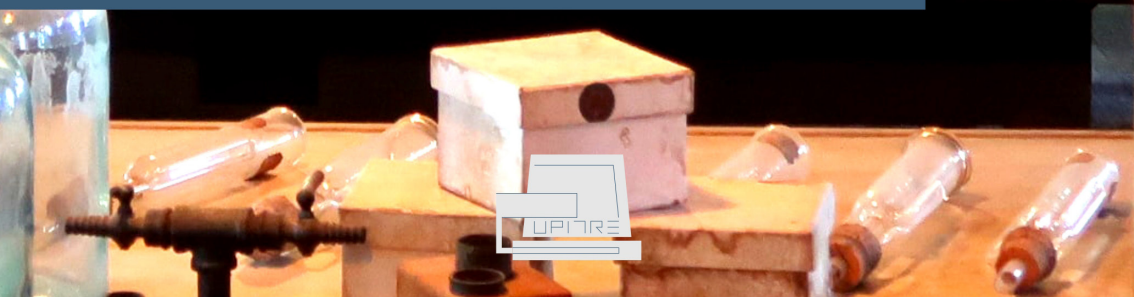


Sensores potenciométricos

Ejemplos prácticos



María de los Ángeles
Arada Pérez



Sensores potenciométricos

Ejemplos prácticos



Sensores potenciométricos

Ejemplos prácticos

María de los Ángeles Arada Pérez



Ediciones UO

Colección: Pupitre

Directora: Dr.C. Yaritza Tardo Fernández

Diseño de colección: Carlos Manuel Rodríguez García y Adrian Amed
García Jardines

Edición: Liusa González Ruiz

Corrección: Carlos Manuel Rodríguez García

Composición: Alina Montoya Revilla

Diseño de cubierta: Adrian Amed García Jardines

© María de los Ángeles Arada Pérez, 2020

© Sobre la presente edición:

Ediciones UO, 2020

ISBN: 978-959-207-672-3

EDICIONES UO

Patricio Lumumba s/n, Altos de Quintero

Santiago de Cuba, Cuba

e-mail: edicionesuo@gmail.com

redes sociales: www.facebook.com/edicionesuo

página web: <https://ediciones.uo.edu.cu>

Este texto se publica bajo licencia *Creative Commons Atribucion-NoComercial-NoDerivadas* (CC-BY-NC-ND 4.0). Se permite la reproducción parcial o total de este libro, su tratamiento informático, su transmisión por cualquier forma o medio (electrónico, mecánico, por fotocopia u otros) siempre que se indique la fuente cuando sea usado en publicaciones o difusión por cualquier medio.

Agradecimiento

A mi familia que con su ayuda desinteresada me apoyó, en todo el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Leonel Pérez Marín, quien confió en mí en todo momento y me dio el apoyo económico y material.

Al Dr.C. Julián Alonso Chamarro de la Universidad de Barcelona, España; al Dr.C. Mehrdad Yazdani Pedram, del Departamento de Orgánica y Química Física de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de Chile; al Dr.C. Lucio Angnes del Instituto de Química (USP) Sao Paulo, Brasil; y al Dr.C. Santiago Vicente Luis La Fuente, de la Universidad Jaume I, Castellón de la Plana, España.
Agradecimiento eterno.

A mis alumnos y colegas que trabajaron a mi lado

Presentación

Este libro ha sido confeccionado como material de apoyo a los estudiantes universitarios de pregrado y posgrado en ciencias químicas. Es una breve introducción a los sensores químicos, fundamentalmente a los potenciométricos, en especial a aquellos que incorporan material biológico (biosensores), en este caso amperométrico. Esta es la recopilación del quehacer de muchos años dedicado a esta rama de investigación con muy modestos recursos.

El volumen muestra resultados prácticos en la construcción de sensores y biosensores aplicados a muestras reales, empleados en el Departamento de Química de la Universidad de Oriente, en la facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Sirva para el conocimiento, aunque no sea especialista en la temática y permita, si es de su interés, el poder construir algún día sus propios sensores.

La autora

Introducción

La aplicación en química analítica de los sensores químicos la introdujo Cremer en 1906, quien de forma accidental descubrió el potencial que se generaba a través de una fina membrana de vidrio interpuesta entre dos soluciones con diferentes concentraciones de iones hidronio. A partir de este hecho se desarrollaron electrodos con membrana de vidrio que hicieron posible la determinación de iones hidronio en soluciones acuosas, con elevada selectividad.

Un electrodo se define como un sistema de dos o más fases donde las interfases solo son permeables a ciertas especies químicas que están presentes en las fases que separan, siendo estas especies cargadas.

Los electrodos selectivos a iones (ESI), de acuerdo con la definición propuesta por la comisión de la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) son un tipo de sensores químicos, basados en películas delgadas o membranas selectivas como elementos de reconocimiento que, de manera selectiva, responden a un ion o compuesto químico, lo cual genera una señal eléctrica que depende de la concentración.

Este dispositivo se diferencia de los sistemas que involucran reacciones redox, aunque ellos con frecuencia contienen un electrodo de segunda clase como electrodo de referencia interno. La respuesta a la diferencia de potencial tiene como su componente principal el cambio de la energía libre asociada con la transferencia de masa (por intercambio iónico, extracción con solvente o algún otro mecanismo) a través de una frontera de fase.

Una vez dispuesto el electrodo de vidrio para pH, se desarrollaron otros electrodos para diversos iones, como electrodos de membrana sólida. En 1961 Pungor comercializó un electrodo basado en un material cristalino compuesto yoduro de plata embebido en una matriz inerte, como membrana sensible a iones yoduro. Luego fueron introducidos nuevos materiales como ionóforos, lo que produjo un salto cualitativo,

entre los trabajos que podemos destacar está el electrodo de trifluoruro de lantano para la determinación de iones fluoruro.

Ya en la década de 1970, se desarrollaron sistemas de detección basados en semiconductores. Un paso importante en el desarrollo de los ESI lo constituyó el empleo de dispositivos microelectrónicos como transductores, cuando se desarrolló por primera vez un sensor de pH empleando transistores de efecto de campo en los cuales se sustituyó el contacto metálico de la compuerta por un óxido semiconductor, la solución electrolítica y un electrodo de referencia. Los dispositivos así construidos fueron denominados Transistores de Efecto de Campo Selectivos a Iones (ISFET, por sus siglas en inglés) y su modificación con Membranas Selectivas Transistores de Efecto de Campo (CHEMFET, en inglés) también se incluyen dentro del grupo de sensores potenciométricos. En 1962 aparecieron, por primera vez, los sensores de naturaleza enzimática y no fue hasta 1977 que apareció el término biosensor para las descripciones de electrodos selectivos modificados con enzimas. Más tarde, se iniciaron estudios en los sensores de fibras ópticas, los primeros trabajos aparecieron publicados en 1975.

El estudio de un electrodo de calcio por Tendelo en 1936 y colaboradores, se produjo a partir de las composiciones específicas de vidrio para conseguir electrodos selectivos a diferentes iones, desarrolladas por Eisenman en 1967 y colaboradores, producidos más tarde para calcio, fluoruro y plata y para los iones potasio que desarrollaron otros autores.

Muchas fueron las ramas de las ciencias beneficiadas por los sensores químicos, los cuales han sido utilizados en el medioambiente, en la industria alimentaria, en procesos de control de calidad en la industria farmacéutica y de comestibles, como en productos lácteos, cereales, azúcar, bebidas y caramelos; en análisis de rutina en investigaciones médicas en la saliva, orina, sudor, en fluidos, suero, residuos industriales, mineros, en el análisis de todo tipo de aguas. Otros sensores han encontrado aplicaciones en investigación básica, en el estudio de reacciones de formación de complejos y constantes de estabilidad, determinación de coeficientes de actividad y se han empleado en valoraciones potenciométricas, entre otros.

Los sensores potenciométricos han sido útiles para realizar determinaciones en la propia línea de producción, así se ha combinado la detección potenciométrica con otra como la cromatografía iónica, la cromatografía en columna abierta y la electroforesis capilar. Se experimentó un importante cambio en el desarrollo de estos sensores cuando se pasó

de la determinación de un solo analito a la determinación de múltiples componentes en una misma muestra mediante el empleo de las denominadas lenguas electrónicas (sensores con sensibilidad cruzada (*cross sensitivity*)).

Los electrodos modificados químicamente (en inglés, Chemically Modified Electrode CME), surgieron a mediados de 1970, como una necesidad para eliminar los problemas causados por el efecto de la matriz. Estos electrodos representan una nueva categoría entre los sensores electroquímicos pues muestran un alto grado de selectividad. Desde que surgieron han ganado interés el estudio de las características de la superficie de los CME y sus aplicaciones es una de las áreas de investigación más activas en la electroquímica y química analítica actual.

Se definen como poderosos sensores, voltamperométricos, amperométricos y potenciométricos, obtenidos por la modificación con un reactivo seleccionado (monomérico o polimérico) de la superficie o de la matriz del material del electrodo que gobierna sus propiedades electroquímicas, siendo estas mejoradas (mejor sensibilidad, selectividad y estabilidad).

Al inmovilizar un producto químico, sus propiedades físico-químicas y químicas son transferidas a la superficie del electrodo, por lo que primero debe seleccionarse cuáles son las propiedades deseadas. Es decir, el electrodo puede ser diseñado a medida para exhibir las propiedades deseadas.

La pasta de carbón es uno de los materiales más utilizados en la fabricación de sensores CMCP dentro de la química electroanalítica. Presentan una respuesta muy estable, que puede restablecerse con solo cambiar la capa exterior de la pasta y puliendo de nuevo la superficie. En el campo de la Química Analítica se han utilizado en determinaciones potenciométricas, hay pocas aplicaciones. Sus principales características, cuando se emplean en este campo, son una rápida respuesta, límites de detección relativamente bajos, no tienen efectos de memoria, tiempo de activación cortos, fácil preparación, necesidad de pequeños volúmenes de muestra y mejor estabilidad y protección contra los compuestos orgánicos interferentes que los electrodos de ion selectivo convencionales. La respuesta potenciométrica de los CMCPEs es proporcional a la concentración del analito en la muestra y no es necesario el uso de la disolución de referencia interna. También se han utilizado en electrocatálisis, preconcentración selectiva y permeabilidad selectiva.

Su principal uso se basa en la preconcentración del analito de la disolución de la muestra por deposición química en la superficie del electrodo y su posterior análisis por voltametría en un electrolito soporte. Como modificadores químicos suelen utilizarse reactivos complejantes y cambiadores iónicos. De este modo, se consiguen mejores sensibilidades y selectividades en la voltametría de CMCPÉs, aunque están fuertemente afectadas por las condiciones experimentales.

Todo el trabajo de investigación en el campo de los ESI propició el desarrollo de nuevos electrodos, lo que permitió disponer en la actualidad de variados ESI para aniones y cationes, los cuales pueden ser determinados por potenciometría, a pesar de que existen también métodos de detección basados en la polarografía, voltametría o amperometría.

Electrodos selectivos a iones

Clasificación de los electrodos selectivos a iones

La clasificación de los electrodos de membrana ha ido evolucionando con el tiempo. En 1969 Eisenman establece diferencia solo entre intercambiadores de iones sólidos y líquidos. Más tarde, en 1980 Covington clasifica los materiales activos para electrodos selectivos de iones en tres categorías: vidrio, sales insolubles y sustancias intercambiadoras de iones. Posteriormente, Amman confecciona una clasificación de membranas de acuerdo con las recomendaciones de la IUPAC:

1. Membranas sólidas:
 - Homogéneas: membranas de vidrio, membranas cristalinas.
 - Heterogéneas: sustancias cristalinas dispersas en una matriz inerte.
2. Membranas líquidas:
 - Intercambiadoras de iones clásicos.
 - Portador cargado.
 - Portador neutro.
3. Membranas de electrodos especiales:
 - Electrodos sensibles a gases.
 - Electrodos enzimáticos.

Según las pautas dadas por la comisión coordinadora lexicográfica de ciencias, los electrodos selectivos a iones pueden clasificarse en:

Electrodos primarios, dentro de ellos se encuentran:

1. Cristalinos: pueden ser homogéneos o heterogéneos.
 - b. De membranas homogéneas: electrodos selectivos a iones en los que la membrana es un material cristalino preparado a partir de un compuesto único o bien a partir de una mezcla homogénea de compuestos (ejemplo: Ag_2S , $\text{AgI}/\text{Ag}_2\text{S}$).

- c. De membranas heterogéneas: formados por un material cristalino mezclado con una matriz inerte, como goma de silicona o PVC, o aplicado sobre grafito hidrofobizado, resina epoxi, etc.
2. Electrodo no cristalino, en los cuales un soporte que contiene una especie iónica (catiónica o aniónica) o una no cargada forma la membrana selectiva de iones, esta es interpuesta entre dos soluciones acuosas. El soporte puede ser poroso (filtro millipore, vidrio sinterizado, entre otros) o no poroso (vidrio o material polimérico inerte, cloruro de polivinilo [PVC]). Estos electrodos exhiben una respuesta a causa de la presencia del material intercambiador de iones en la membrana.
3. Electrodo de matriz rígida: electrodos selectivos a iones en los que la membrana sensora es un bulbo de vidrio delgado. La composición química del vidrio determina la selectividad de la membrana. En este grupo se incluyen los electrodos selectivos al ion hidronio.

Electrodos de portador móvil, dentro de estos se encuentran:

- Cargados positivamente: cationes voluminosos (como los de las sales cuaternarias de amonio o de las sales de complejos de metales de transición, sales como los derivados de 1-10 fenantrolina), los cuales cuando se disuelven en un solvente orgánico adecuado y son introducidos en un soporte inerte (como el filtro millipore o PVC) forman membranas que son sensibles a los cambios de actividad y, por tanto, de concentración de los aniones.
- Cargados negativamente: agentes complejantes del tipo RO_2PO_2 ; o aniones voluminosos como el anión tetra-p-clorofenilborato, los cuales cuando se disuelven en un solvente orgánico adecuado y son introducidos en un soporte inerte forman membranas sensibles a los cambios de actividad y, como consecuencia, de concentración de los cationes.
- Portadores no cargados: electrodos basados en soluciones de portadores moleculares para cationes (antibióticos, compuestos macrocíclicos u otros agentes formadores de complejos) que pueden ser empleados en preparaciones de membranas sensibles y selectivas a ciertos cationes.

Electrodos selectivos a iones sensibilizados, entre los que se recogen:

- Electrodo sensible a gases: sensores compuestos de un electrodo indicador y uno de referencia, con una membrana permeable a gases o una cámara de aire que separa la solución a ensayar de

una película de solución intermedia. Esta se mantiene entre la membrana de separación y la del electrodo sensible a los iones, o bien se coloca sobre la superficie del electrodo mediante un agente humectante (como en los electrodos de capa de aire).

La solución intermedia interacciona con la especie gaseosa de tal manera que se produce un cambio en algún parámetro evaluable (por ejemplo, el pH). Este cambio es proporcional a la presión parcial de la especie gaseosa en la muestra. Una excepción de esta clasificación es el electrodo de hidrógeno que responde a la presión parcial de hidrógeno y al pH. El electrodo de oxígeno pertenece a esta clasificación; pero a diferencia de los restantes es un instrumento amperométrico y no potenciométrico.

- **Electrodos de substrato enzimático:** sensores en los que un electrodo selectivo a iones se cubre con una capa que contiene una enzima que reacciona con una sustancia orgánica o inorgánica (substrato), produciendo una especie a la que responde el electrodo. El sensor puede ser cubierto con una capa de substrato que reacciona con la enzima a ensayar.

Electrodos de referencia

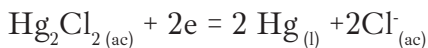
En el trabajo con ESI, además del electrodo indicar está presente un segundo electrodo, cuyo potencial es conocido, prácticamente constante y que no interviene con la solución a medir “electrodo de referencia”.

De estos existe una gran variedad, entre ellos están:

A. Electrodo de calomelanos. Consiste en una mezcla de cloruro metálico y cloruro mercurioso (calomelanos) en contacto con una disolución de cloruro de potasio.



La semireacción es:



Teniendo en cuenta que el Hg y el Hg_2Cl_2 están en estado estándar, el potencial de la semi-celda depende de la concentración del ion cloruro en la disolución:

$$E = E^\circ - 0,059/2 \log [\text{Hg}]^2 [\text{Cl}]^2 / [\text{Hg}_2\text{Cl}_2] = E^\circ - 0,059 \log [\text{Cl}^-]$$

Por lo general, los electrodos de referencia de este tipo utilizan una disolución de KCl saturada y un exceso de KCl sólido. Al electrodo en esta composición se le denomina como electrodo de calomelanos saturado (ECS) figura 1, para el cual el $E^\circ = 0,241\ 3\ \text{v}$, a una temperatura de $25\ ^\circ\text{C}$.

Para el electrodo de calomelanos normal (ECN) el KCl es de concentración un mol por litro y $E^\circ = 0,281\ 2\ \text{v}$.

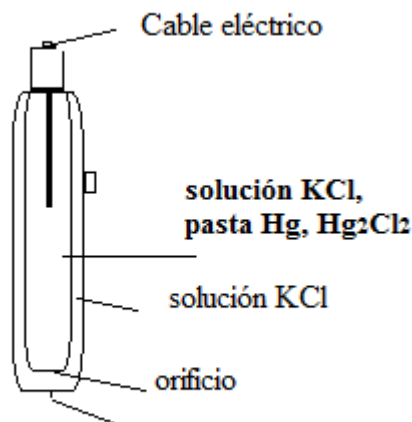
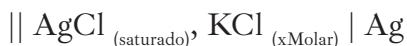
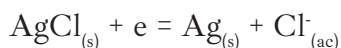


Figura 1. Electrodo de calomel

B. Cloruro de plata (Ag/AgCl). Está formado por un hilo de Ag sobre el cual se deposita AgCl, en general por vía electroquímica, en una solución de NaCl o KCl, en la cual el hilo de Ag actúa como ánodo. La concentración del ion cloruro y la de la plata está fijada por la solubilidad del cloruro de plata.



La semireacción es:



y su potencial de equilibrio a $25\ ^\circ\text{C}$ es:

$$E = 0,222\ 4 - 0,059 \log [\text{Cl}^{-}].$$

En agua de mar, el valor aproximado del potencial es de + 0,25 V respecto al electrodo normal de hidrógeno (ENH) a 25 °C. El potencial del electrodo depende de la salinidad de la solución en la cual el electrodo está sumergido. Tiene $E^\circ = 0,222 \text{ V}$ a 25 °C.

Este electrodo puede utilizarse como electrodo indicador para los iones cloruros (figura 2). Otros electrodos de haluros de plata actúan de forma análoga, pero con diferentes E° .

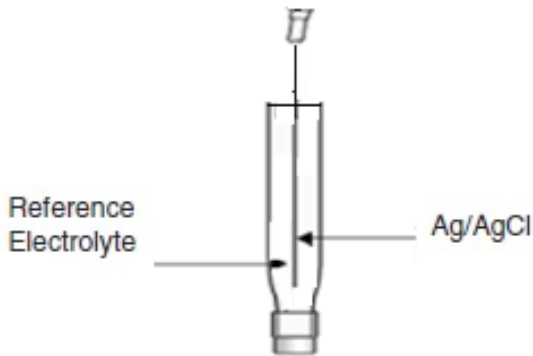


Figura 2. Electrodo de plata/cloruro de plata, Ag/AgCl

C. Electrodo de plata cloruro de plata de doble unión. Este electrodo, desde que comenzó su comercialización es muy empleado, debido a que hace menos complejo el montaje de la celda de trabajo, al poder trabajar con una celda sencilla, al minimizar posibles interferencias que se podrían producir; por ejemplo en la determinación de haluros la doble unión que hace de puente evita estos inconvenientes (figura 3).



Figura 3. Electrodo de Ag/AgCl de doble unión

Procesamiento de la data experimental

Los datos de potencial obtenidos para los ESI son procesados usando una extensión de la ecuación de Nernst, derivada empíricamente por Nicolsky (ecuación 1). Esta relaciona la actividad de la especie iónica a determinar con el voltaje medido en la celda electroquímica, teniendo en cuenta todas las especies interferentes.

$$E = K + S \cdot \log \left[a_A + K_{AB}^{Pot} \cdot a_B^{Z_A/Z_B} \right] \quad (1)$$

donde

K - constante que incluye el potencial cero o estándar del electrodo indicador, el potencial del electrodo de referencia y el potencial de unión líquida, todos en milivolts.

E - potencial de la celda (mV)

S - pendiente nernstiana (mV.dec⁻¹)

α_A - Actividad del ion principal o primario

α_B - Actividad del ion interferente

Z_A - carga del ion principal, incluido el signo

Z_B - carga del ion interferente, incluido el signo

K_{AB}^{Pot} - coeficiente de selectividad potenciométrico

Composición de la membrana líquida de los electrodos selectivos a iones

Los ESI más empleados desde la década de los sesenta del pasado siglo son los de membrana líquida, ya que el analista puede construir su propio electrodo para un fin determinado. La membrana líquida está constituida por tres componentes: el receptor, el disolvente mediador (en general, plastificante) y la matriz, que suele ser de naturaleza polimérica. De ellos, el más importante es el primero, denominado también ionóforo o sensor, principal responsable de la selectividad. El ionóforo o receptor es el elemento capaz de reconocer selectivamente a una especie química determinada.

Las propiedades de la membrana final, están relacionadas con la unión de sus componentes y de sus respectivas naturalezas. El disolvente mediador según su viscosidad modula la permeabilidad de la fase orgánica.

nica, además de ajustar la movilidad de los centros de coordinación de la membrana. En este contexto, Möller en (1972) ofreció un mecanismo para la posible interacción del plastificante con el polímero.

De acuerdo con lo anterior, la elección del plastificante o disolvente mediador es una etapa crítica en la preparación de la membrana. Los plastificantes más usados pueden clasificarse en tres grupos: diésteres de ácidos (aromáticos) y ácidos dicarboxílicos, sales organofosforadas y derivados nitro-aromáticos.

Todos ellos reúnen características que los convierten en disolventes con utilidad práctica para las membranas líquidas, entre ellas se encuentran las propiedades solubilizantes para el sustrato y demás aditivos de la membrana. De igual modo, la viscosidad y la constante dieléctrica, las que deben ser adecuadas, estables, tener inercia química respecto al ion hidronio, poseer baja presión de vapor —puede mantenerse baja eligiendo compuestos lipofílicos de elevados pesos moleculares— y, sobre todo, debe ser altamente lipofílicos, biocompatibles.

La lipofilidad de los plastificantes puede aumentarse alargando los residuos alquílicos ramificados, pero se corre el riesgo de que las membranas muestren cristalización, lo cual impone un límite a la selectividad que pudiera alcanzarse con las membranas que presenten estos mediadores. Los disolventes mediadores con largas cadenas alquílicas son capaces de separar las cadenas poliméricas. Es esta la causa por la cual se piensa que ellos sean excelentes plastificantes, sin embargo, la débil interacción con la cadena polimérica es responsable de su tendencia a exudar. Por esta razón, se propone el uso de polímeros con menos interacción intermolecular o la sustitución de las cadenas alquílicas del plastificante por grupos polares o polarizables.

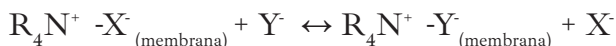
El otro componente clave de la membrana líquida, la matriz, ha sido ampliamente estudiado, así lo pone de manifiesto la gran variedad de compuestos ensayados. Los más empleados son: goma de silicona, polimetilmetacrilato, poliuretano, poliestireno, polivinil-isobutiléter y cloruro de polivinilo. De todos ellos el más popular y el que mejor se adapta a los requerimientos de la membrana es el PVC. Esta matriz constituye un soporte no poroso del sustrato, caracterizada por una elevada estabilidad mecánica y química, baja resistencia eléctrica e inercia química.

Los tres elementos comentados (ionóforo, disolvente mediador y matriz) son los componentes básicos de la membrana líquida, sin embargo, en ocasiones están presentes otros compuestos denominados aditivos de la membrana.

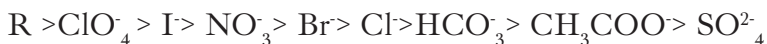
Electrodos de membranas líquidas con portador móvil cargados positivamente

Los ESI basados en membranas líquidas de portador móvil cargados positivamente, forman parte de los sensores químicos de naturaleza potenciométrica y como tales, su aplicación se fundamenta en el cambio de potencial a corriente nula, originado por la variación de la actividad y, por tanto, de concentración de una especie iónica en la solución de trabajo.

En este caso, el material electroactivo es un intercambiador iónico, formado por un catión hidrófobo (ej. ion amonio cuaternario) y un anión, inorgánico u orgánico. La reacción que puede ocurrir es de intercambio, a través de la cual se reconoce el analito.



Para estos sistemas, la selectividad de la membrana sensora estará determinada por las propiedades del disolvente mediador, para el cual se establece una relación que depende de la lipofilidad del anión considerado. Un sistema de este tipo muestra un patrón de selectividad fijado, conocido como serie de Hofmeister:



En la tabla 1 pueden observarse para varios ESI con la sal cuaternaria de amonio nitrato de tetradecil amonio (NTDA), sobre un soporte conductor los coeficientes de selectividad potenciométricos (K_{AB}^{Pot}), por el método de las soluciones mezcladas.

