



**UNIVERSIDAD  
DE GRANADA**

**NUEVAS ESTRATEGIAS PARA  
SENSORES OPTICOS DE  
DIÓXIDO DE CARBONO GAS**

**TESIS DOCTORAL**

María Luisa Aguayo López

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA  
FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Julio 2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autora: María Luisa Aguayo López

ISBN: 978-84-9163-346-4

URI: <http://hdl.handle.net/10481/47592>

# **NUEVAS ESTRATEGIAS PARA SENSORES OPTICOS DE DIÓXIDO DE CARBONO GAS**

## **LOS DIRECTORES**

**Fdo. María Dolores  
Fernández Ramos**

Profesora Titular del  
Departamento de Química  
Analítica.  
Facultad de Ciencias.  
Universidad de Granada

**Fdo. Luis Fermín  
Capitán Vallvey**

Catedrático del  
Departamento de Química  
Analítica.  
Facultad de Ciencias.  
Universidad de Granada

Trabajo presentado como Tesis Doctoral para aspirar al  
Grado de Doctora en Química

**Fdo. María Luisa Aguayo López**  
Licenciada en Químicas. Universidad de Granada



María Dolores Fernández Ramos, Profesora Titular del Departamento de Química Analítica y Luis Fermín Capitán Vallvey, Catedrático del Departamento de Química Analítica en calidad de directores de la Tesis Doctoral presentada por la Licenciada en Químicas por la Universidad de Granada, María Luisa Aguayo López

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada “NUEVAS ESTRATEGIAS PARA SENSORES OPTICOS DE DIÓXIDO DE CARBONO GAS”, ha sido desarrollada totalmente en los laboratorios del grupo de investigación FQM-118, perteneciente al Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, y que, a nuestro juicio, reúne todos los requisitos exigidos a este tipo de trabajo.

Y para que conste y surta los efectos pertinentes, expiden el presente certificado en la ciudad de Granada, el 30 de mayo de 2017.

M<sup>a</sup> DOLORES FERNÁNDEZ RAMOS

LUIS FERMÍN CAPITÁN VALLVEY



La doctoranda María Luisa Aguayo López y los directores de la Tesis Doctoral María Dolores Fernández Ramos y Luís Fermín Capitán Vallvey.

Garantizamos, al firmar esta Tesis Doctoral, que el trabajo ha sido realizado por la doctoranda bajo la dirección de los directores de la Tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

En Granada a 30 de mayo de 2017

<b>Directores de la Tesis Doctoral</b>	
M <sup>a</sup> Dolores Fernández Ramos	Luís Fermín Capitán Vallvey
Firma	Firma
<b>Doctoranda</b>	
María Luisa Aguayo López	
Firma	



***A Antonio y a Elena***  
***A mi madre y mis hermanos***



## ***Agradecimientos***



Quiero manifestar mi más sincero agradecimiento en primer lugar a mis directores de Tesis, al Dr. D. Luis Fermín Capitán y a la Dra. D<sup>a</sup>. M<sup>a</sup> Dolores Fernández Ramos por haberme permitido realizar esta tesis pese a mis circunstancias personales.

A Luis Fermín, que no sólo es un gran investigador, gran profesor y trabajador incansable, sino que por encima de todo es una gran persona, del cual nunca olvidaré sus sabios consejos y su disponibilidad para atenderme siempre que lo necesitaba.

A Loli, por la paciencia que ha tenido conmigo durante todos estos años, por preocuparse y animarme cuando lo necesitaba, y ni que decir tiene por el aporte de sus nuevas ideas, sin las cuales no se hubiera podido llevar a cabo la tesis que queda plasmada en esta memoria.

Al profesor Ignacio de Orbe por haber estado siempre para lo que he necesitado.

Al profesor D. Francisco Santoyo, a Eduardo y a Mariano del Departamento de Química Orgánica por llevar a cabo la síntesis de los productos sin los cuales no podríamos haber llevado cabo la última parte de esta memoria, y porque siempre han estado dispuestos a resolver cualquier duda y a dejar lo que estuvieran haciendo por atenderme.

A la profesora D<sup>a</sup>. Ana María García Campaña y a Carmen por su amabilidad y disposición.

A Barto y a Noemí por ser tan buenos vecinos de laboratorio, atendiéndonos siempre que lo hemos necesitado.

Al profesor Antonio Rodríguez del Departamento de Química Inorgánica por ayudarme en la síntesis que también hemos necesitado en la última parte de esta memoria, y por atenderme con esa profesionalidad y a la vez esa sencillez que le caracteriza.

A Julio Roldan, químico y director técnico de Morteros Argos (Padul), que sin conocernos nos dedicó toda una mañana a asesorarnos y suministrarnos muestras de plastificantes y superplastificantes.

A Antonio Martínez Olmos, del Departamento de Electrónica y Tecnología de Computadores, por suminsirarnos los LED para llevar a cabo el estudio de fotoestabilidad.

A los profesores Mercedes y Rubén del departamento de Microbiología por permitinos hacer uso del microscopio de fluorescencia.

Quiero hacer una mención especial a Julio Ballesta, que aunque ya no esté en el Departamento tuve la suerte de contar siempre con él en mis primeros años de tesis.

A todos mis compañeros, Isa, Miguel, Alfonso, Inma Suárez, Inma Ortiz, Inma Ruiz, Jose, Fabio, Sara y a María Ariza, con la que también empecé. Me acuerdo mucho de María Porcel porque no sólo fue compañera de grupo sino también de Master, las dos conectamos muy bien desde el principio y hemos tenido una gran complicidad. A Ismael que se nos fue al Departamento de Química Inorgánica,

En general a todos los profesores del Departamento, que aunque con unos he tenido más relación que con otros, siempre han tenido y tienen esa amabilidad que es lo aporta el buen ambiente que se respira.

Por último y detrás de todo esto está mi familia que me apoyado y ayudado en todo momento, sobre todo en mis momentos bajos, sin ellos nada sería posible.

## ***Índice***



<b>Objetivos</b> .....	1
------------------------	---

## **Capítulo 1**

<b>Introducción</b> .....	7
1. El dióxido de carbono gas.....	9
2. Sensores químicos .....	13
3. Sensores ópticos .....	18
3.1. Instrumentación de sensores ópticos.....	19
4. Sensores para CO <sub>2</sub> .....	24
4.1. Principios básicos para el diseño de un sensor óptico de CO <sub>2</sub> .....	25
4.2. Estrategias para el desarrollo de sensores para CO <sub>2</sub> .....	28
a) Sensores ópticos húmedos para CO <sub>2</sub> .....	28
b) Sensores de gotas dispersas.....	30
c) Sensores secos para CO <sub>2</sub> .....	32
4.3. Tendencias actuales de los sensores ópticos para determinar CO <sub>2</sub> gaseoso.....	35
5. Bibliografía .....	45

## **Capítulo 2**

<b>Materiales y métodos</b> .....	55
1. Instrumentación y software .....	57
1.1. Instrumentación .....	57
1.1.1. Calibrado de instrumentación y equipos .....	59
1.2. Software.....	60
2. Productos químicos .....	61
2.1. Disolventes .....	61
2.2. Reactivos.....	62
2.2.1. Reactivos empleados en la preparación de disoluciones. ....	62
2.2.2. Reactivos empleados para síntesis. ....	62
2.2.3. Reactivos formadores de la zona sensora.....	63
3. Metodología .....	65
3.1. Preparación de mezclas de gases .....	65
3.2. Preparación de membranas sensoras: tipos y disposiciones.....	65
3.3. Metodología de medida de las membranas .....	67

3.3.1. Registro de los espectros de absorción .....	67
3.3.2. Medida de color.....	68
4. Preparación y caracterización de los elementos sensores.....	73
4.1. Optimización de la respuesta del sensor.....	73
4.2. Calibración .....	73
4.2.1. Medidas de luminiscencia .....	73
4.2.2. Medidas de color .....	74
4.3. Caracterización analítica de las membranas desarrolladas.....	74
4.3.1. Límite de detección .....	74
4.3.2. Límite de cuantificación.....	75
4.3.3. Intervalo de cuantificación (IC) y de detección (ID).....	75
4.3.4. Precisión .....	76
4.3.5. Tiempo de respuesta y recuperación .....	76
4.3.6. Tiempo de vida.....	77
5. Bibliografía .....	78

### **Capítulo 3**

#### **Membranas sensoras ópticas para CO<sub>2</sub> gas.**

<b>Estrategias de mejora .....</b>	<b>81</b>
1. Introducción.....	83
2. Preparación de las membranas sensoras .....	87
2.1. Preparación de las nuevas membranas sensoras .....	89
2.2. Membrana sensora B1 con agente de transferencia de fase DBU .....	89
2.3. Membrana sensora B2 con agente de transferencia de fase TMA .....	89
2.3.1. Membrana sensora B3 con TMA y un polímero hidrofílico.....	89
2.3.2. Membrana sensora B4 con TMA y un polímero hidrofílico en agua .....	89
2.4. Metodología de medida de las nuevas membranas sensoras.....	90
3. Resultados y discusión.....	90
3.1. Optimización de los componentes de membrana.....	90
3.1.1. Membrana sensora B1. Selección de la amina como agente de transferencia de fase. ....	90
3.1.2. Membrana sensora B2. Optimización de los componentes .....	92
3.1.3. Membrana sensora B3. Optimización de los componentes .....	93
3.1.4. Membrana sensora B4. Optimización de los componentes .....	94

3.2. Respuesta de las membranas sensoras a CO <sub>2</sub> .....	102
3.3. Calibración del sensor de membrana B1 .....	103
3.3.1. Calibración del sensor de membrana B2. ....	104
3.3.2. Calibración del sensor de membrana B3. ....	106
3.3.3. Calibración del sensor de membrana B4. ....	108
3.4. Caracterización analítica de las membranas sensoras. ....	109
3.4.1. Caracterización analítica del sensor B1 .....	112
3.4.2. Caracterización analítica del sensor B2.....	114
3.4.3. Caracterización analítica del sensor B3.....	118
3.4.4. Caracterización analítica del sensor B4.....	121
3.5. Comparación de los sensores estudiados.....	125
3.5.1. Sensor B1. ....	126
3.5.2. Sensor B2. ....	127
3.5.3. Sensor B3. ....	127
3.5.4. Sensor B4. ....	128
4. Conclusiones .....	129
5. Bibliografía .....	130

## Capítulo 4

<b>Membranas sensoras ópticas de CO<sub>2</sub> basadas en líquidos iónicos .....</b>	<b>133</b>
1. Introducción .....	135
2. Mecanismo de sensado .....	138
2.1. Preparación de las membranas sensoras. ....	139
2.1.1. Preparación la membrana de referencia.....	139
2.2.2. Preparación y ensayo de membranas conteniendo líquidos iónicos.....	140
2.2.3. Metodología de medida de las membranas .....	142
2.2.4. Preparación de los cócteles tipo C.....	142
3. Resultados y discusión .....	143
3.1. Optimización de los componentes de membrana.....	143
3.1.1. Optimización de los componentes de cóctel C1 conteniendo LI-I.....	144
3.1.2. Optimización de los componentes de cóctel C2 conteniendo LI-II.....	148
3.1.3. Optimización de los componentes de cóctel C3 conteniendo LI-III.....	153
3.1.4. Optimización de los componentes de cóctel C4 conteniendo LI-IV. ....	157

3.1.5. Optimización de los componentes de cóctel C5 conteniendo LI-V.....	161
3.1.6. Optimización de los componentes de cóctel C6 conteniendo LI-VI.....	166
3.1.7. Optimización de los componentes de cóctel C7 conteniendo LI-VII.....	170
3.1.8. Optimización de los componentes de cóctel C8 conteniendo LI-VIII...	174
3.2. Respuesta de las membranas sensoras a CO <sub>2</sub> .....	178
3.2.1. Respuesta del sensor de membrana C1 .....	178
3.2.2. Respuesta del sensor de membrana C2.....	180
3.2.3. Respuesta del sensor de membrana C6.....	181
3.2.4. Respuesta del sensor de membrana C7 .....	182
3.2.5. Respuesta del sensor de membrana C8 .....	184
3.3. Caracterización analítica de los sensores .....	185
3.3.1. Caracterización analítica del sensor C1 (LI-1) .....	186
3.3.2. Caracterización analítica del sensor C2 (LI-II) .....	189
3.3.3. Caracterización analítica del sensor C6 (LI-VI) .....	191
3.3.4. Caracterización analítica del sensor C7 (LI-VII) .....	193
3.3.5. Caracterización analítica del sensor C8 (LI-VIII) .....	196
4. Comparación de los sensores .....	198
5. Aplicación de los sensores a empaquetado inteligente.....	200
5.1. Recogida del color con cámara digital de la membrana C1 .....	202
5.2. Respuesta colorimétrica de la membrana C1 .....	204
5.2.1. Calibración del sensor C1 con la coordenada tonal R.....	204
5.2.2. Calibración del sensor C1 con la coordenada tonal G .....	205
5.2.3. Calibración del sensor C1 con escala de grises.....	206
5.2.4. Calibración del sensor C1 con la coordenada tonal S.....	207
5.3. Caracterización analítica de la membrana C1.....	208
6. Conclusiones .....	209
7. Bibliografía.....	211

## Capítulo 5

<b>Sensor óptico NIR para determinar dióxido de carbono gaseoso.....</b>	<b>215</b>
1. Introducción.....	217
2. Experimental .....	220
2.1. Síntesis y caracterización (GAB) microcristalino. ....	220

2.2. Síntesis de azaBODIPYs .....	222
2.2.1. Síntesis de AzaBODIPY I.....	223
2.2.2. Síntesis de AzaBODIPY II.....	225
2.2.3. Síntesis de AzaBODIPY III.....	228
2.3. Determinación de las propiedades de los azaBODIPYs. ....	234
2.3.1. Coeficientes de extinción molar de los azaBODIPYs.....	236
2.3.2. Rendimiento cuántico de fluorescencia de los azaBODIPYs. ....	239
2.4. Comportamiento ácido-base de los azaBODIPYs. ....	244
2.4.1. Comportamiento ácido-base de azaBODIPY I.....	244
2.4.2. Comportamiento ácido-base de azaBODIPY II.....	245
2.4.3. Comportamiento ácido-base de azaBODIPY III.....	246
2.5. Fotoestabilidad de azaBODIPYs.....	248
2.6. Preparación de las membranas sensoras.....	250
2.6.1. Preparación de membrana sensora BI .....	251
2.6.2. Preparación de membrana sensora BII .....	252
2.6.3. Preparación de membrana sensora BIII .....	253
3. Resultados y discusión .....	253
3.1. Estudio los componentes de membrana BI. ....	258
3.1.1. Optimización de la cantidad de polímero de membrana .....	259
3.1.2. Optimización de la cantidad de azaBODIPY I.....	260
3.1.3. Elección y optimización del agente de transferencia de fase.....	261
3.1.4. Optimización del plastificante TBP.....	262
3.1.5. Optimización del fósforo inorgánico GAB .....	263
3.2. Estudio de los componentes de membrana BII.....	264
3.2.1. Elección del polímero de membrana.....	265
3.2.2. Optimización de la cantidad de azaBODIPY II.....	265
3.2.3. Optimización de la cantidad de TMAOH en el cóctel.....	266
3.2.4. Optimización de la cantidad de del surfactante Tween 20.....	267
3.2.5. Optimización de cantidad de fósforo inorgánico GAB.....	268
3.3. Caracterización analítica de los sensores BI y BII.....	269
3.3.1. Parámetros del sensor BI.....	272
3.3.2. Parámetros analíticos del sensor BII .....	273
4. Conclusiones .....	277

5. Bibliografía ..... 278

**Conclusiones finales** ..... 281









## ***Objetivos***



El **objetivo general** que se pretende en esta Tesis Doctoral es el desarrollo de sensores ópticos para la determinación de dióxido de carbono gaseoso basados en sensores secos que presenten mejoras respecto a los existentes en cuanto a tiempo de respuesta y recuperación, tiempo de vida, conservación y sensibilidad.

Para conseguir este objetivo se emplearán diferentes esquemas de sensado óptico, realizando la caracterización analítica de cada uno de ellos, así como estableciendo los mecanismos de actuación en cada caso.

Los **objetivos específicos** planteados son:

1. Sustituir los agentes de transferencia de fase por otros nuevos que aumenten la estabilidad de las membranas sensoras.
2. Cambiar las matrices hidrofóbicas habitualmente utilizadas por matrices hidrofílicas que aumenten el tiempo de vida.
3. Incluir nuevos luminóforos en la zona sensora que aumenten la sensibilidad al dióxido de carbono.
4. Incluir líquidos iónicos miscibles con agua en las membranas sensoras de base acuosa para dióxido de carbono con objeto de tratar de reducir los tiempos de respuesta y de recuperación.
5. Desarrollar nuevos indicadores ácido-base que operen en la región del IR cercano, capaces de responder a dióxido de carbono.







# ***Capítulo 1***

## ***Introducción***



## 1. El dióxido de carbono gas

El  $\text{CO}_2$  es un gas inerte, inodoro, incoloro, ligeramente ácido y no inflamable. Es soluble en agua cuando la presión se mantiene constante (cada volumen de agua disuelve 0,9 volúmenes de  $\text{CO}_2$ ) y su densidad es de  $1,5 \text{ g/cm}^3$  (una vez y media la del aire). A temperatura y condiciones normales se encuentra en forma gaseosa. A bajas temperaturas y altas presiones el gas se licúa, siendo la temperatura crítica de  $31^\circ\text{C}$ , temperatura por encima de la cual no se puede licuar a ninguna presión. El  $\text{CO}_2$  líquido sólo puede existir entre la temperatura crítica y la del punto triple ( $-56,6^\circ\text{C}$ ), que corresponden a una presión de 74,5 bar y 4,2 bar, respectivamente. Cuando el  $\text{CO}_2$  líquido se expande en la atmósfera solidifica en forma de nieve carbónica, también llamada hielo seco. Este sólido sublima a  $-78,5^\circ\text{C}$ .

Forma parte de la atmósfera de manera natural, siendo uno de sus componentes minoritarios, con una proporción próxima al 0,04%.

El  $\text{CO}_2$  atmosférico es primordial para la vida en la Tierra y su concentración es regulada por plantas, algas y bacterias que con la luz del sol fotosintetizan los carbohidratos a partir de  $\text{CO}_2$  y agua, devolviendo oxígeno a la atmósfera como producto residual, gas fundamental para la vida. La fotosíntesis que realizan las plantas y algunos otros organismos fotosintéticos, como las algas, requiere  $\text{CO}_2$ , de manera que estos seres consumen una buena parte del  $\text{CO}_2$ .

Un aspecto importante al tratar de  $\text{CO}_2$  es como gas de efecto invernadero. Estos son gases atmosféricos que absorben y emiten radiación dentro del rango infrarrojo. Los principales gases que muestran este efecto en la atmósfera terrestre son vapor de agua,  $\text{CO}_2$ , metano, óxido de nitrógeno y ozono. Sin la presencia de estos gases de efecto invernadero la temperatura promedio de la superficie terrestre sería alrededor de  $-18^\circ\text{C}$ , en lugar de la media actual de  $15^\circ\text{C}$ .

El  $\text{CO}_2$  es uno de los gases que contribuyen a que la Tierra tenga una temperatura habitable, siempre y cuando se mantenga en unos niveles aceptables. Por otro lado, un exceso de  $\text{CO}_2$  impediría la salida de calor de la atmósfera y provoca un calentamiento excesivo del planeta, como ha

comenzado a ser el caso. La importancia de este problema ha exigido la adopción de acuerdos internacionales como el Protocolo de Kyoto, realmente llamado Kyoto Protocol to the United Nations Framework Convention on Climate Change [1].

Las causas del incremento en la concentración de gases de efecto invernadero son muy variadas, siendo especialmente importante la de CO<sub>2</sub> como consecuencia del aumento del empleo de combustibles fósiles (carbón, petróleo y derivados, gases, etc.) para la obtención de energía, aunque la deforestación, los incendios y el cambio en el uso de la tierra también han contribuido, así como el aumento de la actividad industrial. El sector energético es responsable de la mayor parte de las emisiones de CO<sub>2</sub> el 91,8 % del total, y dentro de este, el transporte aporta el 29,9 %, por ser la combustión de gas, gasolina y otros derivados del petróleo la principal fuente de obtención de energía. La industria del cemento y las plantas de incineración de residuos representan el 6,4 % del CO<sub>2</sub> total emitido, y como fuentes minoritarias, tenemos la industria química y la industria metalúrgica con un 1,8 %. También se produce CO<sub>2</sub> en la fermentación de azúcares que realizan bacterias y levaduras junto con la liberación de ácidos y/o alcoholes [2].

La cantidad de CO<sub>2</sub> liberada a la atmósfera ha aumentado de forma continua durante los últimos 150 años. Como resultado, ha excedido la cantidad absorbible por la biomasa, los océanos y otros sumideros. Antes de la revolución industrial del siglo XIX, los niveles de CO<sub>2</sub> eran de 280 mg/l, pasando a 316,38 mg/l en 1959, 391,76 mg/l en el año 2011, 399,86 a finales de 2015 y de 409,76 mg/l el 29 de abril de 2017 [3].

Estos valores proceden de los análisis efectuados en el observatorio de Mauna Loa en Hawái, donde se hacen análisis continuos de CO<sub>2</sub> en la atmósfera desde 1958 mediante una técnica óptica basada en un espectrómetro de infrarrojos no dispersivo. La evolución en el contenido en CO<sub>2</sub> se representa en la llamada curva Keeling, por Charles David Keeling de la Scripps Institution of Oceanography de la Universidad de San Diego California que fue quien primero efectuó medidas regulares de la evolución del CO<sub>2</sub> atmosférico, que muestra que la tasa de incremento se ha acelerado desde que comenzaron las medidas desde 0,7 ppm por año hacia 1958 a 2,1 ppm por año desde 2004.

Los procesos de combustión, donde el  $\text{CO}_2$  está implicado en gran medida, contribuyen, como queda dicho, al efecto invernadero. Estos procesos de combustión aparecen en numerosas actividades cotidianas de nuestra sociedad, como en plantas de energía de combustión, vehículos, calefacciones industriales y domésticas, industria del plástico, fermentación, ganadería, etc., y los problemas que originan no son solo ambientales.

Por ejemplo, actividades tan cotidianas como pueden ser cocinar, dan lugar a procesos de combustión en el hogar que se pueden realizar tanto en hornos eléctricos como de gas o aceite y, en menor medida aunque no despreciable, leña o carbón, tienen como consecuencia la generación de toda una serie de gases y vapores, entre los que se encuentran monóxido de carbono, hidrocarburos, hidrocarburos aromáticos policíclicos, aldehídos, dióxido de azufre, sulfuro de hidrógeno, óxidos de nitrógeno y partículas en suspensión, algunos de los cuales originan problemas para la salud.

El  $\text{CO}_2$  presenta un conjunto de efectos que van desde efectos fisiológicos, (así, la estimulación ventilatoria) a efectos tóxicos (por ejemplo, arritmias cardíacas y convulsiones), a efectos anestésicos (así, actividad del SNC significativamente deprimida) y a efectos letales (así, acidosis y anoxia severa). Los efectos del  $\text{CO}_2$  en un individuo concreto dependen de la concentración y duración de la exposición, así como de factores individuales, tales como edad, salud, perfil fisiológico, actividad física, ocupación y estilo de vida [4].

En la industria el  $\text{CO}_2$  se emplea como gas licuado ya que combina una frialdad intensa (calor latente de sublimación: 136 kcal/kg) con gran inercia por lo que se usa para congelación industrial, así en alimentación o estudios biomédicos, de forma que no se altere la calidad del producto o se minimice el daño celular. También se emplea en los extintores de incendios debido a que desplaza al oxígeno al mismo tiempo que reduce la temperatura deteniendo la reacción en cadena e impidiendo que el fuego evolucione. También se usa en los buques gaseros para enfriar la carga y hacer el transporte dentro de unos parámetros de seguridad razonables, debido a sus características de gas inerte, se emplea en la inertización de reactores, tanques o equipos de transferencia. En la industria alimentaria, se utiliza como gas en refrescos, vinos y agua, les da

sabor ácido y la estimulante sensación de efervescencia, también se emplea en la industria de fundición del plástico y en la industria química [5].

En medicina tiene gran importancia la determinación de gases en sangre junto con el oxígeno, principalmente en sangre arterial y más raramente en sangre venosa [6]. La determinación de la presión parcial de ambos gases, junto con el valor del pH, permite obtener información de gran interés acerca de las funciones respiratorias del paciente. El CO<sub>2</sub> juega un papel esencial en la respiración celular y en la regulación del pH fisiológico, por lo que la monitorización del CO<sub>2</sub> en pacientes se realiza de manera rutinaria en hospitales y especialmente en las unidades de cuidados intensivos. La medida de CO<sub>2</sub> se utiliza principalmente para insuflación en cirugías poco invasivas como endoscopias, laparoscopias y artroscopias para ampliar y estabilizar cavidades del cuerpo, facilitando la visualización del campo quirúrgico. Además, se usa en el área médica y estética, para el tratamiento de problemas vasculares, psoriasis, acné, úlceras, así como flacidez, adiposidad localizada y ojeras, entre otros. En individuos sanos, los niveles de CO<sub>2</sub> en el estómago dependen de la sangre y del estado metabólico del organismo, así, el nivel aumenta en el caso de producirse una alteración en la región gastrointestinal o bien en un estado de shock [7]. Su monitorización es necesaria para pacientes en estado crítico y el parámetro clínicamente relevante es la presión parcial de CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>), que se relaciona con su concentración [8].

Es importante su determinación en numerosos procesos industriales bioquímicos, microbiológicos, como pueden ser los procesos de fermentación, así como en la industria agroalimentaria [9,10].

Dado que la mayor fuente de CO<sub>2</sub> en la biosfera es la combustión generada por la industria, calefacciones domésticas, incendios, fermentaciones, etc., existe un interés creciente en el desarrollo de métodos de captación de CO<sub>2</sub> que sean simples y económicos y que permitan la captura selectiva del exceso del CO<sub>2</sub> producido, fundamentalmente en las emisiones de gases de las fábricas [11].

Los niveles de CO<sub>2</sub> en los océanos son tan importantes como en la atmósfera. Los océanos ayudan a reducir el efecto del CO<sub>2</sub> como gas de efecto

invernadero y así disminuir el potencial del calentamiento global comportándose como una inmensa reserva de CO<sub>2</sub>. Sin embargo, sus niveles en la atmósfera y en la hidrosfera no están en equilibrio y la relación de intercambio entre los dos depende de una gran variedad de parámetros como son presión atmosférica, viento, humedad y temperatura. La monitorización de los niveles de CO<sub>2</sub> en la biosfera es de gran importancia en análisis medioambiental. Según las normas de seguridad, para los trabajadores de minas, pozos y alcantarillas es necesario asegurarse de que la concentración de gases en las atmosferas de estos espacios contiene entre el 5 y el 20 % de CO<sub>2</sub> [12].

En la industria alimentaria, el denominado envasado inteligente (*Intelligent Packaging*) surge como respuesta a las demandas de información sobre la calidad del alimento, en términos de frescura, deterioro microbiano u oxidación.

El envasado en atmósfera modificada es una técnica usada para prolongar la vida útil de productos frescos o mínimamente procesados a través un cambio en la composición de la atmósfera que rodea el producto. Esta forma de envasado se usa de forma rutinaria en una amplia variedad de productos que van desde carnes, verduras, productos lácteos, hasta dulces, café, té, alimentos secos, ahumados, pastas, etc. Niveles altos de CO<sub>2</sub> tienen acción antimicrobiana reduciendo el metabolismo microbiano incluso si hay oxígeno presente.

Dada la alta presencia e importancia del CO<sub>2</sub> gaseoso en sectores tan variados de nuestra sociedad, es necesario realizar un seguimiento de su presencia y controlar la cantidad presente de este compuesto.

Para su determinación y análisis nos vamos a centrar en el empleo de sensores por el extraordinario desarrollo que han tenido, su amplio uso y el gran número de empresas que se dedican a su comercialización.

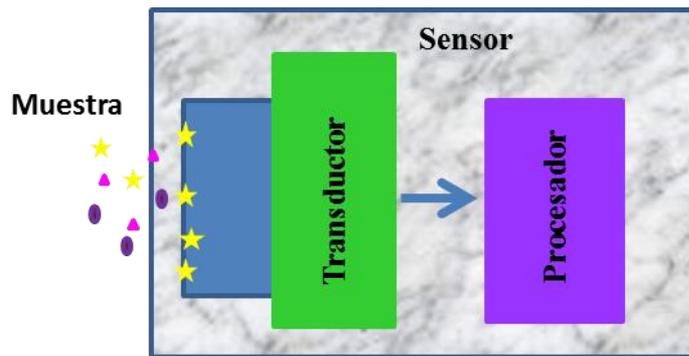
## **2. Sensores químicos**

En la sociedad actual hay una necesidad de información constante y continua, prueba de ello son el gran avance que han tenido las nuevas tecnologías en los últimos tiempos con la llegada de Internet, las redes sociales, el uso de dispositivos móviles como Smartphones, tabletas, etc. Esta necesidad

de información rápida, continua y justo en el momento en el que se produce la noticia o que nos surge la necesidad de conocer algo, ha llegado también al ámbito de la Química Analítica, donde es necesario simplificar el método analítico, evitar el tener que realizar el transporte de muestra hasta laboratorios donde se encuentren equipos complejos y de alto precio, con el consiguiente aumento de gasto y la necesidad de que sean realizados por personal especializado. Por todo ello, ha surgido la tecnología de sensores químicos que permite la realización de análisis químicos rápidos, razonablemente baratos, con instrumentación en general de menor complejidad y a ser posible portátil que faciliten el análisis in situ, en tiempo real, y por personal no cualificado, simplificando todo el proceso analítico y descongestionando la realización de los análisis en el laboratorio que no sean realmente necesarios.

Actualmente, los sensores de gas has encontrado un número cada vez mayor de aplicaciones. Los sensores químicos pretenden de alguna manera emular o sustituir a los sentidos mediante los cuales los seres vivos interaccionan y se relacionan con el medio ambiente. En el caso de muestras gaseosas, estas son percibidas por el sistema olfativo humano, aunque es bien sabido que hay ocasiones donde se recurre a sistemas olfativos animales más sensibles, por ejemplo, el caso de los perros cuando se trata de rastrear, detectar sustancias peligrosas, explosivas o ilegales. De la idea de emular el sistema olfativo biológico con los sensores de gas nace el concepto de nariz electrónica, que se define como un instrumento que consta de un conjunto de sensores químicos de baja selectividad y de un sistema de reconocimiento de patrones adecuado para reconocer olores (compuestos) simples o complejos y trata de caracterizar distintas mezclas de gases.

Una de las definiciones que en nuestra opinión mejor caracteriza el concepto de sensor y que se encuentra próxima a la definición de la IUPAC, es considerarlo un dispositivo capaz de registrar de forma directa, continua y reversible un parámetro físico (sensor físico) o la concentración o presencia de una especie química (sensor químico) [13-17].



**Figura 1.** Modelo general de sensor.

Un sensor químico genera información al ponerlo en contacto con la muestra que contiene al analito a determinar y consta de un conjunto de elementos que se pueden agrupar en tres bloques básicos:

1. Zona de reconocimiento o fase sensora: donde se produce la interacción selectiva con la especie o especies de interés. El elemento de reconocimiento es el componente clave de cualquier sensor. La interacción que allí se origina puede ser física, por ejemplo, una radiación electromagnética con un analito capaz de absorberla o de generar luminiscencia o bien química o biológica, en los que se origina una reacción química entre el analito y los reactivos inmovilizados en ese elemento de reconocimiento originando como consecuencia de la variación negativa de energía libre que ha tenido lugar, variaciones en diversas propiedades físicas que servirán para su evaluación. De forma general, la fase sensora consta de un soporte físico que puede también aportar propiedades de selectividad al proceso de sensado y de una serie de reactivos específicos necesarios para la determinación y cuantificación del analito en particular.
2. Sistema transductor: capaz de convertir la información química que ha originado una variación de alguna propiedad en una señal eléctrica que contenga información analítica útil.

3. Sistema de amplificación y procesado de la señal, con lo que obtenemos los resultados en las unidades de interés.

Actualmente el tipo y número de sensores químicos existentes es enorme, de forma que para dar una visión general y esquemática se puede recurrir a clasificarlos atendiendo a diferentes criterios [16,18].

Se pueden clasificar atendiendo al tipo de señal generada, según la cual se pueden medir un gran número de propiedades diferentes aunque en la práctica las más comunes son: a) ópticas, dentro de este tipo de sensores tenemos los basados en medidas de absorción, reflexión, luminiscencia y los basados en medidas de color, que pueden ser medidos con cámaras CCD [19] que abarcan una mayor superficie de medida y dan lugar a imágenes en dos dimensiones, o incluso se puede hacer uso de escáner [20] cámara fotográfica digital [21] o Smartphone [22]. Sensores ópticos que pueden aportar la ventaja de la minitorización sin contacto con la muestra [23]. Por otra parte, encontramos toda una panoplia de propiedades a medir aparte de las ópticas que son las utilizadas en esta memoria, así b) electroquímicas, c) eléctricas, d) masa, e) magnéticas o f) termométricas.

En función de la naturaleza de la capa sensora: de superficie activa cuando solo en la superficie se encuentren los reactivos inmovilizados y ocurran los procesos de adsorción del analito e interacción o bien de membrana completa (*bulk membrane sensors*) donde el analito se repartirá para producir la interacción en el interior de la misma que es donde se encuentran los reactivos necesarios distribuidos, disposición que es la más empleada. Con el objetivo de conseguir una mayor superficie y por lo tanto aumentar la sensibilidad de estos sistemas, ya que este ha sido el principal reto que han tenido que superar los sensores para conseguir que se establezcan con técnicas con magníficas perspectivas en el campo de la Química Analítica surgieron los sensores basados en nanomateriales de muy diferente naturaleza, como oro, aleaciones metálicas, quantum dots, carbón dots, partículas magnéticas, etc. [24,25] En función de cómo se pone en contacto el sensor y la muestra: dentro de esta clasificación tenemos:

- a) Los sensores tipo sonda, que constituyen un número muy amplio de sensores químicos, en este caso la fase sensora se coloca en la parte final de un electrodo, así el de vidrio para pH o una guía de ondas, generalmente una fibra óptica, lo que ofrece grandes ventajas de versatilidad [26,27].
  - b) Los sensores tipo célula de flujo en los que fase sensora se encuentra depositada en el interior de una celda de flujo, que está conectada o integrada en un sistema de medida. En ellos, la muestra del problema se inyecta o aspira junto con los reactivos entrando en contacto con la fase sensora de forma continua, pasando finalmente por el sistema de medida, pudiendo ser tipo FIA [28] o bien microchip [29,30]. El empleo de estos sistemas con muestras líquidas se encuentra dentro del ámbito de la microfluídica, de los que hay gran número de dispositivos (lab-on-a-chip [31]) así, por ejemplo, cuando se realizan sobre papel, tenemos las plataformas microfluídicas capilares se las denomina  $\mu$ PADs (*Paper-based Analytical Devices*) y constituyen dispositivos de lectura fácil y rápida lectura para diagnóstico y realización de test rápidos [32]
  - c) Sensores de gota plana, en donde el receptor es una zona plana donde se deposita un pequeño volumen de problema. Así tenemos los sensores de un solo uso, como son las tiras reactivas convencionales y las tiras inmunocromatográficas o de flujo lateral.
4. Si atendemos a la reacción o interacción de reconocimiento se pueden clasificar en: complejación, óxido-reducción, asociación, afinidad, adsorción, catálisis u otras dando lugar a interacciones tipo anfitrión-huesped, ligando-metal, portador-ión, portador-molécula, óxido metálico-gas, enzima-sustrato, antígeno-anticuerpo, antígeno-hapteno o receptor-sustrato, entre otras [17].
  5. Según la relación entre receptor y transductor: ambos elementos pueden estar conectados, de forma óptica o eléctrica, o bien integrados en un mismo dispositivo [33].

No existe una única clasificación de sensores químicos, es más no existe ninguna cerrada, dando lugar a subclasificaciones, como se puede intuir de lo

escrito anteriormente, en cualquier caso, queda claro que existen multitud de posibilidades a la hora de desarrollar un sensor.

Un sensor químico debe presentar un conjunto de características analíticas que serán indicadoras de su utilidad y servirán para seleccionarlo en función del problema, como son simplicidad, precisión, selectividad, exactitud, rápida respuesta, etc., sin embargo, hay dos características básicas para su potencial uso, robustez y reversibilidad. Para que un sensor sea considerado como tal es fundamental que sea robusto, entendida como la capacidad que presente para mantener especificaciones frente a variaciones del ambiente químico de la muestra (pH, fuerza iónica, temperatura, etc.) como robustez mecánica (condiciones extremas, golpes, polvo, etc.). Otra característica fundamental de un sensor es la reversibilidad, no entendida en su significado termodinámico, sino como la capacidad para seguir los cambios de concentración del analito.

### **3. Sensores ópticos**

Los sensores ópticos, también denominados optodos [34,35], se basan en la medida de una propiedad óptica que se produce como consecuencia del proceso de reconocimiento del analito en la zona sensora. El empleo de sensores ópticos para la realización de análisis químicos presenta ventajas como [36-39]:

- 1) No presentan interferencias eléctricas.
- 2) No requieren sistema de referencia como los sensores electroquímicos.
- 3) No tiene por qué existir contacto entre el sistema de reconocimiento y el sistema óptico.
- 4) Capacidad de multiplexación y sensado variado, por ejemplo, en amplitud, fase, polarización o información espectral.
- 5) Pueden operar en condiciones extremas, de temperatura, presión o radiación.
- 6) No hay consumo de analito.
- 7) Pueden efectuar el análisis a distancia.
- 8) Se pueden esterilizar con la ventaja clínica que ello su-pone.
- 9) Simples, robustos y de bajo coste.

10) Son susceptibles de miniaturización.

Como desventajas se pueden indicar las siguientes:

- 1) Interferencia de la luz ambiental.
- 2) Problemas de estabilidad de la fase indicadora, fotodegradación, lixiviación, degradación).
- 3) Rango dinámico de calibrado limitado.
- 4) Reducida disponibilidad de colorantes indicadores.

Algunos de los problemas indicados se han ido reduciendo con el tiempo y el estudio acerca de nuevos materiales y hoy en día se dispone de un mayor número de indicadores con propiedades ópticas adecuadas, los rangos de aplicación cada vez son más amplios y se han introducido en el mercado una gran variedad de componentes optoelectrónicos capaces de dar respuesta en todas las zonas del espectro óptico.

### **3.1. Instrumentación de sensores ópticos**

Sea cual sea el tamaño del dispositivo instrumental, casi cualquier instrumento analítico basado en detección óptica contiene los siguientes subsistemas básicos: fuente de luz, guía de luz, dispositivo de selección de longitud de onda, detector de luz o de imagen y sistema de procesamiento / transmisión de señal electrónica. En la última década, se han realizado notables avances en estos cinco módulos básicos que han ayudado en la miniaturización de la instrumentación óptica con fines analíticos.

#### Fuentes de luz

Los diodos emisores de luz (LED) son la fuente de luz más comúnmente utilizada en la instrumentación portátil. Hoy en día, existe un prácticamente continuo de LED monocromáticos y LEDs disponibles comercialmente en la zona de longitudes de onda desde ultravioleta (240 nm) a infrarrojo cercano (hasta 970 nm y longitudes de onda discretas hasta 2680 nm) a varias potencias de salida y encapsulados (incluyendo dispositivos planos y miniaturizados de montaje superficial, SMD) fabricados por empresas como Hamamatsu, Nichia, Philips, SET Inc. o Toyo-da Gosei).

Otra mejora reciente y relevante se basa en el desarrollo de LEDs blancos de mejor y mejor rendimiento, tanto en términos de eficiencia energética como de espectro de emisiones. Varias compañías ofrecen LEDs blancos con espectros de emisión que se asemejan a iluminadores estándar que son de gran utilidad para medidas colorimétricas (Ledman, Nichia, Optek, Philips). Los láseres de cascada cuántica (QCL) están dando nuevas capacidades al infrarrojo medio, y también están emergiendo como interesantes fuentes terahertz. Las aplicaciones de QCL incluyen monitorización ambiental, detección de compuestos químicos tóxicos, detección de explosivos y análisis de aliento [40].

Otra posible fuente de luz, tanto individual como formando una pantalla, son los LED orgánicos (OLED). Se han realizado grandes esfuerzos e inversiones por parte de compañías como LG, Samsung o Sony para el desarrollo de esta tecnología y se ha publicado artículos de gran interés para la inclusión de OLEDs en sistemas integrados de medida [41]. Los diodos láser (LD) proporcionan mayor energía de salida y monocromaticidad que sus correspondientes diodos emisores de luz. También hay una amplia disponibilidad de longitud de onda desde 375 nm, de interés para microscopía de fluorescencia, a infrarrojo (1512 nm a 2680 nm con materiales tales como In-GaAsP y GaSbAs) para la detección de diversos gases tales como O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, CO y CO<sub>2</sub> por absorción [42].

Las matrices LED y OLED y las pantallas también permiten iluminar una región amplia y emitir un color programable para la espectroscopia resuelta espacialmente. Hoy en día, hay pantallas miniaturizadas muy versátiles con alta resolución y facilidad de programación usando dos o tres cables. En el diseño de instrumentos portátiles, se han utilizado para la visualización de datos, pero recientemente varios grupos de investigación han observado sus posibilidades como fuentes de luz en química analítica tanto para la absorción como luminescencia [43,44].

Como ejemplo de una fuente de luz inducida que contiene información química, tenemos los microplasmas que han sido miniaturizados a escala de chip para detección química y otras aplicaciones como fuente en la espectrometría de emisión atómica [45]. El empleo de descargas pulsadas (DC) son muy atractivas para su empleo en sistemas portátiles debido a que sólo

requieren circuitería sencilla y pueden funcionar a presión atmosférica. Broekaert [46] ha desarrollado microplasma RF para detección química mediante espectrometría de absorción atómica con diodo láser. Una de las características atractivas de la detección química por espectrometría de emisión es que funciona tanto para gases [45] como para líquidos [47].

#### Guías de luz y dispositivos selectores de longitud de onda

Para mejorar la sensibilidad de detección de los sistemas miniaturizados basados en absorción/detección, se han desarrollado varios enfoques para extender la longitud de la trayectoria óptica empleando diversas metodologías: a) dirección axial [48-50] b) multireflexión [51,52] c) espectroscopia *cavity ring down* (CRDS) [53] y d) guía de onda de núcleo líquido (LCW) [54] [55].

Se ha publicado un sistema basado en chips para la determinación de alcohol, utilizando el modo de detección de dirección axial a lo largo del microcanal para aumentar la longitud de la trayectoria a 10 mm \*+963 [50]. Mishra y Dasgupta desarrollaron un detector de absorción multireflexivo basado en un capilar recubierto con plata con aumento de 50 en la relación señal/ruido en comparación con el mismo capilar usando el modo de detección en dirección perpendicular [56]. Con el modo de detección de absorción de LCW, se utilizan materiales de bajo índice de refracción para construir la célula de flujo para conseguir la reflexión interna total de la luz. El modo LCW se ha aplicado ampliamente en la construcción de detectores de absorción de alta sensibilidad en sistemas convencionales debido a su excelente capacidad de guía de ondas, la facilidad de aumento de la longitud de la trayectoria y la existencia de capilares LCW comercialmente disponibles. Esta técnica también se utilizó en sistemas microfluídicos [55].

Muy utilizada es la fibra óptica, que es un tipo de guía de onda cilíndrica, existentes de diferentes materias, tamaños y formas pudiéndose acoplar a cada problema en particular [57]. Una innovación reciente en el campo de las guías de luz es el denominado tubo de luz, donde se modifica el espectro de la fuente de luz y/o se aumenta la intensidad [58]. Se trata de una fibra óptica dopada para producir luminiscencia al ser excitada con una fuente de luz. Las fibras de vidrio están dopadas con una tierra rara o activadas con un metal de transición. Las

fibras poliméricas están dopadas con un colorante. Las fibras tienen una respuesta y tiempos de decaimiento rápidos y pueden lograr una alta eficiencia a través del diseño de la óptica de recogida.

Adicionalmente, para permitir una miniaturización adicional, los componentes de guía de ondas también pueden integrarse con los componentes ópticos. Varios ejemplos de este tipo de integración ya han sido publicados: las paredes capilares pueden restringir el flujo de muestras y reactivos, proporcionar una superficie para la unión de moléculas de reconocimiento y servir como guías de ondas para la excitación de fluoróforos unidos y la recogida de la emisión de fluorescencia [59]. Los fotodiodos de avalancha pueden ser embebidos en una guía de ondas junto con un diodo emisor de láser de manera que todos los componentes ópticos estén integrados con la superficie de detección. El fotograbado de vidrio ha dado lugar a la fabricación de microcanales y guías de ondas ópticas en un solo sustrato [60]. Hasta la fecha, mientras que la integración de dispositivos de silicio miniaturizados en biosensores ha comenzado, hay una generación entera de nuevos componentes ópticos poliméricos que serán aún más adecuados para la integración con substratos microfluídicos y sensores: filtros orgánicos flexibles [61], microlentes orgánicas sintonizables [62], diodos emisores de luz orgánicos (OLED) [63] y fotodiodos orgánicos (OPD) [64].

### Detectores de luz e imagen

Los fotodiodos de silicio son muy adecuados para la espectrofotometría de precisión y cubren una amplia gama espectral desde el infrarrojo cercano a la luz ultravioleta al vacío y están disponibles en varios tamaños de área activa y en diversos enpaquetados (metal, cerámica y plástico). Para mayor inmunidad al ruido y a interferencias, los fotodiodos de silicio pueden incorporar un chip preamplificador de bajo ruido en la misma unidad con factores de ganancia de hasta  $1 \text{ V/nA}$ . Además del silicio, se utilizan variedades de compuestos semiconductores de los grupos III-V (principalmente InGaAs y GaAs) para hacer detectores que van desde el ultravioleta a  $190 \text{ nm}$  con GaAsP, hasta el infrarrojo a  $22 \text{ }\mu\text{m}$  con HgCdTe enfriado con nitrógeno líquido. Para la fotometría de alta velocidad, los fotodiodos PIN disponen de baja capacitancia, lo que les permite ofrecer un amplio ancho de banda con un bajo voltaje de polarización. Los

fotodiodos de avalancha (APD) tienen un mecanismo interno de ganancia, tiempo de respuesta rápido, baja corriente oscura y alta sensibilidad desde la región UV a cerca del infrarrojo. El contador de fotones multipíxel (MPPC) es un nuevo tipo de dispositivo de recuento de fotones formado por múltiples píxeles de APD operados en modo Geiger. La suma de las salidas de cada píxel APD forma la salida MPPC. Esto permite el conteo de fotones individuales o la detección de impulsos de fotones múltiples. Las matrices de fotodiodo de silicio están constituidas por múltiples elementos de fotodiodo, formados en una disposición lineal o matricial en un paquete. Algunas matrices se suministran junto con un multiplexor CMOS, lo que reduce el costo del circuito electrónico de salida.

Los tubos fotomultiplicadores (PMT) son la mejor opción para obtener una mayor sensibilidad a la luz con alta velocidad de adquisición. Los inconvenientes anteriores en la instrumentación compacta han sido superados por módulos PMT miniaturizados alimentados externamente con voltajes de corriente continua generalmente utilizados en equipos portátiles (+5 V o  $\pm 12$  V) (Hamamatsu). Hoy en día, los módulos PMT están disponibles para montaje en PCB y bajo consumo de energía, listos para la alimentación de baterías, aunque a un costo considerablemente mayor que los fotodetectores de punto sólido.

Los sensores de color son detectores relativamente recientes e interesantes que proporcionan salidas analógicas o digitales en función de las coordenadas RGB de la luz incidente. Hay una gran variedad de estos dispositivos fabricados por empresas como Hamamatsu y TAOS con filtros de color incorporados.

Los sensores de imagen cubren una amplia gama de niveles de intensidad y rangos de respuesta espectral. Los dispositivos operan desde el infrarrojo cercano (NIR) a  $2,6 \mu\text{m}$ , a través del rango visible y hasta el ultravioleta (UV), y están hechos de silicio o InGaAs. Los sensores de imagen Si están disponibles como una matriz CCD, una matriz lineal CMOS y una matriz lineal NMOS. Estos dispositivos se usan en espectrometría de espectro Raman resuelta espacialmente y espectrofotometría.

En resumen, la última década ha sido testigo del avance de los fotodetectores en el IR medio, con preamplificadores incorporados, PMTs más compactos, sensores de color digitales miniaturizados y matrices de fotodetectores.

### Electrónica de procesamiento de señal y de transmisión

Existe un gran número de microcontroladores de bajo consumo y bajo costo como componentes para controlar y procesar las salidas de los sensores ópticos. Se ha progresado considerablemente en la inclusión de modos de operación de energía ultrabaja, capas físicas y firmware de puertos de E/S estándar e inalámbricos como USB, I2C, SPI, Bluetooth, Zigbee, y/o Wifi. Todas estas capacidades incorporadas permiten producir equipos portátiles más baratos y más compactos. Otra tendencia interesante en la instrumentación analítica portátil es el uso de sistemas portátiles disponibles con capacidad de procesamiento, como PDAs o teléfonos móviles, lo que permite una simplificación significativa en el diseño de la electrónica específica (Lee, 2005 6856 / id; Martinez, 2008 6977 / id).

## **4. Sensores para CO<sub>2</sub>**

La determinación de CO<sub>2</sub> en fase gaseosa se realizan a menudo mediante cromatografía de gases [65], empleando detectores de absorción de radiación infrarroja. Sin embargo, esta instrumentación es cara y requiere técnicos especializados para manejar el equipo y un coste de mantenimiento alto, de ahí la importancia de proponer métodos de análisis para la determinación de CO<sub>2</sub> atmosférico que sean más rápidos y asequibles sin perder fiabilidad y precisión.

El método más popular para la determinación cualitativa y cuantitativa de CO<sub>2</sub> en fase gaseosa es la espectroscopia infrarroja [66]. Se basa en las intensas bandas de rotación-vibración en la región 1–25  $\mu\text{m}$  de moléculas poliatómicas como es el CO<sub>2</sub>. En este caso presenta una intensa banda de absorción extendida desde 4,2 a 4,4  $\mu\text{m}$ . Para ello, es frecuente usar filtros de paso de banda elegidos de manera que sólo dejen pasar radiación de determinada frecuencia, evitando de este modo las bandas de absorción debidas a otros gases. Es posible integrar todos estos elementos en instrumentación de

pequeño tamaño. Sin embargo, esta técnica es propensa a interferencias, debido fundamentalmente a la banda de absorción del monóxido de carbono que solapa justo en esta región, los equipos de medida son caros y presenta fallos de estabilidad mecánica.

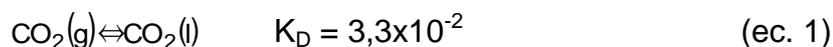
La determinación de  $\text{CO}_2$  en la mayoría de sus aplicaciones tanto en la industria como en aplicaciones medioambientales o en medicina se basan en las propiedades ácidas del  $\text{CO}_2$ , siendo uno de los sistemas más utilizados el conocido electrodo de Severinghaus [67], se trata de un electrodo de pH recubierto con una membrana de PTFE o silicona que lo aísla del exterior y que lo hace impermeable a iones y permeable a  $\text{CO}_2$ , detectando cambios en el pH de una disolución tampón interna de hidrógenocarbonato causados por este gas. El cambio de pH se relaciona de forma simple con la presión parcial de  $\text{CO}_2$ . Tiene una serie de inconvenientes como interferencias por gases ácidos y básicos, tiempo de respuesta alto y efecto de presión osmótica causada por la variabilidad en la salinidad de las muestras, así como posible contaminación del electrodo de referencia y de las uniones líquidas.

La determinación de  $\text{CO}_2$  mediante sensores ópticos extrínsecos es difícil debido a que es una molécula relativamente inerte. No se conocen datos de que compuestos fluorescentes que sean sensible directamente a  $\text{CO}_2$ , en contraste con la gran variedad de cationes, aniones y gases que sí son capaces de modificar directamente las propiedades de distintos luminóforos. Esta molécula no actúa como atenuador colisional de fluorescencia y no hay complejos quelatos conocidos para  $\text{CO}_2$ . Debido a estas dificultades para su determinación óptica directa, la mayoría de los sensores de tipo óptico lo cuantifican indirectamente, a partir del cambio de pH producido, al igual que el electrodo de Severinghaus antes citado [68-74].

#### **4.1. Principios básicos para el diseño de un sensor óptico de $\text{CO}_2$ .**

El  $\text{CO}_2$  gaseoso se disuelve en agua, aumentando su solubilidad al disminuir la temperatura, al igual que el resto de los gases ya que este proceso de disolución presenta un cambio entrópico positivo, además en el caso del  $\text{CO}_2$  se produce reacción con el agua por lo que el intercambio de energía es mayor.

La ec.1 muestra la reacción de disolución del CO<sub>2</sub> gaseoso, siendo la solubilidad a temperatura ambiente de unos 90 cm<sup>3</sup> de CO<sub>2</sub>/100 ml.



Este compuesto actúa como ácido Lewis frente al agua que se comporta como base Lewis compartiendo pares electrónicos y dando lugar al ácido carbónico a través de una reacción de cinética lenta:



En el equilibrio sólo una pequeña fracción, entre el 0,2 y el 1%, del CO<sub>2</sub> disuelto se convierte en ácido carbónico, quedando la mayor parte como CO<sub>2</sub> solvatado.

El ácido carbónico es un ácido débil que se puede disociar en dos etapas:



Si una disolución contiene hidrógenocarbonato, la presencia de CO<sub>2</sub> origina una modificación de pH por los equilibrios concurrentes citados. La relación entre la presión parcial de CO<sub>2</sub> y la concentración de protones en la disolución acuosa viene dada por la siguiente ecuación [75].

$$\alpha P_{\text{CO}_2} = [\text{H}_2\text{CO}_3] = \frac{[\text{H}^+]^3 + [\text{H}^+]^2 [\text{Na}^+] + K_w [\text{H}^+]}{K_1 ([\text{H}^+] + 2K_2)} \quad (\text{ec. 5})$$

donde  $\alpha = K_D K_h [\text{H}_2\text{O}]$  y  $K_w$  es la constante de autoprotólisis del agua. El electrodo de Severinghaus antes citado [67], quizás es el más conocido de los

que explotan este efecto para la determinación de CO<sub>2</sub>. Si la concentración de hidrógenocarbonato es suficientemente alta en la disolución tampón interna (10<sup>-2</sup> M) se puede simplificar la ecuación resultando la presión parcial del gas directamente proporcional a la concentración protónica (ec. 6):

$$\alpha P_{CO_2} = [H_2CO_3] \approx \frac{[H^+][Na^+]}{K_1} \quad (\text{ec. 6})$$

Los primeros sensores ópticos descritos para CO<sub>2</sub> se basan en el mismo equilibrio, pero usan un colorante sensible a pH en lugar de un electrodo de pH para determinar la concentración de protones en la disolución acuosa de hidrógenocarbonato conteniendo el indicador ácido-base [71]. La etapa de transducción es la siguiente:



Donde HD y D<sup>-</sup> son la forma protonada y desprotonada del colorante. Este equilibrio viene determinado por una K<sub>a</sub> que es la constante de disociación ácida del indicador ácido-base, que debe ser adecuada para modificar la posición de equilibrio en presencia de CO<sub>2</sub>.

$$K_a = \frac{[D^-][H^+]}{[HD]} \quad (\text{ec. 8})$$

Si la concentración de indicador usada es pequeña comparada con la de hidrógenocarbonato sódico entonces la ecuación 6 resulta:

$$\alpha P_{CO_2} = [H_2CO_3] \approx \frac{K_a [HD][Na^+]}{K_1 [D^-]} \quad (\text{ec. 9})$$

donde las concentraciones de las formas protonada y desprotonada del indicador se pueden estimar de forma óptica por medida de absorbancia, reflectancia difusa, fluorescencia o fosforescencia.

La ecuación 9 resulta en una dependencia de tipo hiperbólico [76]. Cuando la respuesta está controlada por la difusión del CO<sub>2</sub> y medimos absorbancia o luminiscencia como parámetro analítico en presencia S o ausencia S<sub>0</sub> de analito como indica la ecuación 10.

$$\frac{S}{S_0} = 1 + K[\text{CO}_2] \quad (\text{ec. 10})$$

Este tipo de dependencia justifica el comportamiento asimétrico de los tiempos de respuesta y recuperación de este tipo de sensores ópticos.

#### **4.2. Estrategias para el desarrollo de sensores para CO<sub>2</sub>**

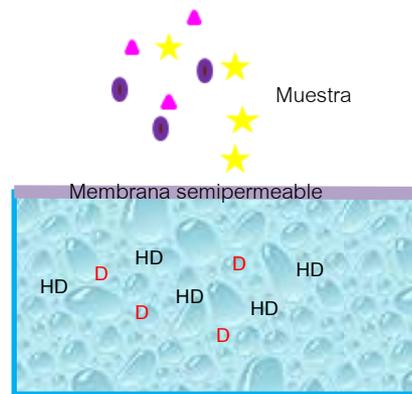
Los primeros sensores desarrollados para la determinación de CO<sub>2</sub> gaseoso presentan un planteamiento similar al electrodo de Severinghaus, que era el empleado hasta el momento. Existen diferentes alternativas dentro de esta estrategia y son las siguientes:

- a) Sensores húmedos
- b) Sensores de gotas dispersas
- c) Sensores secos

##### **a) Sensores ópticos húmedos para CO<sub>2</sub>**

Los sensores ópticos húmedos para la determinación de CO<sub>2</sub> están formados por los siguientes componentes: a) un indicador ácido-base (forma aniónica D<sup>-</sup>, forma protonada HD), ambas formas D<sup>-</sup> y HD del indicador deben presentar colores diferentes o diferentes propiedades luminiscentes; b) un medio de encapsulación acuoso, normalmente conteniendo hidrógenocarbonato sódico donde se disuelve el indicador, medio que se denomina disolución tampón

interno y que presenta una doble función, por un lado impedir la lixiviación del indicador y por otro, minimizar la pérdida de agua por evaporación, lo que impediría el funcionamiento del sensor; c) una membrana impermeable a iones usada para cubrir al sensor, pero permeable al gas, evitando las posibles interferencias ácidas procedentes del medio.



**Figura 2.** Esquema de un sensor húmedo para CO<sub>2</sub>.

De esta forma, cuando el gas penetra a través de la membrana semipermeable modifica el pH del tampón interno y, por tanto, la absorbancia o fluorescencia del indicador.

El papel del electrodo de pH en el electrodo de Severinghaus, lo realiza el indicador de pH en el sensor óptico húmedo.

Uno de los indicadores fluorescentes más usados ha sido la  $\beta$ -metilumbiliferona ( $\lambda_{exc D} = 357 \text{ nm}$ ;  $\lambda_{em D} = 445 \text{ nm}$ ) disuelta en hidrógenocarbonato 5 mM con un 1% de agarosa para mejorar la estabilidad mecánica, todo ello separado de la disolución o gas mediante una membrana de PTFE [77]. El diseño presenta el inconveniente de un tamaño excesivamente grande lo que impide su uso para aplicaciones in vivo, razón por la cual han sido mucho más usados los diseños basados en fibra óptica. Así, un sensor similar, aunque colorimétrico en este caso, fue propuesto usando rojo fenol como indicador en una disolución de hidrógenocarbonato situada en el extremo de una fibra óptica mediante una membrana de silicona [78]. A partir del sensor desarrollado por Lubbers y Opitz, aparecieron diversas variantes tanto en formato de flujo como en formato sonda usando fibra óptica. Veamos algunos

ejemplos: a) hacer circular una disolución de rojo fenol en tampón hidrógenocarbonato por un tubo de silicona permeable a gases situado en un recipiente donde se hace llegar la sangre a analizar mediante una bomba peristáltica [79] b) incorporar la disolución de hidrógenocarbonato conteniendo el indicador fluorescente 1-hidroxipireno-3,6,8-trisulfónico (HPTS) en cápsulas de poliácridamida de 150-250 nm [80] c) entrapar la disolución del indicador HPTS disuelto en tampón hidrógenocarbonato en una membrana de PTFE expandido (GoreTex™) [81] d) adsorber la misma disolución anterior en gránulos de celulosa cohesionados mediante un hidrogel que forma la membrana [82] e) retener por cambio iónico del indicador HPTS en una membrana de cambio aniónico saturada de tampón [83] f) inmovilizar covalentemente el indicador en polihidroxietilmetacrilato y situarlo en el extremo de una fibra óptica que se cubre con una membrana permeable a gases, después de haber saturado la membrana indicadora con hidrógenocarbonato. Como indicador se ha usado acrilofluoresceína [84], fluoresceína y HPTS [85] g) inmovilizar el indicador diclorofluoresceína por adsorción en presencia de  $\text{LiNO}_3$  para mantener un nivel constante de humedad en una microesfera de tamaño de poro controlado fijada en el extremo de una fibra óptica [86].

### **b) Sensores de gotas dispersas**

Hacia finales de los años 80 los investigadores centraron sus esfuerzos en desarrollar una única membrana para el desarrollo de sensores de  $\text{CO}_2$  gaseoso [83]. El primer ejemplo de esto fue propuesto por Wolfbeis [87] en 1986. Su sistema usó una emulsión de HPTS/ gotas de disolución acuosa de bicarbonato sódico dispersas en un soporte de silicona. Presenta problemas como la deshidratación que desestabiliza tales sensores cuando se expone a aire seco y que hace que pueda llevar hasta varias horas el obtener una línea base estable. Aunque podría ser considerado como un sensor húmedo, realmente es un paso intermedio hacia los sensores para  $\text{CO}_2$  que actualmente se desarrollan.

Ishibashi y col. [88] estudiaron un sensor óptico para  $\text{CO}_2$  basado en la dispersión de fluoresceína en polietilenglicol con un tampón de hidrógenocarbonato sódico no acuoso y sin la membrana permeable a gas adicional. Sin embargo, como el polietilenglicol es soluble en agua, disuelven el polímero en agua y ajustan a pH 7 con una disolución de NaOH, por lo que la

membrana final contiene agua, base y el indicador. Este se puede considerar el primer ejemplo de sensor de gotas dispersas, el colorante y la base están solubilizados en las gotas de agua presentes en el polímero. La constante de acidez de la fluoresceína y el ácido carbónico en la membrana son idénticos a aquellas en disolución acuosa. La respuesta del sensor es sensible a la humedad.

De entre los sistemas descritos de este tipo podemos citar: a) uso de una emulsión de una disolución de HPTS e hidrógenocarbonato en silicona; presenta el inconveniente de que la deshidratación que sufre al exponerse a gas seco afecta de forma considerable a su estabilidad [70,87].

Una membrana similar se ha propuesto usando poliuretano como polímero de membrana [89] b) empleo de una emulsión parecida para un sensor colorimétrico, en este caso usa rojo fenol como indicador, que junto con el tampón hidrógenocarbonato es preparado en una mezcla de un polímero tipo polimetilmetacrilato y de polietilenglicol de 600 D [90] c) estabilización de las pequeñas gotas de la disolución acuosa formando micelas; así se ha usado polivinilpirrolidona para estabilizar micelas de hidrógenocarbonato y seminaftorodamina como indicador luminiscente, todo ello disperso en un polímero tipo siloxano [91] d) uso de un material de membrana completamente soluble en agua como es el polietilenglicol junto con fluoresceína como indicador. En este caso, no añaden hidrógenocarbonato, sino que se ajusta el pH del polietilenglicol con NaOH antes de formar la membrana, de forma que la película final situada al extremo de una fibra óptica contiene pequeñas gotas de agua con el indicador al pH adecuado para responder al gas [88]. Evidentemente, el sensor no sirve para determinar CO<sub>2</sub> en agua.

La medida en este tipo de sensores para CO<sub>2</sub> es de absorción de radiación o de intensidad de luminiscencia, sin embargo, existen algunas propuestas alternativas como la de Colin et al. [92] quienes proponen un sistema tipo dosímetro consistente en una lámina de ITO (óxido de estaño-indio) dispuesto sobre PVDF con una membrana de etilcelulosa con purpura de m-cresol en tampón hidrógenocarbonato depositada encima. Tras la equilibración del dosímetro en la atmosfera a monitorizar, se lee en un dispositivo que usa varios LED para iluminar la membrana. La absorción de radiación deforma el film

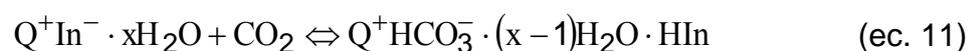
piezoeléctrico ITO generando una carga que se mide permitiendo determinar hasta un 2,5% de CO<sub>2</sub>.

### c) Sensores secos para CO<sub>2</sub>

El primer sensor al que realmente se puede considerar de membrana homogénea es el descrito por Mills et al. en el que utilizan hidróxido de tetraoctilamonio (Q<sup>+</sup>) para inmovilizar la forma básica del indicador de pH, púrpura de m-cresol, (In<sup>-</sup>) como par iónico en el material de membrana que es hidrófobo, así etilcelulosa o polivinilbutiral. En consecuencia, el hidróxido de amonio cuaternario actúa como un sistema tampón lipofílico. La relación (Q<sup>+</sup>D<sup>-</sup>/Q<sup>+</sup>OH<sup>-</sup>) gobierna la sensibilidad así como el grado de linealidad del sensor [93]. A estos hidróxidos de amonio cuaternario se han denominado habitualmente agentes de transferencia de fase. En este tipo de sensores es necesario añadir un reactivo denominado plastificante, compuestos de carácter hidrofóbicos con grupos polares como el tributilfosfato o el 2-nitrofeniloctil éter que juegan un papel fundamental al favorecer la difusión de CO<sub>2</sub> en la membrana, mejorando la respuesta del sensor.

Estos sensores también se denominan sensores secos, sensores plásticos o de membrana homogénea, nombres que se deben a que no necesitan la disolución tampón que empleaban los sensores húmedos anteriormente descritos. Generalmente se depositan sobre una película de un polímero inerte originando una membrana sensora, siendo necesaria para obtener una buena respuesta que la membrana sea homogénea, transparente y con buenas propiedades mecánicas.

