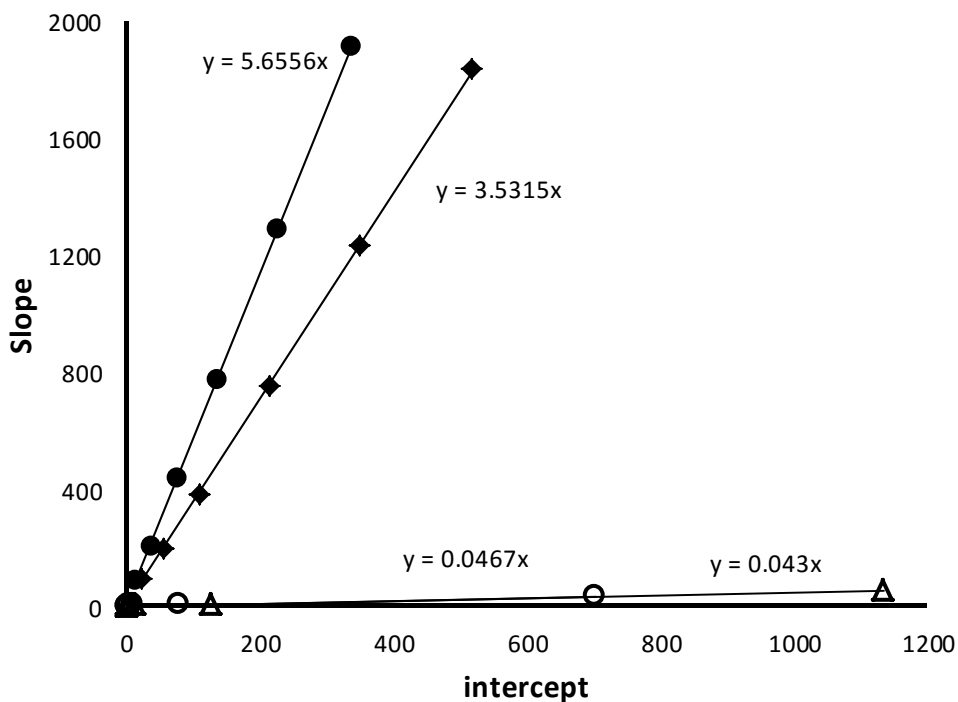


Figure 11. Intercept versus slope plot of the resistance variations versus the distance (● KCl, electrode diameter 3 mm, cell 2; KCl, ◆ electrode diameter 3 mm, cell 1; KNO₃, △ electrode diameter 2.64, cell 4; ○ Na₂SO₄, electrode diameter 2.64, cell 4).

Table 2. Slope values of ρ/S_c and intercept for six KCl solutions at 25°C in two cells of 1.32 cm (cell 1) and 1.63 cm (cell 2) in diameter and Pt electrodes of 3 mm in diameter. Data obtained by means of EIS.

molality	Cell 1		Cell 2	
	Slope(ρ/S_c)	Intercept	Slope(ρ/S_c)	Intercept
0.250	24.11	91.52	15.63	87.67
0.100	57.16	195.8	38.38	205.1
0.050	110.3	383.3	78.13	439.1
0.025	214.1	750.0	138.0	775.0
0.015	349.9	1230	228.2	1288
0.010	517.3	1835	337.7	1916

Table 3. Slope values of ρ/S_c and intercept for six Na_2SO_4 and KNO_3 solutions at 25°C in a cell of 2.69 cm in diameter and Steel electrodes of 2.64 cm in diameter (Cell 4). Data obtained by means of EIS.

molality	Na_2SO_4		KNO_3	
	Slope(ρ/S_c)	Intercept	Slope(ρ/S_c)	Intercept
1.000	1.900	0.2527	1.972	0.2839
0.500	3.045	0.2996	3.478	0.8124
0.250	4.994	0.6114	6.394	0.9480
0.100	10.69	0.7335	14.69	1.546
0.010	80.71	4.295	129.5	6.194
0.001	704.5	32.84	1135	48.73

Experimental data present a linear increase of the intercept as a function of the solution's resistivity which leads to the following proposal: R_0 is directly proportional to the slope (ρ_T/S_c) and is dependent on the geometry of the cell (equation 8).

According to these data the cell constant only matches with the Geometric Cell Constant when the conductive cross section S_c (as H. H. Bauer discussed in the early seventies) [36], which contains the electrolytic solution, is equal to the surface of the electrodes (see figure 7). In this particular case, the resistance as a function of the distance is a straight line starting in the origin (zero intercept) and so zero is also the value of R_0 . Several functions fulfill this condition. Some of the simplest include the subtraction of cross sections ($S_c - S_e$) or the subtraction of diameters ($\phi_c - \phi_e$). Some variations have been analyzed and the results show that the function that better explains the experimental behavior is the subtraction of the diameters inverse ($1/\phi_e - 1/\phi_c$). Equation 9 considers this sections issue:

$$R_0 \cdot S_c = A \cdot S_c \cdot \left(\frac{1}{\phi_e} - \frac{1}{\phi_c} \right) = A \cdot S_c \cdot \frac{\phi_c - \phi_e}{\phi_e \cdot \phi_c} \quad (9)$$

Where ϕ_c is the diameter of the cell and ϕ_e is the diameter of the electrode. In this equation, A is a constant whose value seems to be related to the geometry of the cell and electrodes. Combining equations 8 and 9, we obtain:

$$R_T = \left(A \cdot S_c \cdot \frac{\phi_c - \phi_e}{\phi_e \cdot \phi_c} + 1 \right) \cdot \frac{\rho_T}{S_c} \quad (10)$$

Equation 10 is only valid for fitting the rectilinear section of the representation of the resistance versus the distance. For the particular case of the studied KCl solutions with a couple of Platinum electrodes of 0.0707 cm² in a cell of 1.368 cm², the slope is 3.5315 cm⁻¹. Since the difference of sections diameters (1/φ_e – 1/ φ_c) is 2.575 cm⁻¹, A is equal to 1.0019 cm⁻¹ by operating equation 10. For cells 1, 2 and 4, see Table 4.

The calculated values for constant A are in practice coincident within the experimental error. In accordance to the average value of A, it can be proposed that for a cylindrical cell and circular electrodes the numerical value is 1.06 ± 0.08 cm⁻¹.

Table 4. Constant A values obtained for the different cells.

Cell	φ _e	φ _c	S _c	slope	A
Cell 1	0.300	1.320	1.369	3.532	1.002
Cell 2	0.300	1.630	2.087	5.656	0.997
Cell 4	2.640	2.690	5.683	0.0467	1.167
Cell 4	2.640	2.690	5.683	0.0430	1.075

3.1.1.1 Cell Effective Constant for l > 0.75 cm

We can define the Cell Effective Constant (K_{ef}) as the sum of the Kohlrausch Geometric Cell Constant K, and the value of R₀ (y-intercept of the linear section extrapolation):

$$K_{ef} = A \cdot \frac{\phi_c - \phi_e}{\phi_e \cdot \phi_c} + \frac{1}{S_c} \quad (11)$$

The difference between the K_{ef} and the geometrical value of the cell can be evaluated. For instance, for cell 1 if the couple of electrodes of 0.0707 cm² are separated 1 cm K_{ef} is equal to 4.467 cm⁻¹ (3.735 + 1/1.368), which is an intermediate value but very different from the Geometric Cell Constant when taking into consideration the cross section of the cell (1/1.368 = 0.731 cm⁻¹) or the quotient between the distance and the surface of the electrodes, which is 14.14 cm⁻¹. It is important to note that the value of the effective cell constant is applicable only when the distance between electrodes is greater than 0.75 cm (see figure 10) which corresponds to the linear region of the resistance vs. distance graph.

Table 5 shows the molar conductivity values calculated from the slope of the linear section versus de distance. These values agree with the tabulated data of KCl conductivity values (within the experimental error rank).

Table 5. ρ_T/S_c slope values; calculated molar conductivity in cell 2 (1.368 cm²) and Pt electrodes of 3 mm in diameter (data obtained by means of EIS) and tabulated molar conductivity for KCl at 25°C.

molality	M	slope	Λ calc	Λ tab
0.500	0.4914	12.64	117.7	117.4
0.250	0.2476	24.11	122.5	122.7
0.100	0.0995	57.16	128.5	128.9
0.050	0.0498	110.3	133.1	133.3
0.025	0.0249	214.1	137.1	137.1
0.015	0.0150	349.9	139.3	139.7
0.010	0.0100	517.3	141.3	141.2

These results partially agree with the works published by Parker [15,16], who demonstrated that the known cell constant did not coincide with the geometrical value and which had an apparent value that found to be dependent on the solution's resistance. The results in this paper reveal that the dependency is linear and so can be included in the Effective Cell Constant.

3.1.1.2 Cell Effective Constant for $l < 0.75$ cm

Finally, we try to study the region where the curvilinear variations of the resistance occur as a function of the distance, this is, the zone where the distance between electrodes is smaller than 0.75 cm. This is a relevant consideration in order to evaluate how the natural tendency in sensors miniaturization can affect the provided information reliability. A simple empirical approach has been found by adding two terms to equation 10 which allows modeling the resistance variation at short distances without modifying the slope in the rectilinear zone. The proposed equation is:

$$R_T = R_I + \left(A \cdot \frac{\phi_c - \phi_e}{\phi_e \cdot \phi_c} \cdot \frac{B \cdot l}{1 + B \cdot l} + \frac{l}{S_c} \right) \cdot \rho_T \quad (12)$$

Constants A and B can be determined by experimental fitting of the measured data to the model.

The calculated values for constant A are in practice coincident within the experimental error (1.025 cm^{-1}). In accordance to the average value of B, it can be proposed that for a cylindrical cell and circular electrodes of 0.3 mm of diameter, the numerical value is $12 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$.

Finally, the term R_i , which corresponds to the interfacial resistance or contact resistance, has been added. It justifies the shift in the resistance values of figure 9. The differences are probably caused because in the case of pulse voltammetry the double layer reaches a complete degree of organization imposed by the applied electric field. On the contrary, with EIS at working frequencies higher than 100 Hz this event does not manifest because there is not enough time to form the double layer at the interface. The results reveal that R_i depends on the measuring technique but it is reasonable to think that it may also depend on the solvent, the type of ion and its concentration. These aspects should be addressed in future research.

3.1.1.3 Electrodes geometry

Finally, it has been studied how the change in shape of the working electrodes affect the measured resistances. Electrodes with two square cross sections (1.44 and 1.96 cm^2) have been used. However, the cells have been maintained in cylindrical shape (cells 3 and 4) which cell diameters are 2.09 and 2.69 cm. In order to apply equation 12 the value of R_i is assumed as zero and the diameter of the electrode is the diagonal length of the squared electrode. The dimensions used to calculate the difference in diameters are 1.697 and 1.980 cm respectively. Table 6 includes the A and B values obtained by fitting the experimental data using equation 12 in the case of squared cross section electrodes.

Table 6. A and B values of the simulated response of a 0.25 m KCl solution with two electrode-cell configurations.

Electrode	ϕ_{cell} (cm)	A (cm)	B (cm^{-1})
1.44	2.09	0.883	1.75
1.96	2.69	0.922	1.82

It is interesting to point out that for the employed cells constant A is close to 1 cm^{-1} when the electrodes are of circular shape. However when the electrode is squared A value is approximately 0.9 cm^{-1} .

Besides, it should also be noted that constant B, which is used to fit the first curvilinear section ($l < 0.75$ cm) has an approximate value of 1.8 cm^{-1} . This indicated that the shape and size of the electrode actively affects the value of constant B.

3.4 Conclusions

1. The calibration constant of an electrochemical cell coincides with the Geometric Cell Constant (l/S) when an electric field of homogenous direction is applied in the solution under study. This only occurs in the case of the electrodes surface and the cross section of the cell to be the same. When this condition is fulfilled, the graphic representation of the experimental resistance versus the distance is a straight line which intercept is zero.
2. When the surface of the electrodes is smaller than the cross section of the cell the electric field lacks from directional homogeneity. In this situation the plot of the resistance vs. distance displays an initial curvature until it reaches about one centimeter to become linear afterwards. In this second case, the slope of the rectilinear section is directly proportional to the resistance and inversely proportional to the cross section of the receptacle containing the solution under study. The obtained molar conductivity values of the KCl solutions by means of alternating current techniques agree (within the experimental errors) with the values obtained when applying a pulse potential of 10 mV.
3. The exact measurement of the conductivity of electrolytic solutions requires an adequate design of the electrochemical cell. The ideal configuration is that the electrodes geometry matches the cell's cross section, that they are planar and parallel. They are to be fixed in a cell made of an insulating and inert material such as glass, Teflon or polyethylene. The cell should have small inlet and outlet in order not to alter the electric field homogeneity inside the cell.
4. When the cell geometry cannot be optimal because of practical implications, it might convenient to use several electrodes to infer the slope of the resistance vs. distance evolution and the resistivity value can be calculated.

5. According to our experience a design with moving electrodes turns out to be complex and fairly impractical for the use of electronic tongues and so further research on the development of an appropriate distribution of the electrodes in an electronic tongue should be done.

Acknowledgements

Financial support from the Spanish Government (projects MAT2012-38429-C04-04 and IPT-2012-0069-310000) is gratefully acknowledged. The pre-doctoral scholarship granted to Román Bataller Prats within the program “Formación de Personal Investigador (FPI) 2012” from Universitat Politècnica de Valencia is gratefully acknowledged.

3.5 References

- [1] Y. Vlasov, A. Legin, A. Rudnitskaya, Electronic tongues and their analytical application, *Anal. Bioanal. Chem.* 373 (2002) 136–146.
- [2] F. Winquist, E. Rydberg, S. Holmin, C. Krantz-Rülcker, I. Lundström, Flow injection analysis applied to a voltammetric electronic tongue, *Anal. Chim. Acta* 471 (2002) 159–172.
- [3] I. Campos, M. Alcañiz, D. Aguado, R. Barat, J. Ferrer, L. Gil, M. Marrakchi, R. Martínez-Mañez, J. Soto, J.L. Vivancos, A voltammetric electronic tongue as tool for water quality monitoring in wastewater treatment plants, *Water Res.* 46 (2012) 2605–2614.
- [4] R. Bataller, I. Campos, M. Alcañiz, L. Gil-Sánchez, E. García-Breijo, R. Martínez-Mañez, L. Pascual, J. Soto, J.L. Vivancos, A humid electronic nose based on pulse voltammetry: A proof-of-concept design, *Sens. Actuator B-Chem.* 186 (2013) 666–673.
- [5] L. Pascual, I. Campos, R. Bataller, C. Olguín, E. García-Breijo, R. Martínez-Mañez, J. Soto, A humid electronic nose for the detection of nerve agent mimics; a case of selective sensing of DCNP (a Tabun mimic), *Sens. Actuator B-Chem.* 192 (2014) 134–142.
- [6] I. Campos, R. Masot, M. Alcañiz, L. Gil, J. Soto, J.L. Vivancos, E. Garcia-Breijo, R.H. Labrador, J.M. Barat, R. Martínez-Mañez, Accurate concentration determination of anions nitrate, nitrite and chloride in minced meat using voltammetric electronic tongue, *Sens. Actuator B-Chem.* 149 (2010) 71–78.

- [7] P.E. Whitson, H.W. Vanderborn, D.H. Evans, Acquisition and Analysis of Cyclic Voltammetric Data, *Anal. Chem.* 45 (1973) 1298–1305. [8] G.W. Parker, Electric field outside a parallel plate capacitor, *Am. J. Phys.* 70 (2002) 502–507.
- [9] P. Debye, E. Hückel, Zur Theorie der Elektrolyte, *Physik. Zeitschr.* 9 (1923) 185–206.
- [10] J. Warren Williams, H. Falkenhagen, The interionic attraction, theory of electrical conductance, *Chem. Rev.* 6 (1929) 317–345.
- [11] T. Shedlovsky, The electrolytic conductivity of some univalent electrolytes in water at 25°C, *J. Am. Chem. Soc.* 54 (1932) 1411–1428.
- [12] E.W. Washburn, The measurement of the electrolytic conductivity. I. The theory of the design of conductivity cells, *J. Am. Chem. Soc.* 38 (1916) 2431–2460.
- [13] M. Wien, Über eine Abweichung vom Ohmschen Gesetze bei Elektrolyten, *Ann. Phys.* 388 (1927) 327–361.
- [14] C.A. Kraus, H.C. Parker, The calibration of cells for conductance measurements, *J. Am. Chem. Soc.* 44 (1922) 2422–2428.
- [15] H.C. Parker, The calibration of cells for conductance measurements. II. The comparison of cell constants, *J. Am. Chem. Soc.* 45 (1923) 1366–1379.
- [16] H.C. Parker, E.W. Parker, The calibration of cells for conductance measurements. III. Absolute measurements on the specific conductance of certain potassium chloride solutions, *J. Am. Chem. Soc.* 46 (1924) 312–335.
- [17] M. Randall, G.N. Scott, The variation of the cell constant with concentration and the molal conductance of aqueous Barium Nitrate, Sodium Sulfate and Sulfuric acid at 0°C, *J. Am. Chem. Soc.* 49 (1927) 636–647.
- [18] G. Jones, G.M. Bollinger, The measurement of the conductance of electrolytes. II. Improvements in the oscillator and detector, *J. Am. Chem. Soc.* 51 (1929) 2407–2416.
- [19] G. Jones, G.M. Bollinger, The measurement of the conductance of electrolytes. III. The design of cells, *J. Am. Chem. Soc.* 53 (1931) 411–451.
- [20] G. Jones, G.M. Bollinger, The measurement of the conductance of electrolytes. V. The validity of Ohm's law for electrolytes, *J. Am. Chem. Soc.* 53 (1931) 1207–1212.
- [21] T. Shedlovsky, A conductivity cell for eliminating electrode effects in measurements of electrolytic conductance, *J. Am. Chem. Soc.* 52 (1930) 1806–1811.
- [22] J.E.B. Randles, Kinetics of rapid electrode reactions, *Discuss. Faraday Soc.* 1 (1947) 11–19.
- [23] J.E.B. Randles, Kinetics of rapid electrode reactions. Part 2. - Rate constants and activation energies of electrode reactions, *Trans. Faraday Soc.* 48 (1952) 828–832.

- [24] J.E.B. Randles, K.W. Somerton, Kinetics of rapid electrode reactions. Part 3. - Electron exchange reactions, *Trans. Faraday Soc.* 48 (1952) 937–950.
- [25] J.E.B. Randles, K.W. Somerton, Kinetics of rapid electrode reactions. Part 4. - Metal ion exchange reaction at amalgam electrodes, *Trans. Faraday Soc.* 48 (1952) 951–955.
- [26] J.S. Newman, C.W. Tobias, Theoretical Analysis of Current Distribution in Porous Electrodes, *J. Electrochem. Soc.* 109 (1962) 1183–1191.
- [27] J.S. Newman, Engineering Design of Electrochemical Systems, *Industrial & Engineering Chemistry* 60 (1968) 12–27. [28] W.H. Smyrl, J.S. Newman, Double Layer Structure at the Limiting Current, *Trans. Faraday Soc.* 63 (1967) 207–216.
- [29] J.S. Newman, K.E. Thomas-Alyea, *Electrochemical Systems*, 3rd edition, Wiley-Interscience, Hoboken, N.J, 2004.
- [30] P. Agarwal, M.E. Orazem, L.H. García-Rubio, Application of the Kramers Kronig Relations in Electrochemical Impedance Spectroscopy, in: J. Scully, D. Silverman, M. Kendig (Eds.), *Electrochemical Impedance: Analysis and Interpretation*, ASTM STP 1188, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1993, pp. 115–139.
- [31] M. Alcañiz, Diseño de un sistema de lengua electrónica basado en técnicas electroquímicas voltamétricas y su aplicación en el ámbito agroalimentario. Ph.D. Thesis, Universitat Politècnica de València, 2011.
- [32] H.C. Eckstrom, C. Schmelzer, The Wien Effect: Deviations of Electrolytic Solutions from Ohm's Law under High Field Strengths, *Chem. Rev.* 24 (1939) 367–414. [33] A. Chandra, B. Bagchi, Frequency dependence of ionic conductivity of electrolyte solutions, *J. Chem. Phys.* 112 (2000) 1876–1886.
- [34] A.V. Lemoff, A.P. Lee, An AC magnetohydrodynamic micropump, *Sens. Actuator B-Chem.* 63 (2000) 175–178.
- [35] E. Barsuokov, J.R. Macdonald, *Impedance Spectroscopy: Theory, Experiment and Applications*, Wiley-Interscience, 2005.
- [36] H.H. Bauer, *Electrodics: modern ideas concerning electrode reactions*, Thieme editions in chemistry and related areas, 1972.

4. Diseño del sistema electrónico para la medida de voltametría a partir del potencial a circuito abierto (OCP)

4.1 Especificaciones del diseño

El grupo de investigación del que formo parte, el Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM), de la Universitat Politècnica de València, tiene una larga experiencia en el desarrollo de sistemas electrónicos de medida.

En 2008, se desarrolló un equipo para la medida de espectroscopía de impedancias, que fue objeto de la tesis doctoral del doctor Rafael Masot Peris. Este sistema no disponía de potenciostato y abarcaba un rango de frecuencias entre 1 Hz y 1 MHz, disponía de cuatro escalas de corriente y realizaba la medida a dos electrodos. Posteriormente, este equipo se modificó para adaptarlo a medidas de voltametría, pero la falta de potenciostato, la limitación en el rango de potenciales aplicables (de -0,5 V a +0,5 V) y la restricción de medidas a dos electrodos impedía una implementación propicia de la técnica.

Como consecuencia de ello en 2009 se diseñó un sistema que implementase las técnicas de espectroscopía de impedancias y voltametría de pulsos, incorporando un potenciostato para la medida a 3 electrodos, un rango de potenciales de -2 V a +2 V para voltametría y de +0.5 V a -0.5 V para espectroscopia de impedancias, multitud de escalas de corriente y electrodos de trabajo. Se diseñó para alcanzar frecuencias de 10 MHz en la técnica de espectroscopía de impedancias, para ello se utilizó una plataforma con una FPGA (del inglés Field Programmable Gate Array) de alta gama del fabricante Altera, que en las fechas de finalización del desarrollo de este equipo dejó de fabricarse, por lo que no pudo replicarse el sistema de medida.

La necesidad del grupo de investigación era de varios equipos de medida, por lo que en 2011 se rediseñó este equipo manteniendo los requerimientos para la técnica de voltametría de pulsos y se redujo el rango de frecuencias para la espectroscopía de impedancias (de 1 Hz a 200 kHz). El objetivo era desarrollar un equipo de bajo coste y que no dependiera de tarjetas de desarrollo, por lo que se sustituyó la tecnología FPGA por un microcontrolador PIC de 16 bits. Este trabajo fue objeto de la tesis doctoral del doctor Miguel Alcañiz Fillol.

Tras varios años de utilización del dispositivo, con fructíferos resultados en publicaciones de investigación en multitud de campos, y tras las conclusiones obtenidas de las tres publicaciones que forman parte de esta tesis doctoral se requería un nuevo diseño del sistema

electrónico de medida. Este nuevo sistema debe cumplir con las especificaciones que se citan a continuación:

Especificaciones generales del sistema:

- Que incorpore la medida de OCP para mejorar la calidad de las medidas de voltametría.
- Que la aplicación software que se desarrolla con el equipo sea capaz de aplicar varios ensayos consecutivos y almacenar sus datos en el formato requerido para su posterior análisis.
- Flexibilidad, con el que se puedan aplicar las técnicas implementadas de modo alterno y consecutivo.
- Sencillez en el manejo, para que el usuario no necesite de una cualificación alta para ser capaz de utilizarlo.
- Fiabilidad, que permita la precisión y exactitud en las medidas necesarias para conseguir medidas de calidad.
- Portabilidad, que permita su transporte de manera sencilla para poder realizar medidas en campo.
- Que su coste sea económico.

Especificaciones técnicas:

- Voltametría:
 - Generación de niveles de tensión configurables en dos rangos de tensión:
 - de -2 V hasta +2 V.
 - de -200 mV hasta +200 mV.
 - Implementación de la técnica a 2 (electrodo de trabajo y contraelectrodo) y 3 electrodos (electrodo de trabajo, contraelectrodo y electrodo de referencia).
 - Multiplexación del electrodo de trabajo, hasta 8 como máximo.
 - Implementación de 8 escalas de corriente.
 - Muestreo de la señal de tensión que se aplica al electrodo de trabajo, de la señal de corriente resultante y, opcionalmente de la señal de tensión en el contraelectrodo.
 - Representación gráfica de la evolución temporal de las señales de tensión y corriente muestreadas y almacenamiento de los datos.

- Implementación de una modalidad de ensayo llamado excitación de la muestra, donde únicamente se aplica un nivel de tensión durante el tiempo deseado sin almacenar ni visualizar los datos.
- Potenciometría:
 - Multiplexación del electrodo de trabajo, hasta 8 como máximo (usando los mismos canales que con voltametría y así pudiendo enlazar los ensayos).
 - Tres criterios de finalización de la medida:
 - Por tiempo máximo, que se aplica siempre.
 - Por umbral de evolución, si el potencial de un electrodo en dos medidas consecutivas es menor que este valor, se considera que el potencial es estable y se toma este último valor como bueno.
 - Por acción del usuario, aceptando el valor actual.
 - Muestreo de la señal de tensión de los electrodos de trabajo seleccionados secuencialmente.
 - Representación gráfica de la evolución temporal de las señales de tensión de los electrodos seleccionados.
 - Almacenamiento de los datos de tensión, de la diferencia de tensiones entre un punto y su anterior, y de la escala de tiempos.
- Aplicación software:
 - Carga de archivos de ensayos o secuencia de ensayos.
 - Configuración de los ensayos de potenciometría: donde se seleccionan los electrodos de trabajo a medir y la escala de tensión con que se va a trabajar. Se establecen los campos de tiempo máximo de medida y el umbral de deriva para finalización de la medida.
 - Configuración de los ensayos de voltametría: donde se seleccionan los electrodos de trabajo a medir, el patrón de tensiones a aplicar, la escala de corriente, la escala de tensión, la configuración del potencióstato a 2 o 3 electrodos y si se mide la tensión en el contraelectrodo.
 - Configuración de los ensayos de excitación: donde se seleccionan los electrodos de trabajo a excitar, el nivel de tensión a aplicar, la escala de corriente, la escala de tensión, la configuración del potencióstato a 2 o 3 electrodos y el tiempo de excitación.
 - Representación gráfica de las medidas.
 - Almacenamiento de los datos.

- Equipo electrónico de medida.
- Electrodo.

Para simplificar el diseño de la etapa de procesamiento digital y cumplir con los requisitos de diseño económico se decidió utilizar un microcontrolador STM32F303VCT6 de 32 bits como procesador del equipo electrónico de medida. La serie de microcontroladores de STMicroelectronics Cortex M4 ARM STM32 F3 de señal mixta con instrucciones FPU y DSP combina un núcleo ARM Cortex-M4 de 32 bits a 72 MHz con un conjunto avanzado de periféricos analógicos. Este dispositivo tiene integrados 4 convertidores analógico-digital (ADC) de 12 bits y un convertidor digital-analógico (DAC; que dispone de dos canales) también de 12 bits, que se utilizan para convertir los valores digitales que maneja el microcontrolador a señales analógicas y las señales analógicas de las medidas a señales digitales. Se optó por utilizar una placa de desarrollo en lugar de incorporar únicamente el μC con la circuitería asociada para acelerar el proceso de diseño dado que la placa de desarrollo ya contiene los circuitos necesarios (reguladores de tensión, osciladores, circuitería de depuración, etc.) para garantizar el buen funcionamiento del μC . Si se hubiese optado por incorporar el μC con la circuitería asociada, habría sido necesaria una fase adicional de pruebas que hubiese prolongado la fase de desarrollo del sistema electrónico. Para adecuar los niveles de tensión del potenciómetro con los de los convertidores (ADCs y DAC) se han incluido varios bloques de adaptación de señal implementados con operadores operacionales.

Como ya se ha desarrollado en apartados anteriores, en medidas voltamétricas, el sistema debe ser capaz de generar una señal de tensión, aplicarla a la celda electroquímica y medir la respuesta en corriente. Para que el sistema sea capaz de realizar medidas fiables, reproducibles y precisas se requiere de una celda electroquímica a 3 electrodos, controlada por un potenciómetro, donde:

- El electrodo auxiliar o contraelectrodo: se encarga de suministrar la corriente a la celda.
- El electrodo de trabajo: se mide la corriente que circula a través de él provocada por los procesos electroquímicos que se desean monitorizar.
- El electrodo de referencia: la tensión aplicada al electrodo de trabajo se refiere a la tensión de este.

Hay ocasiones en las que el uso del electrodo de referencia no es viable, y por consiguiente se debe optar por una celda electroquímica de 2 electrodos, formada por un electrodo de trabajo y el contraelectrodo. El potencióstato puede configurarse en este modo de trabajo.

Además, como las variaciones de temperatura afectan a la movilidad iónica de las disoluciones y por consiguiente a su conductividad, se ha utilizado un convertidor analógico digital para monitorizarla. De este modo se puede tener en cuenta sus variaciones a la hora de realizar los cálculos necesarios.

En resumen, el equipo electrónico de medida consta de los siguientes elementos:

- Un bloque de procesamiento digital, compuesto por un convertidor USB-USART (USB: Universal Serial Bus; USART: Universal Synchronous/Asynchronous Receiver/Transmitter) y el microcontrolador (μC) de 32 bits ARM Cortex-M4. Este microcontrolador integra varios periféricos analógicos, los que se utilizan en este desarrollo son: un convertidor digital-analógico de 12 bits y cuatro convertidores analógico-digital de 12 bits.
- Una etapa de adaptación de señales analógica, compuesta de amplificadores operacionales para adecuar las señales de los DAC y ADCs que trabajan en modo diferencial. Se implementan dos escalas de adaptación de tensión: ± 200 mV y ± 2 V.
- Un potencióstato, compuesto de amplificadores operacionales, resistencias, condensadores y relés que permite configurar su modo de trabajo. El potencióstato está formado por un circuito de control de la tensión y un circuito de medida de corriente en configuración de puente autobalanceado. Se incorpora además un circuito para medir la tensión del contraelectrodo. Incorpora un bloque de multiplexación de 8 escalas de corriente y otro bloque de multiplexación de 8 electrodos de trabajo.
- Se integra un circuito de medida del potencial para el modo potenciometría, compuesto de un amplificador operacional. Utiliza una etapa de filtrado (paso bajo) antes del bloque de adaptación que el potencióstato.

4.3 Descripción del hardware del equipo

En la figura 2 se muestra la placa electrónica del equipo desarrollado.