Tabla 1. Coeficiente de selectividad de sensores con nitrato de tetradecil amonio para un nivel de concentración del ion interferente de 10^{-2} mol/dm³

Anión Intf	o-NPOE	TEHP	DBP	DOP	TBP	DOS	NOX
Cl ⁻	$8,69 \cdot 10^{-3}$	$5,25 \cdot 10^{-3}$	$2,73 \cdot 10^{-2}$	$4,85 \cdot 10^{-3}$	$3,51 \cdot 10^{-2}$	$8,17 \cdot 10^{-3}$	-
Br ⁻	$4,56 \cdot 10^{-2}$	$7,32 \cdot 10^{-2}$	$6,57 \cdot 10^{-2}$	$8,04 \cdot 10^{-2}$	$2,03 \cdot 10^{-1}$	$7,42 \cdot 10^{-2}$	$1,12 \cdot 10^{-1}$
ClO ₃ ⁻	$9,91 \cdot 10^{-1}$	1,45	$5,61 \cdot 10^{-1}$	$6,02 \cdot 10^{-1}$	2,04	2,28	1,04
BrO ₃ ⁻	$7,20 \cdot 10^{-2}$	$3,71 \cdot 10^{-2}$	$4,69 \cdot 10^{-2}$	$2,21 \cdot 10^{-2}$	$8,95 \cdot 10^{-2}$	$2,04 \cdot 10^{-3}$	$5,30 \cdot 10^{-2}$
IO ₃ ⁻	$5,22 \cdot 10^{-4}$	$1,76 \cdot 10^{-2}$	$1,64 \cdot 10^{-3}$	$2,84 \cdot 10^{-3}$	-	-	-
Bz ⁻	$4,23 \cdot 10^{-2}$	$1,23 \cdot 10^{-2}$	$2,94 \cdot 10^{-2}$	$4,51 \cdot 10^{-2}$	-	$1,37 \cdot 10^{-2}$	$3,72 \cdot 10^{-2}$
SO ₄ ²⁻	$1,48 \cdot 10^{-4}$	$6,66 \cdot 10^{-5}$	$4,77 \cdot 10^{-4}$	$2,31 \cdot 10^{-4}$	-	$2,90 \cdot 10^{-4}$	$4,06 \cdot 10^{-4}$
CO ₃ ²⁻	$9,75 \cdot 10^{-4}$	-	$5,22 \cdot 10^{-4}$	$1,28 \cdot 10^{-4}$	$2,41 \cdot 10^{-2}$	$6,60 \cdot 10^{-4}$	$4,38 \cdot 10^{-4}$

Anión Intf	o-NPOE	TEHP	DBP	DOP	TBP	DOS	NOX
HPO ₄ ²⁻	1,22 · 10 ⁻⁴	1,12 · 10 ⁻⁴	1,90 · 10 ⁻⁴	9,96 · 10 ⁻⁵	2,46 · 10 ⁻³	2,59 · 10 ⁻⁴	-
C ₂ O ₄ ²⁻	<10 ⁻⁴	1,36 · 10 ⁻⁵	5,69 · 10 ⁻⁴	3,71 · 10 ⁻⁴	1,44 · 10 ³	3,77 · 10 ⁻⁴	-
CrO ₄ ²⁻	4,33 · 10 ⁻⁴	5,13 · 10 ⁻⁴	1,53 · 10 ⁻³	1,16 · 10 ⁻³	5,17 · 10 ⁻³	1,56 · 10 ⁻³	-

Por su parte, en la tabla 2 pueden observarse los coeficientes de selectividad potenciométricos de ESI empleando como ionóforo la sal cuaternaria asimétrica cloruro de trioctil metil amonio.

Tabla 2. Coeficiente de selectividad de la sal cuaternaria cloruro de trioctil metil amonio (Citoma), para un nivel de concentración del ion interferente de 10⁻² mol/dm³

Anión Intf.	o-NPOE	TEHP	DBP	DOP	TBP	DOS	NOX
Cl ⁻	1,06 · 10 ⁻³	5,71 · 10 ⁻²	1,72 · 10 ⁻²	6,16 · 10 ⁻²	2,11 · 10 ⁻²	3,31 · 10 ⁻³	2,70 · 10 ⁻²
Br ⁻	1,25 · 10 ⁻¹	1,07 · 10 ⁻¹	1,65 · 10 ⁻¹	2,64 · 10 ⁻¹	1,14 · 10 ⁻¹	2,72 · 10 ⁻¹	3,44 · 10 ⁻¹
ClO ₃ ⁻	1,12	-	1,35	1,19	1,72	-	2,40
BrO ₃ ⁻	6,31 · 10 ⁻²	1,35 · 10 ⁻¹	5,71 · 10 ⁻²	1,35 · 10 ⁻¹	6,89 · 10 ⁻²	6,23 · 10 ⁻²	4,92 · 10 ⁻²
I ⁻	3,26	-	-	-	9,61	-	-
NO ₂ ⁻	1,96 · 10 ⁻¹	1,96 · 10 ⁻¹	-	1,04 · 10 ⁻¹	6,49 · 10 ⁻²	2,29 · 10 ⁻¹	-
IO ₃ ⁻	2,03 · 10 ⁻³	3,93 · 10 ⁻²	6,77 · 10 ⁻²	1,48 · 10 ⁻²	7,12 · 10 ⁻²	2,63 · 10 ⁻²	7,58 · 10 ⁻³
SO ₄ ²⁻	3,96 · 10 ⁻⁴	4,17 · 10 ⁻³	1,08 · 10 ⁻³	-	2,15 · 10 ⁻³	3,29 · 10 ⁻⁴	2,10 · 10 ⁻⁴
CO ₃ ²⁻	1,96 · 10 ⁻³	3,55 · 10 ⁻³	1,03 · 10 ⁻³	1,09 · 10 ⁻²	2,09 · 10 ⁻³	1,62 · 10 ⁻⁴	4,18 · 10 ⁻⁴
HPO ₄ ²⁻	6,63 · 10 ⁻⁴	5,17 · 10 ⁻²	1,03 · 10 ⁻³	5,2 · 10 ⁻³	4,54 · 10 ⁻⁴	6,54 · 10 ⁻⁴	-
C ₂ O ₄ ²⁻	2,13 · 10 ⁻³	1,13 · 10 ⁻³	2,44 · 10 ⁻³	1,12 · 10 ⁻²	2,65 · 10 ⁻³	2,94 · 10 ⁻³	1,88 · 10 ⁻³
CrO ₄ ²⁻	2,54 · 10 ⁻²	2,19 · 10 ⁻¹	-	5,39 · 10 ⁻²	-	2,71 · 10 ⁻²	9,41 · 10 ⁻³

En la tabla 2 también se aprecia que, en general, los coeficientes de selectividad de los aniones divalentes son de un orden superior a los reportados para el mismo anión y en condiciones experimentales semejantes, para el ionóforo NTDA. Esto pudiera ser debido a que en el ionóforo Citoma la carga parcial positiva que se encuentra sobre el nitrógeno está menos impedida desde lo estérico con relación al ionóforo NTDA, lo que facilita el intercambio con dichos aniones.

Resulta difícil encontrar un patrón de conducta en los valores de los coeficientes de selectividad potenciométricos (K_{AB}^{Pot}) obtenidos para los ESI construidos con ambos ionóforos (ambas sales cuaternarias de amonio, una de ellas la NTDA simétrica y la otra Citoma asimétrica). No obstante, es evidente que los valores reportados en las tablas 1 y 2 son los mejores resultados obtenidos con los ESI que tienen como ionóforo al NTDA, sobre todo para los aniones divalentes. En cuanto a la influencia de las propiedades de los disolventes mediadores en la selectividad, no parece haber un patrón de conducta, sin embargo, se pueden encontrar algunos aspectos interesantes.

En el caso de la selectividad para los ESI construidos con el ionóforo NTDA, los K_{AB}^{Pot} de los iones monovalentes, los mejores resultados son los de los ESI construidos con los plastificantes o-NPOE ($\epsilon_r = 23,6$ y $\log P_{TLC} = 5,9$) y el DOP ($\epsilon_r = 5,1$ y $\log P_{TLC} = 7$). Al parecer no solo la constante dieléctrica (ϵ_r) es el criterio determinante en la selectividad de un ESI, pues de ser así los ESI con el DOP no darían resultados comparables a los obtenidos con el o-NPOE. En todo caso, parece ser que la constante dieléctrica y la lipofilidad presentan un cierto sinergismo responsable de los mejores K_{AB}^{Pot} que se pueden obtener. De todos modos, no se puede afirmar que existe un patrón de conducta definido en función de los mediadores.

Para los aniones divalentes se acepta una gran influencia de la constante dieléctrica. Sin embargo, estos resultados muestran un rol también importante de la lipofilidad de las membranas (sobre todo para los ESI construidos con el ionóforo NTDA).

Electrodos del tipo *all-solid-state*

Los transductores del tipo *all-solid-state* no son más que transductores potenciométricos constituidos por membranas de PVC depositadas sobre un material sólido, sin referencia interna. Uno de los inconvenientes actuales de la mayoría de los electrodos selectivos es su elevado costo de producción, tanto desde el punto de vista de materiales, como de las tecnologías utilizadas. Los materiales *composites* conductores basados en polímeros pueden aliviar, en parte, esta situación, ya que pueden ser preparados a partir de procesos simples y económicos.

Los sensores potenciométricos *all-solid-state* basados en *composites* grafito-epoxi presentan una buena reproducibilidad y estabilidad de respuesta, así como un tiempo de vida superior a sus análogos con solución

de referencia interna. Esto se debe atribuir, en parte, a la buena adherencia de la membrana sobre el sustrato plástico conductor.

Principios básicos para un sensor químico y del transporte en las membranas líquidas

En el sistema de respuesta de un sensor químico (tabla 3) intervienen los siguientes elementos:

- Receptor (sistema de reconocimiento molecular o de intercambio iónico): es el más importante, ya que posibilita que el analito o sustrato sea reconocido.
- Transductor físico con él se lleva a cabo la transformación de la señal química en una señal eléctrica proporcional a ella.
- Modificador electrónico de la señal: tiene la función de suprimir tanto como sea posible las influencias externas causadas por interferencias eléctricas o campos magnéticos.
- Transductor de *output*: con él se hace el registro gráfico de los datos de salida.

Tabla 3. Sistema de medida de un sensor

Receptor	Transductor Físico	Modificación electrónica de la señal	Transductor de output
<ul style="list-style-type: none"> • Superficie de un semi-conductor. • Membrana selectiva de iones. • Biomolécula, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> • Electrodo. • Fototubo. • Fotodiodo. 	<ul style="list-style-type: none"> • Amplificador. • Conversor A-D. • Atenuador. • Filtro, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> • Registro gráfico. • Procesador de datos, etc.

Principios básicos del transporte en las membranas líquidas

Las membranas líquidas son películas en las cuales hay una transferencia de masa selectiva a gases, iones o moléculas que ocurre por la vía de la penetración y por los procesos de transporte. Estas se diferencian de las membranas sólidas en que los centros activos se mueven libres dentro de ella. En la fase membrana, los iones se mueven libremente, así como los pares iónicos que se formen. Además, se considera que los centros activos se mantienen en fase membrana, aunque se muevan en ella. Debe tenerse en cuenta que la formación de iones disociados está en equilibrio con las asociaciones moleculares que se forman en fase membrana, según establece la ley de acción de masas.

La primera contribución importante al desarrollo de las membranas líquidas modernas para ESI fue hecha por Ross y col. en 1966, quienes introdujeron las membranas de solventes poliméricos. Su desarrollo ha ido incrementándose debido a su alta selectividad y estabilidad mecánica. La principal característica de estas es la rápida velocidad en los procesos de transferencia de masa. Los mecanismos de transporte que explican el comportamiento de las membranas líquidas pueden ser: catiónicos, aniónicos y neutros.

Principales sensores químicos

De acuerdo con la naturaleza del receptor usado para el reconocimiento molecular o al tipo de transductor empleado los sensores químicos se pueden clasificar de la siguiente forma (tabla 4).

Tabla 4. Principales sensores químicos

Tipo de transductor	Principio de medida o Propiedad medible
Electroquímico	Potenciométricos Amperométricos ISFET y CHEMFET
Óptico	Fluorescencia Absorción Reflexión Luminiscencia
Piezoeléctrico	Frecuencia de resonancia de un cristal piezoeléctrico
Térmico	Calor de reacción

Los transductores electroquímicos, a través de una reacción electroquímica, suministran una señal eléctrica que es función de la concentración de especies cargadas en la solución (de manera más o menos selectiva). Los más importantes son los amperométricos y potenciométricos. Estos últimos se fundamentan en la medida del potencial que adquiere un electrodo en contacto con una solución a intensidad de corriente nula.

Mecanismo de respuesta de los ESI

La teoría de la respuesta de los ESI ha sido establecida por los pioneros en este tema, Eisenman y colaboradores en 1967, sin embargo, las contribuciones al potencial de membrana han sido objeto de muchos debates. Solo desde que fue reconocido que las membranas tienen propiedades

intrínsecas de intercambio iónico, es que se han podido desarrollar modelos intuitivos.

Cuando el ion primario está presente tanto en la fase acuosa como en la polimérica y está en equilibrio a través de la interface, es muy fácil que ocurra el intercambio iónico entre un ion que se encuentre en solución que tenga tamaño y carga parecida al ion que se encuentra en la fase membrana. Este intercambio puede ser caracterizado por una corriente de intercambio.

Cuando el potencial a través de la interface varía con respecto a su valor en equilibrio, fluirá una corriente neta i , la cual es proporcional a la desviación de la interface η de su valor de equilibrio, siempre que la desviación sea suficientemente pequeña. Esto trae consigo una resistencia a la transferencia de carga (R_{TC}) definida como (ecuación 2):

$$R_{TC} = \eta/i_0 \quad (2)$$

Esta RTC puede ser medible al modificar la señal. Los valores de R_{TC} dependen de las concentraciones del ion que se intercambia, tanto en la fase acuosa como en la fase membrana. Los electrodos de membrana selectivas a iones son por lo general investigados en celdas galvánicas en condiciones de corriente nula.

El potencial a través de la celda es la suma de todas las contribuciones de los potenciales de cada una de las fases presentes en la misma (ecuación 3).

$$E = K + E_j + E_m \quad (3)$$

donde

E_m es el potencial de membrana

E_j es el potencial de unión líquida en las interfaces correspondientes.

En la práctica se utilizan soluciones que además de ajustar la fuerza iónica del medio, minimicen el valor del potencial de unión líquida.

Potencial límite de fase

Desde que la membrana sensora es puesta en contacto con la muestra (para los ESI con soporte conductor) o interpuesta entre la muestra y la solución de referencia interna, se tienen varias contribuciones al potencial de la membrana, dados por los potenciales límites de fase en ambas

interfaces y el potencial de difusión dentro de la membrana iónica selectiva. Mientras que el potencial de la membrana en la interface con la solución de llenado interno pudiera ser tenido en cuenta o no, el potencial de difusión dentro de la propia membrana puede ser significativo si consideramos el gradiente de concentración de los iones con diferentes movilidades en la membrana.

Dada su importancia este hecho ha sido muy discutido para el esclarecimiento del potencial de difusión de la membrana selectiva. Sin embargo, estudios han demostrado que el potencial de difusión puede ser despreciable en muchos casos.

Para los ESI, el potencial de difusión interno de la membrana es cero si no hay gradiente de concentración de los iones. Este es el caso para membranas que muestran una respuesta nernstiana, por esta razón, el potencial de difusión es tratado en ocasiones como un efecto secundario de otros. Fue demostrado que el potencial de respuesta de diferentes membranas de PVC con contacto sólido es una función de la concentración del portador iónico.

Gozzi, Campanella y Ferri en 1979 han modelado la derivada de la ecuación de respuesta dinámica para los electrodos anión selectivo basado en sales cuaternarias de amonio. Desde el comienzo del modelo propuesto por Eisenman y col., el balance de masa y de carga en la membrana líquida con respecto a los sitios activos fue considerado que el mecanismo de respuesta del potencial de membrana líquida consiste de dos formas: la primera a través de un proceso de partición de las especies intercambiables entre la membrana y la fase acuosa, la segunda a través de la difusión de todas las especies en el interior de la fase membrana.

Los estudios sobre la transferencia de iones a través de la interface de dos soluciones de electrolitos fueron analizados en detalle por Koryta en 1983. Su aproximación promete mucho para las investigaciones de mecanismos de los electrodos de membrana. Sus datos termodinámicos pueden ser usados para predecir las características de selectividad de los electrodos de membrana líquida basados en sitios de intercambio iónico. Algunos estudios han sido obtenidos con electrodos de membrana sensibles a cationes; una aproximación similar ha sido aplicable a electrodos sensibles a aniones.

Selectividad e interferencia de las membranas

La selectividad de la membrana viene determinada por la estructura de esta, por la clase, localización y movilidad de sus cargas. En resumen,

por las propiedades físico-químicas de los grupos intercambiadores de iones, que pueden ser fijos (formando parte de la matriz) o móviles (confinados en el espacio de la membrana).

Selectividad de las membranas líquidas a substratos aniónicos

El reconocimiento de aniones solo se realiza de dos formas a partir de:

1. Un complejo con un metal de transición.
2. Por intercambio iónico.

En el caso que el reconocimiento se haga a través de la formación de un complejo, el mecanismo de transferencia de un ion a través de un electrodo de membrana se explica teniendo en cuenta que la fuerza impulsora es un gradiente de concentración a ambos lados de la membrana, lo cual origina un cambio en la energía libre de Gibbs (ΔG), (ecuación 4).

$$\Delta G = -RT \ln \frac{C_A}{C_m} \quad (4)$$

Por lo que puede considerarse que la selectividad de la membrana está gobernada por la constante de formación del complejo substrato-receptor y por las características cinéticas del proceso de asociación y de disociación.

En caso de que el reconocimiento del anión se haga a través de una reacción de intercambio iónico, podemos decir que estas sales (cuaternarias de amonio) voluminosas tienen como característica que se pueden disociar en sus respectivos iones; siendo el nitrógeno de estos compuestos muy hidrófobo, por lo cual, no tiene tendencia a salir de la membrana para establecer ningún tipo de reacción. El anión presente puede salir de la membrana e hidratarse en la fase acuosa, lo que permite la reacción por intercambio iónico; por lo que se crea una diferencia de potencial al establecerse el equilibrio en la interface membrana-solución.

La concentración de ion nitrato presente en la membrana, a pesar de ser muy pequeña $\sim 10^{-10}$ mol/dm³ (según han encontrado algunos investigadores para una concentración del ionóforo entre 6-7 % en peso), es suficiente para el surgimiento del potencial.

En estudios realizados (Arada, 2003), se ha comprobado que cuando se quiere lograr una selectividad sobre iones monovalentes frente a iones divalentes es necesario seleccionar plastificantes de una baja constante dieléctrica (ϵ_r) y si se pretende determinar iones divalentes en presencia de iones monovalentes, se deben escoger plastificantes de

elevada ϵ_r . En la tabla 5 se reportan algunas constantes dieléctricas de los plastificantes más usados.

Tabla 5. Constantes dieléctricas de los plastificantes más empleados

Plastificantes	Constante dieléctrica (ϵ_r)
Adipatos	~4
Sebacatos	~4
Ftalatos	~7
Nitroaromáticos	~24
Carbonatos	~ 65

Interferencias

En los ESI, el término interferencia se refiere a cualquier especie distinta del ion que se está midiendo, cuya presencia en la solución afecta la medida del potencial de la celda. Las sustancias interferentes se pueden agrupar en dos clases: interferencias del electrodo e interferencias del método de trabajo. Dentro de las denominadas interferencias del electrodo se encuentran las que provocan su destrucción, este es el caso de cualquier especie que interaccione con la membrana y altere su composición o estructura como, por ejemplo, cualquier especie que responda de forma similar al ion en estudio (ion principal).

La evaluación de las interferencias de los electrodos se realiza a través de la determinación del coeficiente de selectividad potenciométrico, el cual puede ser considerado como la capacidad de un ESI para distinguir entre diferentes iones presentes en la misma solución. La IUPAC reconoce tres métodos para determinar los coeficientes de selectividad potenciométricos, estos son:

Método de las soluciones separadas: consiste en medir el potencial de dos soluciones, la primera que contiene el ion principal (A) con una actividad a_A da un potencial E_1 ; la segunda que contiene el ion interferente (B) con una actividad a_B da un potencial E_2 . En cada una de las disoluciones, los valores de las actividades de los iones deben ser iguales ($a_A = a_B$). Si los valores del potencial obtenidos en la medida de las dos disoluciones son E_1 y E_2 , respectivamente, el valor del coeficiente de selectividad del electrodo se calcula según la (ecuación 5).

$$K_{AB}^{Pot} = \exp\left\{\frac{(E_2 - E_1)}{S} + \left[1 - \left(\frac{Z_A}{Z_B}\right)\right] \log a_A\right\} \quad (5)$$

Método de las soluciones mezcladas: con base a este método hay dos posibilidades de calcular el coeficiente de selectividad (figura 4).

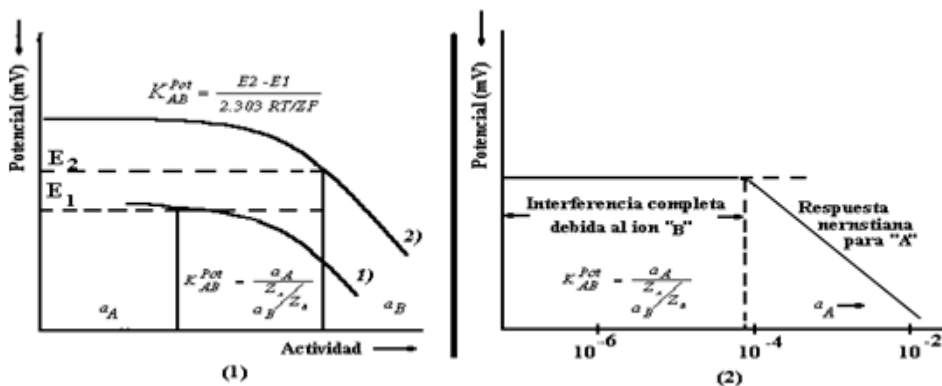


Figura 4. Cálculo gráfico de los coeficientes de selectividad potenciométrico. 1) método de las soluciones separadas; 2) método de las soluciones mezcladas. Fuente: Pérez (1992)

1. El cálculo de los coeficientes de selectividad se realiza a partir de la linealización de la ecuación de Nicolsky-Eisenman, manteniendo constante la concentración del ion interferente. A partir de esta ecuación se tiene que:

$$10^{\frac{(E-E_0)}{S}} = a_A + K_{AB}^{Pot} a_B^{\frac{Z_A}{Z_B}} \quad (6)$$

Observando esta ecuación se puede deducir que, si se mantiene constante la actividad del ion interferente, la representación del primer término frente a la actividad del ion principal sería una recta. Esta tendría una pendiente unidad y como ordenada en el origen un valor que depende de K_{AB}^{Pot} y de la actividad del ion interferente. Por lo que del ajuste por mínimos cuadrados de la recta se puede obtener el parámetro deseado (K_{AB}^{Pot}) (figura 4).

2. La determinación de K_{AB}^{Pot} se basa igualmente en la ecuación de Nicolsky-Eisenman, definida en una situación en la que la actividad del ion interferente a_A , en ausencia del ion principal, provoca una diferencia de potencial (E_B) igual a la diferencia de potencial (E_A) que originaría una disolución del ion principal de actividad (a_A).

Según esto se cumple que:

$$E_A = E_B \quad (7)$$

siendo

$$E_A = K + S \cdot \log a_A \quad (8)$$

$$E_B = K + S \cdot \log \left[a_A + K_{AB}^{Pot} \cdot a_B^{z_A/z_B} \right] \quad (9)$$

Igualando estas dos ecuaciones se llega a la ecuación 10:

$$K_{AB}^{Pot} = \frac{a_A}{a_B^{z_A/z_B}} \quad (10)$$

Los coeficientes de selectividad potenciométricos se obtienen para una actividad de interferente constante y variando la actividad del ion principal, de manera que (a_A) es el valor de la actividad que debería tener el ion principal, sin ion interferente, para que la diferencia de potencial fuese igual a la respuesta que provocaría el ion interferente en ausencia del ion principal (figura 4).

La actividad del ion principal (a_A) se calcula gráficamente de la curva de calibrado, obtenida al representar las variaciones de potencial después de cada adición frente al logaritmo de la actividad del ion principal. El valor de (a_A) es el correspondiente al punto de intercepción de la prolongación de las zonas lineales de las curvas de calibrado, es decir la zona horizontal y la zona lineal de comportamiento nernstiano (debida al ion principal).

El otro parámetro necesario para conocer K_{AB}^{Pot} es la actividad del ion interferente. Este término se obtiene con la ayuda de la ecuación de Debye-Hückel (ecuación 11).

$$-\log f = 0.51 Z^2 I^{1/2} / (1 + I^{1/2}) \quad (11)$$

De los dos métodos vistos con anterioridad, el más reportado en la literatura es el segundo, por lo que se ha considerado más adecuado estudiar las interferencias siguiendo los pasos descritos.

Método de la comparación de los potenciales

A pesar del gran uso dado a la ecuación de Nicolsky-Eisenman, se ha comprobado en los últimos años que no permite resultados reales cuando se trabaja con soluciones en las que estén presentes iones de diferentes valencias. Esto ha conducido a la búsqueda de nuevos métodos y modelos experimentales para la determinación de este parámetro, como el de Gadzeko en 1984.

El método de la comparación de los potenciales (figura 5, desarrollado en 1984 por Gadzeko y col.), es uno de los propuestos que ha tenido la aceptación de la IUPAC. Este consiste en medir los cambios de potencial variando la actividad del ion primario. El ion interferente puede ser adicionado a la solución de referencia hasta que cambie el potencial, este cambio es producido a partir de un fondo constante inicial del ion primario. Lo anterior es considerado un método totalmente experimental, no depende de ningún modelo empírico, ni teórico, además, se obtienen coeficientes de selectividad con iones de carga diferentes. El coeficiente de selectividad obtenido por este método es calculado como la relación de actividad de los iones principal e interferente.