La capacidad de la membrana para responder al gas se justifica por la presencia de moléculas de agua de hidratación en el par iónico, las cuales permitirían la hidratación necesaria del CO<sub>2</sub> para que actúe como ácido frente al agua (ec.11) en la forma:



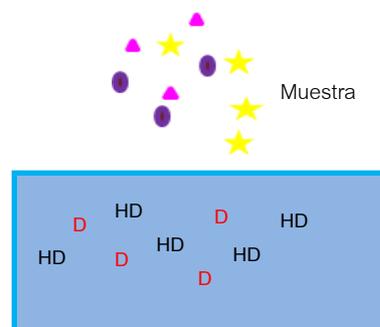
Una de las ventajas de este tipo de sensores es que la membrana hidrófoba puede actuar por sí misma como una barrera a iones por lo que no se necesita utilizar ninguna membrana adicional. Por ello, también se han denominado sensores desnudos a este tipo de sensores de CO<sub>2</sub>.

Estos sensores de membrana homogénea son muy rápidos en su respuesta al gas, no siendo raros valores de tiempos de respuesta y recuperación alrededor de 4 y 7 segundos, respectivamente [75].

Presentan la ventaja con respecto a los sensores anteriores de tener un mayor tiempo de vida útil, ya que se deshidratan de forma mucho más lenta.

Se ven afectados por la presencia de vapores ácidos como NO<sub>2</sub> o SO<sub>2</sub>, ya que presentan un comportamiento similar al CO<sub>2</sub>. La vida media de un sensor sólido puede llegar a ser superior a un año, especialmente si se almacenan en bolsas selladas y en oscuridad, siendo también es aconsejable la refrigeración. Si se realiza un uso continuo, su tiempo de vida disminuye hasta tan solo unas pocas semanas, siendo el responsable de este comportamiento la descomposición del amonio cuaternario mediante degradación de Hoffman [75].

Todos los problemas citados unidos a los que origina la lixiviación del indicador constituyen las principales limitaciones de estos sensores de CO<sub>2</sub>. Una de las soluciones descritas en bibliografía consiste en emplear un reservorio en el que se sumerge el extremo de la fibra óptica sensora, el cual contiene indicador en tampón, de forma que por difusión se regenera continuamente la membrana sensora [94].



**Figura 3.** Esquema de un sensor seco para CO<sub>2</sub>.

Los primeros trabajos publicados sobre sensores secos se basaron en indicadores de pH colorimétricos como el púrpura m-cresol [95] o el azul timol [96].

Dentro del grupo de sensores secos luminiscentes, el indicador más empleado ha sido la sal trisódica del ácido 1-hidroxí-3,6,8-pireno trisulfónico, conocido por las siglas HPTS [97,98] pues no existen muchos indicadores fluorescentes que tengan características ácido-base ( $pK_a$  entre 8 y 10) y espectrales adecuadas. Así se ha empleado para este indicador además de hidróxido de tetraoctilamonio, etilcelulosa como polímero y tributilfosfato como plastificante. Se han desarrollado un gran número de sensores cambiando el material de membrana empleado, siempre considerando que el indicador fluorescente de pH debe de ser soluble en él y además debe de retener la suficiente humedad para que tenga lugar el proceso. También se han empleado como matriz otros materiales como vidrio hidrofóbico en el que se incorpora el par iónico, en concreto en una sílice modificada orgánicamente (ormosil), que da lugar a un material sol-gel químicamente inerte y con alta porosidad que presenta buenas propiedades sensoras del gas aunque es más sensible a los cambios de humedad comparada con los sensores basados en silicona o etilcelulosa [94]. También se ha descrito el uso de una silicona de dos componentes y alta hidrofobicidad que incorpora HPTS e hidróxido de cetiltrimetilamonio como agente de transferencia, presentando ventajas en cuanto a menor lixiviación de indicador e interferencias.

El empleo de sol-gel mejora la sensibilidad y selectividad, las partículas de sílice embebidas en el sol-gel aumentan la superficie por unidad de masa [99,100] habiéndose descrito que presenta un tiempo de vida de seis semanas y responde a  $CO_2$  en el rango completo de 0 hasta el 100%, aunque necesita ser almacenado en bolsa hermética bajo condiciones de humedad. El empleo de líquidos iónicos permite aumentar el tiempo de vida del sensor hasta los 212 días [101]. Recientemente se ha presentado un nuevo sensor de gas de  $CO_2$  basado en una matriz capilar compuesta por 51 capilares que usa HPTS en etilcelulosa. Utiliza una fibra en Y para transmitir la radiación de excitación y la fluorescencia. La sonda de detección tiene ventajas tales como pequeño volumen, estructura

compacta y gran área de detección. Los resultados demuestran que el sensor tiene una respuesta lineal de 0 a 10% de CO<sub>2</sub> [102].

Como ejemplos de sensores para CO<sub>2</sub> que emplean un indicador fluorescente distinto del HTPS es el 4-[(p-N,N-dimetilamino) benciliden]-2-feniloxazol-5-ona que presenta un pKa de 6,97. Este indicador ha sido usado en una membrana que contiene además de los reactivos habituales el perfluoroderivado ácido nonadecafluorodecanoico que actúa como transportador eficiente de CO<sub>2</sub> lo mejora las características del sensor [103]. Otro material sensor se basa en un indicador de pH NIR, el 4,40-(5,5-difluoruro-1,9-difenil-5H-4I4, 5I 4-dipirrol-[1,2-c:20,10f] [1,3,5,2] riazaborinine-3,7-diil) difenoldi-OH-azaBODIPY, inmovilizado en etilcelulosa junto con una base de amonio cuaternario. Empleando como capa proyectora un polímero perfluorado Hyflon AD 60 en lugar de la típica silicona aumenta el tiempo de vida y la estabilidad mecánica del sensor así como la resistencia al envenenamiento por gases como el sulfuro de hidrógeno. El sensor se puede almacenar en condiciones ambientales durante más de seis semanas, mientras que el mismo sensor en las mismas condiciones cubierto con una capa de silicona se deteriora en una semana [104].

### **4.3. Tendencias actuales de los sensores ópticos para determinar CO<sub>2</sub> gaseoso**

Aunque el número de sensores fluorescentes es muy alto [12,105] la inestabilidad propia de estos compuestos hace que se investigue sobre alternativas más operativas. Una de ellas es el empleo de sensores fosforescentes para la determinación de CO<sub>2</sub> gaseoso basados en complejos de metales pesados usando la técnica de fotoluminiscencia a tiempo resuelto. Dentro de estos, los que mejores resultados han dado para CO<sub>2</sub> son los basados en complejos de iridio [106].

Debido al escaso número de indicadores fluorescentes que existen, su escasa fotoestabilidad, variabilidad de la fuente de excitación o lixiviación de reactivos, el desarrollo de este tipo de sensores se ha basado en la búsqueda de alternativas que consigan obtener sensores luminiscentes con mejores características analíticas. Para ello se han utilizado las siguientes estrategias:

- a) Desarrollo de sensores basados en **procesos de transferencia de energía**, que son potencialmente más sensibles debido a la combinación de indicadores absorbentes y fluorimétricos con rendimientos cuánticos muy diferentes, también se han empleado **procesos de filtro interno** y, en menor medida, la **transferencia electrónica fotoinducida** y la **transferencia protónica**.
  - b) Medida de tiempos de vida en lugar de la medida de intensidad, así como mediante los métodos de cocientes de señales o ratiométricos o la técnica de referenciación con doble luminóforo.
  - c) Empleo de técnicas basadas en ***up-conversion***.
  - d) Empleo de **líquidos iónicos**.
  - e) Empleo de **nanopartículas**.
  - f) Empleo de **tintas impresas**.
- a) En los procesos de transferencia de energía de resonancia deben coexistir en la membrana dos fluoróforos o bien un fluoróforo y un colorante, donde el aceptor fluoróforo o bien el aceptor colorimétrico atenúan la fluorescencia del donador fluoróforo. La transferencia de energía ocurre sin la aparición de fotones, al contrario de lo que ocurre en filtro interno, y es el resultado de las interacciones dipolo-dipolo entre donador y aceptor. La energía de resonancia depende del solapamiento de los espectros de emisión del donador y de absorción del aceptor y de la distancia, en concreto de la sexta potencia de la distancia según la ecuación de Förster, por lo que el proceso sólo es eficaz si la distancia entre ambas moléculas es inferior a 100 nm, aproximadamente. En los procesos de transferencia de energía tanto (FRET) [107-109] como filtro interno, se incorpora a la zona sensora un compuesto fluorescente que tenga la característica de emitir radiación a una longitud de onda correspondiente a una de las formas, ácida o básica, del indicador colorimétrico para CO<sub>2</sub>. De esta manera, parte de la radiación emitida por el fluoróforo será absorbida por el indicador y la disminución de intensidad se relacionará con la concentración del gas. Como ejemplo de proceso de transferencia de energía tipo FRET para la medida de CO<sub>2</sub>

disuelto tenemos el empleo de la tetrafenil porfirina (TPP) y  $\alpha$ -naftoltaleina (NP) en poliisobutilmetacrilato.

Como ejemplo de sensor para  $\text{CO}_2$  gaseoso basado en un proceso de filtro interno tenemos el uso del complejo luminiscente octaetilporfirina de platino y de un indicador sensible al pH, la  $\alpha$ -naftoltaleina en cloruro de polivinilideno-co vinil cloruro de etil celulosa (PVCDEC) formando película sensora o bien como micropartículas [107,109]. A este sistema se le ha acoplado un dispositivo optoelectrónico de bajo coste con un par de diodos emisor-detector que actúa como detector.

- b) Otro planteamiento consiste en usar el tiempo de vida de luminiscencia como parámetro analítico en lugar de la intensidad por las ventajas que presenta: independencia de la variación de concentración de luminóforo, de la intensidad de la fuente, de la fotooxidación y lixiviación del indicador, así como de la sensibilidad del mismo.

Los inconvenientes de los sensores basados en medida de intensidad de luminiscencia también pueden eliminarse empleando químicas con referencia interna denominados métodos de cocientes de señales o ratiométricos [110] donde se mide la intensidad de la señal luminiscente a dos longitudes de onda, una sensible al analito mientras que la otra no lo es y se relacionan ambas señales. Este sistema mejora las características y la estabilidad, pero no compensa completamente la influencia en la medida de la luz dispersada, la reflexión y la absorbancia diferencial de la muestra. Otro sistema es el empleo de la referencia dual del tiempo de vida (DLR), donde el fluoróforo sensible al analito de vida corta es inmovilizado con un analito insensible usado como referencia luminiscente y que como característica presenta un tiempo de vida largo y similares características espectrales, este esquema DLR ha sido aplicada a la de-terminación cuantitativa de  $\text{CO}_2$  usando como indicador fluorescente de pH, HPTS, junto con un complejo de rutenio  $\text{Ru}(\text{dpp})_3^{2+}$  en una matriz hidrofóbica de sílice modificada [111].

- c) Los sensores ópticos para determinación de CO<sub>2</sub> presentan en algunos casos tiempos de respuesta y de recuperación bajos, comparados con la espectrometría infrarroja y además el número de indicadores que cambian su intensidad en presencia de CO<sub>2</sub> es limitada.

Una alternativa es el empleo de nanopartículas de tipo upconversion (UCNPs). La upconversion se refiere a procesos ópticos no lineales caracterizados por la absorción sucesiva de dos o más fotones bombeados a través de estados intermedios de energía de larga duración y seguido por la emisión de una radiación a una longitud de onda más corta que la longitud de onda de bombeo [112]. Estos materiales presentan unas propiedades únicas como es la posibilidad de emitir fotoluminiscencia en la región del visible y del infrarrojo cuando se excita con radiación en el infrarrojo cercano [113,114], para ello se pueden emplear como fuentes de excitación láseres que trabajen en la región del infrarrojo cercano [113,114]. En contraste con los convencionales fluoróforos tales como colorantes orgánicos y a las nanopartículas semiconductoras (quantum dots), los UCNPs tienen características tales como minimizar la autofluorescencia de fondo, la fotooxidación y el fotodaño de especímenes biológicos [112,115,116] longitud de onda de emisión sintonizable, alta sensibilidad de detección, baja citotoxicidad [117] y elevada profundidad de penetración de la fuente de excitación [118-120].

Estos luminóforos suelen ser sólidos dopados de tierras raras, compuestos con metales de transición dopados o bien mezcla de ambos. Las nanopartículas de NaYF<sub>4</sub>: Yb,Er son las más conocidas por ser las más eficientes [121,122]. Las ventajas de los UCNPs los hacen adecuados para el sensado de CO<sub>2</sub>, aunque la emisión de UCNPs es sensible al pH no al CO<sub>2</sub>, así que no pueden usarse como sondas directas por sí mismos. Además, los indicadores orgánicos no pueden ser foto excitados directamente por radiación NIR. Se ha descrito un sensor para la determinación de CO<sub>2</sub> gaseoso con el objetivo de aplicarlo en procesos respiratorios y clínicos mediante la detección de la luminiscencia dual de la emisión de UCNPs en presencia de azul de bromotimol [123]. Las intensidades de la emisión del UCNPs en el verde y el azul (picos a 542 y 657 nm) depende de si el azul de

bromotimol está presente en su forma básica (en ausencia de  $\text{CO}_2$ ) o en su forma ácida (en presencia de  $\text{CO}_2$ ). El sensor responde a concentraciones de  $\text{CO}_2$  hasta del 3% con un límite de detección de 0,11%. El sensor se basa en un efecto de filtro interno cuya eficacia depende de  $\text{pCO}_2$ , habiendo un solapamiento espectral entre la banda de absorción del indicador y la luminiscencia del UCNPs. La sensibilidad y el rango dinámico del material sensor es bastante similar al sensor sin UCNPs. El empleo de UCNPs representa un nuevo camino para la generación de la señal.

d) Los líquidos iónicos se han empleado en el desarrollo de sensores ópticos para  $\text{CO}_2$  basándose en los cambios de la propiedad óptica medida, absorbancia UV-vis, reflectancia o señal fluorescente en sistemas sensores conteniendo por líquidos iónicos [124]. Los líquidos iónicos son sales con sus iones débilmente coordinados y que permanecen en estado líquido a temperaturas por debajo de  $100^\circ\text{C}$ . Están formados por un catión orgánico (ej. amonio alquil sustituido, imidazolio, pirrolidino, etc.) y un anión inorgánico poliatómico (iones haluro, tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, acetato, etc.). Presentan unas propiedades características: baja volatilidad, alta estabilidad térmica y mecánica, buena conductividad eléctrica, alta polaridad y buena solubilidad en un amplio número de compuestos [125]. Basándose en su empleo se han propuesto diferentes sensores para la determinación de  $\text{CO}_2$ , así por ejemplo se ha propuesto un sensor espectrofotométrico para  $\text{CO}_2$  basado en el par iónico azul bromo timol/tetraoctilamonio disueltos en líquidos iónicos tipo imidazolio y en presencia de hidróxido de tetraoctilamonio [126]. Posteriormente se propuso un sensor fluorimétrico basado en un método ratiométrico con un fluoróforo de referencia inerte emulsionando en indicador junto con el líquido iónico en una silicona [127]. También se han empleado materiales nanofibrosos preparados por técnicas de electrohilado conteniendo HPTS en presencia de polímeros como etilcelulosa y polimetilmetacrilato y líquidos iónicos tipo imidazolio, lo que da lugar a un material de gran área superficial con una buena estabilidad y sensibilidad mayor entre uno y dos órdenes de magnitud que las correspondientes membranas de análoga composición, lo que podría dar lugar a su empleo como membrana para la captura de  $\text{CO}_2$  en zonas industriales [128]. Se ha empleado líquidos iónicos

basados en sales de tetrapropil benzobisimidazolio (TBBI) conteniendo tres contraiones equivalentes fluoruro [129] mejorando el tiempo de respuesta del sensor y la sensibilidad. Empleando líquidos iónicos basados en imidazolio funcionalizado con polidiacetileno (PDAs), que cambia de azul a rojo cuando reacciona con el CO<sub>2</sub> con alquilaminas unidas al imidazolio PDA, siendo necesaria la adición de una base externa trietilamina, para evitar interferentes y que se dé la reacción deseada, consiguiendo la detección atmosférica de CO<sub>2</sub> [130].

e) Aunque el mayor desarrollo de sensores para determinación de CO<sub>2</sub> gaseoso basados en el empleo de nanopartículas se está realizando en el área de los sensores eléctricos [131,132] también están apareciendo cada vez más resultados de su uso en sensores ópticos así, por ejemplo tenemos el empleo de polímeros que responden a estímulos, son aquellos polímeros que cambian su conformación en función de estímulos externos, como temperatura, pH, campos magnéticos, electricidad y disolventes junto nanopartículas metálicas, así se ha desarrollado un sensor basado en el copolímero polidimetil acrilamida-co-N-amidino etilacrilamida (p(DMA-co-NAEAA) el cuál induce carga negativa en nanopartículas de oro (AuNP) produciendo un cambio de color a través de interacciones electrostáticas en presencia de CO<sub>2</sub> [133]. Se han empleado derivados de anilina, N-(3-amidino) anilina (NAAN) polimerizado por persulfato (APS) dentro de polímeros que responden a CO<sub>2</sub> como es el polímero, poli (N-(3-amidino) anilina (PNAAN) [134]. Posteriormente se ha demostrado que nanopartículas metálicas (NPs) unidas a polímeros que responden a estímulos (SRPs) presentan propiedades adecuadas para su empleo en el desarrollo de sensores ópticos. En base a esto se ha presentado un sensor para determinar CO<sub>2</sub> empleando el polímero PNAAN unido a nanopartículas de oro (AuNPs) sintetizadas mediante la reducción directa de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> con un monómero que responde a CO<sub>2</sub> N-(3-amidino)-anilina (NAAN). Los grupos amidina del PNAAN se pueden protonar por la presencia del CO<sub>2</sub> disuelto formando grupos amidinio hidrófilico. Esto induce el hinchamiento de PNAAN separándose de la superficie de las nanopartículas AuNP, dando como resultado una agregación de las AuNP cambiando de color.

También se han empleado nanopartículas magnéticas  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  MNPs funcionalizadas con 5-(4-carboxifenil)-5, 10, 15-tris (4-fenoxifenil) porfirina (COOH-POPP) y 1,2-bis(trietoxisilil)etano (BTSE) que presentan cambios en las propiedades ópticas en la región UV–Vis [135].

- f) En los últimos años la comunidad científica se ha centrado en el desarrollo de la electrónica de bajo coste y sensores mediante el uso de procesos industriales de impresión que exploran materiales novedosos y sustratos flexibles, comparado con la tradicional electrónica de silicio. Los dispositivos impresos son realmente baratos y pueden abarcar un amplio rango de aplicaciones y dispositivos desechables [136]. Las técnicas principales para la realización de sensores impresos son: impresión por serigrafía (screen-printing) e impresión de chorro de tinta (Inkjet printing). La serigrafía se basa en la deposición de películas gruesas de materiales mediante el uso de una máscara. Los principales inconvenientes de la impresión de pantalla están relacionados con el uso de máscaras y materiales de desecho. Al contrario, la impresión de chorro de tinta es una técnica de no contacto que permite el rápido y real prototipado de los componentes electrónicos. Las interesantes ventajas que aportan las tecnologías de impresión a chorro de tinta residen en las características de impresión directas, alta resolución espacial y compatibilidad con muchos sustratos.

Entre los polímeros compatibles con la impresión a chorro de tinta tenemos polímeros como: PEDOT-PSS (3,4-etilen dioxitiofeno), PANI (polianilina) y nanopartículas de plata conductora. Impresoras comerciales para procesos inkjet se basan típicamente en cabezas piezoeléctricas que permiten la deposición de materiales funcionales y estructurales con resoluciones en el orden de las decenas de micrómetros.

La combinación de polímeros funcionales y conductores ha sido propuesta como una solución conveniente para realizar sensores impresos inkjet [137], así como el uso de tintas metálicas en combinación con impresoras de bajo coste [138].

Un sensor desarrollado para determinar  $\text{CO}_2$  gaseoso consiste en un sustrato PET donde una estructura IDT se ha realizado mediante impresión a

chorro de tinta empleando una tinta basada en nanopartículas de plata. Sobre ella se imprime una tinta comercial de PEDOT/PSS que se cura a 80 ° C. Sucesivamente, se deposita otra capa de 12 µm de grafeno [139].

El principio sobre el que trabaja este sensor son los cambios en la conductancia eléctrica de la capa de grafeno debido a la absorción de las moléculas de gas sobre su superficie, la salida resistiva del sensor esta entonces condicionada por una tradicional configuración puente. El sensor requiere consecutivos ciclos de calentamiento, un calentador se puso bajo el sustrato y un sensor Pt100 se usó para medir la temperatura del sustrato.

Las aplicaciones de los sensores de CO<sub>2</sub> son muy amplias como ha quedado dicho en esta Introducción, de entre ellas destaca una de gran interés en la actualidad como es el ámbito del envasado o empaquetado. El envasado o empaquetado de un producto cumple diversas funciones: proteger, informar, facilitar y contener; pues se emplea para proteger el producto del medio ambiente, informar y proteger al consumidor, promocionar el producto, facilitar su uso y permitir ahorro de tiempo y contener el producto en el formato en que se presente.

En nuestra sociedad han surgido nuevos conceptos en envasado que se resumen principalmente en dos diferentes tecnologías: envasado activo y envasado inteligente.

El envasado activo se refiere a la incorporación de dispositivos o materiales en los sistemas de envasado con el objeto de mantener o aumentar la calidad del producto y su tiempo de vida mejorando la función de conservación del sistema de empaquetado primario. Las tecnologías de empaquetado o envasado activo incluyen acciones físicas, químicas o biológicas entre el envase, el producto y/o la atmósfera interior para lograr el resultado buscado. Entre las diversas tecnologías de envasado activo utilizadas encontramos envasado antimicrobiano, control de agua/humedad ambiente, eliminación de olores, emisión de aromas, eliminación de oxígeno o etileno, generadores/absorbedores de CO<sub>2</sub>, emisores de etanol, y oxidación de dióxido de azufre.

El envasado o empaquetado inteligente se refiere a un sistema de empaquetado capaz de llevar a cabo funciones inteligentes como podrían ser

detectar, sensor, registrar, trazar, comunicar y aplicar lógica científica con el objeto de facilitar la toma de decisiones para extender la vida útil, mejorar la seguridad, mejorar la calidad, proporcionar información y precaver de posibles problemas del producto. En consecuencia, un envasado será inteligente si tiene capacidad para trazar el producto, sensor el ambiente interior o exterior del envase y comunicar con la persona. [140].

En atmósferas modificadas de alimentos envasados, la frescura y seguridad del alimento puede ser estimado el nivel de CO<sub>2</sub> en el envase [141]. Se ha demostrado una correlación entre la concentración de CO<sub>2</sub> y el crecimiento de microorganismos en vegetales y sopas envasados asépticamente en aire o en una mezcla 5% oxígeno y nitrógeno [142,143]. Generalmente se usa la misma química empleada en el desarrollo de los sensores ópticos para la determinación de CO<sub>2</sub> gaseoso para la determinación de este gas en empaquetado [144]. Así por ejemplo, se ha desarrollado un sensor para determinar CO<sub>2</sub> gaseoso para aplicaciones en empaquetado inteligente basado en el proceso de transferencia de energía FRET entre un complejo de platino meso-tetra(pentafluorofenil porfirina de platino (II), PtTFPP, y el indicador de pH  $\alpha$ -naftoltaleina en etil celulosa empleando como agente de transferencia de fase hidróxido de tetraoctilamonio o hidróxido de cetiltrimetil amonio [108], también se han indicado otras posibles variantes con potenciales aplicaciones para la determinación de CO<sub>2</sub> en empaquetado inteligente [145], así el empleo de colorantes diceto-pirrol pirrol como indicadores de pH colorimétricos y fluorescentes [146]. También se ha descrito un dispositivo microfluídico para CO<sub>2</sub> conteniendo una matriz de micropocillos conteniendo micropartículas de polímeros cambiadores de iones dopadas con parejas de colorantes halocrómicos y cationes de amonio cuaternario [147].

Se han desarrollado etiquetas flexibles pasivas impresas para la monitorización de gases en envasado inteligente. Se basa en sensores químicos sensibles a las concentraciones de gas, CO<sub>2</sub> entre otros, de tipo colorimétrico. La electrónica de medida consiste en un LED para la excitación óptica de la membrana de detección y un detector de color digital de alta resolución para la lectura de la señal óptica. Un microcontrolador recibe y procesa los datos que permiten el umbral de detección para el gas correspondiente. Se ha diseñado en

dos versiones, en la primera de ellas se incluyen células solares para la alimentación de la etiqueta [148] mientras que en la segunda se utiliza la tecnología *Near Field Communication* (NFC) para el cosechado de energía y la transmisión de datos al teléfono móvil que hace el procesado de la información de color y la determinación de concentraciones de los cuatro gases a los que es sensible esta etiqueta pasiva [149].

## 5. Bibliografía

1. <https://unfccc.int/resource/docs/convkp/conveng.pdf>.
2. <http://www.prtr-es.es/Dioxido-carbono-774112007.html>.
3. <https://scripps.ucsd.edu/programs/keelingcurve/>.
4. S.A. Rice, Third annual conference on carbon sequestration, 3 (2004) 6.
5. <https://industrial.airliquide.es/industrias>.
6. J.H. Shin, S.H. Lee, M.H. Kim, H.J. Yoon, J.S. Lee, G.S. Cha, H. Nam, Clin. Chem. 46 (2000) 60–61.
7. A. Brinkmann, E. Calzia, K. Trager, P. Radermacher, Inten. Car. Med. 24 (1998) 542–556.
8. F. Baldinia, A. Falai, A.R. De Gaudio, D. Landi, A. Lueger, A. Mencaglia, D. Scherr, W. Trettnak, Sens. Actuators B 90 (2003) 132–138.
9. S. Neethirajan, D.S. Jayas, S. Sadistap, Food Biopr. Technol., 2 (2009) 115–121.
10. D. Haigh-Flórez, C. Cano-Raya, M. Bedoya, G Orellana, Sens. Actuators B 221 (2015) 978–984.
11. IPCC Special Report on Carbon Dioxide Capture and Storage. B. Metz, O. Davidson, H. Coninck, M. Loos, L. Meyer, Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Published for the Intergovernmental Panel on Climate Change. ISBN 92-9169-319-7 (2005).
12. Y. Liu, Y. Tang, N. N. Barashkov, I. S. Ir-gibaeva, J. W. Y. Lam, R. Hu, D. Birimzhanova, Y. Yu, B. Z. Tang, J. Am. Chem. Soc. 132 (2010) 13951–13953.
13. The Cambridge Definition of Chemical Sensors. K. Cammann, G.G. Guilbault, H. Hal, R. Kellner, O.S. Wolfbeis. Cambridge University Press. New York (1996).
14. W. Göpel, T.A. Jones, I. Lundstrom, T. Seiyama, Sens. Chem. Biochem. Sens. Part I 2 (1991).
15. Principles of Chemical Sensors. J. Janata, Plenum Press, 2009.

16. C. Perez Conde, *Sensores Ópticos*. 1 ed. Publicaciones Servic. Public. Univer. Valencia (1996).
17. U. E. Spichiger-Keller, *Chemical Sensors and Biosensors for Medical and Biological Applications*; 1 ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 1(1998).
18. M. Valcarcel, M. D. Luque-Castro *Flow-Through, (Bio) Chemi. Sens.* Elsevier Science B.V.: Amsterdam, 1994.
19. M. Jamshidi, M. Ghaedi, K. Dashtian, M. Montazerzohori, S. Hajati, *IEEE Sens. J.* 15 (2015).
20. S. Capel-Cuevas, M.P. Cuéllar, I. de Orbe-Payá, M.C. Pegalajar, L.F. Capitán-Vallvey, *Anal. Chim. Acta* 681 (2010) 71–8.
21. M. Ariza-Avidad, A. Salinas-Castillo, M. P. Cuellar, M. Agudo-Acemel, M. C. Pegalajar, L. F. Capitan-Vallvey, *Anal. Chem.* 86 (2014) 8634–8641.
22. N. López-Ruiz, A. Martínez-Olmos, I.M. Pérez de Vargas-Sansalvador, M.D. Fernández-Ramos, M.A. Carvajal, L.F. Capi-tan-Vallvey, A.J. Palma, *Sens. Actuators B* 171–172 (2012) 938–945.
23. D. Gibson, C. MacGregor, *Sens.* 13 (2013) 7079-7103.
24. S.M. Ng, M. Koneswaranb, R. Narayanaswamy, *RSC Adv.* 6 (2016) 21624.
25. C. Fang, R. Dharmarajan, M. Megharaj, R. Naidu, *Trends Anal. Chem.* 86 (2017) 143-154.
26. M. Hernaez, C.R. Zamarreño, S. Melendi-Espina, L.R. Bird, A.G. Mayes, F.J. Arregui, *Sensors* 17 (2017)155.
27. X. Chong, K.J. Kim, P.R. Ohodnicki, E. Li, C.H. Chang, *IEEE Sens. Jour.*, 15 (2015) 5327-5332.
28. T. Leelasattarathkul, S. Liawruangrath, M. Rayanakorn, B. Liawruangrath, W. Oungpipat, N. Youngvises, *Talanta* 72 (2007) 126–131.
29. B. Kuswandi, Nurimana, J. Huskens, W. Verboomb, *Anal. Chim. Acta* 601 (2007) 141–155;
30. S.A. Pfeiffer, S. Nag, *Methods Appl. Fluoresc.* 3 (2015) 034003.

31. I. Rodríguez-Ruiz, T. N. Ackermann, X. Muñoz-Berbel, A. Llobera, *Anal. Chem.*, 88 (2016) 6630–6637.
32. E. Petryayeva, W. Russ Algar, *RSC Adv.*, 5 (2015) 22256–22282.
33. M. Ariza-Avidad, M.P. Cuellar, A. Salinas-Castillo, M.C. Pegalajar, J. Vukovic, L.F. Capitán-Vallvey, *Anal. Chim. Acta* 783 (2013) 56–64.
34. N. Sabri, S.A. Aljunid, M.S. Salim, R.B. Ahmad, R. Kamaruddin, *J. Physics: Confer. Ser.* 423 (2013) 012064
35. P. Gründler, *Chemical Sens.*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2007.
36. F. Baldini, A. N. Chester, J. Homola, *Optic. Chem. Sens*, 224 (2006).
37. C. McDonagh, C. S. Burke, B. D. MacCraith, *Optic. Chem. Sens.* 108 (2008) 400-422.
38. G. Orellana, M. C. Moreno-Bondi. *Frontiers in Chemical Sensors: Novel Principles and Techniques*. O. S. Wolfbeis. (3). 2005. Springer. Springer Ser. Chemi. Sens. Biosens.
39. O. S. Wolfbeis, *Fiber optical sens. Biosens*, CRC Press: Ann Arbor, 1(1991)
40. E. A. Zibik, W. H. Ng, D. G. Revin, L. R. Wilson, J. W. Cockburn, K. M. Groom, M. Hopkinson, *Appl. Phys. Lett.* 88 (2006)121109-1-121109/3.
41. E. L. Ratcliff, P. A. Veneman, A. Simmonds, B. Zacher, D. Huebner, S. S. Saavedra, N. R. Armstrong, *Anal. Chem.* 82 (2010) 2734-2742.
42. W. Zeller, L. Naehle, P. Fuchs, F. Gerschuetz, L. Hildebrandt, J. Koeth, *Sensors*, 10 (2010) 2492-2510.
43. D. Filippini, G. Comina, I. Lundstroem, *Sens. Actuators B* 107 (2005) 580-586.
44. D. Filippini, J. Bakker, I. Lundstrom, *Sens. Actuators B* 106 (2005) 302-310.
45. E. H. Evans, J. A. Day, W. J. Price, C. M. M. Smith, K. Sutton, J.F. Tyson, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 18 (2003) 808-833.
46. J. A. C. Broekaert, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 182-187.

47. T. Cserfalvi, P. Mezei, P. Apai, *J. Phys. D. Appl. Phys.* 26 (1993) 2184-2188.
48. G.E. Collins, Q. Lu, N. Pereira, P. Wu, *Talanta* 72 (2007).
49. T. Noda, H. Takao, K. Yoshioka, N. Oku, M. Ashiki, K. Sawada, K. Matsumoto, M. Ishida, *Sens. Actuators B* 119 (2006) 245.
50. J. Steigert, M. Grumann, T. Brenner, L. Riegger, J. Harter, R. Zengerle, *J. Ducree, Lab Chip* 6 (2006) 1040.
51. A. Llobera, S. Demming, R. Wilke, S. Buttgenbach, *Lab Chip* 7 (2007) 1560.
52. S.K. Mishra, S.N. Tripathi, V. Choudhary, B.D. Gupta, *Plasmonics* (2015) 10:1147–1157.
53. L. Sneppen, F. Ariese, C. Gooijer, W. Ubachs, *Ann. Rev. Anal. Chem.* 2 (2009).
54. W.B. Du, Q. Fang, Q.H. He, Z.L. Fang, *Anal. Chem.* 77 (2005) 1330.
55. M.P. Duggan, T. McCreedy, J.W. Aylott, *Analyst* 128 (2003) 1336.
56. S.K. Mishra, P.K. Dasgupta, *Anal. Chim. Acta* 605 (2007) 166.
57. J.J. Davenport, M. Hickey, J.P. Phillips, P.A. Kyriacou, *Analyst*, 10 (2017) 1631-1836.
58. C. B. Jaffe, S. M. Jaffe, *Proc. SPIE*, 7556 (2010) 75560Q-1-75560Q/7.
59. I. M. White, H. Oveys, X. Fan, T. L. Smith, J. Zhang, *Appl. Phys. Lett.* 89 (2006) 191106-1-191106/3.
60. R.W. Applegate, D.N. Schafer, W. Amir, J. Squier, T. Vestad, J. Oakey, D.W.M. Marr, *J. Optic. Pure Appl. Optic.* 9 (2007) S122.
61. O. Hofmann, X. Wang, A. Cornwell, S. Beecher, A. Raja, D. D. C. Bradley, A. J. Mello, J. C. Mello, *Lab Chip* 6 (2006) 981-987.
62. L. Dong, A. K. Agarwal, D. J. Beebe, H. Jiang, *Adv. Mater.* 19 (2007) 401-405.
63. J. Shinar, R. Shinar, *J. Phys. D-Appl. Phys.* 41 (2008) 133001-1-133001/26.

64. E. Kraker, A. Haase, B. Lamprecht, G. Jakopic, C. Konrad, S. Koestler, *Appl. Phys. Lett.*, 92 (2008) 033302-1-033302/3.
65. J. Sipior, L. Randers-Eichhorn, J.R. Lakowics, G.M Carter, G. Rao, G. *Biotechn. Progress.* 12 (1996) 266-271.
66. E.C.B. Ammann, R.D. Galván, *J. Appl. Physiol.* 25 (1968) 333.
67. J. W. Severinghaus, A. F. Bradley, *J. Appl. Physiol.* 13 (1958) 515-520.
68. M. Andò, *TrAC, Trends Anal. Chem.* 25 (2006) 937-948.
69. F. Baldini, A. Giannetti, A.A. Mencaglia, C. Trono, *Curr. Anal. Chem.* 4 (2008) 378-390.
70. M.J.P. Leiner, *Anal. Chim. Acta.* 255 (1991) 209-222.
71. A. Mills, K. Eaton, *Quim. Anal.* 19 (2000) 75-86.
72. A. Mills, S. Hodgen, *Top. Fluoresc. Spectrosc.* 9 (2005) 119-161.
73. G. Orellana, C. Cano-Raya, J. López-Gejo, AR. Santos, P. Wilderer ed. *Treat. Water Sci.* (2011) 221-261.
74. G. Orellana, C. d. Dios, M. C. Moreno-Bondi, M. D. Marazuela, *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* 2508 (1995)18-29.
75. A. Mills, Q. Chang, N. McMurray, *Anal. Chem.* 64 (1992)1383-1389.
76. A. Mills, Q. Chang, *Analyst*, 117 (1992) 1461-1466.
77. D. W. Lubbers, N. Opitz, *Adv. Exp. Med. Biol.* 75 (1976) 65-68.
78. G. G. Vurek, P. J. Feustel, J. W. Severinghaus, *Ann. Biomed. Eng.* 11 (1983) 499-510.
79. C. G. Cooney, B. C. Towe, *Biosens. Bioelectron.* 12 (1997) 11-17.
80. D. W. Lubbers, N. Opitz, *Anal. Chemis. Symp. Series*, 17 (1983) 609-619.
81. M. Uttamlal, D. R. Walt, *Bio/Technol.* 13 (1995) 597-601.
82. O. S. Wolfbeis, L. J. Weis, M. J. P. Leiner, W. E. Ziegler, *Anal. Chem.* 60 (1988) 2028-2030.

83. Z. Zhujun, W. R. Seitz, *Anal. Chim. Acta*, 160 (1984) 305.
84. J. A. Ferguson, B. G. Healey, K. S. Bronk, S. M. Barnard, D. R. Walt, *Anal. Chim. Acta*, 340 (1997) 123-131.
85. C. Munkholm, D. R. Walt, F. P. Milanovich, *Talanta*, 35 (1988) 109-112.
86. T. Hirschfeld, F. Miller, S. Thomas, H. Miller, F. Milanovich, R. Gaver, *J. Lightwave Tech.* 5 (1987) 1027-1033.
87. H.J. Marsoner, H. Kroneis, O.S. Wolfbeis, *Austrian Pat.* (1986) 386.078.
88. Y. Kawabata, T. Kamichika, T. Imasaka, N. Ischibashi, *Anal. Chim. Acta*, 219 (1989) 223-229.
89. S. Hahn, A. Nelson, M. Bennett, H. K. Hui, *EP* (1994) 0601816.
90. J. B. Yim, T. W. Hubbard, L. D. Melkerson, M. A. Sexton, B. M. Fieggen, *US* 5 (1991) 047-627.
91. J. W. Parker, O. Laksin, C. Yu, M. L. Lau, S. Klima, R. Fisher, I. Scott, B. W. Atwater, *Anal. Chem.* 65 (1993) 2329-2334.
92. F. Colin, T.J.N. Carter, J. D. Wright, *Sens. Actuators A* 90 (2003) 216-221.
93. B. H. Weigl, O. S. Wolfbeis, *Sens. Actuators B*, 28 (1995) 151-156.
94. K. Ertekin, I. Klimant, G. Neurauder, O. S. Wolfbeis, *Talanta*, 59 (2003) 261-267.
95. B. H. Wwgl, O. S. Wolfbeis, *Anal. Chem.* 66 (1994) 3323-3327.
96. N. Nakamura, Y. Amao, *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 642-646.
97. A. Mills, Q. Chang, *Analyst*, 118 (1993), 839-843.
98. B. Müller, P. C. Hauser, *Analyst* 121 (1996) 339-343.
99. C.S. Chu, Y.L. Lo, *Sens. Actuat. B* 129, 1 (2008)120-125.
100. M. Barezak, C. McDonagh, D. Wencel, *Microchim. Acta* 183 (2016) 2085-2109.

101. O. Oter, K. Ertekin, D. Topkaya, S. Alp, *Anal. Bioanal. Chem* 386 (2006) 1225-1234.
102. J. Wang, Z. Wenb, B. Yang, X. Yang, *Results Physics* 7 (2017) 323–326.
103. K. Ertekin, S. Alp, *Sens. Actuators A*, 115 (2006) 672-677.
104. E. Fritzsche, P. Gruber, S. Schutting, J. P. Fischer, M. Strobl, J. D. Müller, S. M. Borisov, I. Klimant, *Anal. Methods*, 9 (2017) 55.
105. C.S. Chu, Y.L. LO, T.W. Sung, *Photonic Sensors* 1, 3, (2011) 234-250.
106. Y. Ma, H. Xu, Y. Zeng, C.L. Ho, C.H. Chui, Q. Zhao, W. Huang, W.Y. Wong, *J. Mater. Chem. C* 66 (2015) 3.
107. G. Neurauter, I. Klimant, O.S. Wolfbeis, *Anal. Chim. Acta* 382 (1999) 67–75.
108. N. B. Borcherta, J. P. Kerrya, D.B. Papkovsky, *Sens. Actuators B* 176 (2013) 157– 165.
109. Y. Amao, T. Komori, *Talanta* 66 (2005) 976–981.
110. D. Wencel, J. Moore, N. Stevenson, C. McDonagh, *Anal. Bioanal. Chem.* 398 (2010)1899–1907.
111. C. Bültzingslöwen, A. McEvoy, C. McDonagh, B. MacCraith, I. Klimant, C. Krause, O. Wolfbeis, *Analyst* 127 (2002)1478–1483.
112. F. Wang, X.G. Liu, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 976–989.
113. T. Soukka, T. Rantanen, K. Kuningas, *Fluoresc. Methods Appl. Spectrosc Imaging Probes* 1130 (2008) 188–200.
114. F. Auzel, *Chem. Rev.* 104 (2004) 139–173.
115. S. Sivakumar, P.R. Diamente, F.C. Veggel, *Chem. Eur. J.* 12 (2006) 5878–5884.
116. F. Wang, X.G. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 5642–5643.
117. M. Nyk, R. Kumar, T.Y. Ohulchanskyy, E.J. Bergey, P.N. Prasad, *Nano Lett.* 8 (2008) 3834–3838.

118. J.C. Boyer, M.P. Manseau, J.I. Murray, F.C.J.M. Veggel, *Langmuir* 26 (2010) 1157–1164.
119. S.F. Lim, R. Riehn, C.K. Tung, W.S. Ryu, R. Zhuo, J. Dalland, R.H. Austin, *Nanotech.* 20 (2009).
120. S. Jiang, Y. Zhang, K.M. Lim, E.K.W. Sim, L. Ye, *Nanotech.* 20 (2009).
121. Y. I. Park, J.H. Kim, K.T. Lee, K.S. Jeon, H. B. Na, J.H. Yu, H.M. Kim, N. Lee, S.H. Choi, S.I. Baik, H. Kim, S.P. Park, B.J. Park, Y.W. Kim, S.H. Lee, S.Y. Yoon, I.C. Song, W.K. Moon, Y.D. Suh, T. Hyeon, *Adv. Mater.* 21 (2009) 4467–4471.
122. A. Aebischer, S. Heer, D. Biner, K. Kramer, M. Haase, H.U. Gudel, *Chem. Phys. Lett.* 407 (2005) 124–128.
123. R. Ali, S.M. Saleha, R. J. Meiera, H. A. Azab, I. I. Abdelgawad, O. S. Wolfbeis, *Sens. Actuators. B* 150 (2010) 126–131.
124. K. Behera, S. Pandey, A. Kadyan, S. Pandey, *Sensors* 15 (2015) 30487-30503.
125. T.L. Greaves, C.J. Drummond, *Chem. Rev.* 108 (2008) 206–237.
126. O. Oter, K. Ertekin, D. Topkaya, *Sens. Actuators A*, 117 (2006), 295-301.
127. S. M. Borisov, M. Ch. Waldhier, I. Klimant, O. S. Wolfbeis, *Chem. Mater.* 19 (2007) 6187–6194.
128. S. Aydogdu, K. Ertekin, A. Suslu, M. Ozdemir, E. Celik, U. Cocen, *J. Fluor.* 21 (2010) 607–613.
129. Z. Guo, N.R Song, J.H. Moon, M. Kim, E.J. Jun, J. Choi, J.Y. Lee, C.W. Bielawski, J.L. Sessler, J. A. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012)17846–17849.
130. Q. Xu, S. Lee, Y. Cho, M.H. Kim, J. Bouffard, J. Yoon, *J. Am. Chem. Soc.* 135 (2013)17751–17754.
131. J.P. Morán-Lázaro, O. Blanco, V.M. Rodríguez-Betancourt, J. Reyes-Gómez, C.R. Michel, *Sens. Act. B* 226 (2016) 518–524.
132. M. Ghobadifard, Q. Maleki, M. Khelghati, E. Zamani, S. Farhadi, A. Aslani, *Iran. Chem. Commun.* 3 (2015) 32-49.
133. Y. Ma, L. Yung, *Anal. Chem.* 86 (2014) 2429-2435.

134. Y. Ma, L.Y. Yung, *Part. Syst. Charact.* 32 (2015) 743-748.
135. C.A. Mak, M.A. Pericas, E. Fagadar-Cosma, *Catal. Tod.* (2017) (<https://doi.org/10.1016/j.cattod.2017.01.014>).
136. M. Mantysalo, V. Pekkanen, K. Kaija, J. Niittynen, S. Koskinen, E. Halonen, P. Mansikkamaki, O. Hameenoja, *Electr. Comp. Technol. Confer.* 2009.
137. B. Andò, S. Baglio, *IEEE Instrum. Meas. Mag.*, 14 (2011) 36-40.
138. B. Andò, S. Baglio, A.R. Bulsara, V. Marletta, V. Ferrari, *Proc. Eurosens.* XXVI, 2012.
139. B. Andò, S. Baglio, G. Pasquale, A. Pollicino, S. D'Agata, C. Gugliuzzo, C. Lombardo, G. Re, *Proc. Engineer.* 120 (2015) 628-631.
140. *Innovations in Food Packaging*, J. Han (Ed), Academic Press, 2005, ISBN: 9780123116321.
141. M. Smolander, M. Hurme, E. Ahvenainers, *R. Trends Food Scien. Technology*, 8 (1997) 101-106.
142. T. Mattila, R. Ahvenainen, *Internat. J. Food Microbiol.* 9 (1989) 205-214.
143. T. Mattila, J. Tawast, R. Ahvenainen, *Lebensmittel-Wissenschaft Technol.*, 23 (1990) 246-251.
144. P. Puligundla, J. Jung, S. Ko, *Food Control* 25 (2012) 328-333.
145. X. Meng, S. Kim, P. Puligundla, S. Ko, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 57 (2014) 723-733.
146. S. Shutting, S.M. Borisov, I. Klimant, *Anal Chem.* 85 (2013) 3271-3279.
147. Y. Ziberman, S.K. Ameri., S.R. Sonkusale, *Sens. Actuat. B* 194 (2014) 404-409.
148. P. Escobedo, I. M. P. de Vargas-Sansalvador, M. Carvajal, L. F. Capitán-Vallvey, A. J. Palma, A. Martínez-Olmos, *Sens. Actuators B*, 236 (2016) 226-232.
149. P. Escobedo, M. M. Erenas, N. López-Ruiz, M. A. Carvajal, S. Gonzalez-Chocano, I. de Orbe-Payá, L. F. Capitán-Valley, A. J. Palma, A. Martínez-Olmos, *Anal. Chem.*, 89 (2017) 1697-1703.



## ***Capítulo 2***

### ***Materiales y métodos***





## 1. Instrumentación y software

### 1.1. Instrumentación

Para realizar las medidas de intensidades de fluorescencia y fosforescencia, así como de tiempos de vida de fosforescencia se utilizó un espectrofluorímetro Cary Eclipse de Varian Inc. (Palo Alto, CA, EE.UU.). El instrumento está equipado con una lámpara pulsante de Xenon a 80 Hz y una anchura de pulso a media altura de aproximadamente 2  $\mu$ s y está controlado por un ordenador con procesador Intel Pentium 4 con 260 Mb de memoria RAM y Windows 2000.

Para realizar las medidas se introduce en el compartimento de cubetas del equipo un portamuestras de diseño propio (Figura 2.1). El portamuestras está constituido por dos prismas triangulares que se atornillan para constituir un prisma de base cuadrada. Las dimensiones de los dos prismas son 5 cm de alto y 1 cm de base para ambos dos catetos; está fabricado en hierro pintado de negro y tiene un orificio pequeño en la parte superior que permite el acceso del gas a la zona sensora de la membrana. Una vez atornillados los dos prismas el portacubetas presenta un rebaje donde se introduce la membrana sensora tal como se ve en la figura 2.1.

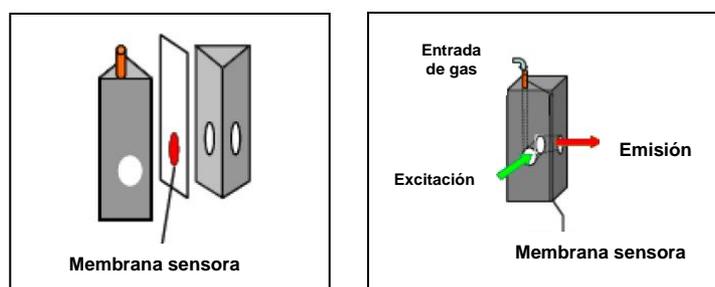


Figura 2.1. Portamuestras para medidas de luminiscencia de las membranas.

Los espectros de absorción de radiación de las diferentes membranas se registraron mediante un espectrofotómetro de diodos Hewlett Packard HP-8453 (Nortwalk, CT, EE.UU.) conectado a un ordenador personal Pentium MMX 200, provisto de un HD de 4,3Gb, CD-ROM 40x, 64 Mb de memoria RAM y Windows 95 como sistema operativo, mediante un interfase HP IB y un cable HP IB.

Para la medida del tamaño de partícula del fósforo sintetizado se utilizó un microscopio de fluorescencia OLIMPUS DP-72. Para emplear color como propiedad medida y coordenadas cromáticas como parámetro analítico se obtuvieron imágenes de las membranas sensoras en función de la concentración de CO<sub>2</sub> utilizando una cámara fotográfica digital Canon PowerShot G12.

Las diferentes mezclas de gases necesarias para los estudios llevados a cabo, en proporciones volumétricas constantes y controladas, se han preparado usando un equipo mezclador de gases dinámico suministrado por la empresa Air Liquide España S.A. Este equipo consta de tres reguladores de flujo másico de gas modelo F-201C-RA-22V, una cámara de mezcla de acero de 0,5 L de capacidad y módulo conversor RS-232/Flow Bus para comunicación a ordenador personal. La concentración porcentual de las mezclas preparadas fue calculada dividiendo el flujo del gas de interés por la suma de los flujos de la mezcla. Como fuente de alimentación para este equipo se usaron gases presurizados de las características técnicas que se indican más adelante. El sistema está conectado a través del software Lowdde32 de Air Liquide a un ordenador con procesador Intel Pentium 4, que es el mismo al que está conectado el espectrofotómetro de luminiscencia. El caudal de gas se controla mediante una hoja Excel programada suministrada por Air Liquide.

Además de lo anterior se usaron los siguientes instrumentos y aparatos:

- Balanzas analíticas Mettler PJ360 Delta Range y Mettler AE 163, con rango de pesada 0-30 y 0-160 g y precisión 0,01 y 0,1 mg, respectivamente.
- Estufa de secado Memmert modelo U con rango de temperaturas de +30°C a +220°C. Memmert (Alemania)
- Baño ultrasónico Bramson, 1510E-MTH de Branson Ultrasonics, Danbury (EE.UU.).
- Agitador giratorio P. Selecta de 16 viales. Barcelona (España).
- Sistema centrífugo de preparación de membranas de 150 mm. Spin Coater WS-400-6NPP de Laurell Technologies Corporation (EE.UU.).
- Agitador vibratorio (12 tubos). Vibromatic Selecta. Barcelona (España).

- pH-metro digital Crison, modelo MicropH 2002, provisto de electrodo combinado Orion 8102 Ross. HACH LANGE S.L.U. (España)
- Rotavapor Heidolph tipo VV-1, 40-220 rpm. Heidolph (Alemania).
- Ika Vortex 4 digital. Con carcasa de fundición de zinc resistente y con una velocidad máxima 3000 rpm. IKA Works GmbH & Co. KG. Staufen (Alemania).
- Bomba para digestión ácida de uso general 4749. Parr Instruments Company, Illinois (EE.UU.).
- Horno de cenizas y calcinación Modelo AAF 11/18 Carbolite (Reino Unido).
- Difractómetro de rayos X de barrido vertical para polvo equipado con ranuras Soller primarias y secundarias, un monocromador de grafito curvo de haz secundario. Bruker AXS D8. Bruker AXS GmbH. Karlsruhe (Alemania).
- Mini molino de laboratorio Pulverisette 23. Lavallab, Quebec (Canada).

#### **1.1.1. Calibrado de instrumentación y equipos**

En este apartado se recogen las medidas adoptadas de cara a garantizar el control de calidad en los experimentos llevados a cabo en la presente Memoria. Las actividades de control de calidad son acciones planificadas y documentadas que desarrollan en el laboratorio a intervalos de tiempo establecidos con objeto de mantener el sistema bajo control. El control de calidad en general, se basa en la comparación de datos desde una perspectiva quimiométrica.

En la presente Memoria se ha llevado a cabo el control de aquellos equipos cuyo mal estado o funcionamiento pudiera ser fuente de un error sistemático que pudiera afectar a los resultados y, consecuentemente, a la inferencia que de ellos se pudiera llevar a cabo.

Los equipos de medida tales como micropipetas, balanzas y matraces aforados fueron chequeados periódicamente, y calibrados cuando el valor medio resultante de diez medidas del patrón de referencia difería en más de tres veces la desviación estándar de la calibración previa realizada.

Como patrón se ha utilizado en el caso de las balanzas un juego de pesas de 1,10 y 200 mg mientras que en el caso de pipetas, micropipetas y demás

material volumétrico aforado se utilizó agua desionizada a temperatura controlada, que fue pesada con las balanzas previamente calibradas.

La calibración del fluorímetro Cary Eclipse de Varian Inc., se llevó a cabo cada 6 meses comprobando que el equipo cumple los siguientes tests:

- Exactitud de la longitud de onda del monocromador de excitación y emisión.
- Exactitud de la amplitud espectral de las rendijas de excitación y emisión.
- Control de luz dispersa.
- Medida del espectro Raman del agua.

La calibración del espectrofotómetro Hewlett Packard HP-8453 se llevó a cabo también cada 6 meses comprobando que el equipo pasa los distintos test indicados por el fabricante:

- Ensayo de filtro.
- Corriente oscura.
- Intensidad para diferentes rangos de longitud de onda.
- Exactitud de la longitud de onda a 486 y 656,1 nm.
- RMS Ruido.
- RMS de la línea base.

## **1.2. Software**

La recogida y tratamiento de los espectros UV-Vis se han llevado a cabo mediante:

- UV HP ChemStation Software (modulo de cinética incluido).

La recogida y tratamiendo de los espectros de luminiscencia y tiempos de vida de fosforescencia se llevaron a cabo mediante:

- Cary Eclipse Software.
- Perkin Elmer Software.

Como programa de cálculo se ha utilizado:

- Microsoft Excel 2010, Microsoft Corporation.

Como editor de texto se ha utilizado:

- Microsoft Word 2010, Microsoft Corporation.

El diseño de las estructuras de las moléculas y gráficas se ha realizado con los programas:

- ChemDraw Pro 7.0.
- Microsoft Excel 2010
- Origin sr2 8.5.

Los programas empleados para el diseño de imágenes son:

- Microsoft Power Point, Microsoft Corporation.
- Adobe Photoshop 8.0.1, Adobe Systems Corporation.

Los programa de búsqueda bibliográfica y bases de datos son:

- SciFinder Scholar 2004 Editions, American Chemical Society.
- Reference Manager versión 10, ISI ResearchSoft.

El programa para el tratamiento imágenes es:

- Image J Launcher. Programa de procesamiento de imagen digital programado en Java desarrollado en el National Institute of Health. Versión 1.4.3.67 (2006/02/01).

## **2. Productos químicos**

### **2.1. Disolventes**

Agua desionizada (Tipo III). Obtenida en un equipo de ósmosis inversa Milli RO12 Plus (Millipore) acoplado a un equipo de refinado Milli Q PLUS 185 (Millipore, Billerica. Massachusetts, EE.UU.). La conductividad del agua fue controlada periódicamente, no superando en ningún momento el valor de 10  $\mu$ S.

Se emplearon, además, los siguientes disolventes:

- Tetrahidrofurano (Sigma-Aldrich Química S.A., Madrid, España).
- Tolueno (Sigma-Aldrich).

- Dimetilformamida (DMF) (Sigma-Aldrich).
- Metanol PRS (Panreac, Barcelona, España).
- Dimetil sulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich).
- Etanol PRS (Panreac).
- Dioxano (Panreac).
- Nitrometano para síntesis (Sigma-Aldrich).
- Acetato de Etilo 99,5% (Panreac).
- Diclorometano anhidro,  $\geq 99.8\%$  (Sigma-Aldrich).
- Eter dietílico (Merck, Madrid, España).
- Hexano (Merck).

## **2.2. Reactivos**

### **2.2.1. Reactivos empleados en la preparación de disoluciones.**

- Ácido clorhídrico, 37%, PRS (Panreac).
- Hidróxido de sodio, PRS (Panreac).

### **2.2.2. Reactivos empleados para síntesis.**

- Nitrato de gadolinio (III) hexahidratado (Sigma-Aldrich).
- Nitrato de aluminio nonahidratado (Sigma-Aldrich).
- Nitrato de cromo nonahidratado (Sigma-Aldrich).
- Ácido bórico (Sigma-Aldrich).
- Urea (Sigma-Aldrich).
- Acetofenona (Sigma-Aldrich).
- p-hidroxibenzaldehído 98% (Sigma-Aldrich).
- Dietilamina  $\geq 99.5\%$  (Sigma-Aldrich).
- N, N-Diisopropiletilamina ReagentPlus  $\geq 99\%$  (Sigma-Aldrich).
- Trifluoruro de boro eterato de dietilo, para síntesis (Sigma-Aldrich).

- 3'-Cloro-4'-hidroxiacetofenona 95% (Sigma-Aldrich).
- Benzaldehído, ReagentPlus ≥99 % (Sigma-Aldrich).
- Acetatato amónico ≥98%(Sigma-Aldrich).
- Sulfato sódico, técnico, anhidro, ≥ 99% (Sigma-Aldrich).
- Silica gel para cromatografía en columna, 60 ( Sigma-Aldrich).

### **2.2.3. Reactivos formadores de la zona sensora.**

En este apartado se recogen los reactivos utilizados para la fabricación de las membranas sensoras desarrolladas en la presente Memoria tales como indicadores, bases, sales lipofílicas, plastificantes y polímeros.

#### **Indicadores de pH**

- $\alpha$ -Naftoltaleína (Sigma-Aldrich).

#### **Luminóforos**

- Octaetilporfirina de Pt (II) (PtOEP) (Porphyrin Products, EE.UU.)

#### **Agentes de transferencia de fase**

- Hidróxido de tetraoctil amonio (TOAOH) (Sigma-Aldrich).
- Hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH) (Sigma-Aldrich).
- n-Butilamina (Sigma-Aldrich)
- Etanolamina (Sigma-Aldrich)
- Piridina (Sigma-Aldrich Química)
- 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) (Sigma-Aldrich)

#### **Plastificantes**

- Tributilfosfato (TBP) (Sigma-Aldrich)
- MIGHTY PSD copolímero policarboxilato, superplastificante (Kao Chemicals Europe, S.L., Barcelona, España)
- MELFLUX 2651. Éter policarboxílico, plastificante para agua (BASF, Tarragona, España).

### **Tensioactivos**

- Brig 35, Surfactante no iónico tipo polioxietileno (Sigma-Aldrich).
- Bromuro de hexadeciltrimetil amonio (CTAB). Agente tensioactivo catiónico (Sigma-Aldrich).
- Tween 20 (Polisorbato 20). Monolaurato de polioxietileno(20)sorbitano, tensioactivo no iónico (Sigma-Aldrich).

### **Líquidos iónicos**

- Tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio (Sigma-Aldrich).
- Cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio (Sigma-Aldrich).
- Tetrafluoroborato de 1-dodecil-3-metilimidazolio (Sigma-Aldrich).
- Cloruro de 1-decil-3-metilimidazolio (Sigma-Aldrich).
- Cloruro de 1-dodecil-3-metilimidazolio (Sigma-Aldrich).
- Tetrafluoroborato de 1-hexil-3-metilimidazolio (Sigma-Aldrich).
- 1-etil-3-metilimidazolio bis(trifluorometilsulfonil)imida (Sigma-Aldrich).
- Cloruro de 1- metil- 3- octilimidazolio (Sigma-Aldrich).

### **Polímeros**

- Cloruro de polivinilo (PVC) (Sigma-Aldrich).
- Etil celulosa (Sigma-Aldrich).
- Hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), Metocel E-5 premium (Dow Chemical Iberica S.L. Tarragona, España).

Además de los reactivos indicados, se utilizó como soporte sólido para la preparación de las membranas poliéster tipo Mylar en láminas de 0,25 mm de espesor, orientado biaxialmente (Goodfellow, Cambridge, UK).

### **2.3. Gases.**

Los gases utilizados han sido suministrados por Air Liquid S.A. y son:

- Nitrógeno N<sub>2</sub>-1, botella B50; contenido en impurezas <3 ppm para el H<sub>2</sub>O, < 2 ppm para el O<sub>2</sub> y < 0,5 ppm para C<sub>n</sub>H<sub>m</sub>.

- Dióxido de carbono N45; botella B50 con contenido en impurezas <7 ppm para el H<sub>2</sub>O, < 10 ppm para el O<sub>2</sub> , < 1 ppm para H<sub>2</sub> y < 25 ppm para N<sub>2</sub>.
- Mezcla calibrada de dióxido de carbono 1% y nitrógeno 99%, botella B10. Con una incertidumbre relativa del 2%.
- Mezcla calibrada de dióxido de carbono 5% y nitrógeno 95%, botella B10. Con una incertidumbre relativa del 2%.

### **3. Metodología**

A continuación se expone la metodología empleada durante esta Memoria de Tesis Doctoral, describiéndose la forma en que se han preparado, utilizado y realizadas las medidas.

#### **3.1. Preparación de mezclas de gases**

Para la preparación de las mezclas de gases utilizadas se ha empleado un sistema mezclador que dispone de tres canales de entrada de gas, en el que cada uno puede llevar un caudal desde 0 a 5 Ln/min, donde litros normales (Ln) se refieren al volumen de gas a presión atmosférica y a una temperatura de 20°C. El caudal de gas se ajusta mediante un controlador de flujo másico operado mediante un software que permite programar la composición deseada. Los gases procedentes de cada canal se hacen llegar a la torre de mezcla saliendo con un porcentaje conocido, desde donde se dirige al portamuestras para ser usado en el espectrofluorímetro con la membrana sensora dispuesta.

#### **3.2. Preparación de membranas sensoras: tipos y disposiciones**

Existen diversas metodologías utilizadas para la preparación de sensores. De ellas se ha elegido por su sencillez de preparación y los buenos resultados que proporciona la de disolución de los componentes, tanto de los reactivos como de los materiales de membrana, en un disolvente del que por deposición de un volumen en un soporte adecuado y evaporación controlada, da lugar a una membrana con las características deseadas.

Para la preparación de las membranas sensoras hemos seguido la siguiente metodología:

1. Selección de componentes, preparación y optimización de la disolución que contiene los reactivos en un vial, a la que denominamos como cóctel.
2. Preparación de la membrana sensora propiamente dicha, a partir de cóctel anterior.

La primera etapa se describirá específicamente en cada capítulo para cada una de las membranas sensoras preparadas. De forma genérica consiste en la disolución de un número determinado de componentes en un disolvente adecuado, así como la optimización pertinente de las cantidades presentes necesarias para cada tipo de sensor.

Para preparar las membranas sensoras, se utilizó un sistema rotatorio de velocidad de giro variable (spin-coater). Este dispositivo, consta de un motor que hace girar un plato a una velocidad variable y programable, el cual tiene una muesca superficial que presenta las mismas dimensiones de la lámina soporte de poliéster y que es donde esta encaja. Todo el mecanismo va cerrado con una tapa superior que tiene un orificio de forma que una vez cerrada dicha tapa queda a una altura y posición adecuadas, para que con ayuda de una micropipeta se pueda depositar un cierto volumen del cóctel en la lámina de poliéster que se encuentra girando. De esta forma, el volumen de cóctel depositado se expandirá de forma homogénea sobre el poliéster debido a la acción de la fuerza centrífuga. La velocidad de giro, que se puede variar, permitirá controlar el espesor de la zona activa del sensor.

Para estimar el espesor de la zona activa, si la consideramos como un cilindro, se puede aplicar la ecuación 2.1 con el que podemos calcular la altura de dicho cilindro, es decir, el espesor de la membrana:

$$V = \pi r^2 \cdot h \quad (\text{Ec. 2.1})$$

donde  $r$  es el radio de la zona sensora,  $h$  es el espesor y  $V$  es el volumen que ocupan todos los componentes de esa zona. El volumen se calcula considerando todos los componentes sólidos del cóctel y dividiéndolo por la densidad media de los componentes mayoritarios presentes (ecuación 2.2):

$$V = \sum m/d \quad (\text{Ec.2.2})$$

En esta ecuación  $m$  es la masa de cada uno de los componentes de la zona sensora y la densidad de la membrana.

Una vez evaporado el disolvente, nos resulta una membrana circular sobre la lámina de un soporte. Como soporte se ha utilizado Mylar (Goodfellow, Huntingdon, Reino Unido) que es un termoplástico de tipo poliéster, en concreto un polietileno tereftalato. Presenta buenas propiedades ópticas, gran inercia química y escasa permeabilidad a gases (a 25°C: para CO<sub>2</sub> 0,2 cm<sup>3</sup>·cm cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>; para N<sub>2</sub> 0,04 cm<sup>3</sup>·cm cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>; para O<sub>2</sub> 0,03 cm<sup>3</sup>·cm cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup> y para agua 100 cm<sup>3</sup>·cm cm<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> Pa<sup>-1</sup>). A esa zona resultante la denominamos zona activa del sensor o zona sensora (Figura 2.2) y es sobre la que mediremos la señal analítica.

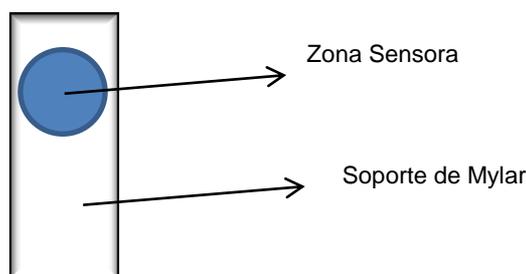


Figura 2.2. Membrana sensora.

### 3.3. Metodología de medida de las membranas

#### 3.3.1. Registro de los espectros de absorción

Para el registro del espectro de absorción, se sitúa la membrana con ayuda del portamuestras antes indicado en el compartimento de medida del espectrofotómetro UV-Vis.

Para las medidas de luminiscencia se utiliza un espectrofluorímetro, introduciendo la membrana en el portamuestras correspondiente descrito anteriormente, que permite la llegada del gas a la zona sensora. Se registra la variación de la intensidad de luminiscencia con la longitud de onda de emisión del luminóforo mientras se expone la membrana a concentraciones de CO<sub>2</sub> entre 0% y 100%. Definimos  $I$  como la intensidad de luminiscencia registrada a

cualquier concentración de gas;  $I_0$  como la intensidad de emisión al 0% de  $\text{CO}_2$  y por tanto 100% de  $\text{N}_2$  e  $I_{100}$  como la intensidad de emisión al 100% de  $\text{CO}_2$  y por tanto 0% de  $\text{N}_2$ .