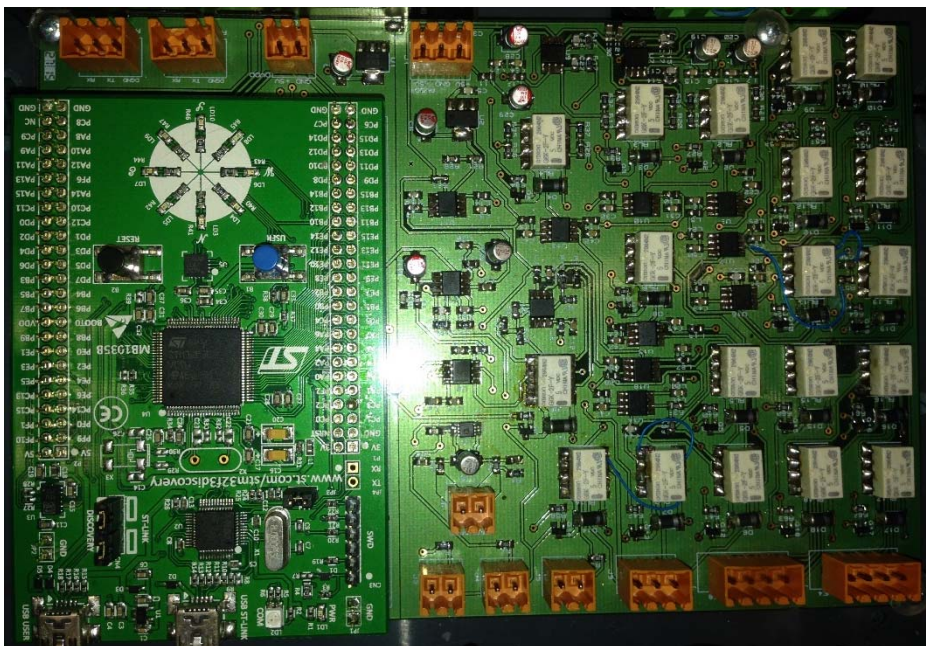


Figura 2. Placa electrónica diseñada para el equipo AVOLPA.

4.3.1 Bloque de procesamiento digital

En las fases iniciales de diseño se plantearon tres alternativas de desarrollo:

- Un sistema de microcontrolador de 16 bits de la familia PIC24 y ADCs y DAC externos, por familiaridad con las herramientas de desarrollo, su reducido coste, la simplicidad del diseño hardware y la experiencia previa con este tipo de dispositivos.
- Un sistema con FPGA y ADCs y DAC externos. Un sistema con estas características permitiría la implementación de aplicaciones de alta velocidad y gracias a su

programación basada en lenguajes de descripción hardware y su capacidad multiproceso (simultáneo).

- Un sistema con microcontrolador de 32 bits de la familia ARM Cortex-M4 fabricado por STMicroelectronics. Que cuenta con una serie de periféricos integrados muy útiles para este desarrollo.

El sistema con FPGA se descarta por ser una configuración excesivamente compleja y no existe la necesidad de alcanzar altas frecuencias en las señales generadas. Se toma la decisión de realizar el desarrollo con el microcontrolador de 32 bits de la familia ARM Cortex-M4 STM32F303 porque integra los dispositivos ADC y DAC necesarios para cumplir con las especificaciones del diseño y así simplificar el circuito electrónico a diseñar.

Las características principales del microcontrolador STM32F303 son:

- 256 kBytes de memoria flash.
- 40 kBytes de memoria SRAM.
- Arquitectura ARMv7E-M.
- Frecuencia máxima de trabajo: 72 MHz (90 DMIPS).
- Señal de reloj configurable (hasta 13 temporizadores disponibles).
- Modos de bajo consumo (sleep, stop y standby).
- Tensiones de alimentación de 2 a 3.6 V.
- Hasta 87 líneas de E/S distribuidas en 6 puertos (A, B, C, D, E y F).
- 12 canales DMA (acceso directo a memoria).
- 4 ADCs: hasta 39 canales con resolución seleccionable de 6, 10 o 12 bits. Rangos de tensión de 0 a 3.6 V en configuraciones diferencial o sencilla.
- 2 canales DAC de 12 bits.
- 7 comparadores analógicos rápidos rail-to-rail.
- Numerosos interfaces de comunicación:
 - CAN 2.0b activo.
 - Dos I2C (Fm+, hasta 1 Mbit/s).
 - Hasta 5 USART/UART (interfaz ISO 7816, LIN, IrDA, control modem).
 - Hasta 3 buses SPI (del inglés Serial Peripheral Interface).
 - USB 2.0 full speed.
 - Transmisor de infrarrojos.

En la figura 3 se muestra la estructura del bloque de procesado digital, formado por un convertidor USART-USB y el microcontrolador STM32F303:

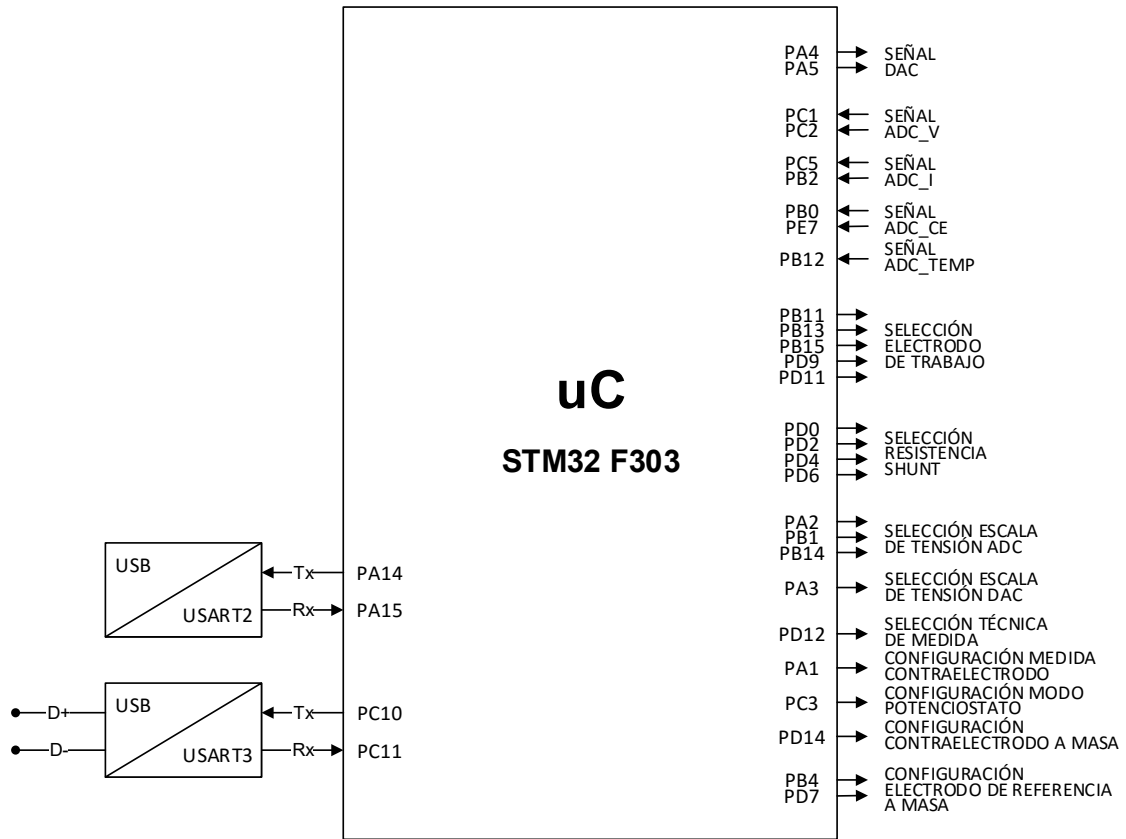


Figura 3. Diagrama del bloque de procesado digital.

Se eligió este microcontrolador de 32 bits ya que incorpora muchos periféricos integrados, incluidos los ADC, DAC, memoria acoplada al núcleo, comparadores y temporizadores. El microcontrolador STM32F303 ofrece una arquitectura de memoria que permite al usuario llevar a cabo las rutinas críticas en la memoria RAM ultrarrápida. El microcontrolador ARM Cortex M4 también incluye detección táctil capacitiva e interfaces de comunicación RTC y USART, SPI, I²C, USB 2.0 y CAN 2.0B.

De todos los periféricos disponibles en este dispositivo, en este diseño se utilizan los ADC 1, 2, 3 y 4, el DAC, el módulo de transmisión/recepción universal síncrono y asíncrono USART3, el temporizador de propósito general 2 de 32 bits y el módulo entrada/salida de propósito general (GPIO).

El convertidor USART-USB permite utilizar la interfaz de comunicación serie USART del microcontrolador como un interfaz USB. Además, este dispositivo permite que la aplicación del PC considere este puerto USB como un puerto serie de comunicación (COM), así la aplicación

del PC y el código que se ejecuta en el microcontrolador trabajan bajo una interfaz USART, aunque físicamente las señales se transmiten a través de una interfaz USB. Esto simplifica los códigos del PC y del microcontrolador, ya que se evita tener que implementar un puerto COM físico en el PC.

Los microcontroladores utilizan los temporizadores como base de tiempos, para generar interrupciones o para disparar las conversiones ADC o DAC. En esta aplicación se ha utilizado el temporizador de propósito general 2 (TIM2). La señal de reloj del TIM2 se obtiene a partir del reloj periférico PCLK1, su frecuencia máxima de trabajo es de 72 MHz. El reloj interno del sistema consta de un oscilador RC de 8 MHz y dispone de varios pre-escalares para configurar el bus avanzado de periféricos (APB) en modo de alta velocidad hasta 72 MHz.

El temporizador se configura en modo base de tiempos, con autorecarga y pre-escalar que puede realizar cuentas ascendentes, descendentes y combinadas. Consta de tres registros para su configuración:

- Registros del Temporizador: TIM2_CNT (32 bits).
- Registro pre-escalar: TIM2_PSC (16 bits).
- Registro de auto-recarga: TIM2_ARR (32 bits).

El intervalo de tiempo se establece mediante el registro de auto-recarga (TIM2_ARR) y el pre-escalar (TIM2_PSC), atendiendo a la ecuación 1.

$$\Delta T = \frac{(\text{TIM2_ARR}+1) \cdot (\text{TIM_PSC}+1)}{F_{\text{TIM2_CLK}}} \quad (1)$$

Donde $F_{\text{TIM2_CLK}}$ es la frecuencia de la señal de reloj del temporizador 2.

La interrupción en el modo de cuenta ascendente se gestiona con el evento de desbordamiento (overflow), que ocurre un ciclo de la señal de reloj del temporizador 2 después de que el valor del TIM2_CNT se iguale con el valor del TIM_ARR. El evento de overflow provoca que se ponga a 0 el TIM2_CNT y que se ponga a 1 el flag de interrupción por actualización del Temporizador 2.

De las 87 líneas de entrada/salida del microcontrolador, en este diseño se utilizan 32 para las siguientes funciones:

- 2 líneas de salida de datos del DAC (DAC_OUT): se trata de las líneas mediante las cuales el convertidor D/A del μC transmite el valor diferencial de la tensión que se

- quiere aplicar al electrodo de trabajo. Las líneas utilizadas son PA4 (DAC_OUT+) y PA5 (DAC_OUT-).
- 2 líneas de entrada de datos del ADC de tensión del electrodo de trabajo (ADC_V): se trata de las líneas a través de las cuales el convertidor ADC1 del μC recibe el valor diferencial que mide la tensión en el electrodo de trabajo. Las líneas utilizadas son PC1 (ADC_V+) y PC2 (ADC_V-).
 - 2 líneas de entrada de datos del ADC de corriente (ADC_I): se trata de las líneas a través de las cuales el convertidor ADC2 del μC recibe el valor diferencial que mide la corriente que circula por el electrodo de trabajo. Las líneas utilizadas son PC5 (ADC_I+) y PB2 (ADC_I-).
 - 2 líneas de entrada de datos del ADC de tensión del contraelectrodo (ADC_CE): se trata de las líneas a través de las cuales el convertidor ADC3 del μC recibe el valor diferencial que mide la tensión en el contraelectrodo. Las líneas utilizadas son PB0 (ADC_CE+) y PE7 (ADC_CE-).
 - 1 línea de entrada de datos del ADC para la medida de temperatura (ADC_TEMP): se trata de la línea a través de la cual el convertidor ADC4 recibe el valor que proporciona el amplificador para termopar implementado en el circuito. Es el único ADC que trabaja en modo simple, por ello sólo necesita una línea: PB12 (ADC_TEMP).
 - 5 líneas de selección del electrodo de trabajo (RLWEx): el equipo puede llevar a cabo medidas de voltametría sobre hasta 8 electrodos de trabajo, sin embargo, solo se dispone de un potencióstato y de un circuito de medida de corriente. Los 8 electrodos de trabajo están, por tanto, multiplexados mediante un circuito constituido por una serie de relés que se controla mediante 4 líneas de salida del μC (RLWE1: PB11; RLWE2: PB13; RLWE3: PB15; RLWE4: PD9). La quinta línea de control (RLWECONNECT: PD11) permite desconectar los electrodos del sistema, y deja la línea procedente del circuito de medida a masa.
 - 4 líneas de selección de las resistencias de shunt del circuito de medida de corriente (RLSHUNTx): debido a la variabilidad de las señales que puede medir este equipo, es necesario que diseñarlo para que pueda trabajar con un amplio rango de corrientes. El circuito de medida de corriente dispone de 8 escalas de corriente que abarcan desde 100 mA a 10 nA, implementadas con 8 resistencias de shunt, una por escala. La selección de la combinación de resistencias de shunt para cada escala de corriente se lleva a cabo mediante 4 líneas de salida del μC (RLSHUNT1: PD6; RLSHUNT2: PD4; RLSHUNT3: PD2; RLSHUNT4: PD0).

- 3 líneas de selección de la escala de tensión de los ADCs en modo diferencial (RLSCALEx): para aumentar la sensibilidad del sistema cuando se trabaja con potenciales pequeños (menores de 200 mV) se han implementado 2 escalas de tensión en la etapa amplificadora de la entrada diferencial del ADC1, ADC2 y ADC3 que realizan unos amplificadores operacionales, mediante la selección de un conjunto de resistencias para cada escala de tensión. Se implementa una escala de tensión hasta ± 200 mV y otra con el rango completo de tensiones de trabajo, es decir, hasta ± 2 V. Para evitar errores, el código de la aplicación PC siempre conmuta conjuntamente estas 3 líneas de salida del μ C (RLSCALEV: PA2; RLSCALEI: PB1; RLSCALECE: PB14) junto con la línea RLSCALEDAC.
- 1 línea de selección de la escala de tensión del DAC (RLSCALEDAC): igual que con los ADCs en modo diferencial, se han implementado 2 escalas de tensión en la etapa amplificadora a la salida diferencial del DAC, una escala de ± 200 mV y otra de ± 2 V. La línea utilizada es PA3 (RLSCALEDAC).
- 1 línea de selección de la técnica de medida (voltametría o potenciometría): como el diseño utiliza bloques en común para la medida de ambas técnicas (el DAC y el ADC2 en concreto) es necesario incorporar una multiplexación para establecer las conexiones pertinentes en función de la técnica que se desee implementar. La línea utilizada es PD12 (RLPOT).
- 1 línea de selección para configurar la medida de la tensión del contraelectrodo (RLCERETURN): con esta línea se activa o desactiva la medida de la tensión en el electrodo auxiliar. La línea utilizada es PA1 (RLCERETURN).
- 1 línea de configuración del modo de trabajo del potencióstato (RL2E3E): aunque el potencióstato es un circuito diseñado para realizar medidas a 3 electrodos, en algunas aplicaciones puede resultar interesante medir en configuración de 2 electrodos. La configuración del modo de trabajo se lleva a cabo mediante la línea de salida PC3 (RL2E3E).
- 2 líneas para configurar la conexión del electrodo de referencia (RLRECONNECTx): estas dos líneas permiten conectar el electrodo de referencia a masa o dejarlo al aire cuando el circuito de medida se conecta a masa. Combinando estas dos líneas con la línea RL2E3E se pueden implementar varias configuraciones. Las líneas utilizadas son PB4 (RLRECONNECT1) y PD7 (RLRECONNECT2).
- 1 línea de selección para configurar la conexión del contraelectrodo a masa: esta selección tiene permite usar el contraelectrodo en modo normal formando parte de la

celda electroquímica y realizar una medida con el potencióstato o conectarlo a masa para la medida de potenciometría. Conectándolo a la masa del sistema ésta se lleva al valor del potencial que tiene el contraelectrodo y permite medir la tensión en el electrodo de trabajo referida a ella. La línea utilizada es PD14 (RLCECONNECT).

- 2 líneas para el canal principal de comunicación serie (USART3): el μ C se comunica con el PC a través de un canal USART que incorpora una línea de transmisión (USART3Tx: PC10) y una línea de recepción (USART3Rx: PC11).
- 2 líneas para el canal auxiliar de comunicación serie (USART2): se ha incorporado un segundo canal USART por si se añaden más dispositivos en un futuro o por si se quiere conectar el sistema a un hiperterminal para realizar tareas de diagnóstico (USART2Tx: PA14) y una línea de recepción (USART2Rx: PA15).

La placa del microprocesador usa una tensión de alimentación de +3.3 V y todas las líneas de entrada y salida trabajan con niveles lógicos referidos a esta tensión.

El μ C dispone de una memoria de datos SRAM de 40 kBytes. La aplicación requiere unos 19 kBytes, por tanto, la memoria utilizada no llega a ocupar la mitad de la memoria total disponible, y se distribuye de la siguiente manera:

- 44 bytes para variables.
- 5 bytes para los datos de configuración del ensayo de transmisión.
- 12 bytes para los datos de configuración del ensayo de recepción.
- 2000 bytes para el búfer de recepción de los datos enviados por el PC correspondientes a los valores digitales que describen la evolución temporal de la señal que se quiere generar.
- 2000 bytes para el búfer de transmisión de los datos correspondientes al muestreo de la señal de tensión en el electrodo de trabajo.
- 2000 bytes para el búfer de transmisión de los datos correspondientes al muestreo de la señal de corriente que circula por el electrodo de trabajo.
- 2000 bytes para el búfer de transmisión de los datos correspondientes al muestreo de la señal de tensión en el electrodo auxiliar.
- 2 bytes para el búfer de transmisión de los datos correspondientes a la medida de la temperatura en el ADC4.

El bloque de procesamiento digital realiza las siguientes tareas secuencialmente:

- Recepción y almacenamiento en memoria RAM de los datos enviados por el PC para la configuración del ensayo.
- Configuración del ensayo a partir de la información recibida del PC: selección de la técnica de medida (potenciometría, voltametría o excitación), selección de las escalas de tensión del DAC y los ADCs, selección de la resistencia de shunt del circuito de medida de corriente, selección del modo de trabajo (2 o 3 electrodos), configuración de la medida en el contraelectrodo y selección del electrodo de trabajo.
- Proceso de medida con dos procesos en paralelo:
 - Transmisión al DAC de la secuencia de valores digitales almacenados en la RAM con la señal de tensión que se debe generar.
 - Lectura de los datos que provienen de los ADCs (tensión en el electrodo de trabajo, corriente que circula a través de él y, si se ha seleccionado, tensión en el contraelectrodo, en el caso de la voltametría; tensión, evolución y tiempo, en el caso de la potenciometría).
- Almacenamiento en memoria de los datos recibidos de los ADCs y envío de estos al PC.

Conversión digital-analógico (DAC).

El microprocesador integra dos canales DAC con búfer de 12 bits que se utiliza para convertir las señales digitales en señales de salida en tensión analógicas para aplicarlas a la celda electroquímica. El canal 1 está asignado a la línea PA4 y el canal 2 a PA5. Para poder utilizar PA4 y PA5 como salidas de los canales DAC es necesario configurarlas en modo analógico.

El diseño de este dispositivo integra una serie de resistencias y un amplificador en configuración de inversor, que permite aumentar la corriente de salida del canal DAC pero que ralentiza su respuesta temporal. Sus características principales son las siguientes:

- Dos canales de salida.
- Resolución de 12 bits.
- Frecuencia máxima de trabajo: 1 MS/s.
- Tensión de salida entre 0.2 V hasta ($V_{DD} - 0.2$ V).
- Conversiones independientes o simultaneas en modo dual.
- Conversión por disparo externo.

Como el DAC trabaja a 12 bits (aunque también podría hacerlo a 8 bits), pueden generarse hasta 4096 valores de tensión distintos ($2^{12} = 4096$), de este modo se asignan valores desde 0

hasta 4095. La tensión de referencia es de 3.3 V, por tanto, los valores de tensión del DAC tendrán una resolución mínima de unos 805 μV (ver ecuación 2):

$$V_{\text{DAC}} = V_{\text{REF}} \cdot \frac{\text{valor digital}}{4095} \quad (2)$$

El DAC se configura en modo simultáneo, así los dos canales (DAC_OUT1: PA4 y DAC_OUT2:PA5) se actualizan a la vez. Las salidas de ambos canales van conectados a una etapa de adaptación de señal que establece las dos escalas de tensión, previo paso por un seguidor de tensión para evitar efectos de carga o inadaptación de las impedancias entre el DAC y el circuito de adaptación de señal. De este modo se puede trabajar con valores diferenciales (positivos y negativos) en dos escalas de tensión. La sección 4.3.3. Circuitos de adaptación de señal cubre esta parte del desarrollo.

Los canales del DAC se configuran a través del módulo GPIO (del inglés General Purpose Input/Output) en modo analógico, modo rápido (con una frecuencia máxima de trabajo hasta 50 MHz) y sin push-pull (o single-ended). Para configurar el convertidor D/A deben seguirse los siguientes pasos:

- Habilitar la señal de reloj del bus de periféricos correspondiente (APB1 para el STM32F303VCT6).
- Establecer el modo de disparo. Las opciones son: ninguna señal de disparo (modo continuo), alguna de las señales de disparo hardware disponibles o disparo software. En este caso lo configuramos en modo continuo.
- Habilitar en caso necesario el búfer de salida: habilitamos el búfer de ambos canales.
- Habilitar y configurar en caso necesario la generación de la señal triangular o la señal de ruido: no se utilizan estas funciones.

La figura 4 representa el diagrama del DAC:

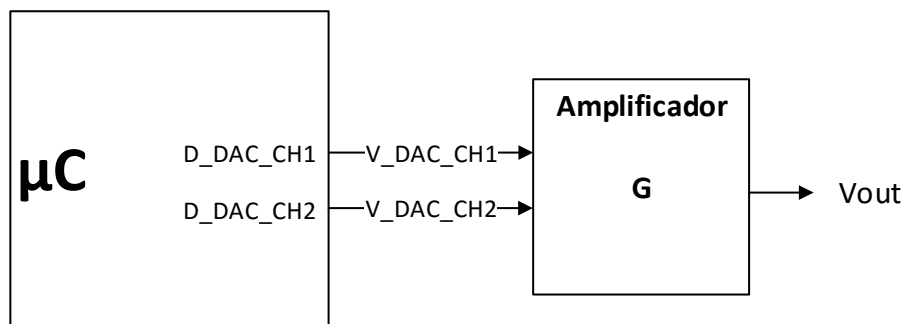


Figura 4. Diagrama del DAC.

Donde:

- D_DAC_CH1 es el valor digital que hay que escribir en el registro de datos del canal 1 del DAC.
- D_DAC_CH2 es el valor digital que hay que escribir en el registro de datos del canal 2 del DAC.
- V_DAC_CH1 es la tensión de salida del canal 1 del DAC.
- V_DAC_CH2 es la tensión de salida del canal 2 del DAC.
- G es la ganancia del amplificador.
- V_{out} es la tensión de salida que responde a la ecuación 3:

$$V_{out} = G \cdot (V_{DAC_CH1} - V_{DAC_CH2}) \quad (3)$$

Para calcular los valores de D_DAC_CH1 y D_DAC_CH2 debe obtenerse la diferencia (V_DIF) que debe haber entre V_DAC_CH1 y V_DAC_CH2 para obtener la tensión de salida deseada mediante la ecuación 4:

$$V_{DIF} = V_{DAC_CH1} - V_{DAC_CH2} = \frac{V_{out}}{G} \quad (4)$$

A continuación, debe pasarse esa diferencia de tensión a una diferencia en valor digital teniendo en cuenta que el DAC es de 12 bits y la tensión de alimentación son 3.3 V (el valor digital 4095 se corresponde con el valor de tensión 3.3 V), ver ecuación 5:

$$D_{DIF} = D_{DAC_CH1} - D_{DAC_CH2} = \frac{V_{out}}{G} \cdot \frac{4095}{3.3} \quad (5)$$

Por último, el valor de D_DAC_CH1 y D_DAC_CH2 se calcula sumándole y restándole a 2048 (por ser el valor intermedio de los valores digitales disponibles y así tomarlo como 0), respectivamente, el valor de la mitad de D_DIF, ver ecuaciones 6 y 7:

$$D_{DAC_CH1} = 2048 + \frac{D_{DIF}}{2} \quad (6)$$

$$D_{DAC_CH2} = 2048 - \frac{D_{DIF}}{2} \quad (7)$$

Conversión analógico-digital (ADC).

El STM32F303VCT6 dispone de 4 ADCs que funcionan por pares (ADC1 y ADC2 / ADC3 y ADC4). Los convertidores de un mismo par se pueden configurar para que realicen las conversiones de forma coordinada (secuencia de conversiones simultaneas, secuencia de conversiones intercaladas y secuencia de conversiones alternas).

Cada ADC dispone de una serie de canales externos (asociados a pines del microcontrolador) e internos (sensor de temperatura, tensiones de referencia, tensión de back up, etc.). Las características principales de los ADCs son:

- Canales por convertidor:
 - ADC1: 10 canales externos y 4 internos.
 - ADC2: 12 canales externos y 2 internos.
 - ADC3: 15 canales externos y 2 internos.
 - ADC4: 13 canales externos y 2 internos.
- Resolución configurable de 12, 10, 8 o 6 bits.
- Frecuencia de trabajo: 5 MS/s.
- Tensiones de entrada de 0 a +3.3 V (V_{DD}).
- Salidas configurables: modo común o modo diferencial.
- Convertidores con función de autocalibración.
- Conversión por disparo externo.
- Modos de conversión: por canal individual o por secuencia de canales, por pulso de disparo, continuo, discontinuo.

El ADC1 y el ADC2 están estrechamente relacionados y pueden trabajar en modo dual, siendo el ADC1 el dispositivo maestro. Igualmente, el par ADC3/ADC4 puede trabajar en modo dual, siendo el ADC3 el dispositivo maestro. Los resultados de las conversiones se almacenan en registros específicos de hasta 12 bits con justificación a izquierdas o a derechas.

En este diseño se utilizan los 4 ADCs del siguiente modo:

- ADC1: modo diferencial. Se utiliza para la conversión de la señal de tensión medida en el electrodo de trabajo.
- ADC2: modo diferencial. Se utiliza para la conversión de la señal de corriente medida en el electrodo de trabajo.

- ADC3: modo diferencial. Se utiliza para la conversión de la señal de tensión medida en el electrodo auxiliar.
- ADC4: modo simple. Se utiliza para la conversión del valor medida correspondiente a la temperatura.

Los cuatro ADCs se configuran en modo independiente, así cada ADC convierte el valor de entrada analógico a un valor en digital para que el microcontrolador pueda trabajar con él. Como los convertidores se configuran a 12 bits, igual que el DAC, las tensiones analógicas de entrada pueden convertirse a valores digitales entre 0 y 4095 ($2^{12} = 4096$). El rango de tensiones va desde 0 V hasta 3,3V (la tensión de referencia). Así cada valor digital corresponde a un escalón de tensión de unos 805 μ V (ver ecuación 8):

$$\text{valor digital} = \frac{V_{\text{ADC}} \cdot 4095}{V_{\text{REF}}} \quad (8)$$

Los ADC1, ADC2 y ADC3 se configuran en modo diferencial. Para mejorar las prestaciones a nivel de ruido y de linealidad es aconsejable trabajar con el máximo de variación de la señal de entrada diferencial, por ello la señal de entrada de los electrodos se pasa por un amplificador diferencial de bajo ruido, que se verá en detalle en la sección 4.3.3. Circuitos de adaptación de señal. De este modo se obtienen dos señales diferenciales, que se usan como entradas de los ADCs.

El ADC4 es el único convertidor que se utiliza en modo unipolar. En este modo, la tensión de entrada a convertir es la diferencia entre la entrada positiva (donde llega la señal) y la negativa (que está conectada a masa).

Antes de utilizar los convertidores A/D es necesario realizar las siguientes tareas:

- Selección y activación de la fuente de la señal de reloj.
- Activación del regulador de tensión interno del convertidor A/D: primero debe ejecutarse la secuencia de activación y luego debe esperarse un tiempo mínimo de 10 μ s.
- Calibración: existe una calibración para las conversiones en modo común y otra para las conversiones en modo diferencial. La calibración consta de las siguientes etapas:
 - Se establece el modo en el que se va a calibrar. Si se van a realizar conversiones en canales configurados en referencia común y en diferencial hay que hacer una calibración para cada modo.

- Se inicia la calibración y se espera hasta que termine.
- El resultado de la calibración se aplicará a las conversiones que se hagan en el modo configurado.
- Configuración del modo de entrada de los canales.

Una vez se han realizado los pasos anteriores se puede habilitar el convertidor A/D, para proceder a la conversión.

En modo diferencial, el valor de tensión analógica del canal “i” a convertir es la diferencia entre la tensión del pin positivo V_ADC_Chi+ la tensión del canal negativo V_ADC_Chi- . La figura 5 representa el diagrama de los ADCs en modo diferencial:

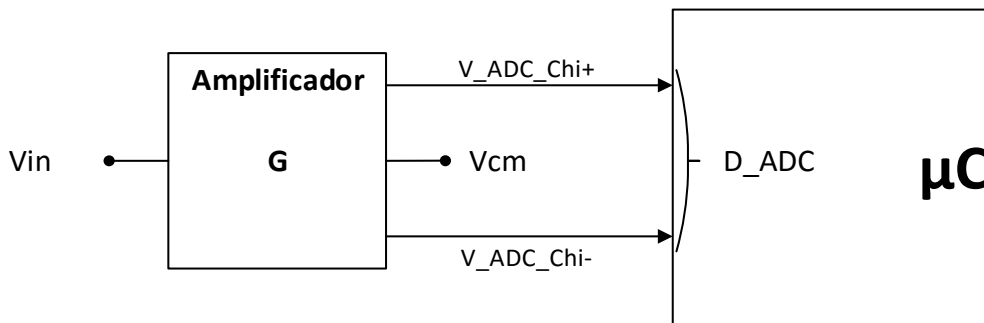


Figura 5. Diagrama de los ADCs.