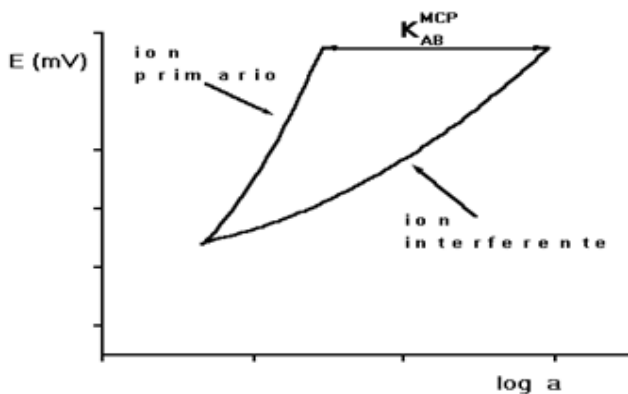


Figura 5. Cálculo gráfico del K_{AB}^{MCP} método de la comparación de potenciales

Tiempo de respuesta

Una de las características más relevantes de los ESI es el tiempo de respuesta, que es el tiempo que tarda el electrodo en dar una medida de potencial estable. Existen diferentes técnicas para su determinación. La elección de una u otra está en dependencia de los medios materiales que se disponen y de las características del propio electrodo.

Uno de los métodos empleados en la determinación del tiempo de respuesta es la medición del tiempo transcurrido entre las variaciones de potencial que ocurren al producirse un salto de actividad originado por la adición de concentraciones conocidas del ion a medir en la celda de calibración.

El ritmo de respuesta de los ESI producido por un cambio sensible de la concentración de la solución de ensayo ha sido tema de interés (Morf *et al.*, 2000; Macca, 2004; Arada, Pacheco y León, 2016). Podría esperarse que los valores de potencial medidos se estabilicen luego de un salto de la concentración, solo cuando todos los procesos posibles hayan alcanzado el equilibrio o el estado estacionario. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, el potencial puede ser invariable en el tiempo, incluso cuando estos procesos están aún lejos del estado de equilibrio. No siempre es necesario, por tanto, que se alcance el estado de equilibrio o estacionario tan rápido como sea posible, aunque un establecimiento rápido del estado de equilibrio o estacionario es una condición suficiente para una respuesta de potencial rápida.

También se puede emplear el método directo, en el cual, el registro gráfico del tiempo de respuesta se obtiene al medir el potencial en el tiempo al sumergir los electrodos en la solución del ion primario hasta que el potencial alcance un valor estable.

Actividad y concentración

En los trabajos prácticos con ESI, una limitación que es necesario resolver es la relacionada con la pendiente de la respuesta de los sensores potenciométricos con la actividad de los iones en disolución, y no con la cantidad presente su concentración. En ocasiones singulares, como en los estudios con fluidos biológicos o en el campo medioambiental, es importante conocer la actividad real antes que la cantidad total presente. No obstante, en la mayoría de los casos se necesita conocer el valor de concentración. Para resolver esta necesidad se hace uso de la teoría de los electrolitos en solución, que permite relacionar la concentración (C_x) que presentan en solución. Dicha relación se establece a partir del coeficiente de actividad (γ_x) según:

$$a_x = \gamma_x C_x \quad (12)$$

El valor del coeficiente de actividad es posible calcularlo a partir de la fuerza iónica de la disolución, según las expresiones derivadas de la teoría de Debye-Hückel, como la ecuación de Davies:

$$-\log \gamma_{\pm} = \frac{A|(Z_+)(Z_-)|I^{1/2}}{1 + \beta(I^{1/2})} - C'(I) \quad \dots(13)$$

donde

A: es una constante que para el agua a 25 °C vale 0,5108. Los parámetros β y C' se encuentran tabulados para cada especie iónica para poder ajustar el modelo teórico. Por último I es la medida de la fuerza iónica de la disolución, calculada según:

$$I = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2 \quad \dots(14)$$

Donde intervienen la totalidad de iones de concentración C_i y de carga Z_i ; presentes en la solución. Una aproximación habitual es tomar valores promedio para los diferentes iones, y así B toma el valor de I y C' el de 0,15.

$$\log \gamma_{\pm} = \frac{0,51 Z^2 I^{1/2}}{1 + (I^{1/2})} \quad (15)$$

Esta expresión es costumbre usarla con la simple función de menospreciar el término C' , siempre que la fuerza iónica sea inferior a 0,01. La aparente contradicción es irresoluble, ya que para saber el coeficiente de actividad hay que conocer la fuerza iónica total, en la que interviene a la vez el ion cuya concentración, se resuelve con el ardid de que su influencia sea despreciable. De este modo, para concentraciones diluidas no se efectúa ninguna corrección, ya que se presupone $\gamma_x = 1$.

Para concentraciones mayores se utiliza una dilución de iones no interferentes que definan el valor de la fuerza iónica y permitan el cálculo de los coeficientes de actividad que tendrán un valor casi constante. Una costumbre habitual es el empleo de un exceso de añadido de sal de inerte, cuyo objetivo es ser la fuente de determinante de la fuerza iónica. Cuando en el uso de sensores hacen referencia a esta práctica se le refiere

como solución ajustadora de la fuerza iónica total (ISA, en la terminología inglesa).

Si el coeficiente de actividad puede ser considerado constante, el potencial medido con un sensor potenciométrico se relaciona directamente con la concentración del ion primario según:

$$E = K + S \cdot \log [a_A] \quad (16)$$

donde

E es el potencial de la celda (mV)

K es potencial estándar (mV)

a_A es la actividad del ion estudiado

S es la pendiente nernstiana, cuyo valor depende de R es la constante de los gases (8,314 41 J. mol⁻¹K⁻¹), F es la constante de Faraday (96485 C.mol⁻¹), T es la temperatura (K) y la Z_A es la carga del ion incluido el signo.

Evaluación de los ESI

Calibración y parámetros de calibración

La variación del potencial que se origina en la celda electroquímica cuando cambia la actividad del ion estudiado. Se determina través de la ecuación de Nernst (16). La calibración de los electrodos es una de las experiencias que más se repite a lo largo del trabajo con un ESI, ya que la mayoría de los resultados se obtienen directamente de ella. El sistema para realizar las mediciones se esquematiza en la figura 6.

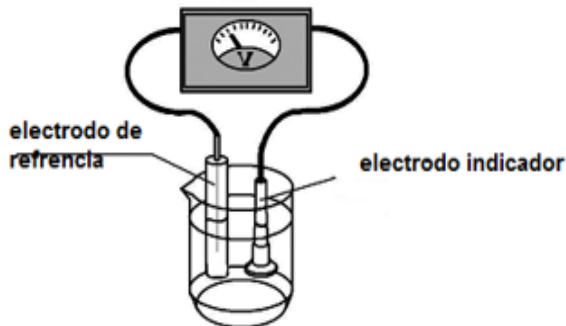


Figura 6. Esquema de una celda de trabajo con ESI

En ella pueden verse los electrodos (indicador y de referencia) sumergidos en la celda y conectados a un potenciómetro.

Límite Inferior de Respuesta Lineal (LIRL). Este es un parámetro característico de cada ESI y, como su nombre lo indica, representa el valor mínimo de la actividad del ion principal a partir del cual la respuesta del electrodo sigue la ley de Nernst. Este parámetro se determina gráficamente a partir de la curva de calibración de los electrodos. Las curvas de calibración se obtienen hasta valores de concentración inferiores a los de un calibrado de rutina. La razón principal es el estudio del comportamiento de los electrodos a concentraciones inferiores al LIRL.

Límite Práctico de Detección (LPD). Esta zona de trabajo, además, permite la determinación del LPD. Este parámetro representa el nivel inferior de concentración posible a determinar con el ESI que se obtiene extrapolando las dos zonas lineales de la curva de calibración, a la zona nernstiana (concentraciones altas) y a la zona de comportamiento no nernstiano (concentraciones bajas).

Procedimiento y aplicaciones

Se dispone de un número de diferentes técnicas para el uso de los sensores potenciométricos que varían en complejidad y en prestaciones.

Potenciometría directa. Tras una calibración con patrones adecuados, que se asemejen a las muestras, la potenciometría directa implica poner en contacto la muestra con el sensor más el electrodo de referencia, y deducir la actividad por interpolación directa. Con esta técnica cualquier presencia de interferente causará un error en el resultado (figura 7a).

Para determinar la relación entre actividad y concentración es corriente el uso de una solución ajustadora de la fuerza iónica, que debe estar presente en patrones y muestras. El rango de trabajo de esta metodología puede estar entre 10^{-9} y 10^{-1} mol.dm⁻³; lo que sitúa la escala de trabajo en los mg.dm⁻³ y los g.dm⁻³.

Para los casos en los que la difusión de iones K⁺ o Cl⁻ provenientes de la solución interna del electrodo de referencia puedan ser una interferencia significativa, se dispone de electrodos de referencia que interponen un segundo puente salino que puede contener una sal escogida para minimizar este efecto; a estas se les conoce como electrodos de referencia de doble unión líquida. Ejemplo: Electrodo (comercial) de referencia Ag/AgCl de doble unión líquida.

Adición patrón. Esta variante es la preferida cuando la matriz de la muestra tiene un efecto no cuantificable pero significativo en la medida. Para ejecutar la técnica, primero se realiza una medida de la muestra y luego se hacen K adiciones conocidas (V_k) de la especie buscada. Es conveniente realizar pequeñas adiciones de una solución concentrada para minimizar los efectos de la dilución. En esta situación, la respuesta se incrementa (para un catión) según la cantidad añadida. Extrapolando esta relación para la adición nula, se deduce el analito inicialmente presente en la muestra, tal y como se deduce de la viñeta correspondiente en la figura 7b.

Valoración. Un sensor potenciométrico puede ser un detector adecuado del punto final en valoraciones ácido-base, redox, de precipitación, de formación de complejos o de formación de pariónico. La disponibilidad de un potencial de electrodo que sigue el volumen de valorante utilizado, suministra una información útil para la realimentación del proceso, lo que posibilita la realización de valoraciones automatizadas. Un análisis posterior del registro completo de valoración permite identificar los puntos de inflexión con los volúmenes de equivalencia de las diferentes reacciones que hayan podido sucederse (figura 7c).

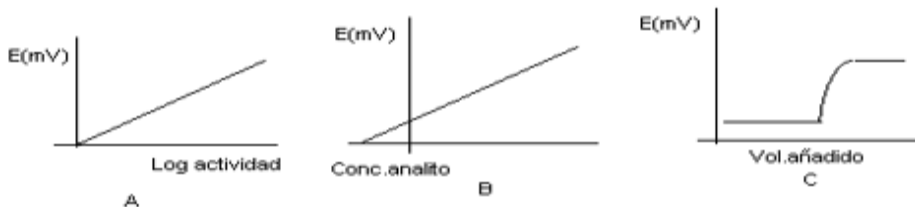


Figura 7. Ilustración de las tres técnicas habituales de trabajo con sensores potenciométrico

En este capítulo se conoció la clasificación de los electrodos, la composición básica que tiene un electrodo selectivo, sus parámetros que lo caracteriza, los cuales son necesarios evaluarlos para poder aplicarlos a muestras reales; las ecuaciones que rigen su funcionamiento, por las cuales pueden determinar su comportamiento en muestras de diferente composición.

Biosensores

Biosensores

Un biosensor se define como un dispositivo compacto de análisis que incorpora un elemento de reconocimiento biológico asociado a un sistema de transducción que permite procesar la señal producida por la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito, en el cual el elemento biológico puede ser ácido nucleico, enzima, anticuerpo, receptor, tejido, célula) o biomimético (PI, aptámeros, PNA).

Este término aparece en la literatura científica a finales de los años 70, aunque el concepto básico e incluso la comercialización comenzaron antes. El primer biosensor fue un analizador de glucosa desarrollado por Clark y Lyons en 1962 y comercializado a partir de 1973 por Yellow Springs Instrument Company. Este biosensor se denominó *Enzyme Electrode* y consistía en una enzima glucosa oxidasa acoplada a un electrodo para oxígeno.

La enzima oxida la glucosa y, como consecuencia, se produce un descenso proporcional de la concentración de oxígeno en la muestra que es detectado por el electrodo. En los años siguientes se desarrollaron electrodos enzimáticos para distintas sustancias de interés clínico mediante la unión de enzimas apropiadas a sensores electroquímicos.

En 1977 comenzó a utilizarse el término biosensor, cuando se desarrolló el primer dispositivo utilizando microorganismos vivos inmovilizados en la superficie de un electrodo sensible a amonio. Este dispositivo se utilizaba para detectar el aminoácido arginina y sus creadores lo denominaron sensor bio-selectivo. Posteriormente, para acortar el nombre, se denominó biosensor y este término ha permanecido desde entonces para designar la unión entre un material biológico y un transductor físico. A partir de ese momento ha continuado creciendo las aplicaciones de los biosensores en distintos campos de la química analítica.

El desarrollo de los biosensores ha estado centrado principalmente en el campo del diagnóstico clínico (con un gran éxito de los biosensores para glucosa) y en los campos medioambiental, químico, farmacéutico, militar y en el control de procesos *online*.

Clasificación de los biosensores

Los biosensores pueden clasificarse siguiendo varios criterios, según el tipo de interacción es posible clasificarlos en biocatalítico y bioafinidad. De acuerdo con el tipo de elemento de reconocimiento molecular estos pueden ser: enzimáticos, receptor biológico, ácidos nucleicos, anticuerpos, orgánulo, tejido de célula completa y aptámero; según la interacción pueden ser directos e indirectos; según el sistema de transducción se pueden clasificar en: electroquímicos, ópticos, termométricos, piezoeléctricos y nanométricos.

Existen múltiples elementos de reconocimiento y sistemas de transducción. La elección del material biológico/biomimético depende de las características del compuesto a analizar. La elección del transductor está condicionada por el tipo de elemento de reconocimiento elegido, pues este determina cuál será la variación en las propiedades físico-químicas que ocurra como consecuencia de la interacción.

Características de los biosensores

- Alta sensibilidad. Concentraciones de partes por billón (mg/l). Existen unidades capaces de detectar cantidades inferiores a los límites exigidos por la ley en el caso de residuos de plaguicidas.
- Alta selectividad para que el dispositivo interactúe exclusivamente con el compuesto de interés y no con otros de propiedades similares. Se consigue mediante elementos de reconocimiento muy específicos. A pesar de ello, se conocen algunas excepciones de biosensores que sufren interferencias con sustancias de la misma familia que el analito o bien con componentes del alimento.
- Alta fiabilidad. Los sistemas de transducción se diseñan de manera que no puedan ser alterados (o lo sean mínimamente) por la muestra y no tengan problemas de ruidos.
- Tiempo de vida largo que no obligue al empleo del dispositivo tras un corto período desde su fabricación ni a sustituciones frecuentes si está integrado en la línea de producción de una industria. La estabilidad química, física y mecánica del elemento de reconoci-

miento condiciona su duración. Los componentes biológicos por su propia naturaleza cuentan con una vida media limitada pero las nuevas alternativas basadas en moléculas biomiméticas no presentan este inconveniente.

- Bajo coste de producción. En general, estos sistemas pueden fabricarse a escala industrial, lo cual redundaría en un más que considerable abaratamiento de los costes de producción. A pesar de ello, la disponibilidad limitada de algunas enzimas y la existencia de fases críticas en su construcción (procesos de inmovilización) dificultan, en algunos casos, la fabricación de biosensores en masa.
- Tiempo de análisis corto que posibilite una actuación rápida, por ejemplo, la retirada de materias primas o productos contaminados o deteriorados antes de su uso o venta o la intervención para corregir algún parámetro en un proceso industrial. Muchos biosensores consumen pocos minutos en cuantificar el compuesto de interés y no precisan un período de espera largo hasta el siguiente análisis.
- Pretratamiento de la muestra innecesario lo que supone un ahorro de tiempo, materiales y reactivos. Aunque en la mayoría de las ocasiones esto es así, en ciertas determinaciones son imprescindibles las etapas de concentración y purificación. Estas permiten eliminar interferencias y asegurar la presencia de una cantidad suficiente del analito en el pequeño volumen utilizado (detección de microorganismos patógenos).
- Manejo sencillo. No requiere personal calificado. Capaces de realizar análisis en tiempo real. Esta característica es especialmente interesante en el control de procesos, ya que permite controlar los parámetros deseados de forma inmediata y automática.
- Portátiles. Es posible realizar análisis *in situ*.
- Automatizables. Prescindir del control manual de estas unidades facilita su integración dentro de los sistemas que monitorizan los procesos industriales.
- Miniaturizables. Gracias a los desarrollos en microelectrónica y nanotecnología se han logrado reducir las dimensiones de estos dispositivos. Así pueden ensamblarse varios de ellos en un mismo sistema que realiza varias tareas a la vez y son aplicables a ensayos donde el tamaño físico del dispositivo, el volumen de la muestra o la localización de la medida son factores limitantes.

- Pocos requerimientos operativos y de almacenamiento que faciliten su empleo y no supongan un coste adicional. Estas características suelen presentarlas los biosensores que incorporan moléculas biomiméticas. En el resto de dispositivos, los componentes biológicos pueden necesitar condiciones controladas (pH, temperatura) para su uso y conservación debido a su baja estabilidad.
- Con capacidad multianálisis. Ciertos biosensores llevan a cabo la determinación de diferentes analitos de forma simultánea.

La variedad de biosensores existente es amplia y no todos poseen cada una de las características citadas antes. La combinación de varias de ellas podría situar a muchos de estos dispositivos en una posición ventajosa frente a las técnicas de análisis convencionales (cromatografía, espectrometría, entre otras). Además, permiten que sean aplicables a la monitorización en tiempo real de procesos industriales.

Sensores biocatalíticos

Son los biosensores mejor conocidos y los más aplicados. Se basan en la utilización de biocatalizadores, que son elementos que favorecen que ocurra una reacción química en la cual a partir de uno o varios sustratos se forman uno o varios productos conocidos sin consumo del biocatalizador, que se regenera y puede ser utilizado de nuevo.

Estos biocatalizadores pueden ser sistemas que contienen enzimas o sistemas multienzimáticos aislados, orgánulos celulares, células completas o tejidos animales o vegetales en los que estos sistemas se encuentran en su medio natural. Pueden utilizarse para detectar la presencia de alguno de los sustratos que participan en la reacción, mediante la detección de la desaparición de algún cosustrato conocido distinto de aquel que se quiere detectar o bien por la aparición de algún producto conocido.

Elementos de reconocimiento de tipo biocatalítico. Pueden acoplarse a distintos tipos de transductores como electroquímicos, ópticos, termométricos y acústicos.

Enzimas

Las enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos. En una reacción catalizada por una enzima se produce una unión del sustrato en una región concreta de la enzima denominada centro activo, el cual es un sitio de unión y un sitio catalítico. La enzima se recupera una vez formados los productos y el ciclo de reacción puede

comenzar nuevamente. En ocasiones, puede ser necesaria la presencia de cofactores para que la enzima pueda regenerarse y estar activa otra vez.

La actividad enzimática está controlada normalmente por el pH, la fuerza iónica, la temperatura y la presencia de cofactores. Un factor limitante para el tiempo de vida de un biosensor de tipo enzimático es la estabilidad de las enzimas; se utilizan distintas técnicas para aumentarla, como estabilización química y/o inmovilización.

En algunas ocasiones se utilizan cascadas multienzimáticas, en las que la enzima que actúa como elemento de reconocimiento no actúa directo sobre el analito, sino sobre algún producto derivado. Este sistema es muy utilizado en el caso de algunos azúcares en los que se utilizan enzimas que actúan sobre los productos de su hidrólisis. Entre las enzimas comerciales disponibles las más utilizadas suelen ser las óxido-reductasas. Son enzimas estables que catalizan fenómenos de oxidación o reducción utilizando oxígeno o cofactores.

Las enzimas pueden acoplarse a transductores de los tipos potenciométrico, amperométrico, optoeléctrico, calorimétrico o piezoeléctrico, todas funcionan por inmovilización de la enzima en el propio transductor. Por otro lado, existen enzimas que no son muy estables o que su purificación es difícil o demasiado cara, estas no se pueden utilizar aisladas. En estos casos pueden utilizarse orgánulos celulares, células completas o tejidos que contienen las enzimas en una forma natural en un medio más estable.

Las enzimas presentan una serie de ventajas que facilitan su empleo en biosensores son: alta selectividad, respuesta rápida, elevada variedad de enzimas disponibles, autorregenerables, algunas resultan económicas, simplicidad de construcción de los dispositivos. La actividad enzimática está controlada por el pH, la fuerza iónica, la temperatura y la presencia de cofactores.

Tejidos

Existen tejidos vegetales que son una fuente de determinadas enzimas o sistemas enzimáticos, debido a su función fisiológica en el organismo. Pueden utilizarse distintos tejidos como hojas, raíces, frutas o semillas; estos se pueden emplear asociados a transductores electroquímicos.

En la literatura científica aparecen ejemplos de la utilización de algunos tejidos como las patatas (ricas en la enzima polifenol oxidasa) junto con electrodos de oxígeno para la determinación de fenoles, tanto mono-,

como poli-, o de homogeneizados del hongo *Agaricus bisporus* para la determinación de alcohol.

La utilización de células completas o tejidos vegetales en biosensores posee ventajas e inconvenientes comparada con la utilización de enzimas o sistemas enzimáticos aislados.

- **Ventajas:** bajo coste, evitan procesos de extracción y purificación de enzimas, no requieren la adición de cofactores para la regeneración enzimática, simplicidad de construcción, elevada estabilidad, vida útil larga, elevada actividad.
- **Inconvenientes:** baja sensibilidad, respuesta lenta y limitada selectividad.
- **Desventajas:** tiempo de vida limitado, pueden ser inhibidos por sustancias de la muestra, en ocasiones requieren presencia de cofactores, pH, temperatura y fuerza iónica, sensibilidad a condiciones ambientales.

Células completas

Pueden ser células bacterianas, fúngicas, protozoos o células procedentes de organismos superiores y pueden ser viables o no viables. En este caso, en lugar de purificar las enzimas se utiliza como elemento biológico una célula completa que posee en su interior múltiples sistemas multienzimáticos en su medio natural. Se pueden utilizar células modificadas genéticamente que expresen enzimas que posean una actividad mayor.

Las células viables pueden metabolizar diversos compuestos orgánicos dando lugar a la aparición de distintos productos como amonio, dióxido de carbono o ácidos que pueden ser monitorizados mediante distintos transductores. Se pueden utilizar para detectar la presencia de compuestos relacionados con el crecimiento como vitaminas, azúcares ácidos orgánicos o compuestos nitrogenados, o bien para detectar compuestos que inhiben la respiración microbiana como contaminantes ambientales o sustancias tóxicas.

La mayor limitación a la hora de utilizar células completas es la difusión de sustratos y productos a través de la membrana celular, que provoca una respuesta más lenta comparada con los sensores basados en enzimas. Otra limitación, en comparación con enzimas purificadas, es que tienen una menor especificidad debido a reacciones catalizadas por otras enzimas presentes en la célula. Una posible solución para minimi-

zar estas reacciones indeseables es permeabilizar la membrana de modo que los cofactores salgan al exterior de la célula.

Las células se pueden inmovilizar en membranas de acetato o celulosa, o atraparse en una matriz, como un gel de agar.

Orgánulos subcelulares

En ocasiones en lugar de utilizar células completas o sistemas multienzimáticos aislados pueden utilizarse orgánulos subcelulares, que contienen determinados sistemas enzimáticos completos, pero no poseen todos aquellos que presenta una célula completa, como es el caso de cloroplastos completos, tilacoides o mitocondrias. Asimismo, las mitocondrias y cloroplastos son orgánulos de doble membrana que poseen sistemas enzimáticos relacionados con la obtención de energía en la membrana interior.

Determinados agentes tóxicos como plaguicidas, metales pesados o detergentes actúan sobre estos sistemas enzimáticos inhibiéndolos, de modo que estos orgánulos o sus membranas internas pueden utilizarse como biosensores para detectar este tipo de compuestos.

Sensores de bioafinidad

Los sensores de bioafinidad se basan en la interacción del analito de interés con el elemento de reconocimiento sin que exista transformación catalítica, sino que se produce una reacción de equilibrio en la que se forma un complejo analito-receptor.

Para medir la interacción, ya que no existe consumo de sustratos ni generación de productos, se suele utilizar un marcaje del receptor o bien de un elemento que compita con el analito por la unión al receptor, con una enzima que da una reacción biocatalítica complementaria que es la que se detecta por el sistema de transducción. El inconveniente que plantea este tipo de sistema es que se requieren pasos posteriores de lavado y separación del exceso de moléculas marcadas y la adición de sustratos para que ocurra la reacción que cataliza la enzima que se utiliza como marcaje.

Puede utilizarse también un sistema de detección directa de la interacción entre el receptor y el analito basándose en los cambios que se producen en la masa de la superficie, o bien por los cambios en las propiedades de la luz que se producen como consecuencia de esta unión. Este tipo de interacciones presenta en ocasiones un rango de operación

de concentración estrecho, debido a que se puede producir una saturación del receptor y a menudo no permiten una monitorización continua de la concentración del analito. El elemento de reconocimiento debe estar en contacto directo con la muestra y no se puede incorporar una membrana exterior para separar el elemento receptor de la matriz de la muestra, de modo que algunos de estos biosensores tienen dificultades para operar en matrices biológicas complejas.

Se pueden utilizar para la detección de material genético de microorganismos, para detectar la presencia de patógenos o pesticidas o de cualquier tipo de sustancias que puedan causar una respuesta inmune (y, por tanto, permitir el desarrollo de anticuerpos).

Tipos de receptores de bioafinidad

Existen distintos tipos de receptores de bioafinidad como anticuerpos, lectinas, receptores, células completas, ácidos nucleicos, PIMs, aptámeros y PNAs.

Anticuerpos

Un anticuerpo es una proteína que se une de manera selectiva a una molécula complementaria denominada antígeno, que en este caso corresponde al analito. La mayor parte de los biosensores de bioafinidad se basan en reacciones de unión de antígenos a anticuerpos específicos (tabla 6).