Si la membrana responde a la presencia de  $\text{CO}_2$ , la intensidad de luminiscencia debe aumentar a medida que aumentemos la concentración de este gas datos a partir de los cuales estableceremos la correlación entre la intensidad de luminiscencia y la concentración de  $\text{CO}_2$  presente.

### **3.3.2. Medida de color**

La medida del color o colorimetría como técnica para la determinación de la señal analítica se ha utilizado alternativamente a la medida de luminiscencia en esta Tesis por creciente tendencia hacia el uso de los dispositivos móviles como instrumentos de detección en determinaciones analíticas rápidas. Esto se debe a las ventajas que presenta como simplicidad de uso y a que es fácilmente combinable el uso de color con dispositivos de imagen portátiles y ampliamente distribuidos. De este modo resultan procedimientos analíticos fáciles de usar en muchas áreas que demandan aplicaciones fuera del laboratorio para monitorización in situ y en tiempo real. Este tipo de procedimientos se denominan procedimientos CVAC (Computer Vision-based Analytical Chemistry) [1]. Por ello, nos ha parecido interesante estudiar la medida de la variación del color de uno de los sensores desarrollados con vistas a su posible uso en empaquetado inteligente de alimentos con objeto de poder conocer el estado de los mismos en función de la concentración de  $\text{CO}_2$  presente.

El color es una percepción visual que se genera en el cerebro al interpretar las señales nerviosas enviadas por la retina ocular como consecuencia de su interacción con la radiación electromagnética visible. Por otra parte, el color no pertenece intrínsecamente a los objetos a los que asociamos un color, sino que es una propiedad de la luz que vemos después de reflejarse en ellos o de ser transmitida por los mismos.

Aunque un color puede ser descrito de forma precisa midiendo la distribución de energía espectral de la luz que origina (energía por unidad de área y longitud de onda de una iluminación dada), esto conlleva un alto grado de redundancia debido a que la retina del ojo es sensible al color en tres zonas

amplias de longitudes de onda, correspondientes de forma aproximada a luz roja, verde y azul. Las señales eléctricas de las células de la retina (conos) junto con las de las células sensibles a intensidad (bastones) se combinan en el cerebro dando lugar a las diferentes sensaciones asociadas a color: claridad, tono, saturación, forma, tamaño, textura, localización u otras, y que se denominan atributos psicológicos del color [2]. Pese a su subjetividad y a que depende de cómo es percibido por el observador, el color se puede especificar numéricamente a partir de las leyes experimentales que resultan de la generalización empírica conocida como generalización tricromática [3]. A partir de medidas físicas de potencia radiante y utilizando diversos tipos de detectores, es posible llegar a definir un color. Los dispositivos más habituales son térmicos y fotónicos, estando en este último caso basados en los efectos fotoeléctrico externo (fotoemisión) o fotoeléctrico interno (fotoconductividad y fotovoltaico), siendo muy frecuentes los dispositivos de carga acoplada CCD y los dispositivos CMOS.

La forma de especificar, crear y visualizar colores es mediante los denominados espacios de color [4].

Un espacio de color es la combinación de un modelo de color y de una apropiada representación gráfica de este modelo. Se denomina modelo de color a un modelo matemático abstracto que describe los colores como secuencias de números, habitualmente tres o cuatro valores dependiendo del modelo, así RGB o CMYK (figura 2.3). Los espacios de color se pueden clasificar en cuatro grupos que se relacionan mediante diferentes tipos de transformaciones matemáticas: a) triestímulo lineales (CIE XYZ, RGB), b) cromáticos xy (CIE xyY), c) perceptualmente uniformes (CIE  $L^*u^*v^*$ ; CIE  $L^*a^*b^*$ , R'G'B' no lineal) y d) orientados al tono (HSL, HSV).

En Química Analítica se ha utilizado la información procedente de diferentes dispositivos de imagen con propósitos cuantitativos; así, escáneres manuales [5] o de sobremesa que operan tanto por reflexión [6] como por transmisión [7], dispositivos CCD [8], vídeo cámaras [9], cámaras fotográficas digitales [10] y analizadores digitales de color [11-13].

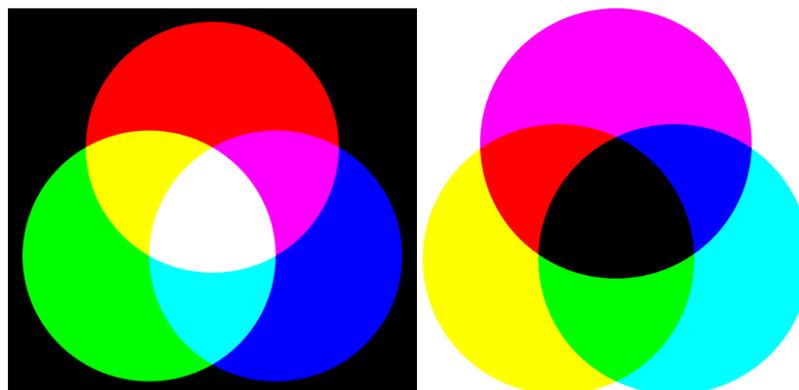


Figura 2.3. Comparación entre los espacios de color RGB (mezcla aditiva de colores) y CMYK (mezcla sustractiva de colores).

De los espacios de color, los más utilizados en química analítica son los espacios triestímulo (RGB) y los de cromaticidad  $xy$ . El problema de estos espacios es que los colores se definen como mezcla de colores básicos y con frecuencia se utiliza un solo canal de los tres, con la pérdida de información que ello supone, o bien varios de ellos a la vez, principalmente como cocientes de coordenadas. Por tanto, hay que enfrentarse a la decisión de o bien emplear un procedimiento en el que sean necesarias las tres coordenadas colorimétricas para así definir correctamente el color que adquiere el sistema analítico, lo que hace que el procedimiento sea más complejo, o bien utilizar un solo canal con la pérdida de información que ello conlleva, aunque el procedimiento sea más sencillo. Esta pérdida de información se traduce a su vez en una disminución de la robustez de la señal.

Para resolver esta cuestión se ha propuesto por este Grupo de Investigación el uso analítico del espacio de color HSV (Hue, Saturation, Value) y en concreto de su coordenada H [14]. Este espacio HSV define los colores como una combinación de tres parámetros: tono (H), saturación (S) y luminosidad (V). Por tanto, en este espacio el tono de un color viene definido solo por el parámetro H, mientras que las otras dos coordenadas añaden aspectos tales como intensidad en el caso de la saturación y claridad u oscuridad en el de la luminosidad. De esta forma, es posible definir el tono de un sensor óptico mediante una sola coordenada y no tres como ocurre en las coordenadas RGB, resultando un parámetro analítico más sencillo y robusto.

Las ecuaciones 2.3-2.5 permiten calcular las coordenadas H, S y V, respectivamente [15]. Como vemos, a partir de los valores RGB de cada píxel del dispositivo de imagen se calcula la coordenada H y, a partir de todos los píxeles que existen en la imagen de cada elemento sensor, la moda del conjunto de datos de H obtenidos, que es utilizada como valor representativo.

$$H = \begin{cases} \left( \frac{G - B}{\text{máx}_{\text{canal}} - \text{mín}_{\text{canal}}} + 0 \right) / 6; & \text{si máx} = R \\ \left( \frac{B - R}{\text{máx}_{\text{canal}} - \text{mín}_{\text{canal}}} + 2 \right) / 6; & \text{si máx} = G \\ \left( \frac{R - G}{\text{máx}_{\text{canal}} - \text{mín}_{\text{canal}}} + 4 \right) / 6; & \text{si máx} = B \end{cases} \quad (\text{Ec. 2.3})$$

$$S = \frac{\text{máx}_{\text{canal}} - \text{mín}_{\text{canal}}}{\text{máx}_{\text{canal}}} \quad (\text{Ec. 2.4})$$

$$V = \text{máx}_{\text{canal}} \quad (\text{Ec. 2.5})$$

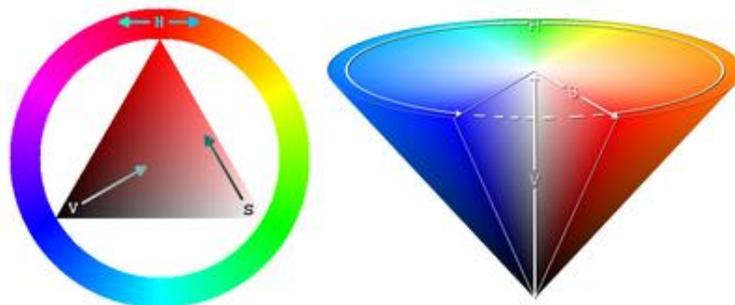


Figura 2.4. Representación del espacio de color HSV

Debido a la naturaleza circular de H, frecuentemente es representada como un círculo cuyos valores posibles se sitúan entre 0 y 360° representado ambos el mismo tono (figura 2.4). No obstante y al objeto de simplificar el cálculo utilizando H, los valores angulares se normalizan entre 0 y 1.

En un estudio previo realizado dentro del grupo de investigación [14], se demostró que el parámetro analítico H, al contrario de lo que ocurre con los valores RGB, presenta una considerable insensibilidad frente a variaciones tanto del dispositivo de medida como de condiciones de iluminación o espesor, concentración de colorante o cromóforo o modo de fabricación de la membrana. No sólo presenta ventajas frente a otras coordenadas de color, sino que, además, debido a la alta precisión que se obtiene con este parámetro, es posible su uso de forma directa sin necesidad de normalizar de la señal entre un valor máximo (máxima concentración de analito) y uno mínimo (ausencia de analito) mediante el empleo del parámetro  $1-\alpha$ , como es habitual en los sensores de iones tipo ionóforo-cromoionóforo [16,17]. Para obtener las imágenes de las membranas de las que se extraeran las coordenadas cromáticas como parámetro de medida se coloca la membrana en el interior de una caja de luces de fabricación casera, con una iluminación constante proporcionada por dos LEDs, para que todas las fotografías se hagan en las mismas condiciones de iluminación de la caja. El montaje se puede ver en la figura 2.5.



Figura 2.5. Caja de fabricación propia donde se lleva a cabo la captura de imágenes mediante una cámara fotográfica.

Por un orificio de la caja de luces se introduce el gas procedente del mezclador de gases, exponiendo de esta forma la membrana a concentraciones conocidas de  $\text{CO}_2$  y se van tomando fotos de la membrana con la cámara digital a diferentes concentraciones  $\text{CO}_2$ . Para tratar las imágenes se selecciona la región de interés (ROI) de cada una de ellas, esto es la imagen de la zona sensora de la membrana y se calculan las coordenadas cromáticas RGB de

cada uno de los píxeles, utilizando la moda de cada coordenada como valor representativo. Con esas coordenadas calculamos las coordenadas HSV tal como se ha indicado anteriormente.

## **4. Preparación y caracterización de los elementos sensores**

### **4.1. Optimización de la respuesta del sensor**

Para establecer la composición más adecuada de las membranas sensoras se han empleado la optimización monofactor ya que se ha comprobado que la interacción entre las variables es mínima.

### **4.2. Calibración**

Para establecer la relación matemática que liga la señal con la concentración de gas se ha operado de forma diferente dependiendo de la señal analítica utilizada. En cualquier caso fue calculada una curva de calibración estándar ajustada mediante el método de los mínimos cuadrados [18]. Las curvas fueron obtenidas mediante el uso de mezclas gaseosas estándar preparadas según se ha indicado previamente. Dichas medidas fueron realizadas por triplicado y los datos obtenidos experimentales obtenidos fueron usados para evaluar y seleccionar el modelo matemático al que mejor se ajustan. Se ha utilizado el coeficiente de variación ( $R^2$ ) para evaluar el mejor ajuste de los datos experimentales al modelo matemático. Para aceptar el ajuste se ha usado como criterio que el valor de  $R^2$  expresado como porcentaje sea mayor del 90 %.

#### **4.2.1. Medidas de luminiscencia**

Tras realizar las medidas de luminiscencia para diferentes concentraciones de gas se observa en todos los casos que la relación es de tipo logarítmico con un rango dinámico lineal muy corto hasta una determinada concentración, para a partir de aquí ir estabilizándose paulatinamente hasta llegar al 100% de concentración de  $\text{CO}_2$ . Esto supone un problema para la calibración, pues se pierde parte de la información analítica que la curva contiene.

Con el fin de linealizar la relación entre la intensidad de luminiscencia y el porcentaje de CO<sub>2</sub>, se utilizó la inversa de la intensidad relativa de fosforescencia  $(I_{100}-I_0) / (I-I_0)$ , donde  $I_0$  y  $I_{100}$  fueron las intensidades a 0 y el 100% de CO<sub>2</sub> gas frente a la inversa de la concentración de CO<sub>2</sub>, de acuerdo con la propuesta de Nakurama y Amao [19] que obtuvieron con esta expresión funciones de calibrado lineales rectas con buenos coeficientes correlación, muy próximos a la unidad. La expresión es la señalada en la ecuación 2.6.

$$\frac{I_{100}-I_0}{I-I_0} = A \frac{1}{[CO_2]} + B \quad (\text{ec. 2.6})$$

#### 4.2.2. Medidas de color

Con el programa Image J, se trata cada una las imágenes obtenidas mediante la cámara fotográfica seleccionado en primer lugar el ROI del que se calculan los valores modales de las coordenadas RGB con los que se calculan las coordenadas HSV. Con la coordenada tonal H estableceremos la relación con la concentración de gas. A continuación se linealiza la función de acuerdo con la ecuación de Amao y Nakurama.

#### 4.3. Caracterización analítica de las membranas desarrolladas

Los parámetros analíticos que se aplican para la caracterización los procedimientos basados en las membranas desarrolladas son los siguientes:

##### 4.3.1. Límite de detección

El límite de detección (LD) se define como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado, aunque no necesariamente cuantificada. En este caso el límite de detección se calcula a partir de los datos exponenciales iniciales y no de la transformación que resulta de aplicar la ecuación de Amao y Nakamura que nos llevaría a un valor indeterminado de límite de detección cuando midiéramos la intensidad de luminiscencia  $I$  para ausencia de CO<sub>2</sub>. Para calcularlo utilizaremos los primeros puntos de la dependencia exponencial que se pueden ajustar a una línea recta y mediremos el valor de la desviación

estándar del blanco (muestras que solo contienen gas nitrógeno) a partir de 8 réplicas.

A partir del valor límite de detección, las concentraciones de CO<sub>2</sub> se calculan a partir de la ecuación de Amao y Nakumura.

De acuerdo con la IUPAC y la ISO [20,21] se calcula el LD mediante la ecuación 2.7:

$$LD = X_0 + S_0 \cdot K = X_0 + 3S_0 \quad (\text{ec. 2.7})$$

donde  $X_0$  es la señal media del blanco y  $S_0$  es la desviación estándar de 8 muestras blanco y  $K$  es un factor numérico cuyo valor depende del nivel de confianza deseado, habitualmente se usa un valor de 3 valor que supone un nivel de confianza del 99,86 %.

#### 4.3.2. Límite de cuantificación

Se define como la concentración mínima que puede determinarse con un nivel aceptable de precisión y exactitud. De los distintos métodos para obtener el límite de cuantificación se ha optado por calcular la cantidad promedio de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco más diez veces la desviación estándar del blanco como nos indica la ecuación 2.8.

$$LC = X_0 + S_0 \cdot K = X_0 + 10S_0 \quad (\text{ec. 2.8})$$

donde, al igual que en el caso anterior,  $X_0$  es la señal media del blanco,  $S_0$  es la desviación estándar de al menos 10 muestras blanco y  $K$  es un factor numérico cuyo valor es 10, valor que supone un nivel de confianza del 99,86 %. Como en el caso anterior se calcula a partir de los datos exponenciales iniciales.

#### 4.3.3. Intervalo de cuantificación (IC) y de detección (ID)

El intervalo de cuantificación es el intervalo de concentración para el cual puede utilizarse satisfactoriamente un método de análisis [22]. Se encuentra comprendido entre los niveles inferior y superior de concentración de analito para la cual se ha demostrado que el procedimiento analítico es adecuado atendiendo a su precisión, exactitud y función de calibrado; es decir, entre la mínima concentración de analito que puede ser cuantificada (límite de cuantificación) y la

máxima concentración ensayada cuya señal analítica permita una adecuada determinación de la concentración.

Por otra parte, el intervalo de detección del método es el intervalo de concentraciones definido por el límite de detección y el límite de cuantificación calculados.

#### **4.3.4. Precisión**

Se define como el grado de concordancia entre resultados de medidas obtenidas de tomas múltiples a partir de la misma muestra homogénea y en las condiciones establecidas. Está expresada como la desviación estándar relativa (DER) de un cierto número de medidas repetidas bajo las mismas condiciones tanto de operador como instrumento y a corto plazo. Es un parámetro indicativo del grado de incertidumbre que debemos esperar de los resultados analíticos. Se han evaluado dos concentraciones diferentes.

En nuestro caso, al ser membranas reversibles, se pueden definir dos tipos de precisión, entendidas como repetibilidad o precisión intramembrana y precisión intermembrana. La primera de ellas indica la precisión de la medida utilizando la misma membrana. La precisión intermembrana estudia la variabilidad que introduce el empleo de una membrana diferente en cada réplica.

#### **4.3.5. Tiempo de respuesta y recuperación**

En este tipo de sensores, definimos como tiempo de respuesta el que transcurre desde que se sitúa el sensor una atmósfera exenta del gas analito hasta que se obtiene valor máximo al exponerlo a una atmósfera de gas analito puro. Habitualmente se expone a atmosferas alternativas oxígeno-nitrógeno o dióxido de carbono-nitrógeno. También diferenciamos entre el tiempo de subida de la señal o tiempo de respuesta y tiempo de bajada de la misma o tiempo de recuperación. Para este caso lo denotamos como:  $t_{\downarrow}$  ( $N_2 \rightarrow CO_2$ ) y  $t_{\uparrow}$  ( $CO_2 \rightarrow N_2$ ). Se suele definir el tiempo de respuesta como el necesario para que la señal pasa del 10% al 90% de la señal máxima y en el caso del tiempo de recuperación el necesario para que la señal pase del 90% al 10%.

Para llevarlo a cabo utilizamos el fluorímetro en modo cinético y vamos registrando varios ciclos de recuperación y respuesta de 10%-90% de CO<sub>2</sub> a lo largo de un tiempo determinado (normalmente 2000 s).

#### **4.3.6. Tiempo de vida**

Representa el periodo de tiempo durante el cual el sensor en cuestión sigue respondiendo a los cambios de CO<sub>2</sub>.

Para ello se preparan un conjunto de sensores almacenados en las condiciones adecuadas se van haciendo medidas de forma periódica del parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ , donde  $I_{100}$  es la medida de la intensidad de la señal al 100% de CO<sub>2</sub> y  $I_0$  es la medida de la intensidad de la señal al 100% de N<sub>2</sub>. Para ello utilizaremos los gráficos de control que son herramientas estadísticas muy simples de construir y de utilizar, y muy útiles para controlar tendencias y la estabilidad de un proceso analítico [23] construida a partir de la medida replicada de un sensor recién preparado (etapa de aprendizaje). Con estos resultados iniciales de la muestra de control se establece el valor de la línea central. Los límites de aviso y de control se sitúan a unas distancias de  $\pm 2s$  y  $\pm 3s$  respectivamente. Se suelen utilizar los valores 2 y 3 cuando el valor promedio de la muestra de control ha sido encontrado con un número suficientemente grande de repeticiones. Cuando al representar el valor obtenido en función del tiempo el valor cae fuera de la variabilidad esperada (línea de control) se considera que el tiempo de vida ha concluido. A este valor le vamos a llamar tiempo de vida T1. No obstante puede ocurrir que el sensor siga respondiendo al gas, aunque con menor sensibilidad, lo que significa que podría seguir siendo usado siempre que se recalibre. A este tiempo de vida lo llamaremos T2.

## 5. Bibliografía

1. Capitan-Vallvey, L. F.; Lopez-Ruiz, N. Martinez-Olmos, A. Erenas, M. M. A. J Palma, *Anal. Chim. Acta* 899 (2015) 23-56.
2. E. Hita Villaverde, Editorial Universidad de Granada, Granada, (2001).
3. G. Wyszecki, W.S. Stiles. *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*. 2nd ed., John Wiley & Sons Inc., New York (1982) 968.
4. M. Melgosa, M.M. Pérez, A. Yebra, R. Huertas, E. Hita. *Óptic. Pur. Aplic.* 34 (2001) 1-10.
5. M. Kompany-Zareh, M. Mansourian, F. Ravaee. *Anal. Chim. Acta*, 471 (2002) 97-104
6. J. Gabrielson, M. Hart, A. Jarelov, I. Kuhn, D. McKenzie, R. Mollby. *J. Microbiol. Methods*, 50 (2002) 63-73.
7. A. Lapresta-Fernandez, L.F. Capitan-Vallvey. *Sens. Actuators B*, B134 (2008) 694-701.
8. J.J. Lavigne, S. Savoy, M.B. Clevenger, J.E. Ritchie, B. McDoniel, S.J. Yoo, E.V. Anslyn, J.T. McDevitt, J.B. Shear, D.J. Neikirk. *Am. Chem. Soc.*, 120 (1998) 6429-6430.
9. K. Tohda, M. Gratzl., *Anal. Sci.* 22 (2006) 383-88.
10. V.V. Apyari, S.G. Dmitrienko. *J. Anal. Chem.* 63 (2008) 530-537.
11. E. Hirayama, T. Sugiyama, H. Hisamoto, K. Suzuki. *Anal. Chem.*, 72 (2000) 465-474.
12. K. Suzuki, E. Hirayama, T. Sugiyama, K. Yasuda, H. Okabe, D. Citterio., *Anal. Chem.* 74 (2002) 5766-5773.
13. Y. Suzuki, K. Suzuki. *Springer Ser. Chem. Sens. Biosens.* 3 (2005) 343-365.
14. K. Cantrell, M.M. Erenas, I. Orbe-Paya, L.F. Capitan-Vallvey, *Anal. Chem.* 82 (2010) 531-542.
15. A.R. Smith. *Proceedings of the 5th Annual Conference on Computer Graphics and Interactive Techniques*, (1978) 12-19.
16. Erenas, M. M.; Piñeiro, O.; Pegalajar, M. C.; Cuellar, M. P.; de Orbe Paya, I. Capitan-Vallvey, *Anal. Chim. Acta* 694 (2011)128-135.
17. Erenas, M. M., Cantrell, K. Ballesta-Claver, J. de Orbe-Paya, I. Capitan-Vallvey, L. F. *Sens. Actuators B* 174 (2012) 10-17.

18. Skoog, West, Holler. Química Analítica. 6ª Edición. McGraw-Hill.
19. Y. Amao, N. Nakamura, Sens. Actuators B 100 (2004) 351.
20. ICH Q2 (R1). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology.
21. INTERNATIONAL STANDARD ISO 11843-5. Capability of detection —Part 5: Methodology in the linear and non-linear calibration cases. First edition 2008-06-01.
22. Duffau B. et al. Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”. Edición Año 2010. Santiago de Chile. Diciembre de 2010.
23. J. Riu. Gráficos de control de Shewhart. <http://www.quimica.urv.es/quimio>. Para definir el tiempo de vida se usan las cartas de control o cartas de Shewhart.

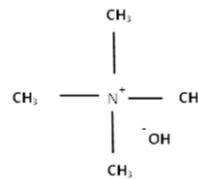


## Capítulo 3

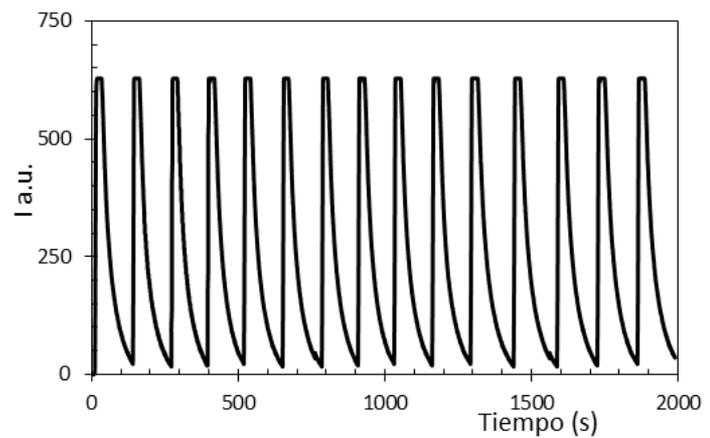
### Membranas sensoras

### ópticas para dióxido de carbono.

### Estrategias de mejora



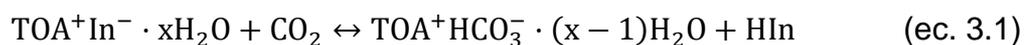
HPMC





## 1. Introducción

La mayoría de los sensores ópticos para dióxido de carbono gaseoso se basan en el carácter ácido de la molécula. Dentro de ellos los de tipo membrana seca utilizan habitualmente el hidróxido de tetraoctilamonio (TOAOH) como agente de transferencia de fase lo cual permite cambios de color o luminiscencia de los indicadores presentes en la membrana sensora [1, 2]. La capacidad de esa membrana sensora para responder al gas se justifica por la presencia de moléculas de agua de hidratación en el par iónico formado entre el indicador y el catión amonio cuaternario ( $\text{In}^- \text{TOA}^+$ ), las cuales permiten la formación de ácido carbónico a partir del  $\text{CO}_2$  presente en la atmósfera con la que está en contacto la membrana y la consecuente neutralización parcial del indicador que se encuentra en forma básica pasando este a su forma ácida con el consiguiente cambio de color, tal como indica la ecuación 3.1.



Por otra parte, el polímero de membrana usado juega un papel importante en la sensibilidad y estabilidad de los sensores de gas, así se han usado materiales como etilcelulosa [3], tipos sol-gel [2], siliconas [4] y materiales compuestos como por ejemplo la mezcla de polímeros polimetilmetacrilato y polietilenglicol [5]. de sensores suponen un gran avance con respecto a los que había anteriormente, presentan una serie de limitaciones. Los principales problemas encontrados son:

1. El número reducido de indicadores fluorescentes existentes que permiten tales medidas ya que deben tener un valor de  $\text{pK}_a$  adecuado para desplazar su equilibrio ácido-base por la presencia de  $\text{CO}_2$  [4]. Con el fin de hacer frente a este inconveniente, se han desarrollado diferentes estrategias en la bibliografía como son las basadas en el empleo de procesos de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia [2] y el uso de procesos de filtro interno; así como otros, así procesos de transferencia electrónica fotoinducida y transferencia protónica [6-8].

2. Otros problemas se relacionan con la baja fotoestabilidad de indicadores, la variabilidad de la fuente de excitación y la lixiviación de reactivos. La resolución de estos se ha abordado a través de la medida de tiempos de vida de los indicadores fluorescentes [9] en lugar de medir intensidades, por métodos de cociente de señales, también llamadas ratiométricas, utilizando, por ejemplo, dos longitudes de onda de excitación de luminóforo [10,11] y, por último, usando la técnica de referenciación de doble luminóforo (DLR) [12].
3. Otro problema que presentan y que contribuye a reducir la estabilidad de la membrana es la deshidratación de la misma que hace que esta deje de responder al gas. Se ha estudiado su solución a través de la sustitución de la sal de amonio cuaternario presente por líquidos iónicos [5] Se ha sugerido que la inclusión de líquidos iónicos en sensores de CO<sub>2</sub> ayuda a la retención de agua [9]. La modificación más reciente propuesta consiste en el empleo materiales nanoparticulados de emisión tipo upconversion [13] que exhiben una alta capacidad de penetración al ser excitados, con la ventaja de que evitan la autofluorescencia de biomoléculas debido a la excitación por radiación infrarroja.

Con el objetivo de reducir estos inconvenientes, en este capítulo se presentan diferentes estrategias utilizadas fundamentalmente para reducir los problemas de deshidratación de los sensores de fase sólida. Como punto de partida trabajamos sobre un sensor fosforescente basado en filtro interno desarrollado previamente en nuestro grupo de investigación ECsens [1,14] presente en la membrana que además contiene el hidróxido de amonio cuaternario TOAOH que actúa como tampón interno. El cambio en la posición del equilibrio ácido-base por parte del CO<sub>2</sub> y el concomitante cambio de color se traduce en un cambio de emisión luminiscente debido al solapamiento del espectro de absorción de la forma básica del indicador de pH y el de emisión del luminóforo de alto tiempo de vida, octaetilporfirina de platino (PtOEP). La presencia de CO<sub>2</sub> desplaza paulatinamente el equilibrio del indicador hacia su forma ácida con el consiguiente aumento de la emisión fosforescente del luminóforo. En la Figura 3.1 se muestran los espectros de la forma básica del indicador y el espectro de excitación y emisión del luminóforo. Como

consecuencia de un filtro interno se produce un proceso de emisión luminiscente al aumentar la concentración de CO<sub>2</sub> en contacto con la membrana.

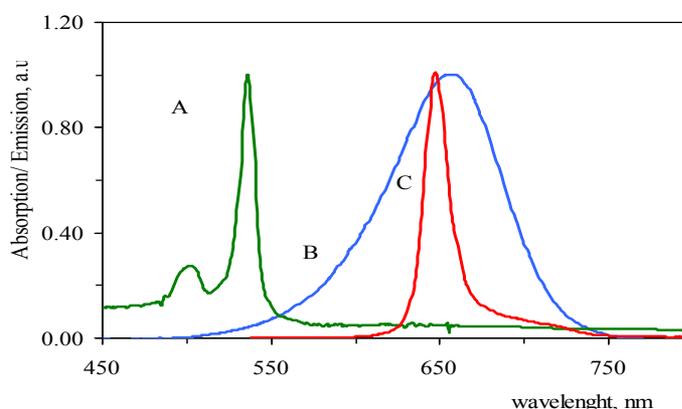


Figura 3.1. Espectros normalizados de los componentes de la membrana sensora. Excitación(A) y emisión del luminóforo (PtOEP en PVCD) (C). Espectro de absorción de la forma básica de la  $\alpha$ -naftoltaleína (B).

Este sensor lo consideraremos sensor de referencia y a partir de él hemos introducido las modificaciones oportunas para conseguir la mejora de la respuesta sensora y las características de la membrana. Para ello se ensayaron diferentes alternativas: la primera alternativa estudiada fue la sustitución del agente básico hidróxido de tetraoctil amonio (TOAOH) por otros agentes básicos más estables que no sufran la degradación de Hoffman lo que supone un acortamiento del tiempo de vida del sensor.

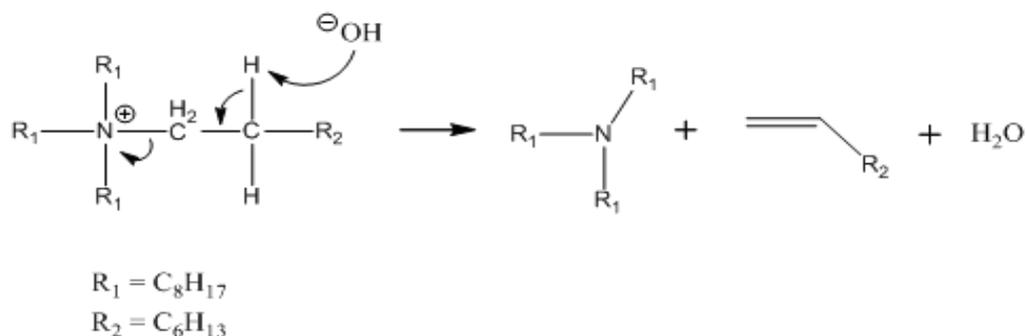


Figura 3.2. Degradación de Hoffman del hidróxido de amonio cuaternario.

La degradación de Hoffman consiste en el ataque por parte de un grupo hidroxilo a los hidrógenos que se encuentra en posición  $\beta$ , con la consiguiente ruptura de la molécula. Dicho mecanismo se muestra en la figura 3.2.

En este sentido se seleccionaron dos grupos de agentes básicos: el primero está constituido por el hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH) (Figura 3.3). Molécula que no puede sufrir la degradación de Hoffman debido a que no posee hidrógenos en posición  $\beta$  susceptibles de poder ser atacados por el hidroxilo, como se puede ver en su estructura molecular.

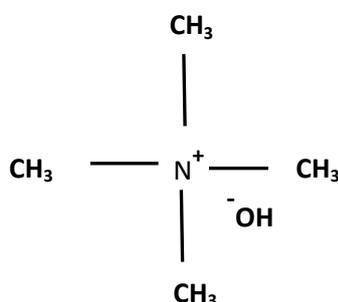


Figura 3.3. Molécula de TMAOH.

El segundo grupo está constituido por aminas de diverso tipo, las cuales se muestran en la figura 3.4.

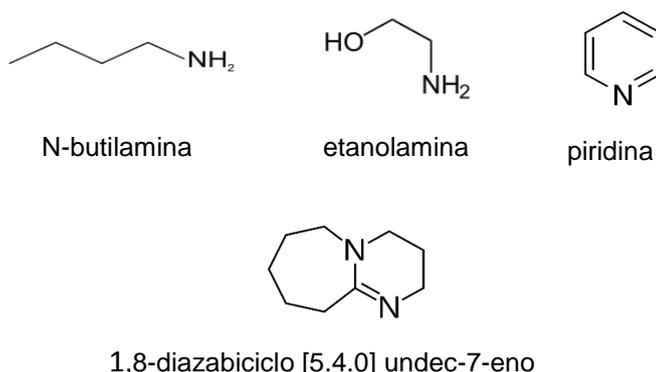


Figura 3.4. Aminas utilizadas como agentes básicos.

La segunda alternativa ensayada fue reemplazar la etilcelulosa usada como polímero de membrana por polímeros de carácter más hidrofílico que

puedan retener mejor y en mayor cantidad agua, aumentando así la eficiencia y estabilidad del sensor por las razones que antes hemos comentado. Para ello se sustituyó el polímero hidrófobo etilcelulosa [15] por el polímero hidrófilo hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) [16].

## 2. Preparación de las membranas sensoras

Para el estudio de este sensor de CO<sub>2</sub> mejorado se prepararon un conjunto de membranas conteniendo las diferentes alternativas a ensayar.

El sensor para CO<sub>2</sub> que hemos llamado de referencia que es el que se ha desarrollado en un trabajo previo del grupo de investigación. Se prepara sobre un soporte tipo Mylar que es ópticamente transparente y no luminiscente, utilizando dos membranas dispuestas en caras opuestas del soporte. Estas se fabrican a partir de dos disoluciones A y B conteniendo los reactivos necesarios y usando la técnica de spin-coating. La disolución A contiene octaetilporfirina de platino como luminóforo y polivinil-co-polivilideno (PVCD) como polímero de membrana disueltos ambos en tetrahidrofurano. El uso de este polímero impermeable a oxígeno es necesario para evitar la interferencia de este gas, pues atenúa la luminiscencia del complejo de platino.

La disolución B contiene el indicador de pH  $\alpha$ -naftoltaleína, el agente de transferencia de fase hidróxido de tetraoctilamonio TOAOH, el polímero hidrófobo etilcelulosa y tributilfosfato como plastificante, todos ellos disueltos en una mezcla tolueno/etanol.

A continuación, se describe la composición de los cócteles A y B empleados y la forma de preparación del sensor ya que nos sirven de punto de partida para desarrollar las estrategias de mejora propuesta.

Para preparar los cócteles iniciales se opera de la siguiente manera. Para el cóctel A se disuelven en un vial 100 mg de PVCD en 1 mL de THF recién destilado usando un baño de ultrasonidos y una vez totalmente disuelto se le añaden 0,5 mg de PtOEP.

Para el cóctel B se disuelven un vial de 4 mL, 64  $\mu$ L de tributilfosfato, 320  $\mu$ L de una disolución de 2,2 mg de  $\alpha$ -naftoltaleína en 2 mL de tolueno/etanol

80:20, v/v, 60 mg de EC previamente disuelta en 1 mL de tolueno y finalmente 200  $\mu$ L de TOAOH 0,335 M.

Para la preparación de las membranas se ha utilizado la técnica de spin-coating, depositando sobre un soporte tipo Mylar de 35 x12 mm [1] 20  $\mu$ L del cóctel A en una de las caras del mismo, dejándolo secar en el interior de un recipiente herméticamente cerrado en presencia de un vaso con el disolvente THF para asegurarnos de que la atmósfera en el interior del recipiente está saturada en el mismo lo que produce un secado lento de la membrana (Figura 3.5A).

Después en el mismo soporte de Mylar que tiene por una de las caras la membrana del cóctel A y con la misma técnica de spin-coating se depositan en la otra cara 25  $\mu$ l del cóctel B para preparar la membrana (Figura 3.5B). De esta manera se producirá un efecto de filtro interno al estar en contacto óptico esas membranas en presencia de  $\text{CO}_2$  lo que originará una variación en luminiscencia. No es factible preparar las dos membranas en la misma cara ya que se ha comprobado que al depositar el cóctel B sobre la membrana preparada de cóctel A se produce la disolución parcial de la misma mezclándose los reactivos y no respondiendo al gas.

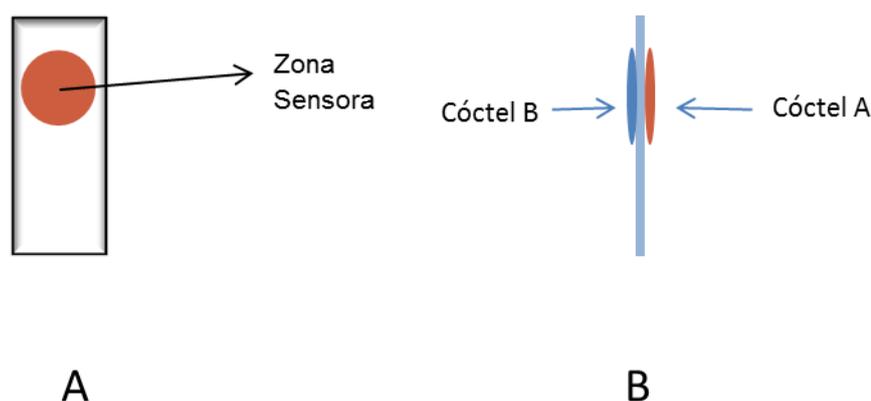


Figura 3.5. Membranas para  $\text{CO}_2$ . A: membrana preparada con el cóctel A; B: membranas tipo sándwich para  $\text{CO}_2$ .

## **2.1. Preparación de las nuevas membranas sensoras**

En esta Memoria se han preparado cuatro nuevos sensores de doble membrana, con la misma configuración de la Figura 3B. Para cada uno ellos se preparan en una cara la membrana luminiscente con el cóctel A conteniendo octaetil porfirina de platino, mientras que en la otra cara se prepara la membrana sensora a CO<sub>2</sub> habiéndose ensayado cuatro variantes del cóctel B denominadas B1, B2, B3 y B4.

## **2.2. Membrana sensora B1 con agente de transferencia de fase DBU**

En un vial de 4 ml se añaden 64 µl de TBP, 320 µl de una disolución de 2,2 mg α-naftoltaleína en 2 ml de tolueno/etanol 80:20 v/v, 60 mg de EC previamente disuelta en 1 ml de tolueno y 10,72 µl de DBU disueltos en 200 µl de metanol.

## **2.3. Membrana sensora B2 con agente de transferencia de fase TMA**

En un vial de 4 ml se añaden 64 µl de TBP, 320 µl de una disolución de 2,2 mg α-naftoltaleína en 2 ml de tolueno/etanol 80:20, v /v, luego 60 mg de etil celulosa previamente disuelta en 1 ml de tolueno y finalmente 12,1 mg de TMAOH disuelta en 200 µl de metanol.

### **2.3.1. Membrana sensora B3 con TMA y un polímero hidrofílico**

En un vial de 4 ml se adicionan 64 µL de TBP, 320 µL de solución de 2,2 mg de α-naftoltaleína en dioxano:metanol 80:20 v/v, 60 mg hidroxipropil metil celulosa (HPMC) previamente disuelta en dioxano al 65 %, 150 µL de metanol y finalmente 12,1 mg de TMAOH disueltos en 200 µL de metanol.

### **2.3.2. Membrana sensora B4 con TMA y un polímero hidrofílico en agua**

En un vial de 4 ml se adiciona 1ml de HPMC al 2% disuelto en agua, 320 µL de solución de 2,2 mg de α-naftoltaleína en 2 ml de etanol, 12,1 mg de TMAOH disuelto en 200 µL de metanol y finalmente 5 µL del surfactante Tween 20.

## **Conservación de las membranas.**

Las membranas se han preservado en todo momento en un recipiente cerrado en la oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial.

## 2.4. Metodología de medida de las nuevas membranas sensoras

Para el estudio de estas membranas se han registrado medidas de intensidad de fluorescencia  $I$  (a.u) en el espectrofluorímetro obteniéndose a longitudes de onda de excitación y emisión 525 y 650 nm respectivamente trabajando con rendijas (2,5:5).

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Optimización de los componentes de membrana

Como parámetro de optimización se utilizó la diferencia  $I_{100} - I_0$ , donde  $I_0$  e  $I_{100}$  representan las medidas de intensidad de fosforescencia del sensor expuesto a una atmósfera de 100 % de nitrógeno y al 100 % de  $\text{CO}_2$ , respectivamente, ya que se consideró el más apropiado para indicar la amplitud de variación de la señal de la membrana con la variación en la concentración del gas.

#### 3.1.1. Membrana sensora B1. Selección de la amina como agente de transferencia de fase.

Para evitar la progresiva pérdida de eficacia sensora por la degradación de Hoffman que sufre el agente básico TOAOH, se ensayaron otros agentes básicos como son las aminas antes señaladas. Para ello se probaron las siguientes aminas secundarias en diferentes proporciones en el cóctel como agentes básicos de transferencia de fase:

- N-Butilamina, ( $pK_a \sim 10,59$ ) [17] con cantidades comprendidas entre  $6,7 \cdot 10^{-5}$  moles (6,62  $\mu\text{l}$ ) y  $2,09 \cdot 10^{-3}$  moles (206,62  $\mu\text{l}$ ).
- Etanolamina, ( $pK_a \sim 9,50$ ) [17] con cantidades comprendidas entre  $6,7 \cdot 10^{-5}$  (4,43 $\mu\text{l}$ ) y  $1,32 \cdot 10^{-3}$  (80  $\mu\text{l}$ ).
- Piridina, ( $pK_a \sim 5,25$ ) [18] con cantidades comprendidas entre  $6,7 \cdot 10^{-5}$  moles (5,39  $\mu\text{l}$ ) y  $2,47 \cdot 10^{-4}$  moles (20  $\mu\text{l}$ ).
- 1,8-Diazabicyclo [5.4.0] undec-7-eno (DBU), ( $pK_a \sim 12$ ) [17] con cantidades comprendidas entre  $7,50 \cdot 10^{-5}$  y  $6,70 \cdot 10^{-5}$  moles.

Ninguna de las tres primeras bases ensayadas consiguió virar el indicador hacia su forma básica (azul intenso), probablemente debido a que la fortaleza

básica de estas aminas no sea suficiente como para actuar en el sistema tal como vemos por los valores de pKa arriba señalados. En conclusión, no fue posible el desarrollo de un sensor de CO<sub>2</sub> con dichas bases.

Con DBU sí se consiguió que virara el indicador hacia a su forma básica (azul intenso) por lo que se pudo preparar una membrana sensora a partir de los dos cócteles citados (A y B1).

A continuación, se muestra el estudio realizado para establecer la cantidad óptima de DBU a través de las medidas de parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ .

En la tabla 3.1 se recogen los resultados obtenidos con membranas que contienen cantidades variables de DBU tal como se muestra en la figura 3.6.

Tabla 3.1. Optimización de la cantidad de DBU en la membrana B1.

DBU (moles)	DBU ( $\mu$ l)	$I_{100}-I_0$
$6,70 \cdot 10^{-5}$	10,0	58,4
$7,04 \cdot 10^{-5}$	10,5	87,4
$7,17 \cdot 10^{-5}$	10,7	131,8
$7,37 \cdot 10^{-5}$	11,0	117,6
$7,50 \cdot 10^{-5}$	11,2	122,1
$7,71 \cdot 10^{-5}$	11,5	78,1

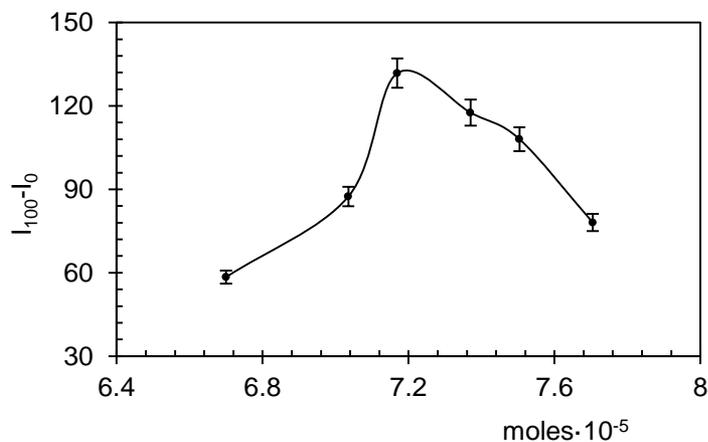


Fig. 3.6. Optimización del contenido en DBU en la membrana B1.

Como puede apreciarse en la tabla con  $7,17 \cdot 10^{-5}$  moles (10,72  $\mu$ l) de DBU se obtuvo el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  por lo que se seleccionó esta cantidad como adecuada.

### 3.1.2. Membrana sensora B2. Optimización de los componentes

Tras establecer que la presencia de TMAOH en la membrana si permite un viraje de la misma a la forma básica, se estudió la proporción óptima del agente en el coctel utilizando etilcelulosa como polímero de membrana.

Se prepararon 7 membranas conteniendo cantidades de TMAOH comprendidas entre  $6,36 \cdot 10^{-5}$  y  $7,70 \cdot 10^{-5}$  moles en el cóctel. Tras realizar las medidas oportunas se calculó la variación del parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$  que se recoge en la tabla 3.2. En la figura 3.7 se representa  $I_{100}-I_0$  en función de los moles de TMAOH que hay en cada membrana.

Tabla. 3.2. Optimización de la cantidad TMAOH en la membrana B2

TMAOH (moles)	$6,40 \cdot 10^{-5}$	$6,70 \cdot 10^{-5}$	$7,40 \cdot 10^{-5}$	$7,20 \cdot 10^{-5}$	$7,40 \cdot 10^{-5}$	$7,50 \cdot 10^{-5}$	$7,70 \cdot 10^{-5}$
$I_{100}-I_0$	56,7	212,4	115,7	91,4	97,3	84,5	65,3

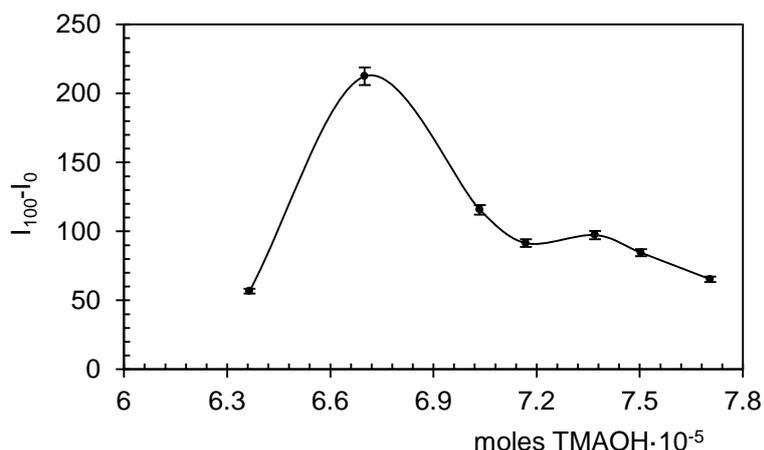


Fig. 3.7. Optimización del contenido de TMAOH en la membrana B2

Se observa que la cantidad óptima de TMAOH es del  $6,7 \cdot 10^{-5}$  moles. Esto corresponde a 12,1 mg de TMAOH añadidos al cóctel en un volumen de 1,52 ml originando un valor  $I_{100}-I_0 = 212,4$ .

### **3.1.3. Membrana sensora B3. Optimización de los componentes**

#### **Optimización del contenido en HPMC**

Se seleccionó el polímero hidrofílico hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) [16] para la preparación del sensor, pues en este material los grupos metilos presentes tienen carácter hidrofóbico mientras que los grupos hidroxipropilo son más hidrofílicos de ahí su empleo en muchos ámbitos de la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, en pinturas, etc., por su capacidad de reducir la pérdida de agua al retenerla mejor y ser permeable a gases [16].

Para optimizar su concentración en el cóctel, se realizó en primer lugar un estudio de la solubilidad del HPMC en diferentes disolventes de distinta polaridad [19]. Los disolventes ensayados fueron: etanol, metanol, dioxano y agua debido a que son los que muestran mejor parámetro de solubilidad. De todos ellos, los que originaron mejores resultados fueron dioxano y agua.

Se estudió dioxano en primer lugar y para establecer la concentración adecuada de polímero en el disolvente para preparar membranas se ensayaron varias concentraciones: 55, 60, 65, 70 y 75 mg/ml de HPMC.

Tras mantener agitando durante 24 horas en el agitador vibratorio y luego una hora en otro rotatorio a la máxima velocidad (900 rpm) se prepararon membranas con cada una de las anteriores disoluciones de HPMC/dioxano, comprobando que la que presentaba mejores propiedades físicas, homogeneidad y transparencia fue la membrana preparada con la disolución de HPMC/dioxano de 65 mg/ml. Con el resto de proporciones quedaban partículas de HPMC en suspensión, resultando membranas semiopacas que no daban buenas señales al medir en el espectrofluorímetro.

#### **Optimización de la cantidad del indicador de pH ( $\alpha$ -naftoltaleína)**

Se probaron a disolver 2,2 mg de indicador en distintas proporciones de dioxano/metanol, comprobándose que la mezcla adecuada para disolverlo antes de añadirlo al cóctel, fue de dioxano/metanol 80:20, v/v. Disuelto en otras proporciones, provocaba la precipitación del HPMC al añadirlo al cóctel, tanto en relaciones dioxano/metanol mayores como menores.

### **Optimización de la concentración de TMAOH**

Una vez optimizados los diferentes componentes del cóctel se estudió la influencia sobre la respuesta de la cantidad de TMAOH presente entre  $6,36 \cdot 10^{-5}$  y  $7,71 \cdot 10^{-5}$  moles.

Del mismo modo que en el sensor anterior la cantidad óptima de base con la que se obtuvo un mayor valor de  $I_{100}-I_0$ , fue de  $6,70 \cdot 10^{-5}$  moles (12,1 mg) tal como muestra la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Optimización del contenido de TMAOH en la membrana B3

<b>TMAOH (moles)</b>	<b><math>I_{100}-I_0</math></b>
$6,40 \cdot 10^{-5}$	46,7
$6,70 \cdot 10^{-5}$	124,2
$7,04 \cdot 10^{-5}$	110,5
$7,17 \cdot 10^{-5}$	90,4
$7,37 \cdot 10^{-5}$	93,3
$7,50 \cdot 10^{-5}$	74,4
$7,71 \cdot 10^{-5}$	55,1

#### **3.1.4. Membrana sensora B4. Optimización de los componentes**

##### **Optimización de la proporción de HPMC**

Se ensayaron disoluciones con diferente concentración de HPMC en agua; en concreto: 1%, 2%, 4% y 5%. Tras preparar las membranas con cada una de las disoluciones de HPMC, se comprobó que la disolución al 2% era la mínima concentración para que se formase membrana con propiedades adecuadas y buena respuesta a  $\text{CO}_2$  [15]. Con concentraciones de HPMC superiores al 2% las membranas no respondían a las variaciones de  $\text{CO}_2$  pues al aumentar el grosor de membrana disminuía la permeabilidad a los gases. Por otra parte, concentraciones de HPMC inferiores al 2%, no permitían la formación de membrana.

### **Optimización de TMAOH**

Con el polímero de membrana ya optimizado, se ensayaron distintas cantidades de TMAOH: de  $6,36 \cdot 10^{-5}$  a  $7,705 \cdot 10^{-5}$  moles. La cantidad que originó el mayor valor de  $I_{100}-I_0$ , fue la de  $6,70 \cdot 10^{-5}$  moles (12,1 mg), añadidos al cóctel (Tabla 3.4).

Tabla 3.4. Optimización del contenido de TMAOH en la membrana B3

<b>TMAOH (moles)</b>	<b><math>I_{100}-I_0</math></b>
$6,37 \cdot 10^{-5}$	86,7
$6,70 \cdot 10^{-5}$	280,0
$7,04 \cdot 10^{-5}$	200,5
$7,17 \cdot 10^{-5}$	150,4
$7,37 \cdot 10^{-5}$	100,3
$7,50 \cdot 10^{-5}$	95,5
$7,71 \cdot 10^{-5}$	75,3

Una vez preparadas estas membranas se comprobó que no respondían a concentraciones bajas de  $\text{CO}_2$ , de modo que se pensó en añadir surfactantes al objeto de facilitar la penetración del  $\text{CO}_2$  en la membrana. Esto se debe a que el surfactante reduce la tensión superficial y facilita la penetración del gas debido a la formación de dispersiones estables que aumentan la eficacia sensora [20]. También se probaron plastificantes para base agua que dan lugar a dispersiones producidas por repulsiones electrostáticas o repulsiones inducidas por impedimento estérico provocado por las propias cadenas apolares de las moléculas del plastificante.

Como surfactantes se ensayaron un gran número de ellos siendo seleccionados los siguientes al ser compatibles con los componentes de la membrana:

1. Tween 20: surfactante no iónico, químicamente es un monolaurato de polioxietileno (20) sorbitano y es muy utilizado como detergente y emulsionante

por su estabilidad y relativa ausencia de toxicidad en numerosas aplicaciones domésticas, científicas, alimentarias, industriales y farmacológicas.

2. Brij 35: surfactante no iónico, químicamente es un éter polioxietilénico laurico. Presenta menor tensión superficial que el agua. Muy usado en inmunoensayos para la dilución de anticuerpos y reducir respuestas inespecíficas.
3. Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB): es un agente tensioactivo catiónico. Entre sus usos se encuentra la extracción de ADN como solución tamponante y como agente antiséptico efectivo contra bacterias y hongos.
4. MELFLUX 2651: Se encuentra en la categoría de superplastificantes muy utilizados como aditivos de hormigones. Se emplean para conferir al hormigón fresco, sin modificar la consistencia, un mejor comportamiento en cuanto a trabajabilidad y bombeabilidad, reduciendo la cantidad de agua de amasado y también mejoran significativamente la resistencia y la durabilidad del hormigón final. Bajo el punto de vista químico hay tres grupos principales: a) lignosulfonatos que son la primera generación de aditivos plastificantes para el hormigón permitiendo una reducción de agua en torno al 10%; b) naftalen sulfonatos y melamina sulfonatos, son plastificantes de segunda generación. Proporcionan una mayor reducción de agua comparados con los lignosulfonatos, pudiendo llegar hasta un 25%; c) los policarboxilatos pertenecen a la última generación de superplastificantes. Se basan en copolímeros de ácido acrílico y ésteres de estos ácidos, habitualmente denominados policarboxilatos modificados. El tipo de cadena lateral los hace mucho más específicos para aplicaciones concretas. Los plastificantes de tercera generación actúan en base a una repulsión estérica más que una electroestática. Uno de los efectos principales aquí es el impedimento estérico, que impide o retarda una reacción con otra molécula: impide la aglomeración de partículas [21]. Con este tipo de aditivos se pueden lograr reducciones de agua de hasta el 40%. Todas estas características ofrecen nuevas aplicaciones y usos en otros ámbitos como es el caso concreto que se está estudiando. El aquí seleccionado Melflux 2651 es un éter policarboxílico con cadenas laterales tipo polietilenglicol.

5. MightyPSD: Es otro superplastificante de última generación. Es un copolímero de derivados del ácido isopoliacrílico de tipo policarboxilato éter.

Para seleccionar el surfactante más adecuado se prepararon membranas con distintas proporciones de surfactante añadidas al cóctel. Para ello, se partió de la concentración micelar crítica (CMC) y se ensayaron cantidades por encima y por debajo de la misma. Para los plastificantes se ensayaron cantidades según especificaciones técnicas en peso al ser sólidos.

A continuación, se midió el parámetro de optimización ( $I_{100} - I_0$ ) lo que se recoge en la Tabla 3.5.

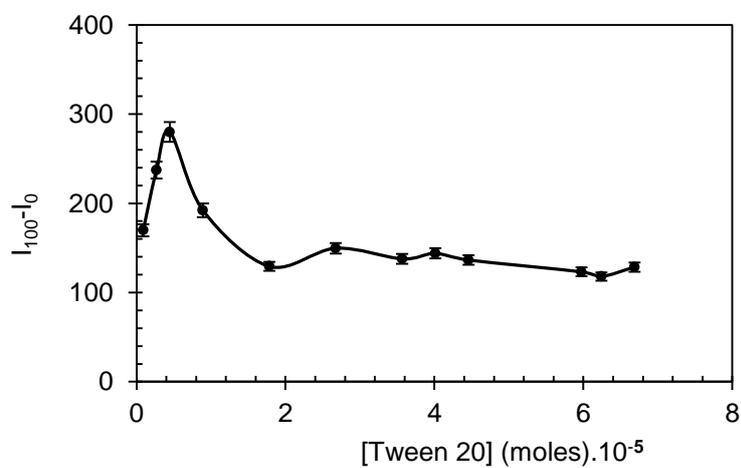
El que presentó mejores valores del parámetro de optimización fue el Tween 20, por lo que se escogió como mejor elección. A continuación, se ensayaron cantidades de Tween 20 entre  $0,089 \cdot 10^{-5}$  y  $6,688 \cdot 10^{-5}$  moles. Los resultados obtenidos se recogen en la Tabla 3.6 y en la Figura 3.8.

Tabla 3.5. Optimización del tipo y concentración de surfactante.

Surfactante	Cantidad ensayada	$I_{100} - I_0$
Twen 20 ( $\mu$ l)	1	169,8
	3	237,3
	5	280,0
	10	192,2
	20	129,4
	30	149,7
	40	137,9
	45	144,0
	50	136,4
	67	123,2
	70	117,9
	75	128,5
Highty PSD (mg)	7	59,9
	9	83,7
	10	69,7
Melflux 2651F (mg)	1	71,8
	2,5	87,3
	3,5	74,6
CTAB (mg)	0,3	79,8
	0,4	76,2
	0,4	91,0
Brig 35 (mg)	0,1	114,5
	2	67,2
	5	120,8

**Tabla 3.6. Optimización de la cantidad de Tween 20 en la membrana B4.**

Tween 20 (mol·10 <sup>-5</sup> )	Tween 20 (μl)	I <sub>100</sub> - I <sub>0</sub>
0,089	1	169,8
0,268	3	237,3
0,446	5	247,2
0,892	10	192,2
1,780	20	129,4
2,68	30	149,7
3,57	40	137,8
4,01	45	144,0
4,46	50	136,4
5,98	67	123,2
6,24	70	117,9
6,69	75	128,5



**Fig. 3.8. Optimización de la cantidad de Tween 20 en la membrana B4.**

**Curado de las membranas**

Se ha comprobado que las membranas de algunos sensores, recién preparadas responden mal a bajas concentraciones de CO<sub>2</sub>.

Para ello se ha llevado a cabo un estudio de curado utilizando como parámetro de medida el valor  $I_{100}-I_0$ , de modo que cuando este valor alcanza su valor máximo valor y se estabilizan las medidas, es cuando se considera que el sensor está en las condiciones óptimas para ser usado.

Por ello se dejan curar las membranas, tres réplicas de cada una, durante un determinado número de días, manteniéndolas simplemente en la oscuridad antes de su uso ya que a partir de este periodo la señal es estable y constante.

- **Estudio del curado de la membrana B1:**

En la tabla 3.7 y figura 3.9 quedan recogidos los días de estudio de tiempo de curado para esta membrana.

Tabla 3.7. Tiempo de curado de membrana B1

T (días)	$I_{100}-I_0$
0	102
1	90
2	103,5
3	128,3
4	131,8

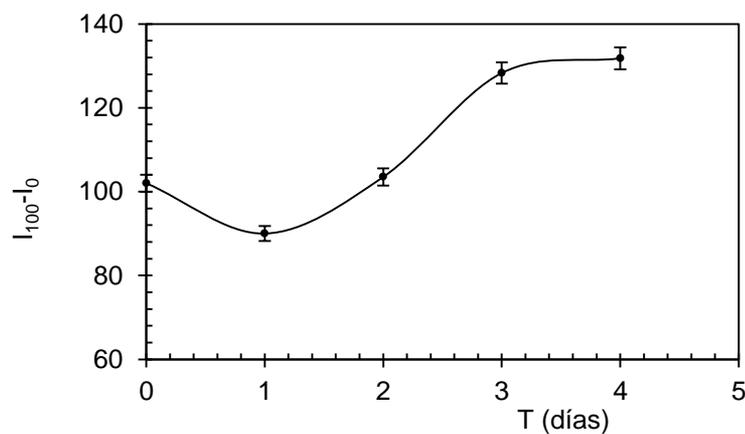


Figura 3.9. Tiempo de curado para membranas B1

A la vista de los resultados es tiempo de curado para estas membranas es de 3 días, ya que a partir de aquí se estabilizan las medidas.

- **Estudio del curado de la membrana B2:**

En la tabla 3.8 y figura 3.10 quedan recogidos los días de estudio de tiempo de curado para esta membrana.

Tabla 3.8. Tiempo de curado de membrana B2

T (días)	$I_{100}-I_0$
0	130
1	170,3
2	199,15
3	212,4
4	212,3

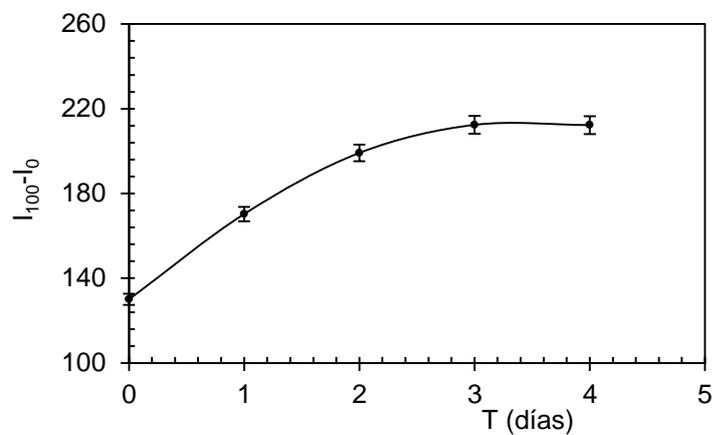


Figura 3.10. Tiempo de curado para membranas B2

Como se puede apreciar en la tabla y en las gráficas el tiempo de curado para estas membranas sería de 3 días, que es el tiempo a partir del cual se estabilizan las medidas.

**- Estudio del curado de la membrana B3:**

En la tabla 3.9 y figura 3.11 quedan recogidos los días de estudio de tiempo de curado para esta membrana.

Tabla 3.9. Tiempo de curado de membrana B3

T (días)	$I_{100}-I_0$
0	124,2
2	123,9
3	122,8
5	121,5

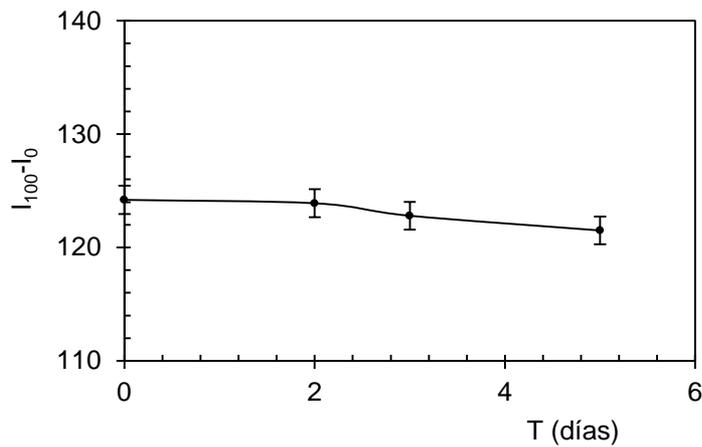


Figura 3.11. Tiempo de curado para membranas B3

Tanto en la tabla como en la figura se observa que desde los días 0 a 5, las medidas son constantes, con lo cual estas membranas no necesitan un tiempo de curado.

**- Estudio del curado de la membrana B4:**

En la tabla 3.10 y figura 3.12 quedan recogidos los días de estudio de tiempo de curado para esta membrana.

Tabla 3.10. Tiempo de curado de membrana B4

T (días)	$I_{100}-I_0$
0	124,5
2	130,9
3	150,7
4	167,7
7	166,9

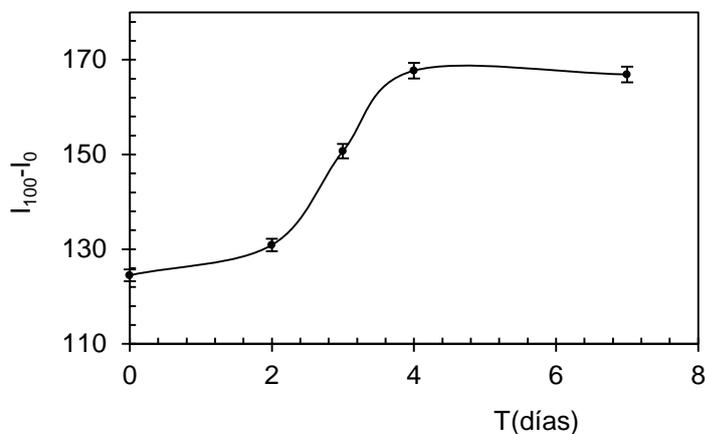


Figura 3.12. Tiempo de curado para membranas B4.

Como se puede apreciar en la tabla y en la gráfica el tiempo de curado para estas membranas sería de 4 días, que es el tiempo a partir del cual se estabilizan las medidas.

### 3.2. Respuesta de las membranas sensoras a CO<sub>2</sub>

Para estudiar la respuesta de cada membrana se ha utilizado la función respuesta obtenida al representar frente a concentraciones conocidas de CO<sub>2</sub>  $I/I_{100}$  siendo  $I$  la intensidad de fosforescencia medida a una concentración de CO<sub>2</sub> conocida e  $I_{100}$  la intensidad de fosforescencia a 100% de CO<sub>2</sub>. Esta función de respuesta se puede linealizar de acuerdo con la ecuación propuesta por Nakurama y Amao [22] que utilizaremos como función de calibrado.

Las medidas de intensidad de fosforescencia en el espectrofluorímetro se han obtenido a longitudes de onda de excitación y emisión de 525 y 650 nm, respectivamente.