Donde:

- V_{in} es la tensión de entrada que viene de los electrodos.
- G es la ganancia del amplificador.
- V_{cm} es la tensión de modo común del amplificador (1.65 V). Es la mitad de la tensión de alimentación y se genera con un divisor de tensión.
- V_ADC_Chi+ es la tensión de salida del canal positivo del ADC, su rango de valores va desde 0 V hasta 3,3 V. Obedece la ecuación 9:

$$V_ADC_CH_{i+} = V_{cm} + 0,5 \cdot G \cdot V_{in} \quad (9)$$

- V_ADC_Chi- es la tensión de salida del canal negativo del ADC, su rango de valores va desde 0 V hasta 3,3 V. Obedece la ecuación 10:

$$V_ADC_CH_{i-} = V_{cm} - 0,5 \cdot G \cdot V_{in} \quad (10)$$

- D_ADC es el valor digital resultado de la conversión A/D sobre la diferencia entre la tensión de entrada al canal positivo y la tensión de entrada al canal negativo.

El valor digital D_ADC se obtiene a partir de la diferencia de tensiones entre V_ADC_CHi+ y V_ADC_CHi-. Como dicha diferencia puede ir de 0V a 6,6V y el ADC es de 12 bits la relación entre el valor D_ADC y la diferencia de tensiones es (ecuación 11):

$$D_ADC = (V_ADC_CH_{i+} - V_ADC_CH_{i-}) \cdot \frac{4095}{6,6} + 2048 \quad (11)$$

Por tanto, la relación entre la tensión de entrada Vin y el valor D_ADC obedece la ecuación 12:

$$D_ADC = G \cdot V_{in} \cdot \frac{4095}{6,6} + 2048 \quad (12)$$

Así logramos calcular la tensión de salida (ecuación 13):

$$V_{in} = (D_ADC - 2048) \cdot \frac{6,6}{4095 \cdot G} \quad (13)$$

Comunicación USART.

Los microcontroladores de la familia STM32 incorporan varios interfaces USART y UART (el número y tipo de interfaces varían en función del modelo). En concreto, el μ C STM32F303VCT6 dispone de 3 Interfaces USART (USART1, USART2 y USART3) y 2 Interfaces UART (UART4 y UART5).

En este diseño únicamente vamos a utilizar la comunicación USART, en concreto el interfaz USART3. También se ha implementado el USART2 en caso de necesidades futuras. Este interfaz es capaz de establecer comunicaciones a velocidades de hasta 9 Mbits/s, proporciona soporte para control de flujo hardware para señales solicitud de envío (RTS, del inglés “request to send”) y listo para enviar (CTS, del inglés “clear to send”), soporta comunicación por infrarrojos (IrDA, del inglés “Infrared Data Association”), modo síncrono, modo asíncrono, modo LIN (del inglés “Local Interconnect Network”), modo Modbus, modo RS-485, detección automática de la velocidad de comunicación, etc.

El interfaz USART tiene asignados los pines TX para la transmisión de datos y RX para la recepción de datos. En algunos interfaces hay disponibles otros pines para cumplir funciones adicionales (SCLK, nCTS, nRTS y DE).

Los pasos para configurar la USART3 en modo asíncrono básico incluyen son los siguientes:

- Establecer la velocidad de comunicación (se utiliza un baudrate de 57600).
- Establecer el número de bits de datos (en este caso a 8).
- Establecer el número de Stopbits (en este caso a 1).
- Configurar el control de paridad: sin paridad.
- Establecer el control de flujo hardware: sin control de flujo.
- Activar la recepción y la transmisión.
- Configurar la línea de transmisión (PC10) asociada a la función alternativa USART3_TX.
- Configurar la línea de recepción (PC11) asociada a la función alternativa USART3_RX.

Se utiliza un Baudrate con el compromiso de que debe ser lo suficientemente alto para que el proceso de transmisión de datos sea rápido y lo suficientemente bajo para minimizar el riesgo de errores en la transmisión de datos.

Para utilizar la interrupción de la USART deben seguirse los siguientes pasos:

- Configurar el canal IRQ (del inglés Interrup ReQuest): establecer la prioridad (nivel 1) y la sub-prioridad (nivel 0) y habilitar el canal IRQ.
- Habilitar la(s) causa(s) de interrupción que se necesiten.
- Escribir la rutina de tratamiento de la interrupción identificando y procesando cada una de las causas de interrupción habilitadas.

En este caso se utilizan las interrupciones por recepción (se monitoriza el flag de trama recibida de la USART3: USART_FLAG_RXNE) y por fin de transmisión (se monitoriza el flag de transmisión de la USART3: USART_FLAG_TC).

4.3.2 Circuitos de selección de la técnica.

En el equipo electrónico diseñado se han incorporado dos técnicas electroquímicas de medida, la voltametría y la potenciometría, las cuales tienen requerimientos eléctricos distintos.

Utilizan circuitos de medida independientes, pero, aun así, algunos bloques se utilizan para ambas técnicas, en concreto los convertidores el ADC2 y el bloque de multiplexación de los

electrodos de trabajo. Por ello ha sido necesario incorporar varios circuitos de multiplexación que permitan direccionar las señales por el hardware correspondiente a la técnica seleccionada.

En la figura 6 se muestra el diagrama de bloques del sistema (figura 1), en concreto la configuración del estado de los relés para realizar una medida de voltametría a 3 electrodos. Para ello el μC envía al DAC el valor digital que se corresponde con la señal de tensión que se quiere generar. El DAC envía entonces sus señales de tensión diferencial al circuito de adaptación de señal, donde se realiza la selección de la escala de tensión que direccionará las señales según el criterio de escala escogido (ver sección 4.3.3 Circuitos de adaptación de señal). De este bloque se envía la señal de salida al electrodo auxiliar a través del relé 7. Se configuran los relés 6, 8 y 14 para la utilización del electrodo de referencia para un ensayo a tres electrodos. La tensión aplicada se mide en el ADC1 previo paso por el bloque de adaptación de señal, en el que se configura la escala de tensión. La medida de la intensidad en el electrodo de trabajo correspondiente se realiza en el ADC2 después de pasar por los bloques de multiplexación de las escalas de corriente y de los electrodos de trabajo (ver en la sección 4.3.4 Potenciostato), el bloque de adaptación de señal, y a través de los relés 13 y 19.

Se ha implementado también un circuito de medida de la tensión en el contraelectrodo, disponible en voltametría. Para ello se debe activar además el relé RL5, y la medida se realiza en el ADC3, previo paso de la señal por su correspondiente bloque de adaptación de la señal, en el cual se configura también la escala de tensión.

En la figura 6 se han representado las líneas de conexionado en rojo, indicando el camino que siguen las señales para realizar la medida en cuestión. Así se deben dejar en modo de reposo los relés RL7, RL8, RL9, RL13 y RL19, y se debe activar el relé RL6.

Para realizar una medida a 2 electrodos se debe modificar de la configuración anterior el relé 6, que queda también desactivado, y los relés 7 y 8 que pasan a estar activados, de ese modo el electrodo de referencia y la entrada del operacional quedan conectados a masa para evitar que el amplificador operacional oscile y sea una potencial fuente de ruido electromagnético.

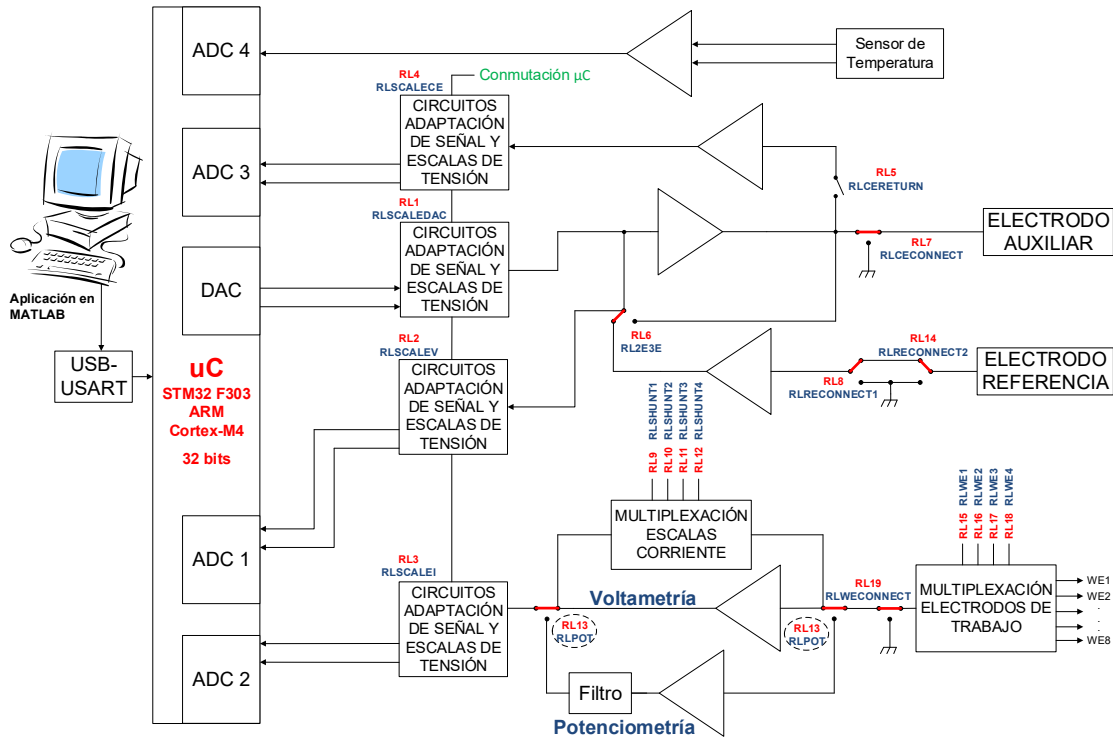


Figura 6. Configuración relés en modo voltametría (a 3 electrodos).

En la figura 7 se muestra el diagrama de bloques del sistema en la configuración necesaria para realizar una medida de potenciometría. El μC muestrea la tensión entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar, que se conecta a masa gracias al relé 7, de este modo se referencian las medidas de potenciometría a la masa del circuito. El DAC, el ADC1 y el ADC3 no se utilizan en este modo, así los relés 5, 6, 8 y 14 se configuran de modo que las señales no interfieran con la medida. Es entonces cuando comienza la medida de valores de tensión en el ADC2, a través del bloque de multiplexación de los electrodos de trabajo, del bloque de adaptación de señal (donde también se realiza la selección de la escala de tensión) y a través de los relés 13 y 19.

En la figura 7 se representan también las conexiones pertinentes en rojo, indicando el camino que siguen las señales para realizar una medida de potenciometría. De este modo se deben dejar en reposo los relés RL6, RL14 y RL19, y activar los relés RL7, RL8 y RL13.

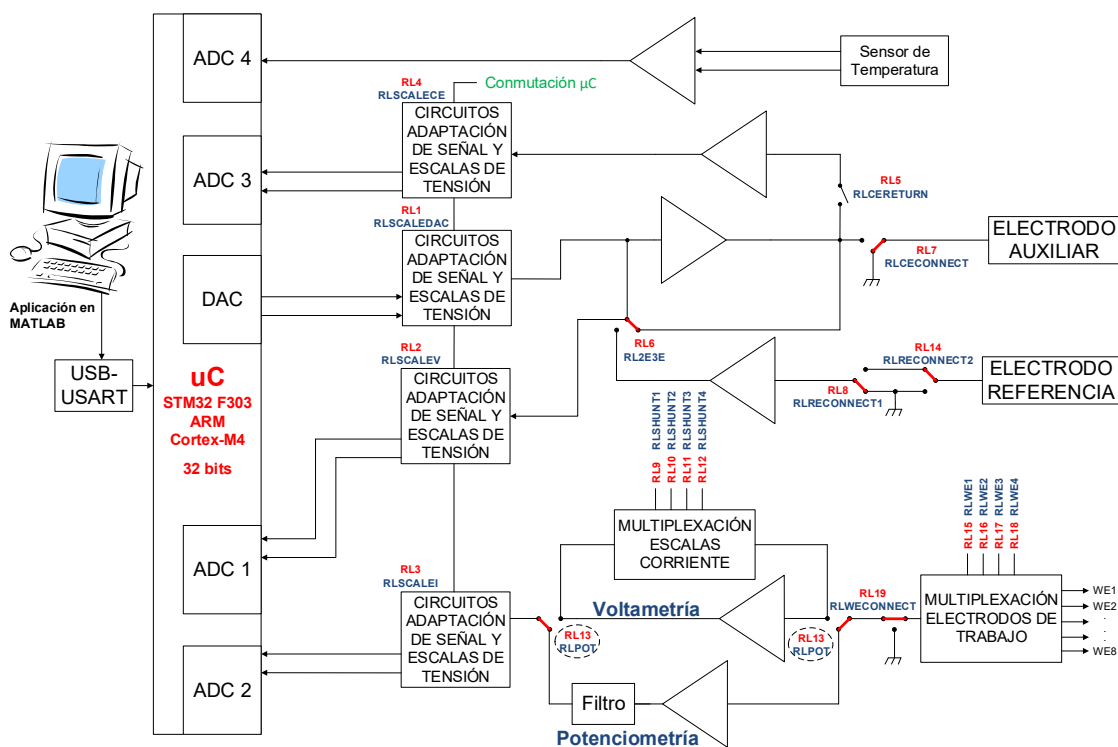


Figura 7. Configuración relés en modo potenciometría.

Todos los bloques de multiplexación en este diseño comparten la misma estructura: está formada por de un relé sin enclavamiento de dos contactos modelo G6K-2F-Y5DC del fabricante OMRON, que se dispara con un transistor BJT modelo BC847. El circuito de disparo cuenta con un diodo en antiparalelo a la bobina del relé para evitar que se generen picos de tensión causados por las conmutaciones del transistor y con una resistencia de 1 kΩ que limita la corriente en la base del transistor y garantiza que el transistor entre en estado de saturación cuando la línea de disparo procedente del μC está en estado alto.

De los relés que forman parte de esta sección, únicamente el relé 13 utiliza ambos contactos, los demás (relés 6, 7, 8, 14 y 19) utilizan un único contacto. Fundamentalmente, el relé 13 es el que se encarga de direccionar la señal que llegará al ADC2 por la rama de voltametría o por la de potenciometría por medio de la línea de selección RLPOT (ver figura 8).

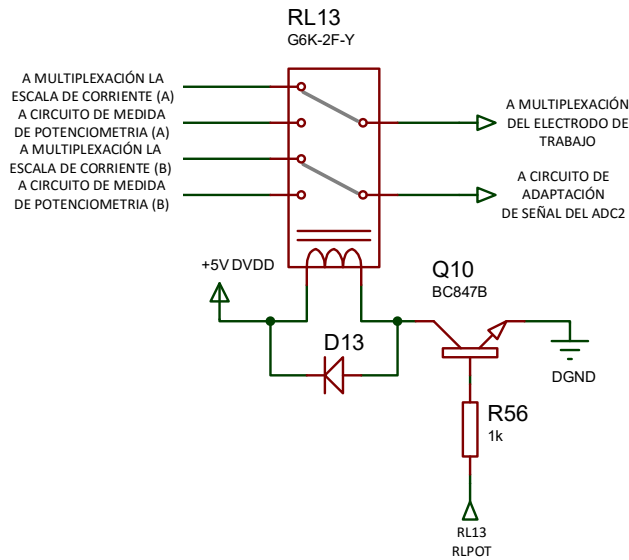


Figura 8. Configuración del relé 13.

4.3.3 Circuitos de adaptación de señal.

Como puede verse en la figura 1, en este diseño se han implementado cuatro circuitos de adaptación de la señal. Cada uno de estos circuitos realizan dos funciones simultáneamente:

- Adaptar los niveles de tensión entre el potencióstato y los convertidores.
- Proporcionar dos escalas de adaptación para estas señales.

Estos cuatro circuitos realizan las siguientes funciones:

- Circuito de adaptación entre las señales diferenciales de salida del DAC y la señal unipolar a aplicar a la celda electroquímica.
- Circuito de adaptación entre la señal procedente del circuito de medida de la tensión en el electrodo de trabajo y las señales diferenciales de entrada al ADC1.
- Circuito de adaptación entre la señal procedente del circuito de medida de la corriente que circula por el electrodo de trabajo y las señales diferenciales de entrada al ADC2.
- Circuito de adaptación entre la señal procedente del circuito de medida de la tensión en el electrodo auxiliar y las señales diferenciales de entrada al ADC3.

Los circuitos de adaptación de señal de los ADC1, ADC2 y ADC3 son exactamente iguales.

Existen dos escalas de tensión tanto para los ADCs como para el DAC, una que cubre el rango de tensiones más amplio (entre -2 V y +2 V) y un rango de tensiones más reducido para la medida de señales de baja amplitud (entre -200 mV y +200 mV).

Circuito de adaptación de señal del DAC.

El DAC proporciona dos señales diferenciales positivas DAC_OUT+ y DAC_OUT-, cuyos valores no pueden superar la tensión de referencia. Aunque el valor de la tensión de referencia es teóricamente 3,3 V, en la práctica no es exactamente así. En la tabla 19 de las hojas de características del microcontrolador aparece una referencia a este suceso y tabulan la diferencia máxima entre la tensión de alimentación y la tensión de referencia en 0,4 V. Así mismo se indica que la tensión de referencia siempre será menor o igual a la tensión de alimentación, pero no podrá superarla. En la práctica, la tensión de referencia se ha medido en el dispositivo que se utiliza en este diseño. Así se ha enviado un valor de digital de 4095 a ambos canales del DAC para medir con un osciloscopio su señal analógica. De este modo en el canal 1 el valor leído es de 2,94 V y en el canal 2 el valor es de 2,96 V.

Las señales de salida del DAC se han de convertir en una señal unipolar que sirva para aplicarla a los bloques de control de la tensión del potencióstato. Se han integrado dos escalas de tensión, de este modo la primera escala de tensión cubre el rango de [-2 V; +2 V] y la segunda el de [-200 mV; +200 mV].

En la figura 9 se muestra el circuito que se utiliza para la amplificar la salida del DAC, en el que se integran un bloque seguidor, un bloque multiplexador para cambiar la ganancia del tercer bloque, la etapa de amplificación, dependiendo de la escala de tensión a utilizar.

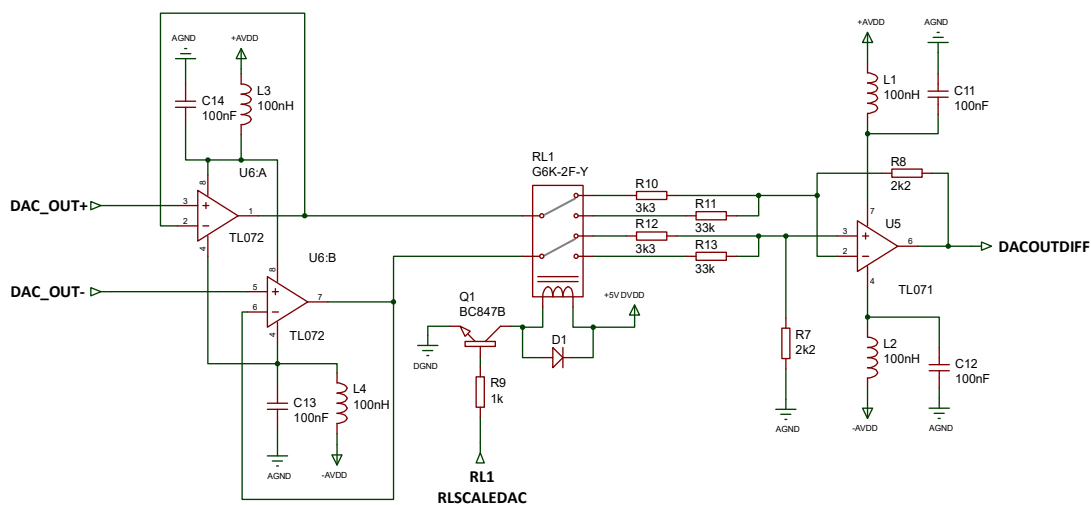


Figura 9. Circuito de adaptación de señal y multiplexación de las escalas de tensión del DAC.

El seguidor se incluye como etapa de adaptación de impedancias, así se evita que el microcontrolador cargue la etapa de amplificación. Se implementa con un TL072, que es un circuito integrado que dispone de dos amplificadores operacionales cuya resistencia de entrada es $10^{12} \Omega$, en configuración de seguidor.

La multiplexación se realiza con el relé descrito en la sección anterior (G6K-2F-Y5DC de OMRON) y su circuito de disparo sobre la línea de selección RLSCALEDAC.

Para implementar esta etapa de amplificación con entradas diferenciales se ha utilizado el amplificador operacional TL071 de Texas Instruments, equivalente al utilizado como seguidor, pero con un único amplificador, por su buena respuesta temporal que proporciona estabilidad en frecuencia y en temperatura. Este dispositivo tiene las siguientes características principales:

- Bajas corrientes de pérdida en las entradas.
- Tensión de offset baja.
- Impedancia de entrada alta.
- Alto valor de slew rate.
- Baja corriente de alimentación.

Cuando se elige la etapa de amplificación para la escala de 2 V, la ecuación 14 nos da la tensión de salida de esta etapa:

$$DACOUTDIFF = \frac{R_{10}+R_8}{R_{12}+R_7} \cdot \frac{R_7}{R_{10}} \cdot (DAC_OUT -) - \frac{R_8}{R_{10}} \cdot (DAC_OUT+) \quad (14)$$

Para la escala de amplificación de 200 mV, la tensión de salida viene dada por la ecuación 15:

$$DACOUTDIFF = \frac{R_{11}+R_8}{R_{13}+R_7} \cdot \frac{R_7}{R_{11}} \cdot (DAC_OUT -) - \frac{R_8}{R_{11}} \cdot (DAC_OUT+) \quad (15)$$

Para facilitar los cálculos se usan valores iguales para $R_7 = R_8 = 2200 \Omega$, $R_{10} = R_{12} = 33000 \Omega$ en la escala de 2 V (ecuación 16) y $R_{11} = R_{13} = 33000 \Omega$ en la escala de 200 mV (ecuación 17).

$$DACOUTDIFF = \frac{R_7}{R_{10}} \cdot [(DAC_OUT-) - (DAC_OUT+)] \quad (16)$$

$$DACOUTDIFF = \frac{R_7}{R_{11}} \cdot [(DAC_OUT-) - (DAC_OUT+)] \quad (17)$$

De este modo, haciendo los cálculos para los valores máximos en cada canal tenemos los rangos siguientes:

- Escala 2 V: $-1,96 \leq \text{DACOUTDIFF} \leq +1.973$
- Escala 200 mV: $-0,196 \leq \text{DACOUTDIFF} \leq +0,197$

Los rangos de tensión obtenidos difieren ligeramente de los pretendidos teóricamente. Esto está motivado por las desviaciones en el valor nominal de las resistencias, que modifican levemente la ganancia calculada del operacional. También se debe tener en cuenta que los operacionales tienen una tensión de offset que, aunque sea baja, también provoca cambios en las tensiones de salida. Por estos motivos es complejo garantizar mediante un diseño hardware la exactitud en las tensiones que se desean aplicar a la celda electroquímica y se ha implementado una calibración por software de las dos escalas de tensión para garantizar los niveles requeridos a aplicar a la celda electroquímica corrigiendo estas mencionadas desviaciones (ver sección 4.5.1 Módulo de Configuración, del apartado Aplicación Matlab para PC).

Circuitos de adaptación de señal de los ADCs.

Los ADC1, ADC2 y ADC3 requieren también una adaptación de las señales que llegan desde la celda electroquímica. Así mismo, se han implementado los tres circuitos de adaptación con la misma configuración, la cual integra, como en el caso del DAC, dos escalas de tensión (± 2 V y ± 200 mV) que se adaptan modificando la ganancia del amplificador operacional diferencial THS4131. La diferencia entre ellos son únicamente las señales de entrada y de salida que, como se ha descrito anteriormente, para el ADC1 son las señales de la tensión aplicada en el electrodo de trabajo, para el ADC2 son las señales de la corriente que circula a través de electrodo de trabajo y para el ADC3 es la tensión en el electrodo auxiliar.

Por tanto, la función de este bloque de adaptación es el de transformar las señales unipolares (positivas o negativas) proveniente del potencióstato para que cumplan con las especificaciones de entrada de los ADCs, es decir, transformarlas en señales diferenciales de signo positivo y que cumplan con la condición de que la diferencia entre sus entradas no supere la tensión de referencia ($\pm V_{\text{ref}}$). De este modo, estos circuitos de adaptación deben elevar y amplificar las señales de entrada con una ganancia que depende de la escala de tensión seleccionada.

En la figura 10 se muestra el circuito de adaptación de señal para el ADC1:

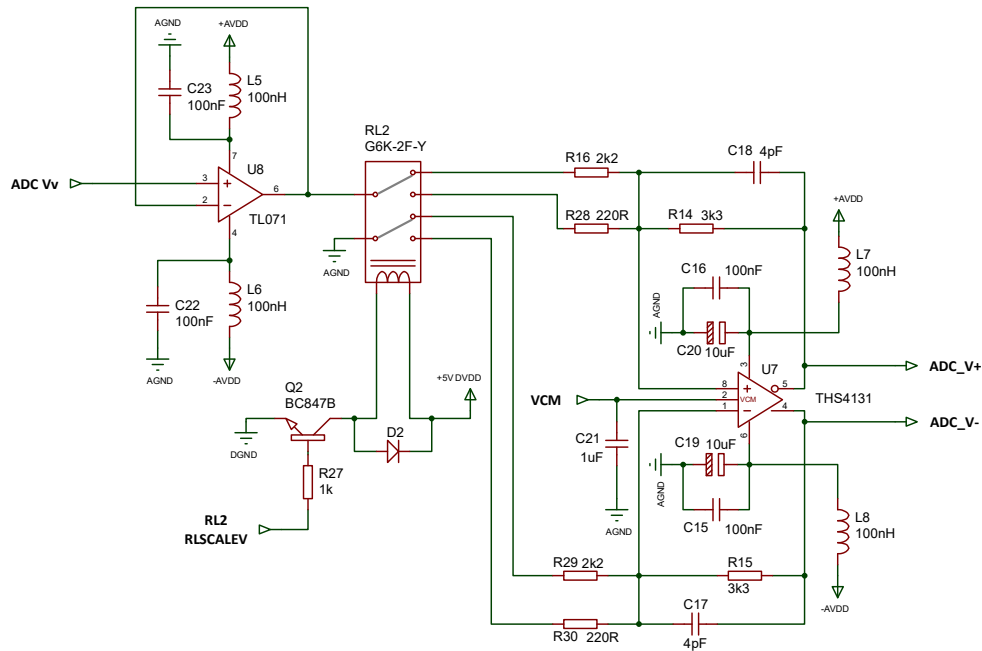


Figura 10. Circuito de adaptación de señal y multiplexación de las escalas de tensión del ADC 1.

Igual que el circuito de adaptación del DAC, este consta de tres bloques: un bloque seguidor, un bloque multiplexador para cambiar la ganancia y un bloque amplificador.

El bloque seguidor tiene la función de adaptador de impedancias entre la entrada, que proviene del circuito de medida de la tensión en el electrodo de trabajo del potenciómetro, que es un circuito muy sensible a los comportamientos no lineales de los amplificadores operacionales que lo forman. En este caso se utiliza el amplificador operacional TL071, que es un dispositivo equivalente al utilizado como seguidor con el DAC, la única diferencia es que este circuito integrado dispone de un único amplificador.

El bloque de multiplexación permite direccionar las señales a través de las resistencias correspondientes para seleccionar la ganancia requerida y así adaptar los niveles de tensión.

La amplificación se realiza configurando el amplificador como desplazador. De este modo se transforma la señal de tensión positiva o negativa que proviene del electrodo a un valor de tensión positivo. Tras esto se realiza la amplificación de las señales y se transforma esta señal unipolar en dos señales diferenciales de amplitud deseada. Esta función la realiza el amplificador diferencial THS4131 también de Texas Instruments, que es un amplificador diferencial de entrada/salida de alta velocidad. Este dispositivo se utiliza habitualmente para conectar señales unipolares a circuitos con entradas diferenciales. En este caso se ha configurado su entrada como unipolar, y sus tensiones de salida responden a las ecuaciones 18 y 19:

$$V_{\text{ADC}_V+} = V_{\text{CM}} + V_{\text{ADC}_V} \cdot \left(\frac{1}{2}\right) \cdot G \quad (18)$$

$$V_{\text{ADC}_V-} = V_{\text{CM}} - V_{\text{ADC}_V} \cdot \left(\frac{1}{2}\right) \cdot G \quad (19)$$

Donde:

- V_{CM} es la tensión de modo común del amplificador operacional, que establece el nivel de tensión de las señales de salida. En este caso se utiliza una tensión de 1.65 V, que se obtiene con un divisor de tensión con las ramas iguales para dividir entre 2 la tensión de alimentación analógica de 3,3 V.
- G es la ganancia del operacional, responde al cociente R_{14}/R_{16} , para el caso del ADC1 en la escala de tensión de ± 2 V.

En el diseño propuesto, el valor $R_{14} = 3300 \Omega$ y $R_{16} = 2200 \Omega$, utilizadas en la escala de tensión cuyos valores varían entre ± 2 V. Haciendo los cálculos para el circuito de adaptación del ADC1 en la figura 10, se obtiene un rango de tensiones para la señal de salida diferencial entre ± 3.15 V. Los tres ADCs siguen la misma estructura y se han implementado con componentes pasivos con los mismos valores nominales en los tres casos, por tanto, el factor de amplificación para todos ellos es el mismo, salvo por las diferencias de los valores reales de las resistencias. De este modo, como se hace con el DAC, para compensar las posibles desviaciones provocados por las tolerancias de las resistencias que marcan la ganancia de los operacionales y las posibles variaciones entre sus tensiones de offset se ha implementado una calibración por software sobre las lecturas de los tres ADCs en ambas escalas de tensión (ver sección 4.5.1 Módulo de Configuración, del apartado Aplicación Matlab para PC).

4.3.4 Potenciostato.

Por lo general, las medidas de voltametría necesitan de un sistema electrónico que sea capaz de generar y suministrar señales de tensión a una celda electroquímica, medir la corriente que circula en ella y almacenar los datos generados.

Para realizar el control de las tensiones y la medida de la corriente se utiliza un potenciostato. Este dispositivo se encarga de dos tareas fundamentales: la primera es fijar el nivel de potencial requerido entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo y en segundo lugar, comparar esa diferencia de potencial con una tensión preestablecida forzando el paso de

una corriente a través del electrodo auxiliar hacia el electrodo de trabajo para así contrarrestar la diferencia entre la tensión prestablecida y la que hay en el electrodo de trabajo [1]. El sistema electrónico se encarga entonces de almacenar las señales para su posterior análisis.

Un potencióstato clásico tiene una entrada que se corresponde con la tensión que se quiere establecer entre el RE y en WE (tensión de consigna o prestablecida) y una salida de tensión que se corresponde con la corriente que circula por el WE. El potencióstato que se ha utilizado en este diseño, incorpora además una salida de tensión que se corresponde con la tensión real aplicada al electrodo de referencia y otra salida de tensión que se corresponde con la tensión real que se aplica al contraelectrodo. Estas dos medidas de tensión se han añadido a la configuración clásica para poder realizar un estudio más pormenorizado de los procesos que ocurren en la celda electroquímica.