Tabla 6. Ventajas y desventajas de los anticuerpos

Ventajas	Desventajas
Elevadas sensibilidad y especificidad	Difícil regeneración
Estabilidad química	Requieren contacto directo con la muestra
Afinidad variable	En ocasiones requieren marcaje
Respuesta rápida	No amplifican la señal
Bajo coste	No existe consumo del analito por lo que se saturan (rango de operación de concentración estrecho)

Receptores

En las membranas celulares existen distintos receptores moleculares y proteínas de unión que pueden aislarse e inmovilizarse en diferentes superficies y utilizarse como elementos de reconocimiento asociados a diversos transductores.

Lectinas

Las lectinas son un grupo de proteínas que se unen de manera selectiva y reversible a distintos sacáridos, como los oligosacáridos que se encuentran en las paredes celulares bacterianas. Son moléculas de fácil reconocimiento, disponibles y económicas que pueden asociarse a distintos transductores como transductores piezoeléctricos o de resonancia de plasmones superficiales.

Células completas

En las células existen distintos receptores moleculares de membrana que ante la unión de su ligando correspondiente disparan respuestas fisiológicas amplificadas, como la apertura de canales iónicos, la activación de sistemas mensajeros secundarios y la activación de enzimas que pueden ser monitorizados por distintos transductores.

Determinados compuestos tóxicos ejercen su acción bloqueando los sistemas de señales asociados a estos receptores puesto que se unen a ellos de manera específica e impiden la unión del ligando correspondiente, por lo que pueden usarse para detectar la presencia de estos compuestos. Por ejemplo las toxinas paralizantes de origen marino ejercen su acción tóxica bloqueando canales de sodio, que son muy abundantes en las células que forman la membrana de la vejiga de rana, de modo que puede utilizarse este tejido para la fabricación de biosensores.

Este tipo de receptores suelen tener afinidad por compuestos relacionados estructuralmente, lo cual resulta interesante para la detección multianálito.

Ácidos nucleicos

Los biosensores para el análisis de ADN se basan en el proceso de hibridación, que es la unión de una cadena de ADN con su cadena complementaria. Estos biosensores, también conocidos como *gene chips*, se usan para el reconocimiento y cuantificación de ADN diana en muestras de interés. La hibridación puede hacerse en disolución o en soportes sólidos y, una vez que se ha realizado, se utilizan marcajes específicos que se

unen a las secuencias hibridadas, como marcajes fluorescentes o enzimáticos. Pueden acoplarse sistemas de transducción ópticos, gravimétricos o electroquímicos.

Este tipo de elementos de reconocimiento pueden utilizarse para la detección de organismos modificados y microorganismos patógenos.

Polímeros de impresión molecular

Los polímeros de impresión molecular (PIM) son matrices sintetizadas de manera artificial que presentan, en teoría, la capacidad de reconocer e interactuar de forma específica con determinados compuestos. Es decir, se trata de materiales biomiméticos que reproducen de un modo más básico el mecanismo de reconocimiento de los sistemas biológicos (hormona-receptor, enzima-sustrato, antígeno-anticuerpo). Sin embargo, este es el comportamiento que cabría esperar, sin embargo, en la práctica no sucede así debido a la existencia de interacciones de distinta naturaleza.

Estos polímeros con “memoria” selectiva cuentan con una serie de características muy interesantes para las tecnologías de los biosensores. Su gran potencial como sustitutos de las estructuras de origen biológico se ha materializado en el desarrollo de los primeros dispositivos que incorporan PIM como elementos de reconocimiento, por ejemplo, para la detección de plaguicidas, fármacos o toxinas marinas.

En el proceso de obtención de los PIM participan:

- El analito de interés que actúa como molde o plantilla.
- Los monómeros funcionales que interactúan con el analito y para cuya elección debe considerarse la naturaleza química del mismo (ácida, básica, ion metálico) y los monómeros de entrecruzamiento que contribuyen a estabilizar la estructura del polímero.
- Otros compuestos: iniciadores de la polimerización, disolventes para la fase de síntesis, disolventes para la extracción del analito.

Los principales mecanismos de preparación de los PIM se dividen en covalentes y no covalentes. En el primer caso, las uniones que se establecen entre el analito o molécula molde y los monómeros funcionales son de carácter covalente. En cambio, en la ruta de síntesis no covalente las interacciones son de tipo enlace de hidrógeno, enlace de Van der Waals, interacciones electrostáticas. A partir de estas uniones los monómeros funcionales se organizan en torno al analito, polimerizan y junto con las unidades de entrecruzamiento generan una red tridimensional. Por últi-

mo, la molécula molde se extrae de esta matriz para dejar libres los puntos de reconocimiento mediante diversas técnicas (reacción de hidrólisis para la ruptura de enlaces covalentes o extracción con disolventes en la vía de preparación no covalente). A continuación, se relacionan las ventajas e inconvenientes de los PIM como elementos de reconocimiento.

Ventajas

- Sensibilidad y selectividad elevadas.
- Posibilidad de desarrollar PIM destinados a diversos analitos incluyendo especies para las que aún no se ha encontrado un elemento de reconocimiento biológico.
- Especificidad predecible teóricamente aunque, en la práctica, la existencia de interacciones de carácter no específico hace difícil su determinación.
- Producción con un bajo coste a gran escala.
- Tiempo de vida largo: estabilidad química, térmica y mecánica altas.

Inconvenientes

- Tecnología en desarrollo en el ámbito de los biosensores.
- En general, las constantes de afinidad son bajas, es decir, que la tendencia del analito y del PIM a unirse es pequeña. Esto implica mayores tiempos de análisis.
- Requiere altas concentraciones de molécula molde.
- El procedimiento de síntesis de los PIM conlleva múltiples etapas y resulta laborioso.
- Hay pérdidas de material útil y se obtienen redes con una distribución poco homogénea de los puntos de unión.
- Dificultad para operar en medios acuosos porque no se produce el reconocimiento del analito.

Aptámero

Un aptámero es una secuencia de oligonucleóticos (ADN o ARN) de cadena sencilla sintetizada de manera artificial, capaz de reconocer diversas moléculas diana con una afinidad y especificidad elevadas. Estas moléculas biomiméticas se asemejan a los anticuerpos. Se pliegan en el espacio y adquieren una conformación con determinadas regiones a las

que puede unirse el analito. Las ventajas e inconvenientes de los aptámeros como elementos de reconocimiento son:

Ventajas

- Mayor estabilidad en comparación con los elementos biológicos.
- Inmovilización sencilla sobre las superficies.
- Producción a gran escala con un coste bajo.

Inconvenientes

- Constantes de afinidad pequeñas.

Ácidos nucleicos peptídicos

Los ácidos nucleicos peptídicos (PNA, por sus siglas en inglés) son otro tipo de moléculas sintéticas que mimetizan al ADN-ARN. De hecho, su estructura es similar a la de estos ácidos. Están formados por un esqueleto de monómeros (N-2-aminoetilglicina) unidos por enlaces peptídicos con bases nitrogenadas púricas y pirimidínicas. A diferencia de los ácidos nucleicos, los PNA no contienen pentosas ni grupos fosfato.

La principal ventaja de estas moléculas biomiméticas frente a sus análogos naturales es su gran afinidad para establecer enlaces con cadenas de ADN. La falta de repulsión electrostática entre ellas hace que dichos enlaces sean más fuertes que los existentes entre dos hebras de ADN. Este elemento de reconocimiento se utiliza en la detección de microorganismos patógenos junto a transductores ópticos de tipo SPR.

Entre las técnicas de inmovilización empleadas, las más comunes son: la adsorción física, el atrapamiento, el entrecruzamiento o reticulación (*cross-linking*) y la formación de enlaces covalentes. En la tabla 7 se resumen las principales características de cada uno de ellos. La elección de uno u otro procedimiento depende de la naturaleza del elemento biológico, el tipo de transductor, las propiedades físico-químicas del analito y las condiciones de trabajo del biosensor.

Sistema de transducción

El sistema de transducción o transductor es el elemento que convierte las variaciones de las propiedades físicas o químicas que se producen por la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito en una señal que puede ser amplificada, almacenada y registrada. La señal generada por el transductor en algunos casos no puede ser interpretada directamente y es necesario la utilización de un software para su procesamiento.

Tabla 7. Características de las técnicas de inmovilización más comunes en la fabricación de biosensores

Técnica de inmovilización	Descripción	Matriz	Ventajas	Inconvenientes
Adsorción física	Unión del ER* a la matriz mediante. Interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals.	Celulosa. Gel de sílice. Colágeno. Hidroxiapatita. Acetato.	Sencilla. Bajo coste. Matriz regenerable. Sin modificaciones en ER.	Unión débil: pérdida de ER por condiciones externas. Control estricto del proceso.
Atrapamiento	Retención física del ER en las cavidades interiores de la matriz.	Geles: agar, nylon, almidón, poliacrilamida. Matrices electródicas compositas rígidas: grafito-teflón o grafito-resina epoxi.	Sencilla. Bajo coste. Se necesita poca cantidad de ER. Sin modificaciones en ER. Proximidad entre ER y el transductor.	Unión débil. Control estricto de la polimerización de la matriz. No regenerable.
Enlaces covalentes	Uniones covalentes del ER con grupos químicos activados e la matriz o directamente del transductor.		Manipulación sencilla. Estable en condiciones extremas.	Alteración del ER (centro activo en enzimas). Inadecuado para ERs muy sensibles (pH, temperatura). No regenerable. Tratamiento con sustancias químicas tóxicas. Coste elevado.

Leyenda: * ER: elemento de reconocimiento

Tipos de transductores

Existen varios tipos de transductores: electroquímicos, ópticos, piezoeléctricos (másicos, gravimétricos, acústicos), termométricos y nanomecánicos. De acuerdo con la naturaleza de la interacción entre el elemento de reconocimiento y la especie de interés se puede utilizar un tipo de transductor u otro.

Transductor electroquímico

Los transductores electroquímicos (tabla 8) transforman la señal que se produce por la interacción entre el sistema de reconocimiento y el analito a detectar en una señal eléctrica. Proporcionan información analítica cuantitativa o semicuantitativa específica. El elemento de reconocimiento biológico y el elemento de transducción deben estar en contacto.

Tabla 8. Tipos de transductores electroquímicos

Transductor electroquímico	Tipo de medida	Ventajas	Inconvenientes
Conductímetro	Variación de conductividad del medio.		Menor sensibilidad que amperométricos. Unión inespecífica a otros iones presentes en la muestra. Para muestras con gran cantidad de analito.
Potenciométrico	Diferencia de potencial eléctrico.	Simplicidad de operación. Pequeño tamaño.	
Amperométrico	Corriente generada por la reducción u oxidación de especies electroactivas.	Pequeños y robustos. Sensibles. Rápidos. Económicos. Fácil para ensayos de campo.	
Impedimétrico	Incremento de conductancia.		

En general, se utilizan junto con elementos de reconocimiento biocatalíticos ya que las reacciones enzimáticas generan aparición de sustancias electroactivas, cambios en el pH o en el potencial, entre otras.

Existe un tipo de sensores de reciente desarrollo consistente en una combinación entre los sistemas de transducción óptico y electroquímico denominados *light-addressable potentiometric sensor* (LAPS). Estos sensores permiten detectar cambios de pH en las disoluciones, lo que se

puede aplicar en la monitorización de algunas reacciones enzimáticas o alteraciones celulares que producen variaciones en el pH del medio.

Un LAPS es un sensor químico cuya estructura consta de un electrodo, un aislante cuya superficie se encuentra en contacto con la muestra que debe ser una disolución acuosa, y un semiconductor de silicio. El aislante se encuentra cargado en función del pH de la disolución acuosa que baña el chip.

Cuando se aplica una diferencia de potencial a esta estructura y se ilumina la parte posterior mediante un diodo, se produce una fotocorriente que depende del voltaje aplicado y de la carga de la superficie de la capa aislante. Si se produce un cambio en el pH del medio, el voltaje aplicado debe ser ajustado para que la fotocorriente permanezca constante. Este cambio de voltaje es proporcional al cambio de pH que se ha producido en el medio. A continuación, se muestran las ventajas e inconvenientes de los transductores electroquímicos:

Ventajas

- Económicos, posibilidad de producción masiva.
- Fácil miniaturización.
- Respuesta rápida.
- Alta sensibilidad.
- Posibilidad de automatización.
- Aplicaciones en elevada variedad de muestras.

Inconvenientes

- Es necesaria la utilización de electrodos de referencia (excepto en los conductimétricos).

Ejemplos de biosensores

En las tablas 9, 10, 11 y 12 se ejemplifican los sensores que han sido empleados analíticamente.

Tabla 9. Ejemplos de biosensores utilizados en el análisis de fármacos

Analito	Tejido
Levamisol	Hígado y leche
Sulfonamidas	Suero de pollo

Tabla 9. Ejemplos de biosensores utilizados en el análisis de fármaco (cont.)

Analito	Tejido
Penicilina G	Leche
Nicarbacina	Hígado y huevos
Aminoglucosidos	Leche desnatada
Cloranfenicol	Leche
Sulphametacina	Orina
Residuos de b-agonistas	Hígado

Tabla 10. Ejemplos de biosensores utilizados en la detección de plaguicidas, fertilizantes y otros contaminantes

Tipo de analito	Elemento de interacción	Sistema de reconocimiento transducción
Plaguicidas		
Paration	Biocatalítica paration hidrolasa	Amperométrico
Propoxur y carbaril	Biocatalítica acetilcolinesterasa	Fibra óptica
Diazinón y diclorvós	Biocatalítica tirosinasa	Amperométrico
Paraoxón	Biocatalítica fosfatasa alcalina	Óptico
DDT	Bioafinidad anticuerpo	Nanomecánico
Terbutilazina	Bioafinidad anticuerpo	LAPS
Atrazina	Bioafinidad anticuerpo	Amperométrico
Atrazina y 2, 4-D	Bioafinidad PIM	Electroquímico
Fertilizantes		
Nitrato	Biocatalítica nitrato reductasa	Amperométrico
Nitrito	Biocatalítica nitrato reductasa	Óptico
Fosfato	Biocatalítica Polifenol oxidasa y fosfatasa alcalina, fosforilasa A, fosfoglucomutasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	Amperométrico

Tabla 11. Ejemplos de Biosensores utilizados en la detección de contaminantes por metales y orgánico

Tipo de analito	Elemento de interacción	Sistema de reconocimiento transducción
Cadmio, cobre	Biocatalítica colinesterasas	Electroquímico
Cobre y mercurio	Biocatalítica Spirulina subsalsa	Amperométrico
Cobre	Biocatalítica Saccharomyces cerevisiae	Amperométrico
Cobre y mercurio	Biocatalítica Glucosa oxidasa	Amperométrico
Cromo, níquel, zinc	Biocatalítica ureasa	Óptico
Compuestos fenólicos**	Biocatalítica tirosinasa	Amperométrico

Leyenda: ** Fenol, catecol, p-cresol, p-clorofenol, dopamina, p-metoxifenol y 1,4-benzoquinona.

Tabla 12. Ejemplos de biosensores utilizados en el análisis de aditivos alimentarios

Analito	Tipo de interacción	Sistema de reconocimiento (una o varias clases de enzimas)	Sistema de transducción
Aspartamo	Biocatalítica	Carboxil esterasa y alcohol oxidasa. Caboxipeptidasa y L-aspartasa. Peptidasa y aspartato. Aminotransferasa y glutamo oxidasa. Quimotripsina y alcohol y oxidasa.	Amperométrico
Sorbitol	Biocatalítica	Sorbitol deshidrogenasa y NAD	Amperométrico
Ácido benzoico	Biocatalítica	Tirosinasa	Amperométrico
Sulfitos	Biocatalítica	Sulfito oxidasa	Amperométrico

Ejemplos de construcción de ESI y aplicación a muestras reales

En este capítulo podrán estudiar muchos ejemplos de determinaciones realizadas con ESI a diferentes muestras reales; así como construcciones de electrodos selectivos a varios iones y sus parámetros de respuestas más significativos como pendientes, coeficientes de selectividad, tiempo de respuesta, entre otros.

Sensores potenciométricos con las sales cuaternarias de amonio

Sensores potenciométricos con las sales cuaternarias de amonio nitrato de teradecil amonio (NTDA) y cloruro de trioctil metil (CLTOMA), con siete plastificantes empleados como disolventes mediadores en la composición de la membrana líquida polimérica: dibutil oftalato (DBP), dioctil oftalato (DOP), tributil fosfato (TBP), bis-2 etilhexil-sebacate (DOS), 3-nitro o -xileno (NOX), tris-2-etilhexil fosfato (TEHP), o -nitrofenil octil éter (o-NPOE), con diferentes grupos funcionales.

Los sensores son de membranas líquidas polimérica sobre una resina epoxi conductora. Con estos ionóforos veremos sus parámetros de calibración característicos, su comportamiento antes la variaciones de pH, aplicaciones a muestras reales entre otros aspectos de interés (tablas 13 y 14).

Para los dos ionóforos y los siete disolventes mediadores (plastificantes), como puedo observarse en las tablas 13 y 14, los valores de pendientes son cercanos al valor teórico ($-59,2 \text{ mV} \cdot \text{d} \text{éc}^{-1}$); siendo la máxima variación respecto al teórico la obtenida con el ESI construido con el ionóforo NTDA y el disolvente mediador NOX ($\Delta S = 3,8$), este ESI el de mayor sensibilidad gráfica.

Resulta interesante observar que para este ionóforo los valores cercanos al teórico se obtuvieron con los ESI construidos con los disolventes mediadores DOP ($-59,6 \text{ mV} \cdot \text{d} \text{éc}^{-1}$), o-NPOE ($-59,9 \text{ mV} \cdot \text{d} \text{éc}^{-1}$) y el TBP ($-60,1 \text{ mV} \cdot \text{d} \text{éc}^{-1}$). En el caso del ionóforo CLTOMA, los valores de pen-

Tabla 13. Parámetros de calibración de los electrodos con la sal NTDA como ionóforo y los disolventes mediadores ensayados

Parámetros	o-NPOE	TEHP	DBP	DOP	TBP	DOS	NOX
S (mV.déc ⁻¹)	-59,9 ± 0,9	-56,4 ± 0,8	-61,2 ± 0,2	-59,6 ± 0,4	-60,1 ± 0,41	-62,3 ± 0,35	-63,0 ± 0,4
r	0,999 81	0,999 23	0,999 34	0,999 45	0,999 22	0,999 22	0,999 32
LPD(mol/dm ³)	8,49 · 10 ⁻⁶	7,79 · 10 ⁻⁶	9,59 · 10 ⁻⁶	5,30 · 10 ⁻⁶	2,43 · 10 ⁻⁵	3,61 · 10 ⁻⁵	1,52 · 10 ⁻⁵
LIRL (mol/dm ³)	1,95 · 10 ⁻⁵	2,06 · 10 ⁻⁵	2,82 · 10 ⁻⁵	2,01 · 10 ⁻⁵	6,07 · 10 ⁻⁵	3,51 · 10 ⁻⁵	3,58 · 10 ⁻⁵
Tvida meses)	> 6,0	3,0	> 6,0	4,0	2,8	4,9	2,8
Sd (S)	2,21	2,1	1,24	0,81	0,99	0,72	2,61

Leyenda: Sd (S): desviación estándar de la pendiente

Tabla 14. Parámetros de calibración de los electrodos con la sal CITOMA como ionóforo y los disolventes mediadores ensayados

Parámetros	o-NPOE	TEHP	DBP	DOP	TBP	DOS	NOX
S (mV. déc ⁻¹)	-60,16 ± 1, 08	-58,15 ± 0,49	-59,22 ± 0,93	57,62 ± 0,91	60,61 ± 1,25	57,00 ± 0,98	60,91 ± ,85
r	0,999 07	0, 999 18	0,999 77	0,999 14	0,999 03	0,998 92	0,999 78
LPD (mol/dm ³)	1,93 · 10 ⁻⁵	2,11 · 10 ⁻⁵	1,90 · 10 ⁻⁵	2,41 · 10 ⁻⁵	2,6 · 10 ⁻⁵	2,9 · 10 ⁻⁵	2,20 · 10 ⁻⁵
LIRL (mol/dm ³)	1,89 · 10 ⁻⁵	1,39 · 10 ⁻⁴	3,89 · 10 ⁻⁵	5,88 · 10 ⁻⁵	6,8 · 10 ⁻⁵	6,8 · 10 ⁻⁵	4,65 · 10 ⁻⁵
Tvida (meses)	3,5	6,0	2,6	6,0	1,5	1,0	3,3
Sd (S)	2,23	1,0	1,76	1,87	0,89	1,84	1,6

Leyenda: Sd (S): desviación estándar de la pendiente

dientes cercanos al teórico se obtuvieron con los ESI construidos con los disolventes mediadores DBP (-59,2 mV•déc⁻¹) y el o-NPOE (-60,1 mV•déc⁻¹).

En realidad, no es posible plantear alguna regularidad entre los valores de pendientes obtenidas con las propiedades de los plastificantes empleados como disolventes mediadores. Solo es claro que todos los valores son bastante aceptables desde el punto de vista de la ecuación de Nernst.

Se observa una mayor dependencia del disolvente mediador en los LPD de los ESI construidos con el ionóforo NTDA respecto a los construidos con el CITOMA. Además, en algunos casos los valores del LPD son al menos un orden mayor para los construidos con el NTDA. Los valores del LPD obtenidos para los ESI construidos con la sal NTDA siguen el siguiente orden en función del disolvente mediador empleado:

DOP (5,30 · 10⁻⁶) < TEHP < o- NPOE < DBP (9,59 · 10⁻⁶) < NOX (1,52 · 10⁻⁵) < TBP < DOS (3,61 · 10⁻⁵), todos en mol/dm³.

El mejor resultado se obtuvo con el ESI en el que se empleó como disolvente mediador el DOP cuya constante dieléctrica (ϵ_r) es 5,1 y cuya lipofilidad ($\log P_{TLC}$) es 7. El segundo mejor valor fue el obtenido para el disolvente TEHP ($\epsilon_r = 4,8$ y $\log P_{TLC} = 10,2$).

Estos resultados parecen indicar un sinergismo o compromiso de los factores lipofilidad y constante dieléctrica de los disolventes mediadores. Se obtienen los mejores resultados de LPD cuando se alcanzan valores intermedios en la relación de ambas propiedades.

Este valor ($LPD = 5,30 \cdot 10^{-6} \text{ mol/dm}^3$) obtenido para el ESI construido con el NTDA y el DOP es menor que el valor reportado por Arada y del Toro ($LPD 2,2 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$) con igual sal cuaternaria; pero con solución de referencia interna y menor también a los obtenidos por Nielsen y Hansen en 1976 ($5,6 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$), menor al obtenido por Lima y Machado en 1985 ($LPD 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$) y a los obtenidos por estos últimos con un electrodo comercial para nitrato Orion 90-07-02 ($LPD 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$). Esto nos permite afirmar que los electrodos construidos con el empleo de la sal NTDA como ionóforo y el DOP como plastificante permiten detectar una menor concentración de ion nitrato.

Sin embargo, el ESI construido con el disolvente mediador DOS ($\epsilon_r = 3,9$ y $\log P_{TLC} = 10,1$) es el que presenta el mayor valor de LPD, puesto que la membrana no alcanza la polaridad mínima necesaria que facilite la movilidad y difusión de los sitios activos. Esto es impedido por la alta lipofilidad del plastificante empleado como disolvente mediador.

En el caso de los ESI construidos con el plastificante o-NPOE, ($\epsilon_r = 23,6$ y $\log P_{TLC} = 5,9$) observamos que su LPD se aleja de los mejores valores obtenidos, lo cual evidencia el sinergismo señalado.

Cabe señalar que no solo el sinergismo que se observa entre la constante dieléctrica y la lipofilidad de los plastificantes empleados como disolventes mediadores influye en los valores de los LPD. Dichos valores para ambos ionóforos deben estar vinculados, además, con su estructura eléctrica y estérica.

También esta diferencia en cuanto a la estructura de los ionóforos debe explicar que los valores de LPD para algunos de los ESI construidos con el ionóforo NTDA sean al menos un orden mayor que los obtenidos para el CITOMA con igual disolvente mediador. El ionóforo NTDA es una sal simétrica que presenta cuatro grupos decilos y la sal CITOMA es asimétrica con tres grupos octilos y un metilo. El asimétrico debe dar un catión polarizado de la sal ionófora y menos apantallada su carga, lo que debe tener una consecuencia sobre la movilidad del ionóforo respecto al simétrico.

Los valores del LPD obtenidos para los ESI construidos con la sal CITOMA siguen el siguiente orden en función del disolvente mediador empleado:

DBP ($1,90 \cdot 10^{-5}$) < o- NPOE ($1,93 \cdot 10^{-5}$) < TEHP ($2,11 \cdot 10^{-5}$) < NOX ($2,20 \cdot 10^{-5}$) < DOP ($2,41 \cdot 10^{-5}$) < TBP ($2,6 \cdot 10^{-5}$) < DOS ($2,9 \cdot 10^{-5}$), todos en mol/dm³.

Como se aprecia, en general estos se encuentran en el orden de los obtenidos para el ionóforo NTDA con los plastificantes TBP, DOS y NOX. El menor valor fue el obtenido para el plastificante DBP ($1,90 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³). No obstante, los LPD se encuentran en el orden de los reportados en la literatura por otros autores ($2,2 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³) y en algunos casos mejores ($3 \cdot 10^{-5}$ mol/dm³).

Estudio de pH

Los intervalos de pH obtenidos para los catorce electrodos selectivos a nitrato, empleando como ionóforo las sales cuaternarias de amonio (NTDA y CLTOMA), ambas con una pureza de 98 y 97 % respectivamente y 7 % en peso del ionóforo y el disolvente mediador seleccionado, 64 % en peso.

Los intervalos de pH obtenidos son amplios, sobre todo en la región alcalina. Todos los electrodos presentaron una rápida estabilidad en su respuesta (15 s).

Se estudió mediante los diagramas de Reilley la influencia del pH en la respuesta del electrodo en los que se representa la variación de potencial del electrodo en función del pH de la solución con la que está en contacto.