### 3.3. Calibración del sensor de membrana B1

Se ha establecido la recta de calibrado desde 0% al 100% de CO<sub>2</sub> para las diferentes cantidades de DBU en membrana ensayadas. En la tabla 3.11 se recogen los resultados obtenidos en valor de pendiente, ordenada en el origen y ajuste.

Tabla 3.11. Valores del calibrado para distintas membranas con diferentes cantidades de DBU.

DBU (μl)	10,0	10,5	10,7	11,0	11,2	11,5
$I_{100} - I_0$	58,4 ± 0,9	87,4 ± 1,1	131,8 ± 1,2	117,6 ± 1,2	122,1 ± 1,2	78,1 ± 1,0
Pendiente	4,1 ± 0,001	8,3 ± 0,006	1,5 ± 0,009	3,1 ± 0,009	1,3 ± 0,008	1,06 ± 0,007
O.O.	5,05 ± 0,009	2,60 ± 0,009	1,15 ± 0,009	2,30 ± 0,009	2,80 ± 0,200	3,60 ± 0,200
R <sup>2</sup>	0,9497	0,9479	0,9967	0,9985	0,9883	0,9407

A la vista de los resultados la cantidad de DBU que origina mayor valor de  $I_{100} - I_0$  es la de 10,7 μl ( $7,17 \cdot 10^{-5}$  moles) en concordancia con los valores encontrados en Tabla 1 por lo que es elegida como cantidad óptima, así como un buen valor de pendiente, hay que recordar que cuanto más pequeña sea hay mayor sensibilidad, y un buen ajuste (99,99%).

En la figura 3.13 se representa la respuesta de la membrana conteniendo la cantidad de DBU seleccionada como óptima en el rango de medidas de 0-100% de CO<sub>2</sub>. Se trata de una curva con un rango dinámico entre el 0% y el 20% de CO<sub>2</sub>. A partir de esa concentración, la membrana se satura y por lo tanto se independiza la señal de la concentración de gas.

Así como en la figura 3.14 se muestra la linealización de la respuesta del sensor presentando un buen ajuste ( $R^2 = 0,9967$ ).

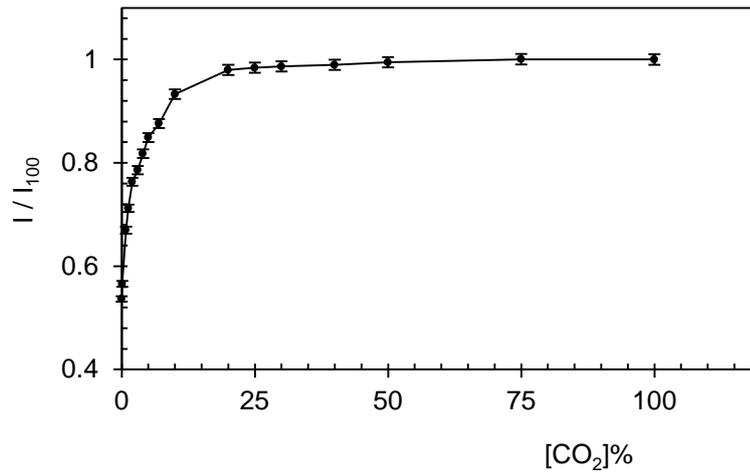


Figura 3.13. Curva de respuesta del sensor de membrana B1.

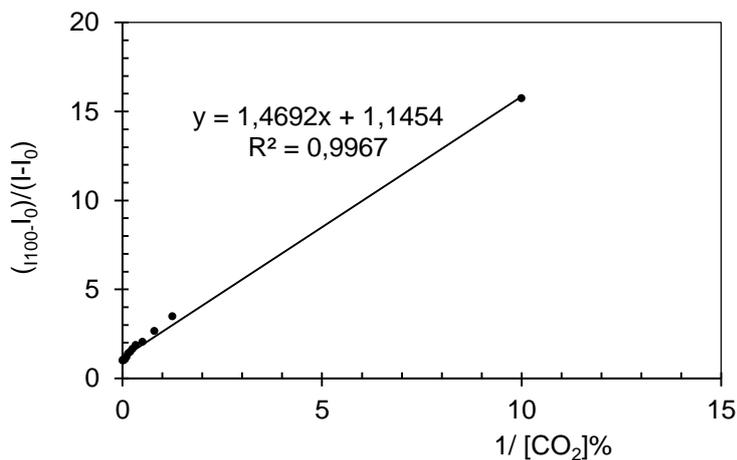


Figura 3.14. Función de calibrado del sensor de membrana B1.

### 3.3.1. Calibración del sensor de membrana B2.

A partir del estudio de los sensores B2 con distintas cantidades de TMAOH se han calculado los parámetros de calibrado que se recogen en la tabla 3.12. Se prepararon las membranas según el protocolo registrándose los valores de intensidad de fosforescencia a concentraciones de CO<sub>2</sub> entre 0% -100%.

En la figura 3.15 se presenta la curva de respuesta de la membrana con el mejor valor del parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$  (212,4), que es la que contiene  $6,7 \cdot 10^{-5}$  moles añadidos al cóctel. La pendiente de la membrana optimizada, como se puede ver en esta tabla 9, es menor que para el resto de las

membranas con otras concentraciones de TMAOH, lo que nos indica también una mayor sensibilidad a CO<sub>2</sub> con un ajuste suficientemente bueno.

Tabla 3.12. Funciones de calibrado de las membranas con diferentes proporciones de TMAOH/EC.

TMAOH (moles·10 <sup>-5</sup> )	I <sub>100</sub> - I <sub>0</sub>	Pendiente	O. O.	R <sup>2</sup>
6,37	56,7 ± 0,9	4,16 ± 0,020	4,9 ± 0,194	0,946
6,70	212 ± 1,5	0,501 ± 0,008	1,0 ± 0,100	0,9623
7,35	116 ± 1,2	1,984 ± 0,009	2,3 ± 0,101	0,9937
7,17	91 ± 1,1	1,670 ± 0,009	2,4 ± 0,102	0,9924
7,37	97 ± 1,3	0,991± 0,006	3,0 ± 0,007	0,9723
7,50	84 ± 1,0	1,023 ± 0,007	2,5 ± 0,100	0,9915
7,71	65 ± 1,0	0,614 ± 0,005	1,0 ± 0,040	0,9895

Se trata de una curva con rango dinámico entre 0% y 15% de CO<sub>2</sub>. Se observa que a partir de la última concentración la membrana se satura y se estabilizan las medidas.

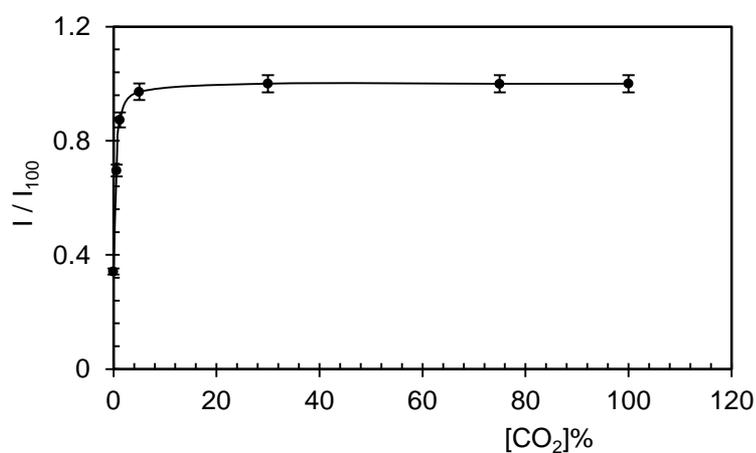


Figura 3.15 Curva de respuesta del sensor B2.

La linealización de la respuesta del sensor se obtiene según la ecuación 2, quedando representada en la figura 3.16, recogiendo los parámetros analíticos en la tabla 3.13.

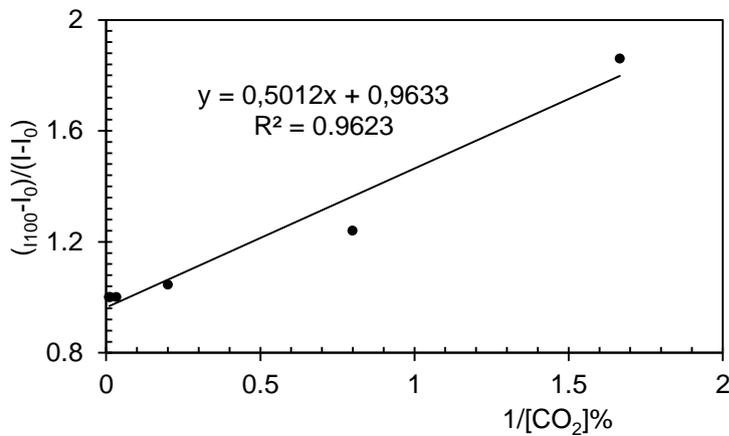


Figura 3.16. Linealización la respuesta del sensor B2.

Tabla 3.13. Parámetros analíticos de calibración del sensor B2.

Parámetros analíticos	Resultados
$I_{100} - I_0$	212,4
Pendiente	$0,5 \pm 0,008$
O. O.	$1,0 \pm 0,1$
$R^2$	0,9623

### 3.3.2. Calibración del sensor de membrana B3.

En la figura 3.17 se representa la respuesta de la membrana optimizada midiendo la intensidad de fosforescencia en el rango 0-100% de  $CO_2$ . Se trata de una curva con un rango dinámico entre el 0-30% aproximadamente.

En la figura 3.18 se puede ver la correspondiente linealización de la respuesta del sensor, según ecuación 2, con un buen ajuste, así como en la tabla 3.14 se recogen los parámetros analíticos de calibración del sensor.

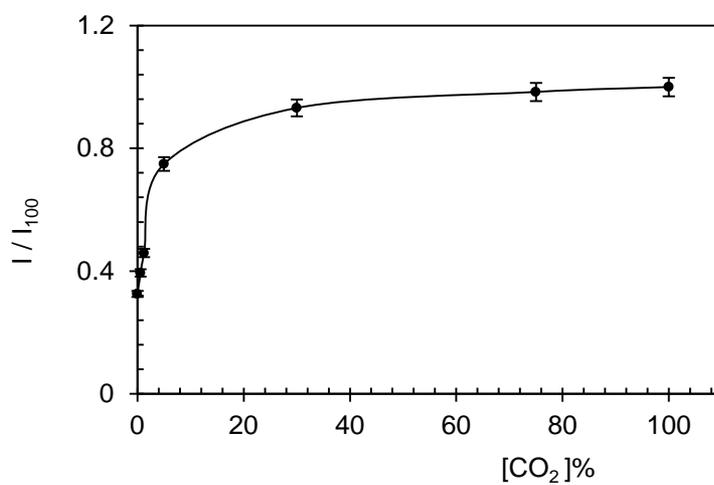


Figura 3.17. Curva de respuesta del sensor B3.

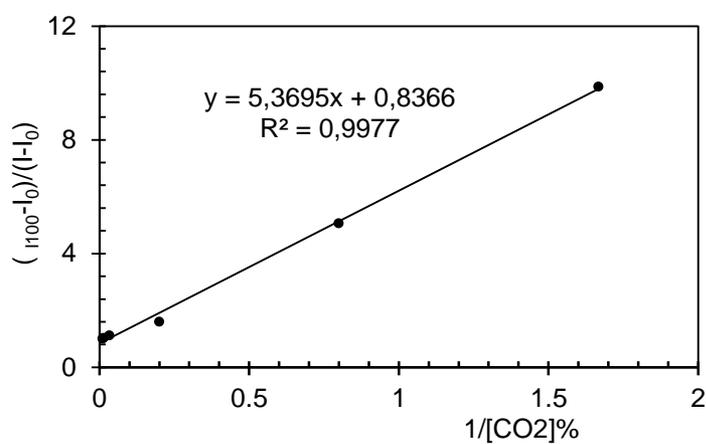


Figura 3.18 Linealización de la respuesta del sensor B3.

Tabla 3.14. Parámetros analíticos de calibración del sensor B3.

Parámetros analíticos	Resultados
$I_{100} - I_0$	124,2
Pendiente	$5,37 \pm 0,02$
O. O.	$0,8 \pm 0,1$
$R^2$	0,9977

### 3.3.3. Calibración del sensor de membrana B4.

En la figura 3.19 se muestra la respuesta de la membrana optimizada. Dicha respuesta muestra un rango dinámico hasta el 35% de CO<sub>2</sub> aproximadamente. A partir del 35% la membrana se satura y se estabiliza la señal.

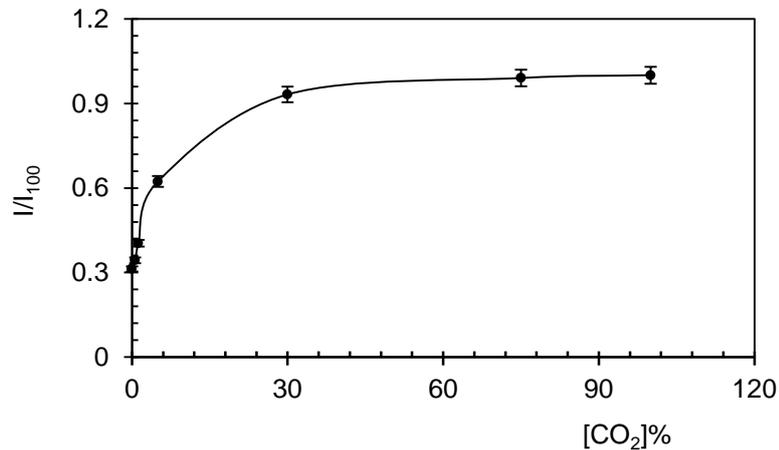


Figura 3.19. Curva de respuesta del sensor B4.

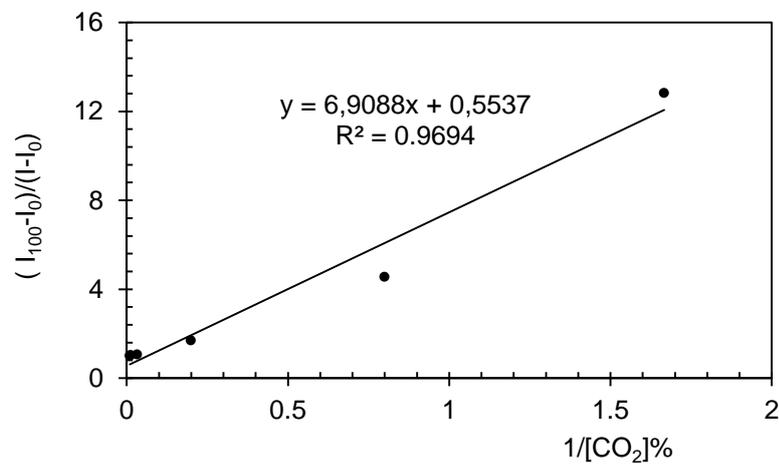


Figura 3.20. Linealización la respuesta del sensor B4.

En la figura 3.20 se muestra la linealización de la respuesta del sensor, de cuyos datos se han calculado los parámetros correspondientes recogidos en la tabla 3.15.

Tabla 3.15. Parámetros de calibrado del sensor B4.

Membrana optimizada	Resultados
$I_{100} - I_0$	$280 \pm 2,0$
Pendiente	$6,91 \pm 0,04$
O.O.	$0,55 \pm 0,09$
$R^2$	0,9694

### 3.4. Caracterización analítica de las membranas sensoras.

Para la caracterización analítica de los sensores se han elegido los parámetros analíticos calculados a partir de los resultados obtenidos según el método analítico aplicado y que confieren a los sensores atributos como: sensibilidad, precisión, cuantificación, respuesta e intervalo de detección.

A continuación, se describen los parámetros analíticos elegidos y obtenidos para cada una de las membranas: función de calibrado, límites de detección y cuantificación, precisión, tiempos de vida y de recuperación y tiempo de respuesta.

La función de calibrado fue estudiada en la sección anterior donde se mostró que la respuesta para estos sensores tiende asintóticamente a un valor constante y se puede linealizar según la ecuación de Nakamura y Amao donde  $(I_{100} - I_0)/(I - I_0)$  es función lineal de  $1/[\text{CO}_2]\%$ .

Para determinar la menor concentración de  $\text{CO}_2$  que puede ser detectada en una atmósfera, se calculó el límite de detección, el cual se obtuvo a partir de datos experimentales brutos exponenciales utilizando los tres o cuatro puntos primeros puntos obtenidos con baja concentración de  $\text{CO}_2$  porque pueden ser ajustados a una línea recta aplicando la ecuación 3.1 [23] [24] tal y como se indicó en el Capítulo 2:

$$LQ = I_0 + 3 \cdot S_0 \quad (\text{Ec. 3.1})$$

Donde  $I_0$  es el promedio de los puntos de la señal del blanco y  $S_0$  es la desviación estándar de ocho medidas de blanco en atmósfera de nitrógeno y 3 es un factor que supone un nivel de confianza del 99,86 %.

Para determinar la menor concentración de  $CO_2$  que puede ser cuantificada con adecuada precisión y exactitud en una atmósfera, se calculó el límite de cuantificación, obtenido mediante la ecuación 3.2:

$$LQ = I_0 + 10 \cdot S_0 \quad (\text{Ec. 3.2})$$

donde como antes,  $S_0$  es la desviación estándar de 8 medidas del blanco en atmósfera de nitrógeno y el factor 10 supone un nivel de confianza del 99,86 %.

A partir de los límites de detección y de cuantificación se pueden definir el intervalo de detección como la diferencia entre ambas concentraciones y el intervalo de cuantificación del método que es la diferencia entre el límite de cuantificación y la concentración máxima del intervalo dinámico del sensor.

La precisión fue evaluada estudiando la precisión intra-día (repetibilidad) ya que luego se estudia el tiempo de vida de 3 membranas. La repetibilidad fue calculada mediante el análisis de 15 muestras de gas estándar preparadas a la misma concentración, el mismo día y bajo las mismas condiciones experimentales. Dicha repetibilidad es expresadas como la DER (%) de las concentraciones calculadas a partir de las señales analíticas obtenidas usando la función de calibrado antes comentada. La evaluación de la repetibilidad fue establecida para dos concentraciones diferentes: 0,6 % y 16,7 % de  $CO_2$ , respectivamente.

Los tiempos de respuesta y recuperación se obtienen midiendo la luminiscencia de la membrana para atmósferas alternantes desde concentración 0 % de  $CO_2$  a 100 % en ciclos consecutivos durante 2000 s. A partir de estos datos se han calculado los valores de tiempos de respuesta y recuperación para atmósferas que oscilan entre el 10% y el 90% de  $CO_2$  y desde el 90 % al 10% de  $CO_2$ , respectivamente.

Para medir el tiempo de vida se prepararon un conjunto de membranas que se almacenaron en oscuridad y sin ninguna atmosfera especial durante un tiempo que fue variable en función de la respuesta  $I_{100} - I_0$  que se observaba. Se llegó a medir hasta a 600 días. El empleo de un diagrama Schwartz según figura 3.21, nos permite establecer el tiempo de vida de la membrana. Se define el tiempo de vida T1 como el tiempo en que la respuesta del sensor no sobrepasa el nivel de alarma y el tiempo de vida T2 como el tiempo en el que el sensor responde a CO<sub>2</sub>, esto es, origina valores diferentes de cero, aunque para su uso haya que volver a calibrar.

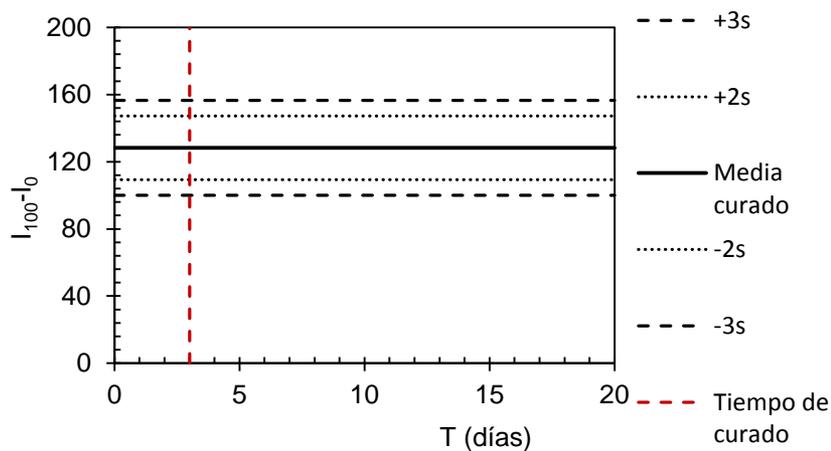


Figura 3.21. Diagrama Schwartz.

Dentro de este diagrama se representan los valores de  $I_{100} - I_0$  a lo largo del tiempo. La línea horizontal negra (\_\_\_\_) representa el valor promedio de  $I_{100} - I_0$ , una vez curadas las membranas. Las dos líneas ( \_ \_ \_ ) +3s y -3s representan el valor promedio de las medidas una vez curadas las membranas más 3 veces la desviación estándar y menos 3 veces la desviación estándar de esas medidas, respectivamente. Las dos líneas (.....) +2s y -2s representan el valor promedio de las medidas una vez curadas las membranas más 2 veces la desviación estándar y menos 2 veces la desviación estándar de esas medidas, respectivamente. Por su parte, la vertical línea discontinua roja, nos marca el tiempo al cual termina el curado de las membranas y a partir del que se va a comienza a contar el tiempo de vida de las membranas.

Estas son líneas de control de los valores, de modo que cuando los valores medidos salen fuera de ellas podemos decir que han sobrepasado el nivel alarma y por lo tanto el sensor va a necesitar un recalibrado.

### 3.4.1. Caracterización analítica del sensor B1

La precisión obtenida en términos de desviación estándar fue de 0,59 para una concentración del 0,60% de CO<sub>2</sub> y 0,39 para una concentración de 16,70 % CO<sub>2</sub>.

El LOD es de 0,04 %, que es del orden de la concentración de CO<sub>2</sub> en la atmosfera (0,0387%) y el límite de cuantificación de 0,5 %.

Los tiempos de recuperación y respuesta del sensor B1 se pueden calcular a partir de los datos experimentales mostrados en la figura 3.22.

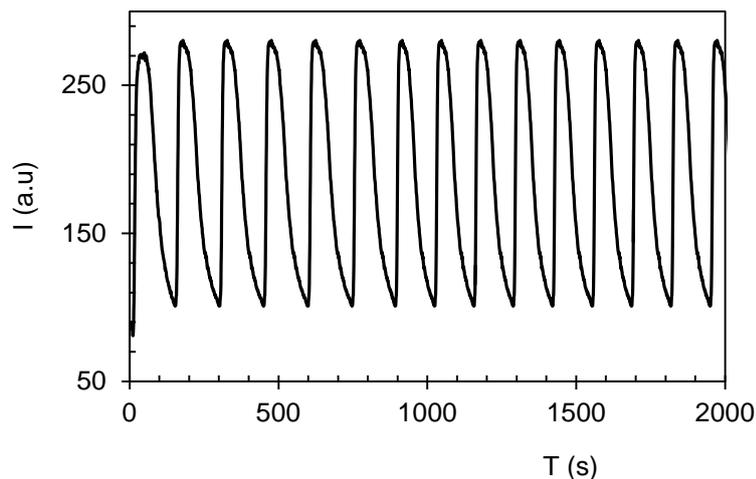


Figura 3.22. Tiempos de recuperación y respuesta del sensor B1.

En este caso obtenemos un tiempo de respuesta de 24 s, para  $t_{0 \rightarrow 100}^{\downarrow}$  y un tiempo de recuperación de 106 s, para  $t_{100 \rightarrow 0}^{\uparrow}$ . Si se calcula para la variación 10 a 90% y 90 a 10%, se obtiene para el tiempo de respuesta un valor de 19,3 s para  $t_{10 \rightarrow 90}^{\downarrow}$  y para el de recuperación 85,3 s para  $t_{90 \rightarrow 10}^{\downarrow}$ .

Las membranas de este sensor fueron preservadas en todo momento en recipiente cerrado y sin ningún tipo de atmósfera especial. Mejora añadida sobre

el sensor referencia que necesitaba una atmosfera húmeda para su conservación.

Los valores de tiempo de vida del sensor B1 se pueden calcular a partir de los datos mostrados en la tabla 3.12 y en la figura 3.17. En ellos se comprueba que los primeros días el sensor muestra menores respuestas que se estabilizan llegado el tercer día, razón por la cual se consideró que el tiempo de curado es de tres días. A partir de ese momento es cuando se estudia el tiempo de vida (tabla 3.16 y figura 3.23).

Tabla 3.16. Tiempo de vida del sensor B1.

T (días)	$I_{100-I_0}$
0	102,0
1	90,0
2	103,5
3	128,3
4	131,8
6	120,6
7	100,7
8	90,6
10	70,2
14	20,2
16	8,7
20	0

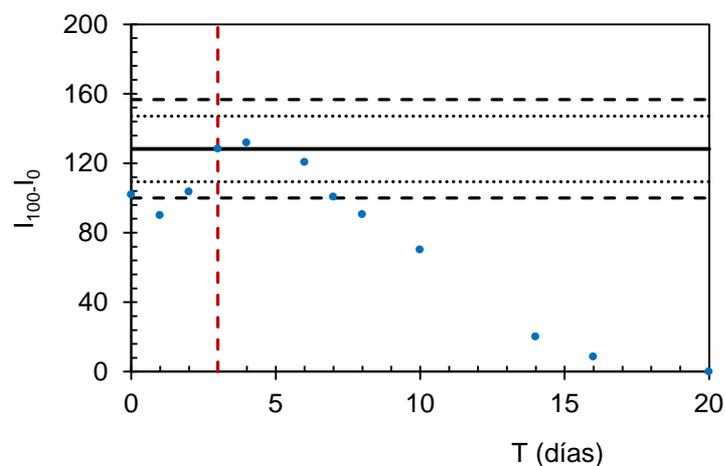


Figura 3.23. Evolución de la respuesta del sensor B1 con el tiempo.

En la figura 3.23 se representan los valores de la señal del sensor a lo largo del tiempo. El tiempo de vida T1 de la membrana es de 4 días contados desde el tercer día de curado. A partir del cuarto día el valor  $I_{100}-I_0$  se sale de la línea de control (3s) y disminuye hasta el día 20 a partir del que ya no responde a CO<sub>2</sub>. Por tanto, consideramos que el tiempo de vida T2 es de 17 días. Esto puede deberse a que la DBU es un líquido con un punto de ebullición no demasiado alto (80-83°C), con lo cual se va volatilizando lentamente y de ahí la pérdida de la eficacia sensora de la membrana.

En la tabla 3.17 se recogen los parámetros analíticos de caracterización de la membrana preparada B1 conteniendo DBU.

Tabla 3.17. Parámetros analíticos del sensor B1.

Parámetros analíticos	Valores
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	20
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,04
LDQ (%CO <sub>2</sub> )	0,5
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,04-0,5
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,5-20
Precisión (DER; n = 15) al 0,60 % CO <sub>2</sub>	0,59
Precisión (DER; n = 15) al 16,70 % CO <sub>2</sub>	0,39
Tiempo de respuesta ( $t_{10-90}$ )(s)	19,3 ± 0,6
Tiempo de recuperación ( $t_{90-10}$ )(s)	85 ± 1
Tiempo de vida T1 (días)	4
Tiempo de vida T2 (días)	17
Almacenamiento	En la oscuridad

### 3.4.2. Caracterización analítica del sensor B2.

La precisión obtenida en términos de desviación estándar fue de 0,34 para una concentración del 0,60% de CO<sub>2</sub> y 0,23 para una concentración de 16,70 % CO<sub>2</sub>. Valores mejores que los mostrados por la membrana B1.

El límite de detección calculado es de 0,007 %, muy por debajo de la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico que es del 0,0387%. El límite de cuantificación es de 0,21 %, estando muy por debajo del valor del sensor de referencia que es de 5,9 %.

Los ciclos de tiempo de recuperación y respuesta del sensor B2 se muestran en la figura 3.24 a partir de la cual fue calculado el tiempo de respuesta de 35 s, para  $t_{0 \rightarrow 100}^{\downarrow}$  y un tiempo de recuperación de 110 s para  $t_{100 \rightarrow 0}^{\uparrow}$ . Para la variación 10 a 90% y 90 a 10%, se obtiene para el tiempo de respuesta un valor de 28,0 s para  $t_{10 \rightarrow 90}^{\downarrow}$  y para el de recuperación 88 s para  $t_{90 \rightarrow 10}^{\downarrow}$ .

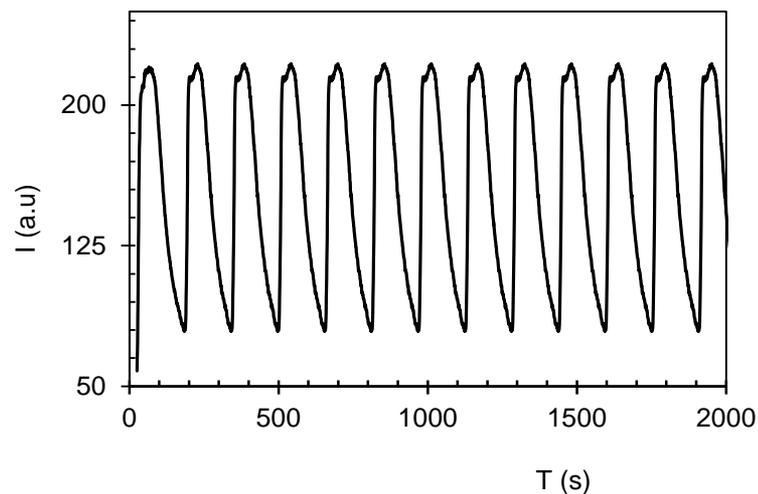


Figura 3.24. Tiempo de recuperación y respuesta del sensor B2.

Como en el caso anterior las membranas de este sensor fueron preservadas en todo momento en recipiente cerrado y sin ningún tipo de atmósfera especial.

Los valores obtenidos del estudio del tiempo de vida del sensor B2 se recogen en la tabla 3.18 y observando la evolución a lo largo del tiempo en las figuras 3.25 y 3.26.

Tabla 3.18. Seguimiento del tiempo de vida del sensor B2.

T(días)	$I_{100}-I_0$
0	130,0
1	170,3
2	199,2
3	212,4
4	212,3
6	210,5
7	200,3
9	193,4
14	183,2
48	170,3
70	150,0
78	110,6
180	90,7
240	49,0
300	48,0
365	47,0
425	46,7
515	46,6

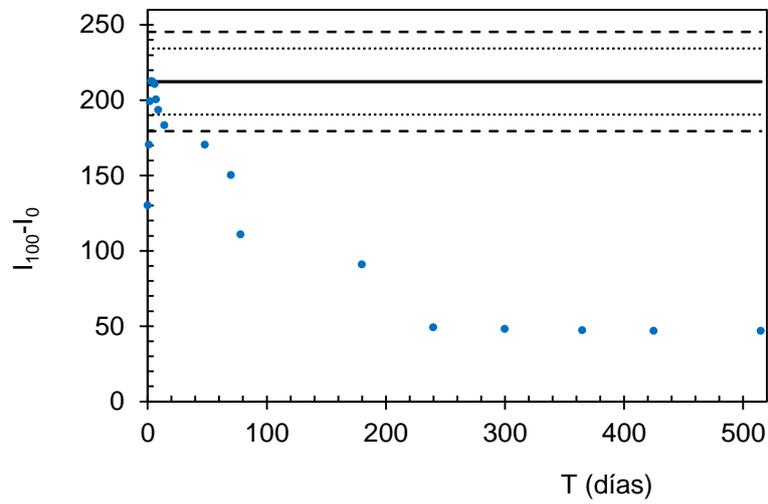


Figura 3.25. Evolución general del tiempo de vida del sensor B2.

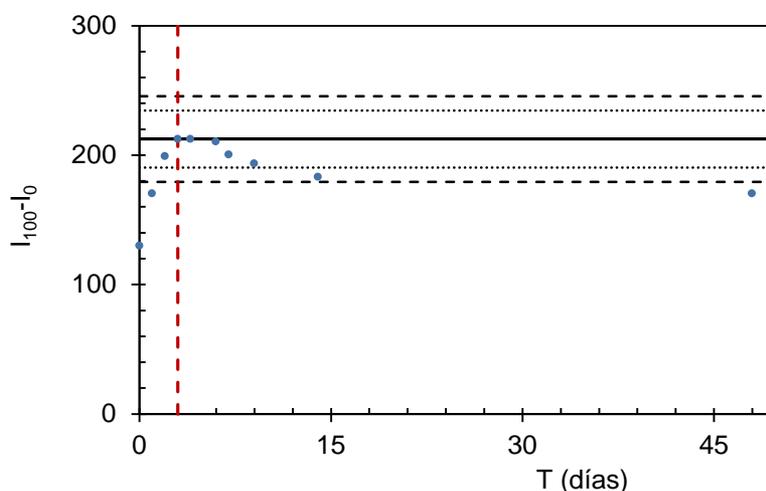


Figura 3.26. Evolución del tiempo de vida del sensor B2 hasta los 48 días.

Observamos que el tiempo de vida  $T_1$  de la membrana B2 fue de 11 contados a partir de los tres días de curado. Desde ese momento los valores experimentales están fuera de la línea de control  $-3s$  y hasta los 515 días de preparada la membrana B2 sigue dando señal, aunque como se puede apreciar va disminuyendo progresivamente el valor de  $I_{100}-I_0$ , lo que implica una disminución progresiva de la eficacia sensora. De todos modos, mientras el sensor siga mostrando valores de  $I_{100}-I_0$  mayores de 0, podemos decir que el sensor se puede seguir utilizando, tras una adecuada recalibración. Se puede por tanto establecer el tiempo de vida  $T_2$  del sensor en 515 días.

La alta estabilidad se debe a que al contrario que ocurre con el TOAOH, el TMAOH aquí utilizado no sufre la degradación de Hoffman, ya que no tiene protones en la posición  $\beta$  que puedan ser atacados por el hidroxilo y por lo tanto no se va a ir degradando con la consiguiente destrucción del agente de transferencia de fase. No obstante, la reducción en la señal originada por el sensor se puede deber a una fotodegradación del indicador ácido-base utilizado.

En la tabla 3.19 se recogen los parámetros analíticos obtenidos a partir de las medidas de intensidad de luminiscencia para la membrana B2.

Tabla 3.19. Parámetros analíticos del sensor B2.

Parámetros analíticos	Valores
Límite superior del rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	15
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,007
LDQ (%CO <sub>2</sub> )	0,21
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,007-0,21
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,21-15
Precision (DER; n = 15) al 0,60 % CO <sub>2</sub>	0,34
Precision (DER; n = 15) al 16,70 % CO <sub>2</sub>	0,23
Tiempo de respuesta t <sub>10-90</sub> (s)	28,0 ± 0,3
Tiempo de recuperación t <sub>90-10</sub> (s)	88 ± 1
Tiempo de vida T1 (días)	11
Tiempo de vida T2 (días)	512
Almacenamiento	En la oscuridad

### 3.4.3. Caracterización analítica del sensor B3.

La precisión calculada mediante la desviación estándar relativa para las dos concentraciones de CO<sub>2</sub> estudiadas con 15 réplicas para cada una está por debajo del 5% aunque es algo peor que la de la membrana B2. El límite de detección del 0,08 %, superior al CO<sub>2</sub> atmosférico (0,0387%) mientras que el límite de cuantificación es de 0,32 %.

Los ciclos de tiempos de recuperación y respuesta del sensor se recogen en la figura 3.27, teniendo tiempos de respuesta de 69 s para t<sub>↓0→100</sub> y un tiempo de recuperación de 113 s para t<sub>↑100→0</sub>. Para la variación de 10 a 90% y 90 a 10%, se obtiene para el tiempo de respuesta un valor de 55,4 s para t<sub>↓10→90</sub> y para el de recuperación 82 s para t<sub>↓90→10</sub>.

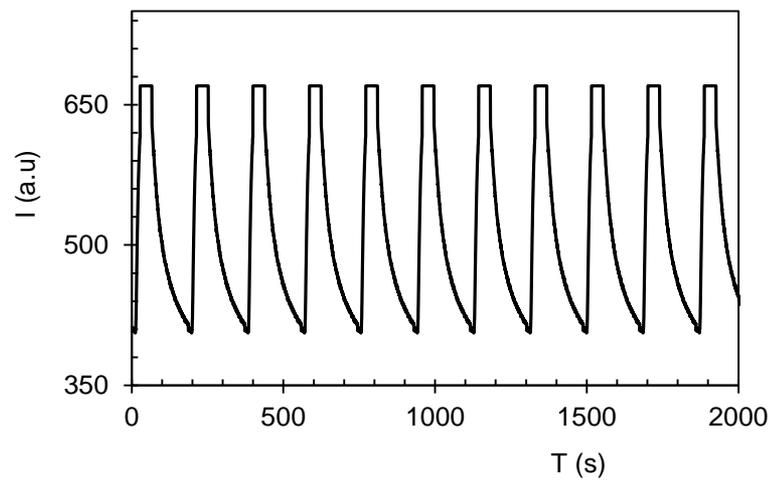


Figura 3.27. Tiempo de recuperación y respuesta del sensor B3.

Los valores obtenidos en el estudio del tiempo de vida del sensor B3 se recogen en la tabla 3.20 y figura 3.28.

Tabla 3.20. Seguimiento del tiempo de vida del sensor B3.

<b>T(días)</b>	<b><math>I_{100}-I_0</math></b>
0	124,2
2	123,9
3	122,8
5	121,5
8	120,9
10	121,2
20	120,6
22	120,6
90	100,7
120	100,7
124	100,6
150	96,6
270	95,4
330	90,0
390	42,3

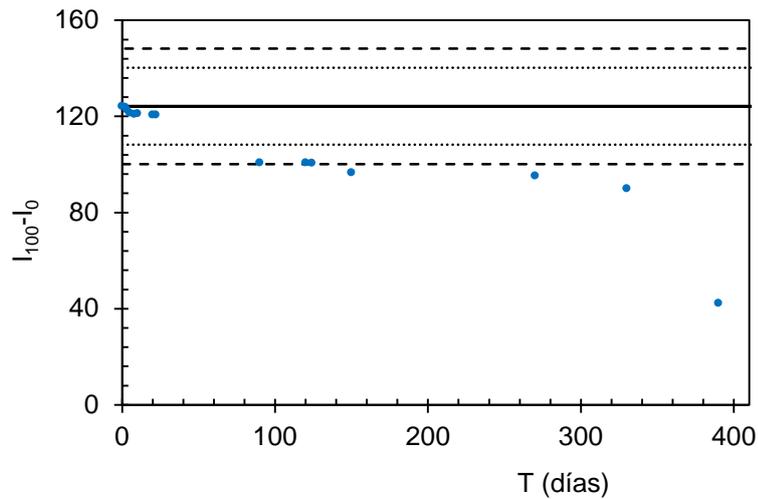


Fig. 3.28. Evolución del tiempo de vida del sensor B3.

Este sensor mostró desde el día inicial medidas estables, no necesitando tiempo de curado, por lo que a partir de su preparación se empezó a hacer el seguimiento del tiempo de vida.

El tiempo de vida T1 de la membrana B3 fue de 124 días, a partir de los cuales la señal  $I_{100}-I_0$  se sale de la línea de control  $-3s$  y va disminuyendo sin llegar a hacerse cero hasta los 390 días que duró el estudio. Por tanto, se puede establecer que el tiempo de vida T2 del sensor B3 es de 390 días.

Se observa que en este sensor el valor de  $I_{100}-I_0$  va decayendo de forma mucho más lenta que la membrana B2, lo que puede deberse a que este presenta además de las ventajas del uso de TMAOH, la ventaja añadida del emplear el polímero hidrofílico HPMC que reduce la pérdida de agua por deshidratación que presentan las matrices hidrofóbicas como es el caso de la etilcelulosa, con lo que nos puede alargar el tiempo de vida al mejorar la estabilidad de la membrana.

En la tabla 3.21 se recogen los parámetros analíticos que caracterizan la membrana B3.

Tabla 3.21. Parámetros analíticos de sensor B3.

Parámetros analíticos	Valores
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	30
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,08
LDQ (%CO <sub>2</sub> )	0,32
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,08-0,32
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,32-30
Precision (DER; n = 15) al 0,60 % CO <sub>2</sub>	0,6
Precision (DER; n = 15) al 16,70 % CO <sub>2</sub>	0,4
Tiempo de respuesta $t_{(90)}$ (s)	55,4 ± 0,1
Tiempo de recuperación $t_{10}$ (s)	82 ± 1
Tiempo de vida T1 (días)	124
Tiempo de vida T2 (días)	390
Almacenamiento	En la oscuridad

#### 3.4.4. Caracterización analítica del sensor B4.

Al objeto de comprobar que la elección del Tween 20 como surfactante es la más adecuada para este sensor se van a mostrar los parámetros de calibración del sensor con cada uno de los surfactantes estudiados.

En la tabla 3.22 se muestran las características de cada uno de los sensores optimizados con cada surfactante estudiado.

Tabla 3.22. Parámetros analíticos de membranas /Metocel/ TMAOH/ surfactantes

Parámetros	Metocel /TMAOH y surfactantes				
	agua /Tween 20	agua/Highly PSD	agua/Brij 35	agua/ CTAB	agua/ Melflux2651F
$I_{100}-I_0$	280 ± 1,6	83,7 ± 0,7	121 ± 1,0	90,9 ± 0,6	87 ± 1,1
Pendiente	6,91 ± 0,001	10,15 ± 0,009	4,83 ± 0,007	4,84 ± 0,030	16,00 ± 0,020
O. O.	0,55 ± 0,050	1,7 ± 0,100	1,32 ± 0,050	1,32 ± 0,040	2,7 ± 0,100
R <sup>2</sup>	0,9694	0,9872	0,9723	0,9723	0,9872

De la tabla 3.22 se concluye que la membrana con el mayor  $I_{100}-I_0$  es la contiene Tween 20 como ya se ha comentado con anterioridad.

Con todos ellos excepto con el Tween 20 se obtuvieron tiempos de respuesta muy altos y muy poca sensibilidad a bajas concentraciones de  $\text{CO}_2$ . Por otra parte, la pendiente de la recta de calibrado para el sensor con Tween 20 es menor que para el resto de las preparadas con los demás surfactantes, por lo tanto es la que presenta mayor sensibilidad. Por otra parte, el límite de detección para la membrana optimizada con Tween 20 resultó muy por debajo de las demás membranas con los otros surfactantes.

La precisión calculada como ya se dijo mediante la desviación estándar relativa para las dos concentraciones de  $\text{CO}_2$  estudiadas con 15 réplicas para cada una está por debajo del 5% y es del mismo orden de magnitud de la encontrada para la membrana B2.

El límite de detección del 0,04 %, es parecido a la concentración del  $\text{CO}_2$  atmosférico (0,0387%) mientras que el límite de cuantificación es de 0,31 %.

La figura 3.29 representa la variación de señal del sensor a atmosferas alternativas lo que permite calcular los tiempos de recuperación y respuesta de la membrana. Se observa que los picos salen todos a la misma altura y perfectamente reproducibles a lo largo de los 2000 s estudiados, con tiempos de respuesta de 41 s para  $t_{0 \rightarrow 100}$  y un tiempo de recuperación de 100 s para  $t_{100 \rightarrow 0}$ . Para la variación de 10 a 90% y 90 a 10%, se obtiene para el tiempo de respuesta un valor de 32,8 s para  $t_{10 \rightarrow 90}$  y para el de recuperación 80 s para  $t_{90 \rightarrow 10}$ .

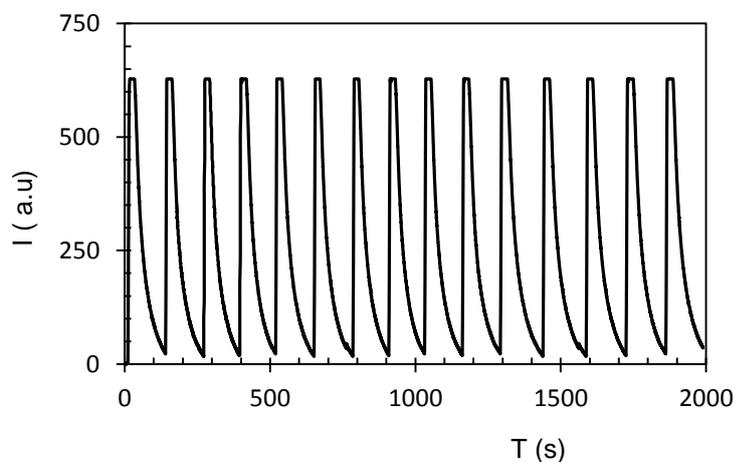


Figura 3.29. Tiempo de recuperación y respuesta del sensor B4.

Se ha estudiado el tiempo de vida del sensor, midiendo la respuesta de la membrana como  $I_{100} - I_0$ , la cual se representa frente al tiempo en días (figura 3.30 y 3.31, tabla 3.23).

Tabla 3.23. Seguimiento del tiempo de vida del sensor B4.

T (días)	$I_{100}-I_0$
0	124,5
2	130,9
3	150,7
4	167,7
7	166,9
9	165,8
12	164,5
20	163,7
26	162,5
31	164,5
100	154,7
160	97,0
228	62,4
400	40,4
600	29,7

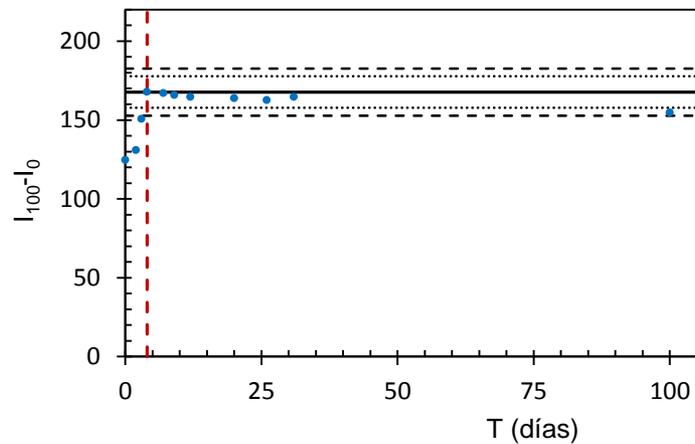


Figura 3.30. Seguimiento tiempo de vida del sensor B4 hasta los 100 días.

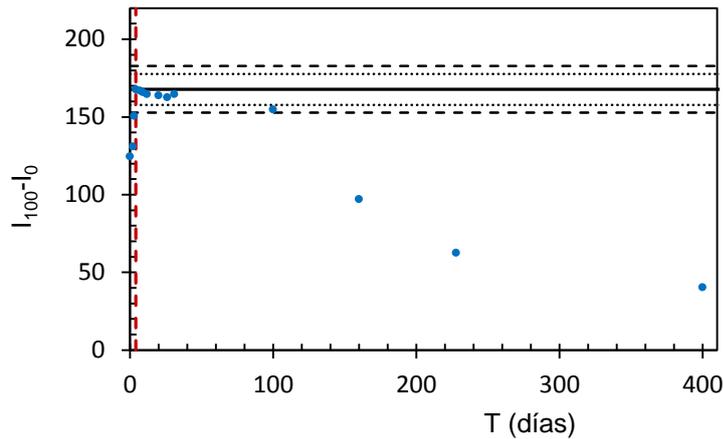


Figura 3.31. Seguimiento tiempo de vida del sensor B4.

El tiempo de vida  $T_1$  de la membrana B3 fue de 96 contados a partir de los cuatro días de curado. A partir de  $T_1$  el parámetro  $I_{100}-I_0$  se sale de la línea de control  $-3s$ . Se puede decir, por lo tanto, que la membrana es muy estable en condiciones de oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial. A partir de ese tiempo comienza a decrecer la señal aunque sin llegar a hacerse nula. En consecuencia, podemos establecer el tiempo de vida  $T_2$  del sensor B4 en al menos 596 días.

En la tabla 3.24 se recogen los parámetros analíticos de caracterización de la membrana B4 conteniendo Tween 20 y operando como ya se ha indicado.

Tabla 3.24. Parámetros analíticos de la membrana B4.

Parámetros analíticos	Valores
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	35
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,04
LDQ (%CO <sub>2</sub> )	0,31
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,04-0,31
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,31-35
Precisión (DER; n = 15) al 0,60 % CO <sub>2</sub>	0,34
Precisión (DER; n = 15) al 16,70 % CO <sub>2</sub>	0,22
Tiempo de respuesta $t_{10-90}$ (s)	$32,8 \pm 0,8$
Tiempo de recuperación $t_{90-10}$ (s)	$80 \pm 1$
Tiempo de vida $T_1$ (días)	96
Tiempo de vida $T_2$ (días)	596
Almacenamiento	En la oscuridad

### 3.5. Comparación de los sensores estudiados

El trabajo que hemos desarrollado ha consistido en el diseño de nuevas membranas sensoras de CO<sub>2</sub> basándonos el sensor de referencia previamente estudiado.

En las tablas 3.25 y 3.26 recogemos los parámetros de analíticos de cada uno de los sensores que hemos ido investigando comparándolos con el de referencia [1]. Pasando luego a comentar las características de cada uno de los sensores a partir de los los datos obtenidos para cada uno de ellos.

Tabla 3.25. Comparación de parámetros analíticos de los sensores estudiados.

Parámetros analíticos	Membrana sensora			Membrana sensora con TMAOH y Metocel	
	Referencia [1]	Membrana B1	Membrana B2	Membrana B3	Membrana B4
$I_{100}-I_0$	268,7 ± 1,3	131,8 ± 1,2	212,3 ± 1,5	124,2 ± 1,0	280,0 ± 0,6
Pendiente	5,219 ± 0,007	1,480 ± 0,009	0,512 ± 0,020	5,369 ± 0,020	6,908 ±
O. O.	0,927 ± 0,090	1,226 ± 0,100	0,963 ± 0,100	0,837 ± 0,009	0,553 ±
$R^2$	0,9989	0,9867	0,9623	0,9977	0,9694

Tabla 3.26. Comparación de parámetros analíticos de los sensores estudiados

Parámetros analíticos	Membrana sensora			Membrana sensora con TMAOH y Metocel	
	Referencia [1]	Membrana B1	Membrana B2	Membrana B3	Membrana B4
Precisión (DER; n = 15) 0,6 % CO <sub>2</sub>	0,560	0,590	0,345	0,600	0,335
Precisión (DER; n = 15) 16,7 % CO <sub>2</sub>	0,250	0,390	0,230	0,4	0,220
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )		20	15	30	35
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,020	0,04	0,007	0,08	0,04
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	5,9	0,5	0,21	0,32	0,31
Intervalo de detección %CO <sub>2</sub>	0,020-5,9	0,04-0,5	0,007-0,21	0,08-0,32	0,04-0,31
Intervalo de cuantificación %CO <sub>2</sub>		0,5-20	0,21-15	0,32-30	0,31-35
Tiempo de respuesta t <sub>10-90</sub> (s)	9,3 ± 0,5	19,3 ± 0,6	28 ± 0,3	55,4 ± 0,4	32,8 ± 0,8
Tiempo de recuperación t <sub>90-10</sub> (s)	115 ± 2	85 ± 1	88 ± 1	82 ± 0,1	80 ± 1
T1 (días)		4	11	124	96
T2 (días)	365	17	512	390	596
Condiciones de almacenamiento	Atmósfera húmeda y oscuridad	Oscuridad	Oscuridad	Oscuridad	Oscuridad

### 3.5.1. Sensor B1.

En general no tiene una mala respuesta al CO<sub>2</sub>, aunque si analizamos cada uno de los parámetros analíticos con respecto al sensor de referencia, podemos observar una serie de ventajas y desventajas:

#### Ventajas:

- El tiempo de recuperación es menor y consecuentemente posee una más rápida respuesta.

- La mayor ventaja, es en lo que respecta al almacenamiento, pues se conserva en recipiente cerrado, en oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial.

Desventajas:

- El parámetro  $I_{100}-I_0$  es menor, por lo tanto es menor la amplitud de variación de la señal de la membrana con la variación en la concentración del gas.
- Es un poco menos preciso en términos de desviación estándar relativa.
- Su límite de detección es mayor.
- El gran inconveniente es su corto tiempo de vida  $T_2$  de sólo 17 días, contados a partir de los tres días de curado.

### 3.5.2. Sensor B2.

Según el funcionamiento del mismo podemos considerarlo como un buen sensor de  $CO_2$ . Analizando los parámetros analíticos con respecto al sensor de referencia, encontramos una serie de ventajas:

Ventajas

- La precisión es mejor.
- Los límites de detección y de cuantificación son menores.
- Aunque es mayor el tiempo de respuesta, es menor el tiempo de recuperación que para el sensor de referencia.
- Presenta la gran ventaja, lo mismo que el anterior de poder conservarse en recipiente cerrado sin ningún tipo de atmósfera especial.
- Posee un gran tiempo de vida  $T_2$  hasta los 512, por lo menos, pues seguía dando señal.

Desventajas:

- El parámetro  $I_{100}-I_0$  es menor que el de referencia pero mayor que el del sensor B1.

### 3.5.3. Sensor B3.

En líneas generales no es un mal sensor, responde bien a las distintas concentraciones de  $CO_2$ , aunque no tan bueno como el B2.

### Ventajas

- El tiempo de recuperación es menor que el de referencia por lo tanto posee una rápida respuesta.
- Presenta la gran ventaja de poder conservarse en recipiente cerrado sin ningún tipo de atmósfera especial.
- En cuanto al tiempo de vida, hasta los 390 días de seguimiento, por lo menos, sigue dando señal.

### Desventajas

- El parámetro  $I_{100}-I_0$  es menor.
- Es menos preciso que el de referencia.
- El límite de detección es mayor.
- Et tiempo de respuesta de la membrana es mayor.

#### **3.5.4. Sensor B4.**

Podemos considerarlo como un sensor de CO<sub>2</sub> muy bueno considerando ventajas e inconvenientes:

### Ventajas

- El parámetro  $I_{100}-I_0$  es mayor que el de referencia.
- Es más preciso que el de referencia.
- Posee un menor límite de cuantificación.
- El tiempo de recuperación es mejor que el del sensor de referencia, por lo que posee una rápida respuesta.
- Presenta la gran ventaja de poder preservarse en recipiente cerrado sin ningún tipo de atmósfera especial.
- En lo que respecta al tiempo de vida T2 sigue dando señal hasta los 596 días de seguimiento, por lo menos.
- Desventajas
- El límite de detección es mayor.
- El tiempo de respuesta es mayor.

#### 4. Conclusiones

Con las estrategias presentadas en este capítulo se ha logrado en general una mejora en los sensores ópticos para CO<sub>2</sub> gaseoso basado en la medida de la intensidad de fosforescencia del complejo PtOEP incluido en las membranas PVCD debido al desplazamiento del equilibrio ácido-base de  $\alpha$ -naftolftaleína. El uso de TMAOH en lugar de TOAOH ofrece resultados similares en selectividad y precisión, mejora la estabilidad y el tiempo de vida sin necesidad de ser conservado en atmósfera especial.

El uso de HPMC en lugar de etilcelulosa ofrece resultados similares en selectividad y precisión haciendo innecesario preservar las membranas en condiciones atmosféricas especiales.

Los sensores B2 y B4 son más sensibles, presentando el B2 un límite de detección inferior al del sensor de referencia. Ambos presentan un tiempo de respuesta superior al del sensor de referencia.

Además para el sensor B4 de los datos los datos recogidos en la tabla 18 podemos decir que:

1. La precisión en términos de desviación estándar relativa para las dos concentraciones de CO<sub>2</sub>, con 15 réplicas fue muy buena, muy por debajo del 5%.
2. El límite de detección es de orden del porcentaje de CO<sub>2</sub> atmosférico.
3. El límite de cuantificación es inferior al del sensor de referencia.
4. El tiempo de recuperación fue rápido (80 s).

Las ventajas añadidas del B4, sobre todo en cuanto a tiempos de vida y almacenamiento, se deben a que por una parte al agente de transferencia de fase TMA, no sufre la degradación de Hoffmam y al polímero hidrófilico HPMC por su capacidad para retener agua y evitar de esta forma la deshidratación de las membranas.

Otra de las ventajas de este último es que entramos en el campo de la química verde por prepararse a partir de un cóctel en base agua. De esta manera se pueden preparar sensores ópticos de CO<sub>2</sub> de manera sencilla y con bajo coste.

## 5. Bibliografía

1. I.M. Pérez de Vargas-Sansalvador, M.A. Carvajal, O.M. Roldán-Muñoz, J.Banqueri, M.D.Fernández-Ramos, L.F.Capitán-Vallvey. *Anal.Chimica Acta* 655 (2009) 66–74.
2. C. von Bültzingslöwen, Aisling K. McEvoy, Colette McDonagh, Brian D. MacCraith. *Anal.Chimica Acta* 480 (2003) 275–283.
3. O. Oter, K. Ertekin, D. Topkaya, S. Alp, *Sens. Actuators A* 117 (2006) 295–301.
4. A.Mills, S.Hodgen, *Top.Fluoresc.Spectrosc.* 9(2005)119.
5. S.M. Borisov, C. Krause, S. Arain, O.S. Wolfbeis, *Adv.Mater.* 18 (2006) 1511.
6. M.D. Marazuela, M.C. Moreno-Bondi, G. Orellana, *Sens.Actuators B* 29 (1995) 126.
7. G. Orellana, M.C. Moreno-Bondi, E. Segovia, M.D. Marazuela, *Anal.Chem.* 64 (1992) 2210.
8. G. Orellana, C.d. Dios, M.C. Moreno-Bondi, M.D. Marazuela, *Proc.SPIE – Int. Soc. Opt.Eng.* 2508 (1995).
9. G. Liebsch, I. Klimant, B. Frank, G. Holst, O.S. Wolfbeis, *Appl.Spectrosc.* 54 (2000) 548.
10. X. Ge, Y. Kostov, G. Rao, *Biosens. Bioelectron.* 18 (2003) 857.
11. M. Uttamlal, D.R. Walt, *Biotechnology* 13 (1995) 597.
12. A.K. McEvoy, C. McDonagh, B.D. MacCraith, I. Klimant, K. Christian, O.S. Wolfbeis, *Analyst.* 127 (2002) 1478.
13. R. Ali, S.M. Saleh, R.J. Meier, H.A. Azab, I.I. Abdelgawad, O.S. Wolfbeis, *Sens. Actuators A* 150 (2010) 126.
14. Mills, K. Eaton, *Quim. Anal.* 19 (2000) 75.
15. L.S. Miller, A.M. McRoberts, D.J. Walton, I.R. Peterson, D.A. Parry, C.G.D. Sykesud a, A.L. Newton, B .D. Powell, C.A. Jasper. *Thin Solid Films* 284-285 (1996) 927-93.
16. A. Gazzaniga, L. Palugan, A.Foppoli, M. E. Sangalli. *Europ. Jour. Pharmac. and Biopharmac.* 68 (2008) 11–18.
17. H.K.Hall. *Jour. Amer. Chemic. Society* 79 (1957) 5441.
18. R. Linnell. *Jour. Organic Chemistry* 25 (1960) 290.

19. A.Reillo Martín; F. J. Navarro Lupión; P. Bustamante Martínez. *Tecnol. Farmac. VI Congreso SEFIG y 3ª Jornadas TF* (2003) 169-172.
20. Amadou L. Ndiaye, C. Varenne, P. Bonnet, E. Petit, L. Spinelle, J.Brunet, A.Pauly, B.Lauron. *Sens. Actuators B* 162 (2012) 95–101.
21. H.Grabar. *The Atlantic Citylab*, Junio 2013.
22. N. Nakamura, Y. Amao, *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 642-646.
23. I.M. Pérez de Vargas-Sansalvador, C. Fay, T. Phelanb, M.D. Fernández-Ramos, L.F. Capitán-Vallvey, D. Diamond, F. Benito-Lopez. *Anal. Chimica Acta* 699 (2011) 216–222.
24. ISO, International standard, ISO (2008)11843-5.

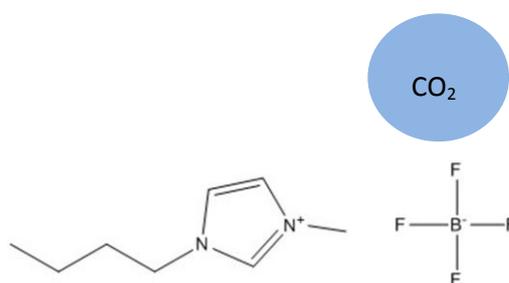


## Capítulo 4

### Membranas sensoras

### ópticas de dióxido de carbono

### basadas en líquidos iónicos





## 1. Introducción

El dióxido de carbono es el principal gas de efecto invernadero resultante de actividades humanas como es el uso de combustibles fósiles para obtención de energía, el transporte y los procesos industriales, por lo que la monitorización de los niveles de CO<sub>2</sub> en la atmósfera es de vital importancia debido a su efecto sobre el calentamiento global [1].

El carácter ácido de la molécula de dióxido de carbono, ya utilizado en el anterior capítulo, es la base fundamental de los métodos analíticos para su determinación. Normalmente, un sensor óptico para determinar el dióxido de carbono gas está constituido por una membrana de detección que contiene como elemento esencial un indicador de pH o bien un indicador de pH y un luminóforo. [2-5].

La mayoría de estos sensores ópticos tienen tiempos de vida de almacenamiento limitado y tienen que ser almacenados bajo condiciones atmosféricas especiales, debido a procesos como fotooxidación del colorante, evaporación del agua contenida en la membrana y degradación del hidróxido de amonio cuaternario presente [6]. En el capítulo anterior se han estudiado diversas modificaciones de la membrana tendentes a mejorar la estabilidad y la vida útil concluyendo que con ellas no se necesita conservar la membrana en condiciones atmosféricas especiales [7]. Sin embargo, creemos que es posible preparar sensores ópticos para determinar dióxido de carbono gaseoso con un mejor rendimiento.

Los líquidos iónicos son fluidos constituidos exclusivamente por iones, considerándose como tales a las sales con una temperatura de fusión por debajo del punto de ebullición del agua y que frecuentemente son hidrolíticamente estables.

Estos líquidos son de gran interés debido principalmente a las buenas propiedades solvatantes que presentan, alta conductividad, baja volatilidad, baja toxicidad, gran ventana electroquímica, buena estabilidad electroquímica y alta solubilidad en una amplia variedad de disolventes [8,9]. Los líquidos iónicos

presentan un punto de fusión cercano o inferior a la temperatura ambiente y se componen de dos iones asimétricos de carga opuesta que solo presentan interacciones electrostáticas y que normalmente son cationes orgánicos voluminosos (por ejemplo, amonios cuaternarios sustituidos con alquilo, imidazolio, pirrolidinio, acetato, etc.) y aniones más pequeños (por ejemplo, iones haluro, tetrafluoroborato, hexafluorofosfato, etc.), lo que da como resultado que algunas de estas sales permanezcan líquidas a temperatura ambiente. La principal aplicación de los líquidos iónicos es para el desarrollo de estrategias eficientes para capturar CO<sub>2</sub> minimizando su acumulación en la atmósfera, así como para convertirlo en productos químicos de alto valor. Esta es un área de investigación de interés actual tanto desde el punto de vista ambiental como económico [10,11]. Estas tecnologías separan el CO<sub>2</sub> de los gases de combustión industrial procedentes, por ejemplo, de plantas químicas para prevenir su emisión al ambiente usando líquidos iónicos como absorbentes [12,13].

En este contexto se han determinado diferentes parámetros de interés para el dióxido de carbono gas, como es el coeficiente de difusión en la bis [(trifluorometil) sulfonil] amida de 1-etil-3-metilimidazolio (EMIM NTf<sub>2</sub>) basándose en las mediciones FTIR resueltas en el tiempo [14], la solubilidad en una serie de líquidos iónicos basados en 1-(2-hidroxietil)-3-metilimidazolio ([EMIM]<sup>+</sup>) con diferentes aniones, como hexafluorofosfato ([PF<sub>6</sub>]) [15] y bis (trifluorometilsulfonil) imida de 1-metoxietil-3-metilimidazolio ([EOM-mim] [Tf<sub>2</sub>N]) por el método del peso isométrico [16].

Las aplicaciones de los líquidos iónicos en química analítica se encuentran en tres áreas: preparación de muestras, separaciones por cromatografía y electroforesis capilar y detección [17]. Así se han utilizado como fase estacionaria o como aditivos en cromatografía gas-líquido [18] y electroforesis capilar [19]. También se han utilizado en sensores electroquímicos para analitos gaseosos [20, 21]. Otra aplicación de interés es la determinación de dióxido de carbono gas por medida de electroquimioluminiscencia (ECL) basado en el sistema luminol-O<sub>2</sub> en una disolución de dipropilamina en N, N-dimetilformamida en el que se induce la formación de un líquido iónico tipo carbamato por reacción entre CO<sub>2</sub> y dipropilamina. Este método de detección

ECL muestra entre otras ventajas, seguridad, selectividad, amplio rango de respuesta lineal y buena sensibilidad [22].

Así mismo se han utilizado en biosensores para la detección de biomoléculas tales como ácidos nucleicos, proteínas y enzimas porque elimina la necesidad de añadir electrolito soporte, mostrando conductividad intrínseca y presión de vapor despreciable [23] y en un sensor óptico de gas de tipo luminiscente basado en la formación del par iónico entre el 1-hidroxi-3,6,8-pirenotrisulfonato (HPTS) en presencia del líquido iónico tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio (EMIMBF<sub>4</sub>) en una matriz de etilcelulosa. Equilibrio que está gobernado por el CO<sub>2</sub> gaseoso presente [24]. Este sensor presenta un largo tiempo de almacenamiento y un microambiente muy estable para la molécula HPTS [25]. Adicionalmente, el tetrafluoroborato de 1-metil-3-butilimidazolio (RTIL-I) y el bromuro de 1-metil-3-butilimidazolio (RTIL-II) se han utilizado junto con HPTS en un sensor óptico de CO<sub>2</sub>. Hay que tener en cuenta que la solubilidad del CO<sub>2</sub> en líquidos iónicos miscibles en agua es aproximadamente 10 a 20 veces mayor que en disolventes convencionales [26]. En este caso se ha utilizado un haz de fibra óptica para la detección de CO<sub>2</sub> gas, utilizando una membrana de materiales nanofibrosos preparados por la técnica de electrospun conteniendo la química de reconocimiento. La medida se basa en el cambio en la intensidad de fluorescencia del par iónico que forma el HPTS con el líquido iónico. El procedimiento muestra una alta sensibilidad debido a la elevada relación superficie-volumen de las estructuras de las nanofibras, un tiempo de respuesta corto y una señal completamente reversible [27].