De las varias configuraciones de potencióstato que existen, se ha adaptado la que se usa más habitualmente para el diseño de este equipo, y es la que se muestra en la figura 11[2,3,4,5,6]:

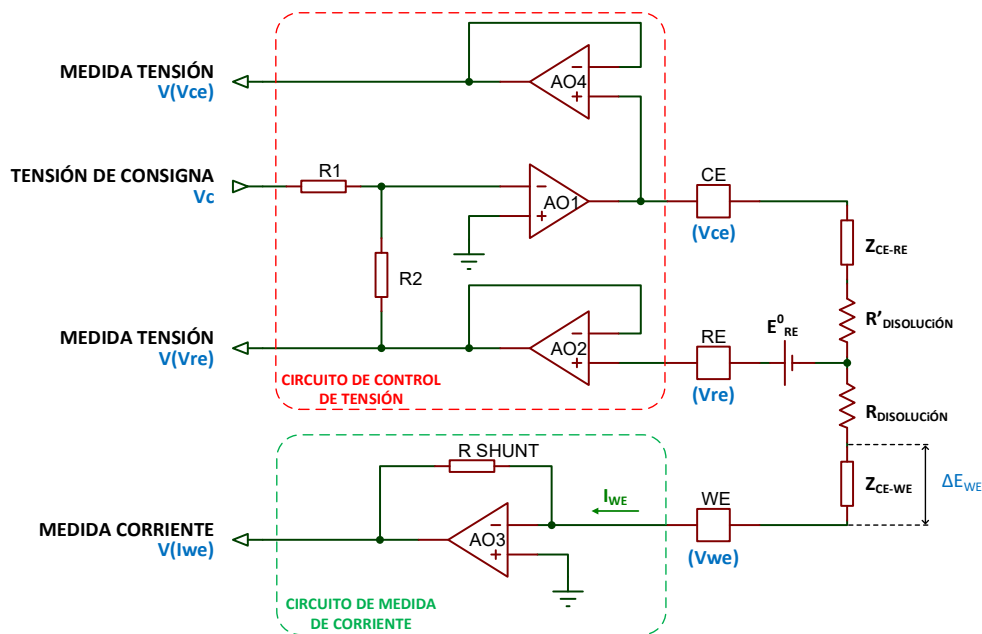


Figura 11. Diagrama de bloques del potencióstato.

El circuito de la figura 11 tiene 7 puntos de conexión, los 3 correspondientes a los electrodos en la celda electroquímica (contraelectrodo: CE; electrodo de referencia: RE; electrodo de trabajo: WE), 1 punto de conexión al sistema electrónico para la generación de las señales a aplicar y 3 puntos para la adquisición de señales. En el terminal de entrada se establece la tensión de consigna, que es la que se debe aplicar entre el RE y el WE. Esta tensión la genera el DAC y a través de su circuito de adaptación (ver sección 4.3.3. Circuitos de adaptación de

señal) se lleva al terminal “TENSIÓN DE CONSIGNA V_c ”. Mientras que por el terminal “MEDIDA TENSIÓN $V(V_{re})$ ” se realiza la medida de la tensión real que existe entre ellos. Esta tensión se mide en el ADC1 después de pasar su circuito de adaptación. Habitualmente ambas tensiones son iguales, aunque ocasionalmente difieren debido a complejidades de funcionamiento del potencióstato, por este motivo se ha añadido la medida de la tensión del contraelectrodo (en el ADC3), y se mide en el terminal “MEDIDA TENSIÓN $V(V_{ce})$ ”. En el terminal “MEDIDA CORRIENTE $V(I_{we})$ ” se mide la tensión que se corresponde con la corriente que circula por el electrodo de trabajo en el ADC2 después de pasar por su circuito de adaptación.

Como se observa en la figura 11 el potencióstato está formado por el circuito de control de tensión y el circuito de medida de corriente, que se describen a continuación.

El bloque que forma el circuito de control de la tensión tiene dos funciones. En primer lugar, evita que se genere una circulación de corriente a través del electrodo de referencia, gracias al amplificador operacional AO2 de alta impedancia conectado al RE, que se configura como seguidor. En segundo lugar, suministra la tensión de consigna que se establece en el terminal V_c entre los electrodos RE y WE. El amplificador operacional AO1 de la figura 11 está configurado como inversor con realimentación negativa. Esta realimentación la componen el potencial del RE, la resistencia de la disolución entre el CE y el RE ($R'_{DISOLUCIÓN}$), la impedancia entre el CE y el RE, el amplificador operacional AO2 y la resistencia R_2 . Como la entrada positiva del AO1 está conectada a masa y suponemos amplificadores operacionales ideales, consideramos que la entrada negativa del AO1 está conectada a lo que se denomina una “tierra virtual”, pudiendo considerarse a efectos eléctricos que el potencial del WE con respecto al potencial de referencia del circuito es 0. De este modo, para suministrar la tensión V_c entre el electrodo de trabajo y el de referencia únicamente se debe fijar la tensión de consigna en RE. Por tanto, si consideramos el nodo de la entrada negativa del AO1, aplicando la primera ley de Kirchoff (“La corriente entrante a un nodo es igual a la suma de las corrientes salientes”), se obtiene la ecuación 20:

$$\frac{V_c}{R_1} = \frac{-V(V_{re})}{R_2} \quad (20)$$

En este diseño se han elegido las resistencias R_1 y R_2 del mismo valor, para así obtener que el valor de $-V_c$ es igual a $V(V_{re})$. Del mismo modo, como el amplificador operacional AO2 está configurado como seguidor, $-V_c$ es igual al valor de (V_{re}) . El valor de (V_{ce}) dependerá de las características, la posición del electrodo con respecto a los demás electrodos y la composición del medio en que están inmersos; su valor puede ser mayor que (V_{re}) , pero no debe superar la

tensión de saturación de los amplificadores operacionales de ambos circuitos y, además, debe permitir que se cumpla la ecuación 20.

Desde la perspectiva del circuito electrónico, el (V_{we}) está a potencial 0 y el potencial (V_{re}) es igual a $-V_c$. Pero desde la perspectiva electroquímica se considera que se está aplicando una diferencia de potencial en la interfaz WE-disolución, que responde a la ecuación 21:

$$\Delta E_{WE} = -V_c - E_{RE}^0 - R_{DISOLUCIÓN} \cdot I_{WE} \quad (21)$$

E_{RE}^0 es el potencial del electrodo de referencia, y como es teóricamente invariable es fácil de compensar. La diferencia de potencial en el electrodo de trabajo (ΔE_{WE}) es la que puede variar durante una medida y por ello, compensarla es más complejo.

En ocasiones, para garantizar el potencial en el electrodo de trabajo el contraelectrodo la tensión entre el contraelectrodo y el electrodo de referencia varía, mostrando un comportamiento difícilmente predecible. Por este motivo se ha implementado la medida del potencial real en el electrodo de trabajo y así poder monitorizar estos eventos.

El circuito de medida de corriente se encarga de generar una tensión $V(I_{we})$ proporcional a la corriente que circula por el electrodo de trabajo. El amplificador operacional AO3 en la figura 11 está configurado como un convertidor de corriente a tensión, gracias a la resistencia (R_{SHUNT}) en su realimentación negativa, de este modo la entrada negativa del AO3 actúa como una tierra virtual al estar la entrada positiva conectada a masa. Por tanto, teniendo en cuenta la impedancia de entrada del operacional, que es idealmente infinita, y la primera ley de Kirchoff, obtenemos la ecuación 22:

$$I_{WE} = \frac{-V(I_{we})}{R_{SHUNT}} \rightarrow V(I_{we}) = -R_{SHUNT} \cdot I_{WE} \quad (22)$$

Un potencióstato es un circuito por definición inestable, ya que algunas situaciones de trabajo hacen que se desestabilice y produzca oscilaciones en las señales que desvirtúen totalmente la medida. Estas situaciones pueden estar motivadas factores como la impedancia de entrada real de los amplificadores operacionales o su ganancia en bucle abierto finita, las componentes capacitivas de las impedancias de la celda electroquímica, la resistencia interna del electrodo de referencia o la conductividad finita de la muestra a medir. Estas inestabilidades pueden darse tanto en el circuito de medida de corriente como en el de control de la tensión.

La complejidad de este circuito y sus problemáticas inestabilidades han sido objeto de numerosos estudios y publicaciones [1,7,8,9]. A la hora de diseñar un circuito de medida basado en el uso de un potencióstato deben tenerse en cuenta las siguientes apreciaciones:

- Deben escogerse amplificadores operacionales con una impedancia de entrada y una ganancia en bucle abierto lo más elevadas posible.
- Debe prestarse especial interés en mantener el electrodo de referencia en las condiciones idóneas de funcionamiento, para así favorecer que su resistencia sea lo más reducida posible.
- Debe utilizarse cableado apantallado y en buen estado para minimizar las componentes capacitivas en la celda electroquímica, así como mantener la disposición de los electrodos.
- Conviene incluir un condensador de muy bajo valor (para que afecte lo mínimo posible a la impedancia de la celda electroquímica) en el bucle de realimentación positiva del AO1 en el circuito de control de la tensión que limite el ancho su ancho de banda, para evitar oscilaciones del potencióstato cuando se quiera medir corrientes bajas.
- Del mismo modo, procede incluir un condensador de muy bajo valor (para que afecte lo mínimo posible a la impedancia de la celda electroquímica) en paralelo a la resistencia de shunt del circuito de medida de la corriente.

Circuito de control de tensión.

El circuito de control de la tensión que forma parte del potencióstato que se ha implementado en este diseño se muestra en la figura 12. Está compuesto por los amplificadores operacionales U14 y U15, y las resistencias R38 y R39. Además, se incluyen los relés (y sus circuitos de disparo) encargados de direccionar las señales correspondientes para los distintos ensayos disponibles. También se incluye el circuito de medida de la tensión del contraelectrodo, formado por el amplificador operacional U18, en configuración de seguidor.

Los amplificadores operacionales que se han elegido para esta parte del diseño son OPA551, el motivo principal es su alta impedancia de entrada, tabulada en $10^{13} \Omega$. Cabe destacar también que es un amplificador operacional de alta corriente, por lo que es capaz de suministrar hasta 200 mA en la salida, que además presenta un alto rango de alimentación, hasta ± 30 V. Su tensión de salida máxima es de ± 2 V, que concuerda con las especificaciones de las señales a aplicar al electrodo de trabajo. Sin embargo, como el requerimiento de potencial en el contraelectrodo puede superar esos valores, el OPA551 es una buena elección ya que

condiciones de trabajo de alta corriente (por encima de 10 mA) la tensión de salida puede tomar valores entre $(-AVDD+2\text{ V})$ y $(+AVDD-2\text{ V})$. Como en este diseño se han alimentado estos dispositivos a $-5\text{ V}/+5\text{ V}$, se evitan posibles situaciones de saturación en tensión.

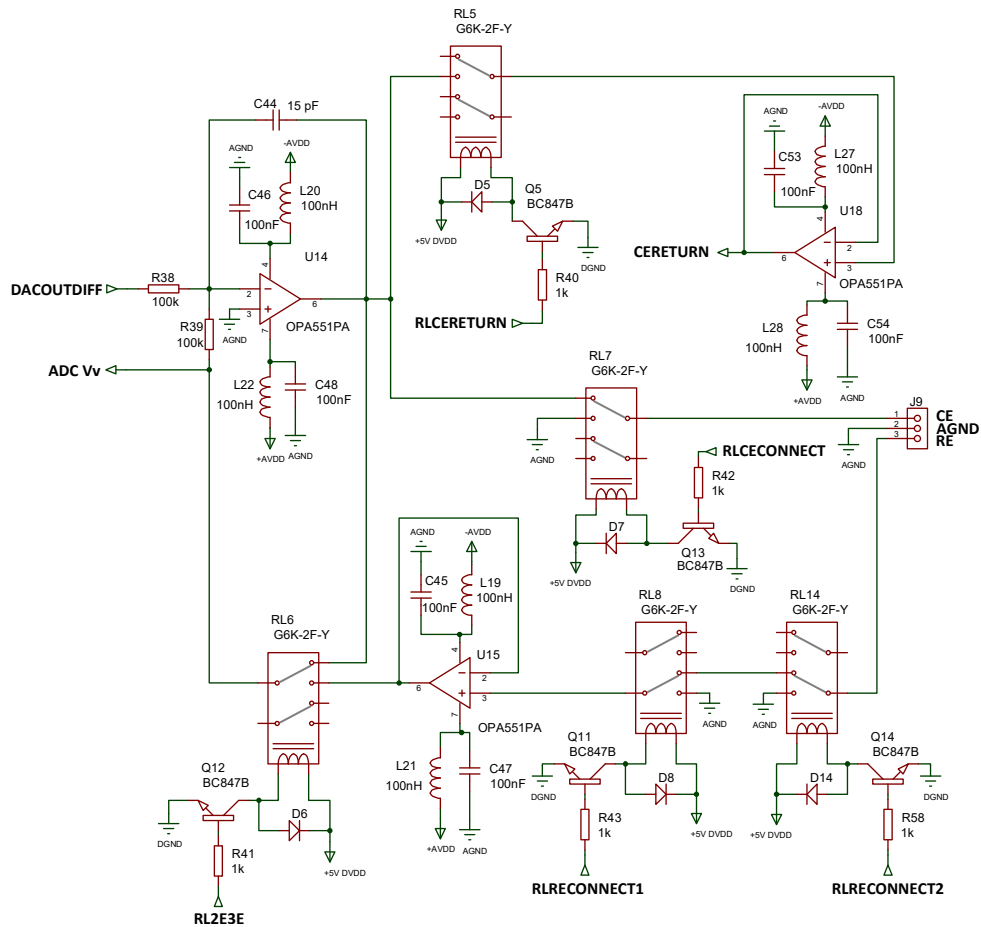


Figura 12. Circuito de control de la tensión del potenciómetro.

El diseño se sirve de varios relés para direccionar las señales de manera que se puedan implementar los distintos modos de trabajo, su funcionamiento se ha descrito al final de la sección 4.3.2. Circuitos de selección de la técnica.

El relé 5 se utiliza para habilitar la medida de la tensión en el contraelectrodo. Normalmente la tensión aplicada al WE y la medida coincide, sin embargo, conviene asegurarse que el potenciómetro no se desequilibra y esté aplicando una tensión distinta la consignada en el contraelectrodo. Si se activa línea RLCERETURN se realiza la medida de tensión en el contraelectrodo mediante el mismo amplificador operacional OPA551, configurado como seguidor, cuya señal CERETURN se envía al ADC3.

El relé 6 se utiliza para configurar el potenciómetro en modo 2 o 3 electrodos. Conmutando el relé 6 se establece el modo 3 electrodos, como en la figura 6. En las medidas a 2 electrodos se

prescinde del electrodo de referencia y para ello la línea RL2E3E debe mantenerse en reposo. De este modo, la salida del amplificador operacional U14 se conecta directamente a la resistencia R39, de manera que el operacional actúa como un amplificador de ganancia 1, dejando al operacional U15 sin conexión al circuito y anulando la conexión al terminal RE, así, la señal de entrada del potencióstato se le aplica directamente al contraelectrodo.

El relé 7 se utiliza para configurar el modo potenciometría, y cuando se conmuta hay que tener en cuenta que el relé 6 esté en reposo, ya que se trata de una medida a 2 electrodos. De este modo, cuando se activa la línea RLCECONNECT, el contraelectrodo se conecta a la masa del circuito, por tanto, el potencial del contraelectrodo establecerá el potencial de referencia de las medidas.

Los relés 8 y 14 se utilizan para configurar la conexión del electrodo de referencia. En concreto, en este diseño se utilizan dos configuraciones. En la primera se mantienen ambos relés en reposo para implementar una medida de voltametría, de este modo el electrodo de referencia está conectado normalmente al potencióstato. En segundo lugar, para implementar la técnica de potenciometría se conmuta únicamente el relé 8 activando la línea RLRECONNECT1, de este modo el electrodo de referencia queda al aire y la entrada positiva del del bloque seguidor formado por el operacional U15 a masa.

Cabe destacar que la función del condensador C44 de 15 pF es la de estabilizar el potencióstato [7,8,9,10]. Se utiliza un valor pequeño para no afectar la señal ya que con él es suficiente para estabilizar el circuito.

Circuito de medida de corriente.

El circuito de medida de la corriente que forma parte del potencióstato que se ha implementado en este diseño se muestra en la figura 13. Esta configuración se corresponde con la mostrada en la figura 11, pero en este caso en lugar de incluir una única resistencia de Shunt, se han implementado 8 resistencias (R48, R49, R50, R51, R52, R53, R54 y la asociación en serie de R55 y R59) que se pueden seleccionar mediante un bloque de multiplexación integrado por cuatro relés (RL9, RL10, RL11 y RL12), que se configuran con 4 líneas de disparo (RLSHUNT1 a RLSHUNT4). Este circuito genera una tensión en la salida del operacional U16 que está relacionada con la corriente que circula por el electrodo de referencia y que responde a la ecuación 22.

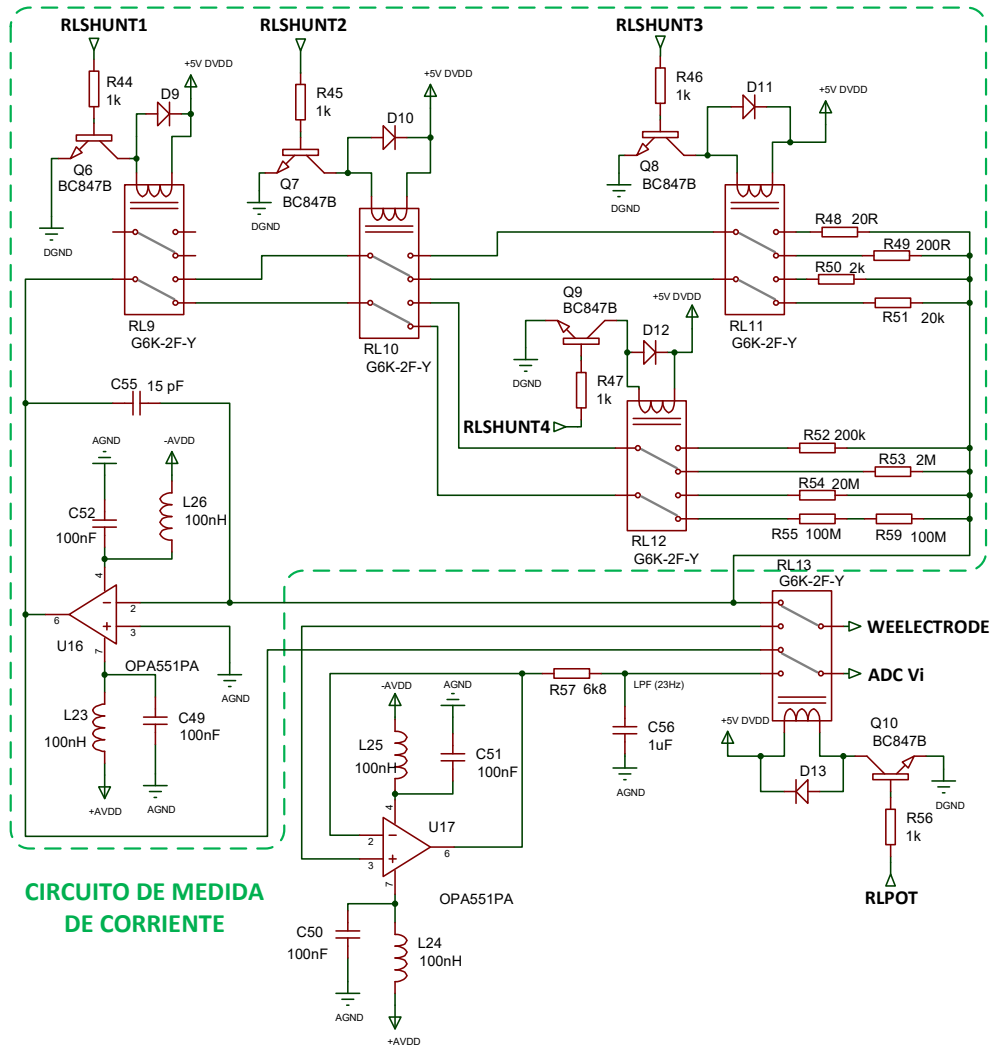


Figura 13. Circuitos de medida de la corriente del potencióstato y medida de potenciometría.

Tabla 1. Tabla de multiplexación de las escalas de corriente.

RLSHUNT1	RLSHUNT2	RLSHUNT3	RLSHUNT4	R _{SHUNT}
ON	ON	ON	OFF	R48
ON	ON	OFF	OFF	R49
ON	OFF	ON	OFF	R50
ON	OFF	OFF	OFF	R51
OFF	ON	OFF	ON	R52
OFF	ON	OFF	OFF	R53
OFF	OFF	OFF	ON	R54
OFF	OFF	OFF	OFF	R55 + R59

En la tabla 1 se muestran los estados de los relés para implementar la multiplexación de las 8 escalas de corriente disponibles. El valor de cada escala de corriente puede ser calculado adaptando la ecuación 22 a cada una de las escalas de tensión, de este modo se obtienen las ecuaciones 23 y 24:

$$\text{Escala } 2 \text{ V} = \frac{2}{R_{SHUNT}} \tag{23}$$

$$\text{Escala } 200 \text{ mV} = \frac{0,2}{R_{SHUNT}} \tag{24}$$

Multiplexación del electrodo de trabajo.

El sistema se ha diseñado para que las medidas, tanto de voltametría como de potenciometría, puedan realizarse sobre 8 electrodos de trabajo secuencialmente, conectando el circuito de medida correspondiente a la técnica seleccionada con el bloque de multiplexación del electrodo de trabajo, que está formado por 5 relés (ver figura 14).

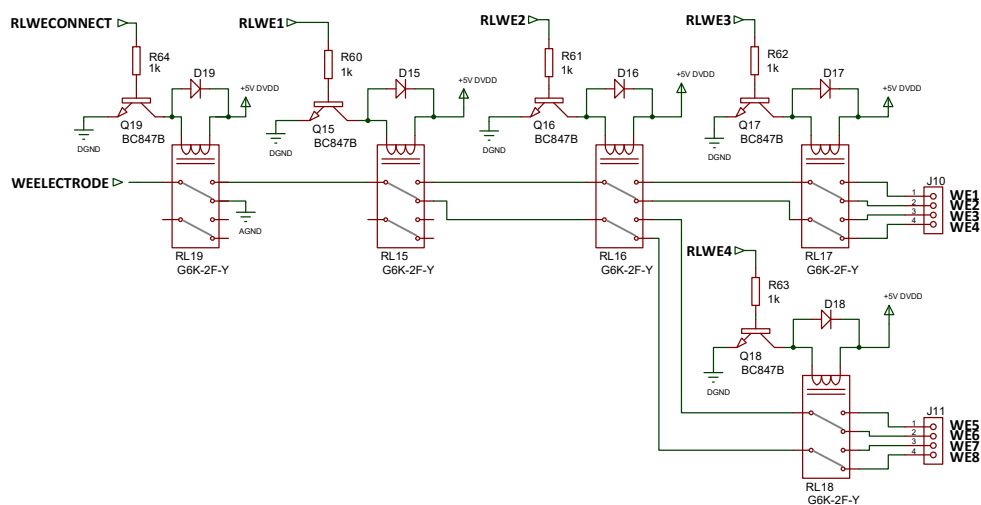


Figura 14. Bloque de multiplexación del electrodo de trabajo.

El relé 19 tiene la función de desconectar el bloque de multiplexación del electrodo de trabajo del circuito cuando la línea RLWECONNECT se mantiene en reposo. De este modo, se pone a masa la línea que va a los circuitos de medida para evitar polarizar los electrodos de trabajo, desconectando la celda electroquímica cuando no se necesita hacer una medida. Los otros cuatro relés (RL15 a RL18) son los que multiplexan entre los 8 electrodos de trabajo disponibles, mediante sus correspondientes líneas de disparo (RLWE1 a RLWE4), su configuración puede verse en la tabla 2.

Tabla 2. Tabla de multiplexación del electrodo de trabajo.

RLWE1	RLWE2	RLWE3	RLWE4	RLWECONNECT	WE
ON	ON	ON	OFF	ON	WE1
ON	ON	OFF	OFF	ON	WE2
ON	OFF	ON	OFF	ON	WE3
ON	OFF	OFF	OFF	ON	WE4
OFF	ON	OFF	ON	ON	WE5
OFF	ON	OFF	OFF	ON	WE6
OFF	OFF	OFF	ON	ON	WE7
OFF	OFF	OFF	OFF	ON	WE8
OFF	OFF	OFF	OFF	OFF	NINGUNO

4.3.5 Circuito de medida potenciométrica (OCP).

Además de las medidas voltamétricas que se realizan con el potencióstato, se ha implementado la técnica de potenciometría, como se ha representado en el diagrama de bloques del sistema (figura 1).

En la figura 13 puede observarse el circuito de medida de potenciometría. Está formado por el relé 13, el amplificador operacional en configuración de seguidor U17 y el filtro paso bajo (formado por los elementos pasivos R57 y C56).

Para anular el potencióstato y habilitar la medida de potenciometría basta con activar la línea RLPOT, que conmuta el relé 13. De este modo la señal proveniente del electrodo de trabajo seleccionado se direcciona al seguidor de tensión (U17), su salida se filtra y se lleva al ADC2, para que el microcontrolador se encargue de procesar esta información.

Se ha diseñado un filtro paso bajo de primer orden para que elimine el ruido de baja frecuencia, ya que para valores de tensión pequeños el ruido puede ser mayor que la señal que se está midiendo y por tanto arruinar la medida. Por ello se ha diseñado un filtro cuya frecuencia de corte es de aproximadamente 23 Hz. Para su cálculo se ha utilizado la ecuación 25, siendo R57 de 6,8 kΩ y C56 de 1 μF:

$$f_c = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot R \cdot C} \quad (25)$$

4.3.6 Circuito de medida de temperatura.

Se ha incorporado en el diseño del equipo electrónico de medida un dispositivo para la medida de la temperatura. Se ha optado por un circuito integrado de Analog Devices, modelo AD8495. Este dispositivo es un amplificador operacional de precisión para termopares con compensación de unión fría, sus especificaciones destacables son:

- Compensación de unión fría.
- Resolución de 5 mV/°C.
- Detección de rotura del termopar.
- Ajuste de offset por pin de referencia.
- Bajo consumo.
- Amplio rango de alimentaciones.

El termopar para que el que se ha configurado es del tipo K, por su amplio rango de temperaturas (entre -200 y 1300 °C, aproximadamente) y porque es de los más comunes y económicos de encontrar. Están disponibles en multitud de encapsulados, esta gran variedad hace sencilla su implementación en multitud de celdas electroquímicas, lo que facilita su implementación.

El diseño elegido es una de las opciones que da su fabricante en la hoja de características, e incluye una resistencia R4 de 1 MΩ para la detección de rotura del termopar, un filtro pasivo paso bajo de primer orden en cada entrada del operacional (entrada positiva: R6 y C9; entrada negativa: R7 y C7) cuya frecuencia de corte es de 23 Hz, se alimenta a +5 V, con la fuente de alimentación analógica (ver sección 4.3.7. Alimentación del equipo y tratamiento del ruido). El circuito implementado puede verse en la figura 15.

Según la hoja de características del fabricante, la tensión de salida teórica del dispositivo responde a la ecuación 26:

$$T_{MJ} = \frac{(V_{OUT} - V_{REF})}{5 \text{ mV}/^{\circ}\text{C}} \quad (26)$$

Sin embargo, la respuesta en la práctica diverge ligeramente de esta expresión, por lo que se realizó un calibrado manual con la ayuda de un termostato recirculador y un termómetro calibrado para temperaturas entre 5 y 60 °C en escalones de 5 °C. Los resultados se ajustaron

a una recta, ya que la repuesta del termopar puede considerarse lineal en este rango de temperaturas. El ajuste resultó en la ecuación 27:

$$\text{Temperatura} = (\text{TempH} \cdot 256 + \text{TempL}) \cdot 0,161 - 1.136 \quad (27)$$

Donde TempH es el valor correspondiente al byte alto de la temperatura y TempL al byte bajo (ver sección 4.4.3. Protocolo de comunicación). La línea ADC_TEMP va directamente al ADC4 del microcontrolador.

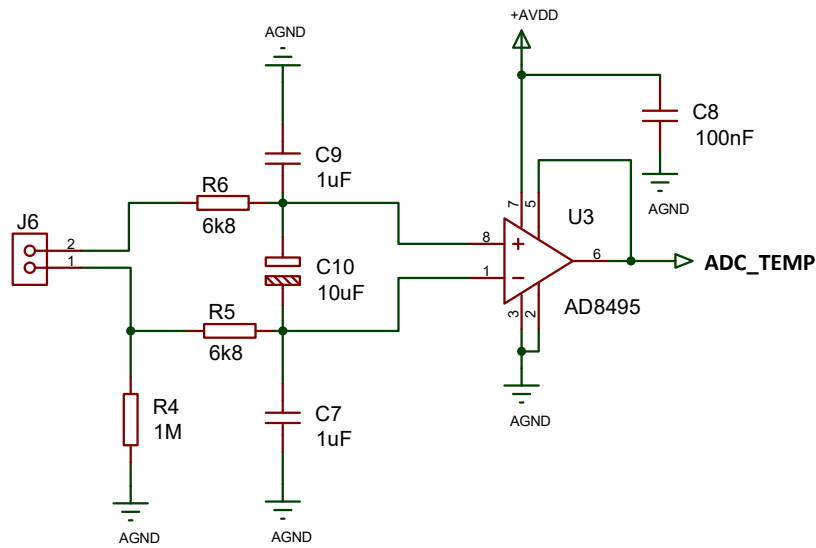


Figura 15. Sensor de temperatura.

4.3.7 Alimentación del equipo y gestión del ruido.

El circuito que se ha diseñado consta de dos partes claramente diferenciadas por la naturaleza de las señales que circulan por él, una digital y otra analógica. Las señales analógicas son susceptibles de verse afectadas por el ruido electromagnético que generan las señales digitales, sobre todo las de alta frecuencia, por ello, se han diseñado fuentes de alimentación independientes para cada uno de los bloques. El único elemento que comparten ambos bloques son las masas, ya que aislarlas supondría un diseño mucho más complejo y caro.

Como medida para prevenir los efectos derivados de los bucles de masa se tomaron dos medidas principales. En primer lugar, se diseñaron planos de masa individuales para el bloque digital y el bloque analógico, y, en segundo lugar, estos planos de masa se unieron en un único punto, cerca de los reguladores de tensión para evitar que las corrientes de fuga dispongan de

multitud de caminos para regresar a la fuente de alimentación ya que su circulación por los planos de masa puede generar corrientes indeseadas debido a inducciones electromagnéticas.