Para el estudio del pH se procedió a calibrar el electrodo de vidrio por el método habitual de potenciometría directa, o sea leyendo con un potenciómetro el valor de pH obtenido al sumergir los electrodos en soluciones amortiguadoras de pH conocido (pH 2,01 y pH 12,00). Las lecturas se realizan empleando un electrodo de referencia de Ag/AgCl de doble unión.

Se partió de 250 mL de una solución de KNO₃ de concentración 10^{-2} mol/dm³, una vez introducidos los electrodos de trabajo en la solución de ensayo, el electrodo indicador y el electrodo de referencia se conectan a un potenciómetro y el electrodo de vidrio y el otro de referencia se conectan a otro potenciómetro. Se adiciona ácido sulfúrico

hasta llegar a un pH aproximado a 3, luego se añade hidróxido de sodio (1 mol/dm^3) con mucho cuidado para así obtener valores de pH y potencial después de cada adición.

En las figuras 8 y 9, se pueden observar que los intervalos de pH, son amplios para todos los ISE construidos y difiere poco de un mediador a otro en una misma serie, es decir para la misma sal cuaternaria.

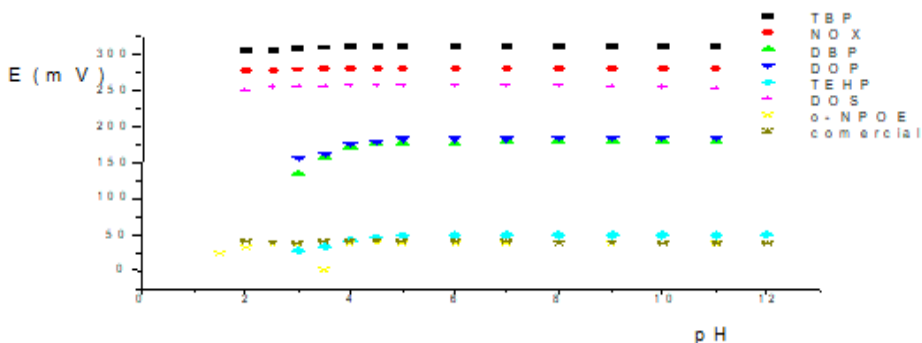


Figura 8. Potencial de respuesta a la variación del pH de los sensores con la sal NTDA y los diferentes disolventes mediadores estudiados a una concentración de nitrato de 10^{-2} mol/dm^3

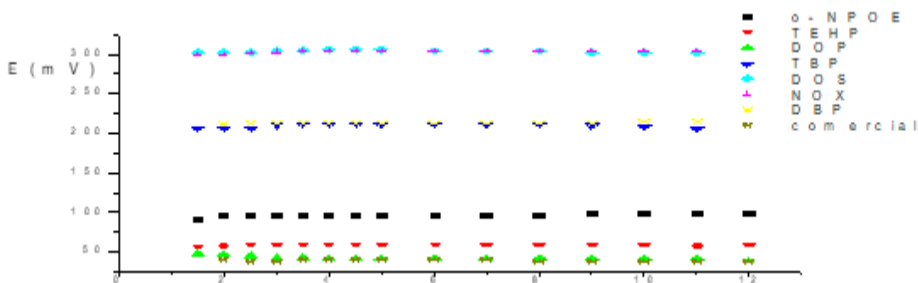


Figura 9. Potencial de respuesta a la variación del pH de los electrodos con el CITOMA y los diferentes disolventes mediadores estudiados a una concentración de 10^{-2} mol/dm^3

Esto puede ser debido a que la sal cuaternaria está al pH determinando y no el tipo de plastificante empleado como disolvente mediador; al tener estas sales cuaternarias hidrólisis básicas, desde el comienzo, al ser activadas las membranas, se hacen permeables tanto al H_2O como al O_2 al CO_2 ; así también a las contracciones presentes en solución. Cuando se somete la membrana a pH ácido (H_2SO_4 pH 2-3), la sal cuaternaria tiende a restituir su hidrólisis alcalina por desplazamiento del equilibrio y, por tanto, como se hidroliza más, está más apta para el intercambio

de sustitución al nitrato. En la zona fuertemente básica, los iones hidronio no llegan a sustituir al nitrato en la reacción por intercambio en la membrana; de ahí que el intervalo sea tan amplio en la zona alcalina. Los electrodos nunca llegan a identificar al ion hidronio (OH^-) como interferente.

En el caso de la familia de los electrodos construidos con la sal cuaternaria NTDA (figura 8), se pone de manifiesto que el potencial del electrodo no se afecta por la variación de pH en el rango de 5,0 a 11,5. Este es el caso de los electrodos confeccionados con los plastificantes DBP, DOP y TEHP. Los obtenidos con el TBP y el DOS no presentan variación en la respuesta en el intervalo de 3,5 - 11,5, mientras los que se prepararon con el NOX y el o-NPOE son los que presentan un intervalo más amplio de trabajo, siendo este de 2,0 - 11,5 y 2,5 - 11,5 en este orden.

Ninguno de los intervalos de los ESI obtenidos superan los reportados para un ESI Orión (12) no. 92 - 07-02 (pH 2 - 12), al igual que el reportado por Beckman no. 39618 y, a su vez, un intervalo semejante a los presentados el ESI comercial empleado. No obstante, cabe señalar que la mayoría de los intervalos de pH obtenidos por los ESI con ambas sales cuaternarias superan a los reportados, para ESI similares, Corning y Orión (PVC) de pH 2,5 - 8 por Davies, Moody y Thomas (1972); a los de Nielsen y Hansen (1976), (pH 4-9). Los obtenidos para los disolventes mediadores TBP y DOS son similares a los obtenidos por Lima y Machado y col. en 1985.

En el caso de la familia de electrodos construidos con el CLTOMA (figura 9), el intervalo de pH en el cual no se afecta su respuesta es amplio. El electrodo construido con el o-NPOE presenta un intervalo de pH menor (3 - 9,5). En cuanto a las sales cuaternarias empleadas no es su simetría la que parece haber repercutido en la respuesta al pH de los ISE estudiados, pero sí la responsable de la gran estabilidad en la respuesta de los electrodos en la amplia región alcalina.

Degradación de la membrana

Uno de los factores que limita el tiempo de vida de los sensores de membrana polimérica es la exudación-lixiviación del ionóforo o plastificante de la membrana a la solución de medida. Se seleccionó la membrana preparada a partir de la sal NTDA con el plastificante DBP para este estudio. Se utilizó la espectroscopía IR para investigar la degradación de la banda correspondiente al ion nitrato del ionóforo, lo que traería como consecuencia la pérdida de la capacidad de medición del sistema en cuestión.

Se obtuvieron los espectros IR y se le hicieron las asignaciones de las bandas presentes (en cm^{-1}) a:

- El plastificante DBP: $\nu_{\text{CH}_2}^{\text{as}}$ (2963), $\nu_{\text{CH}_2}^{\text{s}}$ (2872), $\nu_{\text{C=O}}$ (1727), δ^{s} (1464 y 1384), $\nu_{\text{C-O}}$ (1282, 1257 y 1073), $\gamma_{\text{CH(orto)}}$ (747).
- La sal cuaternaria NTDA $\nu_{\text{CH}_2}^{\text{as}}$ (2920), $\nu_{\text{CH}_2}^{\text{s}}$ (2850), δ^{s} (1383), $\nu_{\text{C-N}}$ (1339), ρ_{CH_2} (720).
- El PVC $\nu_{\text{CH}_2}^{\text{as}}$ (2925), $\nu_{\text{CH}_2}^{\text{s}}$ (2852), $\delta^{\text{s}}_{\text{C-H}}$ (1429), $\nu_{\text{C-Cl}}$ (1253), $\nu_{\text{C-Cl}}$ (613).
- Un blanco de reactivo compuesto por DBP y PVC para corroborar que en la zona donde se encuentran las bandas correspondientes a las $\nu_{\text{C-N}}$ no existen otras bandas de la matriz que nos lleven a una asignación errónea.
- La membrana con todos sus componentes sin acondicionar $\nu_{\text{NO}_3}^{\text{as}}$ (1576 y 1416), ν_{OH} (3300). La banda ancha centrada alrededor de los 3300 corresponde al agua del medio absorbida por la membrana.
- La membrana acondicionada a diferentes tiempos de vida del electrodo.

Se observó que las intensidades de las bandas correspondientes a las vibraciones de frecuencia de los enlaces ($\nu_{\text{NO}_3}^{\text{as}}$) disminuyen en el tiempo que se estudia, debido a que se pierde parcialmente por *leaching*¹ el par iónico utilizado como ionóforo. A este efecto negativo contribuyen de forma importante la lipofilidad del disolvente mediador y del ionóforo. Los espectros nos confirman que no hay pérdidas de plastificante ni del PVC. En las figuras 10-14, se representan los espectros del estudio de Infrarrojo (IR).

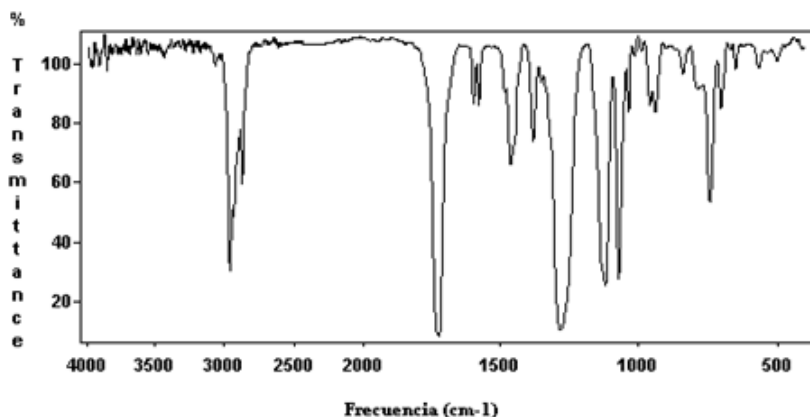


Figura 10. Espectro del DBP

¹Proceso natural donde el ionóforo sale de la membrana a la fase acuosa.

Bandas características: $\nu^{\text{as}}_{\text{CH}_2}$ (2963), $\nu^{\text{s}}_{\text{CH}_2}$ (2872), $\nu_{\text{C=O}}$ (1727), δ^{s} (1464 y 1384), $\nu_{\text{C-O}}$ (1282, 1257 y 1073), $\gamma_{\text{CH(orto)}}$ (747).

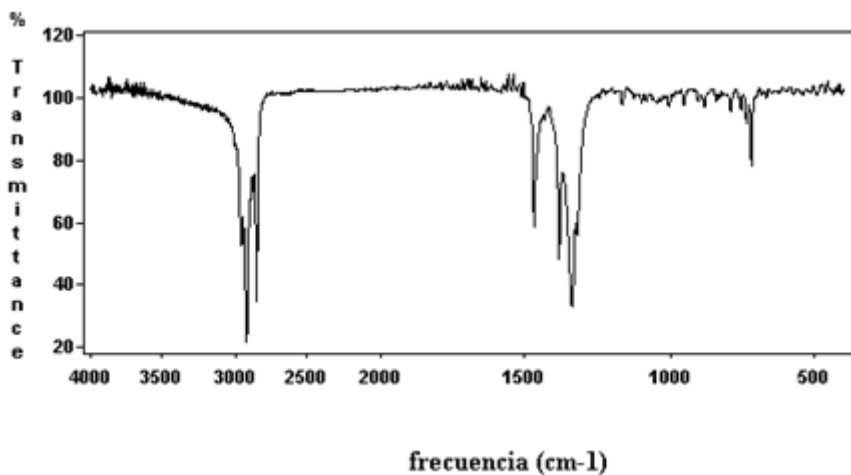


Figura 11. Espectro de la sal NTDA

Bandas características: $\nu^{\text{as}}_{\text{CH}_2}$ (2920), $\nu^{\text{s}}_{\text{CH}_2}$ (2850), δ^{s} (1383), $\nu_{\text{C-N}}$ (1339), ρCH_2 (720).

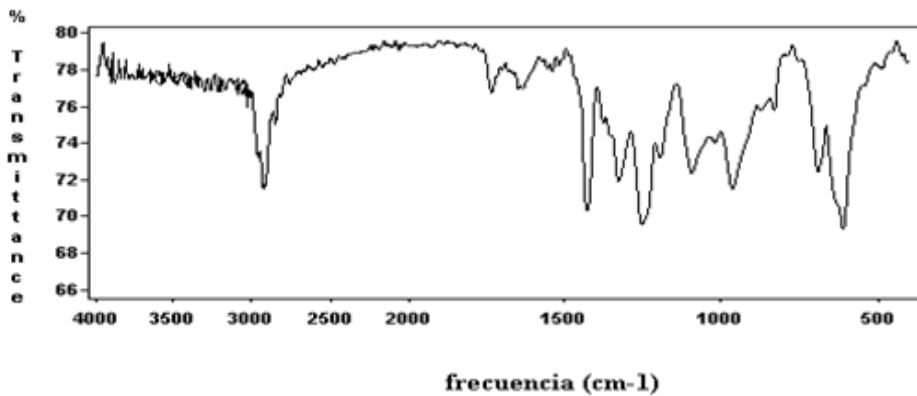


Figura 12. Espectro del PVC

Bandas características: $\nu^{\text{as}}_{\text{CH}_2}$ (2925), $\nu^{\text{s}}_{\text{CH}_2}$ (2852), $\delta^{\text{s}}_{\text{C-H}}$ (1429), $\nu_{\text{C-Cl}}$ (1253), $\nu_{\text{C-Cl}}$ (613).

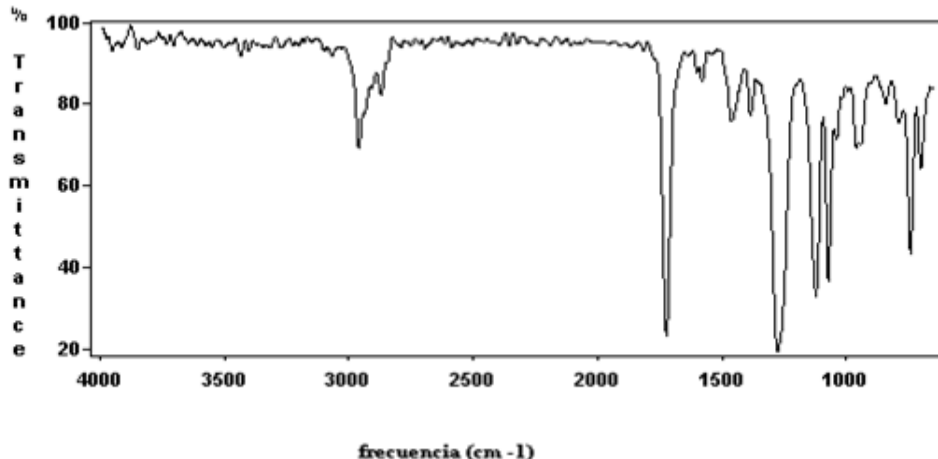


Figura 13. Blanco de la membrana (DBP y PVC)

En la figura 14 (incisos a, b, c, d y e) se muestra el espectro de la membrana sin acondicionar y a diferentes tiempos de vida.

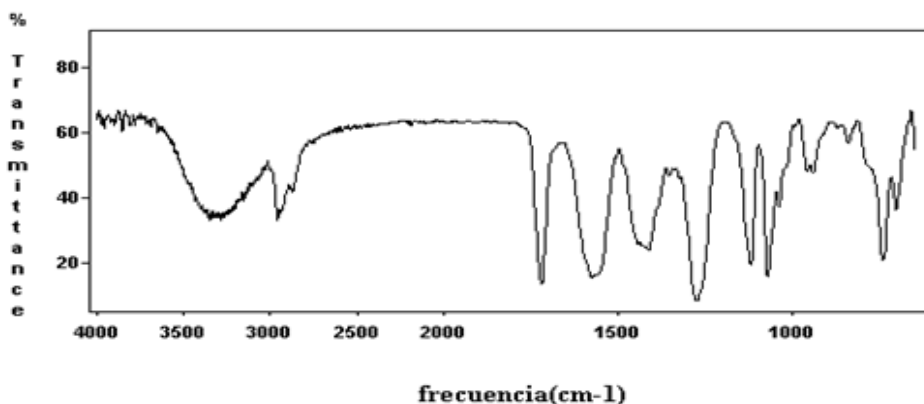


Figura 14a. Espectro de la membrana sin acondicionar

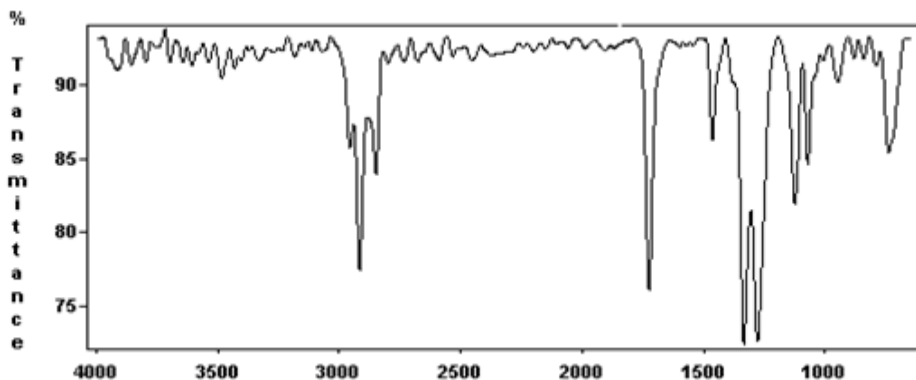


Figura 14b. Espectro de la membrana acondicionada (tiempo de vida de 1 mes)

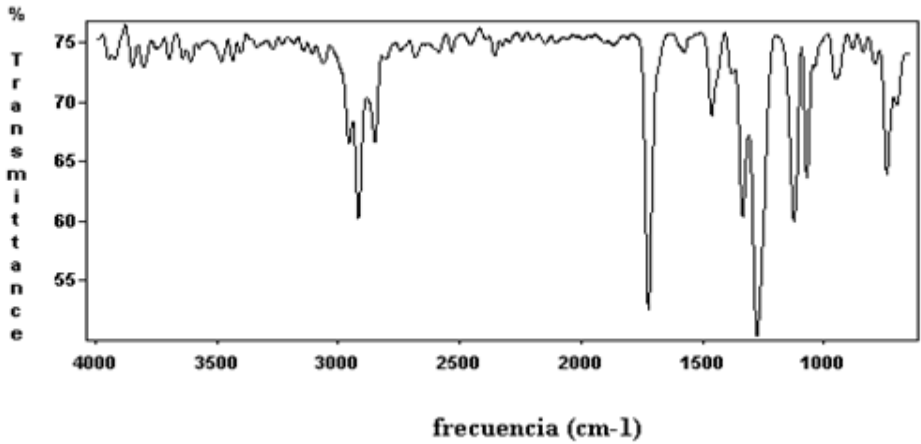


Figura 14c. Espectro de la membrana acondicionada (tiempo de vida de 2 meses)

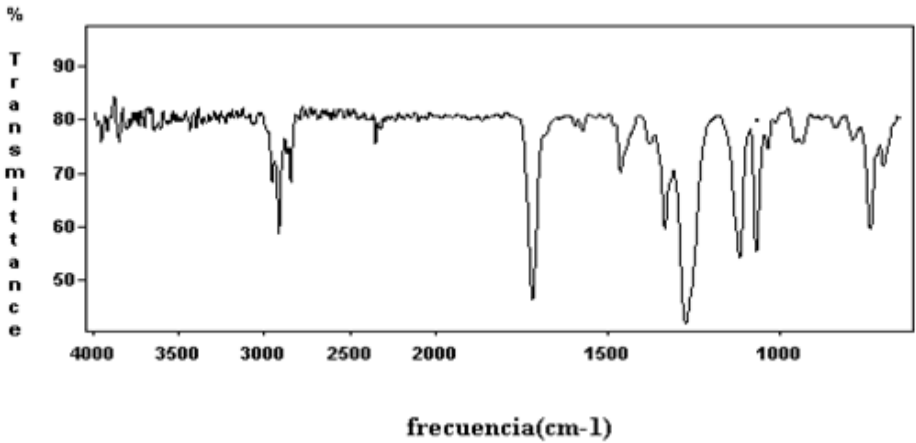


Figura 14d. Espectro de la membrana acondicionada (tiempo de vida de 3 meses)

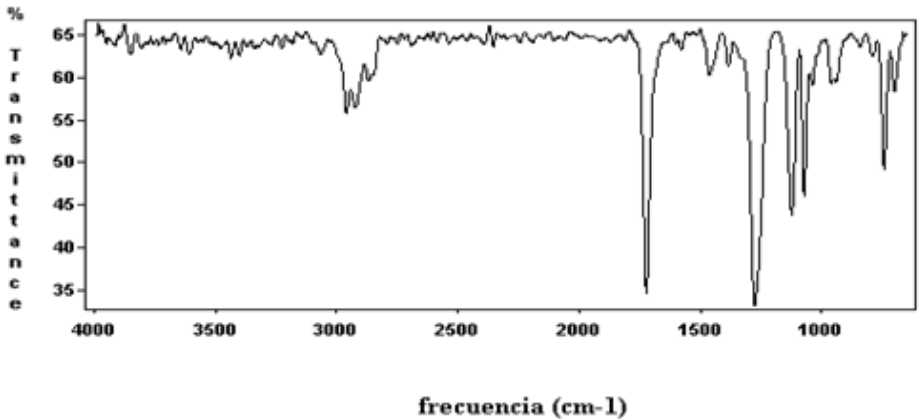


Figura 14e. Espectro de la membrana acondicionada (tiempo de vida de 4 meses)

En la figura 15 se muestra la disminución del área debajo de la curva de todas las bandas de nitrato durante el tiempo de vida del electrodo. Se comprobó que a medida que se exudan los sitios activos de la membrana se pierden las características de respuesta del electrodo.

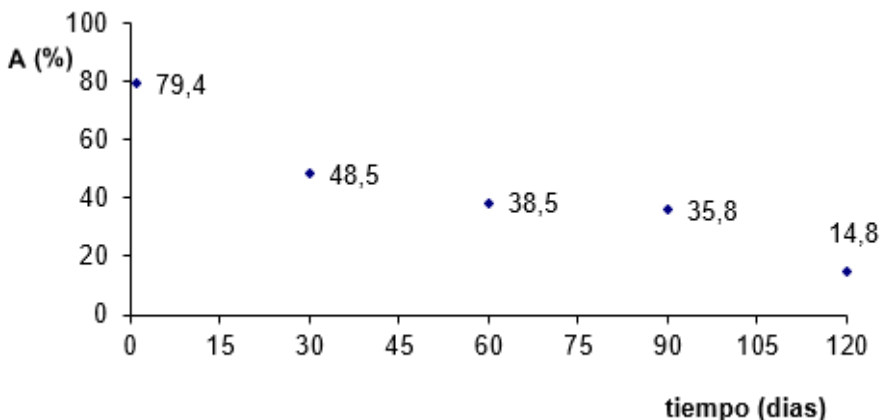


Figura 15. Pérdida de ionóforo en la membrana

Este estudio comprueba que el tiempo de vida de las membranas líquidas de portador móvil cargado está limitado en esencia por la pérdida del ionóforo.

Aplicaciones a muestras reales

Se utilizó uno de los ESI construidos para determinar el contenido de nitrato en muestras reales por varios métodos.

Determinación de nitrato en tomates. Curva de calibración

Se determinó el contenido de nitrato en un lote de tomates maduros colectados al azar en un agromercado de Santiago de Cuba. Se tomaron quince muestras de tomates a los que se le hicieron tres réplicas de análisis por muestra. Se emplearon los métodos potenciométricos de adición de estándar y directo; además del espectrofotométrico (UV).

Electrodo indicador: electrodo selectivo a nitrato de membrana líquida, sobre un soporte conductor construido en este trabajo, compuesto por NTDA-DBP-PVC.

Electrodo de referencia: Ag/AgCl de doble unión.

La fuerza iónica del medio fue ajustada con $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ al 1 %.

Para las medidas de las absorbancias se utilizó un espectrofotómetro SF. 26. URSS.

Para las medidas de potenciales se empleó un pH digital Pracitronic mV 870. Aleman, con una precisión ± 1 mV.

Tratamiento de la muestra

Se pesan 5g de la muestra, se cortan en porciones muy pequeñas, se trituran y se hace pasar a través de un tamiz plástico de 40 micrómetros (μm) para obtener el jugo; el residuo se vuelve a tratar incorporando el líquido obtenido al filtrado anterior, vertiéndolo en un matraz aforado de 100 mL y se enrasa con $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ al 1 %.

Se procedió a determinar los potenciales de la muestra con el ESI de NTDA-DBP-PVC, por interpolación directa en la curva de calibración, se determinaron las concentraciones de las muestras reales.

A partir de una disolución patrón 1 mol/dm^3 de nitrato, se prepararon por dilución sucesivas patrones en el rango de 10^{-6} a 10^{-1} mol/dm^3 en un fondo de $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ al 1 %.

Se leyó el potencial de cada uno de los patrones y se construyó la curva de calibración, graficando E (mV) vs concentración de nitrato (mol/dm^3). La curva puede observarse en la figura 16.