Los líquidos iónicos pueden confinarse en sol-gel, los llamados ionogel y pueden aplicarse en membranas electrolíticas, dispositivos ópticos, catalizadores y sensores [28]. Así, se puede utilizar para la determinación semicuantitativa de CO<sub>2</sub> una emulsión del líquido iónico 1-butil-3-metilimidazolio en una matriz de silicona conteniendo el indicador de pH azul de timol o azul de bromotimol o bien el HPTS utilizando como referencia el colorante fluorescente inerte 4-dicianometileno-2-metil-6-(4-(dimetilamino)estiril)-4H-pirano para la determinación ratiométrica de CO<sub>2</sub> [29]. También se ha desarrollado un sensor de CO<sub>2</sub> gas basado en el líquido iónico tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio (BMIM BF<sub>4</sub>) situado en una fibra de cristal fotónico (PCF) [30].

La sensibilidad de las membranas sensoras a CO<sub>2</sub> viene determinada por varios factores: el pKa del indicador; la naturaleza del líquido iónico y la naturaleza de la base utilizada en el tampón interno. Los nuevos materiales muestran una fotoestabilidad moderada. Cuando se usa para medidas en ambiente acuoso, el sensor se deteriora rápidamente a menos que se aplique una capa protectora de silicona. Los materiales fluorescentes a base de tetrafluoroborato de 1-butil-3-metilimidazolio sufren dependencia irreproducible de la temperatura y, por lo tanto, no son adecuados para aplicaciones en el mundo real.

En este capítulo vamos utilizar líquidos iónicos para el desarrollo de nuevos sensores para CO<sub>2</sub>. Para ello, se han elegido una serie de líquidos iónicos miscibles en agua, de forma que las membranas sensoras que se van a estudiar van ser de base acuosa.

## **2. Mecanismo de sensado**

El sensor que va a servir de base para el presente trabajo, ha sido ya comentado en el capítulo 3. El funcionamiento del sensor se basa en la atenuación de luminiscencia de un luminóforo por una de las formas de un indicador de pH no fluorescente,  $\alpha$ -naftolftaleína, presente en la membrana que además contiene el hidróxido de amonio cuaternario TMAOH que actúa como tampón interno. El cambio en la posición del equilibrio ácido-base por parte del CO<sub>2</sub> y el concomitante cambio de color se traduce en un cambio de emisión luminiscente debido al solapamiento del espectro de absorción de la forma básica del indicador de pH y el de emisión del luminóforo de alto tiempo de vida, octaetilporfirina de platino (PtOEP). La presencia de CO<sub>2</sub> desplaza paulatinamente el equilibrio del indicador hacia su forma ácida con el consiguiente aumento de la emisión fosforescente del luminóforo.

El solapamiento espectral de los  $\alpha$ -naftolftaleína y octaetilporfirina de platino permite a través de un proceso de filtro interno la transferencia de energía entre las dos especies de forma que se produzca un aumento de la intensidad de fosforescencia proporcional a la concentración de CO<sub>2</sub> [5].

Para el diseño de este sensor se van a preparar membranas que contengan todos los reactivos necesarios incluyendo líquidos iónicos para que dicho sensor reaccione ante los cambios de concentración de CO<sub>2</sub>.

El sensor para CO<sub>2</sub> se prepara sobre un soporte tipo Mylar ópticamente transparente y no luminiscente, con dos membranas dispuestas en caras opuestas, preparadas a partir de disoluciones (A y B) conteniendo los reactivos necesarios usando la técnica de spin-coating. La disolución A contiene la octaetilporfirina de platino como luminóforo y polivinil-co-polivideno (PVCD) como polímero de membrana disueltos en tetrahidrofurano, polímero usado para evitar la interferencia del oxígeno.

La disolución B contiene el indicador de pH ( $\alpha$ -naftoltaleína), el agente de transferencia de fase (TMAOH), el polímero hidrofílico hidroxipropil metilcelulosa (HPMC) y Tween 20 como surfactante, todos ellos en una mezcla agua/etanol.

A continuación se van a describir la composición de los cócteles empleados y la forma de preparación del sensor anterior al que llamaremos sensor de referencia, así como las membranas sensoras ensayadas con distintos líquidos iónicos partiendo del sensor de referencia.

## **2.1. Preparación de las membranas sensoras.**

### **2.1.1. Preparación la membrana de referencia.**

#### **Cóctel A (referencia)**

En un vial se disuelven 100 mg PVCD en 1 mL de THF recién destilado usando un baño de ultrasonidos y una vez totalmente disuelto se le añaden 0,5 mg de PtOEP.

#### **Cóctel B (referencia)**

En un vial de 4 ml se adiciona 1 ml de HPMC (previamente disuelto al 1% en agua), 320  $\mu$ L de solución de  $\alpha$ -naftoltaleina (2,2 mg en 2 ml de etanol), 12,1 mg de TMAOH disuelto en 200  $\mu$ L de metanol y, finalmente, 5  $\mu$ L del surfactante Tween 20.

Para la formación de las membranas se ha utilizado la técnica del spin-coating, depositando sobre soporte tipo Mylar de (35 x12 mm) 20  $\mu$ L del cóctel A en una de las caras del mismo, dejándose secar en el interior de un recipiente

herméticamente cerrado conteniendo un vaso con el disolvente THF para asegurarnos de que la atmósfera en el interior del recipiente está saturada en el disolvente produciendo un lento secado del sensor.

Después se toma el soporte de Mylar que tiene por una de las caras el sensor del luminóforo (cóctel A), y con la misma técnica de spin-coating se depositan 25 µl del cóctel B, formándose membrana en la cara opuesta del soporte ya que el espesor del soporte nos permite que la distancia sea suficiente como para que se produzca el proceso de filtro interno. Como se ha comentado con anterioridad no fue factible preparar las dos membranas en la misma cara (la B sobre la A), porque aun siendo el cóctel B en base agua y no disolver a la membrana A ya formada, se puede depositar el B sobre el A sin que se disuelvan. Lo que ocurre es que al cabo de unos tres días se produce una migración de los reactivos de una membrana a otra, ennegreciéndose la membrana y dejando de funcionar.

### **2.2.2. Preparación y ensayo de membranas conteniendo líquidos iónicos.**

Para el ensayo de dichos sensores, el cóctel A, va a seguir siendo el mismo, el que contiene la octaetilporfirina de platino (PtOEP) como luminóforo, mientras que el cóctel para la membrana de la cara opuesta al que llamaremos cóctel C, a partir de ahora, va a seguir teniendo el mismo indicador ácido-base ( $\alpha$ -naftoltaleína), con lo que va seguir siendo el mismo tipo de sensor que el de referencia basado en el mecanismo de filtro interno. Como agente de transferencia se utilizará el TMAOH y como polímero de membrana el HPMC, con las mejoras añadidas que han aportado ambos componentes ya estudiados en el capítulo anterior [7].

En esta Memoria se ha llevado a cabo el estudio de ocho líquidos iónicos para formar membranas en las que se dé la reacción de reconocimiento ya dicha.

Los líquidos iónicos (LIs) ensayados fueron:

- LI-I: Tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio
- LI-II: Cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio.
- LI-III: Tetrafluoroborato de 1-dodecil-3-metilimidazolio

- LI-IV: Cloruro de 1-decil-3-metilimidazolio
- LI-V: Cloruro de 1-dodecil-3-metilimidazolio
- LI-VI: Tetrafluoroborato de 1-hexil-3-metilimidazolio
- LI-VII: 1-etil-3-metilimidazolio bis(trifluorometilsulfonil)imida.
- LI-VIII: Cloruro de 1- metil- 3- octilimidazolio

En la figura 4.1 se muestran las estructuras moleculares de cada uno de los líquidos iónicos probados.

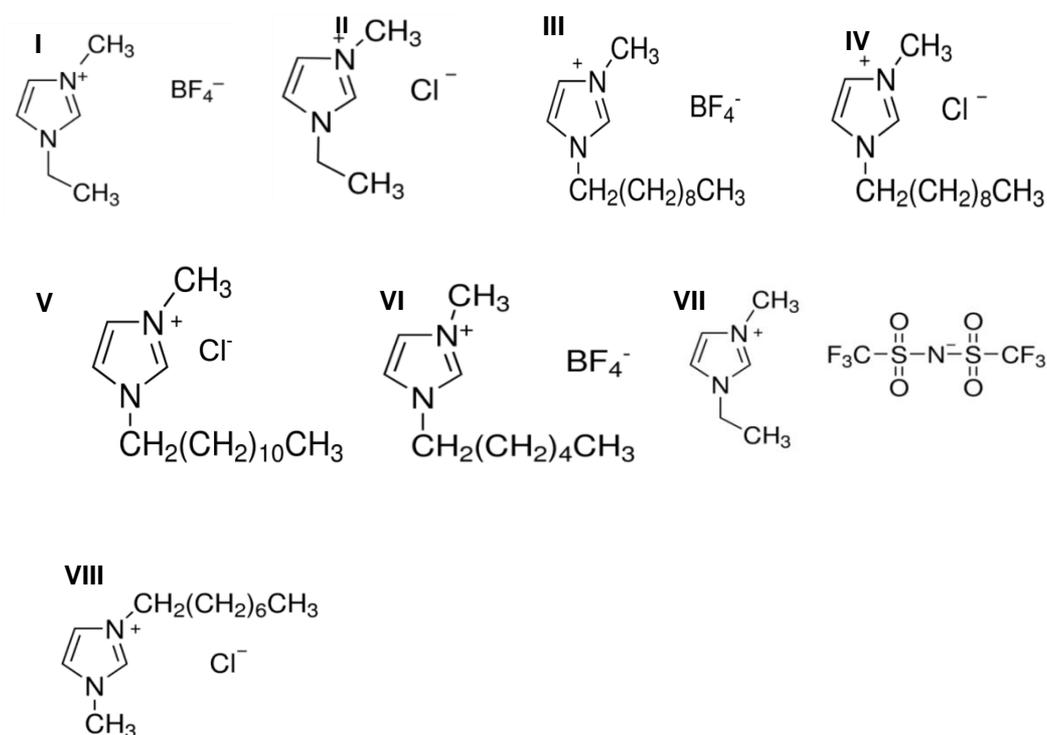


Figura 4.1. Estructuras moleculares de los LIs estudiados

En consecuencia, para el cóctel C se han ensayado ocho variantes: C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 y C8, conteniendo cada uno además de los reactivos comunes, los líquidos iónicos LI-I, LI-II, LI-III, LI-IV, LI-V, LI-VI, LI-VII y LI-VIII.

### 2.2.3. Metodología de medida de las membranas

Para el estudio de estas membranas se han registrado medidas de intensidad de fluorescencia en el espectrofluorímetro a las longitudes de onda de excitación y emisión de 525 y 650 nm, respectivamente trabajando con rendijas 2,5:5.

### 2.2.4. Preparación de los cócteles tipo C

En un vial de 4 ml se adiciona 320 µL de solución de α-naftoltaleina (2,2 mg en 2 ml de etanol), 12,1 mg de TMAOH disuelto en 200 µL de metanol, la correspondiente cantidad de LI, 5 µL del surfactante Tween 20 y, finalmente, 1 ml de HPMC al 1% disuelto en agua.

De esta forma se han preparado 8 cócteles para el estudio de sus respectivas membranas con los distintos líquidos iónicos, con las correspondientes composiciones recogidas en las tablas 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, .7 y 4.8.

Tabla 4.1. Composición del cóctel C1.

Componentes C1	Concentración % en peso
α-naftoltaleina	0,024
TMAOH	0,841
LI-I	0,0695
Tween 20	0,382
Metanol	10,98
agua	69,5
HPMC	0,695
Metanol	17,5

Tabla 4.2. Composición del cóctel C2.

Componentes C2	Concentración % en peso
α-naftoltaleina	0,024
TMAOH	0,840
LI-II	0,139
Tween 20	0,382
Metanol	10,97
agua	69,4
HPMC	0,694
Metanol	17,5

Tabla 4.3. Composición del cóctel C3.

Componentes C3	Concentración % en peso
α-naftoltaleina	0,024
TMAOH	0,841
LI-III	0,0695
Tween 20	0,382
Metanol	10,98
agua	69,5
HPMC	0,695
Metanol	17,5

Tabla 4.4. Composición del cóctel C4.

Componentes C4	Concentración % en peso
α-naftoltaleina	0,024
TMAOH	0,841
LI-IV	0,0348
Tween 20	0,382
Metanol	10,98
agua	69,5
HPMC	0,695
Metanol	17,5

Tabla 4.5. Composición del cóctel C5

Componentes C5	Concentración % en peso
$\alpha$ -naftoltaleína	0,024
TMAOH	0,841
LI-V	0,0695
Tween 20	0,382
Metanol	10,98
agua	69,5
HPMC	0,695
Metanol	17,5

Tabla 4.6. Composición del cóctel C6

Componentes C6	Concentración % en peso
$\alpha$ -naftoltaleína	0,024
TMAOH	0,841
LI-VI	0,0695
Tween 20	0,382
Metanol	10,98
agua	69,5
HPMC	0,695
Metanol	17,5

Tabla 4.7. Composición del cóctel C7

Componentes C7	Concentración % en peso
$\alpha$ -naftoltaleína	0,024
TMAOH	0,841
LI-VII	0,0695
Tween 20	0,382
Metanol	10,98
agua	69,5
HPMC	0,695
Metanol	17,5

Tabla 4.8. Composición del cóctel C8

Componentes C8	Concentración % en peso
$\alpha$ -naftoltaleína	0,024
TMAOH	0,841
LI-VIII	0,0348
Tween 20	0,382
Metanol	10,98
agua	69,5
HPMC	0,695
Metanol	17,5

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Optimización de los componentes de membrana

Para estudiar todos los componentes de membrana, excepto para la cantidad de líquido iónico añadida, se eligió como parámetro de optimización  $I_{100} - I_0$ , ya que se consideró el más apropiado como indicación de la amplitud de la medida de la membrana, donde  $I_0$  e  $I_{100}$  representan las medidas de intensidad de fosforescencia de la película sensora expuesta al 100 % de nitrógeno y al 100 % de  $\text{CO}_2$ , respectivamente.

Para llevar a cabo la optimización de la cantidad de líquido iónico añadida se utilizó como criterio un compromiso entre los valores de  $I_{100}-I_0$ , los tiempos de recuperación y respuesta y la estabilidad en el tiempo.

Para todos los cócteles se utilizó la misma cantidad de indicador de pH,  $\alpha$ -naftoltaleína, que para el sensor de referencia.

El uso de un tensioactivo ha sido necesario para mejorar la tensión superficial de las membranas y para aumentar la respuesta del sensor, el surfactante seleccionado es el Tween 20, como se vio en el capítulo anterior, porque fue el que dio mejores resultados. Para el estudio aquí descrito se combinó la presencia de líquido iónico con la de Tween 20, en concreto se prepararon membranas conteniendo los diferentes líquidos iónicos antes señaladas y cantidades variables de Tween 20 de 1 a 75 mg. Midiendo para cada una de las membranas ensayadas el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ , la cantidad óptima para todas ellas fue de 5  $\mu$ l, añadidos al cóctel C. El estudio del Tween 20 se tratará a continuación en las optimizaciones llevadas a cabo para cada uno de los cócteles.

### 3.1.1. Optimización de los componentes de cóctel C1 conteniendo LI-I

Como parámetro de optimización se utilizó la medida de la diferencia  $I_{100} - I_0$  resultante utilizando 5 réplicas de la membrana para cada cantidad ensayada.

#### Optimización de TMAOH

Se probaron las siguientes cantidades expresadas en relación molar TMAOH/ $I_n$  recogidas en la tabla 4.9. y representadas en la figura 4.2 frente al parámetro de optimización.

Tabla 4.9. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C1.

TMAOH/ $I_n$ (moles)	$I_{100}-I_0$
75,7	80,0
76,5	120,0
79,6	286,5
83,6	230,0
85,2	188,0
87,6	124,0
89,2	84,5
91,6	65,3

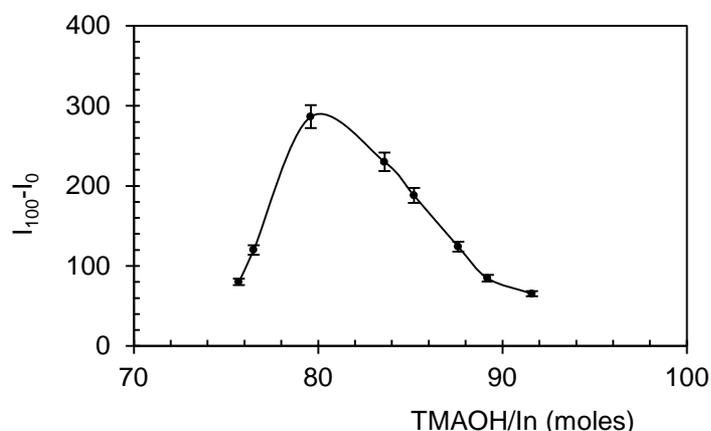


Figura 4.2. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C1.

A la vista de los resultados, la cantidad que originó el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  medido en membrana fue la relación molar (TMAOH/In) de 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH añadidos al cóctel.

### **Optimización del polímero HPMC**

Se estudiaron a continuación distintas disoluciones de polímero previamente preparadas en agua, de entre 0,25% y 2% de HPMC.

Después de añadir 1 ml de cada una a los respectivos cócteles para formar distintas membranas, se midió el parámetro de optimización para cada una de ellas. De este modo se recogen tanto en la tabla 4.10 como en la figura 4.3 los valores medidos de  $I_{100}-I_0$  en función de las distintas concentraciones en tanto % en peso de HPMC sobre el total del cóctel.

La concentración de HPMC en el cóctel dio el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  medido en membrana fue de 0,695 % en peso, que se corresponde a 1 ml de disolución HPMC acuosa al 1% añadida al cóctel. Concentraciones superiores a esta daban lugar a membranas opacas por la precipitación de este polímero y cantidades inferiores daban lugar a membranas muy delgadas y poco homogéneas.

Tabla 4.10. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C1.

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,389	150,0
1,042	225,0
0,695	286,5
0,521	244,0
0,347	188,0
0,174	124,0

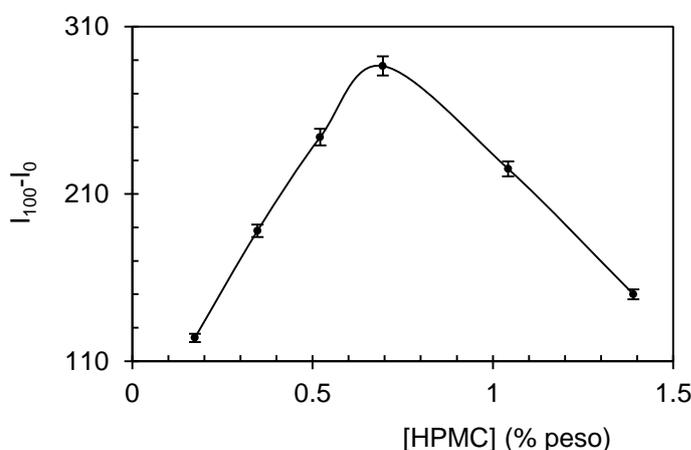


Figura 4.3. Influencia de la concentración de LI-I para membrana C1.

### Optimización del LI-I

Para llevar a cabo a optimización de este líquido iónico (tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio, se ensayaron cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg en el cóctel. Se prepararon las respectivas membranas, midiéndose para cada una el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ . En la tabla 4.11 y figura 4.4 quedan representados estos valores expresados en tanto por ciento en peso.

Como nos muestran los resultados, la concentración de LI-I que originó el mayor valor para  $I_{100}-I_0$ , fue de 0,0695 % en peso, que es lo que se corresponde a 1 mg de LI-I añadido al cóctel.

Tabla 4.11. Influencia de la concentración de LI-I en la membrana C1.

[LI-I] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	240,0
0,0174	260,0
0,0347	280,7
0,0694	286,4
0,1389	266,0
0,1737	255,0

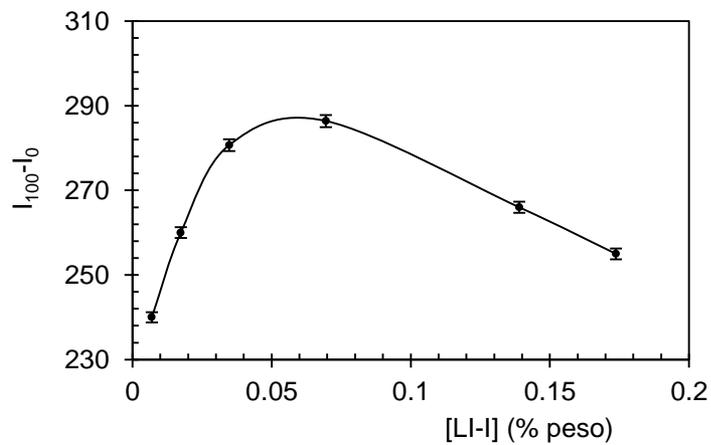


Figura 4.4. Influencia de la concentración de LI-I en la membrana C1.

Se eligió esta como cantidad óptima porque dando el valor máximo de  $I_{100}-I_0$ , los tiempos de recuperación y respuesta fueron del mismo orden para todas las cantidades y la mayor estabilidad temporal se consiguió con esta cantidad.

### **Optimización del surfactante Tween 20**

Se probaron cantidades comprendidas entre 0,019 % y 1,147 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.12 y en la figura 4.5 se recogen estas cantidades frente a  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.12. Efecto de la Concentración de Tween 20 en la membrana C1.

[Tween20] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,019	60,0
0,038	80,0
0,076	120,0
0,229	254,0
0,382	286,5
0,764	137,0
0,917	80,0
1,147	65,0

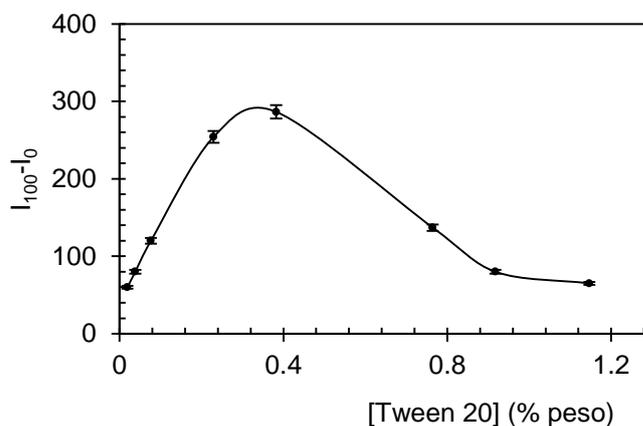


Figura 4.5. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C2.

Como se puede ver, la concentración de Tween 20 que dio los mejores resultados fue la de 0,382% en peso sobre el total del cóctel.

### 3.1.2. Optimización de los componentes de cóctel C2 conteniendo LI-II

#### Optimización de TMAOH

Se ensayaron las siguientes cantidades expresadas en relación molar TMAOH/In recogidas en la tabla 4.13 y representadas en la figura 4.5 frente al parámetro de optimización.

Tabla 4.13. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C2

TMAOH/In (moles)	$I_{100}-I_0$
75,7	80
76,5	145
79,6	303,7
83,6	250
85,2	198
87,6	125
89,2	87
91,6	66

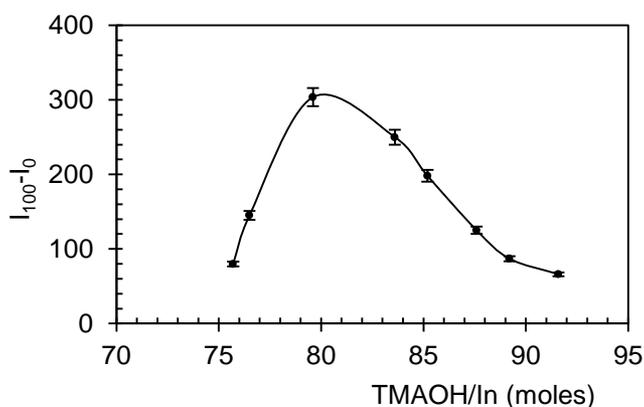


Figura 4.6. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C2.

Como se puede apreciar en las representaciones, la cantidad que dio el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  medido en membrana fue la relación molar TMAOH/In 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH añadidos al cóctel.

### **Optimización del polímero HPMC**

Se ensayaron distintas disoluciones polímero previamente disueltas en agua. Las concentraciones de dichas disoluciones acuosas fueron del 0,25% al 2% en peso. Después de añadir 1 ml de cada una a los respectivos cócteles para formar distintas membranas, se midió el parámetro de optimización. La tabla 4.14 y la figura 4.7 muestran los valores medidos de  $I_{100}-I_0$  en función de las distintas concentraciones porcentuales de HPMC presentes en el cóctel.

Tabla 4.14. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C2.

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,389	160,0
1,042	245,0
0,694	303,7
0,521	258,0
0,347	190,0
0,174	125,0

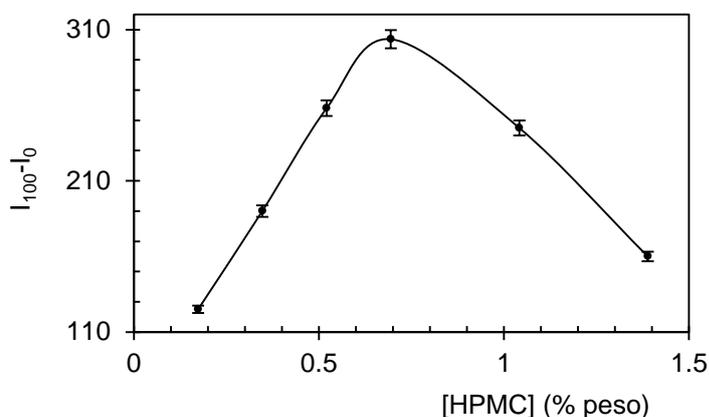


Figura 4.7. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C2.

Tal y como nos revelan los resultados la concentración de HPMC que originó el mayor valor del parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$  fue la de 0,694 % en peso, que se corresponde a 1 ml de disolución acuosa de HPMC del 1% añadida al cóctel. Para concentraciones superiores a esta se producían precipitaciones del polímero una vez formada la membrana y para concentraciones inferiores se obtenían membranas heterogéneas y con malas propiedades ópticas.

### **Optimización de la cantidad de LI-II**

Para llevar a cabo a optimización de este líquido iónico (cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio) se probaron cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg añadidos al cóctel. Se prepararon las respectivas membranas, midiéndose para

cada una el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ . En la tabla 4.15 y figura 4.8 quedan representados estos valores expresados en tanto por ciento en peso.

Tabla 4.15. Influencia de la concentración de LI-II en la membrana C2.

[LI-II] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	245,0
0,0174	260,0
0,0347	279,9
0,0694	303,7
0,1389	247,0
0,1737	205,0

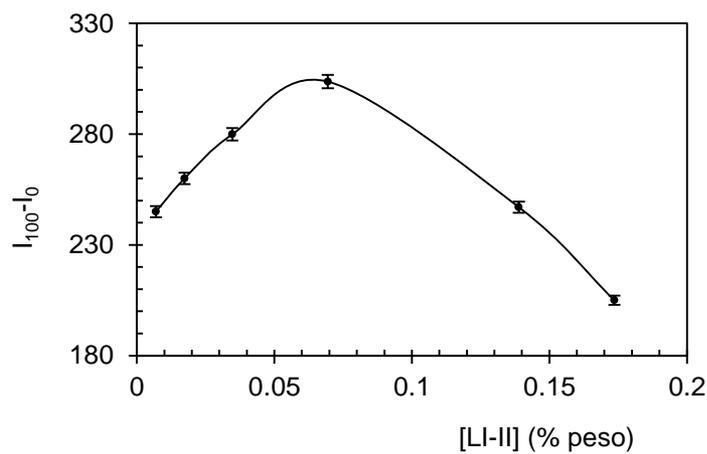


Figura 4.8. Influencia de la concentración de LI-II en la membrana C2.

Como se puede apreciar en las representaciones la concentración de LI-II que origino la membrana de mayor valor para  $I_{100}-I_0$ , fue de 0,0694 % en peso, que es lo que se corresponde a 1 mg de LI-II añadido al cóctel. Sin embargo se eligió como óptima la de 0,1389 % en peso que corresponde a 2 mg añadidos al cóctel, porque incluso teniendo tiempos de recuperación y respuesta muy parecidos, dio mejores resultados en cuanto a estabilidad en el tiempo, como se verá más adelante.

**Optimización de surfactante Tween 20**

Fueron ensayadas cantidades comprendidas entre 0,019 % y 1,149 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.16 y en la figura 4.9 se recogen estas cantidades frente  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.16. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C2.

[Tween 20] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,019	76,0
0,038	95,0
0,076	130,0
0,229	264,0
0,382	303,7
0,764	130,0
0,917	90,0
1,149	70,0

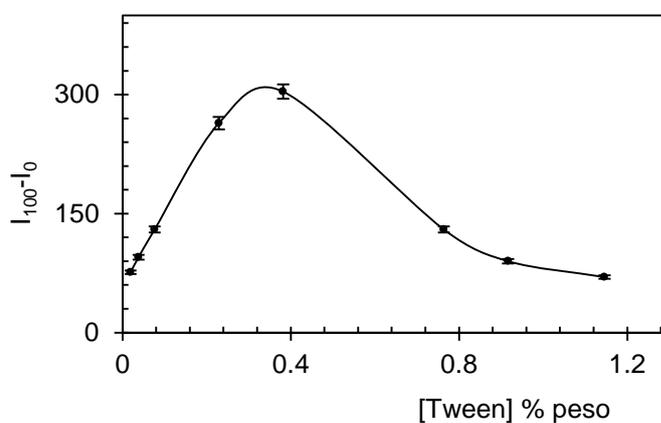


Figura 4.9. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C2

Como se puede ver, la concentración que proporcionó el mayor valor de  $I_{100}-I_0$ , fue la 0,382 % de Tween 20 sobre el total del cóctel.

### 3.1.3. Optimización de los componentes de cóctel C3 conteniendo LI-III

#### Optimización de TMAOH

Se probaron las distintas cantidades expresadas en relación molar TMAOH/In recogidas en la tabla 4.17 y representadas en la figura 4.10 frente al parámetro de optimización.

Tabla 4.17. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C3.

TMAOH/In (moles)	$I_{100}-I_0$
75,7	60,0
76,5	90,0
79,6	280,7
83,6	220,0
85,2	175,0
87,6	115,0
89,2	90,0
91,6	67,0

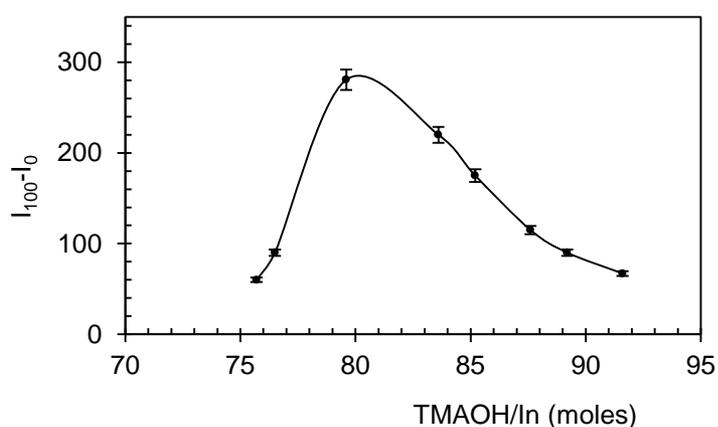


Figura 4.10. Influencia de la concentración de TMAOH en el cóctel C3.

Viendo los resultados después de hacer las correspondientes medidas, el cóctel cuyas membranas originaron el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  fue aquel con una

relación molar (TMAOH/In) de 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH añadidos al total del mismo.

### **Optimización de polímero del HPMC**

Fueron preparadas disoluciones de polímero disuelto en agua. Las concentraciones de dichas disoluciones acuosas fueron del 0,25% al 2% de HPMC. Después de añadir 1 ml de cada una a los respectivos cócteles para formar distintas membranas, se midió el parámetro de optimización para cada una de ellas. En la tabla 4.18 y en la figura 4.11 se muestran los valores medidos de  $I_{100}-I_0$  en función de las distintas concentraciones de HPMC estudiadas.

Tabla 4.18. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C3.

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,389	155,0
1,043	235,0
0,695	280,7
0,521	245,0
0,347	180,0
0,174	110,0

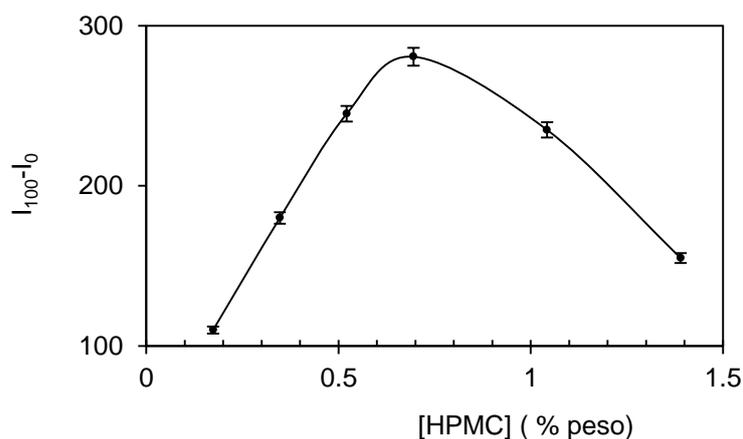


Figura 4.11. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C3.

Como se puede observar la concentración de HPMC que arrojó el mejor valor de  $I_{100}-I_0$  fue la de 0,695 % en peso, que se corresponde a 1 ml de disolución acuosa de HPMC 1% previamente preparada. Para concentraciones

superiores a esta se producían, como en anteriores ocasiones, precipitaciones del polímero una vez formada la membrana y para concentraciones inferiores se obtenían membranas heterogéneas y con malas propiedades ópticas.

### **Optimización del LI-III**

Para llevar a cabo a optimización de este líquido iónico (tetrafluoroborato de 1-dodecil-3-metilimidazolio), se ensayaron cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg en el cóctel. Se prepararon las respectivas membranas, midiéndose el parámetro de optimización para cada una de ellas. En la tabla 4.19 y figura 4.12 quedan representados estos valores expresados en tanto por ciento en peso.

Tabla 4.19. Influencia de la concentración de LI-III en la membrana C3.

[LI-III] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	140,0
0,0174	200,0
0,0347	280,7
0,0694	176,9
0,1389	178,2
0,1737	170,0

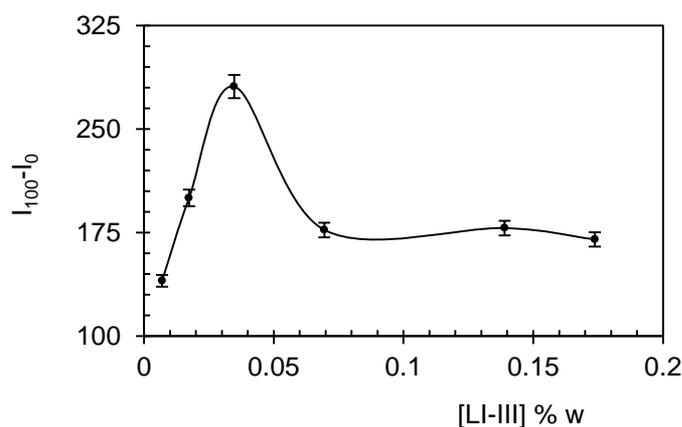


Figura 4.12. Influencia de la concentración de LI-III en la membrana C3.

A la vista de los resultados la concentración de LI-III que dio lugar en la membrana al mayor valor de  $I_{100}-I_0$  fue de 0,0347 % en peso, que es lo que se

corresponde a 0,5 mg de LI-III añadido al cóctel. Sin embargo se obtuvieron mejores tiempos de recuperación y respuesta para la membrana preparada con 0,0694 % de LI-III sobre la composición del cóctel, es decir la correspondiente a 1 mg añadido.

### **Optimización de surfactante Tween 2**

Se ensayaron concentraciones comprendidas entre 0,019 % y 1,147 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.20 y en la figura 4.13 se recogen estas cantidades frente  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.20. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C3

<b>[Tween 20] (% peso)</b>	<b><math>I_{100}-I_0</math></b>
0,019	74,0
0,038	85,0
0,076	125,0
0,229	254,0
0,382	280,7
0,764	125,0
0,917	88,0
1,147	65,0

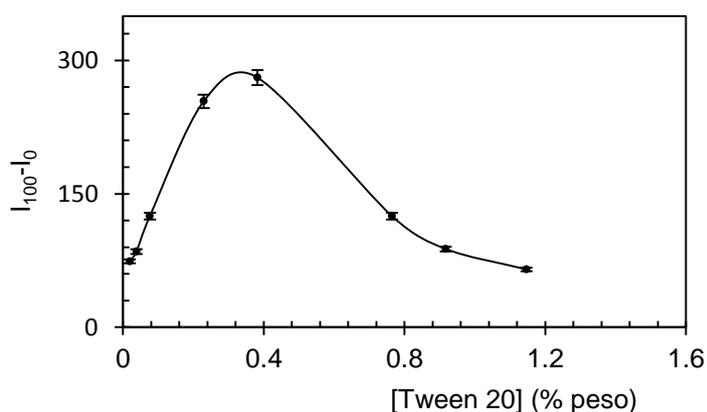


Figura 4.13. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C3.

Como se puede ver, la concentración de Tween 20 en % peso que aporta una mayor valor de  $I_{100}-I_0$  a la membrana es la de 0,382 % en peso en el cóctel.

El sensor C3 no se llegó a caracterizar por no aportar una mejora en tiempos de vida, ya que a los tres días el valor de  $I_{100}-I_0$  experimentó un descenso del 20%.

### 3.1.4. Optimización de los componentes de cóctel C4 conteniendo LI-IV.

#### Optimización de TMAOH

Se ensayaron las siguientes cantidades expresadas en relación molar TMAOH/In recogidas en la tabla 4.21 y representadas en la figura 4.14 frente al parámetro de optimización.

Tabla 4.21. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C4.

TMAOH/In (moles)	$I_{100}-I_0$
75,7	87,0
76,5	150,0
79,6	305,9
83,6	245,0
85,2	200,0
87,6	130,0
89,2	85,0
91,6	70,0

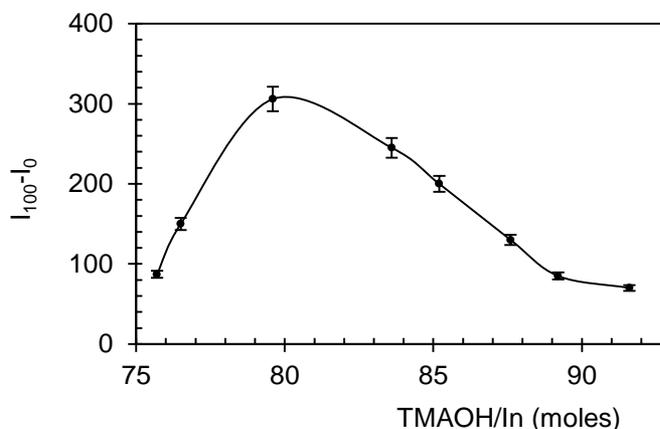


Figura 4.14. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C4.

Según muestran las representaciones, la concentración que originó el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  en membrana fue la relación molar TMAOH/In de 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH añadidos al cóctel.

### **Optimización de la concentración de polímero HPMC**

Fueron ensayadas distintas disoluciones polímero previamente disuelto en agua. Las concentraciones de dichas disoluciones acuosas se encontraron comprendidas entre el 0,25% y el 2% de HPMC. Después de añadir 1 ml de cada una a los respectivos cócteles para formar distintas membranas, se midió el parámetro de optimización.

De este modo se recogen tanto en la tabla 4.22 como en la figura 4.15 los valores medidos de  $I_{100}-I_0$  en función de las distintas concentraciones en tanto % e peso de HPMC sobre el total del cóctel.

Los resultados indican que la concentración de HPMC que dio el mayor valor del parámetro de optimización fue la de 0,695 % en peso, que se corresponde a 1 ml de disolución HPMC al 1% en agua, añadida al cóctel.

Para cantidades superiores a la óptima se producían, como en anteriores ocasiones, precipitaciones del polímero en la membrana y concentraciones inferiores originaban membranas heterogéneas y con malas propiedades ópticas.

Tabla 4.22. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C4.

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,390	165,0
1,043	250,0
0,695	305,9
0,521	255,0
0,348	195,0
0,174	150,0

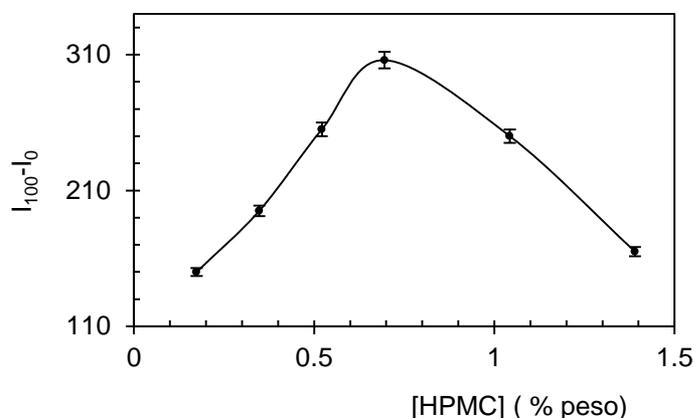


Figura 4.15. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C4.

### Optimización del LI-IV

Para llevar a cabo a optimización de este líquido iónico (cloruro de 1-decil-3-metilimidazolio) se probaron cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg en el cóctel.

Se prepararon las respectivas membranas, midiéndose para cada una el parámetro de optimización mostrándose en la tabla 4.23 y figura 4.16 los resultados obtenidos.

Tabla 4.23. Influencia de la concentración de LIV en la membrana C4.

LI-IV (% Peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	215,0
0,0174	250,0
0,0347	305,9
0,0694	297,3
0,1389	249,7
0,1737	220,0

Según muestran los resultados la concentración de LI-IV que dio en la membrana el mayor valor para  $I_{100}-I_0$ , fue de 0,0347 % en peso, que es lo que se corresponde a 0,5 mg de LI-IV añadido al cóctel.

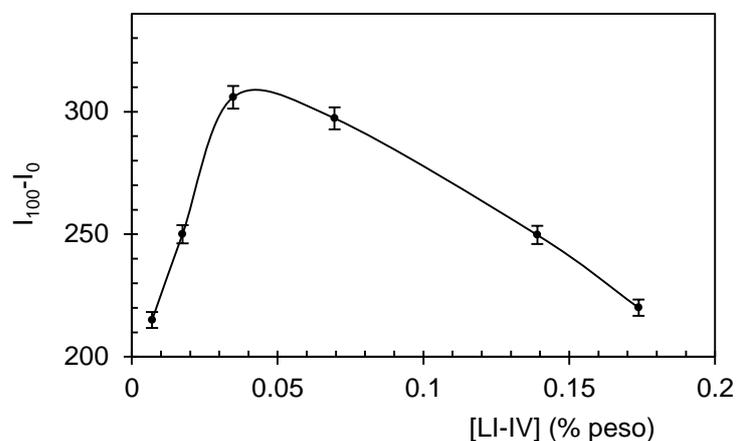


Figura 4.16. Influencia de la concentración de LI-IV en la membrana C4.

### Optimización de surfactante Tween 20

Se probaron varias concentraciones comprendidas entre 0,019 % y 1,147 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.24 y en la figura 4.17 se recogen estas cantidades frente  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.24. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C4.

[Tween 20] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,019	84,0
0,038	95,0
0,076	130,0
0,229	250,0
0,382	305,9,0
0,765	128,0
0,918	91,0
1,147	73,0

Se obtiene que la concentración de Tween 20 que aporta a la membrana el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  es de 0,382 % en peso en el cóctel.

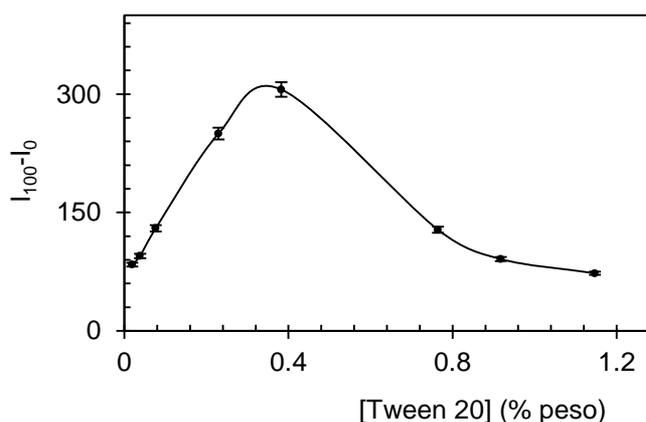


Figura 4.17. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C4.

El sensor C4 aportó buenos tiempos de respuesta, tiempos de recuperación muy lentos (del orden de 2,5 min) sin aportar mejoras en cuanto a estabilidad en el tiempo (a las 24 horas  $I_{100}-I_0$  experimentó un descenso de 15 %) de ahí que no se llegara a caracterizar.

### 3.1.5. Optimización de los componentes de cóctel C5 conteniendo LI-V

#### Optimización de TMAOH

Se estudiaron las cantidades recogidas a continuación en la tabla 4.25 y representadas en la figura 4.18, expresadas en relación molar TMAOH/In recogidas frente al parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ .

Según nos aportan los resultados, la cantidad que dio el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  medido en membrana fue la relación molar (TMAOH/In) de 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH añadidos al cóctel.

Tabla 4.25. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C5.

TMAOH/ln (moles)	$I_{100}-I_0$
75,7	88,0
76,5	120,0
79,6	305,0
83,6	270,0
85,2	230,0
87,6	150,0
89,2	86,0
91,6	72,0

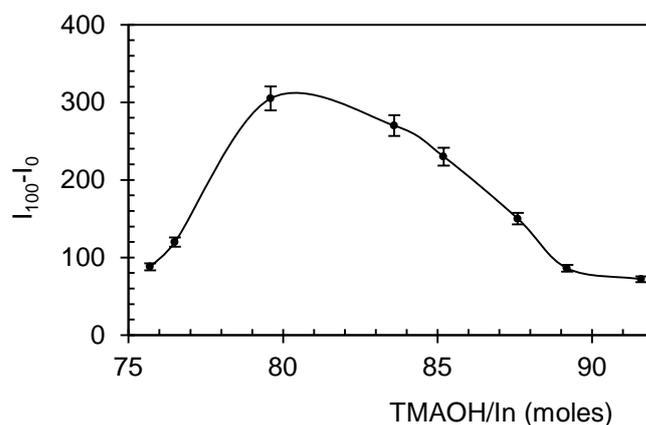


Figura 4.18. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C5.

### **Optimización de polímero del HPMC**

Se probaron distintas disoluciones polímero previamente disuelto en agua comprendidas entre 0,25 y 2% de HPMC. Después de añadir 1 ml de cada una de dichas disoluciones a los respectivos cócteles para formar distintas membranas, se midió el parámetro de optimización mostrándose los valores de  $I_{100}-I_0$  obtenidos para cada caso en la tabla 4.26 y en la figura 4.19.

Tabla 4.26. Influencia de la concentración de HPMC En la membrana C5.

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,389	200,0
1,042	225,0
0,695	305,0
0,521	300,0
0,347	282,0
0,174	250,0

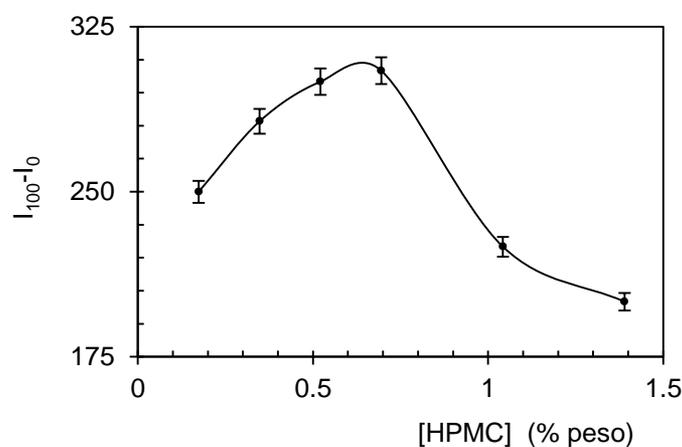


Figura 4.19. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C5.

Como se observa en las representaciones, la concentración de HPMC que dio el mayor valor del parámetro de optimización fue la de 0,695 % en peso, que se corresponde a 1 ml de disolución HPMC al 1% en agua, añadida al cóctel. Concentraciones superiores a esta se producían precipitaciones del polímero en la membrana y concentraciones inferiores originaban membranas heterogéneas y con malas propiedades ópticas.

### **Optimización del LI-V**

Para llevar a cabo la optimización de este líquido iónico (cloruro de 1-dodecil-3-metilimidazolio) se ensayaron cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg en el cóctel. Se prepararon las respectivas membranas, midiéndose para

cada una el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ . En la tabla 4.27 y figura 4.20 quedan representados estos valores encontrados.

Tabla 4.27. Influencia de la concentración de LI-V en la membrana C5

[LI-V] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	140,0
0,0174	201,0
0,0347	282,9
0,0695	305,0
0,1389	220,0
0,1737	170,0

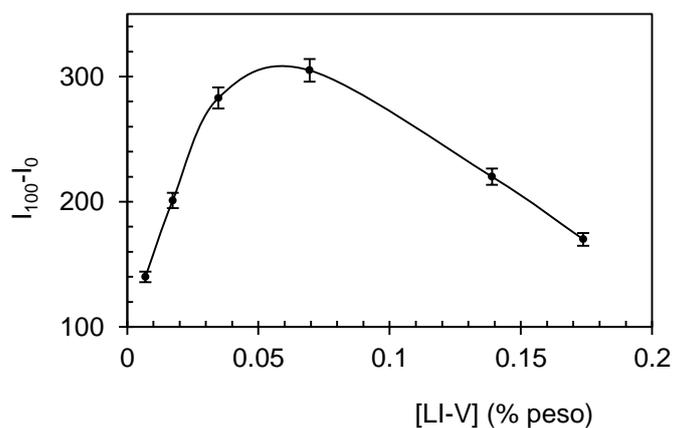


Figura 4.20. Influencia de la concentración de LI-V en la membrana C5

Como nos muestran los resultados la concentración de LI-V que proporcionó a la membrana el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  fue de 0,0695 % en peso, que se corresponde a 1 mg de LI-V en el cóctel.

### **Optimización de surfactante Tween 20**

Se probaron concentraciones comprendidas entre 0,019 % y 1,147 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.28 y en la figura 4.21 se recogen estas cantidades frente  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.28. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C5.

[Tween20] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,019	60,0
0,038	76,0
0,076	110,0
0,229	240,0
0,382	305,0
0,764	119,0
0,917	83,0
1,147	61,0

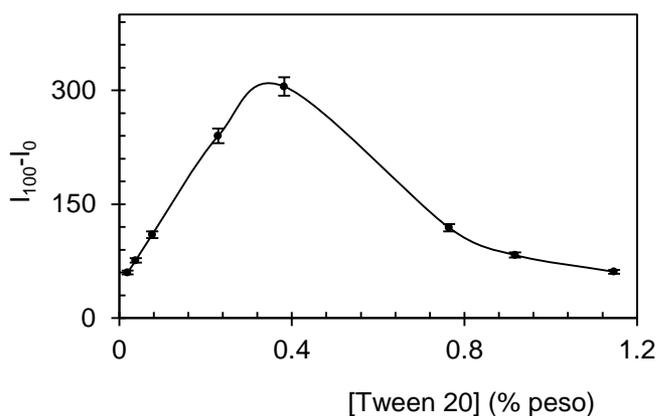


Figura 4.21. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C5.

Viendo los datos representados se determinó que la concentración óptima de Tween 20 para el cóctel de esta membrana fue de 0,382 % en peso.

Estas membranas dieron tiempos de respuesta y recuperación altos (de 1 y 3 minutos respectivamente), así como membranas poco homogéneas y con cierta opacidad, no aportando mejoras a los tiempos de vida ya que a las 24 horas el valor de  $I_{100}-I_0$  experimentó un descenso del 16%. Dicho lo cual, el sensor C4 tampoco se llegó a caracterizar.

### 3.1.6. Optimización de los componentes de cóctel C6 conteniendo LI-VI

#### Optimización de TMAOH

Se probaron las siguientes cantidades expresadas en relación molar TMAOH/In recogidas en la tabla 4.29 y representadas en la figura 4.22 frente al parámetro de optimización.

Tabla 4.29. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C6.

TMAOH/In (moles)	$I_{100}-I_0$
75,7	79,0
76,5	139,0
79,6	302,0
83,6	240,0
85,2	185,0
87,6	115,0
89,2	87,0
91,6	68,0

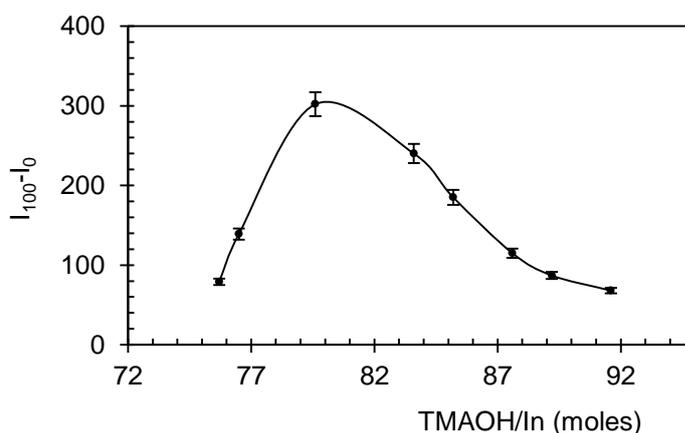


Figura 4.22. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C6.

A la vista de los resultados, la cantidad que dio el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  medido en membrana fue la relación molar (TMAOH/In) de 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH en el cóctel.

### Optimización de la concentración de polímero HPMC

Se estudiaron distintas disoluciones acuosas de polímero, desde 0,25%, al 2% de HPMC. Después de añadir 1 ml de cada una a los respectivos cócteles se prepararon las distintas membranas y se midió el parámetro de optimización. Se recogen tanto en la tabla 4.30 como en la figura 4.23 los valores medidos de  $I_{100}-I_0$  en función de las distintas concentraciones ensayadas.

Tabla 4.30. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C6.

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,389	200,0
1,042	225,0
0,695	305,0
0,521	300,0
0,347	282,0
0,174	250,0

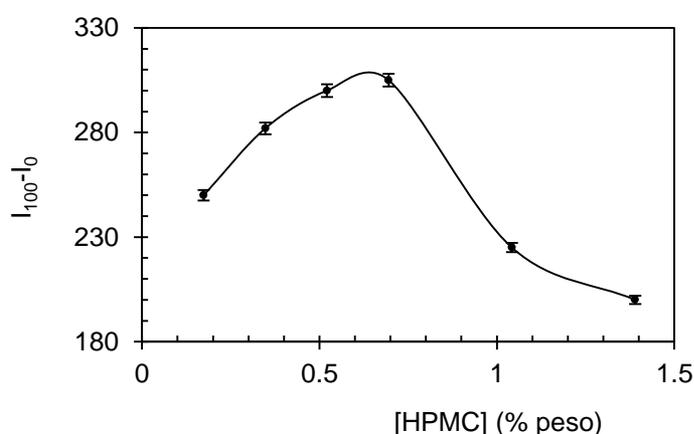


Figura 4.23. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C6.

Los resultados indican que la concentración de HPMC que origina el mayor valor del parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$  fue la de 0,695 % en peso, que se corresponde a la adición de 1 ml de disolución HPMC al 1% en agua en el cóctel.

### Optimización del LI-VI

Para llevar a cabo la optimización del líquido iónico tetrafluoroborato de 1-hexil-3-metilimidazolio se estudiaron las cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg en el cóctel. Se prepararon las respectivas membranas, midiéndose para cada una el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ . En la tabla 4.31 figura 4.24 quedan representados los resultados obtenidos.

Tabla 4.31. Influencia de la concentración de LI-VI en la membrana C6.

[LI-VI] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	240,0
0,0174	250,0
0,0347	269,0
0,0695	294,5
0,1042	302,0
0,1389	236,0
0,1737	170,0

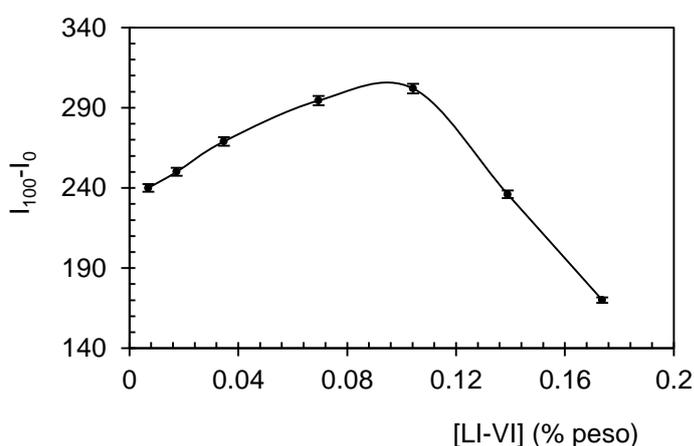


Figura 4.24. Influencia de la concentración de LI-VI en la membrana C6.

Según nos muestran los resultados, la concentración de LI-VI que originó la membrana de mayor valor para  $I_{100}-I_0$ , fue de 0,1042 % en peso, que es lo que se corresponde a 1,5 mg de LI-VI en el cóctel. Sin embargo se eligió como

cantidad óptima de LI-VI la de 0,0695 % en peso, que corresponde a 1 mg de LI-VI, porque aunque los tiempos de recuperación eran del mismo orden que el para el resto de las cantidades, mostraba mejor estabilidad en el tiempo, como se verá más adelante.

### Optimización de surfactante Tween 20

Se probaron concentraciones comprendidas entre 0,019 % y 1,147 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.32 y en la figura 4.25 se recogen estas cantidades frente  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.32. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C6.

[Tween 20] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,019	66,0
0,038	79,0
0,076	105,0
0,229	238,0
0,382	302,0
0,764	117,0
0,917	74,0
1,147	53,0

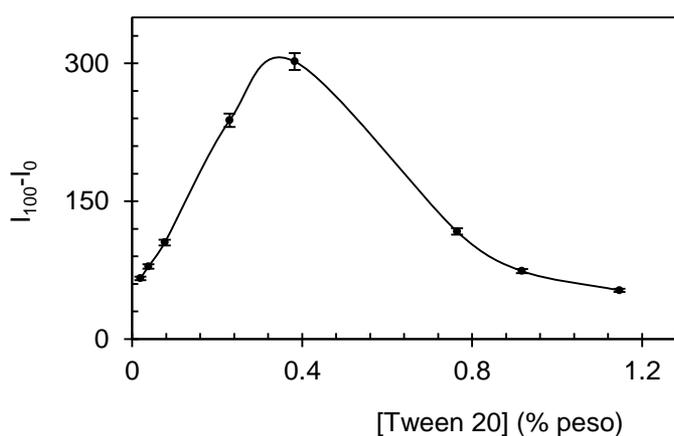


Figura 4.25. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C6.

Después de representados los datos medidos podemos ver que la concentración en el cóctel que aportó a la membrana el mayor valor de  $I_{100} - I_0$  fue la de 0,382 % en peso.

### 3.1.7. Optimización de los componentes de cóctel C7 conteniendo LI-VII

#### Optimización de TMAOH

Se probaron las siguientes cantidades expresadas en relación molar TMAOH/In recogidas en la tabla 4.33 y representadas en la figura 4.26 frente al parámetro de optimización.

Tabla 4.33. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C7

TMAOH/In (moles)	$I_{100} - I_0$
75,7	80,0
76,5	160,0
79,6	345,4
83,6	265,0
85,2	200,0
87,6	130,0
89,2	86,0
91,6	67,0

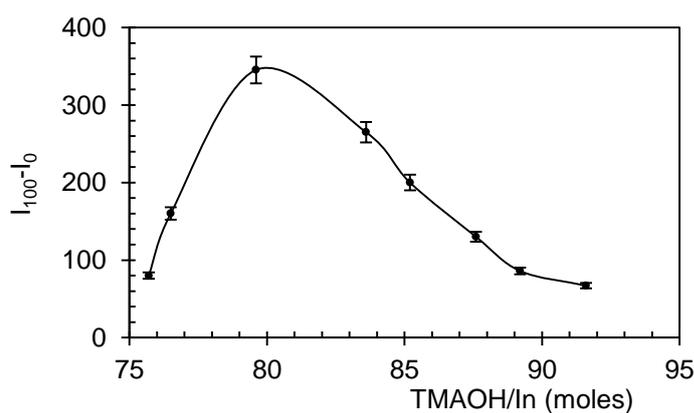


Figura 4.26. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C7.

A la vista de los resultados, la cantidad que proporcionó el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  fue la relación molar TMAOH/In 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH en el cóctel.

### **Optimización de la concentración de polímero HPMC**

Se probaron distintas disoluciones de polímero en agua desde 0,25% a 2% de HPMC. Una vez añadido 1 ml de cada una de las disoluciones a los respectivos cócteles para formar las membranas, se midió el parámetro de optimización para todas ellas. Se recoge tanto en la tabla 4.28 como en la figura 4.34 los valores medidos de  $I_{100}-I_0$  en función de las distintas concentraciones ensayadas.

Tabla 4.34. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C7

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,389	150,0
1,042	260,0
0,695	345,4
0,521	270,0
0,347	188,0
0,174	140,0

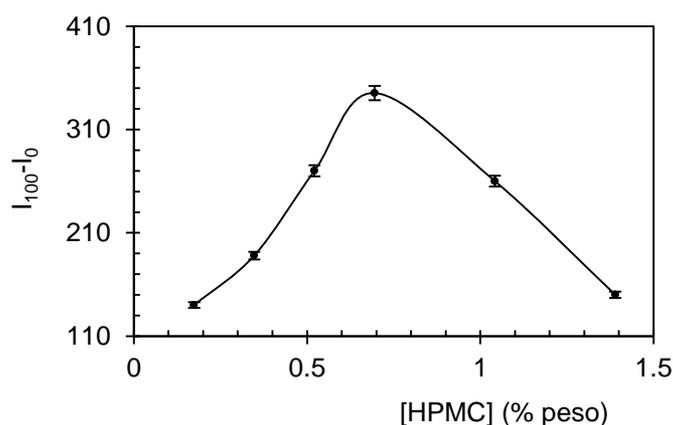


Figura 4.27. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C7.

Los resultados nos muestran que la concentración de HPMC que mostró el mayor valor del parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$  fue la de 0,695 % en peso,

que se corresponde a 1 ml de disolución acuosa de HPMC al 1% añadida al cóctel.

### **Optimización del LI-VII**

Para llevar a cabo la optimización del líquido iónico 1-etil-3-metilimidazolio bis (trifluorometilsulfonil) imida se ensayaron cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg en el cóctel. Se prepararon las respectivas membranas, midiéndose para cada una el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ . En la tabla 4.35 y figura 4.28 quedan representados los valores encontrados.

Tabla 4.35. Influencia de la concentración de LI-VII en la membrana C7.

[LI-VII] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	220,0
0,0174	250,0
0,0347	291,5
0,0695	345,4
0,1042	262,0
0,1389	260,0
0,1737	250,0

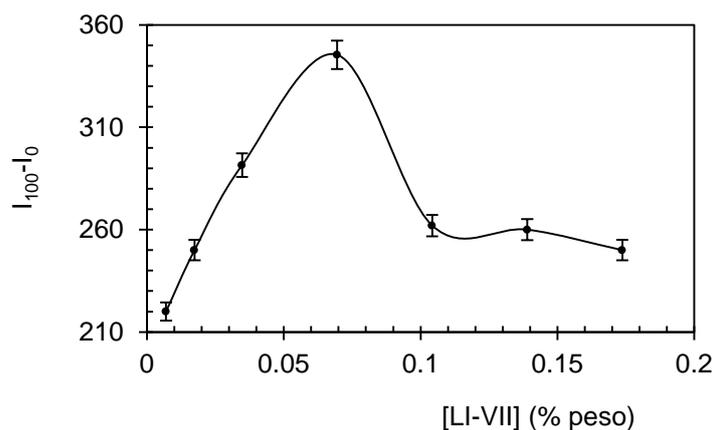


Figura 4.28. Influencia de la concentración de LI-VII en la membrana C7.

A la vista de los resultados la concentración de LI-VII que dio en la membrana el mayor valor para  $I_{100}-I_0$  fue de 0,0695 % en peso, que es lo que se

corresponde a 1 mg de LI-VII en el cóctel. Se usó esta cantidad como óptima para formar la membrana, porque además aportó tiempos de respuesta y recuperación muy buenos y una extraordinaria estabilidad en el tiempo.

### **Optimización de surfactante Tween 20**

Se ensayaron concentraciones comprendidas entre 0,019 % y 1,147 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.36 y en la figura 4.29 las cantidades frente a  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.36. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C7.

[Tween 20] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,019	75,0
0,038	89,0
0,076	117,0
0,229	255,0
0,382	345,4
0,764	115,0
0,917	80,0
1,147	73,0

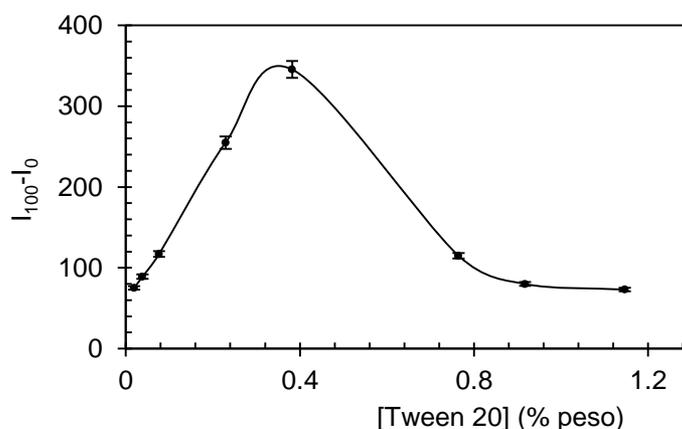


Tabla 4.29. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C7.

A la vista de los datos, la concentración de Tween 20 en el cóctel que originó un mayor valor de  $I_{100} - I_0$  fue la de 0,382 % en peso.

### 3.1.8. Optimización de los componentes de cóctel C8 conteniendo LI-VIII

#### Optimización de TMAOH

Se emplearon las siguientes cantidades expresadas en relación molar TMAOH/In recogidas en la tabla 4.37 y representadas en la figura 4.30 frente al parámetro de optimización.

Tabla 4.37. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C8.