Tradicionalmente se considera que las fuentes de alimentación lineales son dispositivos que generan menor ruido en la tensión de salida y que su respuesta dinámica es más rápida, sin embargo, las fuentes conmutadas modernas como las que se han utilizado en este diseño han mostrado un comportamiento muy bueno y el fabricante indica que el ruido en su tensión de salida es menor al 0,7 %. Las fuentes lineales son por lo general más voluminosas debido a que utilizan transformadores grandes por trabajar a baja frecuencia. Las Fuentes conmutadas también utilizan transformadores, pero son más pequeños porque trabajan a mayor frecuencia. Por estos motivos se ha optado por la utilización de fuentes conmutadas.

Las fuentes de alimentación implementadas en este diseño se muestran en la figura 16 y se describen a continuación:

- Fuentes de alimentación analógicas:
 - ± 5 V (+AVDD y -AVDD). Proviene directamente de la fuente de alimentación conmutada dual (Traco Power: TML 20205C). Alimenta todos los amplificadores operacionales, el sensor de temperatura y el regulador de tensión (LM1117) para la generación de la tensión analógica de 3,3 V.
 - +3,3 V (+3.3V AVDD). Se utiliza para crear la tensión de modo común (V_{CM}) de los amplificadores diferenciales THS4131.
 - +1.65 V (V_{CM}). Es el voltaje de referencia que requieren los amplificadores diferenciales THS4131 en las etapas de adaptación de señal entre el circuito electrónico de medida y los ADCs del μ C.
- Fuentes de alimentación digitales:
 - +5 V (+5V DVDD). Proviene directamente de la fuente de alimentación conmutada unipolar (Traco Power: TXL-025-05S). Alimenta todos los relés y el regulador de tensión para la generación de la tensión digital de 3,3 V.
 - +3,3 V (+3.3V DVDD). Se utiliza exclusivamente para alimentar la placa del μ C.

En un diseño como el que se propone, es de crucial importancia proteger las señales analógicas frente a las fuentes de ruido electromagnético, que puede incidir en el sistema por conducción o inducción. El ruido en circuitos electrónicos puede o bien proceder de una fuente externa, de ahí a que se deban proteger frente a ruidos externos, o ser generado en el mismo circuito, por este motivo debe realizarse un diseño que genere el menor ruido posible.

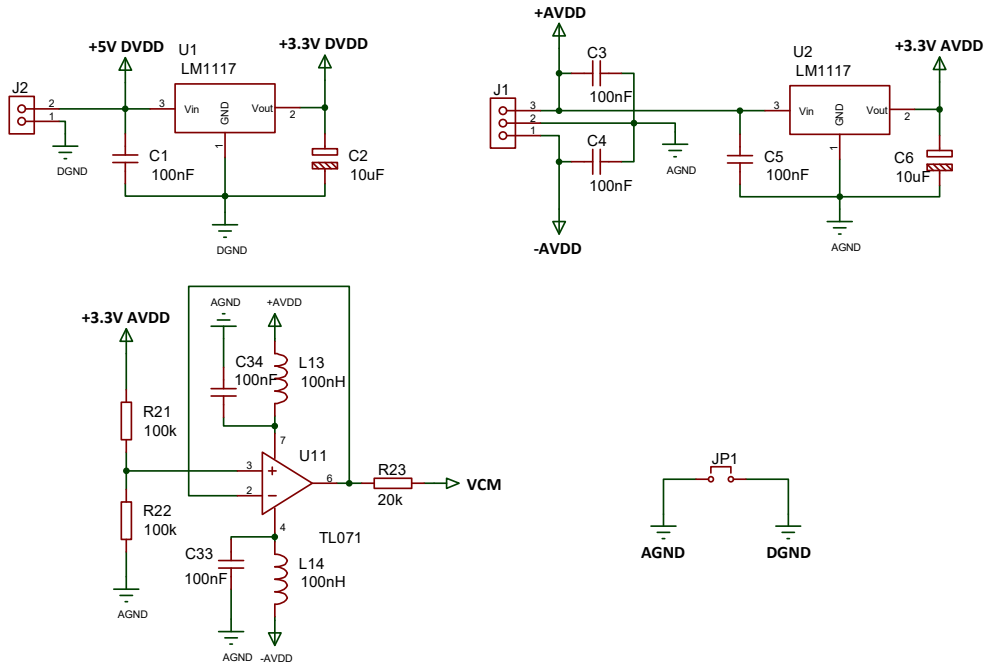


Figura 16. Circuitos de las alimentaciones analógica y digital.

Las alimentaciones de todos los circuitos integrados utilizados en este diseño (tanto los de la parte analógica como los de la digital) disponen de un filtrado. Se han instalado una ferrita de 100 nH y un condensador de 100 nF de desacoplo muy cerca de los pines de alimentación, para tratar de atenuar el posible ruido que puedan tanto generar como recibir.

El ruido electromagnético se genera habitualmente debido a conmutaciones de corriente, cuanto mayor sea la corriente que se conmuta o mayor sea la frecuencia a la que se conmuta dicha señal, mayor será el ruido que generan. De este modo, los circuitos con altos consumos de potencia son los que habitualmente se identifican como fuentes de ruido electromagnético ya que conmutan señales de corriente altas, así como los circuitos digitales que trabajan a frecuencias altas, aunque las señales que se conmutan sean de corrientes bajas. En este diseño, el bloque más propenso a generar ruido electromagnético es la placa del microcontrolador, ya que es un bloque de procesado digital que puede generar señales de hasta 72 MHz.

Además de incorporar alimentaciones separadas, es conveniente disponer en ubicaciones separadas los dispositivos analógicos de los digitales. Como puede verse en la figura 17, cada bloque está situado sobre su plano de masa correspondiente, que se unen en un único punto en la parte inferior de la figura.

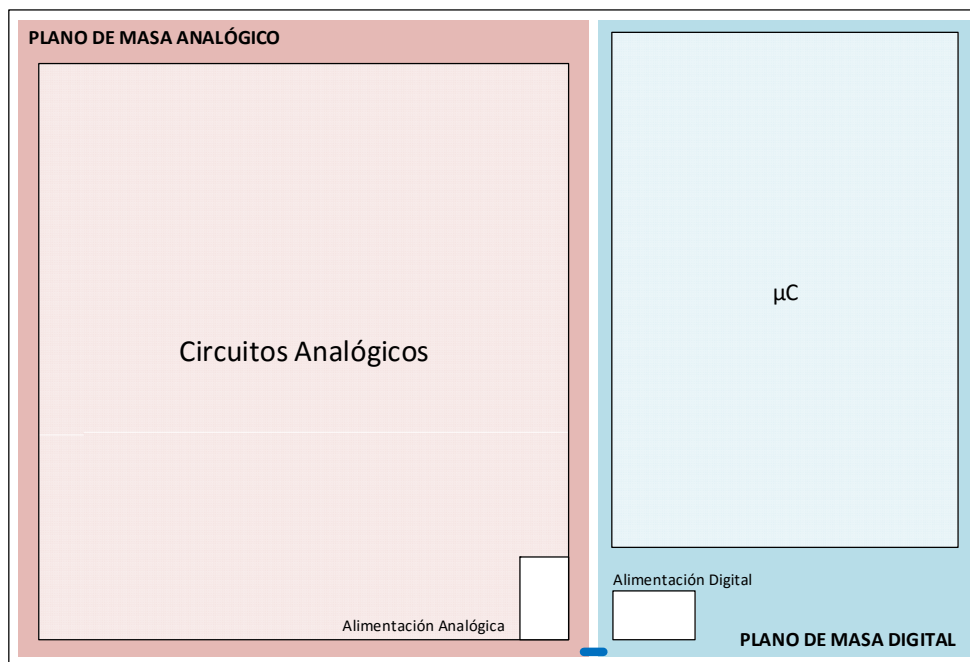


Figura 17. Esquema de distribución de los planos de masa.

Las únicas líneas digitales que cruzan de la parte digital hacia la parte analógica son las líneas de control que accionan los circuitos de disparo de los relés. Aun así, aunque estas líneas son digitales, únicamente se configuran al inicio de los ensayos, es decir, no se conmutan durante una medida, sino antes de empezarla y una vez terminada, por lo que el posible ruido que pudieran generar no afecta a los elementos analógicos mientras se mide. De este modo, no se perturban las señales a lo largo de un proceso de medida.

Para simplificar el sistema, se ha optado por unir las masas en un solo punto, ya que aislar galvánicamente ambos circuitos resultaría de una complejidad y coste demasiado elevados. Para que la unión de las masas no suponga un problema de generación de bucles de tierra, se deben tomar ciertas consideraciones. Un bucle de tierra puede darse cuando dos sub-circuitos en una misma placa comparten la misma masa. Puede suponer un problema si el retorno de sus señales dispone de diversos caminos y alguno de ellos implica un camino de retorno por zonas de masa del otro sub-circuito. En este diseño, puede generar problemas el retorno de las señales digitales, que son las más susceptibles de contener algunos niveles de ruido, si circulan por zonas de masa cercanas a los circuitos analógicos que puedan perturbar sus señales. Para minimizar estos sucesos, se integran planos de masa independientes, como se puede observar en la figura 17. Existe un único punto de unión entre el plano de masa analógico y el plano de masa digital, en la parte inferior, por ser el punto más cercano a las fuentes de alimentación.

Las partes metálicas conectadas a cualquier circuito o componente que no se apantallen adecuadamente pueden actuar como antena receptora de radiación electromagnética o de emisor de esta radiación. Para minimizar estos efectos, la mayoría de componentes que se han incluido en este circuito son dispositivos montaje superficial (SMT, del inglés Surface Mount Technology), excepto los conectores, que son terminales de agujero pasante (THT, del inglés Through-Hole Technology).

Debido al alto número de componentes y a la complejidad añadida de separar las partes analógica y digital del circuito, se decidió realizar un diseño de PCB (del inglés Printed Circuit Board) a cuatro capas, de este modo pudieron incluirse además planos de masa y alimentación de holgado tamaño. Las cuatro capas se distribuyen de la siguiente manera:

- **Capa Top.** Ruteado de pistas analógicas y digitales. Planos de masa analógico y digital distribuidos de acuerdo a la figura 17 en las zonas libres de pistas.
- **Capa Inner 1.** Planos de masa analógico y digital distribuidos de acuerdo a la figura 17
- **Capa Inner 2.** Planos de alimentación analógicos en la parte izquierda: en la parte superior se sitúa la alimentación positiva (+AVDD) y en la inferior la negativa (-AVDD). Plano de alimentación digital a la derecha (+3.3 DVDD). También se trazan 5 señales de conmutación de relés por falta de espacio en la capa Top.
- **Capa Bottom.** Ruteado de pistas analógicas y digitales. Planos de masa analógico y digital distribuidos de acuerdo a la figura 17 en las zonas libres de pistas. Misma configuración que la capa Top y Bottom.

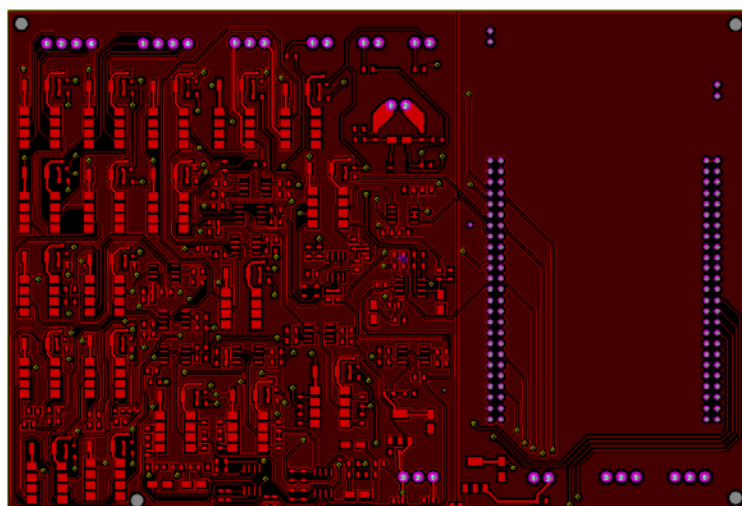


Figura 18. Capa Top.

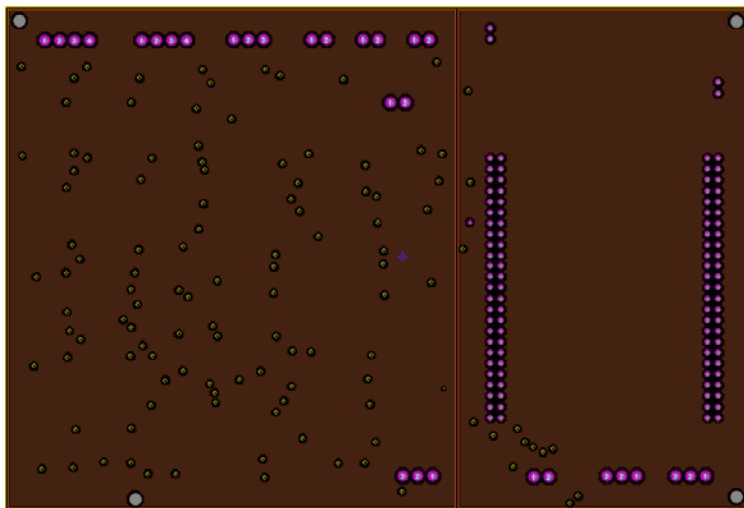


Figura 19. Capa Inner 1.

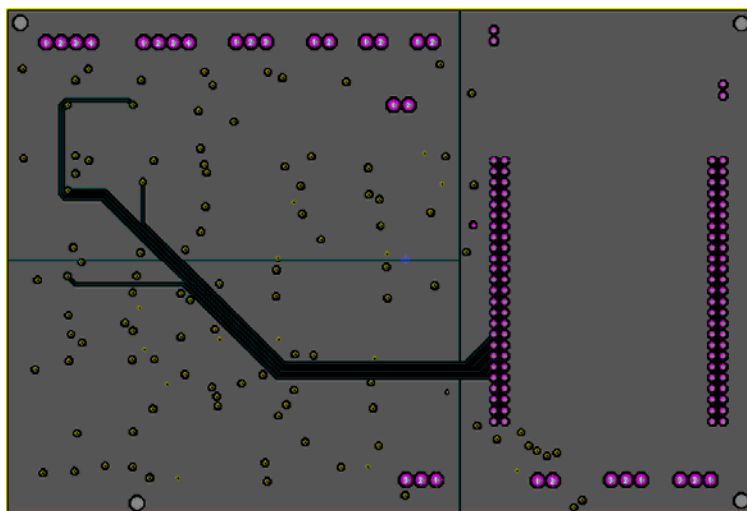


Figura 20. Capa Inner 2.

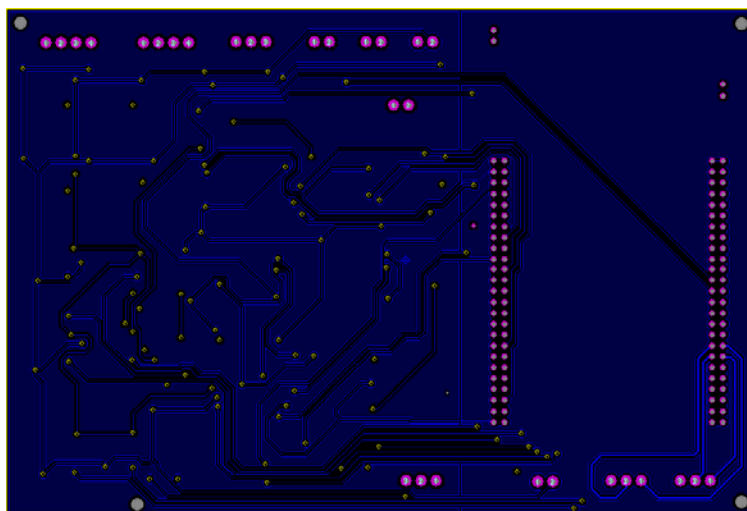


Figura 20. Capa Bottom.

Otras consideraciones adicionales a parte del diseño de la placa del equipo electrónico se han tenido en cuenta a la hora de gestionar el ruido. La protección de las señales desde los electrodos hasta los conectores del equipo electrónico es también de suma importancia. Por ello, todos los cables utilizados desde los electrodos hasta el equipo disponen de una pantalla que se conecta al chasis metálico del equipo. El chasis, a su vez, está conectado a la tierra de la instalación.

4.4 Descripción del software del equipo

Para la programación del microcontrolador se utilizó la herramienta de desarrollo CoIDE, de la plataforma CooCox. Se trata de un entorno de desarrollo de código abierto y gratuito basado en Eclipse. El CoIDE se centra en microcontroladores basados en varias familias de ARM Cortex, como el utilizado en este diseño, y está enfocada al desarrollo de sistemas embebidos. La placa de desarrollo utilizada (STM32F3DISCOVERY) integra un chip para la depuración del código a través de un conector mini-USB que permite conectarlo con la herramienta de programación CoIDE, la cual integra un compilador y un programador y que permite escribir el código en lenguaje C.

4.4.1 Descripción general del código del microcontrolador

Para la descripción del código implementado en el microcontrolador son necesarios tres diagramas de flujo simplificados (figura 22). Uno describe el bloque del programa principal y los otros dos describen las dos interrupciones principales, la interrupción por comunicación de la USART y la interrupción por conversión del ADC1.

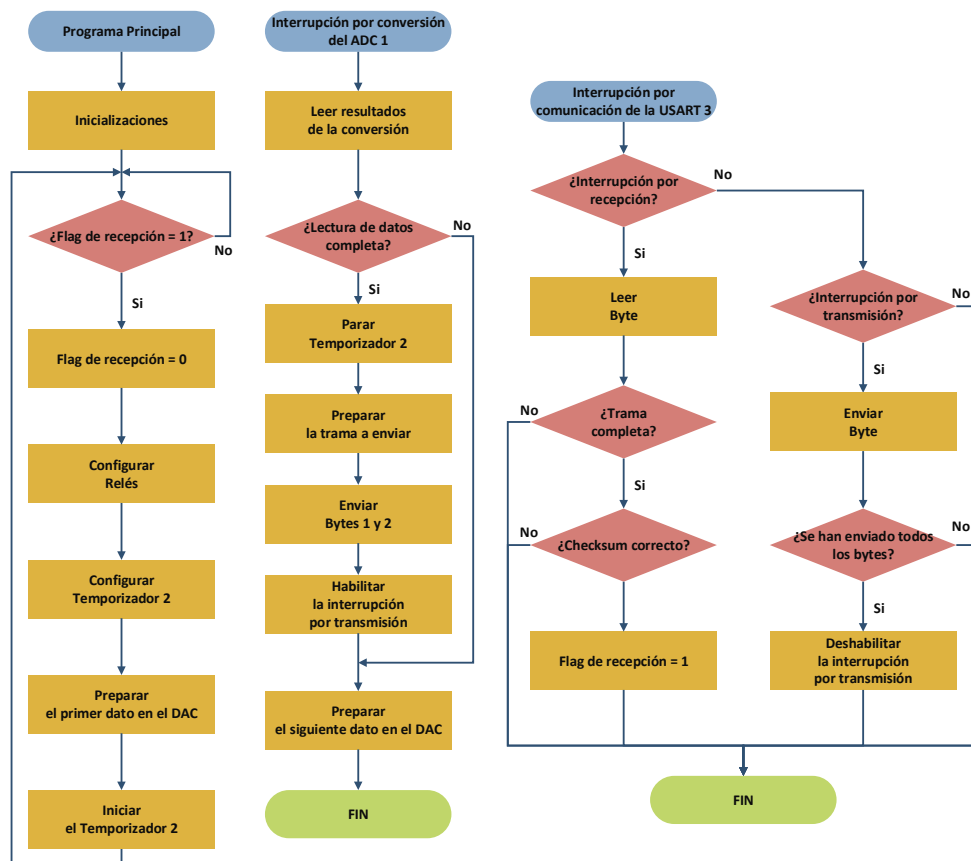


Figura 22. Flujogramas simplificados del programa del microcontrolador.

Al ejecutar el programa, en primer lugar, se incluyen las librerías necesarias (entrada / salida, reloj, temporizador, DAC, ADC, USART, etc.). Después se definen constantes, funciones y por último las variables.

El bucle del programa principal es el encargado de gestionar el programa del microcontrolador. De este modo, se ejecutan varias funciones de configuración e inicialización de los periféricos. En primer lugar, se configuran las líneas digitales para la conmutación de los relés. En segundo lugar, se configuran el DAC y los ADCs. Tras estos, se configura el temporizador 2 y la USART 3. Y por último se configuran las interrupciones de recepción, transmisión y de conversión del ADC1.

Las líneas de control de los relés se habilitan una a una, pero todas de manera análoga. Para ello se comienza por habilitar la señal de reloj para los puertos de entrada / salida que se utilizan, en este caso para los puertos A, B, C y D. Después se utiliza la misma estructura para la configuración de cada línea, así se configura la velocidad del pin en 50 Mhz, el modo en pin de salida y el modo de funcionamiento en push / pull sin resistencia. Después se inicializa pin a pin mediante la dicha estructura, actualizando el campo que identifica el pin correspondiente.

Después se configura el DAC. Para ello se comienza por habilitar la señal de reloj de puerto A, pues el canal 1 utiliza el pin PA4 y el canal 2 el pin PA5, y se configuran de manera análoga como se hace con las líneas de control de los relés: modo de trabajo analógico, sin resistencia de push / pull y velocidad del pin 50 MHz. Se continúa por activar la señal de reloj del DAC e inicializar los canales con los mismos parámetros: sin señal de disparo, sin generación de señal de ruido y se habilita el búfer de salida. Finalmente se habilitan ambos canales para la conversión.

Luego se configuran los ADCs. Como se ha explicado en la sección de Conversión analógico-digital del apartado 4.3.1, el μC dispone de 4 ADCs que funcionan por pares (ADC1 y ADC2 / ADC3 y ADC4) y por ello también se configuran por pares. En primer lugar, se configuran el par formado por el ADC1 y el ADC2. Para ello se selecciona y activa la fuente de la señal de reloj. Luego se configuran las líneas del ADC1 (PC1 y PC2) del mismo modo que los del DAC. Se procede entonces a inicializar el ADC1: se activa su regulador de tensión (se debe esperar mínimo 10 μs para su activación), se selecciona el modo de trabajo en diferencial y se realiza la calibración. Se configuran los parámetros generales (modo independiente, señal de reloj asíncrona, sin acceso al controlador DMA y el retardo entre dos fases de muestreo en el modo dual a 0) y las propiedades específicas (modo de conversión continua desactivado (ya que se dispara con el temporizador 2), resolución de 12 bits, canal de disparo externo 11 por evento de actualización del TIM2, modo de disparo por flanco de subida, almacenamiento de datos con justificación a derechas y se habilita un único canal para la conversión). Con el ADC2 se procede de la misma manera con las líneas PB2 y PC5. Por último, se configuran los tiempos de muestreo para los canales 7 y 8 del ADC1 y 11 y 12 del ADC2. Finalmente se habilitan los convertidores ADC1 y ADC2, se espera a que estén listos y se habilita la conversión. Con el par formado por el ADC3 y el ADC4 se realizan los mismos pasos que con el ADC1 y 2 únicamente con el ADC3, que también trabaja en modo diferencial, así tras realizar la configuración se utilizan sus canales 12 y 13. Con el ADC4 que trabaja en modo simple (utiliza el pin PB12) hay algunas diferencias: la calibración, obviamente, se realiza en modo simple y se utiliza el canal de disparo externo 7 por evento de actualización del TIM2.

Lo siguiente que se hace es configurar el temporizador 2. Se empieza por habilitar su señal de reloj y luego se especifican los valores para establecer la temporización. El intervalo de tiempo se establece mediante el registro de auto-recarga (TIM2_ARR) y el pre-escalar (TIM2_PSC), de acuerdo con la ecuación 1. De este modo se establece el pre-escalar a 71 para que la cuenta del TIM2 se incremente cada 1 μs mientras que el valor de auto-recarga, como depende del tipo de medida, se establecerá cuando se recibe la trama de ensayo. Se configura el reloj en

modo de cuenta ascendente y la señal de disparo externo por evento de actualización. Se deja el temporizador parado, para que pueda activarse en el código cuando sea necesario.

A continuación, se configura la USART3. Primero se habilita su señal de reloj y se configuran las líneas de transmisión (PC10) y recepción (PC11). Luego se configuran los parámetros de la USART: baudrate de 57600, 8 bits, 1 stop bit, sin paridad ni control de flujo hardware y se habilitan los modos transmisión y recepción.

Por último, se configuran las interrupciones. Se establece un único nivel de prioridades (sin subniveles), en el que la interrupción por conversión del ADC1 tendrá el nivel de prioridad más alto, seguido de la interrupción de la USART. A continuación, se borra el flag de final de conversión del ADC1 y se habilitan las tres interrupciones:

- Interrupción del ADC1 por fin de conversión.
- Interrupción de la USART3 por recepción de un dato.
- Interrupción de la USART3 por transmisión de un dato.

Entonces se configuran todas las líneas de los relés en reposo. En el siguiente bloque del programa queda en espera de que alguna interrupción se active. Mientras que desde la aplicación Matlab no se ejecute ninguna orden de inicio de medida el microcontrolador permanece a la espera.

En caso de que la interrupción que se produzca sea por recepción (de datos a través de la USART desde la aplicación Matlab, que se desarrolla en el apartado 4.5.), la primera condición del tercer flujograma de la figura 22 se evalúa como un sí. En este punto, se recibe un byte, se ordena en la trama y se comprueba si con él la trama está completa. En caso negativo se espera a que haya una nueva interrupción por recepción. Se van almacenando bytes en el orden de trama hasta que se recibe la trama completa. Esta trama recibida está formada por 2 bytes de inicio de trama, una cabecera con información del ensayo y del estado de los relés, y los datos de la señal a aplicar (el protocolo de comunicación se detalla en la sección 4.4.3.). Así una vez se recibe la trama completa se comprueba el checksum, y si es correcto el flag de trama recibida se pone a 1.

Cuando flag de trama recibida es igual a 1, la evaluación de la primera condición en el bucle del primer flujograma de la figura 22, deja de ser no. Entonces se vuelve a poner el flag de trama recibida a 0 para poder detectar los futuros eventos de recepción, se detiene el temporizador y se extrae la información de la trama recibida, que incluye los detalles del ensayo que se debe realizar. Se configuran los relés y se establece el tiempo de muestreo del temporizador 2, con

parte de la información recibida. Se prepara el primer dato que se debe enviarse al DAC para que esté listo en cuanto se inicie el temporizador. Por último, se inicializan los contadores de muestras antes de iniciar el temporizador 2.

Con cada disparo del temporizador 2 arranca una conversión del DAC y de los ADCs, por lo que se activa la interrupción por conversión del ADC1. En el código de esta interrupción primero se espera consecutivamente a que terminen las conversiones y se almacenen los datos en el ADC1, ADC2, ADC3 y ADC4. Entonces se incrementa el contador y se comprueba si se han completado todas las muestras. En caso negativo se prepara el siguiente dato que envía el DAC (con la siguiente señal del temporizador 2) antes de salir de la interrupción y se espera a la siguiente interrupción por conversión del ADC1. Cuando se han convertido todas las muestras lo primero que se hace es detener el temporizador 2, para que no salten más interrupciones por conversión. Tras esto se configuran los relés en la configuración especificada de finalización de ensayo. Con los datos que se han ido almacenando de los ADCs, se prepara la trama que hay que enviar por la USART3 a la aplicación Matlab: se empieza por enviar los 2 bytes de inicio de trama, luego se prepara la cabecera del ensayo y se inicializan a cero los contadores de transmisión antes de habilitar la interrupción por transmisión. En este punto se prepara el siguiente valor del DAC y se espera a una nueva interrupción.

Cuando se habilita la interrupción por transmisión por la USART automáticamente se envían los datos, entonces en el tercer flujograma de la figura 22 se evalúa la primera condición, como es por transmisión la secuencia sigue por el ramal de la derecha, donde se comprueba que la interrupción es por transmisión. En este punto envía un byte según el orden de trama (que se detalla en la sección 4.4.3.) y se comprueba si es el último. En caso negativo se sale de la interrupción a la espera de la siguiente transmisión. Cuando se envía el último byte (el checksum), se inicializan los contadores de transmisión y se deshabilita la interrupción por transmisión.

Entonces el programa queda en estado de reposo de nuevo, hasta que desde la aplicación Matlab se ejecute una orden de inicio de medida.

4.4.2 Protocolo de comunicación

La comunicación con el PC se implementa con un cable USB que se conecta al equipo electrónico. Dentro del dispositivo hay un convertidor del fabricante FTDI, modelo C232HD-

DDHSP-0. Es un cable convertidor de USB 2.0 de alta velocidad a protocolo UART que incorpora el dispositivo de interfaz FT232H para gestionar protocolos y señales USB. Este cable proporciona un recurso rápido y simple para la conexión de dispositivos que utilicen interfaces de señales digitales de 3,3 V a USB. El cable C232HD UART contiene un pequeño circuito electrónico basado en el dispositivo FT232H, encapsulado en un conector USB en un extremo del cable. La interfaz digital de este cable está formada por un conjunto de 10 cables individuales, que utilizan señales digitales de 3,3 V. El cable tiene una longitud de 1,8 m y puede soportar velocidades de transferencia de hasta 12 Mbaud.

Con la instalación de los drivers que proporciona el fabricante el sistema operativo reconoce el dispositivo como un puerto de comunicación virtual, que permite su utilización en la aplicación Matlab para comunicar el PC y el equipo electrónico.

En el diagrama de la figura 3 se muestra la configuración del convertidor USB / USART, donde las líneas D+ y D- son las líneas de datos que van al conector USB. La configuración de la comunicación con el PC tiene los siguientes parámetros:

- 8 bits de datos.
- Sin bit de paridad.
- 1 bit de stop.
- Velocidad de comunicación de 57600.

Proceso de recepción de datos.

El proceso de comunicación entre la aplicación Matlab y el equipo electrónico está basado en el intercambio de tramas preestablecidas. De este modo, para iniciar un ensayo el PC debe enviarle una trama al μC con la información correspondiente. En cuanto el ensayo termina es el μC el que le responde con otra trama en la que se incluye la información del ensayo y los datos correspondientes a las señales de tensión y corriente medidas.

El formato de tramas de recepción es fijo para las técnicas implementadas, en la tabla 3 se especifica dicho formato.

Tabla 3. Configuración trama de recepción.