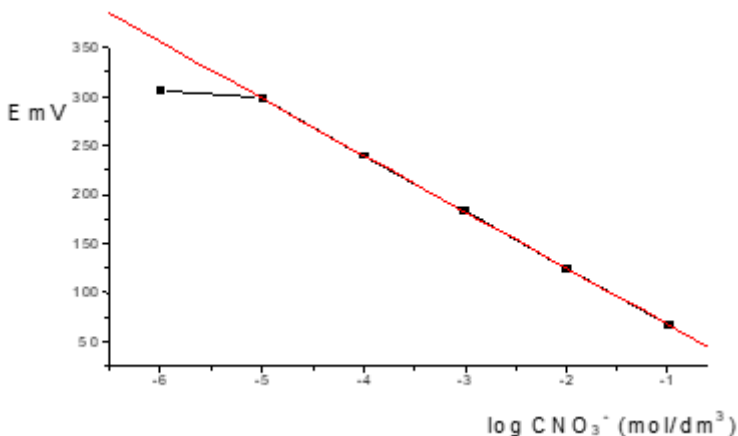


Figura 16. Curva de calibración de nitrato con ESI NTDA-DBP y $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$ 1%

$$S = -57,71 \text{ mV} \cdot \text{déc}^{-1} \quad S_d(S) = 0,1343 \quad r = 0,9999$$

Una vez leído el potencial de la muestra, por interpolación en la curva de calibración, se determinó su concentración.

Determinación de nitrato por Adición de estándar

A 10 mL de la muestra se le midió el potencial E_1 (mV), luego se adicionó 1,4 mL de un estándar de nitrato de 180 mg/L y se leyó nuevamente el potencial E_2 (mV). La concentración de la muestra se determinó a través de la siguiente ecuación.

$$C_m = C_{std} \cdot Q \quad (17)$$

$$Q = (V_{std} / V_m + V_{std} \cdot 10 \Delta E / S - V_m) \quad (18)$$

donde

C_m : concentración de la muestra.

C_{std} : Concentración del estándar.

V_m : Volumen de muestra.

V_{std} : volumen del estándar adionado.

S : pendiente del electrodo empleado.

ΔE : Diferencia de los potenciales medidos.

Determinación de nitrato por espectrofotométrico UV

Al aplicar el método espectrofotométrico UV se construyó una curva de calibración (absorbancia *vs* concentración), determinándose la concentración de la muestra por interpolación en la misma. Los resultados potenciométricos se compararon con la determinación espectrofotométrica directa en la zona UV.

En la tabla 15 se muestran las concentraciones obtenidas por el método potenciométrico directo y de adición de estándar así como el método espectrofotométrico.

Tabla 15. Concentración de nitrato en tomates

Método	Potenciometría Directa, con ESI	Potenciométrico por adición de estándar	Espectrofotométrico(UV)
Concentración (mg/L)	18,95 ± 0,43	18,30 ± 0,48	19,15 ± 0,53
SD	1,15	1,22	1,28
CV (%)	6,1	6,7	6,7

Leyenda: CV: coeficiente de variación; SD (S): desviación estándar de la concentración media

Estos métodos se aplicaron a quince muestras con tres réplicas. Los cálculos fueron hechos por el programa estadístico Systar, versión 5.0. Se obtuvo que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos para ($\alpha = 0,05$) entre las medias comparadas.

Se realizó un análisis comparativo de los resultados obtenidos por los tres métodos. Se utilizó el mismo criterio por parejas de métodos y se empleó el criterio de t de Students para conocer si los presentaban diferencias. De este modo, se obtuvo que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos (tabla 16).

Tabla 16. Valores calculados para Fs y t

Pares	UV – C.C	C.C. – A.Est	A.Est – UV
Fs calculada	1,755 5	1,432 2	1,202 6
t calculada	0,226 6	0,226 9	0,430 4

Determinación de nitrato en muestra de agua potable

Se emplearon los métodos potenciometría directa y cromatografía iónica. Las muestras se tomaron en la estación de bombeo Caribe, de la provincia Guantánamo. Esta abastece a una población de 70 000 habitantes. Se analizaron utilizando el ESI de NTDA – DBP. En las aguas la conductividad iónica fue menor de 3 mS/cm; lo que indica que contienen una baja concentración de sales, así la concentración de HCO_3^- estaba en el intervalo de 212-220 mg/L y la concentración de cloruros 8-214 mg/L (datos ofrecidos por el laboratorio en cuestión).

Determinación de nitrato por potenciometría directa. Curva de calibración

A partir de una disolución patrón 1 mol/dm³ de nitrato se prepararon por dilución sucesivas patrones en el rango de 10⁻⁶ a 10⁻¹ mol/dm³, se adicionaron a cada patrón 10 mL del ISA-Ag. Se leyó el potencial de cada uno de los patrones y se construyó la curva de calibración, graficando E (mV) vs concentración de nitrato mol/dm³ (figura 17). ISA de Ag controla las interferencias, además de mantener la fuerza iónica del medio constante. Está compuesto por: 0,01 mol/dm³ de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, 0,01 mol/dm³ Ag_2SO_4 , 0,02 mol/dm³ H_3BO_3 , 0,02 mol/dm³ $\text{NH}_2\text{SO}_4\text{H}$; ajustado a pH 3.

El $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ tiene como función descomponer a pH 3 los bicarbonatos y flocula los compuestos orgánicos, el $\text{NH}_2\text{SO}_4\text{H}$ destruye los nitritos, el Ag_2SO_4 precipita los cloruros y el H_3BO_3 para detener la degradación biológica de la muestra.

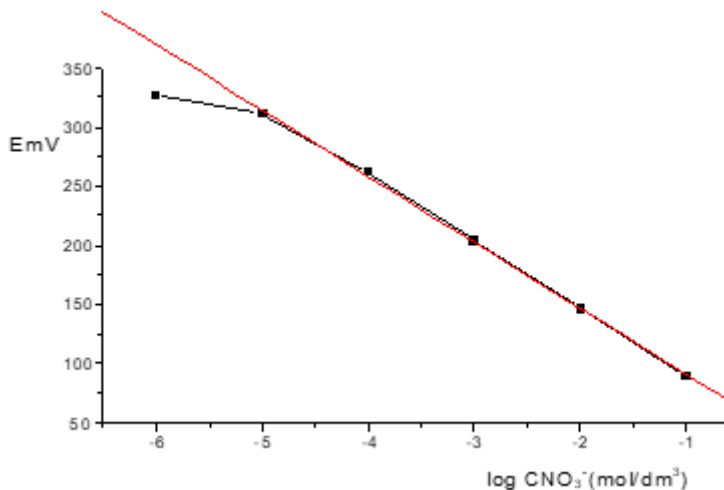


Figura 17. Curva de calibración de nitrato con ESI e ISA-Ag

A 10 mL de la muestra, se le adicionaron 10 mL del ISA-Ag. Se mantuvo agitación constante con un agitador magnético. Se leyó el potencial y se determinó la concentración de nitrato a través de la curva de calibración por interpolación.

$$S = -55,73 \text{ mV} \cdot \text{déc}^{-1} \quad Sd (S) = 0,8794 \quad r = 0,999 \text{ 63}$$

Determinación de nitrato por cromatografía iónica

Cromatógrafo iónico Dionex.

Detector: conductimétrico.

Rango del detector: 10-30 mS. Integrador: Spectra physics 4290.

Columna: separador aniónico (AS4A/SC); supresor aniónico (AFS), protector anión (AG4A/SC).

Inyector: válvula múltiple, activada por aire, con lazo de 50 microlitros (μL).

Eluente: 1,8 nM de Na_2CO_3 / 1,7nM Na_2HCO_3 .

Flujo de eluente: 2 mL/min.

Regenerante: 25 nM H_2SO_4 .

Flujo de regenerador: 23 mL/min.

Todas las soluciones estándares y muestras fueron preparadas con agua desionizada, en el intervalo de 15 - 4 ppm de NO_3^- .

Como puede observarse en las tablas 17 y 18 el contenido de NO_3^- en las muestras analizadas no excede a los 10 mg/L, por lo cual no se puede considerar crítica la contaminación del agua. Téngase en cuenta que se consideran niveles críticos para nitratos en aguas si estos se encuentran en rangos de concentración entre 45-90 mg/L, para lo cual la norma estándar internacional de concentración permisible de nitrato en aguas de consumo es de 45 mg/L y la europea de 50 mg/L.

Tabla 17. Concentración (mg/L) de nitrato en muestras de agua con el electrodo NTDA-DBP-PVC

Número de muestra	Potenciometría directa / CV (%)	Cromatografía iónica / CV (%)
1	9,93 ± 0,01 / 1,54	9,50 ± 0,02 / 2,19
2	8,30 ± 0,005 / 1,20	8,10 ± 0,02 / 2,47
3	5,90 ± 0,005 / 1,70	6,20 ± 0,02 / 2,8

Leyenda: CV: coeficiente de variación

Tabla 18. Análisis de añadido recobrado

Número de muestra	Adicionado	Encontrado	% Recobrado
1	1 mg/L 10 mg/L	1,07 mg/L 10,07 mg/L	107 100,7
2	1 mg/L 10 mg/L	0,8 mg/L 9,9 mg/L	80 99
3	1 mg/L 10 mg/L	1,1 mg/L 10,1 mg/L	110 101

La comparación de los resultados según el criterio t de Students demostró que no existen diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) entre las medias comparadas.

Reconocimiento molecular de un portador móvil neutro (1-furoil-3,3-dietiltiurea) usado como electrodo *all solid stated* a nitrato, plomo y cobre

ESI a plomo y nitrato

La membrana compuesta por la 1-furoil-3,3-dietiltiurea como portador móvil neutro (figura 18), el tributilfosfato como plastificante y el cloruro de polivinilo como matriz sobre un soporte conductor sensible a plomo

y nitrato (a este último una vez agotado el tiempo de vida del ESI a plomo). Para el mismo portador se manifiesta dos mecanismos de respuesta muy eficaces. El ESI a Pb^{2+} presenta una respuesta lineal en el rango de concentración de 10^{-6} – 10^{-3} mol/dm³, con pendiente de 29,6 mV/déc, el tiempo de respuesta obtenido fue de 20 s. Para el ESI a NO_3^- la pendiente fue sobrenernstiana de -63,14 mV/déc y un tiempo de respuesta de 20 s (tabla 19).

La composición de la celda electroquímica es la siguiente:

Ag/AgCl | KCl 0,1 mol/dm³ | K₂SO₄ 0,1 mol/dm³ || disolución de trabajo || membrana PVC | soporte conductor Cu_(s)

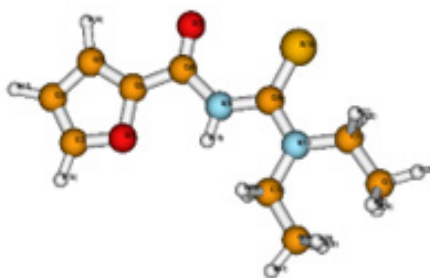


Figura 18. Portador móvil neutro empleado como ionoforo: I-furoil, 3,3- dietiltiourea. Estructura optimizada

Tabla 19. Parámetros de calibración de los ESI sensibles a plomo y nitrato

ESI	Plomo(II)*	Nitrato	Cobre
S mV/déc	29,6	-63,14	29,34 ± 0,6
LPD mol/dm ³	2,15 • 10 ⁻⁶	5, 66 • 10 ⁻⁷	3,84 • 10 ⁻⁷
LIRL mol/dm ³	9,43 • 10 ⁻⁶	2,02 • 10 ⁻⁶	6,15 • 10 ⁻⁷
Tiempo de respuesta	20 s	20 s	20 s

El plomo, según la teoría de Pearson, es un ácido blando-intermedio, ya que es un metal de gran radio, bajo estado de oxidación y con sus electrones externos fácilmente excitables. La presencia de varios heteroátomos de diferente dureza en la tiourea empleada como ionóforo, establece una competencia en el proceso de reconocimiento por formación de complejo. Los átomos de O y N del ionóforo, según la misma teoría,

constituyen centros menos blandos, mientras que el átomo de S es un centro blando, ya que posee una elevada polaridad y baja electronegatividad, lo que pudiera facilitar la formación de complejo por esta posición en la membrana líquida del ESI.

En el caso del plomo, resulta factible la formación de enlaces sp^3x con los pares de electrones libres que tienen los átomos de S, O de la tiourea empleada como ionóforo en cuestión, no el nitrógeno porque el par de electrones está deslocalizado entre las nubes electrónica π de los dobles enlaces $C=O$ y $C=S$ como puede observarse en la figura 20. Por otro lado, asumiendo que el plomo se asocia principalmente al azufre no podría asociarse al nitrógeno, porque el complejo sería muy inestable (tabla 20 y figura 19).

Tabla 20. Orden de enlaces mayores y distancias de enlaces °A

Átomos	Orden de enlace
$O_{11}-C_{14}$	1,0766
$C_{12}-C_{14}$	1,5975
$C_{12}-C_{13}$	1,1957
$C_{13}-C_{15}$	1,6916
$C_{15}-O_{11}$	1,0831
$C_{14}-C_{10}$	1,0558
$C_{10}-N_8$	1,2757
N_8-C_7	1,4488
C_7-S_6	1,9671
N_5-C_7	3,4195e-006
N_5-C_2	1,9508
$C_{10}-O_9$	1,0256
C_2H_{20}	5,91105e-007

En la respuesta del ESI a plomo, prima el siguiente mecanismo de formación de complejo.



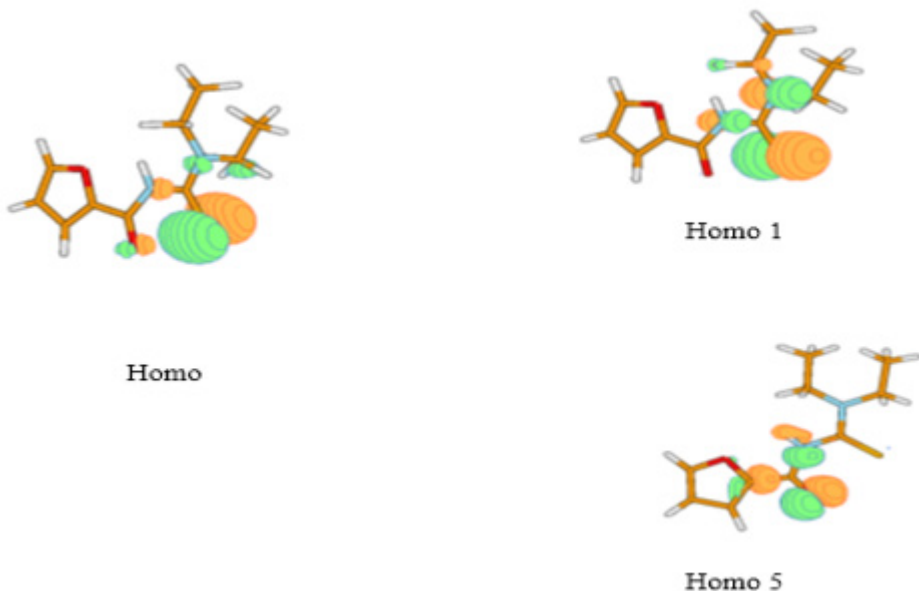


Figura 19. Homos obtenidos en el estudio teórico

Cuando este ESI pierde sus sitios activos a plomo, ya sea por saturación, por envenenamiento de la membrana o exudación de algunos de sus componentes de la membrana líquida a la fase acuosa, responde a nitrato. Consideramos como hipótesis que responde a nitrato a través del mecanismo por intercambio de carga, teniendo en cuenta el carácter básico del ion nitrato y el posible carácter ácido que da el protón asociado al nitrógeno de esta tiourea empleada como ionóforo a pesar de no formar puente de hidrogeno.

En la figura 20 se muestran las imágenes de membranas del ESI de plomo (II) en diferentes etapas de funcionamiento. En la etapa a, aparecen “cráteres” de diferentes tamaños y cúmulos blancos que pudieran ser atribuibles al complejo que se forma entre el metal y el ionóforo. En la etapa b se aprecian “cráteres” pero de mayor tamaño que los de la imagen a; se detectan además otros más pequeños, uniformemente distribuidos en toda la superficie. El relieve es diferente al de la imagen anterior y semejante al de una superficie ondeada u ondulada.

El cambio morfológico que se aprecia en la superficie puede ser debido a: 1) la reacción química que se produce entre el plomo y la tiourea empleada como ionóforo; 2) la pérdida por exudación de alguno de los componentes de la membrana, aspecto este que también se reporta por otros autores en la literatura y que conlleva a la pérdida de respuesta del sensor.

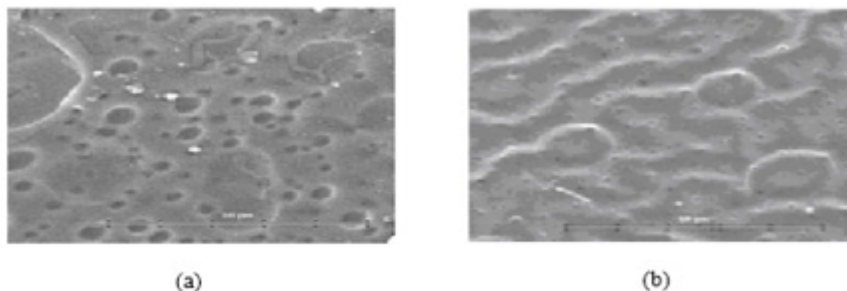


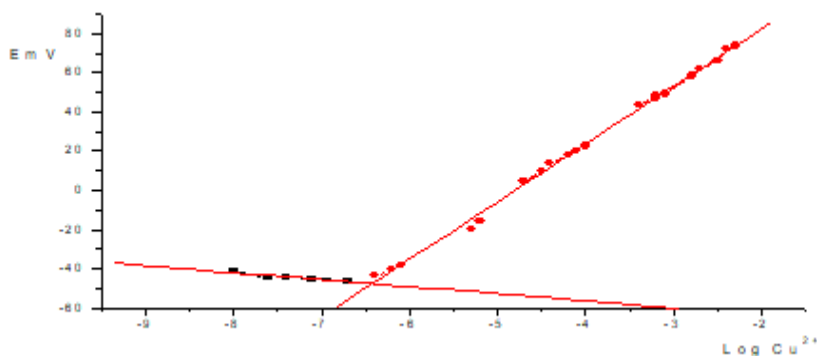
Figura 20. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) de las membranas del ESI

Después de los cambios morfológicos que sufre la membrana líquida selectiva mostrada en la figura 20b, es que el ESI experimenta respuesta a nitrato, cuando ya no hay sitios activos disponibles a forma complejos.

ESI a cobre con la 1-furoil-3,3-dietiltiourea como portador móvil neutro

Con este mismo ionóforo se obtuvieron respuesta a Cu^{2+} . La membrana líquida de cobre fue preparada con un 6 % del ionóforo y 33 del plastificante en una matriz polimérica de cloruro de polivinilo (PVC) y el DOP como plastificante. Presentó buenas características de respuesta (figura 21).

Figura 21. Curva de calibración representativa a Cu^{2+} por el método de las adiciones



La respuesta del ESI a cobre frente a la variabilidad del pH (diagrama Reilley) mostró que solo es posible trabajar en un pequeño intervalo de pH 8.0 a 10.0 (figura 22).

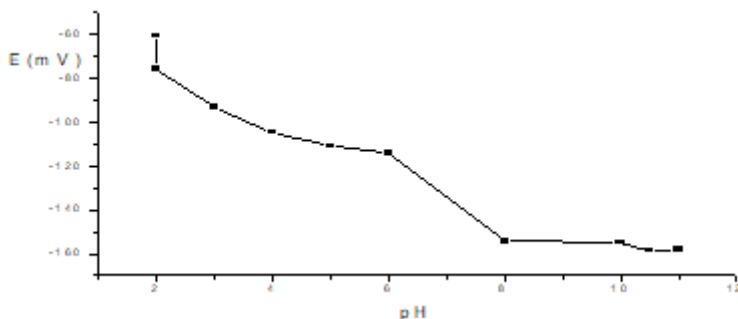


Figura 22. Respuesta del ESI a cobre con la variabilidad del pH a concentración del ion primario de 10^{-2} mol/dm³

Tabla 21. Coeficientes de selectividad del ESI, a través del método de las soluciones mezcladas a una concentración del interferente de 10^{-2} mol/dm³

Ion interfe rente	K_{AB}^{Pot}	Log K_{AB}^{Pot}	K_{AB}^{Pot} Ref.*	Log K_{AB}^{Pot} Ref.*
K ⁺	$6,25 \cdot 10^{-2}$	-1,2041	L1 $7,32 \cdot 10^{-4}$ L6 $2,22 \cdot 10^{-3}$	-3,4
Na ⁺	$1,59 \cdot 10^{-2}$	-1,2291	L1 $8,52 \cdot 10^{-4}$ L6 $9,10 \cdot 10^{-4}$	-4,2
Zn ⁺²	$1,26 \cdot 10^{-1}$	-0,8996	L1 $5,73 \cdot 10^{-3}$ L6 $4,90 \cdot 10^{-3}$	-4,0

Fuente:** S. Sadeghi, M. Eslahi, M. A. Naseri, H. Naeimi, H. Sharghi, A. Shameli (2003)

Como puede verse en la tabla, la mayor interferencia se obtuvo para el Zn⁺², siguiendo el siguiente orden (Zn⁺² > Na⁺ > K⁺). En estudios similares por otros autores (Sadeghi *et al.*, 2003) con ESI L1 y L6 resultó más interferentes para la 1-furoil-3,3-dietiltiourea que la base derivada de (Sadeghi *et al.*, 2003) 2,2-[4,4-diphenyl-methane bis(nitrilomethylidyne)]-bisphenol (L1) y 2,2-[4,4-diphenylsulfonebis (nitrilomethylidyne)]-bis(4-methyl phenol) (L6), empleando el método de las soluciones mezcladas y el BHNB empleando el método de igualación de los potenciales.

Obtención y caracterización química de un microsensor CHEMFET para aplicaciones medioambientales

Microsensores basados en Transistores de Efecto de Campo (CHEMFET), para la determinación de aniones NO₃⁻ en aguas empleando membranas poliméricas que utilizan como portador catiónico al nitrato de

tetradecil amonio (NTDA) y que son depositadas en la compuerta no metalizada, de dimensiones de 20 -500 μm de los transistores.

La caracterización química se realizó mediante el empleo de un instrumento virtual desarrollado en ambiente LabView. Los microsensores poseen un rango de respuesta lineal de tres décadas con un límite práctico de detección de $8,78 \cdot 10^{-6}$ M y una sensibilidad de $59,7 \pm 1,2$ mV/dec.

Estos mostraron mejores tiempos de respuesta que sus análogos macrosensores del tipo Electrodo Selectivo de Iones (ISE) y su tiempo de vida fue de al menos seis semanas. El estudio de interferencias realizado demostró la selectividad hacia el anión nitrato que presentan estos Transistores de Efecto de Campo Químicamente Modificados.

Se emplearon transistores de efecto de campo fabricados en el Instituto de Microelectrónica de Barcelona. Estos poseen una compuerta de 20 - 500 μm formada por una capa de nitruro de silicio/óxido de silicio. Para la selección de los transistores se tomó como criterio que los valores de las corrientes de fuga en las uniones p-n estuvieran por debajo de los 10 nA, ya que para un correcto funcionamiento de estos transistores es de gran importancia el hecho de minimizar al máximo sus valores.

La composición de las membranas poliméricas fue la siguiente: 7 % del ionóforo nitrato de tetradecil amonio (NTDA), 64 % del disolvente mediador orto-nitrofeniloctiléter (o-NPOE) y 29 % de la matriz polimérica PVC. Todos los componentes se disolvieron en THF. Una vez homogeneizada la mezcla fue depositada sobre la compuerta del transistor mediante el empleo de una micropipeta, después de lo cual se dejó secar durante 24 h a temperatura ambiente quedando así listos para su empleo y caracterización.

Los microsensores fueron caracterizados químicamente mediante el empleo del método de la adición conocida. Para ello se construyó una tabla de adiciones que garantizaba un barrido de concentraciones entre 10^{-7} y 10^{-2} M a fin de poder determinar el rango de respuesta lineal, el límite práctico de detección y la sensibilidad (pendiente de la recta) del microsensor construido.

Se empleó el instrumento virtual desarrollado en ambiente LabView para este tipo de microsensores, mediante el cual se mide el valor del potencial entre el terminal de compuerta y la fuente (V_{gs}) de los CHEM-FET al variar la actividad del ion nitrato en el intervalo de concentraciones ya mencionado. El sistema de medición desarrollado por nuestro grupo de trabajo consta, como se muestra en la figura 23, de una PC

portátil, una tarjeta de adquisición de datos (National Instruments), un circuito para la polarización de los transistores, una fuente de voltaje doble y un electrodo de referencia de Ag/AgCl.

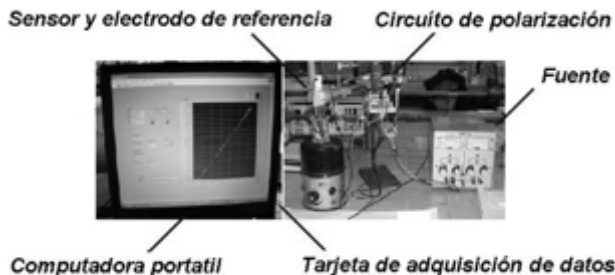


Figura 23. Sistema de medición empleado y partes

La evaluación de los microsensores se realizó durante un período de tiempo largo a fin de determinar su tiempo de vida, es decir, el tiempo transcurrido hasta que la pendiente comienza a deteriorarse y a disminuir su valor alejándose del valor teórico. En la figura 24 puede observarse que este tiempo fue de unas seis semanas. Este valor es algo superior al reportado para este tipo de microsensores, aun cuando resulta menor que el de sus homólogos macrosensores ISE dado que existe una menor adherencia de la membrana a la compuerta del microsensor.