TMAOH/In (moles)	$I_{100} - I_0$
75,7	77,0
76,5	150,0
79,6	342,4
83,6	260,0
85,2	200,0
87,6	130,0
89,2	88,0
91,6	70,0

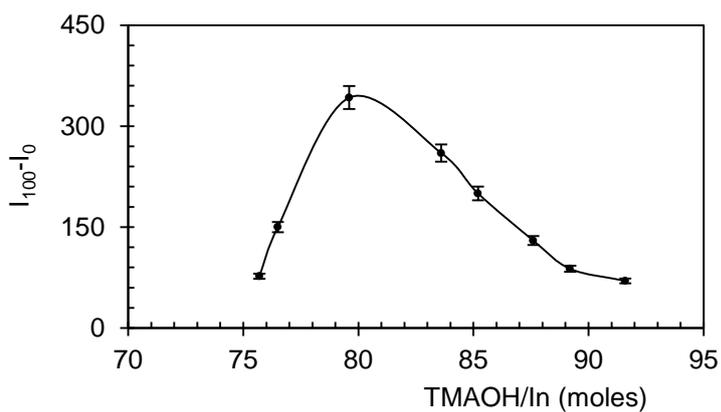


Figura 4.30. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana C8.

Los resultados nos muestran que la cantidad que dio el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  medido en membrana fue la relación molar (TMAOH/In) de 79,6 que corresponde a 12,1 mg de TMAOH en el cóctel.

### **Optimización de la concentración del polímero HPMC**

Se probaron distintas disoluciones acuosas de polímero, desde el 0,1% a 2,5 % de HPMC. Tras añadir 1 ml de cada una a los respectivos cócteles para formar las membranas, se midió el parámetro de optimización. Se muestran en la tabla 4.38 y en la figura 4.31 los valores medidos de  $I_{100}-I_0$  en función de las concentraciones estudiadas.

Tabla 4.38. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C8.

[HPMC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,390	165
1,043	260
0,695	342,4
0,521	277
0,348	197
0,174	145

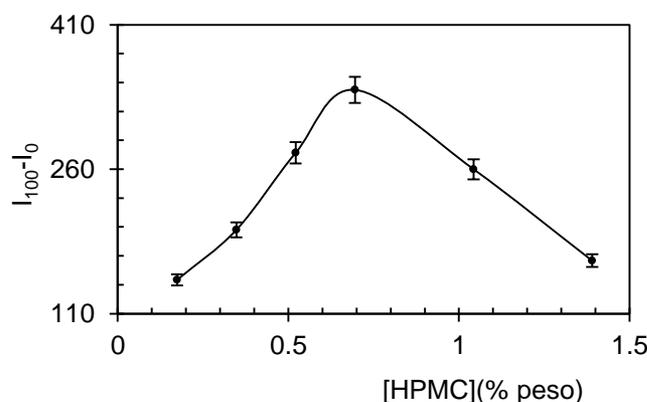


Figura 4.31. Influencia de la concentración de HPMC en la membrana C8.

La concentración de HPMC que proporcionó el mayor valor del parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$  fue la de 0,695 % en peso, que se corresponde a 1 ml de disolución HPMC al 1% en el cóctel.

### Optimización del LI-VIII

Para llevar a cabo la optimización del líquido iónico cloruro de 1- metil- 3- octilimidazolio se estudiaron cantidades comprendidas entre 0,1 y 2,5 mg en el cóctel. Tras preparar las respectivas membranas, se midió el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ . En la tabla 4.39 y figura 4.32 quedan representados los valores obtenidos.

Tabla 4.39. Influencia de la concentración de LI-VIII en la membrana C8.

LI-VIII (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0069	190,0
0,0174	250,0
0,0348	334,0
0,0695	342,4
0,1043	320,0
0,1390	260,0
0,1734	210,0

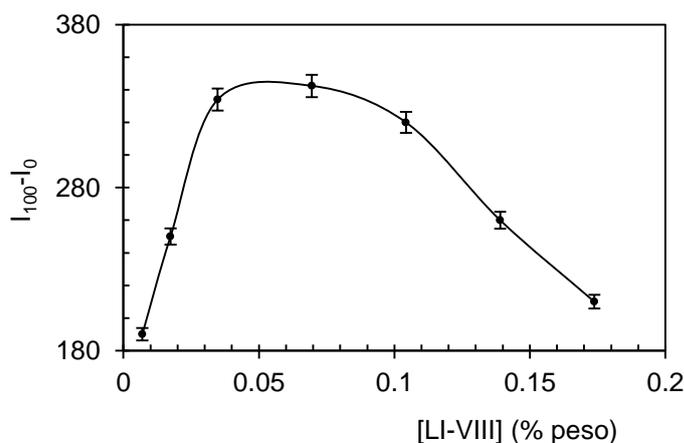


Figura 4.32. Influencia de la concentración de LI-VIII en la membrana C8.

Los resultados nos muestran que la concentración de LI-VIII que originó el mayor valor para  $I_{100}-I_0$  fue de 0,0695 % en peso, lo que se corresponde a 1 mg de LI-VIII en el cóctel. Sin embargo la que se tomó como cantidad óptima de LI-VIII para esta membrana fue la de 0,0348 % en peso, que corresponde a 0,5 mg, porque se obtiene una membrana más estable.

### **Optimización de surfactante Tween 20**

Se probaron concentraciones comprendidas entre 0,019 % y 1,147 % en peso sobre el total del cóctel. En la tabla 4.40 y en la figura 4.33 se recogen estas cantidades frente  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 4.40. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C8.

<b>[Tween 20] (% peso)</b>	<b><math>I_{100}-I_0</math></b>
0,019	74,0
0,038	90,0
0,076	118,0
0,229	270,0
0,382	342,4
0,764	140,0
0,917	90,0
1,147	81,0

Como muestran las representaciones, la concentración de Tween 20 en el cóctel que arrojó los mejores valores de  $I_{100}-I_0$  en la membrana fue la de 0,382 % en peso.

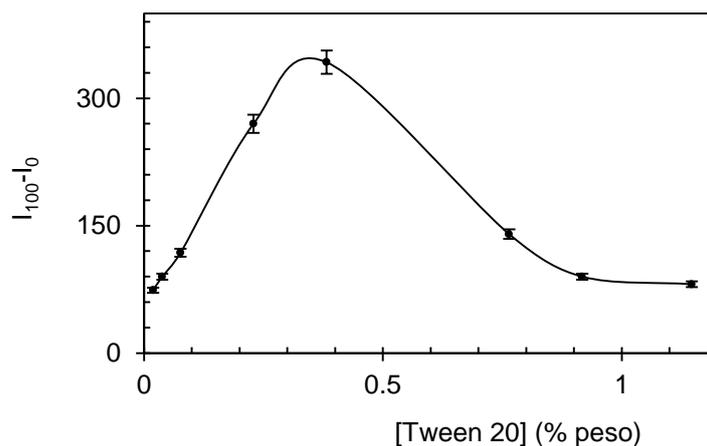


Figura 4.33. Influencia de la concentración de Tween 20 en la membrana C8.

### 3.2. Respuesta de las membranas sensoras a CO<sub>2</sub>

Para estudiar la respuesta de cada sensor se ha utilizado la función respuesta obtenida al representar frente a concentraciones conocidas de CO<sub>2</sub> la respuesta  $I_{100}-I_0$ , siendo  $I$  la intensidad de fosforescencia medida a una concentración de CO<sub>2</sub> conocida e  $I_0$  la intensidad de fosforescencia a 100% de CO<sub>2</sub>. Esta función de respuesta se linealiza de la misma manera empleada en el capítulo anterior de acuerdo con la ecuación propuesta por Nakurama y Amao [31] (ec. 2.6).

Como se ha justificado en la optimización se descartaron los sensores C3, C4 y C5. Se ha medido la respuesta a aquellos sensores de membrana que han aportado el mejor compromiso entre el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ , los tiempos de respuesta y recuperación y estabilidad en el tiempo. Estos son los sensores de membrana C1, C2, C6, C7 y C8, con unos espesores de membrana calculados de 5,1  $\mu\text{m}$ , 5,3  $\mu\text{m}$ , 5,1  $\mu\text{m}$  y 5,0  $\mu\text{m}$  respectivamente.

#### 3.2.1. Respuesta del sensor de membrana C1

En la figura 4.34 se representa la respuesta de la membrana optimizada registrando los valores de intensidades de fosforescencia en el rango 0-100% de CO<sub>2</sub>. Se trata de una curva con un rango dinámico hasta el 30% de CO<sub>2</sub> aproximadamente, a partir del cual la señal se independiza de la concentración de CO<sub>2</sub>.

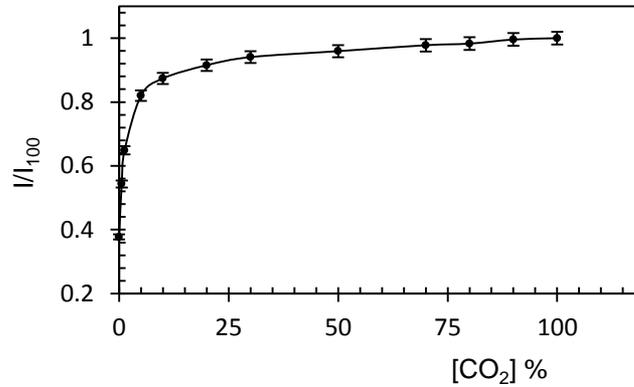


Figura 4.34. Curva de respuesta del sensor de membrana C1

En la figura 4.35 se muestra la correspondiente linealización de la respuesta del sensor, según ecuación ya indicada con un buen ajuste ( $R^2=0,9979$ ).

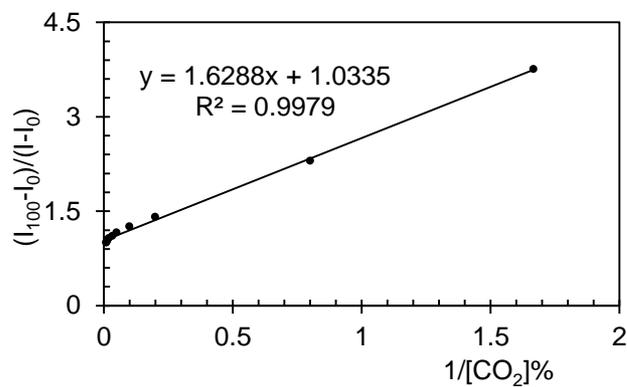


Fig. 4.35. Linealización de la respuesta del sensor de membrana C1.

Se muestran a continuación en la tabla 4.41 los parámetros de calibración del sensor C1.

Tabla 4.41. Parámetros analíticos de calibración del sensor C1

Parámetros analíticos	Resultados
$I_{100} - I_0$	$286 \pm 1,6$
Pendiente	$1,629 \pm 0,001$
O. O.	$1,03 \pm 0,04$
$R^2$	$0,9979$

### 3.2.2. Respuesta del sensor de membrana C2.

En la figura 4.36 se puede ver representada la respuesta de la membrana tras medir los valores de intensidad de fosforescencia en el rango de medida de 0 a 100% de CO<sub>2</sub>. Se puede observar una curva con un rango dinámico hasta el 40% aproximadamente de CO<sub>2</sub> partir del cual la señal se hace independiente de la concentración de CO<sub>2</sub>.

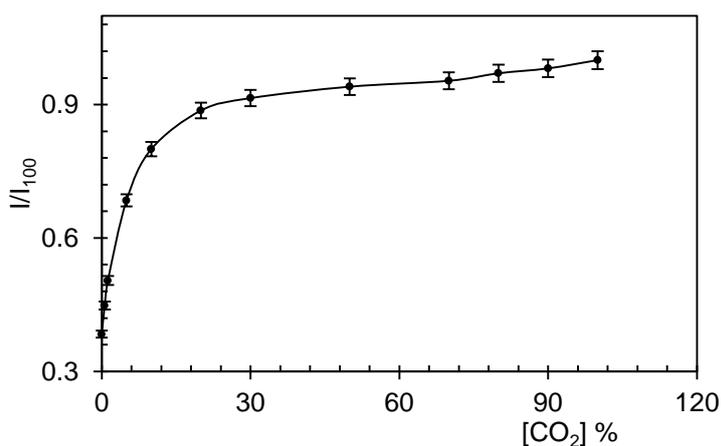


Figura 4.36. Curva de respuesta del sensor de membrana C2.

En la figura 4.37 se muestra la correspondiente linealización de la respuesta del sensor con ajuste muy bueno ( $R^2=0,9999$ ).

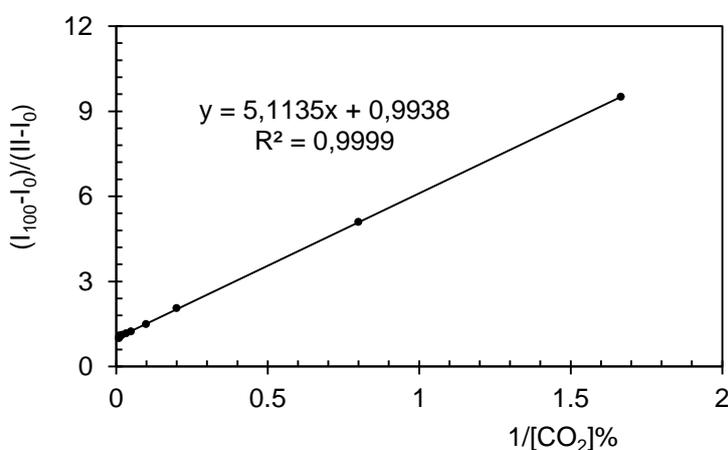


Fig. 4.37. Linealización de la respuesta del sensor de membrana C2.

En la tabla 4.42 se recogen los parámetros analíticos de calibración de este sensor.

Tabla 4.42. Parámetros analíticos de calibración del sensor C2.

Parámetros analíticos	Resultados
$I_{100} - I_0$	$281 \pm 1,3$
Pendiente	$5,113 \pm 0,001$
O. O.	$0,99 \pm 0,04$
$R^2$	0,9999

### 3.2.3. Respuesta del sensor de membrana C6.

En la figura 4.38 se puede ver la respuesta de la membrana C6. Se trata de una curva con un rango dinámico entre el 0% y el 30 % aproximadamente de CO<sub>2</sub>, a partir del cual la señal se vuelve independiente de la concentración de CO<sub>2</sub>.

En la la figura 4.39 se representa la correspondiente linealización de la respuesta del sensor con un buen ajuste ( $R^2=0,9977$ ), recogiendo en la tabla 4.43 los parámetros analíticos de calibración de este sensor.

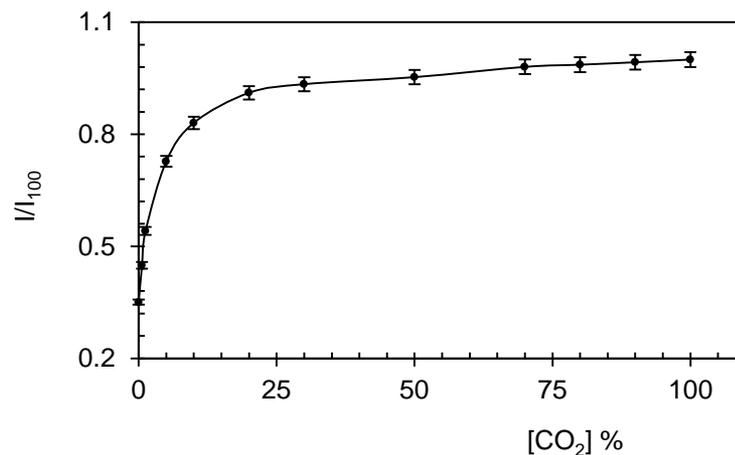


Figura 4.38. Curva de respuesta del sensor de membrana C6.

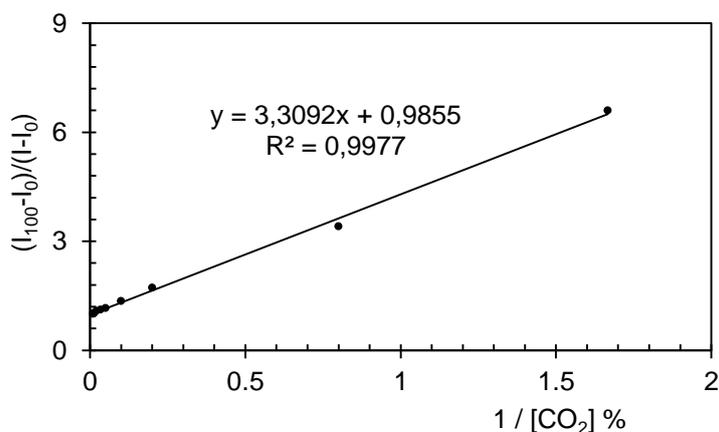


Figura 4.39. Linealización de la respuesta del sensor de membrana C6.

Tabla 4.43. Parámetros analíticos de calibración del sensor C6.

Parámetros analíticos	Resultados
$I_{100} - I_0$	$294 \pm 1,3$
Pendiente	$3,309 \pm 0,001$
O. O.	$0,99 \pm 0,05$
$R^2$	$0,9977$

### 3.2.4. Respuesta del sensor de membrana C7

En la figura 4.40 se muestra la respuesta de la membrana C7 al registrar los valores de intensidad de fosforescencia en el rango de medida de 0-100% de CO<sub>2</sub>. Se trata de una curva con un rango dinámico entre el 0 y el 70 % aproximadamente de CO<sub>2</sub>.

Así como en la figura 4.41 se muestra la correspondiente linealización de la respuesta del sensor que presenta un buen ajuste ( $R^2 = 0,9993$ ), recogándose en la tabla 4.44 los parámetros analíticos de calibración de este sensor.

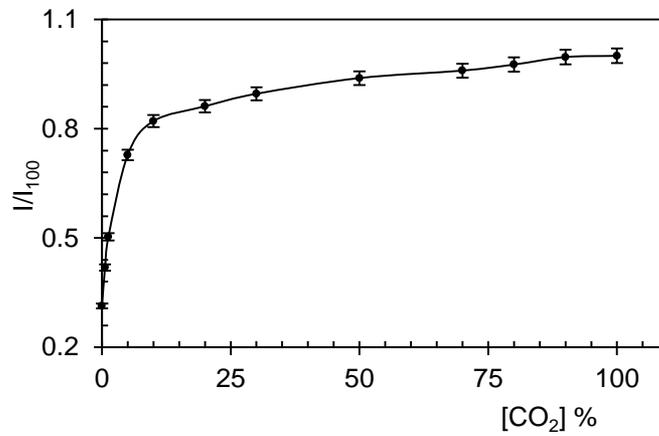


Figura 4.40. Curva de respuesta del sensor de membrana C7.

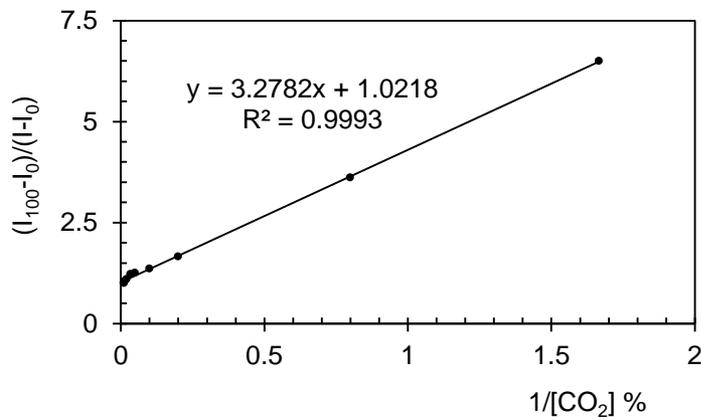


Figura 4.41. Linealización de la respuesta del sensor de membrana C7.

Tabla 4.44. Parámetros analíticos de calibración del sensor C7

Parámetros analíticos	Resultados
$I_{100} - I_0$	$345 \pm 1,3$
Pendiente	$3,278 \pm 0,001$
O. O.	$1,02 \pm 0,001$
$R^2$	0,9993

### 3.2.5. Respuesta del sensor de membrana C8

La figura 4.42 muestra la dependencia de las intensidades de fosforescencia de la membrana C8 con la concentración de CO<sub>2</sub>. Se trata de una curva con un rango dinámico hasta el 50% aproximadamente de CO<sub>2</sub>.

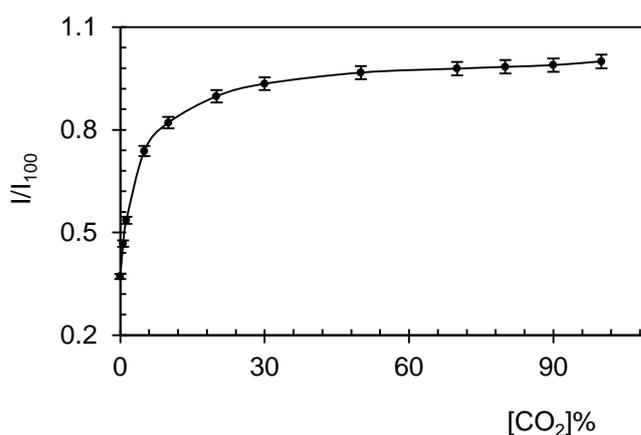


Figura 4.42. Curva de respuesta del sensor de membrana C8.

La linealización de la respuesta del sensor se muestra en la figura 4.35 con un buen ajuste ( $R^2=0,9995$ ) y la tabla 4.45 recoge los parámetros analíticos de calibración de este sensor.

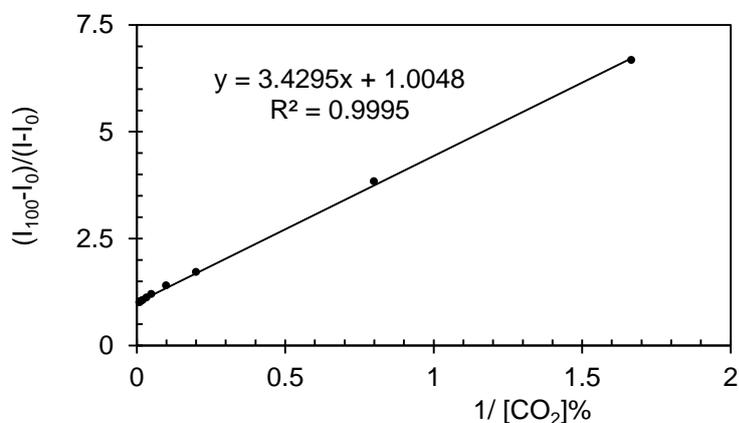


Figura 4.43. Linealización de la respuesta del sensor de membrana C8.

Tabla 4.45. Parámetros analíticos de calibración de la membrana C8.

Parámetros analíticos	Resultados
$I_{100} - I_0$	$335 \pm 1,3$
Pendiente	$3,429 \pm 0,001$
O. O.	$1,00 \pm 0,001$
$R^2$	0,9995

### 3.3. Caracterización analítica de los sensores

Para la caracterización analítica de estos sensores se han recogido los valores calculados a partir de la obtención de la información derivada de la respuesta de los sensores ante las distintas concentraciones de  $CO_2$ , y que, por lo tanto, nos van a aportar los parámetros que hemos establecido como objetivo y como indicadores de calidad.

A continuación, se describen los parámetros analíticos elegidos y obtenidos para cada una de las membranas: límites de detección y cuantificación, precisión, tiempos de vida y tiempo de recuperación y respuesta,

El límite de detección, se obtuvo, como en el capítulo anterior, a partir de datos experimentales brutos exponenciales utilizando los tres o cuatro primeros puntos obtenidos con baja concentración de  $CO_2$ , ya que se pueden ajustar a una recta aplicando la ecuación 3.1 [32,33], y como ya fue indicado en el Capítulo 2.

Para determinar el límite de cuantificación se hizo de la misma forma que en el capítulo 3, según la ecuación 3.2 y utilizando para ello la recta calculada a partir de los tres primeros puntos de los datos experimentales brutos.

La precisión se calculó mediante la desviación estándar relativa de las Intensidades medidas de 15 réplicas para 0,6 % de  $CO_2$  y 16,7 % de  $CO_2$ , respectivamente.

Los tiempos de respuesta y recuperación se obtienen midiendo la luminiscencia de la membrana para atmósferas alternantes desde concentración 0 % de  $CO_2$  a 100 % en ciclos consecutivos durante 2000 s. De la misma forma que la descrita en el capítulo 3, a partir de estos datos se han calculado los

valores de tiempos de respuesta y recuperación para atmósferas oscilantes entre el 10% y el 90% de CO<sub>2</sub> y desde el 90 % al 10% de CO<sub>2</sub>, respectivamente.

Las membranas también se han preservado en todo momento en un recipiente cerrado en la oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial.

Se le ha seguido el tiempo de vida, midiendo la respuesta sensora de las membranas y representando los valores medidos  $I_{100} - I_0$  en función del tiempo en días, calculando a partir de la gráfica de Schwartz T1 y T2. Donde T1 es el tiempo a partir del cual el sensor se sale de la línea de control y T2 el tiempo de vida del sensor a tiempo 0 hasta que el sensor no da respuesta alguna.

### 3.3.1. Caracterización analítica del sensor C1 (LI-I)

En la tabla 4.46 se recogen los parámetros analíticos de caracterización de la membrana preparada con cada uno de sus componentes optimizados calculados a partir del método analítico aplicado.

Tabla 4.46. Parámetros analíticos del sensor C1.

Parámetros analíticos C1 (LI-I)	Resultado
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	0-30
Precision (DER; n = 15) al 0,6 CO <sub>2</sub>	0,208
Precision (DER; n = 15) al 16,7 % CO <sub>2</sub>	0,153
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,008
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	0,16
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,08-0,16
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,16-30
Tiempo de respuesta $t_{10-90}$ (s)	10,4 ± 0,9
Tiempo de recuperación $t_{90-10}$ (s)	48 ± 1
T1(días)	223
T2 (días)	223
Condiciones de almacenamiento	Oscuridad

La precisión calculada para ambas concentraciones de  $\text{CO}_2$  es muy buena, encontrándose muy por debajo del 5 %. Por otra parte, el límite de detección calculado es de 0,008 %, inferior a la concentración de  $\text{CO}_2$  atmosférico que es del 0,0387% y el límite de cuantificación de 0,16 es inferior al obtenido para el sensor de referencia.

Los ciclos de tiempo de recuperación y respuesta del sensor se recogen la figura 4.44.

Con se puede ver se trata de un sensor con un tiempo de respuesta muy rápido. A la vez muestra una extraordinaria y rápida reversibilidad, según se puede apreciar en los datos del tiempo de recuperación.

En la figura 4.44 se puede ver que durante 2000 segundos se pueden obtener experimentalmente con este sensor 27 ciclos de recuperación y respuesta al someterlo a concentraciones de  $\text{CO}_2$  alternantes de 0%-100% y de 100%-0% respectivamente, habiéndose calculado, como se ha comentado anteriormente, los respectivos límites de detección y cuantificación a concentraciones de  $\text{CO}_2$  del 10%-90% y del 90%-10% respectivamente.

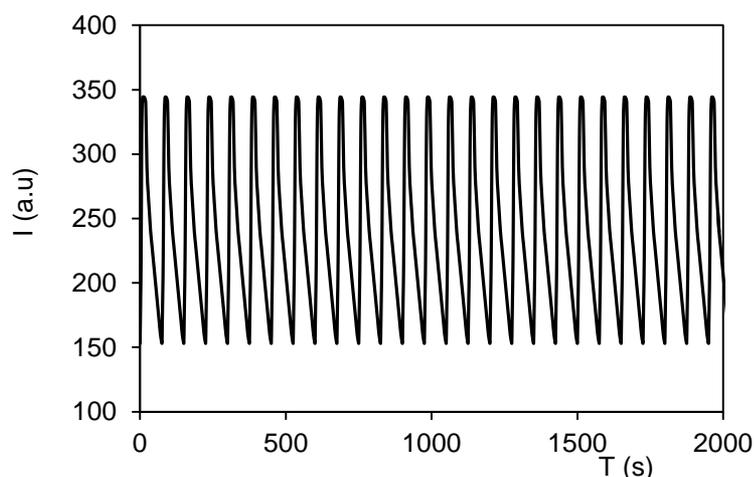


Figura 4.44. Gráfica de tiempos de recuperación y respuesta del sensor C1

Se ha estudiado el tiempo de vida del sensor, midiendo la respuesta de la membrana como  $I_{100} - I_0$ , la cual se representa frente al tiempo en días (figura 4.45 y tabla 4.47).

Tabla 4.47. Seguimiento del tiempo de vida del sensor C1.

T (días)	$I_{100}-I_0$
1	320
6	320
7	320
8	319.9
19	322
25	319
29	317
33	320
43	315
50	320
60	323
103	318
182	319
223	315

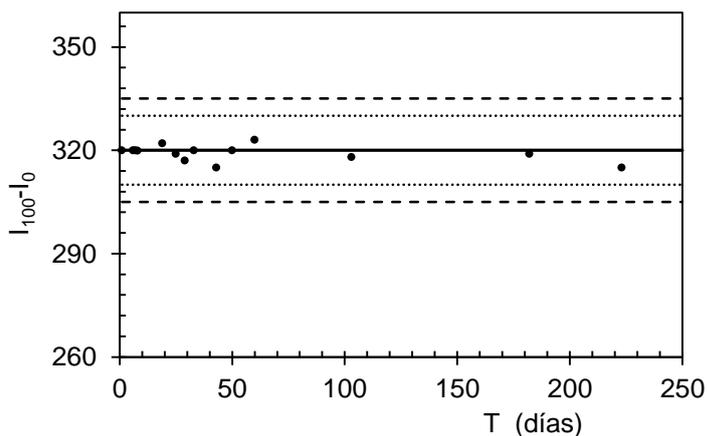


Figura 4.45. Seguimiento del tiempo de vida del sensor C1.

El tiempo de vida T1 de la membrana C1 fue al menos de 223 días, tiempo máximo del estudio, pues observamos a lo largo de estos días de seguimiento el parámetro  $I_{100}-I_0$  no se ha salido de la línea de control -3s. Se puede decir, por lo tanto, que la membrana es muy estable en condiciones de oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial. Hasta ahora podemos decir que  $T_2=T_1$ .

### 3.3.2. Caracterización analítica del sensor C2 (LI-II)

En la tabla 4.48 se recogen los parámetros analíticos de caracterización de la membrana preparada con cada uno de sus componentes optimizados.

Tabla 4.48. Parámetros analíticos del sensor C2 (LI-II).

Parámetros analíticos C2 (LI-II)	Resultados
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	0-40
Precision (DER; n = 15) al 0,6 % CO <sub>2</sub>	0,359
Precision (DER; n = 15) al 16,7 % CO <sub>2</sub>	0,231
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,054
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	0,24
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,054-0,24
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,24-40
Tiempo de respuesta (s)	21 ±1,5
Tiempo de recuperación (s)	70 ± 2,1
T1 (días)	120
T2 (días)	209
Condiciones de almacenamiento	Oscuridad

Es de destacar que la precisión calculada en términos de desviación estándar relativa con 15 réplicas para ambas concentraciones de CO<sub>2</sub> es muy buena e inferior del 5 %. Se le ha calculado un límite de detección de 0,054 %, inferior a la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico que es del 0,0387% y un límite de cuantificación de 0,24%, inferior al obtenido para el sensor de referencia.

Con se puede ver se trata de un sensor con un tiempo de respuesta rápido. A la vez que presenta una alta y rápida reversibilidad, según se puede apreciar en los datos del tiempo de recuperación. No responde ni se recupera de forma tan rápida como el anterior pero si mejor que el sensor de referencia.

En la figura 4.46 se puede ver que durante 2000 segundos se pueden obtener con este sensor 19 ciclos de recuperación y respuesta al someterlo a concentraciones alternantes de CO<sub>2</sub> del 0 a 100 % y de 100 a 0%, respectivamente. A partir de estos se han calculado los correspondientes tiempos de 10 a 90% y 90 a 10% de CO<sub>2</sub>, siendo estos de 20,9 y 69,9, respectivamente.

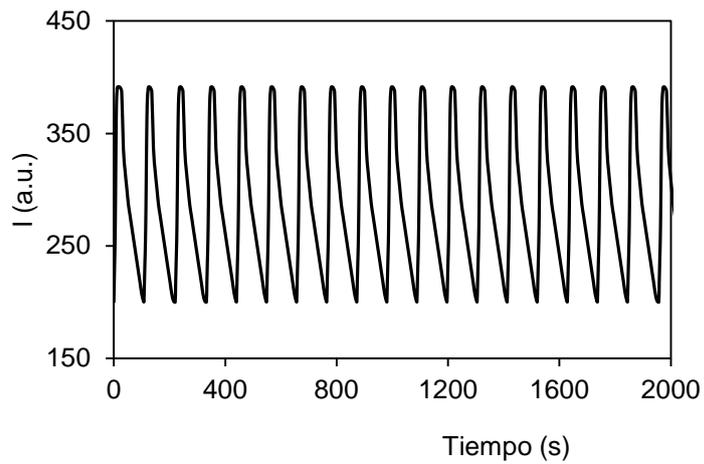


Figura 4.46. Gráfica de tiempos de recuperación y respuesta del sensor C2.

Se ha estudiado el tiempo de vida del sensor, midiendo la respuesta de la membrana como  $I_{100} - I_0$ , la cual se representa frente al tiempo en días (figura 4.47 y tabla 4.49).

Tabla 4.49. Seguimiento del tiempo de vida del sensor C2.

T(días)	$I_{100}-I_0$
0	279,9
1	276,0
6	279,0
11	268,3
70	250,0
120	240,0
162	225,0
209	198

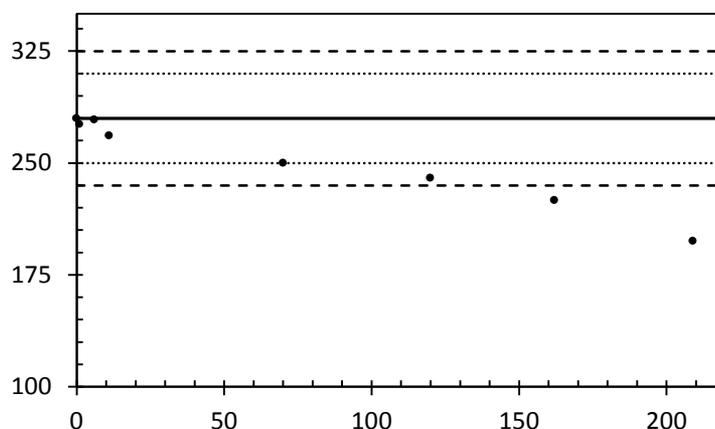


Figura 4.47. Seguimiento tiempo de vida del sensor C2.

Observamos que el tiempo de vida T1 de la membrana C2 fue de 120 días a partir de los cuales los puntos están fuera de la línea de control  $-3s$  y hasta los 162 días de preparada la membrana C2 sigue dando señal, aunque como se puede apreciar va disminuyendo progresivamente el valor de  $I_{100}/I_0$ , lo que implica una disminución progresiva de la eficacia sensora. Se puede por tanto establecer el tiempo de vida T2 del sensor es de 209 días hasta el momento.

### 3.3.3. Caracterización analítica del sensor C6 (LI-VI)

En la tabla 4.50 se recogen los parámetros analíticos de caracterización de la membrana de este sensor de membrana.

Tabla 4.50. Parámetros analíticos del sensor C6 (LI-VI).

Parámetros analíticos (LI-6)	Resultados
Límite superior rango dinámico	0-30
Precision (DER; n = 15) al 0,6 %	0,360
Precision (DER; n = 15) al 16,7 %	0,153
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,055
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	0,25
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,055-0,25
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,25-30
Tiempo de respuesta $t_{10-90}$ (s)	20,9 ± 1,2
Tiempo de recuperación $t_{90-10}$ (s)	69,9 ± 1,5
T1 (días)	189
T2 (días)	189
Condiciones de almacenamiento	Oscuridad

Observamos que la precisión calculada para ambas concentraciones de CO<sub>2</sub> es muy buena. El límite de detección calculado es de 0,055%, inferior a la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico. Por otra parte, el límite de cuantificación es inferior 0,25 % al obtenido para el sensor de referencia.

Se trata de un sensor con un tiempo de respuesta rápido, a la vez que posee una alta y rápida reversibilidad, según se puede apreciar en los datos del tiempo de recuperación. Es muy parecido al sensor C2 en cuanto a estos parámetros.

En la figura 4.48 se puede ver que durante 2000 segundos se pueden obtener con este sensor 18 ciclos de recuperación y respuesta al someterlo a concentraciones alternantes de CO<sub>2</sub> del 0-100 % y de 100-0%, respectivamente. Habiéndose calculado a partir de estos los correspondientes tiempos de 10-90% y 90-10% de CO<sub>2</sub>, de 20,9 y 69,9.

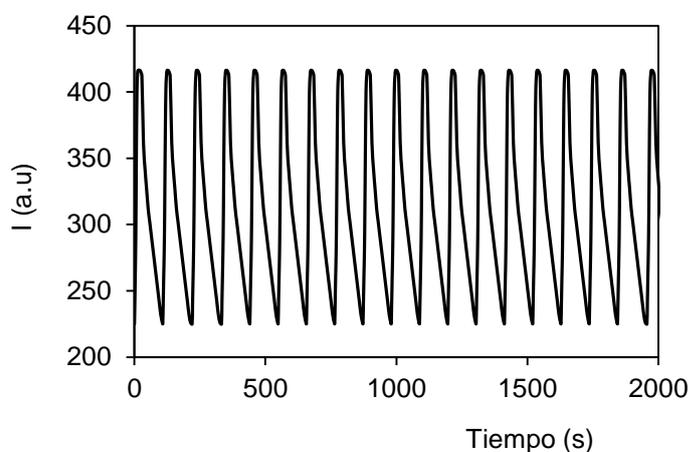


Figura 4.48. Gráfica tiempos de recuperación y respuesta del sensor C6.

Se ha estudiado el tiempo de vida del sensor, midiendo la respuesta de la membrana como  $I_{100} - I_0$ , la cual se representa frente al tiempo en días (figura 4.49 y tabla 4.51).

Tabla 4.51. Seguimiento del tiempo de vida del sensor C6.

T(días)	$I_{100}-I_0$
0	294,5
6	300,0
20	299,0
60	298,0
120	297,9
130	295,0
147	290,0
189	287,0

El tiempo de vida T1 de la membrana C6 fue de 189 días pues observamos en la figura 4.51 que a lo largo de estos días de seguimiento el parámetro  $I_{100}-I_0$  no se ha salido de la línea de control -3s. Se puede decir, por lo tanto, que la membrana es muy estable en condiciones de oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial. Hasta ahora podemos de decir que  $T_2=T_1$ .

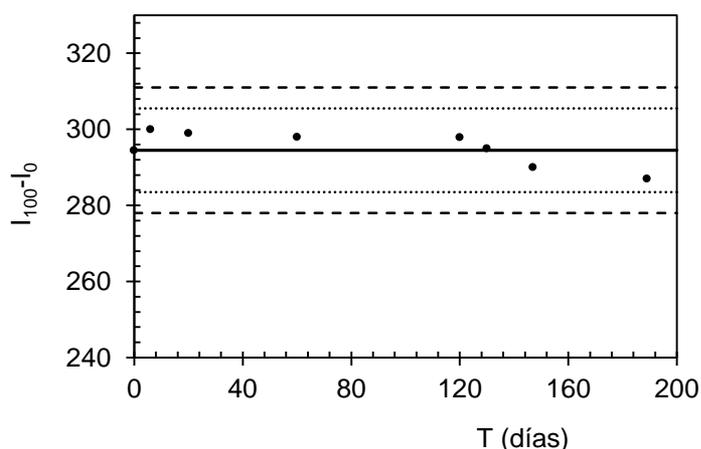


Figura 4.49. Seguimiento tiempo de vida del sensor C6.

### 3.3.4. Caracterización analítica del sensor C7 (LI-VII)

En la tabla 4.52 se recogen los parámetros analíticos de caracterización de la membrana preparada con cada uno de sus componentes optimizados.

Tabla 4.52. Parámetros analíticos del sensor C7 (LI-VII)

Parámetros analíticos C7 (LI-VII)	Resultados
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	0-70
Precision (DER; n = 15) al 0,6 % CO <sub>2</sub>	0,100
Precision (DER; n = 15) al 16,7 % CO <sub>2</sub>	0,058
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,020
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	0,15
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,02-0,15
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,15-70
Tiempo de respuesta t <sub>10-90</sub> (s)	11,9 ± 2,0
Tiempo de recuperación t <sub>10-90</sub> (s)	47,9 ± 7,6
T1 (días)	182
T2 (días)	182
Condiciones de almacenamiento	Oscuridad

Nuevamente observamos una buena precisión para ambas concentraciones de CO<sub>2</sub>. El límite de detección de 0,020 %, al igual que en anteriores ocasiones, es inferior a la concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico y el límite de cuantificación calculado fue de 0,15 % inferior al obtenido para el sensor de referencia.

Se trata de un sensor con un tiempo de respuesta muy rápido, a la vez que posee muy buena reversibilidad, según se puede apreciar en los datos del tiempo de recuperación.

En la figura 4.50 se puede ver que durante 2000 segundos se pueden obtener con este sensor 27 ciclos de recuperación y respuesta al someterlo a concentraciones alternantes de CO<sub>2</sub> del 0-100 % y de 100-0%, respectivamente. Habiéndose calculado a partir de estos los correspondientes tiempos de 10-90% y 90-10% de CO<sub>2</sub> 11,9 s y 47,9 s, respectivamente.

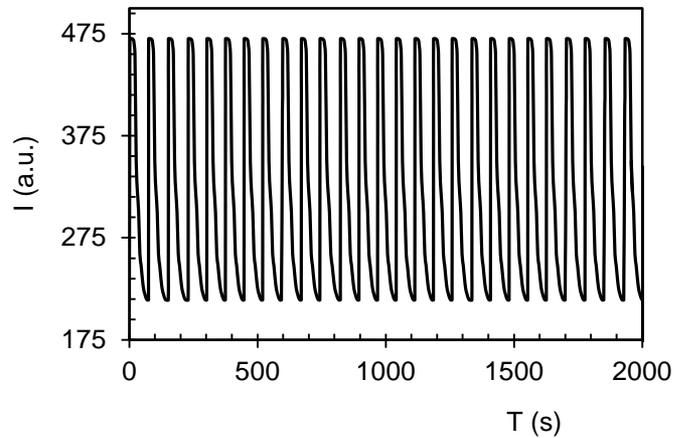


Figura 4.50. Gráfica tiempos de recuperación y respuesta del sensor C7

Se ha estudiado el tiempo de vida del sensor, midiendo la respuesta de la membrana como  $I_{100}-I_0$ , la cual se representa frente al tiempo en días (figura 4.51 y tabla 4.53).

El tiempo de vida T1 de la membrana C7 fue de 182 días pues observamos a lo largo de estos días de seguimiento el parámetro  $I_{100}-I_0$  no se ha salido de la línea de control  $-3s$ . Se puede decir, por lo tanto, que la membrana es muy estable en condiciones de oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial. Hasta ahora se puede decir que  $T2=T1$ .

Tabla 4.53. Seguimiento del tiempo de vida del sensor C7.

T (días)	$I_{100}-I_0$
0	365
1	366
2	366
19	368
64	367
100	366
110	365
120	366
135	361
182	360

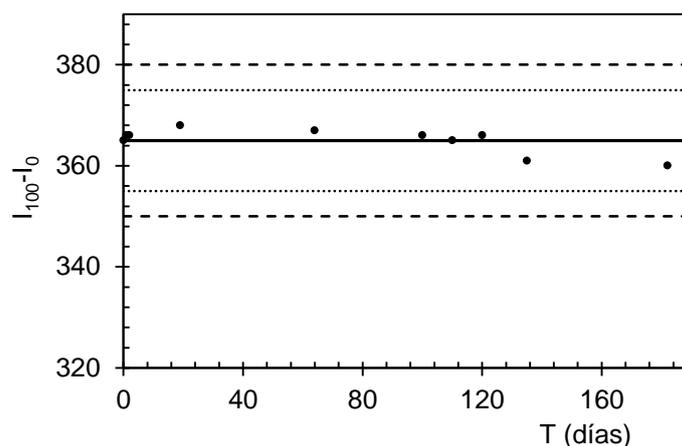


Figura 4.51. Seguimiento tiempo de vida del sensor C7.

### 3.3.5. Caracterización analítica del sensor C8 (LI-VIII)

Como en anteriores ocasiones fueron calculados los parámetros analíticos de caracterización del sensor y que se muestran a continuación recogidos en la tabla 4.46.

Tabla 4.46. Parámetros analíticos del sensor C8 (LI-VIII)

Parámetros analíticos C8 (LI-VIII)	Resultados
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	0-50
Precision (DER; n = 15) al 0,6 % CO <sub>2</sub>	0,493
Precision (DER; n = 15) al 16,7 % CO <sub>2</sub>	0,208
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,025
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	0,20
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,025-0,2
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,2-50
Tiempo de respuesta t <sub>10-90</sub> (s)	19,2 ± 0,1
Tiempo de recuperación t <sub>10-90</sub> (s)	98 ± 1,8
T1(días)	181
T2 (días)	181
Condiciones de almacenamiento	Oscuridad

Como antes, la precisión calculada para ambas concentraciones de CO<sub>2</sub> es buena. El límite de detección calculado fue de 0,025 %, inferior a la

concentración de CO<sub>2</sub> atmosférico y el límite de cuantificación fue de 0,20 %, inferior al obtenido para el sensor de referencia.

Se trata de un sensor con un tiempo de respuesta bastante rápido de 19,2 segundos, a la vez que posee buena reversibilidad, según se puede apreciar en los datos del tiempo de recuperación.

En la figura 4.52 se puede ver que durante 2000 segundos se pueden obtener con este sensor casi 16 ciclos completos de respuesta y recuperación al someterlo alternativamente a concentraciones de CO<sub>2</sub> del 0-100%. Calculados para concentraciones alternantes de 0-90% y de 90-0%, fueron de 19,2 s y de 98,0 s. Se obtuvieron menos ciclos que en el sensor anterior debido que tarda casi el doble en recuperarse.

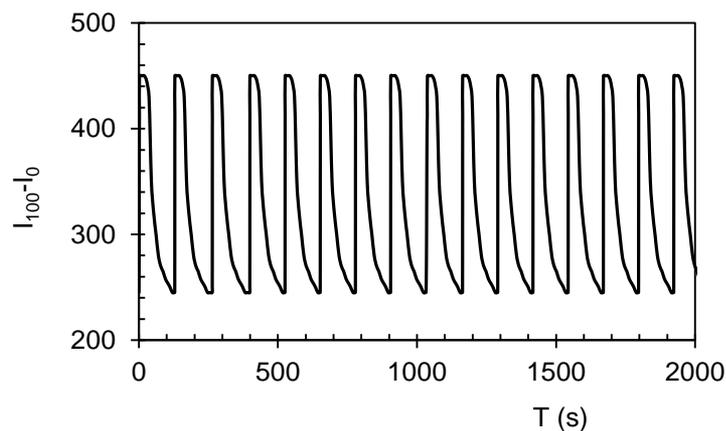


Figura 4.52. Gráfica de Tiempos de recuperación y respuesta del sensor C8

Se ha estudiado el tiempo de vida del sensor, midiendo la respuesta de la membrana como  $I_{100} - I_0$ , la cual se representa frente al tiempo en días como se muestra en la tabla 4.47.

Al sensor se le hizo un seguimiento de 181 días como muestra la tabla 4.47 y comentándose a continuación su comportamiento a lo largo del tiempo en la figura 4.53.

Tabla 4.47. Seguimiento del tiempo de vida del sensor C8.

T (días)	$I_{100}-I_0$
0	334
3	336
4	337
20	336
40	337
80	334
100	332
135	325
181	325

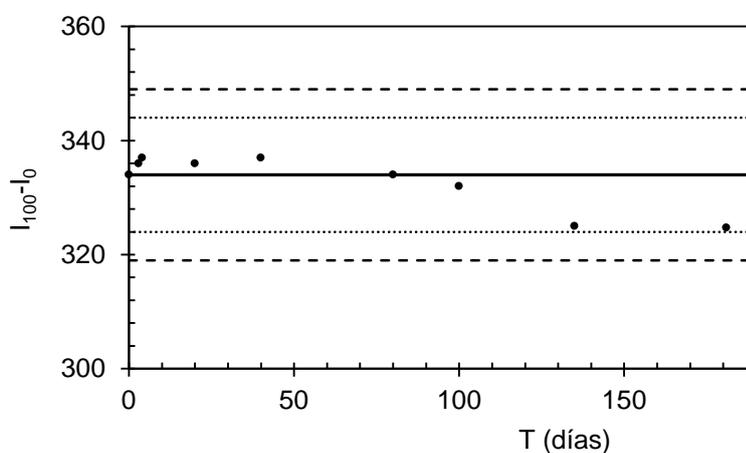


Figura 4.53. Seguimiento tiempo de vida del sensor C8.

El tiempo de vida T1 de la membrana C8 fue de 181 días pues observamos que a lo largo de estos días de seguimiento el parámetro  $I_{100}-I_0$  no se ha salido de la línea de control -3s. Se puede decir, por lo tanto, que la membrana es muy estable en condiciones de oscuridad y sin ningún tipo de atmósfera especial. Hasta el momento se observa que  $T_2=T_1$ .

#### 4. Comparación de los sensores

El trabajo que hemos desarrollado ha consistido en el diseño de nuevas membranas sensoras de CO<sub>2</sub> basándonos el sensor de referencia previamente estudiado.

En la tabla 4.48 recogemos los parámetros de analíticos de cada uno de los sensores que hemos ido estudiando comparándolos con el de referencia [7] y pasando a comentar posteriormente cada uno de los resultados de los sensores sometidos a estudio con respecto a dicho sensor de referencia.

Tabla 4.48. Comparación de los parámetros de cada uno de los sensores con el sensor de referencia

<b>Parámetros analíticos</b>	<b>Ref. [7]</b>	<b>C1 (LI-I)</b>	<b>C2 (LI-III)</b>	<b>C6 (LI-VI)</b>	<b>C7 (LI-VII)</b>	<b>C8 (LI-VIII)</b>
$I_{100-I_0}$	$280,0 \pm 0,6$	$320 \pm 1,6$	$281 \pm 1$	$294 \pm 1$	$365 \pm 1$	$335 \pm 1$
Pendiente	$6,91 \pm 0,04$	$1,628 \pm 0,001$	$5,113 \pm 0,001$	$3,309 \pm 0,001$	$3,278 \pm 0,001$	$3,429 \pm 0,001$
O. O.	$0,553 \pm 0,002$	$1,04 \pm 0,04$	$0,99 \pm 0,04$	$0,986 \pm 0,005$	$1,022 \pm 0,001$	$1,005 \pm 0,001$
$R^2$	0,969	0,997	0,999	0,998	0,999	0,999
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	0-35	0-30	0-40	0-30	0-70	0-50
Precisión (DER; n = 15) al 0.6 % CO <sub>2</sub>	0,335	0,208	0,359	0,360	0,100	0,493
Precisión (DER; n = 15) al 16.7 % CO <sub>2</sub>	0,220	0,153	0,231	0,153	0,058	0,208
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,04	0,008	0,054	0,055	0,020	0,025
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	0,31	0,16	0,24	0,25	0,15	0,20
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,04-0,31	0,008-0,16	0,054-0,24	0,055-0,25	0,020-0,15	0,025-0,20
Intervalo cuantificación de (%CO <sub>2</sub> )	0,31-35	0,16-30	0,24-40	0,25-30	0,15-70	0,20-50
Tiempo de respuesta (s)	$41 \pm 0,50$	$10,4 \pm 1$	$20,9 \pm 1,5$	$18,5 \pm 1,5$	$11,9 \pm 2$	$19,2 \pm 0,1$
Tiempo de recuperación (s)	$100 \pm 2$	$48,5 \pm 1$	$69,9 \pm 2,1$	$65,1 \pm 2$	$47,9 \pm 7,6$	$98,0 \pm 1,8$
T1 (días)	100	223	120	189	182	181
T2 (días)	600	223	209	189	182	181

A la vista de los resultados tenemos que la amplitud de media  $I_{100} - I_0$ , para todos los sensores es mayor que para el sensor de referencia. Las pendientes de las rectas de calibración son menores, excepto para el sensor C2 que es muy parecida, al ser menores las pendientes para la mayoría de los sensores significa que son más sensibles.

Para las rectas de calibración se han obtenido muy buenos ajustes de los puntos de las rectas de calibración, al igual que en el sensor de referencia, como nos muestran los coeficientes de correlación.

Se trata de sensores muy precisos, puesto que las precisiones medidas en términos de desviación estándar relativa calculadas para 15 réplicas al 0,6 % y a 16,7 % de CO<sub>2</sub>, son inferiores al 5%, tanto para los nuevos sensores como para el sensor de referencia.

En cuanto a los límites de límites observamos que son algo superiores al del sensor de referencia pero siguen siendo inferiores al porcentaje de CO<sub>2</sub> ambiental, siendo los límites de cuantificación algo menores.

Una de las grandes ventajas que se han conseguido en estos sensores con respecto al de referencia son los tiempos de respuesta y recuperación, siendo los mejores para los sensores C1 y C7 con tiempos de respuesta de 10,4 y 11,9 segundos respectivamente y tiempos de recuperación de 48,5 y 47,9 segundos respectivamente.

Otra de las ventajas muy importantes es que se ha conseguido alargar el tiempo de vida T1 para los cinco sensores caracterizados. Según se ve en la en la tendencia de los puntos de las gráficas los sensores C1, C7, y C8 que en el tiempo que llevamos de estudio, ningún punto se ha salido de las barras +2s y -2s, lo que puede significar que la previsión de estabilidad puede ser aún mejor si les seguimos haciendo medidas durante más tiempo.

## **5. Aplicación de los sensores a empaquetado inteligente**

El sensor de CO<sub>2</sub> gaseoso puede utilizarse para monitorización de calidad o frescura en productos alimenticios y en agricultura, especialmente en tecnologías de empaquetado inteligente donde el envase contiene un sensor

interno o externo para proporcionar información de la historia del envase y / o la calidad del alimento, porque tiene un gran potencial para mejorar la vida útil y la seguridad de los productos alimenticios además de sus funciones básicas de mantener limpios los productos y protegerlos contra cambios físicos y químicos no deseados. [34]. La concentración de CO<sub>2</sub> en el espacio superior de los productos alimenticios se puede considerar como un indicador de calidad dentro de los productos, generalmente, el CO<sub>2</sub> se purga en el envase porque los altos niveles de CO<sub>2</sub> en el espacio superior puede reducir las tasas metabólicas microbianas, incluso en presencia de oxígeno, por lo que una reducción del nivel original de CO<sub>2</sub> en el paquete purificado con CO<sub>2</sub> se considera como un signo de fuga de paquete, junto a la determinación del nivel de CO<sub>2</sub> dentro de un paquete puede usarse como un método para detectar la maduración o deterioro de productos agrícolas y alimentarios porque el CO<sub>2</sub> se genera continuamente durante el crecimiento de microorganismos alimentarios o con la fermentación y el deterioro. Recientemente, se ha aplicado un sensor de CO<sub>2</sub> fotoluminiscente basado en el pigmento Pt-porfirina (PtTFPP) y proceso FRET para aplicaciones de envasado agrícola y alimentario, junto con un indicador de pH colorimétrico,  $\alpha$ -naftolftaleina en una matriz plástica con un agente de transferencia de fase como tetraoctil o cetiltrimetilammonio, el sensor conservó la sensibilidad al CO<sub>2</sub> durante 21 días a 4°C dentro del envase [35]. Este sensor presenta un tiempo de respuesta y un tiempo de recuperación de 1 y 4 min respectivamente y a temperatura ambiente se observa que se deterioran en 7 días perdiendo color y sensibilidad a CO<sub>2</sub>, aunque en condiciones de almacenamiento fue estable al menos 14 días a 4 °C y 50 días a -20°C. Existen estudios previos en los que un sensor óptico de CO<sub>2</sub> basado en una emulsión de sales líquidas iónicas (RTILs) - 1-butil-3-metilimidazolio a temperatura ambiente en una matriz de silicona [29] en este trabajo los autores afirmaron que el material basado en RTIL, tosilato de 1-butil-3-metilimidazolio tiene aplicaciones potenciales en varios campos, como la tecnología de envasado de alimentos, mostrando entre sus propiedades un tiempo de respuesta  $t_{95}$  estimado de 50 s y un tiempo de recuperación de 320 s.

En los envases inteligentes desempeña un papel crucial la señal analítica y su transformación en control de la calidad y frescura de los productos agrícolas y alimentarios, a través del sistema de envasado inteligente.

Recientemente se ha publicado una membrana inteligente indicadora de pH utilizando tintes naturales que podrían utilizarse como herramienta de diagnóstico para la detección de descomposición de alimentos [36], donde se establece una correlación entre el cambio de pH y el parámetro de color (L, a y b).

En este estudio se ha realizado una prueba de aplicación de las membranas indicadoras de CO<sub>2</sub> gas para correlacionar los cambios de color con la concentración de CO<sub>2</sub> gas basada membrana sensora usando LI-I, que seleccionamos porque ha sido una de las que ha mostrado mejores características.

### **5.1. Recogida del color con cámara digital de la membrana C1**

Para obtener las imágenes de la membrana de la que se extraerán las coordenadas cromáticas como parámetro de medida. Se coloca la membrana en el interior de la caja de luces de fabricación casera, con una iluminación constante proporcionada por dos LEDs, para que todas las fotografías se hagan en las mismas condiciones de iluminación de la caja. Como se explicó en el capítulo 2 y según imagen 2.5.

Las distintas fotografías captadas a las diferentes concentraciones de CO<sub>2</sub>, se muestran en a figura 4.54, en las cuales se puede observar que a medida que aumenamos la concenración de CO<sub>2</sub> la intesidad del color azul de la membrana va disminuyendo hasa volverse transparente a partir de aproximadamente el 70 % de CO<sub>2</sub>.



Figura 4.54. Fotos de la membrana C1 a distintas concentraciones de CO<sub>2</sub>

## 5.2. Respuesta colorimétrica de la membrana C1

Con el programa Image J, se trata cada una de las imágenes obtenidas mediante la cámara fotográfica seleccionado en primer lugar el ROI del que para esta membrana se han calculado los valores modales de las coordenadas tonales R, G, B, escala de grises y S. De modo que se podrá comprobar el comportamiento de cada una de las coordenadas tonales ante las variaciones de la concentración de CO<sub>2</sub>.

A continuación se muestran los distintos calibrados que se han hecho del sensor C1 representando cada una de la coordenada tonal en función de la concentración de CO<sub>2</sub>

### 5.2.1. Calibración del sensor C1 con la coordenada tonal R

Los valores modales de esta coordenada se representaron en función de la concentración de CO<sub>2</sub>, y haciéndole un ajuste exponencial quedaron representados 4.55. Como vemos se trata de una curva con un rango dinámico hasta el 30 % de CO<sub>2</sub> aproximadamente, a partir del cual se independiza de la concentración de CO<sub>2</sub>.

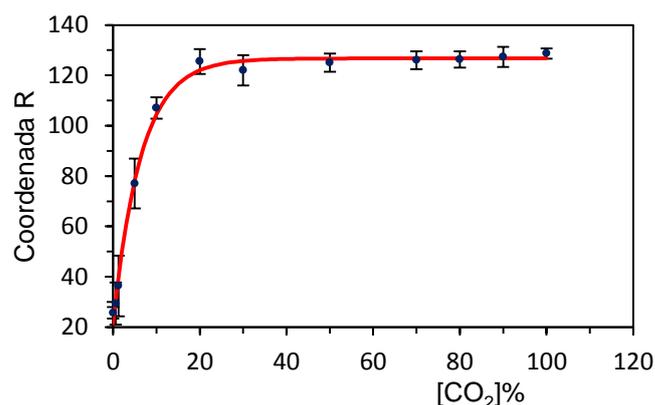


Figura 4.55. Curva respuesta de la coordenada tonal R del sensor C1 en función de la concentración CO<sub>2</sub>

Dicha curva se ha podido linealizar según la ecuación de Nakaruma Y. Amao, representada en la figura 4.56. donde  $R_{100}$  y  $R_0$  representan los valores

modales de la coordenada R a 100% de CO<sub>2</sub> y 0% de CO<sub>2</sub> respectivamente, obteniendo un buen ajuste ( $R^2=0,9939$ ).

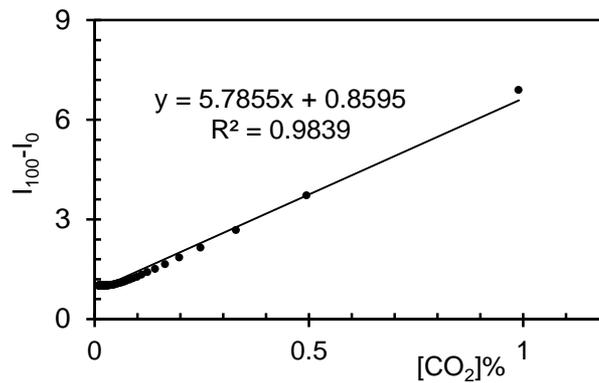


Figura 4.56. Linealización de la respuesta de la coordenada tonal R del sensor C1 en función de la concentración de CO<sub>2</sub>

### 5.2.2. Calibración del sensor C1 con la coordenada tonal G

La variación de estos valores se ajusta a la una curva (figura 4.57) con un rango dinámico hasta el 30 % de CO<sub>2</sub> aproximadamente, a partir del cual los valores se independizan.

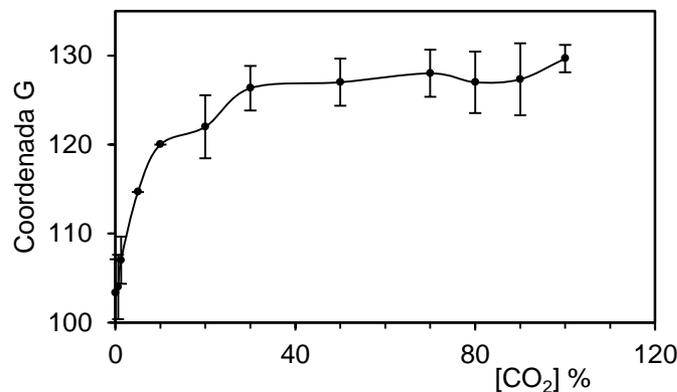


Figura 4.57. Curva respuesta de la coordenada tonal G del sensor C1 en función de la concentración CO<sub>2</sub>.

La curva se ha podido linealizar según la ecuación de Nakarama Y. Amao, representada en la figura 4.58. donde  $G_{100}$  y  $G_0$  representan los valores modales de la coordenada R a 100% de CO<sub>2</sub> y 0% de CO<sub>2</sub> respectivamente, obteniendo

un ajuste peor al obtenido para la coordenada tonal R, como indica el valor de  $R^2=0,9089$ .

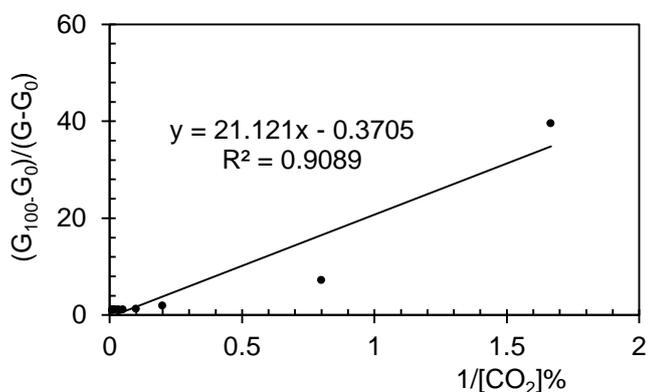


Figura 4.58. Linealización de la respuesta de la coordenada tonal G del sensor C1 en función de la concentración de CO<sub>2</sub>

### 5.2.3. Calibración del sensor C1 con escala de grises

Los valores de la escala de grises en función de la concentración de CO<sub>2</sub> se agustan según la figura 4.59 a una curva de rango dinámico hasta 30 % de CO<sub>2</sub>.

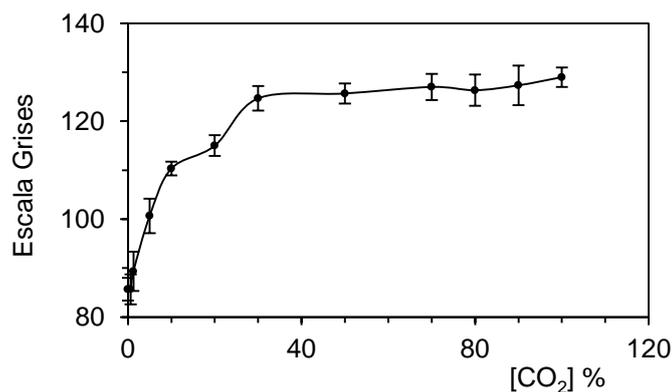


Figura 4.59. Curva respuesta de la escala de grises del sensor C1 en función de la concentración CO<sub>2</sub>

La linealización de a curva según Nakamura Y. Amao queda representada en la figura 4.60, con un buen ajuste ( $R^2=0,9755$ ).

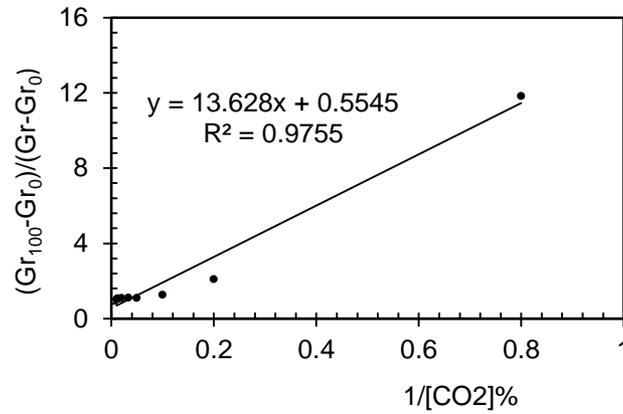


Figura 4.60. Linealización de la respuesta de la escala de grises del sensor C1 en función de la concentración de CO<sub>2</sub>

#### 5.2.4. Calibración del sensor C1 con la coordenada tonal S

La variación de los valores de esta coordenada en función de la concentración de CO<sub>2</sub>, se ajustan a la una curva de tipo exponencial representada en la figura 4.61., con un rango dinámico de hasta el 20% aproximadamente.

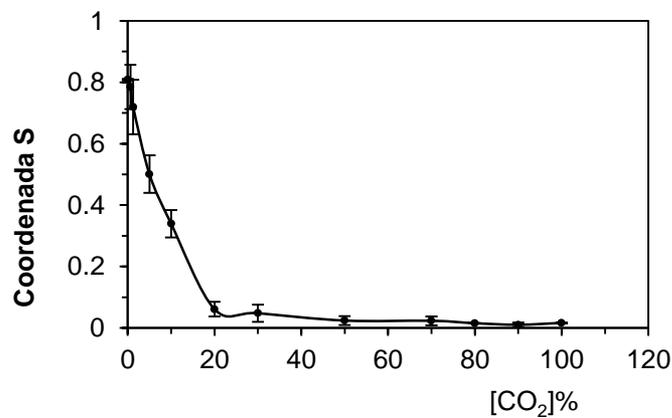


Figura 4.61. Curva respuesta de la coordenada tonal S del sensor C1 en función de la concentración CO<sub>2</sub>

La respuesta de la coordenada tonal S se ajusta a la ecuación de Nakaruma Y. Amao como se puede ver en la figura 4.62.