		1	2	3	4	5	6
Bytes de inicio		Número de datos		Técnica	Configuración de Relés (ensayo)		
170	240	H	L		rb1	rb2	rb3

7	8	9	10	11	12	...	n
Configuración de Relés (post)			Bytes de temporización			DATOS	checksum
rb1post	rb2post	rb3post	H	M	L		

- Los bytes de inicio se utilizan para identificar el comienzo de una comunicación, de este modo siempre se comprueba que se envían los valores 170 y 240 al principio de cualquier transferencia de datos.
- A continuación, se establece la cabecera, que tiene una longitud de 12 bytes. Primero, se dispone de dos bytes (parte alta: H; parte baja: L) para indicar el número de datos que se van a transmitir para describir la señal que se debe aplicar a la celda electroquímica. En el byte identificador de técnica se dispone de 3 opciones para identificar el tipo de ensayo: 1, corresponde a un ensayo de potenciometría; 2, corresponde a un ensayo de voltametría; 3, corresponde a un ensayo de excitación de la muestra (una modalidad de ensayo voltamétrico). En la tabla 4 se especifica la información contenida en los 6 bytes de configuración de relés, los tres primeros (ensayo) indican la configuración que debe implementarse para realizar el ensayo, y los tres últimos (post) la configuración a implementar una vez se termina el ensayo. Para cerrar la cabecera se dispone de tres bytes para especificar la duración del ensayo (parte alta: H; parte media: M; parte baja: L). La información contenida en los bytes de configuración de relés es la siguiente:
 - Conexión del electrodo de referencia. Los bits 6 (b6) y 7 (b7) del byte 1 (B1) se utilizan para configurar como se conecta el electrodo de referencia al potencióstato. Se utilizan dos modos de conexión:
 - B1b7 = B1b6 = 0. RE conectado normalmente al potencióstato.
 - B1b7 = 0; B1b6 = 1. Esta configuración se utiliza en el modo potenciometría, quedando el RE al aire y la entrada positiva del amplificador operacional a masa, para evitar que oscile y sea una posible fuente de ruido.

- Medida a 2 o 3 electrodos. El bit 5 del byte 1 se utiliza para configurar el potencióstato:
 - B1b5 = 0. Medida a 2 electrodos.
 - B1b5 = 1. Medida a 3 electrodos.
- Medida de la tensión en el CE. El bit 4 del byte 1 se utiliza para habilitar la medida de la tensión en el CE:
 - B1b4 = 0. Medida de tensión del CE deshabilitada.
 - B1b4 = 1. Medida de tensión del CE habilitada.
- Escalas de tensión. Los bits 0 a 3 del byte 1 se utilizan para configurar las escalas de tensión tanto del DAC como de los ADCs y se conmutan conjuntamente por software:
 - B1b3 = B1b2 = B1b1 = B1b0 = 0. Se configura la escala 2 V.
 - B1b3 = B1b2 = B1b1 = B1b0 = 1. Se selecciona la escala de 200 mV.
- Selección del electrodo de trabajo. Los bits 4 a 7 del byte 2 y el bit 3 del byte 3 se utilizan para seleccionar el electrodo de trabajo que se utiliza en el presente ensayo. Ver tabla 2.
- Selección de la escala de corriente. Los bits 0 a 3 del byte 2 se utilizan para seleccionar la resistencia de shunt que establece la escala de corriente que se desea utilizar en el ensayo. Ver tabla 1.
- Conexión del contraelectrodo. El bit 1 del byte 3 se utiliza para configurar la conexión del CE dependiendo del tipo de ensayo:
 - B3b1 = 0. El CE está conectado normalmente a la celda electroquímica, de este modo se pueden realizar ensayos de voltametría.
 - B3b1 = 1. Se conecta el CE a la masa del sistema, de modo que la masa y el contraelectrodo se ponen al mismo nivel de potencial, lo que permite realizar una medida potenciométrica al medir la tensión en el electrodo de trabajo referida a ese nivel de potencial.
- Configuración de la técnica. El bit 0 del relé 3 se utiliza para establecer la técnica que se va a utilizar en el ensayo:
 - B3b0 = 0. Medida de voltametría.
 - B3b0 = 1. Medida de potenciometría.
- Tras la cabecera se envían los datos que describen la evolución temporal de la señal que se debe aplicar a la celda electroquímica. Cada dato se representa con dos bytes (porque el DAC tiene una resolución de 12 bits) y habrá tantos datos como los

indicados por los dos bytes de la cabecera. El máximo número de valores que pueden describir la señal a aplicar es de 1000 puntos, por tanto, este campo tendrá una longitud máxima de 2000 bytes.

- Se cierra el envío con un byte de checksum. para detectar errores en la transmisión o recepción de los datos, se comprueba que no hay discrepancia entre la suma de todos los datos al inicio y al final del proceso, en este caso, el de comunicación.

Tabla 4. Bytes de configuración de los relés.

b7		...		RB1				...		b0
RLRE-	RLRE-	RL2E3E	RLCE-	RLSCALECE	RLSCALEI	RLSCALEV	RLSCALEDAC			
b7		...		RB2				...		b0
RLWE4	RLWE3	RLWE2	RLWE1	RLSHUNT4	RLSHUNT3	RLSHUNT2	RLSHUNT1			
b7		...		RB3				...		b0
-	-	-	-	-	RLWECONNECT	RLCECONNECT	RLPOT			

Proceso de transmisión de datos.

El formato de tramas de transmisión también es fijo para las técnicas implementadas, en la tabla 5 se especifica su formato, se construyen de manera análoga a las tramas de recepción.

Tabla 5. Configuración trama de transmisión.

		1	2	3		
Bytes de inicio		Número de datos		Técnica	Temperatura	
170	240	H	L		H	L
...		n	
ADC V		ADC I		ADC CE	checksum	

- Igual que en la trama de recepción, se usan 2 bytes de inicio con los valores 170 y 240.
- A continuación, se establece una cabecera de 3 bytes, que coinciden en formato con la trama de recepción: 2 bytes de número de datos y un byte de identificación de la técnica.
- Tras la cabecera se envían los datos:

- 2 bytes (parte alta: H; parte baja: L) con el valor de temperatura que se ha medido por el ADC4.
- Medida en el ADC1. Se corresponde con la medida de la evolución temporal de la tensión en el WE respecto al RE. Se envía el mismo número de datos que se han especificado en la cabecera de la trama de recepción.
- Medida en el ADC2. Si el ensayo es de voltametría los datos se corresponden con la evolución temporal de la corriente que pasa por el WE, pero si es un ensayo de potenciometría los datos corresponden a la evolución temporal del potencial del WE.
- Medida en el ADC3. Los datos se corresponden con la evolución temporal de la tensión en el CE, en caso de que no esté habilitada la aplicación Matlab no tendrá en consideración estos datos.
- Del mismo modo, se cierra el envío con un byte de checksum.

4.4.3 Configuración de las medidas

Una vez el μC ha procesado la trama, que le ha enviado la aplicación Matlab, se realizan algunas operaciones de configuración del ensayo antes de comenzar con la generación y muestreo de señales.

Configuración de la técnica.

Para seleccionar entre las técnicas disponibles se disponen de varios relés que direccionan las señales analógicas a través las pistas del PCB que se ha diseñado. Las líneas que controlan los relés que permiten dirigir las señales son 5: PD12 controla el relé 13; PC3 controla el relé 6; PB4 controla el relé 8; PD7 controla el relé 14; PD14 controla el relé 7. Antes de iniciar una medida el μC debe establecer la posición de conmutación de cada uno de ellos, las configuraciones concretas se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Tabla de configuración de relés de técnica.

Técnica	PD12	PC3	PB4	PD7	PD14
Voltametría	OFF	ON / OFF	OFF	OFF	OFF
Potenciometría	ON	OFF	ON	OFF	ON

En caso de que se realice una medida de voltametría, la línea que controla el relé 6 puede tomar dos valores, dependiendo de si la medida se realiza a dos o tres electrodos:

- PC3 en modo OFF: medida a 2 electrodos.
- PC3 en modo ON: medida a 3 electrodos.

Además, también en medidas de voltametría, se implementa medida de la tensión en el CE. La línea que controla el relé 5 es la línea PA1, y se configura de la siguiente manera:

- PA1 en modo OFF: no hay medida de tensión en el CE.
- PA1 en modo ON: se habilita la medida de tensión en el CE.

Selección de la escala de tensión.

Se implementan dos escalas de tensión para la generación y muestreo de señales, que conmutan los circuitos de adaptación de señal del DAC y los ADCs. Están controladas por cuatro líneas de control: PA3 controla el relé 1; PA2 controla el relé 2; PB1 controla el relé 3; PB14 controla el relé 4. Antes de iniciar una medida el μ C debe establecer la posición de conmutación de cada uno de ellos, las configuraciones concretas se muestran en la tabla 7. Para mantener la concordancia entre niveles de tensión, se conmutan las cuatro señales simultáneamente desde la aplicación Matlab.

Tabla 7. Tabla de selección de la escala de tensión.

Escala de tensión	PA3	PA2	PB1	PB14
[+2 V; -2 V]	OFF	OFF	OFF	OFF
[+200 mV; -200 mV]	ON	ON	ON	ON

Selección de la escala de corriente.

Para dotar al equipo de mayor precisión a la hora de realizar las medidas, se integra en el circuito de medida de la corriente una red de resistencias que permite seleccionar entre las 8 resistencias de shunt disponibles. Se usan cuatro relés mandados por cuatro líneas de control: PD6 controla el relé 9; PD4 controla el relé 10; PD2 controla el relé 11; PD0 controla el relé 12. La tabla 8 recoge el estado de las líneas de control para la selección de cada resistencia.

Tabla 8. Tabla de selección de las resistencias de shunt.

R_{SHUNT}	PD6	PD4	PD2	PD0
R48	ON	ON	ON	OFF
R49	ON	ON	OFF	OFF
R50	ON	OFF	ON	OFF
R51	ON	OFF	OFF	OFF
R52	OFF	ON	OFF	ON
R53	OFF	ON	OFF	OFF
R54	OFF	OFF	OFF	ON
R55 + R59	OFF	OFF	OFF	OFF

La escala de corriente se calcula dividiendo la resistencia de shunt seleccionada por el fondo de escala de tensión elegido (ver ecuaciones 23 y 24).

Selección del electrodo de trabajo.

Se han implementado 8 canales multiplexados para poder utilizar hasta 8 electrodos de trabajo. La red de multiplexación está formada por 5 relés, que se controlan mediante 5 líneas de salida del μC : PB11 controla el relé 15; PB13 controla el relé 16; PB15 controla el relé 17; PD9 controla el relé 18; PD11 controla el relé 19. Ver tabla 9.

Tabla 9. Tabla de selección del electrodo de trabajo.

WE	PB11	PB13	PB15	PD9	PD11
WE1	ON	ON	ON	OFF	ON
WE2	ON	ON	OFF	OFF	ON
WE3	ON	OFF	ON	OFF	ON
WE4	ON	OFF	OFF	OFF	ON
WE5	OFF	ON	OFF	ON	ON
WE6	OFF	ON	OFF	OFF	ON
WE7	OFF	OFF	OFF	ON	ON
WE8	OFF	OFF	OFF	OFF	ON
NINGUNO	OFF	OFF	OFF	OFF	OFF

4.5 Aplicación Matlab para PC

Se ha utilizado Matlab, en su versión 7.12.0 (R2011a), de la empresa desarrolladora Mathworks como herramienta de desarrollo de la aplicación de PC para controlar el equipo electrónico. Se trata de, como dice la misma empresa, una plataforma optimizada para resolver problemas de ingeniería y científicos que utiliza un lenguaje propio de programación de alto nivel. Una amplia librería de herramientas preinstaladas permite trabajar con algoritmos específicos para multitud de aplicaciones. Además de ser una potente y conocida herramienta matemática, Matlab incorpora un entorno de desarrollo de interfaces gráficas de usuario que permite diseñar aplicaciones personalizadas mediante el editor de diseño GUIDE. Los cuadros de diálogo, controles de interfaz de usuario (como botones y controles deslizantes) y contenedores (como paneles y grupos de botones) permiten el manejo y visualización de los datos y la obtención de información a partir de ellos.

Se ha elegido esta herramienta de desarrollo debido a que es una potente plataforma para el manejo de matrices. La aplicación que se ha diseñado genera matrices con gran cantidad de datos, los cuales necesitan de un posterior análisis, para su interpretación estadística, como se ha discutido en la introducción. Es por ello que Matlab representa una excelente elección para el tratamiento estadístico de estos datos, gracias a la multitud de herramientas preinstaladas que dispone, y permitirá integrar las futuras aplicaciones de análisis que se desarrollen al programa aquí presentado.

La aplicación consta de 3 bloques principales:

- Módulo de configuración.
- Módulo de generación y carga de ensayos.
- Módulo principal.

4.5.1 Módulo de configuración

Este módulo permite configurar algunos parámetros del sistema, así como realizar las tareas de calibración de los ADCs y el DAC. El aspecto de la ventana de configuración se muestra en la figura 23. Este formulario es accesible al pulsar el botón “SETTINGS” de la ventana principal de la aplicación.

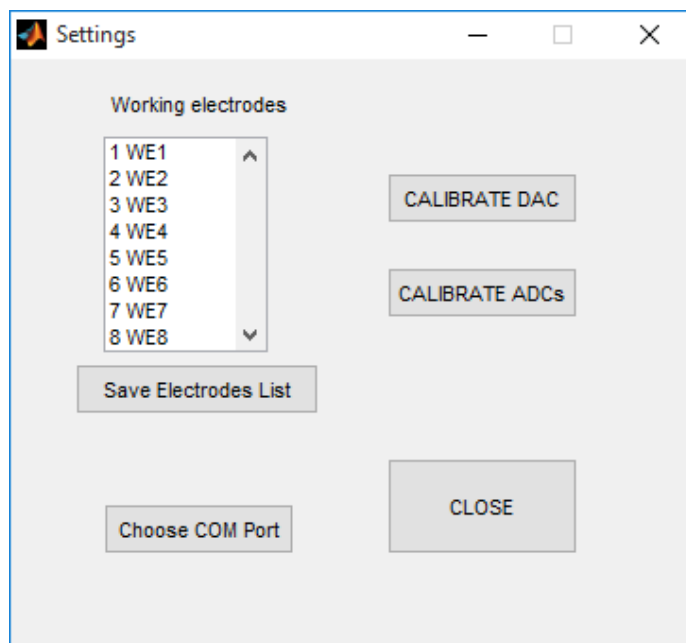


Figura 23. Ventana de configuración del programa Matlab.

Selección del puerto de comunicación.

La comunicación entre el PC y el equipo electrónico se realiza mediante el convertidor USB-USART. De este modo el PC interpreta que el puerto USB al que se conecta el convertidor se comporta como un puerto de comunicación serie (COM). Para asignar el puerto correspondiente se proporciona una lista de los puertos COM disponibles en el PC para que el usuario seleccione cual es el corresponde al equipo electrónico.

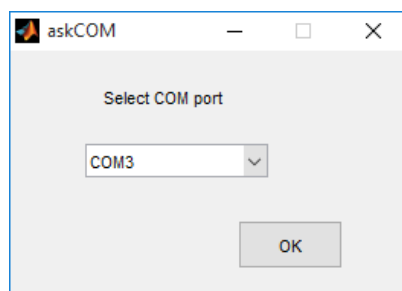


Figura 24. Ventana de configuración del programa Matlab.

En caso de que sólo haya un puerto COM disponible el programa principal lo selecciona directamente en el arranque. Si hay dos o más se activa la ventana de selección de la figura 24. Esta ventana de selección es accesible también desde el botón “Choose COM Port” de la ventana de configuración.

Configuración de los electrodos de trabajo.

Los 8 electrodos de trabajo implementados en el equipo electrónico están disponibles tanto para la técnica de voltametría como de potenciometría. En el frontal del equipo se han instalado dos conectores DIN de 6 polos con bloqueo, en la carátula del dispositivo se indica cómo se distribuyen los polos (ver sección 4.6).

La lista electrodos se cargan del archivo “WorkingElectrodes.set”, alojado en el directorio raíz de la aplicación. Este archivo contiene la posición y el nombre de cada uno de los 8 canales disponibles. Si se desean modificar los nombres de los electrodos se puede hacer únicamente al editar la lista “Working Electrodes” de la figura 23, al pulsar el botón “Save Electrodes List” se actualiza el archivo “WorkingElectrodes.set”.

Calibración del equipo

Como se ha mencionado en la sección 4.3.3., el proceso de conversión de los convertidores y los procesos de adaptación de señal introducen de algún modo desviaciones en los niveles de tensión teóricos de las señales que se han de aplicar a la celda electroquímica. La principal fuente de estas divergencias está causada por la tolerancia de las resistencias (1 %) y el offset de los amplificadores operacionales. Esto hace que sea difícil garantizar que el hardware proporcione una exactitud muy elevada en las tensiones a aplicar. Por ello se ha implementado una calibración por software de las dos escalas de tensión, tanto en la conversión D/A como en la A/D, ya que son procesos análogos en los que intervienen el mismo tipo de dispositivos hardware.

Para la calibración se han construido dos conectores en los que se ha integrado una red de resistencias del mismo valor que las resistencias. De este modo pueden calibrarse el DAC y los ADCs como se explica a continuación.

Calibración de la conversión D/A.

Al pulsar el botón “CALIBRATE DAC” de la ventana de configuración aparece el formulario para la calibración del DAC que se muestra en la figura 25.

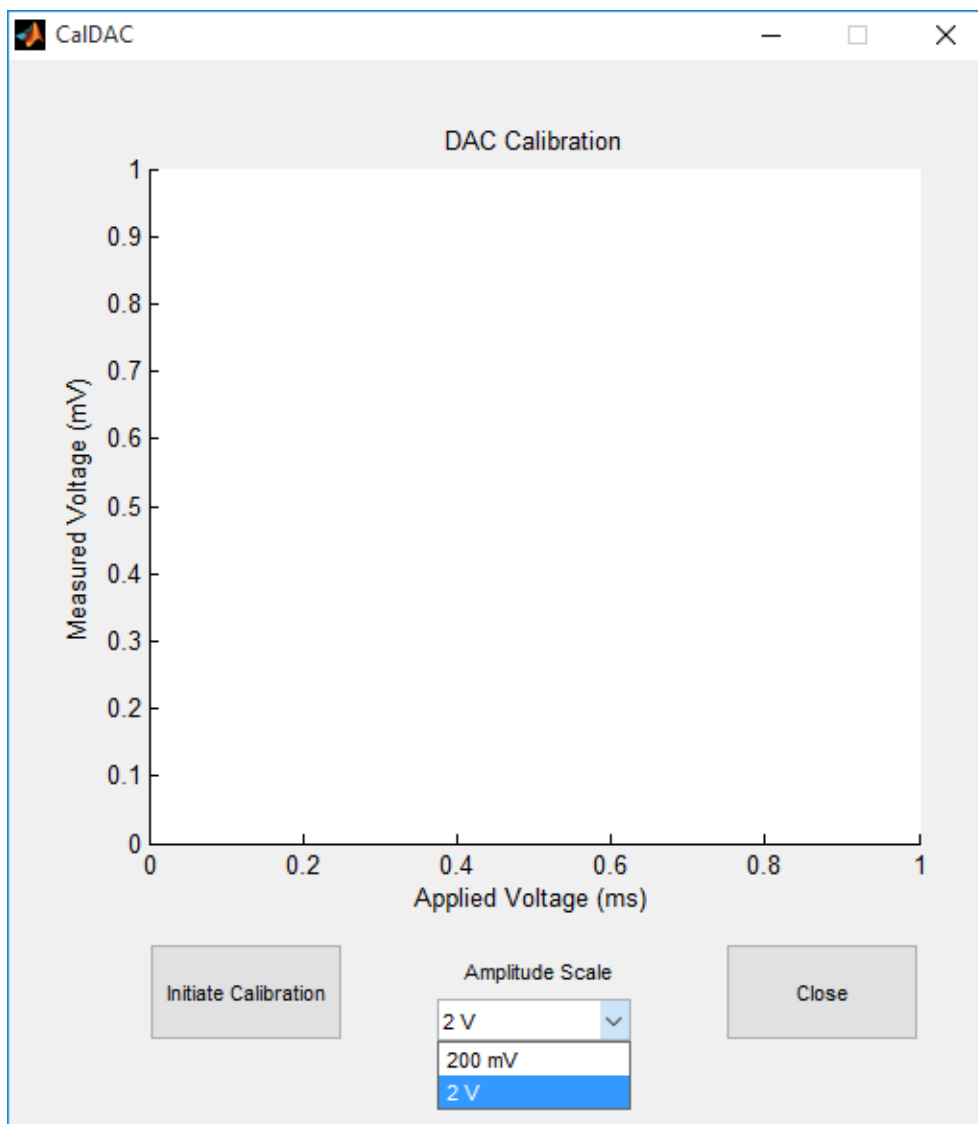


Figura 25. Ventana de calibración del DAC.

Para realizar la calibración del DAC se necesita disponer una resistencia de calibración entre el WE y el CE. El valor de dicha resistencia debe coincidir con la menor de las resistencias de shunt para permitir el mayor paso de corriente posible, en este caso ese valor es de 20 Ω . Para ello se utiliza el conector de calibración 1, que tiene una resistencia de 20 Ω entre el WE1 y el CE. La finalidad es evaluar la tensión en bornes de esa resistencia cuando se realiza un ensayo a dos electrodos utilizando una resistencia de shunt del mismo valor, de modo que se conecta un multímetro en sus bornes (a los que se le han conectado unos pequeños cables para facilitar la conexión, ver figura 26) para medir la tensión entre el WE y el CE.



Figura 26. Conexión del multímetro para la calibración del DAC.

Se ha implementado la calibración de las dos escalas de tensión, que se selecciona en el menú desplegable “Amplitude Scale”, que ofrece ambas opciones: 2 V y 200 mV. Una vez seleccionada la escala de tensión se debe pulsar el botón “Initiate Calibration”. Al iniciarse el proceso aparece un cuadro de dialogo recordatorio con las instrucciones de cómo debe conectarse el conector de calibración y el multímetro, como el de la figura 27.

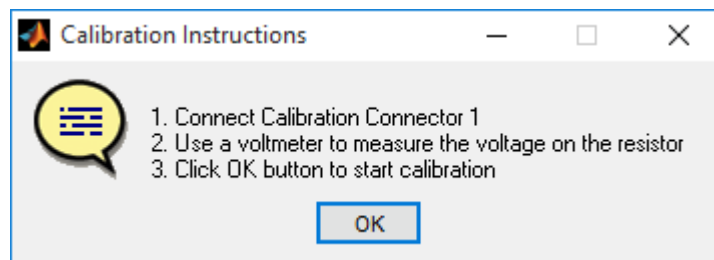


Figura 27. Cuadro de dialogo recordatorio para la calibración del DAC.

Al presionar OK inicia el procedimiento de calibración: la aplicación le envía al equipo electrónico una trama con información para que genere una señal constante cuyo valor teórico es 2100 mV y a la vez aparece un cuadro de diálogo en el que se le pide al usuario que introduzca la lectura del multímetro para ese valor. Al introducirlo, el código representa en el gráfico el valor digital frente al valor medido en un gráfico. La aplicación repite el proceso con 23 valores distribuidos por centenas entre 2100 mV y -2100 mV, para la escala de 2 V (2100, 1900, 1700, 1500, 1300, 1100, 900, 700, 500, 300, 100, 0, -100, -300, -500, -700, -900, -1100, -1300, -1500, -1700, -1900, -2100) y entre 210 mV y -210 mV para la escala de 200 mV (210, 190, 170, 150, 130, 110, 90, 70, 50, 30, 10, 0, -10, -30, -50, -70, -90, -110, -130, -150, -170, -190, -210). Se calibra para tensiones ligeramente por encima de los valores de tensión que se van a generar en el funcionamiento normal del equipo electrónico para que la calibración sea

más rigurosa en las tensiones de los límites establecidos para cada escala. En caso de que se aborte algún paso se cancela la calibración y debe reiniciarse el proceso. Cuando se termina con todos los valores se obtiene un gráfico relacionando el valor teórico que se escribe en el DAC y el valor real entre el WE y el CE. En el caso ideal, cada valor teórico debería generar una tensión real del mismo valor, pero en la práctica no ocurre así. Para corregir estas desviaciones el código calcula una regresión lineal simple por mínimos cuadrados con los 23 valores medidos, de lo que se obtiene una recta de regresión, cuya ecuación responde al formato siguiente:

$$y = A_{DAC} \cdot x - B_{DAC} \quad (28)$$

Donde:

- y es el valor real que se genera entre el WE y el CE.
- A_{DAC} es la pendiente de la recta de calibración.
- x es el valor teórico de la tensión a generar.
- B_{DAC} es la ordenada en el origen de la recta de calibración.

Los parámetros de pendiente y ordenada se almacenan en unos archivos de calibración ("Cal2Volts.cal" y "Cal200milliVolts.cal"), alojados en el directorio raíz de la aplicación. Cada vez que se genera una tensión, se aplica la ecuación 28 con los parámetros correspondientes a la escala de tensión.

Calibración de la conversión A/D.

Al pulsar el botón "CALIBRATE ADCs" de la ventana de configuración aparece el formulario para la calibración del ADC1, ADC2 y ADC3 que se muestra en la figura 28.

Cabe destacar que para poder realizar la calibración del ADC1, ADC2 y ADC3 es imprescindible haber llevado a cabo primero la calibración del DAC, ya que sin una generación correcta de los niveles de tensión a aplicar no se puede garantizar una conversión precisa de las señales medidas.

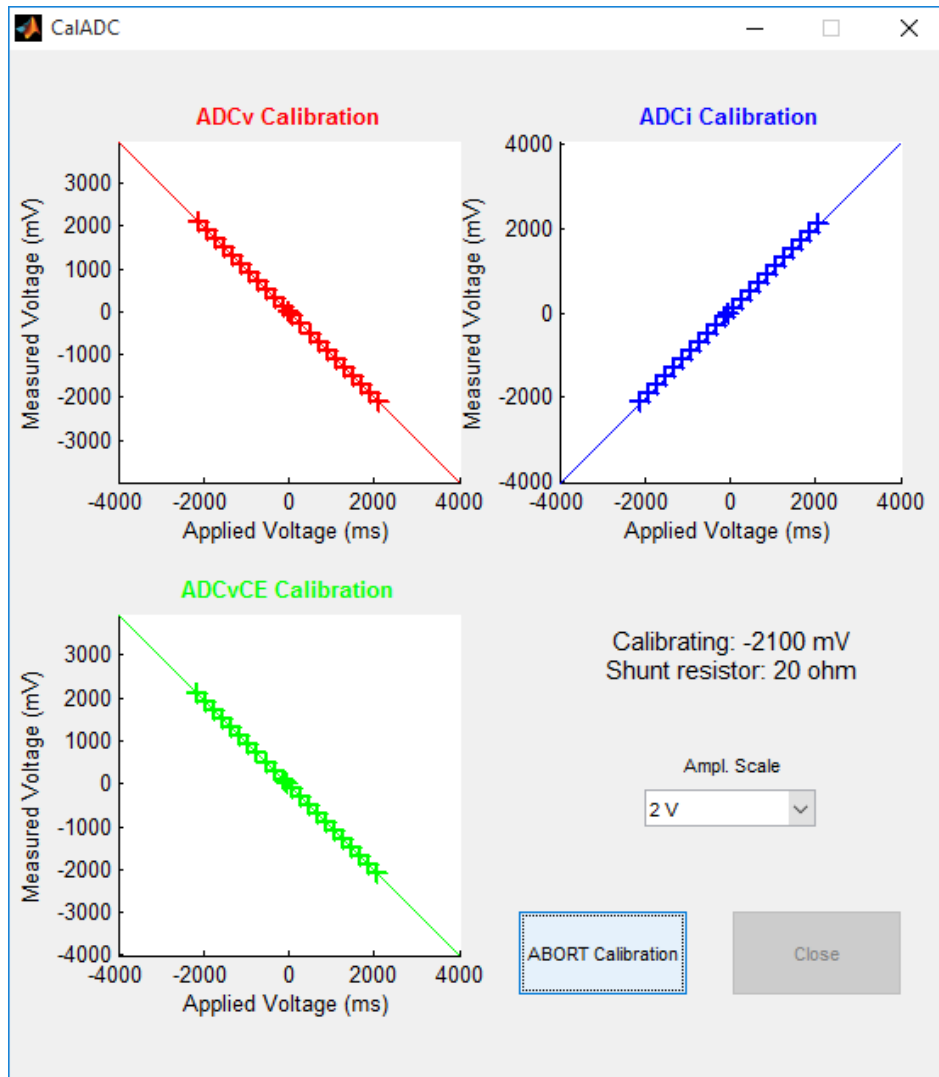


Figura 28. Ventana de calibración del ADC1, ADC2 y ADC3.

La calibración de estos tres ADCs se realiza para cada escala de corriente sucesivamente, de este modo se realizan 8 procedimientos de calibración para cada escala de tensión. De manera análoga al procedimiento de calibración del DAC, se utilizan los conectores de calibración 1 y 2, como se aprecia en la figura 26, pero en este caso no se requiere del uso del multímetro. Cada conector tiene una resistencia entre cada polo asignado a un WE y el CE, de la siguiente manera:

- Conector de calibración 1:
 - WE1: 20 Ω .
 - WE2: 200 Ω .
 - WE3: 2 k Ω .
 - WE4: 20 k Ω .

- Conector de calibración 2:
 - WE5: 200 kΩ.
 - WE6: 2 MΩ.
 - WE7: 20 MΩ.
 - WE8: 200 mΩ.

Al presionar el botón “Initiate Calibration” aparece un cuadro de dialogo recordatorio similar al que aparece en la calibración del DAC, con las instrucciones de cómo deben conectarse los conectores de calibración (ver figura 29).

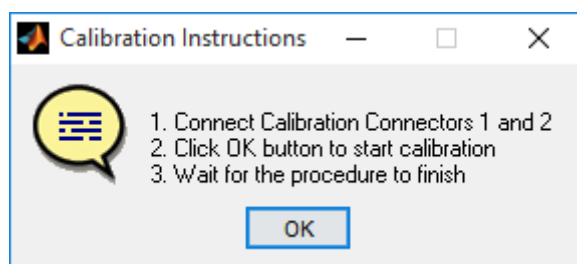


Figura 29. Cuadro de dialogo recordatorio para la calibración de los ADCs.