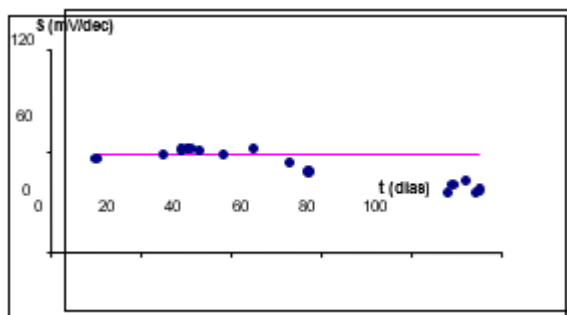


Figura 24. Variación de la sensibilidad en el tiempo

Los valores de los parámetros de caracterización de los CHEMFET obtenidos y los valores reportados por la literatura de los macrosensores ISE con igual composición de membrana están reflejados en la tabla 22. Estos resultados confirman que los nuevos microsensores poseen valores de pendiente cercanos al reportado teóricamente para aniones monovalentes a $T=25\text{ }^{\circ}\text{C}$, cuyo valor es de $59,16\text{ mV/dec}$. Por otra parte, se puede apreciar que los valores de sensibilidad, coeficiente de correlación lineal, límite inferior de respuesta lineal y límite práctico de detección de los

microsensores son comparables con los de los macrosensores. Los límites de detección están en plena concordancia con los reportados, en general, para sensores potenciométricos.

Tabla 22. Parámetros de calibración de los CHEMFET y de los ISE que utilizan la membrana NTDA selectiva al ion nitrato

Parámetros	CHEMFET	ISE
S (mV/dec)	$59,7 \pm 1,2$	$-59,9 \pm 0,9$
Coefficiente de correlación	$> 0,99$	$> 0,99$
LIRL (M)	$2,14 \cdot 10^{-5}$	$1,95 \cdot 10^{-5}$
LPD (M)	$8,78 \cdot 10^{-6}$	$8,49 \cdot 10^{-6}$
Rango de pH	1,5-7,5	2,5-11,5
Tiempo de vida (meses)	$\sim 1,5$	~ 6
Tiempo de respuesta (s)	0,95	20

Como se puede observar en la figura 25 se presenta una de las curvas típicas obtenidas para el cálculo del tiempo de respuesta; el valor de V_{gs} se estabiliza con rapidez luego de realizar el cambio de concentración. En todos los CHEMFET estudiados el tiempo de respuesta estuvo por debajo de un segundo y su valor promedio fue de 0,95 segundos. Este valor es mucho menor que el reportado Arada (2012) para los ISE fabricados con la misma sal cuaternaria de amonio (NTDA). Consideramos que esta diferencia en los tiempos de respuesta está asociada al hecho de que en los microsensores los mecanismos que establecen el potencial medido ante un cambio de concentración son diferentes a los que determinan el potencial en los ISE.

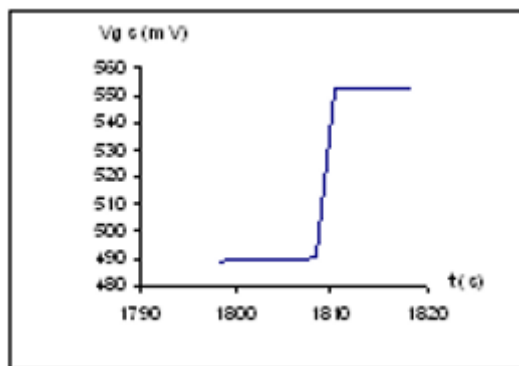


Figura 25. Curva típica de respuesta obtenida para un cambio de concentración de 10^{-3} M a 10^{-2} M de NO_3^- en un fondo de agua a $T = (25 \pm 1)^\circ\text{C}$

En la tabla 23 se muestran los valores calculados de los coeficientes de selectividad potenciométricos para diferentes aniones. También, a manera de comparación, se presentan estos coeficientes calculados para los macrosensores ISE. De esta tabla se concluye que no existen variaciones notables en la selectividad de los CHEMFET y los ISE para estos aniones interferentes, empleando la sal cuaternaria de amonio.

Tabla 23. K_{AB}^{Pot} para diferentes iones de los CHEMFET y de los ISE que utilizan la membrana NTDA selectiva al ion nitrato

Iones interferentes	Valores de K_{ij}^{pot}	
	CHEMFET	ISE
Cl^-	$9,8 \cdot 10^{-3}$	$8,7 \cdot 10^{-3}$
Br^-	$9,8 \cdot 10^{-3}$	$4,6 \cdot 10^{-2}$
ClO_3^-	$5,5 \cdot 10^{-2}$	$9,9 \cdot 10^{-1}$
BrO_3^-	$5,5 \cdot 10^{-2}$	$7,2 \cdot 10^{-2}$
IO_3^-	$5,7 \cdot 10^{-3}$	$5,2 \cdot 10^{-4}$
SO_4^{2-}	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$

Biosensor para la determinación de compuestos fenólicos empleando la enzima polifenol oxidasa

Un biosensor electroquímico fue construido, usando la polifenol oxidasa (PPO) para la determinación de catecol. La PPO empleada como enzima fue obtenida de la Archontophoenix Cunninghamiana. La respuesta del biosensor enzimático fue monitoreada.

Construcción del biosensor

La mezcla grafito (50 %, w/w), Araldita-endurecedor (35 %, w/w) se homogenizó, lográndose una resistencia menor a dos $K\Omega$ o igual a este, luego se mezcló con el tejido fino de la Latania Sp. (15 %, w/w) y fue empacado firmemente en un tubo plástico junto con el alambre de cobre empleado como contacto eléctrico (figura 26).

Parámetro operacional del biosensor

Se determinó el pH óptimo para el trabajo, así como el potencial de registro, la corriente de flujo del portador y el volumen de inyección de la muestra. Los resultados demostraron que el pH desempeña un rol impor-

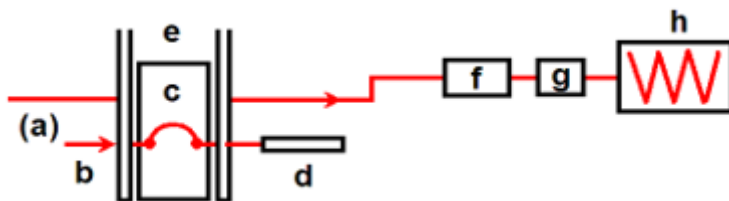


Figura 26. Representación esquemática del sistema de análisis de inyección en flujo empleado en este estudio (FIA). a) Solución del transportador, b) lazo de muestra, c) muestra, d) jeringa, e) inyector, f) celda electroquímica, g) detector, h) señal amperométrica

tante en la respuesta del biosensor amperométrico, resultando por ambos métodos empleados (el análisis por inyección a flujo (FIA) amperométrico y la Voltametría Cíclica (VC)) el pH 6,7 como el óptimo (tabla 24).

Tabla 24. Optimización de los parámetros de trabajo del biosensor

Parámetros	Rango estudiado	Valor óptimo
pH	2,0-7,0	6,7
Volumen de inyección (μL)	50-300	200
Potencial de registro (V)	-0,1 -0,5	-0,4
Corriente de flujo (mL min^{-1})	2,3	2,3

Todas las medidas se realizaron con Autolab Type III, Potentiostat/Galvanostat. El sistema Electroquímico Purpose General (GPES, por sus siglas en inglés) pH Lab Metrohm 827. Todas las medidas fueron efectuadas a temperatura ambiente.

Los experimentos del análisis por inyección en flujo (FIA amperométrico) fueron realizados usando una celda de flujo, la cual está configurada por tres electrodos: el biosensor amperométrico construido, el electrodo $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$, y un electrodo de auxiliar de acero inoxidable. Además se empleó para la propulsión de la solución amortiguadora buffer un sistema gravitacional ($2,3 \text{ mL min}^{-1}$).

Características de respuesta del biosensor

Se emplearon los métodos de Voltametría Cíclica y el de Análisis de inyección en flujo (AIF) para establecer el pH óptimo, en una solución

amortiguadora buffer de fosfato como transportadora de la muestra, variándose el pH de trabajo. Como puede apreciarse en las figuras 27 y 28, la respuesta obtenida está relacionada al pH de trabajo, obteniéndose la máxima respuesta a pH 6,7.

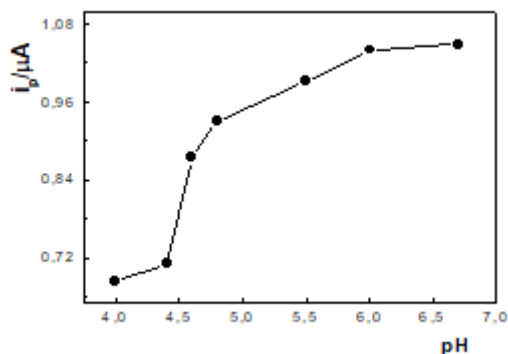


Figura 27. Respuesta del biosensor al variar el pH, para una solución de catecol $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L, por el método de AIF

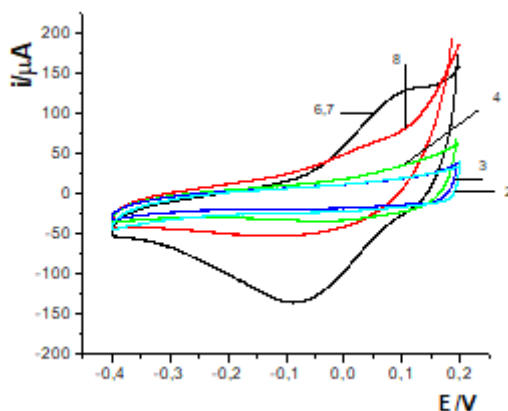


Figura 28. Voltamperogramas cíclicos obtenidos en solución de catecol $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L, a pH: 8; 6,7; 4; 3; 2

Por Voltamperometría Cíclica se estudió el comportamiento oxidación-reducción de una solución de catecol $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L. Como se ilustra en la figura 29, la enzima polifenol oxidasa es capaz de catalizar la oxidación del catecol a o-quinona como un producto primario, pero en los registros obtenidos se observaron dos reducciones, una correspondiente a la reducción electroquímica de la o-quinona a catecol a un potencial de -0,1 y una segunda correspondiente a la reducción de catecol a catecol monofosfato (CMP), la cual es obtenida - 0,4V aproximadamente.

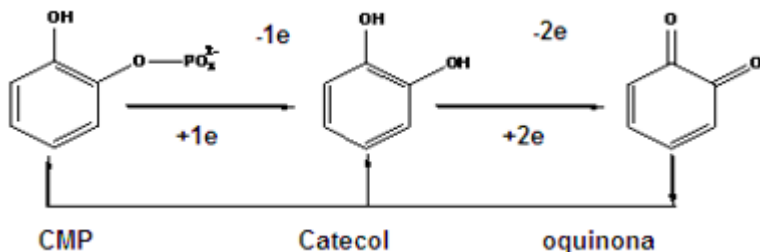


Figura 29. Representación esquemática de la reducción-oxidación electroquímica del catecol en presencia de la enzima polifenol oxidasa

En la figura 30 se puede apreciar la reducción electroquímica de o-quinona a catecol mono fosfato (CMP) muy cercano a $-0,4$ V.

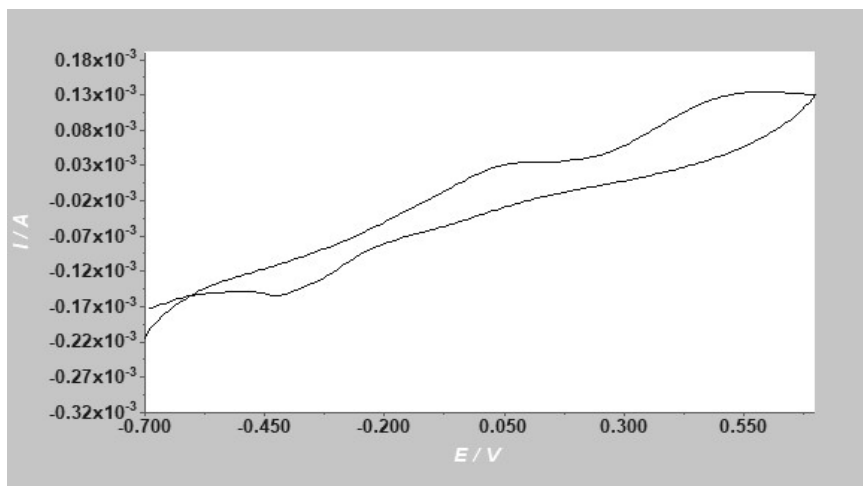


Figura 30. Voltamperograma Cíclico (VC, $i/\mu\text{A}$ vs E/V) de la reducción electroquímica del catecol a CMP en solución del amortiguador de fosfato (pH 6,7)

La respuesta obtenida a la variación de la concentración de catecol en solución buffer 6,7 por el método VC ($i/\mu\text{A}$ vs E/V), es representada en la figura 31, para concentraciones el catecol desde $6,66 \cdot 10^{-5}$ (1) – $2,06 \cdot 10^{-3}$ mol/L(6); en la cual se aprecia el correspondiente crecimiento de la onda de reducción de o-quinona a catecol a un potencial de $-0,1\text{V}$.

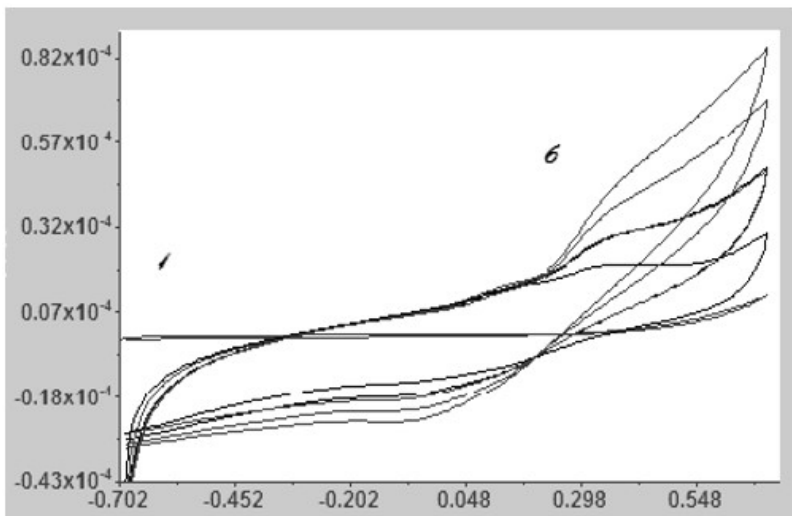
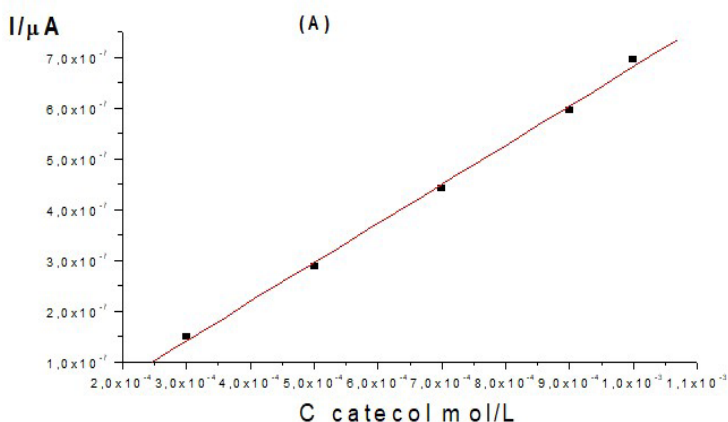


Figura 31. Estudio por el método VC ($i/\mu\text{A}$ vs E/V) de la respuesta del biosensor en presencia de solución amortiguadora de fosfato pH 6,7

Curva de calibración

La determinación de la curva de calibración a través del método de análisis en flujo en un rango de concentración de $1 \cdot 10^{-3}$ a $3 \cdot 10^{-4}$ mol/L de catecol. En la figura 32 puede apreciarse que se obtuvo una buena relación lineal entre las corrientes culminantes catódicas obtenidas en el registro para las concentraciones de catecol testadas con un lazo de muestra de 200 μL a una corriente de flujo del portador del buffer fosfato de 2,3 mL min^{-1} , con un coeficiente de correlación de 0,99756.



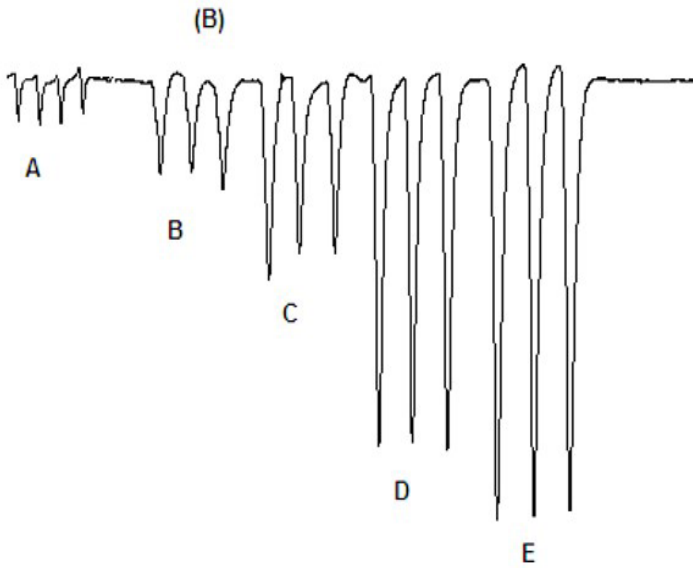


Figura 32. A) Curva de calibración utilizando soluciones estándar $3 \cdot 10^{-4}$ mol/L - $1 \cdot 10^{-3}$ mol/L de solución de catecol, a un potencial de registro de $-0,4V$ (*vs* Ag/AgCl), con un volumen inyección de $200 \mu\text{L}$ y una corriente de flujo del portador de $2,3 \text{ mL min}^{-1}$

B) Respuesta de la inyección en flujo obtenida para tres inyecciones consecutivas de soluciones de catecol: a) $3 \cdot 10^{-4}$, b) $5 \cdot 10^{-4}$, c) $7 \cdot 10^{-4}$, d) $9 \cdot 10^{-4}$ y e) $1 \cdot 10^{-3}$ mol/L

La buena repetibilidad obtenida se muestra en el registro en la figura 33 para 25 determinaciones consecutivas de una solución de catecol de concentración $9 \cdot 10^{-4}$ mol/L a pH 6,7.

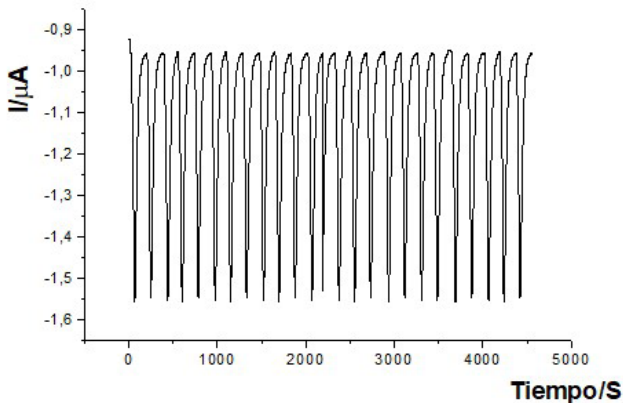
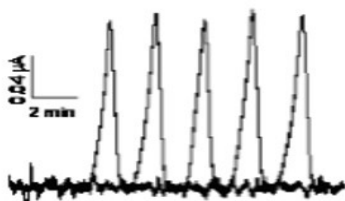


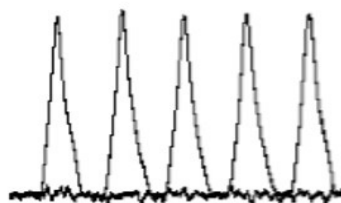
Figura 33. Repetibilidad obtenida en la respuesta para 25 inyecciones consecutivas de una solución de catecol $9 \cdot 10^{-4}$ mol/L, con solución portadora buffer de fosfato a pH 6,7

Determinación de ácido caféico y ácido salicílico

Los registros de soluciones de ácido caféico y ácido salicílico de concentración $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L, empleando el método de análisis de inyección a flujo se pueden apreciar en la figura 34. Los picos obtenidos son bastante reproducibles en las cinco inyecciones consecutivas registradas.



(a) ácido caféico



(b) ácido salicílico

Figura 34. a) y b). Registro obtenido por el método CV, para soluciones estándar $1 \cdot 10^{-4}$ mol/L de ácido caféico y ácido salicílico, en portador buffer fosfato pH 6,7

Bibliografía

- ABBASPOUR, A., TAVAKOL, F. (1999). Lead-selective electrode by using benzyl disulphide as ionophore. *Anal. Chim. Acta.*, 378, 145-149.
- ÁLVAREZ, M.; CALLE, A.; TAMAYO, J.; LECHUGA, L.M.; ABAD, A. Y MONTOYA, A. (2003). *Biosensors & Bioelectronics*, 18, 649-653.
- ÁLVAREZ, M.; CALLE, A.; TAMAYO, J.; LECHUGA, L.M.; ABAD, A. Y MONTOYA, A. (2003). Development of nanomechanical biosensors for detection of the pesticide DDT. *Biosensors & Bioelectronics*, 18, 649-653.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., NÁPOLES-FLORIÁN, K. Y., RODRÍGUEZ ACEBAL. J. M. (2020). Determinación de la incertidumbre en la medición de la determinación de nitrato con electrodo selectivo a iones. *Afinidad*, 73(591), 215-221.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., LEÓN DUHARTE, L. AND YAZDANI-PEDRAM. M. (2019). Study and Characterization of a Silver-Selective Membrane Electrode Based on 5-(4-Dimethylaminobenzylidene)rhodanine. *Portugaliae Electrochimica Acta*, 37(6), 373-382.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., NÁPOLES FLORIÁN, K. Y. (2018). Nuevo sensor potenciométrico para nitrato, usando el dietilofthalato (DEP) como plastificante y el cloruro de trioctilmetilamonio (CITOMA) como ionóforo. *Revista Cubana de Química*, 39(2), 277-288.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., RAMÍREZ; P., DUHARTE, L. (2016). Reconocimiento al ion Ag^+ con un electrodo selectivo "all solid stated". *Revista Cubana de Química*, 28(2), 660-674.
- ARADA PÉREZ. M. DE LOS Á.; LUISS. V.; ALTAVA, B. AND GALINDO F. (2015). Construction and evaluation of ion selective electrodes for chloride. *Revista Cubana de Química*, 27(2), 119-130.

- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M. (2013). Characterization of ion selective polymeric liquid membrane electrode for chloride. *J. Chil. Chem. Soc.*, 58(3), 1842-1843.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M. (2013). Chemical sensor based on tetradecil ammonium nitrate. *J. Chil. Chem. Soc.*, 58(1), 1415-1418.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á. (2011). Estudio preliminar de un electrodo all solid stated a nitrato. *Revista Cubana de Química*, 23(1), 5-8.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á. (2011). Estudio preliminar de un electrodo "all solid stated" a nitrato. *Revista Cubana de Química*. 23(1), 5-8.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á. (2010). Estudio potenciométrico de la respuesta de una membrana líquida selectiva a plata. *Afinidad*, 67(545), 61-64.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., LEÓN DUHARTE, L., PACHECO RAMÍREZ, Y., LANDASURI YÁNEZ, S. (2010). Highly selective PVC-Membrane Electrodes Based on 5-(4-Dimethylamino) benzylidene) Rhodanine for determination of silver ion. *Revista Cubana de Química*, 22(1), 17-21.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., CARDONA, M. (2010). Copper II-selective membrane based on a Neutral Carrier. *Revista Cubana de Química*, 22(3), 14-18.
- ARADA, M. DE LOS Á., YAZDANI, M. (2010). Copper II-Selective Electrodes based on 1-furoyl-3,3-diethylthiourea as a Neutral Carrier. *J. Chil. Chem. Soc.*, 55(3), 283-285.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., FELIX, F. S. Y ANGNES, L. (2009). Comportamiento electroquímico de un biosensor para la determinación de compuestos fenólicos usando la enzima polifenol oxidasa. *Afinidad*, 66(544), 488-492.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M., MARÍN, J., SPECK PLANCHE, A. (2009). Estudio del reconocimiento molecular de un portador móvil neutro usado como electrodo all solid state a nitrato. *Afinidad*, 66(540), 134-138.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M., PÉREZ SAAVEDRA, J. J. (2008). Sensores electroquímicos basados en sales cuaternarias de amonio. *Revista Cubana de Química*, 20(1), 31-38.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á. (2004). Influencia del plastificante en la respuesta al pH de electrodos selectivos a nitrato con sal cuaternaria de amonio. *Afinidad*, 61(509), 59-64.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., CORTES NODARSE, I., YAZDANI PEDRAM, M. (2004). Construction of a polymeric liquid mem-

- brane ion-selective electrode (ISE) and its application for determination of nitrate in tomatoes. *J. Chil. Chem. Soc.*, 49(1), 31-34.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M. (2004). Potentiometric response of polymeric liquid membranes for nitrate ion determination based on quaternary ammonium salt. *J. Chil. Chem. Soc.*, 49(3), 227-230.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M., CORTES NODARSE, I., LAZO FRAGA, A. R., SERRANO MARZABAL, M. (2003). Determination of nitrate in drinking water by ion-selective electrode. *Revista Cubana de Química*, 15(3), 8-13.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., CORTES NODARSE, I., YAZDANI PEDRAM, M., PÉREZ SAAVEDRA, J. J. (2003). Effect of plasticizer type on the potentiometric selectivity coefficient (K_B^{Pot}) of electrodes for nitrate ion determination constructed by using PVC as polymeric membrane. *Revista Cubana de Química*, 15(3), 36-43.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., CORTES NODARSE, I., YAZDANI PEDRAM, M. (2004). Construction of a polymeric liquid-membrane ion-selective electrode (ISE) and its application for determination of nitrate in tomatoes. *J. Chil. Chem. Soc.*, 49(1), 31-34.
- ARADA, M. DE LOS Á., PÉREZ MARÍN L., CALVO QUINTANA J., YAZDANI PEDRAM, M. (2003). Influence of different plasticizer on the response of chemical sensors based on polymeric membrane for nitrate ion determination. *Sensors and Actuator B. Chemical*, 89(3), 262-268.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M., CASCARET CARMENATI, A. Y FERRER, A. (2003). Estudio preliminar de un ESI a nitrato con la 2-[5-(4-nitrofenil)furil]-4,5-difenilimidazol como ionóforo. *Revista Cubana de Química*, 15(2), 89-94.
- ARADA PÉREZ, MARÍA DE LOS Á., YAZDANI PEDRAM, M. (2003). Comportamiento de algunos parámetros de calibración de electrodos selectivos a Nitrato, a diferentes concentraciones del ionóforo y del disolvente mediador. *Afinidad*, 60(505), 262-266.
- ARADA PÉREZ, MARÍA DE LOS Á. (2002). *Obtención y caracterización de electrodos selectivos al ion nitrato a partir de sales cuaternarias de amonio*. (tesis de doctorado). Universidad de la Habana, Instituto de Materiales y Reactivos, La Habana. Cuba.
- ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., PÉREZ MARÍN. L. (2002). Influencia de la concentración del ionóforo y del disolvente mediador en los parámetros de calibración de electrodos ion selectivo a

nitrate de membrana líquida, aplicado sobre la resina epoxy conductora. *Revista Cubana de Química*, 14(1), 21-25.

ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., PÉREZ MARÍN, L., ALONSO CHAMARRO, J. Y TACORONTE MORALES, J. E. (2002). Evaluación de un electrodo selectivo a nitrato de membrana líquida con nitrato de tetradecil amonio sobre un soporte conductor. *Revista Cubana de Química*, 12(2) 31-37.

ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., CALVO QUINTANA, J., PÉREZ MARÍN, L. ALONSO CHAMARRO J. Y TACORONTE MORALES. J. E. (2001). Evaluación y aplicación de un ESI a nitrato de membrana líquida sobre un soporte conductor. *Revista Mexicana Avances de Ingeniería Química*, 9, 63-66.

ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., CALVO QUINTANA, J., PÉREZ MARÍN, L. Y ALONSO CHAMARRO, J. (1999). Comportamiento de los ESI a nitrato, empleando TDAN en presencia de DBP y el DOP como disolventes mediadores en membranas líquidas sobre un soporte conductor. *Revista Cubana de Química*, 11(1), 80-85.

ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., PÉREZ MARÍN, L., DEL TORO DENIS, R. Y ARIAS DE FUENTES, O. (1997). Desarrollo de un electrodo ion selectivo a nitrato. *Afinidad*, 54(468), 123-125.

ARAKI, T., TSUKUBE, H. (1990). *Liquid Membranes. Chemical Applications*. CRC Press, INC.

AMMANN, D. (1986). *Ion Selective Microelectrodes. Principles. Design and Applications*. Berlin: Ed. Springer-Verlag.

BAKKER, E., BUHLMANN, P., PRETSCH, E. (1999). Polymer membranes ion-selective electrode ¿What are the limits? *Electroanalysis*, 11(13), 1035-1048.

BAKKER, E., TELTING DIAZ, M. (2002). Electrochemical sensors. *Anal. Chem.*, 74(12), 27871-2800.

BAKKER, E., BÜHLMANN, P. & PRETSCH, E. (1997). Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 1. General characteristics. *Chem Rev.*, 97(8), 3083-3132.

BAKKER, E. (2001). Potentiometry at trace levels. *Trends Anal. Chem.*, 20(1), 11-19.

BAKKER, E., PRETSCH, E. (2005). Potentiometric sensors for trace-level analysis. *Trends. Anal. Chem.*, 24, 199-207.

BELYUSTIN, A. A. (2010). The centenary of glass electrode: From Max Cremer to F. G. K. Baucke. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 15(1), 47-65.

- BELTRAM, A., ARTIGAS, J., JIMENEZ, C., MAS, R., BARTROLI, J., ALONSO, J. (2002). Development of durable nitrate-selective membranes for all-solid ISE and ISFET sensors based on photocurable compositions. *Electroanalysis*, 14(3), 213-220.
- BUERK, D. G. (1993). *Biosensors, Theory and Applications*. Technomic Publishing Co. Lancaster.
- BUHLMANN, P., NISHIZAWA, S., XIAO, K. P., UMEZAWA, Y. (1997). Strong hydrogen bor mediated complexation of $H_2 PO_4^-$ by neutral bis-thioarea hosts. *Tetrahedron*, 53, 1647-1654.
- BUHLMANN, P., UMEZAWA, P., RONDININI, S., VERTOVA, A., PIGLIUCCI, A., BERTESAGO, L. (2000). Lifetime of ion-selective electrodes based on charged ionophores. *Anal. Chem.* 72(8), 1843-1852.
- BÜHLMANN, P., PRETSCH, E. & BAKKER, E. (1998). Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 2. Ionophores for potentiometric and optical sensors. *Chem. Rev.*, 98(4), 1593-1687.
- CASASSAS, E., ALEGRET, S. (1987). *Compendi de nomenclatura de química analítica*. Barcelona: Inst d' Estudis Catalans.
- CAMMAN, K. & FRESSENIUS, Z. (1977). Bio-Sensors Based on Ion-Selective Electrodes. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 287, 1-9.
- CHEN, L., ZENG, X., JU, H., HE, X., ZHANG, Z. (2000). Calixarene Derivatives as the Sensory Molecules for Silver Ion-Selective Electrode. *Microchem. J.* 65(2), 129-135.
- COUREAUX GONZALEZ, M., ARADA PÉREZ, M. Á., SUAREZ PÉREZ, Y., MARÍN MORAN, J. (2014). Desarrollo y validación del método para control de calidad de clorhidrato de tiamina en tabletas. *Afinidad*, 71(568), 286-292.
- COVINGTON, K. (1980). *Ion-Selective Electrode Methodology*. (2nd Ed.), Florida: CRC Press.
- CREMER, M. (1906). Solid Potentiometric pH Electrode. *Z. Bfol.*, 47 [https://doi.org/10.1016/0925-4005\(90\)80217-N](https://doi.org/10.1016/0925-4005(90)80217-N)
- CLARK, L. C., LYONS, JR. C. (1962). Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Annals of the New York Academy of Science*, 102:29-45. doi: 10.1111/j.1749-6632.1962.tb13623.x
- DAVIES, J. E. W., MOODY, Q. J., THOMAS, J. D. R. (1972). Nitrate ion selective electrodes based on poly (vinyl chloride) matrix membranes. *Analyst.*, 97, 87-94.
- DAUBINET, A. (2001). *Design, Synthesis and Evaluation of Silver-Specific Ligands*. (Thesis by Doctor of Philosophy). Department of Chemistry, Rhodes University.

- DEL VALLE ZAFRA, M. (1992). *Diseño y optimización de sistema FIA para la determinación de parámetros de interés ambiental*. (tesis de doctorado). Bellaterra, Barcelona.
- DINTEN, O., SPICHER, U. E., CHANIOTAKIS, N., GEHRING, P., RUSTERBOLZ, B., MORF, W. E. (1991). Lifetime of neutral carrier based liquid membranes in aqueous samples and blood and the lipophilicity of membrane components. *Anal. Chem.*, 63(596), 596-603.
- D'SOUZA, S. F. (2001). Microbial biosensors. *Biosensors & Bioelectronics*, 16, 337-353.
- EISENMAN, G. (1965). *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*. Ed. Wiley Interscience.
- EISENMAN, G. (1967). *Glass Electrodes for Hydrogen and other Cations. Principles and Practice*. Ed. Marcel Dekker.
- EUGSTER, R., ROSATZIN, T., RUSTERHOLZ, B., AEBERSOLD, B., PEDRAZZA, U., RUEGG, D., SCHMID, A., SPICHER, U. E., SIMÓN, W. (1994). Plasticizer for liquid polymeric membranes of ion selective chemical sensors. *Anal. Chim. Acta*, 289, 1-13.
- GADZEKPO, V. P. Y., CHRISTIAN, G. D. (1984). Determination of selectivity coefficients of ion-selective electrodes by a matched-potential method. *Analytica Chimica Acta*, 164, 279-282.
- GAJENDRAGAD, M. R., KAMATH, P. Y., ANIL, P. Y., PRABHUDAS, K. Y NATARAJAN, C. (2001). Development and standarization of a piezoelectric immunobiosensor for foot and mouth disease virus typing. *Veterinary Microbiology*, 78, 319-330.
- GIBBONS, W. S., KUSY, R. P. (1996). Effects of plasticization on the dielectric properties of poly(vinyl chloride)membranes. *Thermochim. Acta*, 284, 21-45.
- GONZÁLEZ PADRÓN, A. I. (1993). *Investigación y empleo del ESI de nitrato de película plastificada en base a las sales cuaternarias de amonio de alto peso molecular*. (tesis de doctorado). Minsk, Bielorrusia.
- GOZZI, D., CAMPANELLA, L., FERRI, T. (1979). Dynamic response relationship for an ion-exchange liquid membrane electrode. *Electrochimica Acta*, 24, 817-822.
- GUILBALT, G.; DE OLIVERA NETO, G. (1985). Immobilized Enzyme Electrodes. In: *Immobilized Cell and Enzymes* (55-74). Ed. Oxford IrL Press.

- HORVAI, G., PUNGOR, E. (1980). Comparative study on the precision of potentiometric techniques applied with ion selective electrodes. Part 1. Direct techniques. *Anal. Chim. Acta*, 113, 287-294.
- HULANICKI, A., GEAB, S., & INGMAN, F. (1991). Chemical sensors definitions and classification. IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry Analytical Chemistry Division Commission on General Aspects of Analytical Chemistry. *Pure & App. Chern.*, 63(9), 1247-1250.
- International Union of Pure and Applied Chemistry. (1978). *Compendium of Analytical Nomenclature*. Oxford: Pergamon Press.
- International Union of Pure and Applied Chemistry. (1997). Chemically modified electrodes: recommended terminology and definitions. *Pures appl. Chem.*, 69, 1317-1333.
- International Union of Pure and Applied Chemistry. (1978). *Compendium of Analytical Nomenclature*. Oxford: Pergamon Press.
- IVNITSKI, D., ABDEL HAMID, I., ATANASOV, P., WILKINS, E. (1999). Biosensors for detection of pathogenic bacteria. *Biosensors & Bioelectronics*, 14, 599-624.
- KORYTA, J., STULIK, K. (1983). Ionselective electrodes. (2nd Edición). Cambridge University Press.
- LAZO FRAGA, A. R., ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., BUSTAMANTE SÁNCHEZ, M., OTÁZO SÁNCHEZ, E., ESTEVEZ, O., ÁLVAREZ TORRES, A. (2003). Construcción de un ESI a plomo a partir de la 1-furoil-3,3-dietil tiourea como ionoforo como ionóforo. *Revista Cubana de Química*, 15(2), 60-66.
- LAZO, A. R., BUSTAMANTE, M., ARADA, M. Á., JIMÉNEZ, J., YAZDANI PEDRAM, M. (2005). Construction and Characterization of a Lead(II) Ion Selective Electrode with 1-furoil-3,3-diethylthiourea as Neutral Carrier. *Afinidad*, 62(520), 605-610.
- LAZO, A. R., BUSTAMANTE, M., JIMÉNEZ, J., ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á. (2006). Preparation and study of A 1- Furoyl 3,3 diethylthiourea electrode. *J. Chil. Chem. Soc.*, 51(3), 981-984.
- LEÓN DUHARTE, L., ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á., PACHECO RAMÍREZ; Y., LANDAZURY YÁNEZ, S. FERNÁNDEZ HEREDIA, Á. (2012). Determinación potenciométrica de plata y vitamina B1, empleando un ESI de membrana líquida polimérica. *Revista Cubana de Química*, 24(2), 185-191.
- LEÓN DUHARTE, L. (2011). *Sensor potenciométrico selectivo a iones plata (I) empleando 5-(4-dimetilamino) benciliden) Rodanina como portador neutro*. (tesis de maestría). Universidad de La Habana, Cuba.

- LIMA, J. L. F. C., MACHADO, A. A. S. C., FLORIDO, A., ALLEGRET, S., PAULIS, J. M. (1985). Nitrate-selective electrode with PVC matrix membraned applied to electrically conductive epoxy. *Química Analítica*, 4, 145-58.
- LIN, H.C., TSAI, W-C. (2003). *Biosensors & Bioelectronics* 18, 1479-1483.
- LINDNER, E., UMEZAWA, E. (2008). Performance Evaluation Criteria for Preparation and Measurement of Macro-and Microfabricated Ion-Selective Electrodes. *Pure Appl. Chem.*, 80(1), 85.
- MACCA, C. (2004). Response time of ion-selective electrodes, *Anal. Chim. Acta*, 512 183-190.
- MANASSIS, Q., MITRAKAS, V., KERAMIDAS, K., CONSTANTINOS. (1991). Nitrate determination in sugar beet sap extracted with $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{-PbO}$ using an ion-selective electrode. *A. Commun in Soil. S. C. I. Plant. Anal.*, 22(5-6), 589-596.
- MANASSIS, G., CONSTANTINOS, A. A. (1990). A new ionic Strength Adjustor for Nitrate Analysis in waters, Soils and Plantes Using Ion-Selective Electrode. *Mikrochim. Acta.*, 1, 7-16.
- MARR, I. L., CRESSER, M. S., GÓMEZ, J. L. (1989). *Química Analítica del Medio Ambiente*. Sevilla: Editorial Universidad de Sevilla.
- MARTÍNEZ. E. (1990). *Sensors potenciométric all- solid- state d` amoni i la seva conversió en biosensors d` urea construcció, evaluació aplicació*. (tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- MARTIN, C. R., FREISER, H. (1980). Potentiometric determination of nitrate. *J. Chem. Edu.*, 57, 521-514.
- MARTIJN, A. M. G., REINHOUDT, D. N. (1999). Potentiometric anion selective sensors. *Electroanalysis*, 11(14), 1035-1048.
- MARÍN ESTEBAN, A. (2003). Polímeros de impresión molecular en química analítica: ¿una moda pasajera? *Boletín de la Sociedad Española de Química Analítica*, no. 4.
- MELLO, L. D. Y KUBOTA, L. T. (2002). Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries. *Food Chemistry*, 77, 237-256.
- MOHAMMED, I.; MULLETT, W. M.; LAI, E. P. C. Y YEUNG, J. M. (2001). Is biosensor a viable method for food allergen detection? *Analytica Chimia Acta.*, 444, 97-102.
- MÖLLER, W., SIMON, W. (1972). *Ionenspezifisches Elektrodensystem*. DE-B.
- MORALES, M. D.; MORANTE, S.; ESCARPA, A.; GONZÁLEZ, M. C.; REVIEJO, A. J. Y PINGARRÓN, J. M. (2002). Design of a

composite amperometric enzyme electrode for the control of the benzoic acid content in food. *Talanta*, 57, 1189-1198.

- MOUSAVI, M. F., SAHARI, S., ALIZADEH, N., SHAMSIPUR, M. (2000). Lead ion-selective membrane electrode based on 1,10-dibenzyl-1,10-diaza-18-crown-6. *Anal. Chim. Acta.*, 414, 189-194.
- MORF, W. ET AL. (2000). Calculated Effects of Membrane Transport on the Long-Term Response Behavior of Polymeric Membrane Ion-Selective Electrodes. *Journal of Physical Chemistry*, 104, 8201-8203.
- MORF, W. ET AL. (2000), L. (2016). Reconocimiento al ion Ag^+ con un electrodo selectivo "all solid stated". *Revista Cubana de Química*, 28(2), 660-674.
- NIELSEN, H. J., HANSEN, E. H. (1976). New nitrate ion-selective electrodes based on quaternary ammonium compounds in non-porous polymer membranes. *Anal. Chim. Acta.*, 85, 1-16.
- NISHIZAWA, S., BUHLMANN, P., XIAO, K. P., UMEZAWA, Y. (1998). Application of a bis-thiourea ionophores for an anion selective electrode with remarkable sulfate selectivity. *Anal. Chim. Acta.*, 358, 35-44.
- OESCH, V., SIMON, W. (1980). Kinetic study of distribution of electrically neutral ionophores between a solvent polymeric membrane and aqueous phases. *Anal. Chem.*, 52(602).
- PÉREZ, C. (1992). *Sensores de Ag^+ basados en ditioéteres*. (tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- PÉREZ MARÍN, L., ALONSO CHAMARRO, J., TACORONTE MORALES, J. E. (1998). Construcción y evaluación de un electrodo ion selectivo a nitrato de membrana líquida, aplicado sobre una resina epoxy conductora. *Afinidad*, 55(475), 179-182.
- PÉREZ SAAVEDRA, J. J., RINCÓN ARCE, S., ROMERO CORONEL, G., LÓPEZ ANDRADE, A., ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á. (2004). Micropotenciometría de cafeína en medio no acuoso utilizando como electrodo indicador una película de óxido sobre acero inoxidable 316 (POSAI-316). *Revista Cubana de Química*, 16(1), 61-65.
- PÉREZ SAAVEDRA, J. J., RINCÓN ARCE, S., GALICIA ÁLVAREZ, S., ROMERO CORONEL, G., LÓPEZ ANDRADE, A., ARADA PÉREZ, M. DE LOS Á. (2006). Elaboración y prueba de un electrodo combinado plata-POSA. *Revista Cubana de Química*, 18(3), 26-34.
- PUENTE SANTIAGO, A. R., ARIAS DE FUENTES, O., ARADA, M. DE LOS Á., LASTRES CAPOTE, A., VALDÉS ZALDÍVAR, E., JIMÉNEZ JORQUERA, C. (2010). Obtención y caracterización

- química de microsensores chemfets para aplicaciones medioambientales. *Revista Cubana de Química*, 22(1), 3-8.
- PUNGOR, E. (1992). Working Mechanism of Ion-Selective Electrodes. *Pure Appl. Chem.*, 64(4), 503-507.
- PUNGOR, E. (1997). How to Understand the Response Mechanism of Ion-Selective Electrode. *Talanta*, 44, 1505-08.
- ROSS, J. W.; FRANT, M. S. (1966). Electrode for Sensing Fluoride Ion Activity in Solution. *Science*, 154, 1533-35.
- SADEGHI, S., ESLAHI, M., NASERI, M. A., NAEIMI, H., SHARGHI, H., SHAMELI, A. (2003). Copper Ion Selective Membrane Electrodes Based on Some Schiff Base Derivatives. *Electroanalysis*, 15(15-16), <https://doi.org/10.1002/elan.200302807>
- SAWYER, C. N., MC CARTY, P. L. (1978). *Chemistry for environmental engineering*. (3ra Ed.) Singapur: Mc Graw-Hill.
- SOTOMAYOR, M. D. P. T., TANAKA, A. A., KUBOTA, L. T. (2002). Development of an enzymeless biosensor for the determination of phenolic compounds, *Anal. Chim. Acta.*, 455, 215-223.
- SU X.L Y LI, Y. (2004) A self-assembled monolayer-based piezoelectric immunosensor for rapid detection of Escherichia coli O157:H7. *Biosensors and Bioelectronics*, 19, 563-574.
- SHIRAKAWA, H. (2002). The discovery of polyacetylene film: The dawning of an era of conductive polymers. *Synth Met.*, 125(1), 3-10.
- TANIAL, T., SAKUKAGAWA, A., OKUTANI, T. (2000). Monitoring of Hydrogen peroxide, Nitrate and nitrite in Rainwater. *Analyt. Sci.*, 16(3), 275-281.
- TENDELO, H. J. C. (1936). A New and Easy Method for the Potentiometric Determination of Calcium Concentrations in Solutions. *J. Biol. Chem.*, 113, 333-39.
- TOHDA, K., ET AL. (2001). Studies on the Matched Potential Method for Determining the Selectivity Coefficients of Ion-Selective Electrodes Based on Neutral Ionophores: Experimental and theoretical verification. *Analytical Sciences*. 17, 733-743.
- WILSON, D., ARADA, M. DE LOS Á., ALEGRET, S., DEL VALLE, M. (2010). Lead(II) ion selective electrodes with PVC membranes based on two bis-thioureas as ionophores: 1,3-bis(N'-benzoylthioureido)benzene and 1,3-bis(N'-furoylthioureido)benzene. *Journal of Hazardous Materials*, 181, 140-146.
- WEGMAN, D., WEISS, H., AMMANN, D., MORF, W. E., PRETSCH, E., SUGAHARA, K., SIMON, W. (1984). Anion-selective liquid

membraned electrodes based on lipophilic quaternary ammonium compounds. *Mikrochimica Acta*, 3, 1-16.

XIAO, K. P., BUHLMANN, P., NISHIZAWA, S., AMEMIYA, S., UMEZAWA, Y. (1997). A chloride ion selective solvent polymeric membrane electrode based on a hydrogen bond forming ionophore. *Anal. Chem.*, 69, 1038-1044.

VELASCO GARCÍA M. Y MOTTRAM, T. (2003). Biosensor technology addressing agricultural problems. Review paper. *Biosystems Engineering*, 84(1), 1-12.

Acerca de la autora

María de los Ángeles Arada Pérez. (Santiago de Cuba, 1961). Se graduó en la Universidad de Oriente en 1984 de Licenciada en Química, en la antigua facultad de Ciencias Naturales y Exactas, en la que ejerció como Alumna Ayudante cuatro años en la carrera. Trabajó en la Academia de Ciencias de Cuba hasta abril de 1986, desde entonces es profesora de la Universidad de Oriente (UO), Cuba.

En la actualidad, es Profesora Titular, coordinadora de la Maestría en Química de la UO desde su primera edición en 2013 y del Diplomado en Química Analítica. Cuenta con más de 70 publicaciones en revistas científicas indexadas en bases de datos reconocidas incluyendo la Web of Science y tiene noventa participaciones en eventos nacionales e internacionales. Ha sido propuesta en varias ocasiones para Premios Academia. Ha dirigido varios trabajos de investigación. Ha desempeñado cargos como vicedecana docente y jefa de disciplinas. Ha sido profesora invitada en la Universidad de Chile (2002, 2003, 2004), además de haber realizado cursos posdoctorales en Brasil (2008) y España (2011-2012). Ha dirigido tesis de maestrías e impartidos varios cursos de posgrado.

Ha participado en varios proyectos investigativos nacionales e internacionales, entre ellos: “Cambios Globales y Evolución del Medio Ambiente Cubano, “Obtención, estudio y caracterización de microsensores para el control de la polución de aguas”; “Obtención y caracterización de un Sensor Potenciométrico para la determinación de concentración de plata”; Proyecto Iberoamericano Sensame “Desarrollo de Microsistemas y Sensores para Monitorización Medioambiental” financiado por el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.

Ha recibido cuatro Premios Rectores, varios premios en Forum de Ciencia, un Premio Excepcional de la BTJ (2011), Premio 50x50 del Ministerio de Ciencia Tecnología y Medio Ambiente (Citma) en Santiago de Cuba (2009), entre otros. En 2002 obtuvo un Premio Academia

compartido, por el trabajo sensores para el control de la contaminación del medio ambiente por metales pesados. Premio Academia en 2014 (colaboradora principal) y un tercer Premio Academia en 2015. Obtuvo el Premio Nacional de Química en 2014. Ha sido condecorada con las medallas Distinción por la educación cubana y Rafael María de Mendive y José Tey.

Índice

Presentación • 9

Introducción • 11

Electrodos selectivos a iones • 15

Clasificación de los electrodos selectivos a iones 15

Electrodos de referencia 17

Procesamiento de la data experimental 20

Composición de la membrana líquida de los electrodos selectivos a iones 20

Electrodos de membranas líquidas con portador móvil cargados positivamente 22

Electrodos del tipo *all-solid-state* 24

Principios básicos para un sensor químico y del transporte en las membranas líquidas 25

Principios básicos del transporte en las membranas líquidas 25

Principales sensores químicos 26

Mecanismo de respuesta de los ESI 26

Potencial límite de fase 27

Selectividad e interferencia de las membranas 28

Selectividad de las membranas líquidas a substratos aniónicos 29

Interferencias 30

Método de la comparación de los potenciales 33

Tiempo de respuesta 33

Actividad y concentración	34
Evaluación de los ESI	36
Calibración y parámetros de calibración	36
Procedimiento y aplicaciones	37

Biosensores • 39

Biosensores	39
Clasificación de los biosensores	40
Características de los biosensores	40
Sensores biocatalíticos	42
Sensores de bioafinidad	45
Tipos de receptores de bioafinidad	46
Polímeros de impresión molecular	48
Aptámero	49
Ácidos nucleicos peptídicos	50
Sistema de transducción	50
Tipos de transductores	51
Transductor electroquímico	52
Ejemplos de biosensores	53

Ejemplos de construcción de ESI y aplicación a muestras reales • 56

Sensores potenciométricos con las sales cuaternarias de amonio	56
Estudio de pH	59
Degradación de la membrana	61
Aplicaciones a muestras reales	66
Determinación de nitrato en tomates. Curva de calibración	66
Determinación de nitrato por cromatografía iónica	70
Reconocimiento molecular de un portador móvil neutro (1-furoil-3,3-dietiltiourea) usado como electrodo <i>all solid stated</i> a nitrato, plomo y cobre	71
ESI a plomo y nitrato	71

ESI a cobre con la 1-furoil-3,3-dietiltiourea como portador móvil neutro 75

Obtención y caracterización química de un microsensor CHEM-FET para aplicaciones medioambientales 76

Biosensor para la determinación de compuestos fenólicos empleando la enzima polifenol oxidasa 80

 Construcción del biosensor 80

 Parámetro operacional del biosensor 80

 Características de respuesta del biosensor 81

Curva de calibración 84

Determinación de ácido caféico y ácido salicílico 86

Bibliografía • 87

Acerca de la autora • 99

Este libro se presenta como material de apoyo a los estudiantes universitarios de pregrado y posgrado en ciencias químicas. Es una breve introducción a los sensores químicos, fundamentalmente a los potenciométricos, en especial a aquellos que incorporan material biológico (biosensores), en este caso amperométrico. Se explican los electrodos selectivos a iones y se ejemplifican los biosensores utilizados en el análisis de fármacos, detección de plaguicidas, fertilizantes y en el análisis de aditivos alimentarios. Asimismo, se muestran construcciones de electrodos selectivos a varios iones y sus parámetros de respuestas más significativos.



Ediciones UO

978-959-207-672-3