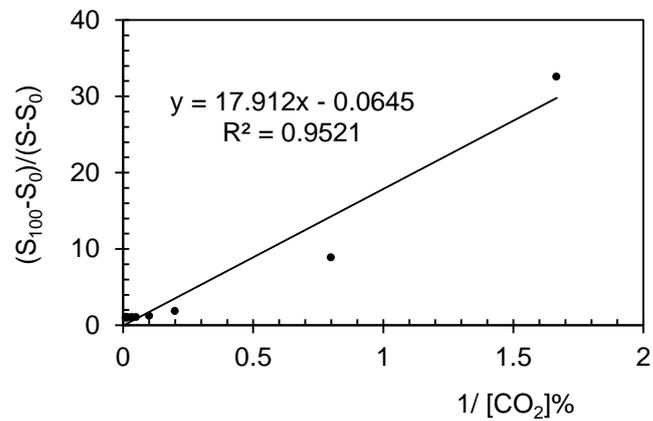


Figura 4.62. Linealización de la respuesta de la coordenada tonal G del sensor C1 en función de la concentración de CO<sub>2</sub>

### 5.3. Caracterización analítica de la membrana C1

En la tabla 4.49 quedan recogidos los parámetros analíticos de la membrana C1 derivados de sus medidas colorimétricas en función de la concentración de CO<sub>2</sub>.

Tabla 4.49. Parámetros analíticos de membrana C1 de valoración colorimétrica

Parámetros analíticos C1 (LI-I)	R	G	Grises	S
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	0-40	0-30	0-30	0-20
Pendiente	5,6 ± 0,5	21 ± 1	13,6 ± 1,3	17,9 ± 1,5
O.O.	0,85 ± 0,10	0,37 ± 0,02	0,55 ± 0,04	0,065 ± 0,004
R <sup>2</sup>	0,9521	0,9089	0,9755	0,9521
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,48	4,2	1,9	0,25
LOQ (%CO <sub>2</sub> )	1,6	13,6	5,6	0,44
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,87-5,8	4,2-13,6	1,9-5,6	0,25-0,44
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	5,8-40	13,6-30	5,6-30	0,44-20

Según se puede observar en la tabla de las cuatro coordenadas tonales estudiadas para el sensor C1, la que presentó mayor sensibilidad fue la coordenada R por aportar la menor pendiente en la recta de calibración con un valor de 5,6. Por lo tanto se ha elegido esta como método de determinación posible de CO<sub>2</sub> en empaquetado de alimentos.

## 6. Conclusiones

Se ha observado una mejora aún mayor para los sensores ópticos de CO<sub>2</sub> gaseoso basándose en la medición de la intensidad de fosforescencia del complejo PtOEP incluido en las membranas PVCD debido al desplazamiento del equilibrio ácido-base de  $\alpha$ -naftolftaleína y TMAOH como agente de transferencia de fase y HPMC, Incluyendo en el sensor LIs con diferentes grupos de cationes y

aniones en sus moléculas. En todos los casos ha sido posible mejorar espectacularmente la respuesta y los tiempos de recuperación del sensor si se utiliza LI-I y IL-VII donde el tiempo de respuesta disminuye hasta cuatro veces en presencia de estos LIs. El tiempo de recuperación disminuye en estos casos hasta aproximadamente la mitad del tiempo requerido para el mismo sensor sin estos líquidos iónicos.

Se ha visto también una mejoría considerable en los tiempos de vida de los sensores, especialmente cuando se han utilizado los LIs I y VII.

Podemos referenciar sensores de CO<sub>2</sub> utilizando como líquido iónico 1-etil-3-metilimidazolio tetrafluoroborato [27], en los que un ciclo completo de recuperación y respuesta se encuentra entre 1 y 5 minutos mientras que para los distintos sensores ensayados en este capítulo un ciclo completo de recuperación y respuesta se encuentra entre 1 y 2 minutos.

Además se ha hecho una breve experiencia para demostrar las posibilidades de este sensor para ser utilizado en el embalaje inteligente mediante medición de coordenadas de color de como parámetro analítico, eligiendo como método de determinación la coordenada tonal R.

Estudiado el tiempo de vida de este sensor T<sub>1</sub>=182 días, a temperatura ambiente supera a otros sensores encontrados en bibliografía para empaquetado inteligente de alimentos [35], en los cuales se produce un deterioro de la sensibilidad a los 7 días.

Según [37], diseñaron distintas tiras reactivas que cambiaban de color a concentraciones de CO<sub>2</sub> por debajo de 25%, 20%, 15%, 10% o 5% respectivamente. La concentración de CO<sub>2</sub> se indica mediante un cambio de color en una o más de las tiras.

Otra forma de hacerlo sería mediante la medida de las coordenadas tonales del sensor en función de la concentración de CO<sub>2</sub>.

Como se ha podido comprobar la medida de la coordenada tonal R del sensor C1 en función de la concentración de CO<sub>2</sub>, nos da una curva de rango dinámico hasta el 30% lo que significa que se pueden detectar concentraciones de CO<sub>2</sub> inferiores a este porcentaje hasta llegar a su límite de detección del 0,48%.

## 7. Bibliografía

1. M. Songolzadeh, *World. Acad. Snci.* 6 (2012) 213-20.
2. Y. Amao, N. Nakamura, *Sens. Actuators B* 100 (2004) 347.
3. C. Mallins, B.D. MacCraith, *Analyst* 123 (1998) 2373.
4. C.S. Chu, Y.L. Lo, *Sens. Actuators B* B129 (2008)120.
5. I.M. Pérez de Vargas-Sansalvador, M.A. Carvajal, O.M. Roldán-Muñoz, J. Banqueri, M.D. Fernández Ramos, L.F. Capitán-Vallvey, *Analytica Chimica Acta*, 655 (2009) 66-74.
6. K. Ertekin, I. Klimant, G. Neurauter, O.S.Wolfbeis, *Talanta* 59 (2003) 261; G. Neurauter, I. Klimant, O.S.Wolfbeis, *Fresenius J. Anal. Chem.* 366 (2000) 481.
7. M.L. Aguayo-López, L.F. Capitán-Vallvey, M.D. Fernández-Ramos, *Talanta* 126 (2014)196.
8. S. Zhang, N. Sun, X. He, X. Lu, X. Zhang, *J. Phys. Chem. Ref.* 35 (2006) 1475-1517.
9. T.L Greaves, C.J. Drummond, *Chem. Rev.* 108 (2008) 206-237.
10. P. Kumar, M. Varyanib, P. Khatri, S. Paula, S. L. Jainb, *Journal of Industr. Engineer. Chemi.* 49 (2017) 152–157.
11. L. Gomez-Coma, A. Garea, A. Irabien, *Internat. Jour. Greenhouse Gas Control* 52 (2016) 401–409.
12. L.C. Tomé, D. Mecerreyes, C. S. R. Freire, L. Paulo, N. Rebelo, *Jour. Membr. Scien.* 428 (2013) 260–266.
13. F. L. Bernard, D.M. Rodrigues, B. B. Polesso, A. J. Donato, M. Seferin, V. V. Chaband, F.D. Vecchia, S. Einloft, *Fuel Process. Technol.*, 149 (2016) 131–138.
14. K. Kortenbruck, B. Pohrer, E. Schluecker, F. Friedel, I. Ivanovic-Burmazovic, *J. Chem. Thermodynamics* 47 (2012) 76–80.
15. A. H. Jalili, A. Mehdizadeh, M. Shokouhi, H. Sakhaeinia, V. Taghikhani, *J. Chem. Thermod.* 42 (2010) 787–791.
16. L. Zhou, X. Shang, J. Fan, J. Wanga, *J. Chem. Thermod.* 103 (2016) 292–298.
17. J. Liu, J. A. Johnsson, G. Jiang, *Tr. Anal. Chem.*, 24 (2005).
18. J.F. Peng, J.F. Liu, X.L. Hu, G.B. Jiang, *J. Chromatogr. A* 1139 (2007) 165.

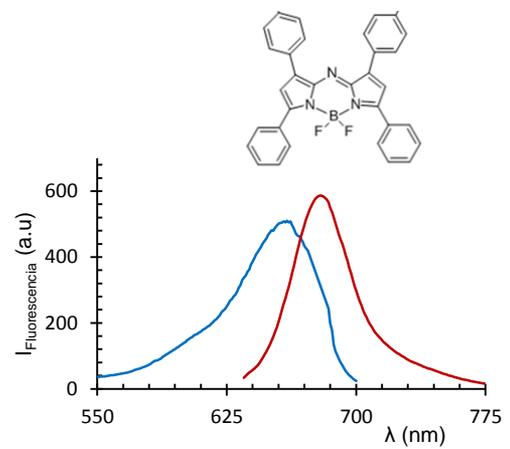
19. D. A. El-Hady, H. M. Albishri, R. Rengarajan, S. El Deeb, H. Wätzig, *Electrophor.* 36 (2015) 3080–3087.
20. H. Wan, H. Yin, A. J. Mason, *Sens. Act. B* 242 (2017) 658–666.
21. A. Abo-Hamada, M. A. H. AlSaadia, M. Hayyana, I. Juneidia, M. A. Hashima, *Electroch. Acta* 193 (2016) 321–343.
22. L. Chen, D. Huang, S. Ren, Y. Chi, Guonan, Chen, *Anal. Chem.* 83 (2011) 6862–6867.
23. X. Wang, J. Hao, *Sci. Bull.* 61 (2016) 1281–1295.
24. J. Wang, Z. Wen, B. Yang, X. Yang, *Resul. Physics* 7 (2017) 323–326; O. Oter, K. Ertekin, D. Topkaya, S. Alp, *Sens. Act. B* 117 (2006) 295–301.
25. O. Oter, K. Ertekin, S. Derinkuyu, *Talanta* 76 (2008) 557–563.
26. O. Oter, K. Ertekin, D. Topkaya, S. Alp, *Anal. Bioanal. Chem.* 386 (2006) 1225–1234.
27. S. Aydogdu, K. Ertekin, A. Suslu, M. Ozdemir, E. Celik, Umit Cocen, *J. Fluoresc.* 21 (2011) 607–613.
28. A. Vioux, L. Viau, S. Volland, J. Bideau, *C. R. Chimie* 13 (2010) 242–255.
29. S. M. Borisov, M. Ch. Waldhier, I. Klimant, O. S. Wolfbeis, *Chem. Mater.* 19 (2007) 6187–6194.
30. S. Doganata, S. Coskun, Y. Öztürk, M. Çelikoglu, *Optoelectr. Advanc. materials-rapid communic.* 10 (2016) 354 – 357.
31. N. Nakamura, Y. Amao, *Anal. Bioanal. Chem.* 376 (2003) 642.
32. I.M. Pérez de Vargas-Sansalvador, C. Fay, T. Phelanb, M.D. Fernández-Ramos, L.F. Capitán-Vallvey, D. Diamond, F. Benito-Lopez. *Anal. Chimi. Acta* 699 (2011) 216–222
33. ISO, International standard, ISO (2008) 11843-5.
34. Robertson GL (2012) *In food packaging principle and practice* (2<sup>nd</sup> ed.) CRC press, UK.
35. Borchert NB, Kerry JP, Papkovsky DB, *Sensor and Actuators B*, 176 (2013)157-65.
36. Inyoung Choi, Jun Young Lee, Monique Lacroix, Jaejoon Han, *Food Chemistry* 218 (2017) 122-128.

37.M. Smolander, M. Hurme, E. Ahvenainers, R. Trends Food Scien.  
Technology,8(1997)101-106.



## Capítulo 5

# Sensor óptico NIR para determinar dióxido de carbono gaseoso





## 1. Introducción

En este trabajo de investigación se han conseguido algunos logros a partir de una membrana simple para determinar dióxido de carbono gaseoso basada en  $\alpha$ -naftolftaleina como indicador ácido-base e hidróxido de tetraoctilamonio (TOAOH) como agente de transferencia de fase [1]. Los principales han sido conseguir aumentar el tiempo de vida, disminuir la velocidad de respuesta y mejorar las condiciones de almacenamiento de las membranas sensoras, al no ser necesario conservarlas en una atmósfera especial [2].

Ahora se ha pretendido dar un paso más con el empleo de fluoróforos que presenten su respuesta en la región del infrarrojo, en concreto en el infrarrojo cercano (NIR), tratando de alcanzar las ventajas que aporta trabajar en esta región del espectro como son: baja interferencia por dispersión Raman, coeficientes de absorción molar altos, altos rendimientos cuánticos de fluorescencia, estabilidad frente a la fotodescomposición y degradación química, presentar una buena solubilidad, en general, ser resistentes frente a la autoagregación, presentar rutas sintéticas directas y ser razonablemente fáciles de funcionalizar [3]. Por otra parte, los sensores ópticos de  $\text{CO}_2$  también presentan gran interés en aplicaciones biológicas donde se prefiere el empleo de indicadores que operen en esta zona del espectro, siempre que presenten valores de  $\text{pK}_a$  adecuados [4] originar menor señal de fondo que los que absorben en el visible y ultravioleta. Los azaBODIPYs son interesantes debido a que sus espectros de absorción/emisión están en gran parte desplazados al rojo con respecto a BODIPYs convencionales, presentan bandas espectrales estrechas, rendimientos cuánticos de fluorescencia elevados y buena estabilidad [5]. Ello los convierte en colorantes apropiados para bioimagen, la generación de oxígeno singlete u óptica no lineal en el rango del infrarrojo cercano [6].

Otra ventaja de su empleo en tejidos vivos es su alto poder de penetración, originando una alta relación señal/ruido, lo que permite una detección altamente sensible en estos medios [7].

Recientemente, se han utilizado en sensores de  $\text{CO}_2$  indicadores de ftalocianina sensibles al pH que emiten en el infrarrojo [8]; sin embargo, los

tiempos de respuesta y recuperación son bastante largos y muy similares al clásico sensor de CO<sub>2</sub> de Severinghaus [9].

Como ya hemos dicho un grupo de compuestos muy interesantes que cumplen con estas características son los colorantes tipo azaBODIPY [10,11]. Los compuestos denominados abreviadamente azaBODIPY presentan una estructura 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacenos y son compuestos orgánicos versátiles que se pueden funcionalizar con facilidad para ajustar sus propiedades redox y características ópticas pues presentan unos coeficientes de extinción molar grandes ( $80.000 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) y altos rendimientos cuánticos de fluorescencia. Si los sustituyentes dan lugar a una conjugación adicional, tanto los espectros de absorción como los de emisión se desplazan de forma significativa a mayores longitudes de onda, con máximos de emisión mayores de 750 nm. Se han utilizados gran número de derivados para originar conjugados fluorescentes de anticuerpos, péptidos, proteínas y marcadores para marcado celular, imagen y detección.

Se trata de colorantes derivados de AZABODIPYs con el átomo de carbono meso reemplazado por un átomo de nitrógeno del tipo imina. Los colorantes 1,3,5,7-tetraaril azaBODIPY se sintetizan mediante reacción de un pirrol con un nitrosopirrol, que se prepara bien en una etapa previa o in situ. La reacción de adición entre las chalconas y el nitrometano, o cianuro, seguido de una reacción de condensación con acetato de amonio, origina azadipirrometenos, y la posterior complejación con  $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$  da como resultado los azaBODIPY correspondientes.

Específicamente, varios colorantes tipo azaBODIPY con sustituyentes amino o hidroxilo se han usado como indicadores fluorescentes de pH [10], así la 4-anilina boro-dipirrometano se ha propuesto para la detección de pH y CO<sub>2</sub> gas con un valor de pKa de 3,24 [12]. Existe un especial interés en el desarrollo de indicadores de pH luminiscente que puedan usarse in vivo y con la característica de ser ópticamente activos en una región NIR relativamente estrecha (700-900 nm) y poseer un pKa fisiológicamente relevante, aproximadamente entre 4,8 y 7,8 [13]. Por ello, se han sintetizado nuevos azaBODIPY funcionales sensibles al pH con la ventaja de ser estables durante un largo periodo de tiempo [7]. Sin embargo, para algunos de estos

azaBODIPYs la formación de pares de iones fue irreversible y el indicador no se pudo protonar incluso a un 100% de  $\text{CO}_2$  [14]. Con el fin de eliminar este inconveniente se han sintetizado otros azaBODIPYs como indicadores sensibles al pH para dióxido de carbono como son los di-OH-azaBODIPY [15].

Haciendo uso de la técnica de referencia de tiempo de vida dual, se ha empleado un azaBODIPY y purpura de m-cresol como indicador de pH en sensores de pH y  $\text{CO}_2$ , respectivamente, empleando como referencia un fósforo inorgánico, en concreto un borato de aluminio e itrio y un borato de aluminio y gadolinio activados ambos con Cr(III) [14-17].

Los fósforos inorgánicos son compuestos que emiten radiación por luminiscencia y que constan de una red de naturaleza inorgánica (vanadato, óxido, oxihaluro, borato, etc.) que actúa como receptora de algún ion que origina inhomogeneidades en la estructura. Estas heterogeneidades en la estructura cristalina se crean normalmente por adición de una cantidad traza de dopantes, que son impurezas llamadas activadores. La longitud de onda emitida por el centro de emisión depende del átomo en sí y de la estructura cristalina circundante.

El proceso de emisión en materiales inorgánicos se debe a la estructura de la banda electrónica que presenta el compuesto. Un fotón incidente puede excitar un electrón de la banda de valencia bien a la banda de conducción o bien a la banda del excitón. Un excitón es una cuasipartícula en sólidos semiconductores y aislantes formada por un electrón y un hueco ligados a través de interacción coulombiana. El sistema que resulta de la interacción del electrón con el hueco que deja, que es de carga opuesta, posee una energía ligeramente menor que la de un electrón y un hueco libres.

Las impurezas presentes crean niveles electrónicos en la banda prohibida. Los excitones presentes se mueven por la red cristalina hasta que son capturados por centros de impurezas. Como resultado los excitones se relajan rápidamente emitiendo luminiscencia (componente rápido). Por otra parte, los huecos asociados con electrones en la banda de conducción son independientes de estos últimos. Esos huecos y electrones son capturados de forma sucesiva por los centros de impureza que excitan ciertos estados

metaestables que no son accesibles a los excitones. La relajación retardada de esos estados metastables de las impurezas, origina una nueva emisión luminiscente (componente lento) [18].

En este capítulo se estudian y proponen sensores ópticos para determinar el CO<sub>2</sub> gas basado en procesos de fluorescencia por transferencia de energía de resonancia (FRET) entre azaBODIPYs fluorescentes sencillos, fáciles de sintetizar, que actúan como indicadores de pH en el rango fisiológico y un fósforo, en concreto el borato de aluminio y gadolinio dopado con Cr(III) (GAB) como polvo microcristalino formando una única membrana sólida sobre un soporte inerte de Mylar.

## **2. Experimental**

### **2.1. Síntesis y caracterización (GAB) microcristalino.**

Fue sintetizado de acuerdo con el procedimiento propuesto por Borisov utilizando el método de combustión en disolución usando urea como combustible [19].

En una síntesis habitual se emplearon 5 mmol (1,915 g) de nitrato de gadolinio hexahidratado, 13,5 mmol (5,064 g) de nitrato de aluminio nonahidratado, 0,25 mmol (0,100 g) de nitrato de cromo nonahidrato, 20 mmol (1,236 g) de ácido bórico y 100 mmol (6 g) de urea en 10 mL de agua purificada. La disolución se calentó en un horno hasta 500°C con una rampa de 20 °C/min, manteniendo esta temperatura durante 15 minutos. El producto obtenido se molió en un mortero de ágata y se sinterizó a continuación en un crisol de porcelana durante 24 h a 1100 °C en mufla al aire. Por último, el resultante se molió en un molino de bolas dando lugar a partículas microcristalinas.

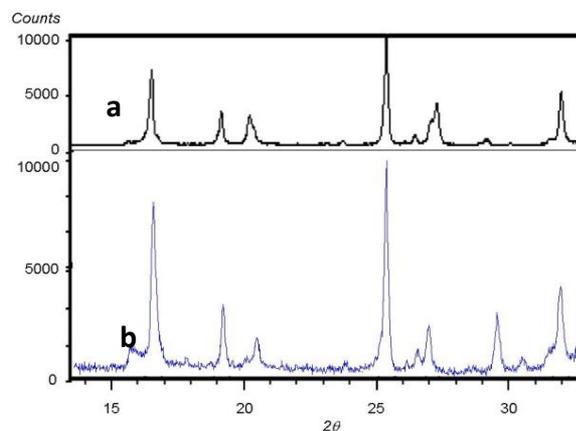


Figura 5.1. Patrones de difracción de rayos X de GAB.  
 a) obtenido por el método propuesto en bibliografía;  
 b) obtenido experimentalmente en el laboratorio.

Se caracterizaron mediante análisis por difracción de rayos X de polvo (XRD). La Figura 5.1 muestra la comparación entre los patrones de difracción publicados en bibliografía a) y los obtenidos por nosotros de forma experimental (b) [19]. Como se puede observar, después de analizar los espectros, podemos concluir que estos compuestos son materiales isoestructurales. El refinamiento de Le Bail se realizó y encontró valores similares de celda unitaria para el grupo espacial R32 ( $a = 9,348 \text{ \AA}$ ,  $c = 7,312 \text{ \AA}$ ) con un desplazamiento de la muestra de 0,29 mm.

El tamaño de los microcristales se calculó como la media de 10 medidas utilizando un microscopio de fluorescencia con un filtro TRITC (Figura 5.2).

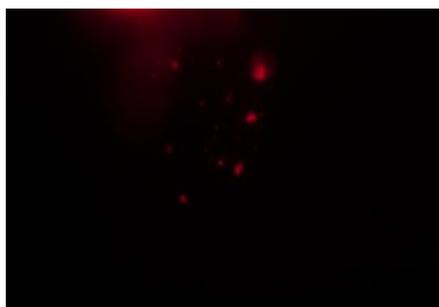


Figura 5.2. Imagen de las micropartículas de GAB.

En la Tabla 5.1, se recogen los valores del tamaño de las partículas medidas de GAB, junto con el valor de la desviación estándar obtenida.

Tabla 5.1, Medidas hechas con el microscopio de fluorescencia.

Tamaño partícula (µm)									
0,64	0,51	0,52	0,52	0,5	0,64	0,52	0,5	0,51	0,52
DER (%)				10					

A partir de los valores de la tabla se determinó el tamaño promedio de los microcristales de GAB, siendo este de  $0,54 \pm 0,05 \mu\text{m}$ .

En la Figura 5.3 se observan de excitación y de emisión de fluorescencia de las micropartículas de GAB, observándose que la longitud de onda de excitación se encuentra a 642 nm y una longitud de emisión de 718 nm.

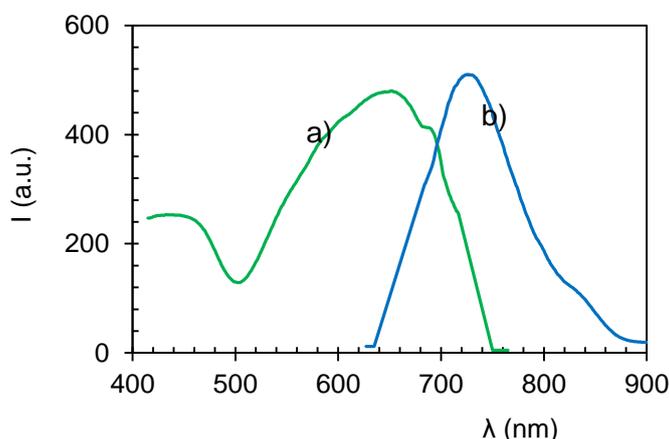


Figura 5.3. Espectros de luminiscencia de GAB.  
a) Espectro de excitación; b) Espectro de emisión.

## 2.2. Síntesis de azaBODIPYs

Se han diseñado y sintetizado los azaBODIPYs estudiados en esta memoria con la colaboración del grupo de Investigación de Carbohidratos dirigido por el Prof. Santoyo González del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Granada (FQM-208). Para la síntesis de estos compuestos se siguieron las mismas rutas seguidas en bibliografía, obteniéndose rendimientos muy parecidos a los descritos [14,20].

Las estructuras moleculares de los tres azaBODIPYs son las que se muestran en la figura 5.4.

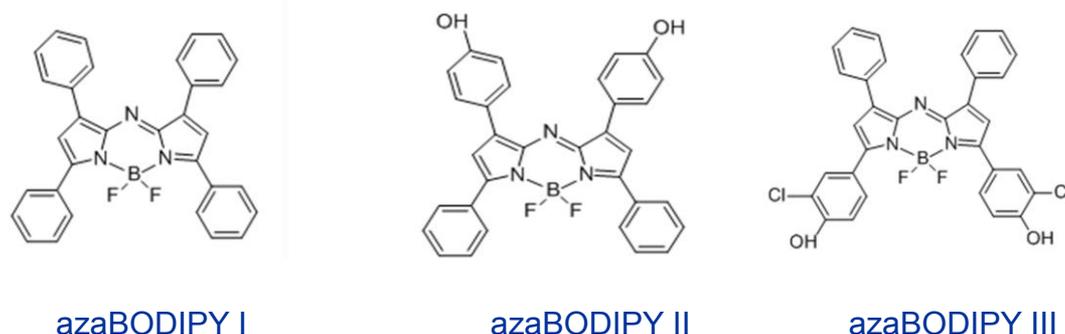


Figura 5.4 Estructura química de los azaBODIPYs estudiados.

### 2.2.1. Síntesis de AzaBODIPY I

#### - (1) Síntesis de (E)-3-(fenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona

En un matraz de fondo redondo se disolvieron 5300 mg de acetofenona (0,05 moles) con 20 mL de EtOH. Una vez disuelto, se añadió gota a gota una disolución de 6000 mg (0,056 mol) de benzaldehído y 400 mg de NaOH en otros 20 mL de EtOH. La mezcla se calentó a reflujo durante unas 24 horas. Se redujo el volumen de disolvente a baja presión y se recogió un precipitado amarillo brillante mediante filtración. El precipitado se purificó en columna de sílica gel empleando éter:hexano (1:2) como eluyente. Se obtienen 2660 mg del producto (1).

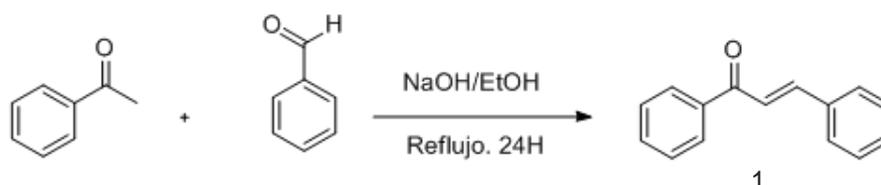


Figura 5.5. Reacción de obtención de (E)-3-(fenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona

#### - (2) Síntesis de 3-fenil-4-nitro-1-fenilbutan-1-ona

Se disolvieron los 2660 mg obtenidos en la reacción anterior en 19 mL de metanol junto con 874 mg de metóxido sódico y 947 mg de nitrometano. La reacción se mantuvo 12 horas a temperatura ambiente. Tras acidificar se hizo una extracción líquido-líquido con Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>:H<sub>2</sub>O.

La fase orgánica se evaporó obteniéndose el nitroderivado que se purificó en columna de gel de sílice, con una mezcla acetato de etilo/hexano (1:4).

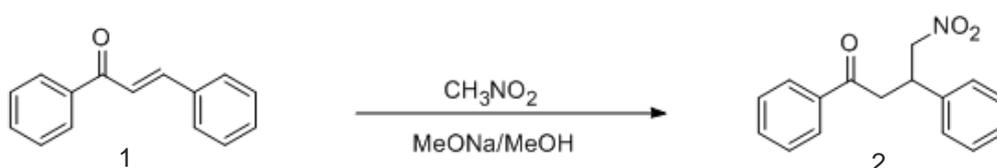


Figura 5.6. Reacción de obtención de 3-fenil-4-nitro-1-fenilbutan-1-ona

- (3) Síntesis de (Z)-4-(2-(3-fenil)-5-fenil-1H-pirrol-2-il)imino)-5-fenil-2H-pirrol-3-il)fenol

Los 580 mg obtenidos del nitroderivado se pusieron con 5,8 g de acetato sódico en 29 mL de etanol a reflujo durante 24 horas. A continuación, se agregaron 20 mL de H<sub>2</sub>O y se hicieron tres extracciones sucesivas con 20 mL de acetato de etilo cada una. La fase orgánica se evaporó a presión reducida, obteniéndose un precipitado de color azul intenso que se dejó en el desecador sobre sulfato sódico. Se obtuvieron 166 mg del producto que se empleó en la siguiente etapa sintética sin mayor purificación.

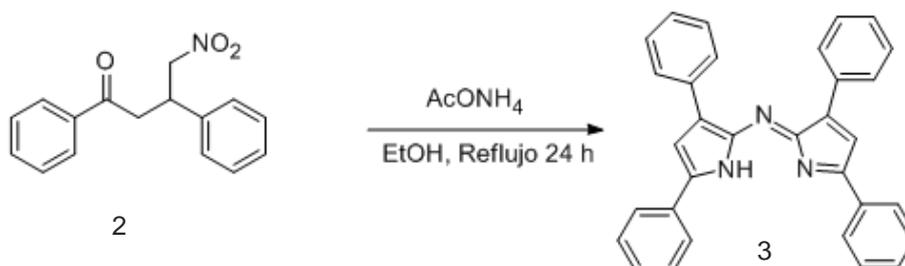


Figura 5.7. Reacción de obtención de Z)-4-(2-(3-fenil)-5-fenil-1H-pirrol-2-il)imino)-5-fenil-2H-pirrol-3-il)fenol.

- (4) Síntesis de 1,3,5,7-tetrafenil-(bora triazaindaceno)

Se tomaron los 166 mg del producto anterior y se disolvieron bajo atmósfera de argón en 24 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anhidro adicionado con una jeringa a través de un septum. Del mismo modo se añadieron 0,26 mL de diisopropietilamina y 0,27 mL de  $\text{BF}_3 \cdot (\text{Et}_2\text{O})_2$ . Se dejaron en agitación con burbujeo de argón y tras 24 horas de reacción desapareció el producto de partida. Se purificó en columna de gel de sílice empleando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  como eluyente, obteniéndose 178 mg del producto final.

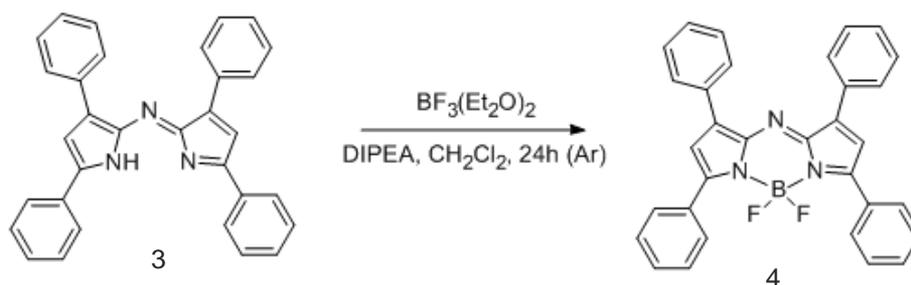


Figura 5.8. Reacción de obtención de 1,3,5,7-tetrafenil-(bora triazaindaceno).

## 2.2.2. Síntesis de AzaBODIPY II

- (5) Síntesis de (E)-3-(4-hidroxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona

En un matraz de fondo redondo se disolvieron 1000 mg de acetofenona (8,3 mmol, 1 eq) con 20 mL de EtOH. Una vez disuelto, se añadió gota a gota una disolución de 980 mg (8,3 mmol, 1 eq) de p-hidroxibenzaldehído y 400 mg de NaOH en otros 20 mL de EtOH. La mezcla se calentó a reflujo durante 24 horas. Se redujo el volumen de disolvente a baja presión y se recogió un precipitado amarillo brillante mediante filtración. El precipitado se purificó en columna de gel de sílice empleando como eluyente éter: hexano (1: 2).

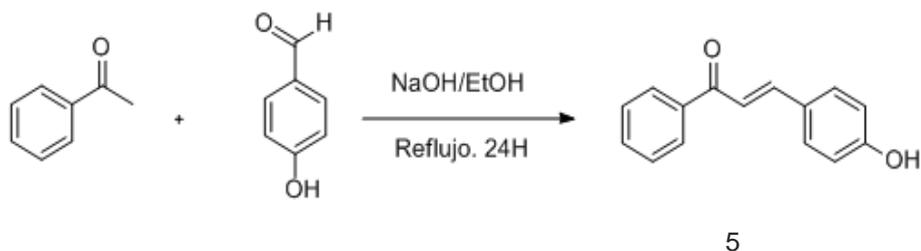


Figura 5.9. Reacción de obtención de (E)-3-(4-hidroxifenil)-1-fenilprop-2-en-1-ona.

- (6) *Síntesis de 3-(4-hidroxifenil)-4-nitro-1-fenilbutan-1-ona*

En un matraz de fondo redondo con 20 mL de MeOH anhidro, se disolvieron 965 mg (4,32 mmol, 1 eq) de (5). Se añadieron 1316 mg (21,58 mmol, 5 eq) de nitrometano y 1316 mg (21,58 mmol, 5 eq) de dietilamina calentando a reflujo durante 48 h. Tras esto, se dejó que la reacción alcanzase temperatura ambiente, se neutralizó con una disolución acuosa de HCl al 5% hasta pH neutro y se añadieron 20 mL más de agua. Al crudo se le hicieron 3 extracciones sucesivas con 20 mL de acetato de etilo cada una y los extractos orgánicos separados por decantación fueron secados sobre sulfato sódico. A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida. Se obtuvo el producto como un sirupo pardo que se empleó sin mayor purificación en el siguiente paso de síntesis.

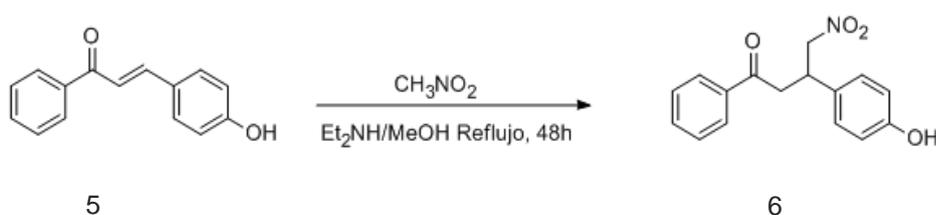


Figura 5.10. Reacción de obtención de 3-(4-hidroxifenil)-4-nitro-1-fenilbutan-1-ona.

- (7) *Síntesis de (Z)-4-(2-((3-(4-hidroxifenil)-5-fenil-1H-pirrol-2-il)imino)-5-fenil-2H-pirrol-3-il)fenol.*

En un matraz de fondo redondo se disolvió todo el producto obtenido en la etapa anterior (6) en unos 40 mL de EtOH, y se agregaron 9 g de acetato amónico (120 mmol, 30 eq). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 48 h. A continuación, se agregaron 20 mL de H<sub>2</sub>O y se le hicieron tres

extracciones sucesivas con 20 mL de acetato de etilo cada vez. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y el disolvente se eliminó a presión reducida, obteniendo 1200 mg de un sólido azul verdoso que se empleó en la siguiente etapa sintética sin mayor purificación.

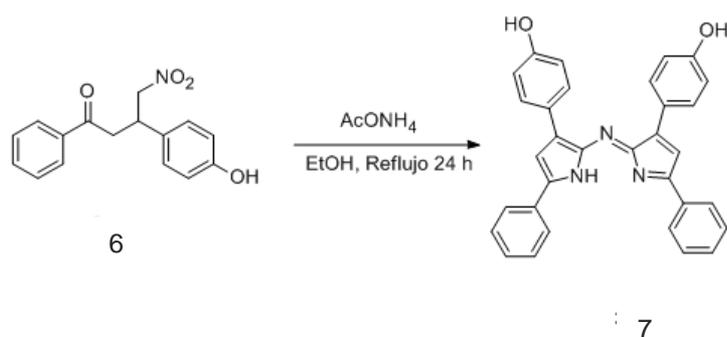


Figura 5.11. Reacción de obtención de (Z)-4-(2-((3-(4-hidroxifenil)-5-fenil-1H-pirrol-2-il)imino)-5-fenil-2H-pirrol-3-il)fenol.

- (8) 1,7-bis(4-hidroxifenil)-3,5-bisfenil-(bora triazaindaceno)

El producto (7) obtenido en la etapa sintética anterior se disolvió en unos 30 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se agregaron 2060 mg de diisopropiletilamina y 2830 mL de  $\text{BF}_3 \cdot (\text{Et}_2\text{O})_2$ . Tras dejar reaccionar durante 2h a temperatura ambiente, se redujo el volumen de disolvente y el crudo se purificó en columna de gel de sílice empleando  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  como eluyente, obteniendo el producto puro (8).

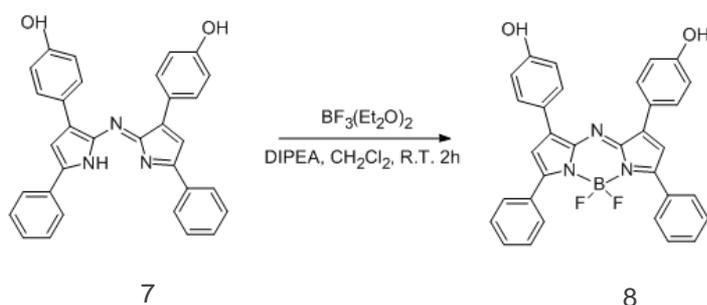


Figura 5.12. Reacción de obtención de 1,7-bis(4-hidroxifenil)-3,5-bisfenil-(bora triazaindaceno).

### 2.2.3. Síntesis de AzaBODIPY III

#### - (9) Síntesis de (E)-1-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona

En un matraz de fondo redondo se disolvieron 801 mg de 2-cloro-3-hidroxiacetofenona (4,7 mmol, 1 eq) en 15 mL de EtOH. Una vez disuelto, se añadió gota a gota una disolución de 500 mg (4,7 mmol, 1 eq) de benzaldehído y 200 mg de NaOH en otros 20 mL de EtOH. La mezcla se calentó a reflujo durante 24 horas. Se redujo el volumen de disolvente a baja presión y se recogió un precipitado amarillo brillante mediante filtración. El precipitado se purificó en columna de sílica gel empleando como eluyente éter:hexano (1:2).



Figura 5.13. Reacción de obtención de (E)-1-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona.

#### - (10) Síntesis de 1-(3-cloro-4-hidroxifenil)-4-nitro-3-fenilbutan-1-ona

En un matraz de fondo redondo con 15 mL de MeOH se disolvieron 650 mg (2,5 mmol, 1 eq) de (9). Se agregaron 769 mg (12,5 mmol, 5 eq) de nitrometano y 900 mg (12,5 mmol, 5 eq) de dietilamina calentando a reflujo 48 h. Tras esto, neutralizamos con una disolución con HCl al 5% hasta pH neutro, y agregamos 20 mL de agua. Se hicieron tres extracciones sucesivas con 20 mL de acetato de etilo cada vez, se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y se eliminó el disolvente a presión reducida. El producto se obtuvo como un sirupo pardo y se empleó sin mayor purificación en el siguiente paso de síntesis.

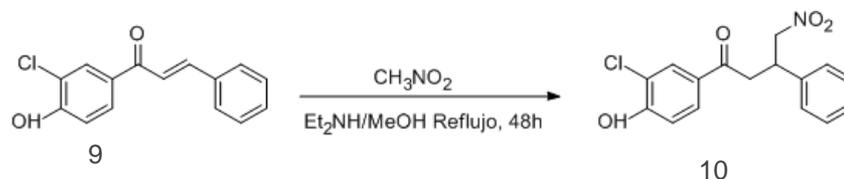


Figura 5.14. Reacción de obtención de 1-(3-cloro-4-hidroxifenil)-4-nitro-3-fenilbutan-1-ona.

- (11) Síntesis de (Z)-2-cloro-4-(2-((5-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-fenil-1H-pirrol-2-il)imino)-3-fenil-2H-pirrol-5-il)fenol

En un matraz de fondo redondo se disolvieron 500 mg de (10) en 20 mL de EtOH, y se agregaron 4200 mg de acetato amónico (55 mmol, 35 eq). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 48 h y a continuación, se agregaron 20 mL de H<sub>2</sub>O y se extrajo con 3 veces con 20 mL de acetato de etilo cada una. Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y el disolvente se eliminó a presión reducida. El producto se empleó sin mayor purificación para la etapa sintética siguiente.

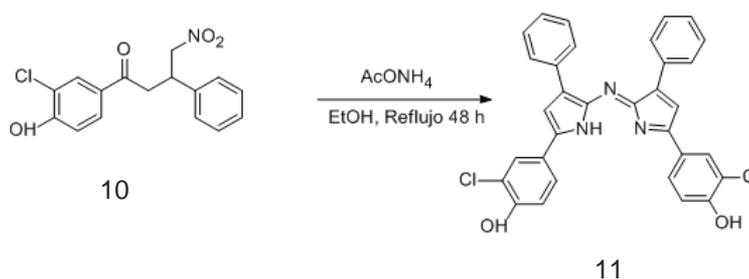


Figura 5.15. Reacción de obtención de (Z)-2-cloro-4-(2-((5-(3-cloro-4-hidroxifenil)-3-fenil-1H-pirrol-2-il)imino)-3-fenil-2H-pirrol-5-il)fenol.

- (12) Síntesis 1,7-bisfenil-3,5-bis(3-cloro-4-hidroxifenil)-(bora triazaindaceno).

El producto (11) obtenido en la etapa sintética anterior se disolvió en unos 25 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se agregaron 1160 mg de diisopropiletilamina y 2,14 mL de BF<sub>3</sub>·(Et<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>. Tras dejar reaccionar durante 2h, el crudo se purificó en columna de gel de sílice empleando CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente, obteniendo así el producto puro.

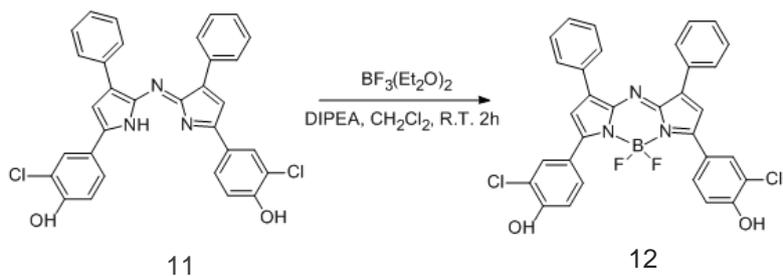
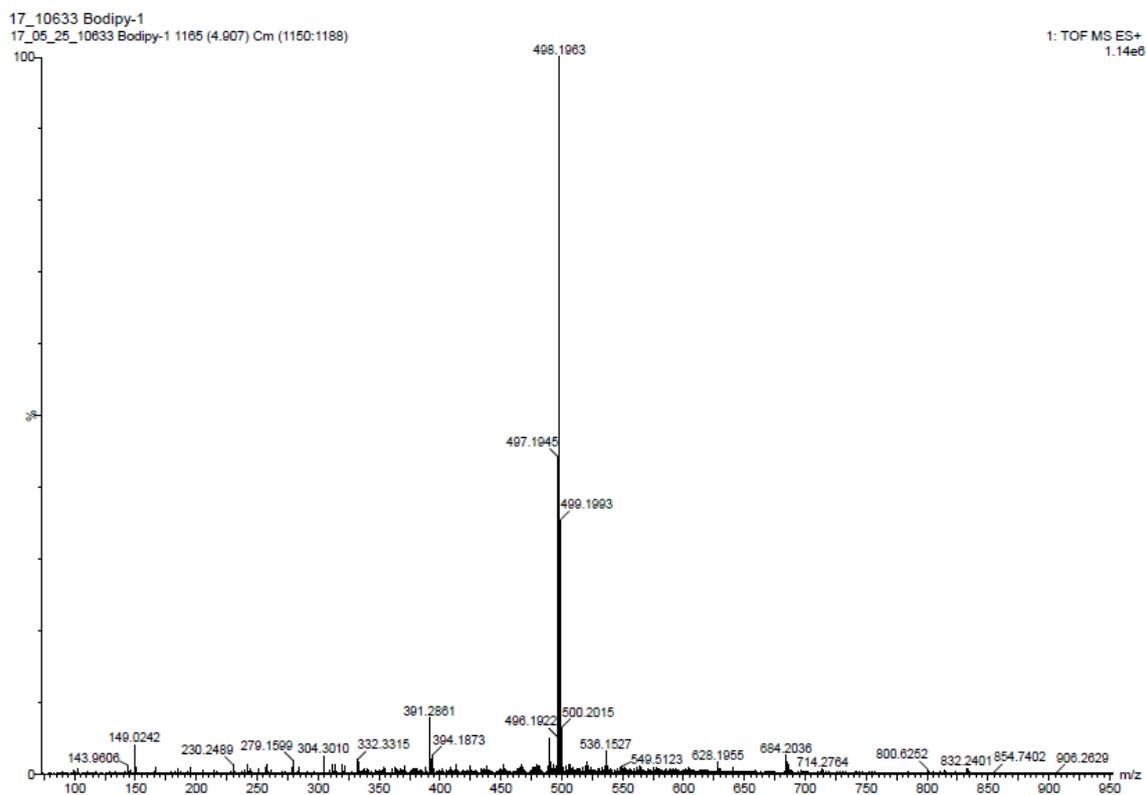


Figura 5.16. Reacción de obtención de 1,7-bisfenil-3,5-bis(3-cloro-4-hidroxifenil)-(bora triazaindaceno).

## Caracterización de los azaBODIPYs mediante espectrometría de masas

### - azaBODIPY I



Elemental Composition Report

Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -50.0, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

478 formula(e) evaluated with 3 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

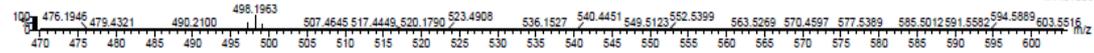
Elements Used:

C: 10-50 H: 0-200 N: 0-5 F: 0-2 11B: 0-1

17\_10633 Bodipy-1

17\_05\_25\_10633 Bodipy-1 1165 (4.907) Cm (1150:1188)

1: TOF MS ES+  
1.14e+006



Minimum: -50.0  
Maximum: 5.0 5.0 50.0

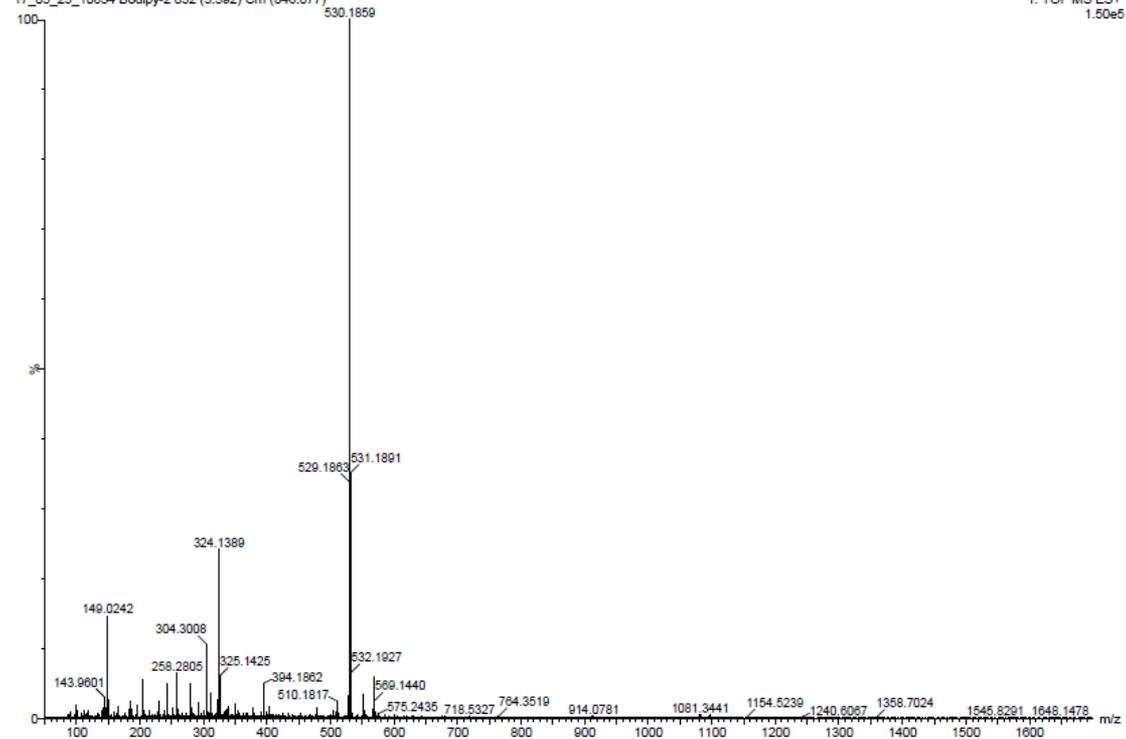
Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Norm	Conf (%)	Formula
498.1963	498.1953	1.0	2.0	22.5	684.4	0.000	99.97	C32 H23 N3 F2 11B
	498.1970	-0.7	-1.4	26.5	692.8	8.362	0.02	C36 H24 N3
	498.1954	0.9	1.8	-49.5	695.2	10.778	0.00	C24 H151 N2 F 11B

- azaBODIPY II

17\_10634 Bodipy-2

17\_05\_25\_10634 Bodipy-2 852 (3.592) Cm (846:877)

1: TOF MS ES+  
1.50e6



# Sensor NIR para CO<sub>2</sub>

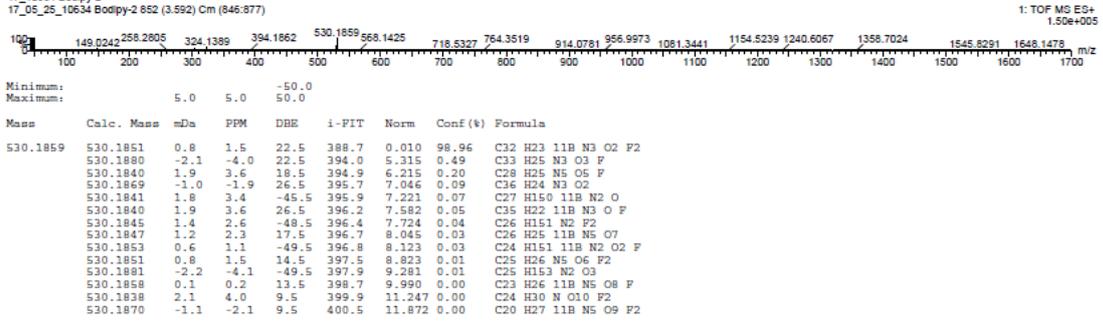
## Elemental Composition Report

Page 1

### Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -50.0, max = 50.0  
 Element prediction: Off  
 Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions  
 5046 formula(e) evaluated with 14 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)  
 Elements Used:  
 C: 10-50 H: 0-200 11B: 0-1 N: 0-5 O: 0-10 F: 0-2  
 17\_10634 Bodipy-2  
 17\_05\_25\_10634 Bodipy-2 852 (3.592) Cm (846.877)

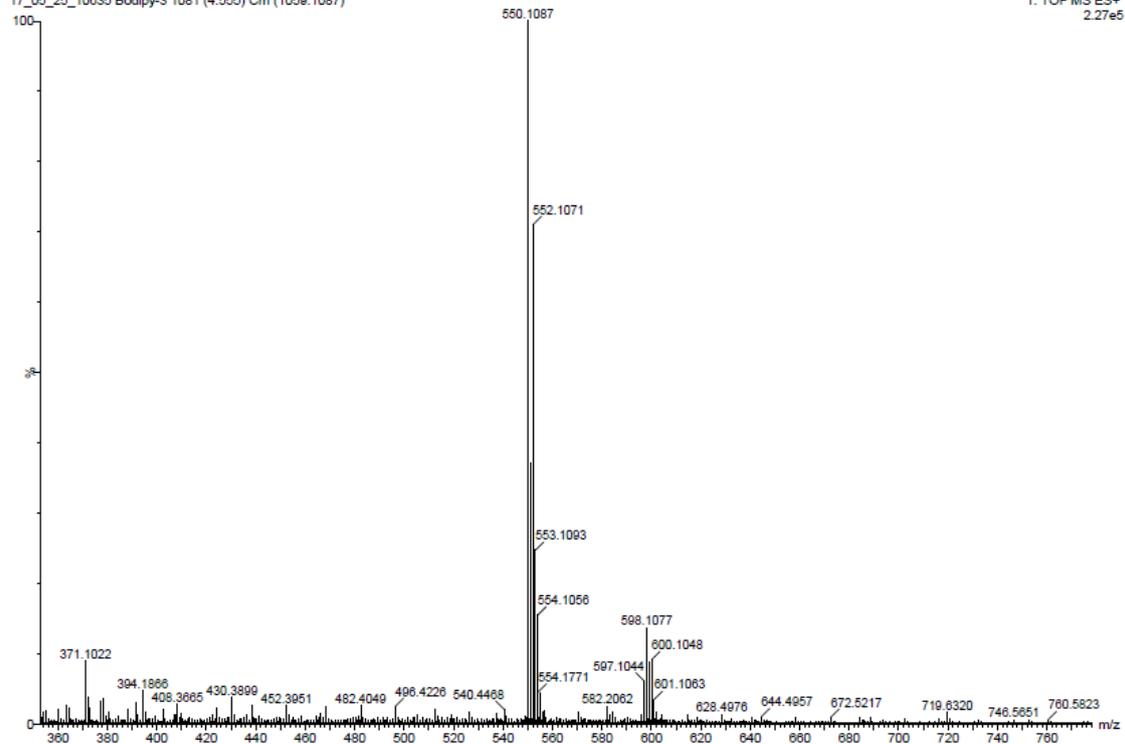


Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Norm	Conf (%)	Formula
530.1859	530.1851	0.8	1.5	22.5	388.7	0.010	98.96	C32 H23 11B N3 O2 F2
	530.1890	-2.1	-4.0	22.5	394.0	5.315	0.49	C33 H25 N3 O3 F
	530.1840	1.9	3.6	18.5	394.9	6.215	0.20	C28 H25 N5 O5 F
	530.1869	-1.0	-1.9	26.5	395.7	7.046	0.09	C36 H24 N3 O2
	530.1841	1.8	3.4	-45.5	395.9	7.221	0.07	C27 H150 11B N2 O
	530.1840	1.9	3.6	26.5	396.2	7.582	0.05	C35 H22 11B N3 O F
	530.1845	1.4	2.6	-48.5	396.4	7.724	0.04	C26 H151 N2 F2
	530.1847	1.2	2.3	17.5	396.7	8.045	0.03	C26 H25 11B N5 O7 F
	530.1853	0.6	1.1	-49.5	396.8	8.123	0.03	C24 H151 11B N2 O2 F
	530.1851	0.8	1.5	14.5	397.5	8.823	0.01	C25 H26 N5 O6 F2
	530.1881	-2.2	-4.1	-49.5	397.9	9.281	0.01	C25 H153 N2 O3
	530.1858	0.1	0.2	13.5	398.7	9.990	0.00	C23 H26 11B N5 O8 F
	530.1838	2.1	4.0	9.5	399.9	11.247	0.00	C24 H30 N O10 F2
	530.1870	-1.1	-2.1	9.5	400.5	11.872	0.00	C20 H27 11B N5 O9 F2

## - azaBODIPY III

17\_10635 Bodipy-3  
 17\_05\_25\_10635 Bodipy-3 1081 (4.555) Cm (1059.1087)

1: TOF MS ES+  
 2.27e5



Single Mass Analysis

Tolerance = 5.0 PPM / DBE: min = -50.0, max = 50.0

Element prediction: Off

Number of isotope peaks used for i-FIT = 3

Monoisotopic Mass, Even Electron Ions

1317 formula(e) evaluated with 5 results within limits (all results (up to 1000) for each mass)

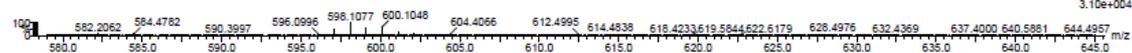
Elements Used:

C: 25-35 H: 0-200 11B: 0-1 N: 0-5 O: 2-5 F: 0-2 Cl: 2-2

17\_10635 Bodipy-3

17\_05\_25\_10635 Bodipy-3 1081 (4.555) Cm (1059:1087)

1: TOF MS ES+  
3.10e+04



Minimum: 5.0 5.0 -50.0

Maximum: 50.0

Mass	Calc. Mass	mDa	PPM	DBE	i-FIT	Norm	Conf (k)	Formula
598.1077	598.1072	0.5	0.8	22.5	537.9	1.226	29.35	C32 H21 11B N3 O2 F2 C12
	598.1049	2.8	4.7	22.5	537.9	1.276	27.92	C31 H22 N5 O4 C12
	598.1060	1.7	2.8	18.5	538.2	1.526	21.75	C28 H23 N5 O5 F C12
	598.1101	-2.4	-4.0	22.5	538.5	1.834	15.98	C33 H23 N3 O3 F C12
	598.1102	-2.5	-4.2	-49.5	539.6	2.993	5.01	C25 H151 N2 O3 C12

Dadas las características de la técnica los tres productos salen protonados, así que en los tres casos cada molécula sale un átomo de hidrógeno más de lo que debería según su estructura molecular original.

En la tabla 5.2 se recogen las masas calculadas para cada una de las moléculas con un protón más según su fórmula molecular y la obtenida en el espectro, viendo que que la coincidencia para cada una de ellas inmejorable.

Tabla 5.2. Masas calculadas de los azaBODIPYs comparadas con las obtenidas por espectrometría.

Producto	Estructura	Fórmula molecular + H <sup>+</sup>	Masa calculada	Masa obtenida
azaBODIPY-I		C <sub>32</sub> H <sub>23</sub> BF <sub>2</sub> N <sub>3</sub>	498,1953	498,1963
azaBODIPY-II		C <sub>32</sub> H <sub>23</sub> BF <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	530,1851	530,1859
azaBODIPY-III		C <sub>32</sub> H <sub>21</sub> BCl <sub>2</sub> F <sub>2</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	598,1072	598,1077

### 2.3. Determinación de las propiedades de los azaBODIPYs.

En este apartado se va a describir las principales propiedades físicas y químicas para los tres azaBodipys sintetizados y que son el cálculo de su coeficiente de extinción molar, el valor de su rendimiento cuántico de fluorescencia y las características de su comportamiento ácido base, mediante el cálculo experimental del valor de su pKa. Para realizar este estudio en primer lugar se realizaron los espectros en la región del visible para los compuestos sintetizados, así como sus espectros de fluorescencia.

En las siguientes figuras: figura 5.17, figura 5.18 y figura 5.19, se muestra el espectro de absorción del azaBODIPY I, azaBodipy II y azaBodipy III, con máximos de absorción a la longitud de onda de 655 nm, 662 nm, y 690 nm respectivamente.

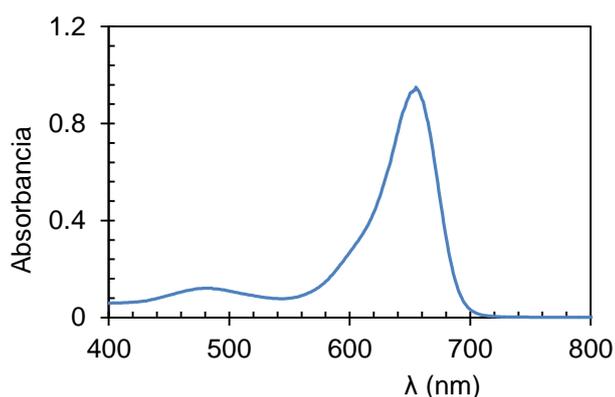


Figura 5.17. Espectro de absorción de azaBODIPY I.

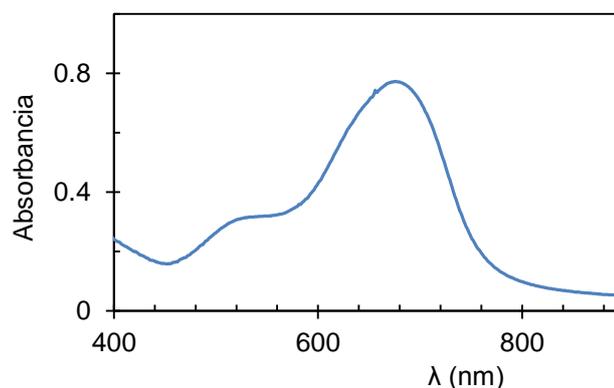


Figura 5.18. Espectro de absorción de azaBODIPY II.

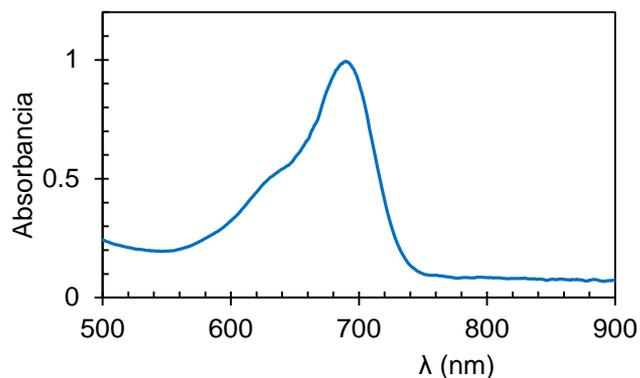


Figura 5.19. Espectro de absorción de azaBODIPY III.

En la figuras 5.20, 5.21 y 5.22, se muestran los espectro de excitación y de emisión de fluorescencia para el azaBodipy I, en una disolución de tolueno, y para el aza Bodipy II y azaBodipy III en una disolución en etanol, con máximos de emisión de 674 nm ( $\lambda_{exc}= 662$  nm), 710 nm ( $\lambda_{exc}= 662$  nm) y 718 nm ( $\lambda_{exc}= 662$  nm) respectivamente.

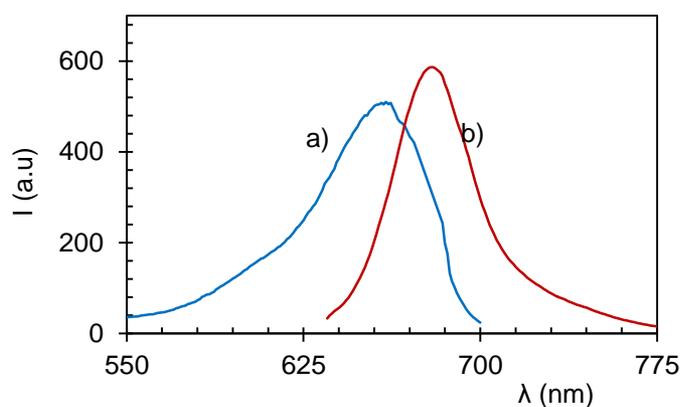


Figura 5.20. a) Espectro de excitación y b) emisión de fluorescencia de azaBODIPY I.

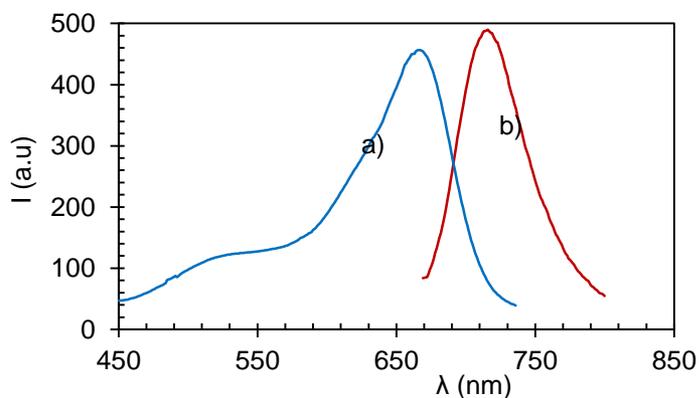


Figura 5.21. Espectro de excitación a) y de emisión de fluorescencia b) de azaBODIPY II.

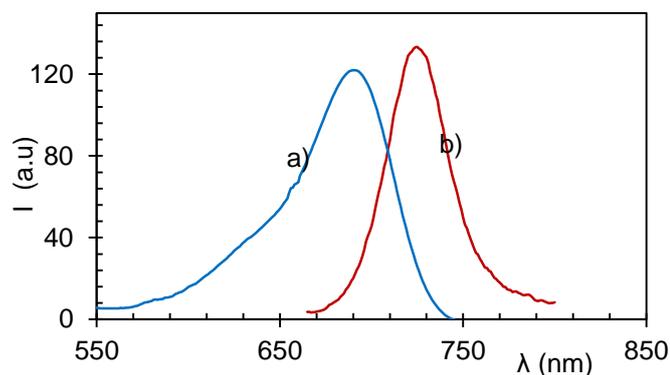


Figura 5.22. a) Espectro de excitación y b) emisión de fluorescencia de azaBODIPY III.

### 2.3.1. Coeficientes de extinción molar de los azaBODIPYs

Con el fin de determinar el coeficiente de extinción molar, se utilizó la ley de Lambert-Beer (ecuación 5.1).

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c \quad (\text{Ec. 5.1})$$

Donde  $A$  es la absorbancia,  $l$  la longitud de paso de la cubeta,  $\epsilon$  la absortividad molar o coeficiente de extinción molar y  $c$  la concentración.

Para ello, se prepararon varias disoluciones de cada azaBODIPY, se midió con ayuda de un espectrofotómetro la absorbancia de cada una de estas disoluciones a su longitud onda máxima de absorción, representando las absorbancias medidas en función de sus respectivas concentraciones, siendo la pendiente de la recta de calibrado el coeficiente de extinción molar  $\epsilon$ .

#### **Determinación del coeficiente de extinción molar de azaBODIPY I**

Se pesaron 0,2 mg de azaBODIPY I que se disolvieron en 10 mL de tolueno, obteniéndose una disolución madre de concentración  $4,04 \cdot 10^{-5}$  M. A partir de esa disolución madre, se prepararon sucesivas diluciones resultando concentraciones entre  $2 \cdot 10^{-5}$  y  $8,02 \cdot 10^{-6}$  M. En la tabla 5.3 se recogen las absorbancias medidas a una longitud de onda de 655 nm y en la figura 5.23 la recta de calibrado de las absorbancias en función de las respectivas concentraciones molares. La pendiente de la recta de calibrado resultante que es el coeficiente de extinción molar, presenta un valor de  $60.650 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Tabla 5.3. Absorbancias medidas para azaBODIPY I.