Al presionar OK inicia el procedimiento de calibración: la aplicación le envía al equipo electrónico una trama con información para que genere una señal constante cuyo valor analógico es de 2100 mV en el caso de la escala de tensión de 2 V (el procedimiento es análogo para la escala de tensión de 200 mV, con los valores de tensión generados divididos por 10). Esta tensión que se genera, teniendo en cuenta la calibración del DAC, se aplica al WE correspondiente (del 1 al 8) durante 500 ms y se muestrean las señales en los tres ADCs. Las señales muestreadas constan de 1000 valores (como máximo, ver sección 4.5.3), de los que la aplicación descarta los 100 primeros y los 100 últimos. De los 800 puntos restantes se calcula la media y se representan en los gráficos correspondientes los valores aplicados frente a los medidos. Se repite el proceso con 23 valores (2100, 1900, 1700, 1500, 1300, 1100, 900, 700, 500, 300, 100, 0, -100, -300, -500, -700, -900, -1100, -1300, -1500, -1700, -1900, -2100) y se calcula una regresión lineal simple por mínimos cuadrados con ellos (como puede verse en la figura 28), cuya ecuación responde al formato siguiente:

$$y = A_{ADCx} \cdot x - B_{ADCx} \quad (29)$$

Donde:

- y es el valor de tensión real procedente del circuito de control correspondiente del potencióstato (figura 11: $V(V_{re})$, $V(I_{we})$ y $V(V_{ce})$).
- A_{ADCx} es la pendiente de la recta de calibración (ADC_v , ADC_i y ADC_{ce}).
- X es el valor leído en el ADC correspondiente.
- B_{ADCx} es la ordenada en el origen de la recta de calibración (ADC_v , ADC_i y ADC_{ce}).

Este proceso se realiza para cada escala de corriente, de este modo, se generan un parámetro de pendiente y uno de ordenada en el origen por cada ADC para cada escala de corriente, en total 48 valores, que se almacenan en los mismos archivos de calibración (“Cal2Volts.cal” y “Cal200milliVolts.cal”), del directorio raíz de la aplicación. Cada vez que se muestrea una tensión, se aplica la ecuación 29 con los parámetros correspondientes a la escala de corriente y tensión.

4.5.2 Módulo de generación y carga de ensayos

La figura 30 muestra el formulario diseñado para la generación de los archivos de ensayo. Este formulario es accesible al pulsar el botón “NEW” de la ventana principal de la aplicación.

Los archivos de ensayos o secuencias de ensayos ya creados pueden cargarse pulsando el botón “LOAD” de la misma ventana principal, al hacerlo aparece un cuadro de diálogo para seleccionar el archivo que se desea cargar en la lista de instrucciones. También pueden cargarse ensayos pulsando el botón “Load Test” del formulario de la figura 30 y secuencias de ensayos pulsando el botón “Load Sequence”. Una vez diseñada una secuencia de ensayos se debe guardar pulsando el botón “Save Sequence”, en la ubicación “...\Measurement Files” con la extensión .avm.

Los botones “UP” y “DOWN” sirven para desplazar arriba y abajo respectivamente la línea seleccionada de la lista “Instructions Sequence” (secuencia de instrucciones), para poder reordenarla dependiendo de las necesidades. A parte de añadir ensayos existentes también puede retirarse la línea seleccionada en la lista pulsando el botón “Remove Test”.

Para crear un archivo de ensayo se utiliza el botón “Design Test” y el menú desplegable que hay sobre él. El desplegable da cuatro opciones: “Voltammetry”; “Excitation”;

“Potentiometry”; “Pause”. Para cada opción se abre un formulario de diseño de ensayo, excepto para el comando “Pause”.

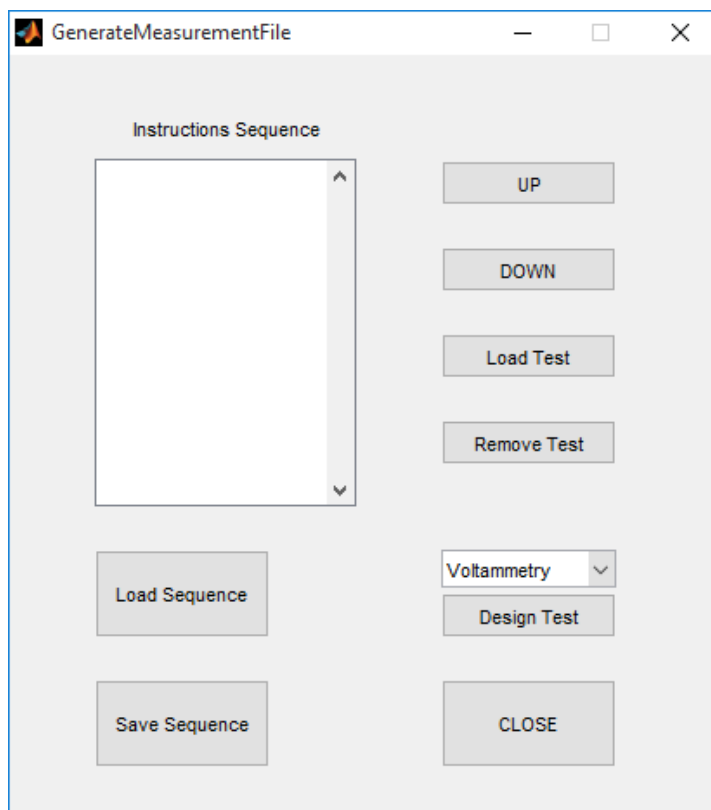


Figura 30. Ventana de generación y carga de ensayos.

A continuación, se describen las cuatro opciones:

- **“Voltammetry”**: al seleccionar esta opción aparece el formulario de la figura 31, en el que se pueden seleccionar todas las opciones disponibles para una medida de voltametría. A continuación, se describe la tabla por columnas:
 - **“Active”**: este cuadro de selección permite seleccionar si el ensayo se va a realizar con el electrodo correspondiente a esa fila. Si se selecciona se evalúan el resto de casillas de esa fila y se realiza la medida sobre el WE correspondiente, si está desactivado se pasa a evaluar la siguiente línea de la tabla.
 - **“Position” y “Electrode”**: indica la posición del WE en el conector y su nombre. Se leen del archivo “WorkingElectrodes.set” y no pueden modificarse en este formulario, únicamente desde el formulario de configuración (ver sección 4.5.2).
 - **“Voltammetry Pattern”**: al pulsar en la casilla correspondiente al patrón de pulsos aparece un cuadro de diálogo para seleccionar el archivo que se desea

cargar, su ubicación debe ser “...\Measurement Files\Pulse Patterns”. Se puede asignar un patrón distinto a cada WE. El archivo debe existir en el PC, se puede crear con un bloc de notas con extensión .ptr y su formato línea por línea es: número de pulsos, duración de los pulsos en milisegundos y valor de cada pulso en líneas consecutivas.

- “Current Scale”: para configurar la escala de corriente para cada electrodo se selecciona una opción del menú desplegable. Se ofrecen como opciones las 8 escalas de corriente disponibles.
- “Amplitude Scale”: activando la casilla se selecciona la escala de tensión de 2 V, si se deja deseleccionada se utiliza la de 200 mV.
- “2E(0)/3E(1)”: con la casilla desactivada se realiza la medida a 2 electrodos, en caso contrario a 3 electrodos.
- “Measure CE”: si se selecciona la casilla se habilita el muestreo de la tensión en el contraelectrodo.

Se incluye también en este formulario un desplegable (“Iterations”) para configurar el número de veces que se va repetir el ensayo de forma consecutiva.

El archivo de ensayo se guarda al pulsar “Save Test”, entonces aparece un cuadro de diálogo, se escribe el nombre y se almacena la información en “...\Measurement Files\Test Files” con extensión .vpt.

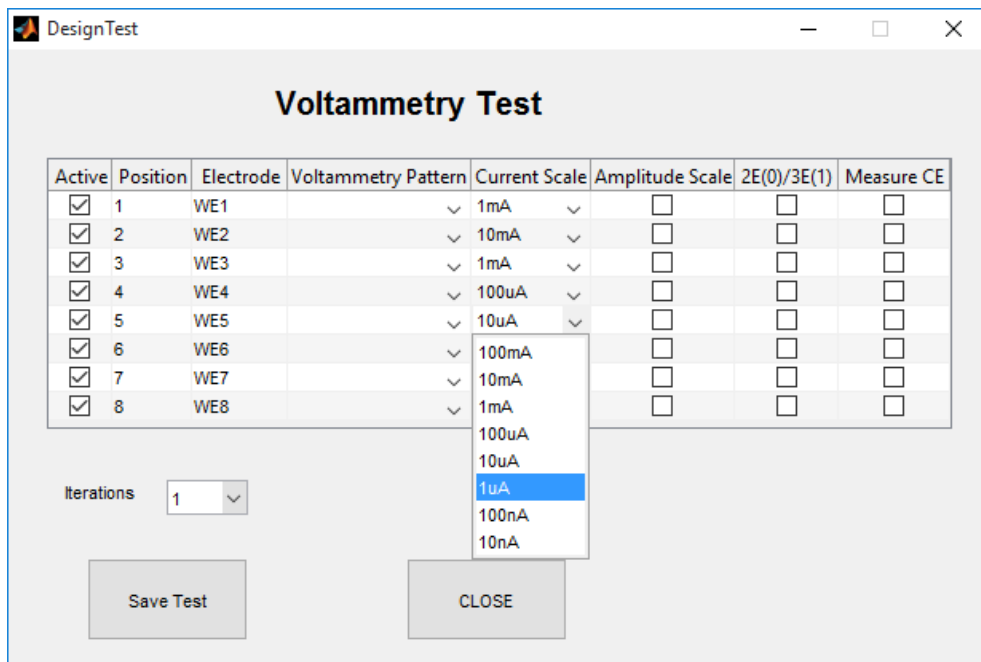


Figura 31. Formulario de creación de ensayos de voltametría.

- **“Excitation”**: al seleccionar esta opción aparece el formulario de la figura 32, las opciones disponibles, incluyendo el número de iteraciones, coinciden con las de voltametría excepto por dos:
 - **“Excitation Voltage”**: en lugar de aplicar un patrón de pulsos de potencial, este tipo de ensayo de voltametría aplica un pulso de potencial de valor igual al indicado en esta columna.
 - **“Time”**: en este caso no se permite habilitar el muestreo de la señal de tensión en el CE, ya que el ensayo de excitación únicamente aplica la tensión establecida durante el intervalo de tiempo en segundo indicado en esta casilla.

Este ensayo se utiliza para aplicar un nivel de potencial durante un determinado tiempo a una muestra sin que se realice ninguna medida sobre ella. Del mismo modo el archivo de ensayo se guarda al pulsar **“Save Test”**, que hace aparecer el diálogo para el nombre y almacenar la información en **“...\Measurement Files\Test Files”** con extensión **.vpe**.

Active	Position	Electrode	Excitation Voltage	Current Scale	Amplitude Scale	2E(0)/3E(1)	Time (s)
<input checked="" type="checkbox"/>	1	WE1	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	2	WE2	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	3	WE3	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	4	WE4	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	5	WE5	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	6	WE6	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	7	WE7	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10
<input checked="" type="checkbox"/>	8	WE8	0	1mA	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10

Iterations:

Buttons: Save Test, CLOSE

Figura 32. Formulario de creación de ensayos de excitación.

- **“Potentiometry”**: al seleccionar esta opción aparece el formulario de la figura 33. Las tres primeras columnas coinciden con las de los ensayos anteriores, las siguientes se detallas a continuación:

- “ $V_n - V_{n-1}$ (μV)” : en esta columna se establece la condición de diferencia de potencial mínima entre medidas consecutivas de un electrodo en microvoltios. Se calcula restando la medida actual con la medida anterior, en caso de que supere el umbral indicado se considera que el nivel de potencial en el electrodo es estable y se almacena el valor para su posterior uso (ver sección 4.5.3).
- “Max. Time (s)” : este parámetro se utiliza también como para limitar la medida de potenciometría, de este modo si la condición anterior no llega a cumplirse dentro del intervalo de tiempo en segundos indicado en esta columna se almacena el último valor para su posterior uso (ver sección 4.5.3).

Active	Position	Electrode	$V_n - V_{n-1}$ (μV)	Max. Time (s)	Amplitude Scale
<input checked="" type="checkbox"/>	1	WE1	10	60	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	2	WE2	10	60	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	3	WE3	10	60	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	4	WE4	10	60	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	5	WE5	10	60	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	6	WE6	10	60	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	7	WE7	10	60	<input type="checkbox"/>
<input checked="" type="checkbox"/>	8	WE8	10	60	<input type="checkbox"/>

Select 0 to erase OCP

Figura 33. Formulario de creación de ensayos de potenciometría.

Este tipo de ensayo se puede utilizar para realizar ensayos de voltametría y excitación a partir del nivel de potencial de corriente nula (OCP) que se ha medido potenciométricamente, situando consecutivamente un ensayo de potenciometría antes de una voltametría en la secuencia de ensayos. Esto es, a los niveles de tensión configurados en el archivo de medida se le suman los niveles de potencial de corriente nula (OCP) medidos por potenciometría antes de generar las tensiones. En caso de que

no querer enlazar los ensayos se puede configurar el reseteo de la variable que lo lleva a cabo incluyendo el archivo que se genera al seleccionar el valor 0 del desplegable “Select 0 to erase OCP”.

El archivo de ensayo se guarda al pulsar “Save Test”, que hace el nombre de archivo para almacenar la información en “...\Measurement Files\Test Files” con extensión .vpp.

- **“Pause”**: se ha introducido un comando de pausa en la ejecución de la secuencia de instrucciones. Es de utilidad introducir la posibilidad de intercalar esperas configurables entre ensayos para darle versatilidad al diseño secuencias de instrucciones. En este caso no se requiere de un formulario tabulado ni de archivo asociado, si no que mediante un cuadro de diálogo se le requiere al usuario el tiempo en segundos que debe durar esta espera, como puede verse en la figura 34. Por ejemplo, un valor introducido de 10 se añade a la secuencia de instrucciones con el formato 'Pause: 10 s'.

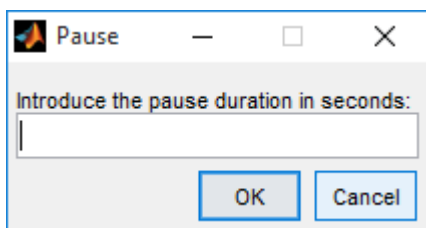


Figura 34. Cuadro de diálogo de configuración de pausa.

4.5.3 Módulo principal

El módulo principal se encarga de la configuración inicial, la ejecución de la lista de instrucciones, la comunicación con el μC , la representación gráfica de los datos recibidos y el almacenamiento de datos. El aspecto de la ventana principal es el de la figura 35. Consta de una lista de instrucciones, un gráfico de representación de las señales, los botones de configuración, generación y carga de ensayos y los botones de inicio de secuencia (“PLAY”) y de cerrar programa (“CLOSE”).

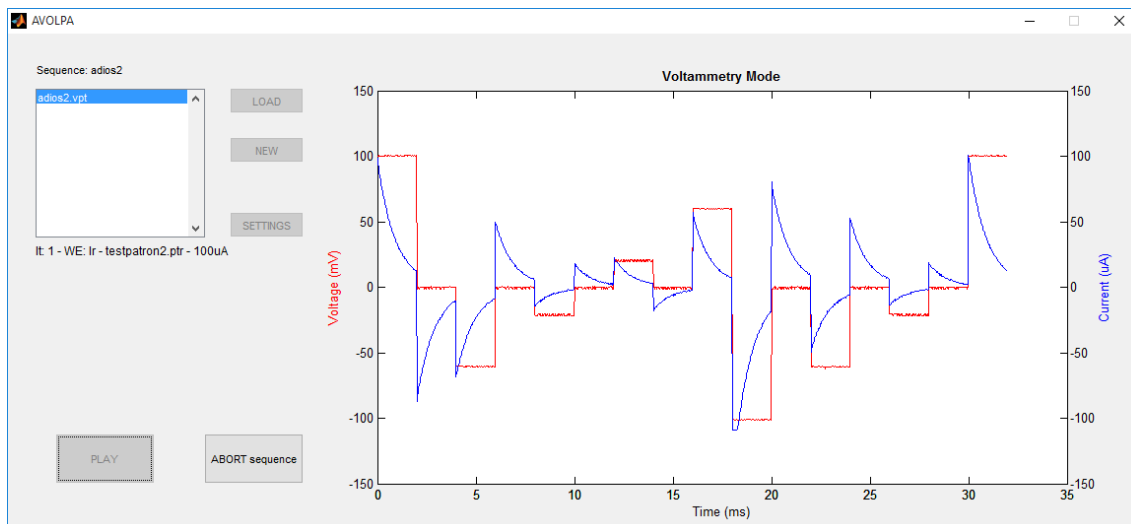


Figura 35. Ventana principal del programa Matlab.

Para iniciar un ensayo el usuario de la aplicación software debe cargar un archivo de ensayo o un archivo de secuencia de ensayos. Este último es básicamente un listado de nombres de archivos de ensayo, que se cargarán del directorio “Measurement Files\Test Files” del directorio de la aplicación. Los archivos de ensayo se generan con un formulario, que depende de la técnica que se desee utilizar, en el que se deben seleccionar las opciones disponibles. Todos los ensayos son secuenciables.

Para potenciometría hay que seleccionar los electrodos (del total de 8 electrodos multiplexables) que se desean medir. Existen tres opciones para tomar el valor de potencial final de esta medida, por tiempo máximo, por decisión del usuario al presionar un botón de aceptar valor o por que la evolución del potencial es menor que el valor que se ha indicado en el formulario (si se establece el valor 0 no se evalúa esta última condición). También se puede seleccionar la escala de tensión a utilizar en la medida. El sistema va tomando el valor de potencial de cada electrodo que se haya seleccionado secuencialmente y lo envía al PC hasta que todos cumplan la condición o se alcance el tiempo máximo de medida. Una vez ha concluido el ensayo se crea un archivo con estos datos, para este tipo de ensayo se almacenan con la extensión “.vpp”.

En voltametría hay dos tipos de ensayo, uno simplificado llamado “Excitation”, en el que no se almacenan datos y únicamente se establece un valor de potencial durante el tiempo (en segundos) que se establezca. Para este ensayo también se puede configurar la escala de corriente, la escala de tensión la configuración del potencióstato (2 o 3 electrodos). Pueden seleccionarse hasta un máximo de 10 iteraciones para cada ensayo. El ensayo se realiza sobre

los electrodos que se han seleccionado secuencialmente. Los archivos de este tipo de ensayo se almacenan con la extensión “.vpe”.

El otro tipo de ensayo de voltametría en vez de aplicar un nivel de tensión durante un periodo de tiempo, permite aplicar un patrón de tensiones configurables, que se carga los archivos que se encuentran en el directorio “Measurement Files\Pulse Patterns” del directorio de la aplicación. Estos patrones de tensiones pueden configurarse a modo de patrones de pulsos o a modo de rampas de potencial, a elección del usuario, indicando el número de pulsos, la duración de los mismos y su amplitud secuencialmente. Además, puede seleccionarse la opción medir y almacenar la tensión en el contraelectrodo, para obtener información sobre la distribución de tensión que hace el potencióstato en el contraelectrodo. El ensayo se realiza sobre los electrodos que se han seleccionado secuencialmente, cada vez que se realiza la medida sobre un electrodo se almacenan los datos de la tensión aplicada al electrodo de trabajo, la corriente que circula por el mismo y, si se ha seleccionado la opción, la tensión en el contraelectrodo. También pueden seleccionarse hasta un máximo de 10 iteraciones. Los archivos de este tipo de ensayo se almacenan con la extensión “.vpt”.

Esta información se almacena en el PC y la aplicación carga los archivos correspondientes cuando se ejecuta la secuencia de instrucciones. Entonces se envía la información de cada ensayo al equipo electrónico de medida y éste lo almacena en memoria. A continuación, se establece la configuración del potencióstato atendiendo a la información que tiene almacenada, y se dispone el electrodo de trabajo, escala de tensión y, los parámetros que procedan como, la escala de corriente, el modo de trabajo (2 o 3 electrodos), la medida del contraelectrodo, el tiempo o la tensión a aplicar. Entonces se generan las señales a aplicar y se aplican a través del electrodo de trabajo correspondiente. Simultáneamente se muestrea la tensión el mismo, la corriente que circula a través de él y, si corresponde, la tensión en el contraelectrodo. Estos datos se almacenan en memoria para enviarlos de vuelta al PC. A medida que se van realizando las medidas la aplicación del PC almacena los datos en matrices en el directorio “Measurement Files\Results” del directorio de la aplicación, para su posterior análisis.

Los módulos de configuración, generación y carga de ensayos a los que se accede desde sus respectivos botones se han desarrollado en las secciones anteriores. Se procede ahora a describir detalladamente el funcionamiento del programa principal para el control del dispositivo electrónico diseñado AVOLPA.

Al ejecutar el programa, se realizan varias tareas transparentes al usuario:

- Inicializaciones de variables de entorno.
- Declaración de variables globales.
- Detección de los puertos de comunicación disponibles y configuración del puerto correspondiente.
- Configuración de los temporizadores: time out, medida excitación, pausa.
- Lectura de los factores de calibración.
- Comprobación de las líneas de los relés (se dejan todas en reposo).

Una vez se ha elegido una secuencia de instrucciones de acuerdo a lo expuesto en la sección 4.5.2, la medida se inicia pulsado el botón "PLAY". Entonces se deshabilitan todos los botones excepto el botón "CLOSE", que se convierte en el botón de abortar secuencia de ensayos, lo que permite detener la ejecución de programa por decisión del usuario.

Al iniciarse un proceso de medida se reinician las variables de datos, se limpia el gráfico y se ejecuta la función que evalúa la lista de instrucciones ("Execute"). Esta función se procesará recurrentemente cada vez que se realiza una medida de las incluidas en la secuencia de instrucciones. Para ello se comprueba que todavía queden instrucciones para evaluar y que no se haya abortado la medida. En caso de que haya una instrucción pendiente de ejecutar la función "Execute" comprueba el tipo de instrucción leyendo la extensión del archivo al que se refiere. En caso de que se hayan evaluado todas las instrucciones de la lista o el usuario haya abortado la medida, la función muestra en una etiqueta de texto el evento, detiene los temporizadores y rehabilita todos los botones.

En caso de que la instrucción no tenga extensión la considera como una instrucción de pausa, entonces se configura el tiempo en el temporizador de pausa, el cual va disminuyendo en escalones de 0.1 segundos. Esta cuenta atrás se muestra en pantalla hasta que llega a cero. Una vez terminada pasa a la siguiente instrucción de la secuencia.

Si la instrucción que se evalúa sí tiene extensión se procede a leer el archivo con la información en formato de tabla y se ejecuta la función de medida. En la función "Measurement" primero se extrae la información correspondiente a la línea de la tabla que se ejecuta a continuación. Si al leer el primer dato de esa línea, no corresponde realizar la medida sobre el electrodo se evalúa la siguiente hasta llegar al final de la tabla. Si corresponde realizar la medida sobre ese electrodo de trabajo, se utiliza el resto de la información para actualizar los valores de la trama de recepción del μC . Para ello primero procesa unas funciones de actualización de los bytes

que establecen el estado de los relés, y a continuación dependiendo del tipo de ensayo que corresponda se procede de la siguiente manera:

- **Potenciometría:** se establece el tiempo de muestreo en 100 μ s, el vector que contiene la tensión a aplicar a 0, ya que en este tipo de ensayo no se aplica ninguna tensión, y el número de puntos a enviar se mantiene el máximo establecido por defecto, es decir, 1000 puntos. Este número de puntos indica el número de datos que va a devolver el μ C. Finalmente se establece el indicador de trama ("Frame ID") a 1.
- **Voltametría:** se empieza por leer el patrón de pulsos que se indica en la columna 4 de la figura 31, de él se extrae línea a línea la información hasta llegar al final del archivo. De este modo el tiempo de muestreo (T_{MUESTREO}) se calcula multiplicando el número de pulsos (N_{PULSOS}) por la duración de pulso (T_{PULSO}), de acuerdo a la ecuación 30:

$$T_{\text{MUESTREO}} = N_{\text{PULSOS}} \cdot T_{\text{PULSO}} \quad (30)$$

El número de puntos que se envían al μ C (que será también el que devuelva cada ADC) se calcula primero el resultado en número entero de la división 31:

$$\text{Puntos por pulso} = \text{fix} \left(\frac{N_{\text{PUNTOS MAX}}}{N_{\text{PULSOS}}} \right) \quad (31)$$

Donde $\text{fix}()$ es una función que redondea hacia cero un número real y $N_{\text{PUNTOS MAX}}$ es 1000. Para calcular el número de puntos que forman parte de la trama de recepción del μ C se procede con la ecuación 32:

$$N_{\text{PUNTOS}} = N_{\text{PULSOS}} \cdot \text{Puntos por pulso} \quad (32)$$

A continuación, se crea los vectores de datos. Uno con la escala de tiempos (para funciones de representación) y otro con las tensiones que debe generar el DAC. El vector de tensiones se calcula teniendo en cuenta la escala de tensión elegida, de este modo para la de 200 mV se utiliza la ecuación 33:

$$V_{\text{DIGITAL}} = \text{round} \left(\frac{\left(V_{\text{PULSO}} \cdot \frac{3.3}{2.2} \right) \cdot \frac{4095}{3.3}}{200} \right) \quad (33)$$

Donde V_{PULSO} es la tensión de cada pulso y $\text{round}()$ es una función de redondeo hacia el número entero más cercano. Para esta escala se comprueba que el patrón de pulsos

elegido no supere el valor máximo de la escala (200 mV), en caso de que ocurra, se muestra un aviso en pantalla y se limita la tensión generada al máximo de la escala.

El vector de tensiones para la escala de 2 V se calcula con la ecuación 34:

$$V_{\text{DIGITAL}} = \text{round} \left(\frac{\left(V_{\text{PULSO}} \cdot \frac{3300}{2200} \right) \cdot \frac{4095}{3.3}}{2000} \right) \quad (34)$$

Una vez está calculado el vector de tensiones y antes de preparar los datos para enviarlos se le suma el vector de OCP. En caso de que se no se haya realizado ninguna medida para calcularlo, o se haya ejecutado una instrucción de borrado de OCP el valor que se suma es cero, con lo que el vector de tensiones no se verá modificado. Después se divide el vector de tensiones en dos bytes para enviarlo al μC y finalmente se establece el indicador de trama ("Frame ID") a 2.

- **Excitación:** en este caso se leen únicamente el valor de la tensión a generar en mili voltios y el tiempo de excitación en segundos. El tiempo de muestreo se establece en 1 segundo y el número de puntos en 1000. La tensión se calcula con las ecuaciones 33 o 34, según corresponda la escala de tensión. Con las mismas premisas que para un ensayo de voltametría, se suma el valor del OCP, se divide prepara el vector de tensiones en dos bytes y se establece el indicador de trama a 3.

Una vez se ha procesado la información del ensayo, se actualiza el número de bytes que genera un evento de recepción en el puerto de comunicación con el número de puntos de la trama que se envía al μC , ya que será el número de datos con que responda el equipo de medida. Entonces se envían los datos por el puerto configurado, respetando la trama de la tabla 3. Cada dato que se envía por el puerto de comunicación se suma al Checksum, que se envía en último lugar.

Cuando se han enviado todos los datos se pone a uno la variable que se utiliza como indicador del estado de recepción de datos. Entonces se configura e inicia el temporizador de time out, si el ensayo es de excitación se inicia también el de excitación. La recepción se desarrolla después del proceso de almacenamiento de datos.

Una vez se han evaluado todas las líneas, se realizan varias comprobaciones. En potenciometría se comprueba si las medidas cumplen con los requisitos de finalización de

ensayo (evolución del potencial y tiempo máximo); si se cumple alguna no se incrementa el contador de iteraciones, de este modo se finalizará el ensayo.

Se continua por comprobar si el ensayo ha llegado a la última iteración. Si no es así se incrementa en uno el contador de iteraciones, y se vuelve a ejecutar la función "Measurement". Esto supone que se repite el proceso de medida el número de iteraciones que indique el archivo de ensayo.

En caso de que se haya procesado la última iteración se incrementa en uno el contador de la secuencia de instrucciones y entonces se prepara y almacena la información de la medida. Cada medida almacena dos archivos, uno con la información de la medida y otro con los datos. Se almacenan en el directorio ".../Measurement Files/Results/", los archivos de datos tienen formato standard de Matlab (extensión ".mat") y los de información tienen formato de archivo de texto (".txt"), pero se les añade un identificador de ensayo para distinguirlos fácilmente entre ellos. El nombre del archivo se establece de la siguiente manera: nombre del ensayo, fecha y hora con formato yymmdd_HHMMSS (dos dígitos para cada parámetro: año, mes, día hora, minuto y segundo), el indicador de la técnica ("_V" para voltametría, "_Vce" para voltametría con medida de la tensión en el "contraelectrodo y "_Pot" para potenciometría) y por último la extensión del archivo de ensayo (".vpt" para voltametría y ".vpp" para potenciometría).

El archivo de información contiene la siguiente información línea por línea:

- Nombre de la medida, hay dos opciones: "VOLTAMMETRY" o "POTENTIOMETRY".
- Número de electrodos: indica sobre cuantos electrodos de trabajo se ha realizado la medida.
- Información de la medida: se escribe separado por tabulaciones los parámetros del ensayo. Para voltametría el orden es:
 - Nombre del electrodo.
 - Escala de corriente.
 - Escala de tensión.
 - Configuración del potencióstato: 2 o 3 electrodos.
 - Habilitación de la medida de la tensión en el CE.
 - Número de puntos en las tramas.
 - Duración total del ensayo en ms.
 - Valor de temperatura en °C.

En caso de potenciometría el orden es el siguiente:

- Nombre del electrodo.
- Valor de la condición de finalización por evolución mínima del potencial en μV .
- Valor de la condición de finalización por tiempo máximo en segundos.
- Valor de potencial de la medida de potenciometría en mV.
- Valor de temperatura en $^{\circ}\text{C}$.

En los archivos de datos se recogen los valores de las señales de medida. Las variables de datos que se almacenan en estos archivos dependen de la técnica:

- Voltametría: variables de datos de la tensión medida en el RE (DataV), de la medida de la corriente que circula por el WE (DataI) y, si se ha habilitado su medida, de la tensión en el CE (DataVce).
- Potenciometría: variables de datos de las medidas de tensión (Pot), de la evolución del potencial (dVdt) y del tiempo relativo de medida de cada potencial (PlotPatternTime).

Una vez que se han almacenado los archivos se ejecuta la siguiente línea de la secuencia de instrucciones, repitiendo el proceso que se acaba de desarrollar hasta que se agota la secuencia. Cuando esto ocurre se devuelven todos los relés a modo reposo y la aplicación se detiene, quedando a disposición del usuario.

El proceso de recepción se basa en el evento de recepción del puerto de comunicación. Al iniciarse este evento de recepción se realizan varias comprobaciones. Lo primero es comprobar si la variable indicadora del estado de recepción de datos se ha puesto a uno en la función de medida cuando se han enviado todos los datos al μC . A continuación, se comprueba otra variable que se utiliza para saber si el usuario ha abortado el ensayo, en caso positivo se deshabilita el temporizador, se devuelven todos los relés a modo reposo y la aplicación se detiene. En caso negativo se inicia la lectura de los datos previa comprobación de que el número de datos en el búfer de recepción es correcto, de acuerdo a la trama de la tabla 5:

- Bytes de inicio de trama (170 y 240).
- Número de datos: 2 bytes.
- Byte indicador de trama.
- Dato de temperatura (2 bytes).
- Datos de las medidas (6 * Número de datos).
- Byte de checksum.

Si los dos bytes de inicio no son correctos se detiene el proceso de recepción y se muestra un mensaje en pantalla con el texto "Error de Sincronismo".

Con los datos de las medidas se realizan los cálculos para convertir los valores digitales que envía el μC en valores analógicos para su representación y almacenamiento, la ecuación que se utiliza para las señales de tensión es la ecuación 35:

$$D_{\text{TENSIÓN}} = \left(\frac{\text{DATO} \cdot 6600}{4095 \cdot \frac{R1}{R2}} \right) \quad (35)$$

Donde:

- $D_{\text{TENSIÓN}}$ es el valor analógico de cada conversión.
- DATO es el valor que proviene del μC para convertir.
- Si el ensayo se ha realizado con la escala de tensión de 200 mV, R1 tiene un valor de 33000 Ω y R2 de 2200 Ω , mientras que, si ha realizado con la escala de tensión de 2 V, R1 es igual a 3300 Ω y R2 a 2200 Ω .

Para obtener los datos de corriente procedentes del ADC2 se usa la ecuación 36:

$$D_{\text{CORRIENTE}} = \left(\frac{D_{\text{TENSIÓN}} \cdot 1000}{R_{\text{SHUNT}}} \right) \quad (36)$$

Cada dato se ajusta con los factores de calibración aplicando la ecuación 29 (ver sección 4.5.1).

Una vez los vectores de datos se han procesado se almacenan en la variable de salida (DataV, DataI, DataVce, Pot, dVdt o PlotPatternTime, según el proceso de medida correspondiente). En el caso de potenciometría, para eliminar posibles ruidos al inicio y final del proceso de medida, se descartan los primeros y últimos 100 valores del vector de 1000 puntos, de los 800 restantes se calcula una media y se toma ese valor como medida de potencial del electrodo en cuestión. Se calcula el valor de temperatura a partir de los dos bytes de la trama que se ha recibido y se representan los datos en el gráfico.

En potenciometría se representa el valor de potencial de cada electrodo que se está midiendo en función del tiempo relativo al inicio de la medida. En un ensayo de excitación no se muestra ninguna señal en el gráfico, ya que no se realiza ninguna medida, únicamente se aplica el nivel de potencial durante un periodo de tiempo. En voltametría se muestra la evolución temporal de la señal de tensión, la de corriente y si se ha seleccionado la señal de tensión en el CE, como

ejemplo se muestra la figura 36, donde se aplica una señal cuadrada (entre +100 mV y -100 mV y duración de pulso de 100 mS) a una muestra de agua del grifo con un electrodo de oro y se miden la tensión en el RE (rojo), la tensión en el CE (verde) y la corriente que pasa por el WE (azul).

En el caso de potenciometría es en este punto, justo antes de representar gráficamente, donde se evalúa para cada recepción si se cumple la condición de finalización de la medida, cuando la evaluación resulta positiva se pone a uno la variable correspondiente, que se evaluará en la función Measurement.

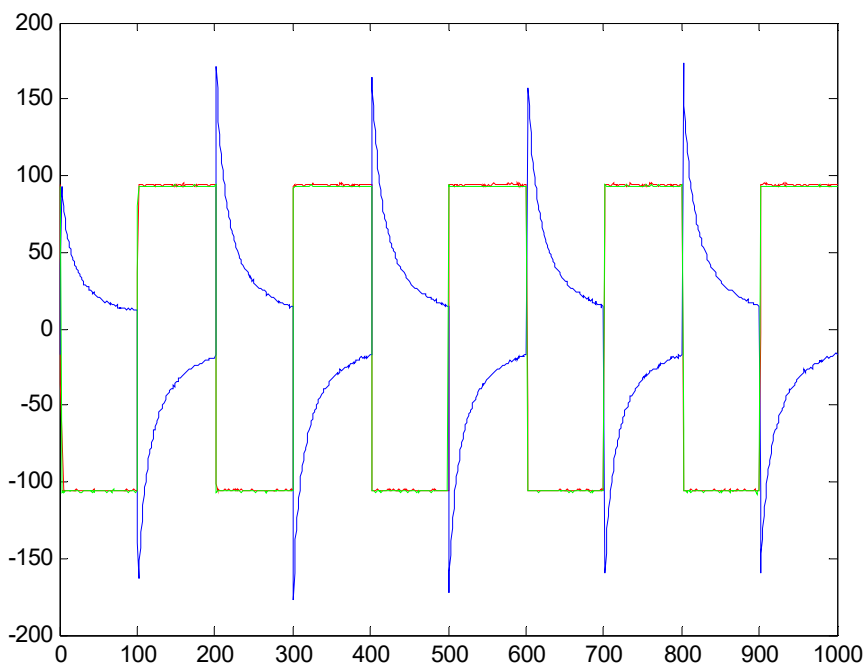


Figura 36. Representación gráfica de un ensayo de voltametría.

Cuando se finaliza el proceso de representación, se pone la variable indicadora del estado de recepción de datos a cero, para poder evaluar la siguiente recepción y se detienen los temporizadores para evitar eventos de temporizador no deseados.

Entonces se hacen las comprobaciones que se hacen en la función Measurement. Se comprueba si quedan electrodos por medir, en cuyo caso se ejecuta de nuevo una función de medida incrementando en uno la línea que se ha de evaluar. Si es el último electrodo se comprueba si quedan iteraciones por ejecutar y si, en el caso de potenciometría, no se cumplen las condiciones de finalización del ensayo, en caso afirmativo se incrementa en uno el contador de iteraciones, y se vuelve a ejecutar la función "Measurement". Esto supone que se repite el proceso de medida el número de iteraciones que indique el archivo de ensayo. Si se ha procesado la última iteración se incrementa en uno el contador de la secuencia de

instrucciones y entonces se prepara y almacena la información de la medida tal y como se ha explicado para la función "Measurement". Del mismo modo se procesa la siguiente línea de la secuencia de instrucciones, repitiendo el proceso de medida hasta que se agota la secuencia.

Por último, las interrupciones de los temporizadores gestionan los eventos configurados al inicio del programa principal. Se han implementado 3, uno para detectar errores de temporización en el proceso de medida (temporizador de time out), otro para gestionar la temporización de las medidas de excitación y un tercero que se utiliza para temporizar las instrucciones de pausa, aunque también se utilizan para mostrar por pantalla una cuenta atrás del proceso de aplicación de la tensión en los ensayos de voltametría (tanto excitación como voltametría normal).

4.6 Aspecto final

La disposición de los electrodos en la carátula del equipo electrónico de medida diseñado puede verse en la figura 37. En ella que se observan los dos conectores DIN de 6 polos a la derecha, en el primero se conectan los WE 1 a 4 y en el segundo los WE 5 a 8. El conector con el círculo azul corresponde al electrodo de referencia y se ha implementado con un conector BNC. La alimentación digital dispone de un led de comprobación, mientras que la alimentación analógica dispone de una para positiva y otra para la negativa.

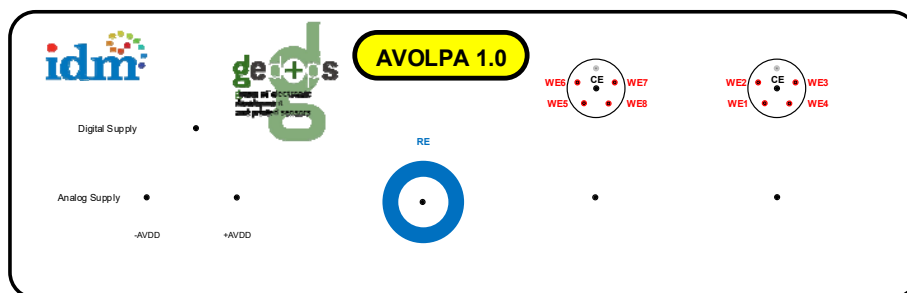


Figura 37. Carátula del equipo.

El aspecto real del exterior del equipo construido se muestra en la figura 38.



En la figura 39 se muestra el panel trasero del equipo, en el que se distinguen el conector de alimentación de red, el conector USB tipo B y el conector para el termopar tipo K.

Figura 38. Panel frontal.



Figura 39. Panel trasero.

4.7 Validación experimental del sistema de medida

Con el objetivo de caracterizar el equipo electrónico diseñado se procede a realizar unos ensayos para comprobar el correcto funcionamiento del dispositivo para las técnicas de potenciometría y voltametría.

Para potenciometría se ha utilizado una fuente de alimentación de laboratorio que se conecta a la entrada del canal 1 (WE1) del equipo. El objetivo es comprobar que la lectura que hace el equipo electrónico de medida sobre valores de tensión en las dos escalas es correcta, ver figura 40:

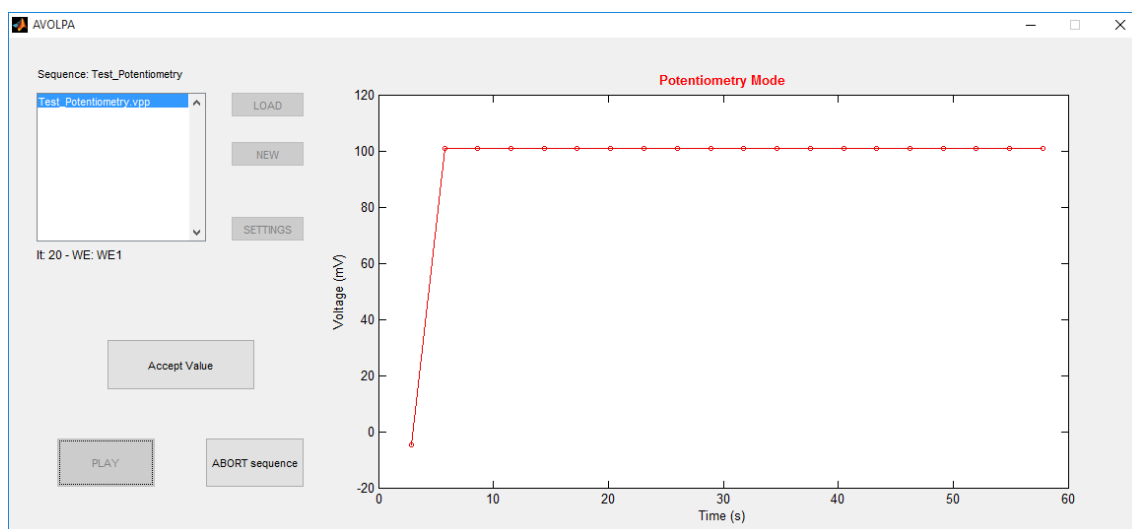


Figura 40. Ensayo de validación para potenciometría para la escala de tensión de 200 mV.

Para ello se realizan dos ensayos de potenciometría en los que se miden las tensiones con valores de 100 y 1500 mV (las lecturas reales de un multímetro de mano, modelo Fluke 28II, son de 99.7 mV y 1502 mV, respectivamente) en cada una de las escalas de tensión. De estos ensayos se toman 10 valores de potencial, de los que se calcula el valor promedio y su desviación estándar (σ_A), además se calcula el error relativo entre el valor nominal de tensión a generar y el promedio de los valores medidos, ver tabla 10:

Tabla 10. Tabla de validación para potenciometría.

	Tensión (mV)	
	Escala V. 200 mV	Escala V. 2 V
1	100,9097558	1504,022344
2	100,9512576	1505,365446
3	100,9958486	1505,048474
4	101,0255311	1505,166667
5	100,9783883	1505,169353
6	100,9982662	1505,056532
7	100,9939683	1504,993407
8	100,968315	1504,855067
9	101,0205617	1504,95177
10	100,9676435	1504,8779
PROMEDIO	100,9810	1504,9507
σ_A	0,0342	0,3598
MEDIDO	99,7	1502

Las desviaciones de las 10 medidas (σ_A) para la escala de 200 mV es inferior a 35 μV mientras que para la escala de 2 V es un orden de magnitud superior. El error relativo de la medida (valor absoluto de la diferencia entre el valor medido con el multímetro y el promedio de los valores medidos con el equipo, dividido por el valor medido) es de 1,29% para la escala de 200 mV y de 0,20% para la escala de 2 V.

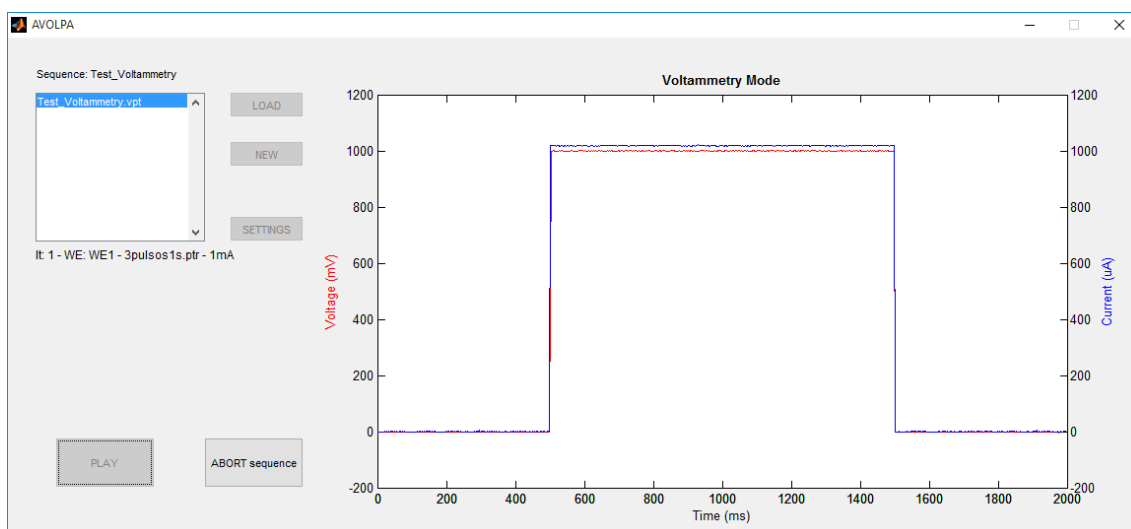


Figura 41. Ensayo de validación para voltametría para la escala de tensión de 2 V.

Para voltametría se ha hecho un ensayo con cada escala de tensión sobre una resistencia de 1000 Ω , cuyo valor medido con el mismo multímetro de mano es de 986 Ω . Para la escala de 200 mV se ha generado una tensión de 100 mV y para la escala de 2 V se ha generado una tensión de 1 V durante 500 ms (ver figura 41). De estos dos ensayos se han tomado 500 puntos de la señal de corriente medida, con ellos se ha hecho un promedio, se ha calculado su desviación estándar (σ_B), y el error relativo entre el valor calculado de la corriente que pasa por la resistencia y el promedio de los valores de corriente muestreados, ver tabla 11.

Tabla 11. Tabla de calibración para voltametría.

	Intensidad (μA)	
	Escala V. 200 mV	Escala V. 2 V
PROMEDIO	102,0849	1018,2271
σ_B	0,2882	0,8781
CALCULADO	101,4199	1014,1988

La corriente teórica que pasa por la resistencia se ha calculado mediante la ley de ohm: $I = V / R$. Como puede verse la desviación estándar de los 500 puntos (σ_B) para ambas escalas es inferior a 0.3 μA para la escala de 200 mV mientras que para la de 2 V es inferior a 0.9 μA . También se ha calculado el error relativo de las medidas siendo del 0,66% para la escala de 200 mV y de 0,40% para la de 2 V.

Estos ensayos permiten decir que las medidas realizadas con ambas técnicas mediante el uso del equipo diseñado presentan unos niveles de reproducibilidad y precisión aceptables, lo que permite la realización de ensayos fiables de ponteciometría y voltametría.

Además, con el objetivo de comprobar la capacidad de clasificación de las señales generadas por el equipo de medida diseñado, se procede a realizar una experiencia básica de medidas voltamétricas sobre tres muestras de bebidas carbonatadas. Con los datos obtenidos se realiza un análisis de componentes principales para verificar el si es capaz de discriminar entre las muestras de la experiencia. Las muestras a medir son:

- Coca-cola.
- Fanta sabor naranja.
- Fanta sabor limón.

Antes de realizar las medidas sobre estas muestras se desgasifican por ultrasonidos. De cada bebida se toman tres muestras, cada muestra se mide cinco veces iterativamente, de las que se calcula una media. El total de medidas realizadas es de 45, de las que tras promediar resultan 9 vectores de datos.

Para cada medida se realiza una medida de OCP a partir de la cual se aplica un ensayo de voltametría. Se utiliza un patrón de 40 pulsos como el utilizado en el capítulo 3, cuyos valores de potencial son 0, 200, 0, 400, 0, 600, 0, 800, 0, 1000, 0, 800, 0, 600, 0, 400, 0, 200, 0, -200, 0, -400, 0, -600, 0, -800, 0, -1000, 0, -800, 0, -600, 0, -400, 0, -200, 0, 0, 0, 0 (mV) y la duración de los pulsos es de 50 ms. Se muestra en la figura 42:

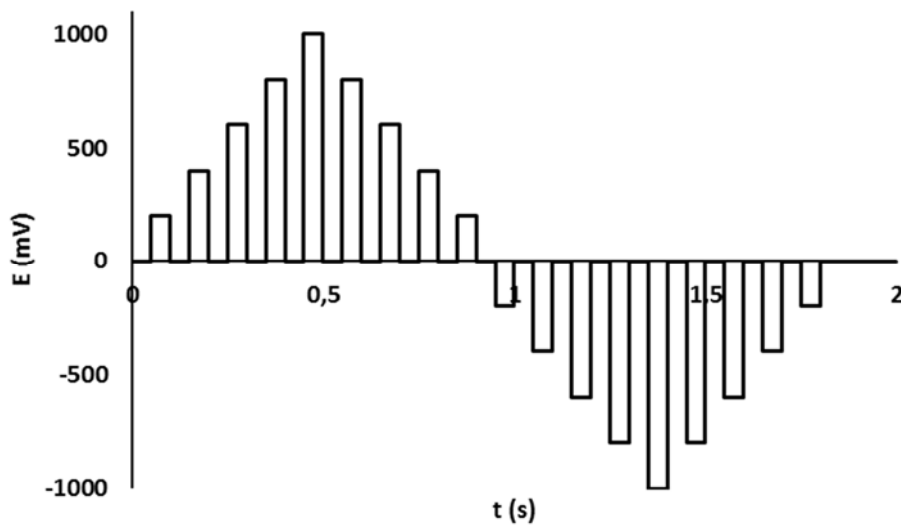


Figura 42. Patrón de pulsos para experiencia de validación.

Para la medida se utiliza una lengua electrónica también como las usadas en los capítulos 1 y 2, con cuatro electrodos de trabajo (Ir, Rh, Pt, Au) encapsulados en un cilindro de acero que actúa como contraelectrodo y un electrodo de referencia de calomelanos. Se analiza la señal de corriente de respuesta de cada electrodo, que consta de 1000 valores cada uno, como se utilizan 4 electrodos, suman un total de 4000 valores a procesar por medida. La matriz resultante consta de 9 filas por 4000 columnas.

El PCA se lleva a cabo con el programa de análisis estadístico SOLO de Eigenvector Research, Inc. La figura 43 muestra el gráfico PCA con dos componentes principales, donde se observan tres agrupaciones. La varianza contenida por la primera componente principal es de 51,91%, mientras que las dos primeras componentes acumulan un total de 69,67% de la varianza total. Por lo tanto, se puede decir que el sistema de medida diseñado es capaz de discriminar entre muestras complejas con las técnicas implementadas.

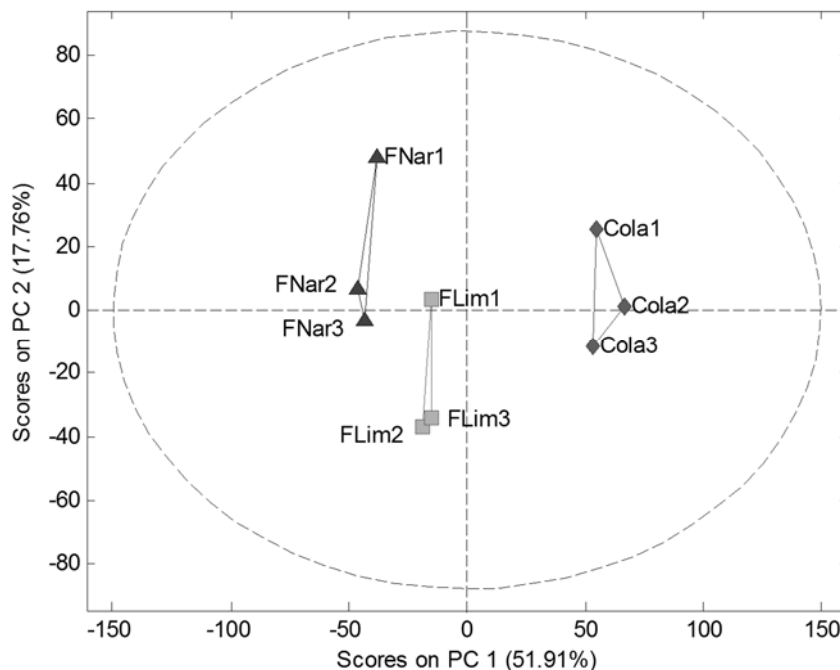


Figura 43. PCA de tres bebidas carbonatadas.

4.8 Conclusiones

En este capítulo se ha desarrollado un equipo electrónico de medidas para la implementación de técnicas voltamétricas y potenciometría y una aplicación de PC para su utilización.

Las especificaciones de diseño iniciales se han cumplido con lo expuesto en el apartado 4.1 de este capítulo para el equipo electrónico de medida, siendo capaz de generar y muestrear las señales requeridas en las especificaciones técnicas. Una de las características principales es la versatilidad que se ha conseguido en el diseño de experimentos para este desarrollo, permitiendo enlazar ensayos de una técnica de voltametría referidos a los niveles de tensión medidos con la técnica de potenciometría. Cabe destacar también la flexibilidad que supone la implementación de las opciones de configuración del potenciostato, que permite medidas a 2 y 3 electrodos, integrando además la medida de las tensiones en el electrodo de referencia y

en el contraelectrodo. Se ha implementado la multiplexación del electrodo de trabajo para poder realizar medidas con hasta 8 de ellos. Todas estas características además cumplen el requisito de ser un equipo de bajo coste.

Además, para la aplicación de PC desarrollada se ha utilizado una plataforma de desarrollo software que permitirá la integración de futuras ampliaciones que integren todo el proceso de análisis, desde la generación, muestreo y visualización, que ya se han implementado en este trabajo, hasta el análisis completo de los datos. La plataforma utilizada se trata de Matlab, que además de ser una potente y conocida herramienta matemática dispone de una amplia librería de herramientas preinstaladas, que permite trabajar con algoritmos específicos para multitud de aplicaciones, en concreto para los análisis estadísticos multivariantes expuestos en la introducción.

Comparando el diseño presentado con los equipos de medida comerciales, cabe destacar su reducido coste, su amplia flexibilidad y su idoneidad para su uso en sistemas de lengua y nariz electrónica como los que se utilizan en el centro donde se ha desarrollado (el Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM) de la Universitat Politècnica de València). Su uso supone una herramienta muy ventajosa para el desarrollo de experiencias en las que se precise de datos para la obtención de modelos de análisis estadístico en multitud de ámbitos (detección de gases nerviosos, monitorización de corrosión en estructuras metálicas, alimentación, etc.).

4.9 Referencias bibliográficas

- [1] Doeling, R.: "Potentiostats". Bank Elektronik – Intelligent Controls GmbH, 2000.
- [2] Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications. Bard, A.J., Faulkner, L.R. John Wiley & Sons, Inc., 2001.
- [3] Laboratory Techniques in Electroanalytical Chemistry. Kissinger, P.T., Heineman, W.R. Marcel Dekker, Inc., 1996.

- [4] Gopinath, A.V., Russell, D.: 'An Inexpensive Field-Portable Programmable Potentiostat'. *The Chemical Educator*, 2006, 11, pp. 23-28.
- [5] Shi, Y., Dou, H., Zhou, A., Chen, Y.: 'Design and fabrication of a miniaturized electrochemical instrument and its preliminary evaluation'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2008, 131(2), pp. 516-524.
- [6] Yunus, S., Attout, A., Vanlancker, G., Bertrand, P.: 'A method to probe electrochemically active material state in portable sensor applications'. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011, 156, pp. 35-42.
- [7] Potentiostat stability mystery explained. Application note n°4. *Bio-Logic Science Instruments*, 2010.
- [8] Davis, J. E., Toren, E. C.: 'Instability of current followers in potentiostat circuits'. *Analytical Chemistry*, 1974, 46(6), pp. 647-650.
- [9] Getting to Know Your Potentiostat: Potentiostat Stability Considerations. Technical Note 200. Princeton Applied Research.
- [10] M. Alcañiz. Tesis doctoral: Diseño de un sistema de lengua electrónica basado en técnicas electroquímicas voltamétricas y su aplicación en el ámbito agroalimentaria. UPV (2011).

| Conclusiones

1 Conclusiones a los objetivos específicos

- Se ha realizado la puesta a punto de un sistema de nariz electrónica para la medida de gases y vapores en presencia de agua.
- Se ha estudiado la capacidad del sistema para discriminar hasta siete muestras de naturalezas distintas, mediante técnicas de análisis estadístico como el PCA o la red neuronal SOM. Además, se ha comprobado su excelente eficiencia en la detección de simulantes de agentes nerviosos, usando las técnicas de análisis estadístico PCA y PLS.
- Se ha realizado un estudio en profundidad sobre los factores que afectan a la reproducibilidad de las medidas voltamétricas cuando se utilizan como electrodos lenguas electrónicas (y la nariz electrónica propuesta en esta tesis). De este modo se propone un método para garantizar una distribución homogénea del campo eléctrico mediante un diseño minucioso de la celda electroquímica.
- Se ha desarrollado un sistema de medida electrónico para la implementación de las técnicas de voltametría y potenciometría necesarias para la utilización de la nariz electrónica húmeda investigada en las tres publicaciones presentadas. El sistema está compuesto por una aplicación software y un equipo electrónico de medida. La aplicación de PC en Matlab controla el dispositivo electrónico y se encarga de la generación, muestreo y almacenamiento de señales. El dispositivo electrónico realiza los ensayos de voltametría y potenciometría indicados por la aplicación PC. El sistema se completa con un conjunto de sensores no específicos, cuya elección depende de la aplicación en concreto que se desee implementar.

2 Conclusiones al objetivo general

Se ha diseñado y desarrollado un sistema de nariz electrónica húmeda para la detección de gases y vapores, con el objetivo de solucionar la problemática de interferencia con el agua que presentan los sensores más comúnmente utilizados en el desarrollo de narices electrónicas, los basados en óxidos metálicos.

Como de hilo conductor de este desarrollo se han utilizado tres publicaciones en revistas científicas para finalizar con un capítulo de descripción del diseño del sistema electrónico para la medida de voltametría a partir del potencial a circuito abierto (OCP).

La primera publicación es una prueba de concepto del sistema en la que se discriminan siete muestras de distinta naturaleza. La segunda es una aplicación específica del sistema para la detección de simulantes de agentes nerviosos. La tercera es un estudio para resolver los problemas de reproducibilidad de la celda electroquímica en medidas con electrodos y las técnicas de medida utilizadas.

Los resultados de estos estudios hacen pensar que es posible plantear futuros estudios con muestras tanto líquidas como sólidas para la detección de sustancias volátiles, vapores o gases en multitud de ámbitos, como la industria alimentaria (inspecciones de la calidad de los alimentos, monitorización de procesos de fermentación, deterioro y rancidez, etc.) o la monitorización medioambiental (emanaciones de aguas subterráneas, identificación de residuos tóxicos, monitorización de la calidad del aire, etc.). Atendiendo a la preocupación de monitorización medioambiental, la segunda publicación se desarrolla en el ámbito de la detección de agentes nerviosos, que es un tema de alto interés actualmente debido a las recientes noticias sobre su uso en zonas de conflicto bélico.

Se concluye esta tesis doctoral con el desarrollo de un sistema electrónico de medida que permite la implementación de las técnicas de voltametría y potenciometría a partir de las conclusiones obtenidas de las tres publicaciones presentadas para su utilización tanto en el sistema de nariz electrónica húmedo propuesto, como para cualquier otro conjunto de electrodos que utilice estas técnicas de medida.

| Conclusions

1 Conclusions to the specific objectives

- I have developed and set-up an electronic nose system for the measurement of gases and vapors in the presence of water.
- The system's ability to discriminate up to seven samples of different nature has been studied, by means of statistical techniques such as PCA or the neural network SOM. Besides, it has been tested its excellent efficiency in the detection of nerve agent mimics, by means of the statistical analytical techniques PCA and PLS.
- An in depth study has been performed on the factors affecting the reproducibility of voltammetric measurements when performed with electrodes such as electronic tongues (and the electronic nose designed in this PhD thesis). Thus, I propose a method to improve the reproducibility of the measurements performed with these systems by designing an electrochemical cell that warrants a homogenous distribution of the electric field and improves its limit of detection.
- I have developed an electronic measurement system, which integrates voltammetry and potentiometry techniques. These techniques are necessary for the operation of the humid electronic nose investigated in the publications presented in the previous chapters. This system is composed of a PC application and an electronic measuring system. The Matlab software application is in charge of the generation, sampling and storage of signals. The electronic device performs the voltammetry and potentiometry tests commanded by the PC application. The system completes with an array of non-specific sensors, which may vary depending on the specific application to be implemented.

2 Conclusions to the general objective

A humid electronic nose system has been designed and developed for the detection of gases and vapors. The design of this humid electronic nose arose with the aim to solve the interference problems that sensors based on metal oxides (which are extensively used in electronic noses) exhibit in the presence of water.

This thesis is based on three journal articles and a descriptive chapter of the design of the electronic system for voltammetric measurements from a zero current potential (OCP) measurement.

The first article is a proof of concept of the system in which seven samples. The second article is a very specific application of the system for the detection of nerve agent mimics. The third article is a study to solve the reproducibility problems that usually arise in measurements that involve the use of electrodes and the measuring techniques used in this thesis.

The results obtained from these studies reveal that it is possible to consider carrying out studies on liquid or solid samples for the detection of volatiles, vapors or gases in a wide variety of areas. Fields such as food industry (food quality inspections, monitoring of fermentation processes, spoilage and rancidness, etc.) or environmental monitoring (underground water monitoring, identification of toxic residues, air quality monitoring, etc.). Paying attention to the environmental concern, the second article covers the detection of nerve agents, which is a topic of high interest due to the recent news about their use in areas of armed warfare.

This doctoral thesis concludes with the development of a measuring electronic system, which allows the implementation of voltammetric and potentiometric techniques. This design is based on the three articles presented in the thesis for its use not only with a humid electronic system, but also with any other sensor array that may utilize these measuring techniques.