C	A (655nm)
$2,00 \cdot 10^{-5}$	1,110
$1,01 \cdot 10^{-5}$	0,600
$5,01 \cdot 10^{-6}$	0,287
$7,52 \cdot 10^{-6}$	0,407
$6,02 \cdot 10^{-6}$	0,342
$8,02 \cdot 10^{-6}$	0,449

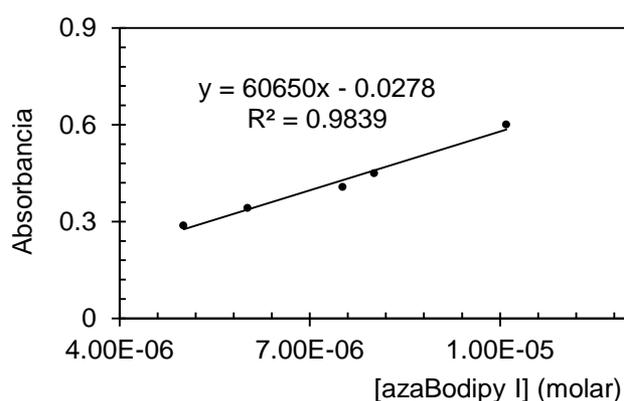


Figura 5.23. Recta de calibrado para el cálculo del coeficiente de extinción molar de azaBODIPY I.

### **Determinación del coeficiente de extinción molar de azaBODIPY II**

Se pesaron 0,15 mg de azaBODIPY II que se disolvieron en 10 mL de etanol, obteniéndose una disolución madre de concentración  $4,04 \cdot 10^{-5}$  M. Al igual que antes se prepararon diluciones sucesivas obteniéndose concentraciones de  $8,4 \cdot 10^{-5}$  a  $2,6 \cdot 10^{-5}$  M. En la tabla 5.4 se recogen las absorbancias medidas a 662 nm. Como se puede ver la pendiente de la recta de calibración de la figura 5.24 tiene un valor de 17.207, que corresponde al coeficiente de extinción molar de azaBODIPY II.

Tabla 5.4. Absorbancias medidas para azaBODIPY II.

M	A(662 nm)
$8,4 \cdot 10^{-5}$	1,448
$4,5 \cdot 10^{-5}$	0,719
$1,78 \cdot 10^{-5}$	0,332
$3,4 \cdot 10^{-5}$	0,529
$2,6 \cdot 10^{-5}$	0,429

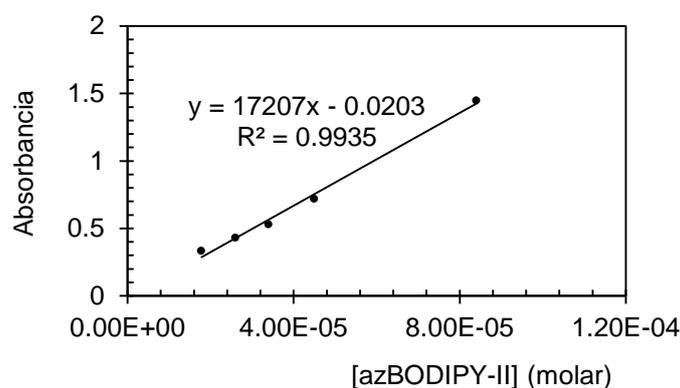


Figura 5.24. Recta de calibrado para el cálculo coeficiente de extinción molar de azaBODIPY II.

### **Determinación del coeficiente de extinción molar de azaBODIPY III**

Se pesaron 0,5 mg de azaBODIPY III que disolvieron en 10 mL de etanol, obteniéndose una disolución madre de concentración  $7,54 \cdot 10^{-5}$  M, a partir de la cual se hicieron diluciones sucesivas con etanol obteniendo concentraciones del producto entre  $7,54 \cdot 10^{-5}$  y  $1,88 \cdot 10^{-5}$  M. Se midieron las correspondientes absorbancias para construir la recta de calibrado, recogiendo los datos en la tabla 5.5 y representándolos en la figura 5.25, de las que se deduce que el coeficiente de extinción molar de azaBODIPY III es de  $10.983 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

Tabla 5.5. Absorbancias medidas de azaBODIPY III.

M	A (690 nm)
$7,54 \cdot 10^{-5}$	0,822
$5,65 \cdot 10^{-5}$	0,579
$3,95 \cdot 10^{-5}$	0,404
$188 \cdot 10^{-5}$	0,196

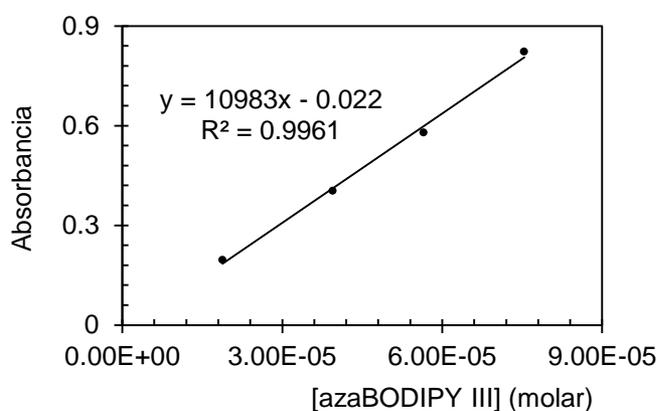


Figura 5.25. Recta de calibrado para el cálculo coeficiente de extinción molar de azaBODIPY III.

### 2.3.2. Rendimiento cuántico de fluorescencia de los azaBODIPYs.

Los rendimientos cuánticos para los tres azaBODIPYs sintetizados fueron estimados por el método descrito por Williams et al. [21] usando la ecuación 5.2.

$$\Phi_{FV} = \Phi_R \frac{n_{FV}}{n_R} \left( \frac{\mu_{FV}}{\mu_R} \right)^2 \quad (\text{ec. 5.2})$$

En ella  $\Phi_{FV}$  es el rendimiento cuántico del fluorocromo problema,  $\Phi_R$  es el rendimiento cuántico del fluorocromo patrón,  $\mu_{FV}$  es el índice de refracción del disolvente utilizado en las disoluciones de la muestra problema y  $\mu_R$  es el índice de refracción del disolvente utilizado en las disoluciones del fluorocromo patrón.

Por su parte,  $m_{FV}$  y  $m_R$  son las respectivas pendientes de las rectas obtenidas al representar las absorbancias medidas a una longitud de onda determinada para distintas concentraciones de fluorocromo en función del área bajo la curva de la emisión de fluorescencia a esa misma longitud de onda de excitación.

Como fluorocromo patrón se utilizó el tetra-(terc-butil)-ftalocianina, cuyo  $\epsilon=181,970 \text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$  [22]. Se prepararon disoluciones del fluorocromo patrón en benceno de  $6,86\cdot 10^{-8}$  a  $6,8\cdot 10^{-8}$  M, concentraciones cuyas absorbancias medidas dieron valores menores de 0,1 a la longitud de onda máxima de absorción (662 nm). A continuación, se midieron las intensidades de emisión de fluorescencia de dichas disoluciones excitando a esa misma longitud de onda de absorción.

Se calcularon las áreas de los picos de emisión, representándose frente a las absorbancias medidas. En la tabla 5.6 se recogen las absorbancias medidas y las integrales de los picos de emisión de fluorescencia calculados para las correspondientes concentraciones de fluorocromo patrón preparado. Las intensidades de fluorescencia de emisión se registraron a 675 nm.

Tabla 5.6. Absorbancias del patrón y áreas bajo a curva del patrón.

A (662 nm)	[Patrón] (M)	$I_{\text{Fluor.}}$ (área bajo la curva)
$1,44\cdot 10^{-1}$	$6,86\cdot 10^{-8}$	$2,30\cdot 10^{14}$
$4,00\cdot 10^{-2}$	$3,40\cdot 10^{-8}$	$3,00\cdot 10^{13}$
$3,70\cdot 10^{-2}$	$1,30\cdot 10^{-8}$	$2,35\cdot 10^{13}$
$1,23\cdot 10^{-3}$	$6,8\cdot 10^{-9}$	$6,80\cdot 10^9$

En la figura 5.26 se representan las áreas bajo la curva de los picos de emisión de fluorescencia del fluorocromo patrón en función de las absorbancia. La pendiente de esta recta de calibrado es la que corresponde a la ecuación de Willian, donde  $m_R= 2\cdot 10^{15}$ .

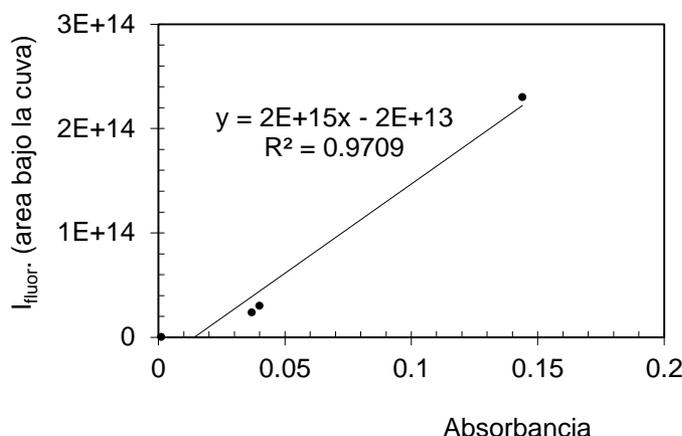


Figura 5.26. Recta de calibrado del fluorocromo patrón para el cálculo de  $m_R$ .

### Determinación del rendimiento cuántico de fluorescencia del azaBODIPY I

Se prepararon disoluciones de azaBODIPY I comprendidas entre  $1,06 \cdot 10^{-6}$  M y  $5,30 \cdot 10^{-7}$  M en tolueno, midiendo sus absorbancias a 662 nm y luego las intensidades de emisión excitando a esa misma longitud de onda. Las intensidades de fluorescencia se registraron a 674 nm con unas rendijas de 2,5:5. En la tabla 5.7 se recogen los valores medidos.

Tabla 5.7. Absorbancias de azaBODIPY I y áreas bajo la curva.

A(662 nm)	$I_{\text{Fluor.}}$ (área bajo la curva)
0,075	$2,20 \cdot 10^{13}$
0,085	$3,04 \cdot 10^{13}$
0,070	$2,00 \cdot 10^{13}$
0,050	$1,00 \cdot 10^{13}$
0,040	$3,80 \cdot 10^{12}$
0,027	$1,90 \cdot 10^{10}$

En la figura 5.27 se representa el calibrado de las absorbancias medidas en función de las áreas bajo la curva de las intensidades de emisión correspondientes. La pendiente de esta recta de calibrado es la que corresponde a la ecuación de Willian,  $m_{\text{azaBODIPY I}} = 2 \cdot 10^{14}$ .

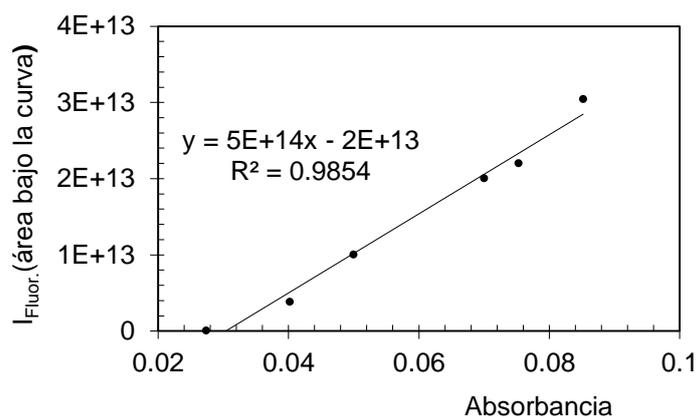


Figura 5.27. Recta de calibrado de azaBODIPY I para el cálculo de  $m_{B0-I}$

Sabiendo que  $\Phi_R = 0,44$ ;  $\mu_{(benceno)} = 1,496$ ;  $\mu_{(benceno)} = 1,505$ ;  $m_{azaBODIPY I} = 2 \cdot 10^{14}$  y  $m_R = 2 \cdot 10^{15}$  al aplicar la ecuación 5.3, se obtiene un valor de rendimiento cuántico  $\Phi_{B0-I}$  del 11 %.

### Determinación del rendimiento cuántico de fluorescencia de azaBODIPY II

Como en el caso anterior se prepararon disoluciones del azaBODIPY II entre  $3 \cdot 10^{-5}$  y  $1 \cdot 10^{-5}$  M, midiendo sus absorbancias a 662 nm y luego las intensidades de fluorescencia de emisión excitando a esa misma longitud de onda de absorción y midiendo a 710 nm con rendijas de 2,5:5. En la tabla 5.8 se recogen las absorbancias medidas a 662 nm y las áreas calculadas bajo a curva de las respectivas intensidades de emisión para cada concentración.

Tabla 5.8. Absorbancias de azaBODIPY II y áreas bajo la curva.

A (662 nm)	I <sub>Fluor.</sub> (área bajo la curva)
0,228	$7,2 \cdot 10^{13}$
0,200	$6,0 \cdot 10^{13}$
0,160	$4,5 \cdot 10^{13}$
0,140	$3,5 \cdot 10^{13}$
0,121	$2,0 \cdot 10^{13}$

En la figura 5.28 se muestra la recta de calibrado de las integrales de los picos de emisión de fluorescencia en función de las absorbancias medidas para cada concentración.

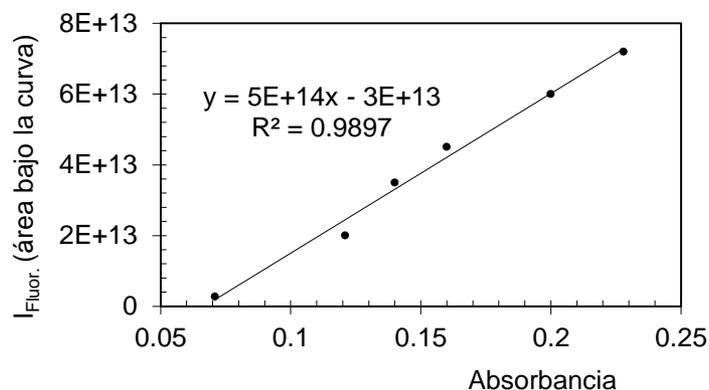


Figura 5.28. Recta de calibrado de azaBODIPY II para el cálculo de  $m_{\text{azaBODIPY II}}$ .

Como resultado sabemos que  $\Phi_R = 0,44$ ;  $\mu_{(\text{etanol})} = 1,361$ ;  $\mu_{(\text{benceno})} = 1,505$ ;  $m_{\text{azaBODIPY II}} = 5 \cdot 10^{14}$  y  $m_R = 2 \cdot 10^{15}$  con lo que aplicando la ecuación 5.3 se obtiene un rendimiento cuántico de fluorescencia  $\Phi_{\text{azaBODIPY II}}$  del 9 %.

### Determinación del rendimiento cuántico de fluorescencia de azaBODIPY

#### III

Para ello se prepararon disoluciones de azaBODIPY III en etanol de entre  $8 \cdot 10^{-5}$  y  $2 \cdot 10^{-5}$  M y se midieron sus absorbancias a 662 nm y a continuación las intensidades de fluorescencia de emisión excitando a esa misma longitud de onda registrando a 718 nm con rendijas de 2,5:5. En la tabla 5.9 se recogen los datos obtenidos para cada una de las concentraciones estudiadas.

Tabla 5.9. Absorbancias de azaBODIPY III y áreas bajo la curva.

A(662 nm)	I <sub>fluor.</sub> (área bajo la curva)
0,093	$1,35 \cdot 10^{13}$
0,087	$1,20 \cdot 10^{13}$
0,070	$7,82 \cdot 10^{12}$
0,054	$3,81 \cdot 10^{12}$
0,040	$5,60 \cdot 10^{11}$
0,038	$1,40 \cdot 10^{11}$

En la figura 5.29 se representa la recta de calibrado de las integrales de los picos de emisión de fluorescencia en función de da las absorbancias medidas para cada concentración.

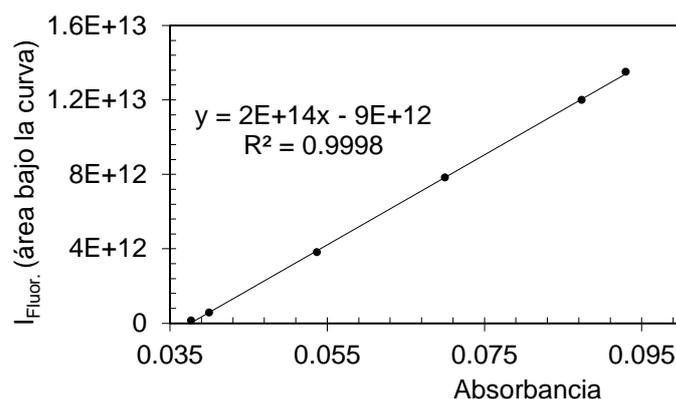


Figura 5.29. Recta de calibrado del B-III para el cálculo de  $m_{Bo-III}$ .

Como resultados sabemos que  $\Phi_R = 0,44$ ;  $\mu_{(etanol)} = 1,361$ ;  $\mu_{(benceno)} = 1,505$ ;  $m_{azaBODIPY III} = 2 \cdot 10^{14}$ ;  $m_R = 2 \cdot 10^{15}$ . Al aplicar la ecuación 5.3 se obtiene un rendimiento cuántico  $\Phi_{azaBODIPY III}$  del 3,6 %.

## 2.4. Comportamiento ácido-base de los azaBODIPYs.

Para estimar el comportamiento ácido-base de los azaBODIPYs que será clave para poder usarlos en sensores de CO<sub>2</sub>, se hará a través de una valoración ácido-base de cada uno de ellos.

### 2.4.1. Comportamiento ácido-base de azaBODIPY I

Se pesaron 0,13 mg de azaBODIPY I (Pm 497 g/mol) que se disolvieron en 24 mL de una mezcla dimetilsulfóxido (DMSO): H<sub>2</sub>O (3:1) con lo que su concentración resultó de  $1,09 \cdot 10^{-5}$  M. Se valoró con disolución de NaOH  $10^{-4}$  M dispensada con una microbureta. Tras cada adición se midió el valor de pH aparente registrándose el espectro de absorción y en un experimento similar se registró el espectro de emisión excitando la longitud de onda del máximo de absorción.

En la figuras 5.30 se muestran los espectros de absorción que como vemos disminuyen a medida que aumenta el pH y en la figura 5.31 los espectros de emisión que también disminuyen con el pH.

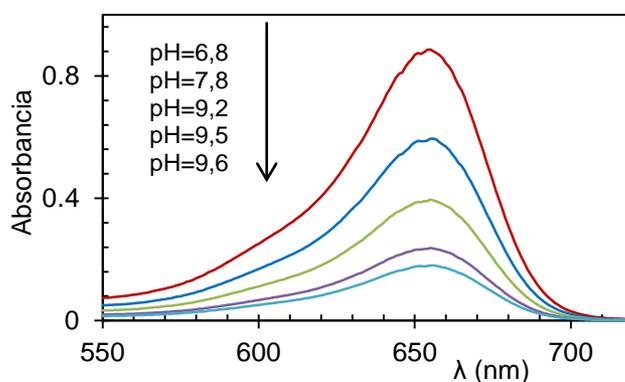


Figura 5.30. Influencia del pH en los espectros de absorción de azaBODIPY I.

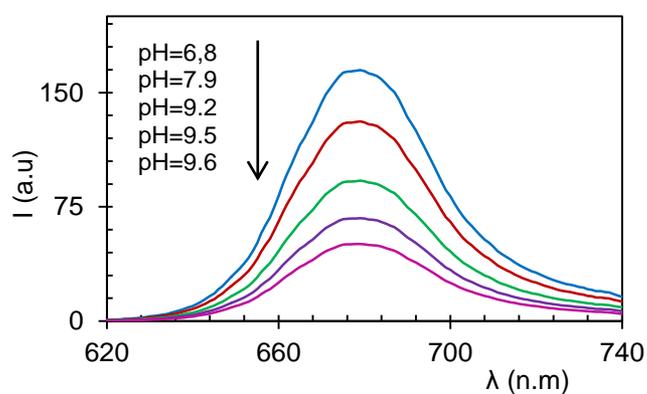


Figura 5.31. Influencia del pH en los espectros de emisión de fluorescencia de azaBODIPY I.

#### 2.4.2. Comportamiento ácido-base de azaBODIPY II

En esta ocasión se pesaron 0,19 mg de azaBODIPY II (Pm 529 g/mol) que se disolvieron en 8 mL una mezcla DMSO: H<sub>2</sub>O (3:1) de donde resulta una concentración de  $4,7 \cdot 10^{-5}$  M. Operando de la misma forma anteriormente indicada se registran los espectros de absorción mostrados en la figura 5.32 y los de emisión en la figura 5.33 que muestran la misma pauta de comportamiento que para azaBODIPY I.

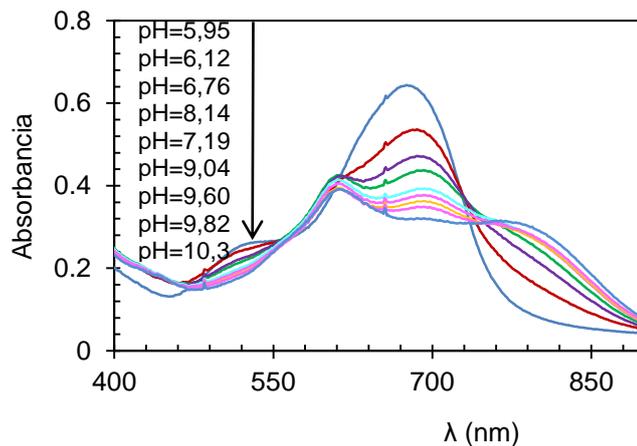


Figura 5.32. Influencia del pH en los espectros de absorción de azaBODIPY II.

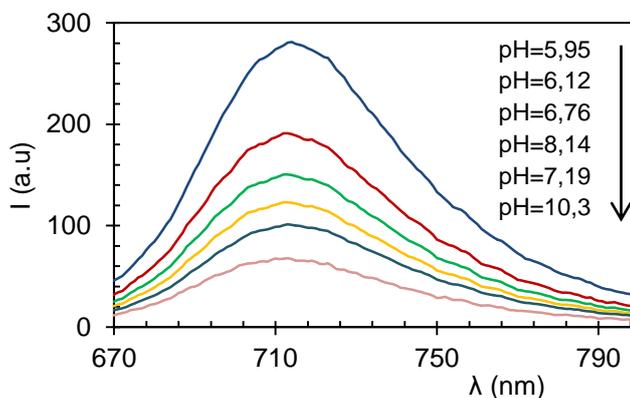


Figura 5.33. Influencia del pH en los espectros de emisión de fluorescencia de azaBODIPY II.

### 2.4.3. Comportamiento ácido-base de azaBODIPY III

En este caso se pesaron 1,46 mg de AZABODIPY III (Pm 597 g/mol) que se disolvieron en 8 mL de DMSO: H<sub>2</sub>O 3:1) con lo que resultó una concentración de  $2,75 \cdot 10^{-4}$  M. Trabajando de forma similar a las ocasiones anteriores se registraron los espectros de absorción (figura 5.34) y los de emisión de fluorescencia (figura 5.35) observándose un comportamiento similar.

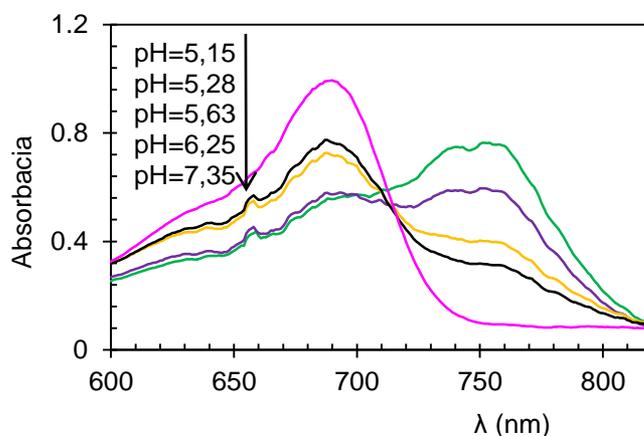


Figura 5.34. Influencia del pH en los espectros de absorción de azaBODIPY III.

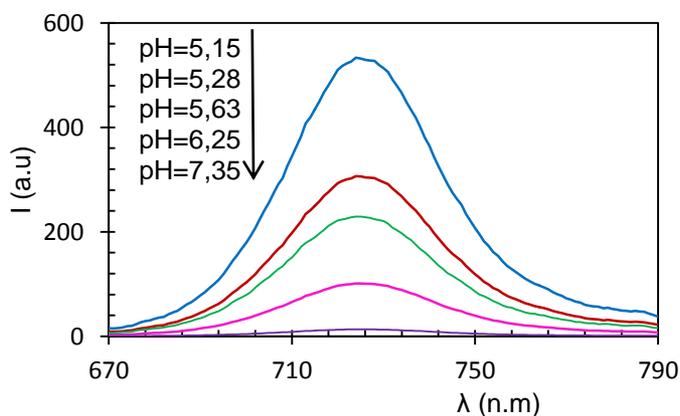


Figura 5.35. Influencia del pH en los espectros de emisión de fluorescencia de azaBODIPY III.

De los resultados obtenidos se estimaron unos valores promedio de  $pK_a$  para cada uno de los azaBODIPYs, valores que se recogen en la tabla 5.10.

Tabla 5.10. Valores de  $pK_a$  calculados para los azaBODIPYs.

azaBODIPY	$pK_a$ absorción	$pK_a$ fluorescencia
I	7,9	7,9
II	8,5	8,4
III	6,8	6,9

Como resumen se recogen en la siguiente tabla 5.11 las características espectrales de los azaBODIPYs en estudio.

Tabla 5.11. Propiedades fotofísicas de los tres aza-azaBODIPY.

azaBODIPY	$\lambda_{\text{abs}}$	$\lambda_{\text{abs-acid}} / \lambda_{\text{abs-base}}$	$\lambda_{\text{em}}$	$\epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}) \cdot 10^3$	$\Phi (\%)$
I	655	650/640	675	61	11
II	652	667/680	720	20	9
III	690	687/683	718	12	3,6

Los coeficientes de absorción molar encontrados en bibliografía para azaBODIPYs utilizados en sensores de CO<sub>2</sub> están comprendidos entre 55.000–77.000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, [15], de los tres azaBodipys sintetizados por nosotros solo el azaBODIPY I esta dentro de este rango, los otros dos indicadores de pH tienen un valor inferior, no obstante, se van a estudiar para chequear si es posible su empleo en sensores de CO<sub>2</sub> gaseoso. En cuanto a los coeficientes de eficacia cuántica, los valores encontrados en bibliografía oscilan entre el 5 y 57% [23,7], por lo tanto los tres azaBODIPYs ensayados en nuestro estudio están dentro de los valores encontrados en bibliografía, en cuanto a los valores de pKa, también serían compatibles con medidas fisiológicas.

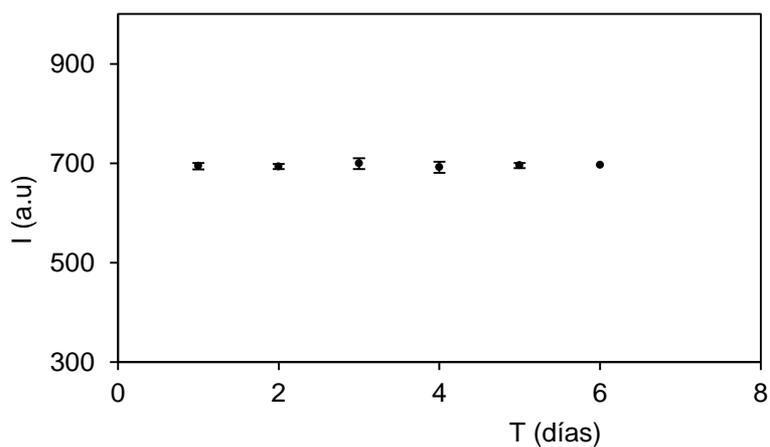
## 2.5. Fotoestabilidad de azaBODIPYs

Una de las ventajas indicadas en bibliografía de estos indicadores de pH es su fotoestabilidad. Para demostrarla se prepararon membranas conteniendo cada uno de los azaBODIPYs aunque sin agente de transferencia de fase. Se realizaron dos tipos de estudios. En primer lugar, se situaron las membranas en el compartimento del espectrofluorímetro, pasando una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 6%, irradiando con la lámpara pulsante de xenón a 80 Hz del propio equipo durante 1000 minutos y midiendo la emisión fluorescente a sus longitudes de onda del máximo al excitar al máximo de excitación. La membrana se estuvo irradiando con la lámpara del fluorímetro puesto en modo cinético con longitudes de onda de excitación y de emisión de 620 y 672 nm, respectivamente. No se observó en ningún caso disminución de señal.

En segundo lugar, se colocó la membrana conteniendo cada azaBODIPY dentro de una caja negra donde se irradió continuamente con una LED de 620 nm (100 kHz y 10 Vpp de amplitud) durante seis días. Periódicamente se fueron haciendo medidas de intensidad de luminiscencia no

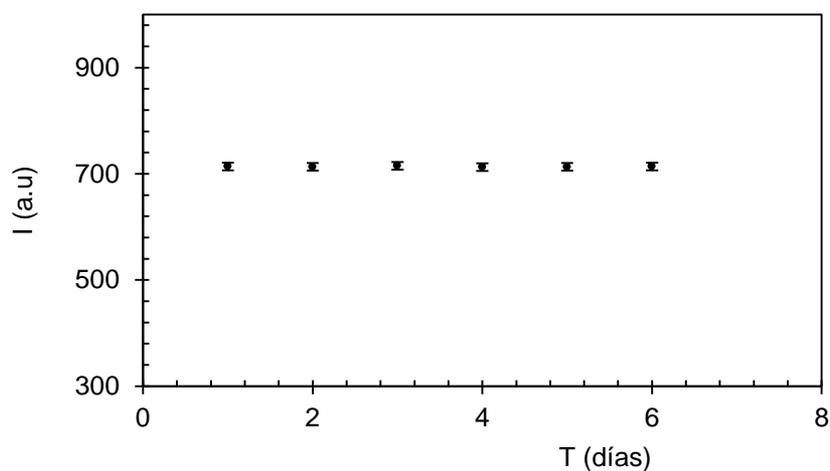
Periódicamente se fueron haciendo medidas de intensidad de luminiscencia no observándose cambios en la señal.

En la figura 5.36 es el estudio hecho para el azaBODIPY I.



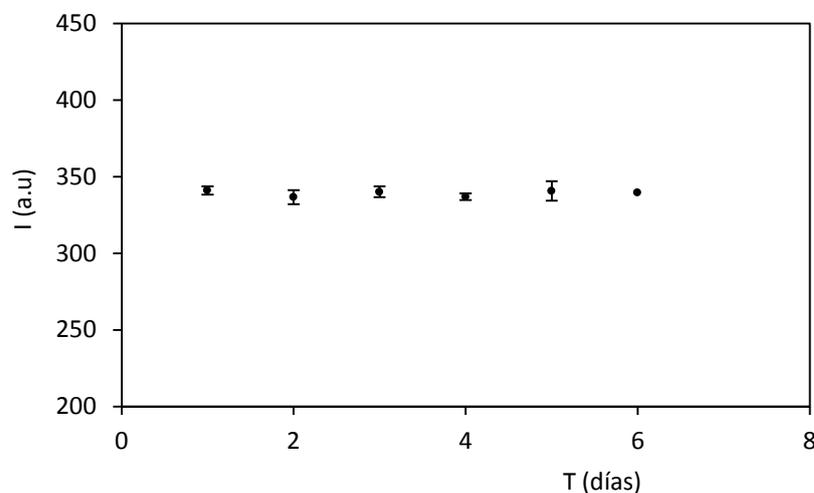
5.36. Estudio de fotoestabilidad de azaBODIPY I.

Del mismo modo en la figura 5.37 se muestra el mismo estudio para el azaBODIPY II.



5.37. Estudio de fotoestabilidad de azaBODIPY II.

En la figura 5.38 se muestra el estudio de fotoestabilidad para el azaBODIPY III.



5.38. Estudio de fotoestabilidad de azaBODIPY III.

Con lo que se demuestra experimentalmente a la fotoestabilidad de estas moléculas.

## 2.6. Preparación de las membranas sensoras

Las membranas se prepararon sobre un sustrato de poliéster Mylar no luminiscente usando la técnica del spin-coating tal como se ha usado en capítulos previos [1]. Los reactivos de las membranas de detección se seleccionaron dependiendo de la polaridad del azaBODIPY respectivo y su solubilidad. Para cada membrana sensora conteniendo el respectivo azaBODIPY se preparó un cóctel con los reactivos necesarios para que reaccione con CO<sub>2</sub>. Sin embargo, a diferencia de los sensores diseñados hasta ahora, el luminóforo no se encuentra en otra membrana dispuesta en la cara opuesta del soporte Mylar, sino que tanto el luminóforo como el fluoróforo se encuentran en la misma membrana.

De modo que para preparar la membrana se depositan primero 30 µl del cóctel que contiene el azaBODIPY (fluorocromo indicador de pH) sobre el soporte Mylar y a continuación se adiciona una cantidad de micropartículas del luminóforo GAB, con ayuda del spin-coater, de forma que las micropartículas quedan retenidas formando una única membrana. Se obtiene una membrana

opaca, de modo que las medidas de fluorescencia no se pueden hacer por transmisión como en los trabajos anteriores de la presente Tesis Doctoral, sino que se realizan por reflexión disponiendo la membrana en un ángulo de  $60^\circ$ , con respecto al detector.

En la figura 5.39 se puede ver la disposición del sensor donde la zona activa está formada por los componentes del cóctel con los disolventes ya evaporados y los puntos de azul oscuro representan los microcristales de GAB embebidos en la membrana sólida.



Figura 5.39. Membrana sensora de azaBODIPY y GAB.

### 2.6.1. Preparación de membrana sensora BI

Se preparó el cóctel para la membrana sensora añadiendo 1 mL de una solución de 60 mg de etilcelulosa en 1 mL de tolueno a 300  $\mu\text{L}$  de una solución de 0,5 mg de azaBODIPY I en tolueno: etanol (2:1) y finalmente 20  $\mu\text{L}$  del plastificante TBP y 15  $\mu\text{L}$  de TOAOH.

Para la formación de la membrana sensora se depositaron 30  $\mu\text{L}$  de cóctel sobre el sustrato de poliéster Mylar, añadiéndose a continuación sobre este volumen 1 mg de microcristales GAB, de modo que una vez evaporados los disolventes, las partículas de GAB quedan embebidas en la membrana junto con el resto de componentes.

Una vez seca se obtuvo un sensor con espesor de membrana calculado de 20  $\mu\text{m}$ .

Las membranas que utilizan este indicador fueron excitadas a una longitud de onda de 620 nm, recogiendo las medidas de intensidad de emisión fluorescente a 672 nm. Con apertura de rendijas 2,5:2,5 no se apreció variación de la señal a las distintas concentraciones de  $\text{CO}_2$ , con lo cual el valor de  $I_{100}-I_0$  fue de 0, con apertura de rendijas 2,5:5 se registró variación de la señal aportando el sensor un valor  $I_{100}-I_0=60$ , con apertura rendijas 5:5 se pudo

registrar un valor de  $I_{100}-I_0= 513$ . Por último con una apertura de rendijas 5:10 aumentaba la señal ruido dando lugar a medidas inestables con valores  $I_{100}-I_0$  entre 900, 1000 y produciéndose, a veces, saturación de la señal. De ahí que se estableciera como apertura de rendijas de trabajo óptima la de 5:5, puesto que daba una variación de la señal entre el 0% y el 100% de CO<sub>2</sub> lo suficientemente amplia como para obtener una buena caracterización del sensor, registrando medidas estables.

### **2.6.2. Preparación de membrana sensora BII**

Se preparó el cóctel de la membrana sensora añadiendo de 600 µL de una solución de 0,5 mg de azaBODIPY II en 1 mL de una solución de etanol-agua (1:1), 1 mL de solución HPMC al 2% y 5 µL de Tween 20 para disminuir la tensión superficial del agua y 21,4 µL de una solución de 14 mg de TMAOH en 1 mL de una solución etanol / agua (1:1).

Para la formación de la membrana se depositaron 30 µl de cóctel sobre el sustrato de poliéster Mylar y en la parte superior se añadieron 2 mg de sal de gadolinio aplicándose a continuación, como siempre, la técnica del spin-coater para la evaporación de los disolventes. El espesor calculado de membrana que se obtuvo fue de 30 µm.

Para la medida de la intensidad de fluorescencia de este sensor se utilizaron como longitudes de onda de excitación y de emisión, 620 nm y 720 nm, respectivamente y una apertura de rendijas 10:10. Fue esta la mínima apertura de rendijas con la que se obtuvo un lo suficientemente amplio para una buena caracterización del sensor. Utilizando rendijas 2,5: 2,5 no se detectó variación de la señal, con rendijas 2,5:5 la variación de la señal detectada fue muy baja de  $I_{100}-I_0=20$ , con rendijas 5:5 la variación de la señal fue de 60, con rendijas 5:10 se registró un valor de con  $I_{100}-I_0=101$ , con rendijas 10:10 se obtuvo un valor de  $I_{100}-I_0= 201,7$ , con rendijas 10:20 se detectaron valores de  $I_{100}-I_0$  en torno a 300 con aumento de la señal ruido y aportando medidas inestables.

De ahí que se eligiera como óptima un apertura de rendijas de 10:10, que como se ha dicho origino un valor de  $I_{100}-I_0$  lo suficiente como para llevar a cabo la caracterización del sensor, dando lugar a medidas estables.

### 2.6.3. Preparación de membrana sensora BIII

El cóctel de la membrana sensora se preparó añadiendo 1 mL de una solución que contenía 60 mg de EC en 1 mL de tolueno / etanol (3:1), 0,5 mg de azaBODIPY III en 0,5 mL de etanol, 20  $\mu$ L de plastificante TBP y 26  $\mu$ L de una solución de 3 mg de TMAOH disuelto en 1 mL de etanol.

Para la formación de la membrana se depositaron 25  $\mu$ l de cóctel sobre el sustrato de poliéster Mylar, aplicando la técnica de spin-coating. En este caso el espesor de membrana calculado fue de 18  $\mu$ m.

Para la recogida de las intensidades de fluorescencia de este sensor se trabajó a longitudes de onda de excitación y de emisión de 660 nm y 720 nm, respectivamente con una apertura de rendijas 10:10.

Con una apertura de rendijas 2,5:2,5 no se detectó variación alguna de la señal al someter a sensor a concentraciones de CO<sub>2</sub> entre 0% y el 100%, con rendijas 2,5:5 tampoco se detectó variación de la señal, con rendijas 5:5 se detectó un valor de la señal de  $I_{100}-I_0$  de 40, con una apertura de rendijas 10:10 se obtuvo un valor de  $I_{100}-I_0$  fue de 62, con aperturas de rendijas 10:20 no se apreció un aumento de la señal siendo  $I_{100}-I_0$  de 62,5 a la vez que aumentaba la señal ruido aumentando el error de las medidas. Es por ello que se eligió como valor óptimo de apertura de rendija el de 10:10, puesto que fue el aportó el mayor valor de  $I_{100}-I_0$  con la mejor estabilización de las medidas.

## 3. Resultados y discusión

Como se puede observar en la figura 5.40 para el azaBODIPY I, su espectro de absorción se superpone fuertemente al espectro de emisión fluorescente de GAB, que es excitado a 620 nm, emitiendo a 676 nm. En consecuencia, cuando la concentración de CO<sub>2</sub> se incrementa, aumenta la medida de la señal fluorescente de la membrana, permitiendo así la detección de CO<sub>2</sub> para el azaBODIPY I.

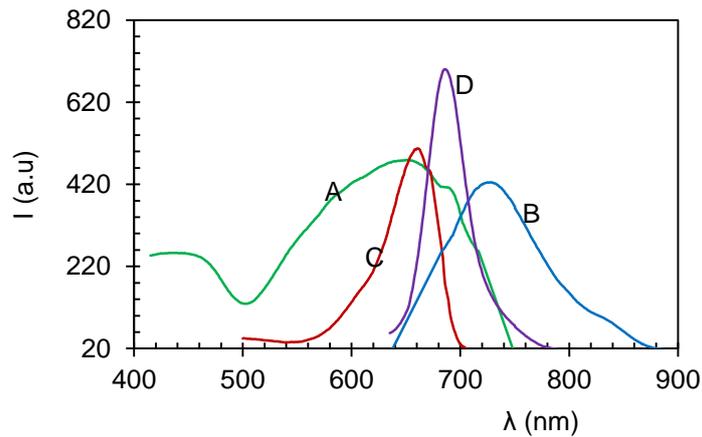


Figura 5.40. Espectros. A) Espectro de absorción de GAB; B) Espectro de emisión de GAB; C) Espectro de absorción de azaBODIPY I; D) Espectro de emisión de azaBODIPY I.

En el caso del azaBODIPY II, su espectro de absorción se superpone intensamente con el espectro de emisión de GAB; El GAB se excita a 620 nm emitiendo a 720 nm, superponiendo el máximo de absorción, de modo que cuando se incrementa la concentración de CO<sub>2</sub>, la medida de la señal fluorescente de la membrana aumenta, permitiendo así la detección de CO<sub>2</sub> con el azaBODIPY II, como se muestra en a figura 5.41.

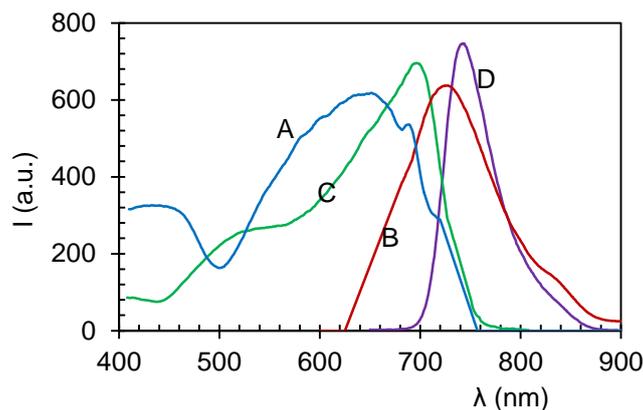


Figura 5.41. Espectros. (A) Espectro de excitación de GAB; (B) Espectro de emisión de GAB; (C) Espectro de excitación de azaBODIPY II; (D) Espectro de emisión de azaBODIPY II.

En el caso del azaBODIPY III, como se observa en la figura 5.42, el solapamiento espectral es total.

Esto unido con los bajos valores que presenta este azaBODIPY III de coeficiente de extinción molar y rendimiento cuántico, justificarían los nulos resultados que se observan cuando se expone a diferentes concentraciones de CO<sub>2</sub> gaseoso. Además presenta un valor de pKa más bajo que los valores correspondientes a los otros dos azaBODIPYs y probablemente inferior al necesario para poder actuar como indicador de pH en el sensado de CO<sub>2</sub>. Por todo ello, este azaBODIPY se descartó para su empleo en un sensor óptico para determinar CO<sub>2</sub> gas.

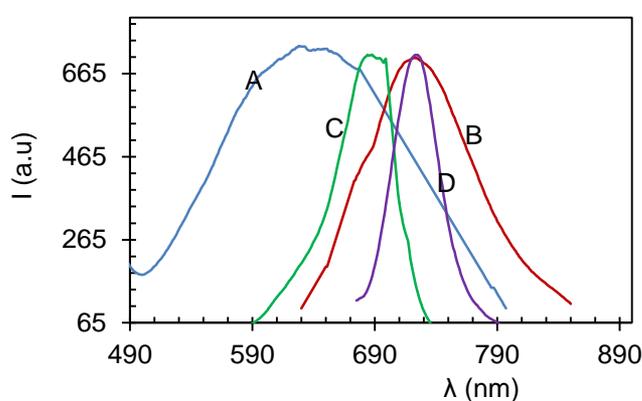


Figura 5.42. A) Espectro de excitación de GAB; B) Espectro de emisión de GAB; C) Espectro de excitación de azaBODIPY III; D) Espectro de emisión de azaBODIPY III.

En cuanto al posible mecanismo de transferencia de energía que justifique el proceso de reconocimiento que está ocurriendo para las membranas BI y BII, existen dos posibles mecanismos: filtro interno y transferencia de energía de resonancia.

La transferencia de energía de resonancia (FRET) es un proceso de atenuación de fluorescencia bimolecular que tiene lugar entre el estado excitado de una especie donora fluorescente y el estado fundamental de una especie aceptora, de forma que se transfiriere la energía por un proceso no radiativo de acoplamiento dipolo-dipolo. Este proceso supone una vía adicional de relajación del estado excitado de la especie donora además del habitual proceso de emisión de fluorescencia intrínseca y de otros procesos no

radiativos, y modifica la función de decaimiento de intensidad de fluorescencia del donador. Para que tenga lugar el proceso FRET es necesario que ocurra solapamiento entre el espectro de emisión del donador y el espectro de absorción del aceptor, dependiendo en gran medida la eficiencia del proceso, del grado de solapamiento que tenga lugar y de la distancia entre donador y aceptor, según la teoría de Förster [24,25].

La extensión de la energía que se transfiere se determina mediante la distancia aceptor-donador y por la extensión del solapamiento espectral. El solapamiento espectral se describe en términos de distancia de Förster ( $R_0$ ) calculada a partir de las características espectrales del donador y del aceptor y del rendimiento cuántico del donador  $\Phi_D$  utilizando la siguiente expresión:

$$R_0 = \frac{0.0211 \cdot \kappa^{1/3} \cdot \phi_D^{1/6} \cdot J(\lambda)^{1/6}}{n^{2/3}} \quad (\text{ec. 5.3})$$

En ella  $k$  es el factor de orientación, para el que se acepta un valor de  $\sqrt{2/3}$  suponiendo que tiene lugar una rotación libre de las moléculas de donador y aceptor y  $n$  es el índice de refracción de la membrana para el que calculamos un valor de 1,46 y  $J(\lambda)$  es la integral de solapamiento, que indica el grado de solapamiento entre el espectro de emisión del donador y el espectro de absorción del aceptor.

La velocidad de transferencia de energía  $K_T(r)$  viene dada por la ecuación 5.4.

$$K_T(r) = \frac{1}{\tau_D} \left( \frac{R_0}{r} \right)^6 \quad (\text{ec. 5.4})$$

donde  $r$  es la distancia entre el donador y el aceptor,  $R_0$  la distancia de Förster que se define como la distancia a la cual la velocidad de transferencia  $K_T(r)$  es igual a la velocidad de decaimiento del donador en ausencia de aceptor. Por

último,  $\tau_D$  es el tiempo de vida del donador en ausencia de transferencia de energía. La eficiencia de la transferencia de energía se define como la fracción de fotones absorbidos por el donador que son transferidos al aceptor y viene dada por la ecuación 5.5:

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (\text{Ec. 5.5})$$

En resumen, el proceso de transferencia de energía de resonancia depende de diversos factores: 1) La distancia entre donador y aceptor (habitualmente ocurre a distancias entre 10 y 100 Å); 2) La orientación de los dipolos de ambas moléculas que debe ser aproximadamente paralela; 3) El grado de solapamiento entre los espectros de emisión del donador y de absorción del aceptor, que se calcula por la integral de solapamiento J.

Cuando se da un proceso FRET ocurre una disminución tanto de la intensidad de luminiscencia como del tiempo de vida de la sustancia donadora [24].

Este proceso FRET se ha descrito como muy eficiente para el sentido de CO<sub>2</sub> gas usando diferentes químicas [26].

En el caso de producirse la transferencia de energía mediante un proceso por filtro interno, que también se ha descrito para la determinación de dióxido de carbono gaseoso empleando sensores ópticos de forma eficiente [27,1], la principal diferencia es que en este caso la distancia física entre el donador y el aceptor es mayor y no hay variación en la intensidad de luminiscencia cuando varía el tiempo de vida de la especie donadora.

En el caso de los dos sensores BI y BII, pensamos que se produce un proceso FRET entre el fósforo inorgánico (GAB) y el indicador de pH (azaBODIPY). La distancia a la cual se produce FRET entre dos especies tiene que ver con la eficiencia de esa transferencia de energía, la cual es inversamente proporcional a la sexta potencia de la distancia. En la práctica, esto quiere decir que el fenómeno FRET se produce sólo cuando ambos

cromóforos están a muy corta distancia. Nuestros dos sensores BI y BII funcionan cuando se sitúan ambos cromóforos en la misma membrana y no cuando se sitúan en membranas opuestas, hecho que nos confirma que lo que se está produciendo es un proceso FRET.

Como posible fósforo inorgánico se seleccionó el borato de gadolinio y aluminio dopado con cromo (III) (GAB) por sus excelentes propiedades como tiempos de vida de luminiscencia de aproximadamente 85  $\mu$ s, elevada inercia química y fotoquímica, siendo la compatibilidad espectral con los indicadores de pH a usar muy buena, ya que ambos se excitan eficientemente y emiten en una zona muy próxima. Este fósforo se ha utilizado previamente como luminóforo de referencia en un sensor pH junto un azaBODIPY como indicador de pH usando una medida ratiométrica [16,17].

Efectivamente, se comprobó que la inclusión de micropartículas del borato de aluminio y gadolinio activado con Cr(III) mejoraba la respuesta permitiendo una mayor diferencia  $I_{100}-I_0$  así como un desplazamiento de la longitud de onda de emisión hacia el NIR, para los sensores BI y BII, como queda justificado en el siguiente apartado.

A partir de aquí, el estudio se realiza sólo con azaBodipy I y azaBodipy II, que muestran cambios en la señal analítica cuando se someten a concentraciones variables de CO<sub>2</sub> gaseoso.

### **3.1. Estudio los componentes de membrana BI.**

El sensor se ensayó primero sin GAB, para justificar si era necesaria su presencia. Para ello se preparó primero un sensor sólo con el azaBODIPY I y luego con el azaBODIPY I y GAB.

Se hizo un blanco de la señal emitida por una membrana conteniendo GAG, se hizo un estudio de la dependencia de la concentración de CO<sub>2</sub> sólo con el azaBODIPY I y luego con los dos agentes fluorescentes (azaBODIPY I y GAB). Todo ello al objeto de comparar la respuesta de uno y otro.

En la figura 5.43 se muestra una gráfica de la respuesta de ambos sensores juntos.

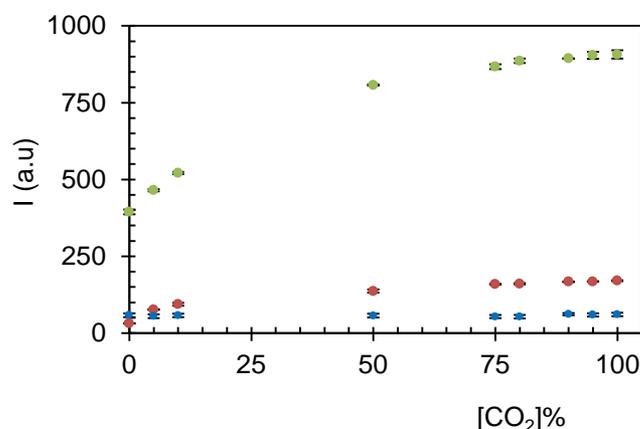


Figura 5.43. Comparación de la respuesta del sensor BI con los dos agentes fluorescentes y con sólo el azaBODIPY I.

La respuesta con los marcadores azules en la figura 5.41 corresponde a la membrana que solo contiene GAB y, como es lógico, no responde a la concentración de CO<sub>2</sub>. La curva con los marcadores rojos corresponde al sensor conteniendo sólo el azaBODIPY I, pudiéndose observar que hay respuesta a las variaciones de la concentración de CO<sub>2</sub>, obteniéndose una curva con un  $I_{100}-I_0$  de 138,8.

La curva con los marcadores verdes, corresponde a la membrana con GAB y el azaBODIPY I, observándose ahora un valor  $I_{100}-I_0$  de 513.

A continuación se describe la optimización llevada a cabo para cada uno de los componentes del sensor BI eligiendo el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ .

### 3.1.1. Optimización de la cantidad de polímero de membrana

Dada la apolaridad de la molécula de azaBODIPY I, según podemos ver en la figura 5.4, y en consecuencia su insolubilidad en disolventes polares, se eligió el polímero hidrofóbico etil celulosa como polímero de membrana porque es soluble en mezclas tolueno/etanol, al igual que el azaBODIPY I.

Se ensayaron cantidades comprendidas entre 1,33% y 1,98% en peso sobre el total del cóctel. A las membranas preparadas se les midió el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ , recogiendo los datos en la tabla 5.12 y en la figura 5.44.

Tabla 5.12. Influencia de la concentración de EC en la membrana B1

[EC] (% peso)	$I_{100}-I_0$
1,33	70,0
2,66	90,0
3,99	160,0
5,32	504,0
6,66	168,0
9,32	60,0
11,98	50,0

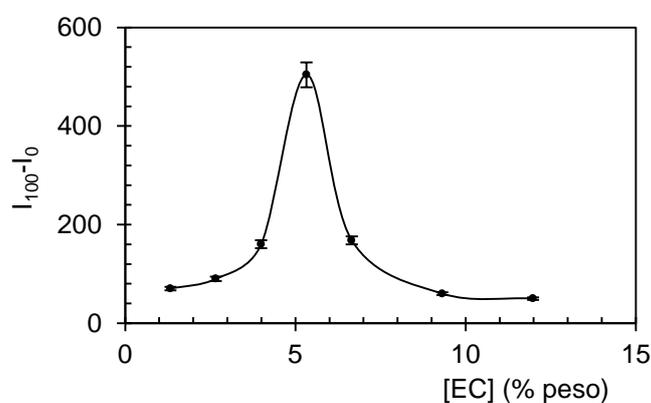


Figura 5.44. Influencia de la concentración de EC en la membrana B1.

A la vista de los resultados la concentración seleccionada fue del 5,32% por originar el mayor  $I_{100}-I_0$ .

### 3.1.2. Optimización de la cantidad de azaBODIPY I

La concentración de indicador de pH debe ser la suficiente como para originar una señal medible, aunque no demasiada pues podría interferir con la emisión del luminóforo y originar autoquenching. Se ensayaron cantidades de azaBODIPY I comprendidas entre  $5,8 \cdot 10^{-3}$  y  $5,4 \cdot 10^{-2}$  % peso/volumen, recogiendo los resultados obtenidos en la tabla 5.13 y en la figura 5.45.

Tabla 5.13. Influencia de la concentración de azaBODIPY I en la membrana.

[azaBODIPY I] % p/v	$I_{100}-I_0$
$5,8 \cdot 10^{-3}$	0
$9,2 \cdot 10^{-3}$	49,0
$1,0 \cdot 10^{-2}$	60,0
$2,5 \cdot 10^{-2}$	300,0
$3,8 \cdot 10^{-2}$	547,5
$4,6 \cdot 10^{-2}$	547,0
$5,4 \cdot 10^{-2}$	546,9

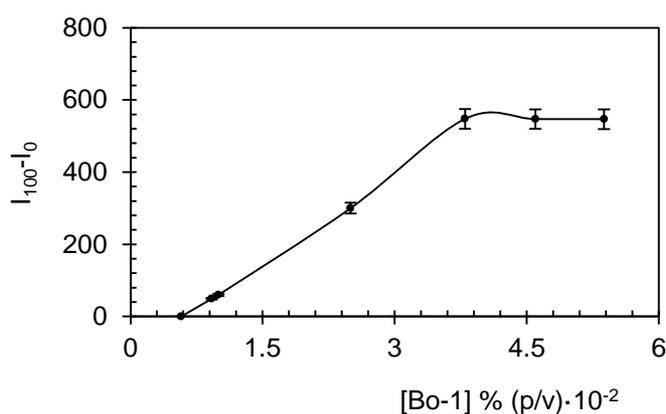


Figura 5.45. Influencia de la concentración de azaBODIPY I en la membrana.

De modo que se escogió como cantidad mínima de azaBODIPY I la de  $3,8 \cdot 10^{-2}$  % p/v. Como vemos a partir de esta cantidad, la señal no aumenta, con lo que se hace innecesario el uso de más indicador de pH.

### 3.1.3. Elección y optimización del agente de transferencia de fase

Para este sensor se utilizó como agente de transferencia de fase el TOAOH, ya que fue la única sal de amonio cuaternario ensayada que consiguió dar lugar a variaciones de la señal de fluorescencia del sensor a los cambios de concentración de  $\text{CO}_2$ .

La sensibilidad al  $\text{CO}_2$  puede ser ajustada como de costumbre variando la concentración de agente de transferencia de fase en la membrana. Se probaron cantidades de TOAOH comprendidas entre  $2,35 \cdot 10^{-6}$  y  $6,7 \cdot 10^{-6}$  moles

(0,10-0,30 % peso). La tabla 5.14 y figura 5.46 muestran los resultados siendo elegido un 0,119 % en peso.

Tabla 5.14. Influencia de la concentración de TOAOH en la membrana BI.

[TOAOH] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,107	0
0,119	547,6
0,138	168,0
0,153	103,0
0,170	97,0
0,191	58,0
0,218	54,0
0,305	0

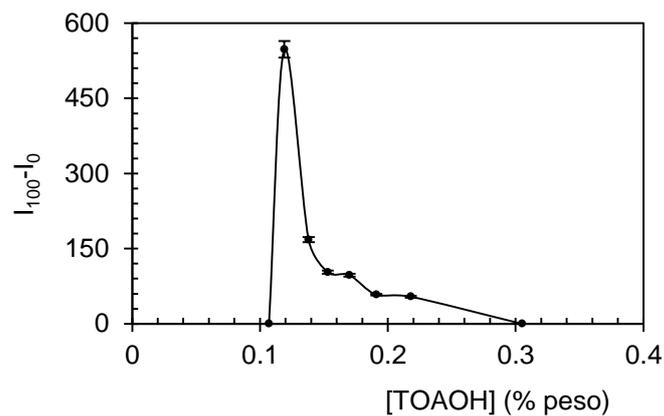


Figura 5.46. Influencia de la concentración de TOAOH en la membrana BI.

### 3.1.4. Optimización del plastificante TBP

Para comprobar la influencia de TBP en la membrana, se probó primero en su ausencia y luego se fueron adicionando concentraciones del mismo entre 0,4 % y el 4,5 % en peso del cóctel. En la tabla 5.15 y en la figura 5.47 se recogen las concentraciones frente al parámetro  $I_{100}-I_0$ , donde se va a ver que concentración óptima de TBP para este sensor es del 1,62% en peso del cóctel preparado.

Tabla 5.15. Influencia de la concentración de TBP en la membrana BI.

[TBP] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0	10,0
0,40	60,0
0,81	168
1,62	547
2,43	60,0
4,05	20,0

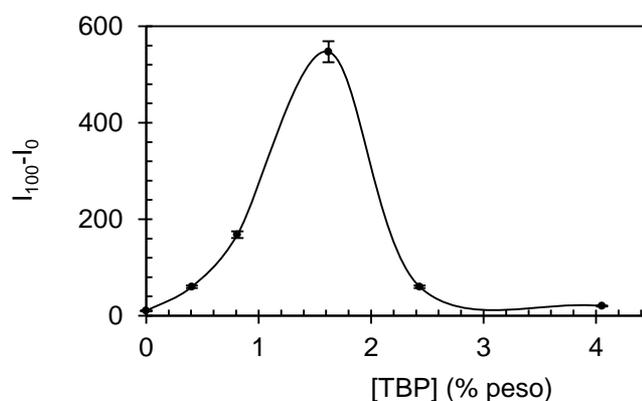


Figura 5.47. Influencia de la concentración de TBP en la membrana BI.

### 3.1.5. Optimización del fósforo inorgánico GAB

Para establecer la cantidad óptima de este fósforo inorgánico se preparó una batería de pruebas con distintas concentraciones del mismo. Las concentraciones fueron de 1,96 % al 24 % en peso. En la tabla 5.16 y en la figura 5.48 se recogen las concentraciones ensayadas junto con el respectivo parámetro de optimización.

Tabla 5.16. Influencia de la concentración de GAB en el sensor BI

[GAB] (% peso)	$I_{00}-I_0$
1,96	232
3,84	547
7,4	322
9,09	208
10,7	114
24,2	1,00

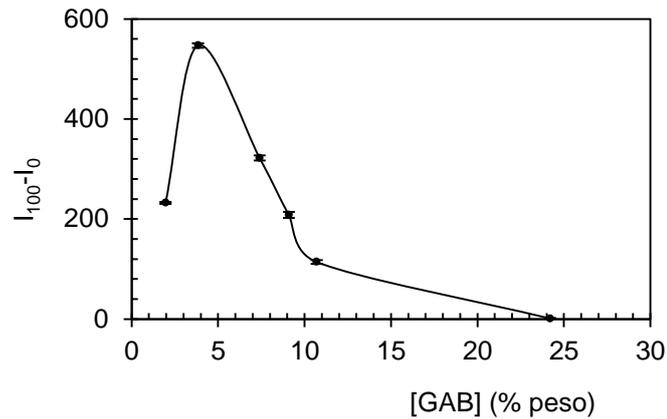


Figura 5.48. Influencia de la concentración de GAB en el sensor BI.

Como nos muestran los resultados la concentración de GAB que dio lugar al mayor valor del parámetro  $I_{100}-I_0$  fue la de 3,84 % en peso.

### 3.2. Estudio de los componentes de membrana BII.

En este caso se ha utilizado el indicador de pH azaBODIPY II junto con el fósforo inorgánico GAB como luminóforo. Como en el caso anterior se prepararon membranas inicialmente sin GAB, para demostrar si era necesaria su presencia y luego con azaBODIPY II y GAB, al igual que se hizo para el sensor BI. Se estudió la respuesta de las diferentes membranas con la concentración de gas. En la figura 5.49 se muestra la respuesta de las membranas estudiadas.

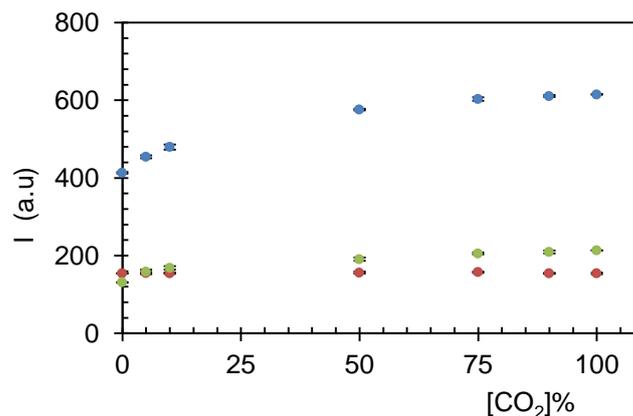


Figura 5.49. Comparación de la respuesta de las membranas de azaBODIPY II en presencia y ausencia de GAB.

Observamos en la función con los marcadores rojos que cuando sólo hay GAB, la señal es independiente de la concentración de  $\text{CO}_2$ . Cuando la membrana sólo contiene azaBODIPY II (marcadores verdes) hay respuesta al  $\text{CO}_2$  aunque con baja sensibilidad ( $I_{100}-I_0 = 82,5$ ). Por último, cuando están ambos juntos (marcadores azules), aumenta de forma considerable la señal ( $I_{100}-I_0 = 201,7$ ). Como conclusión sacamos y a la vista de los solapamientos espectrales, que tiene que producirse un proceso de transferencia de energía entre el GAB y la forma protonada del azaBODIPYII, con el consiguiente aumento de la intensidad de las señales de fluorescencia de esta forma del indicador.

Dicho esto, se optó por el diseño de sensor conteniendo los dos agentes fluorescentes, describiéndose a continuación la optimización de cada uno de los componentes del sensor BII.

### **3.2.1. Elección del polímero de membrana**

Puesto que el azaBODIPY II muestra solubilidad suficiente en medios polares debido a los grupos hidroxilos presentes en su molécula, según podemos ver en la figura 5.4, se eligió el HPMC como polímero hidrofílico de membrana porque es soluble en agua o en mezclas agua-etanol.

Se prepararon varias disoluciones del polímero hidrofílico HPMC en agua de concentraciones comprendidas entre 1 % y 5%, de modo que, al añadir 1 mL de cada una de estas disoluciones a distintos cócteles para formar membranas, la que origino mejores resultados fue la de 2% de HPMC, pues formaba una membrana con el grosor adecuado permeable a los gases. Cantidades inferiores no formaban bien la película y cantidades superiores formaban membranas más gruesas y menos permeables a los gases.

### **3.2.2. Optimización de la cantidad de azaBODIPY II**

Se estudiaron concentraciones del indicador azaBODIPY II comprendidas entre  $1,88 \cdot 10^{-3}$  % y  $56 \cdot 10^{-3}$  % en peso, midiéndose el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$  de cada membrana. Tanto en la tabla 5.17 como en la gráfica 5.50 se observa que a partir de cierta cantidad el parámetro de optimización se estabiliza y no aumenta con más cantidad de indicador. Visto

esto se eligió como concentración óptima de azaBODIPY II la mínima cantidad que origina el máximo valor de  $I_{100}-I_0$  que es  $1,93 \cdot 10^{-2}$  % p/v.

Tabla 5.17. Influencia de la concentración de azaBODIPY II.

[azaBODIPY II] (% p/v) · 10 <sup>-3</sup>	$I_{100}-I_0$
1,88	0
3,75	21
7,5	61
11,3	111
19,3	202,3
37,5	202,5
56,3	202,0

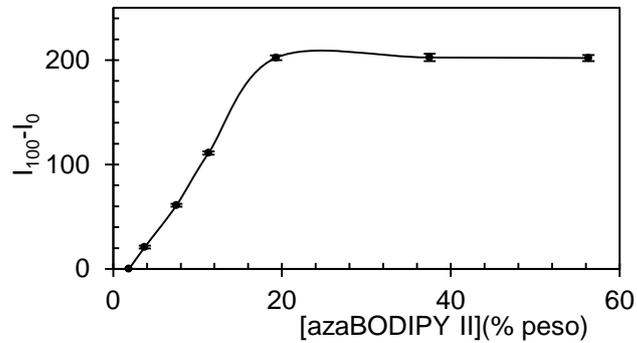


Figura 5.50. Influencia de la concentración de azaBODIPY II en la membrana BII.

### 3.2.3. Optimización de la cantidad de TMAOH en el cóctel

Para seleccionar la cantidad más adecuada se probaron concentraciones de TMAOH entre 0,0063 % y 0,0623 % en peso en el cóctel (tabla 5.18 y figura 5.51) resultando que 0,0188 % origina los mejores valores.

Tabla 5.18. Influencia de la concentración de TMAOH en membrana BII.

TMAOH (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,0063	33,9
0,0113	106
0,0188	201,9
0,0312	148,4
0,0430	90
0,0623	0

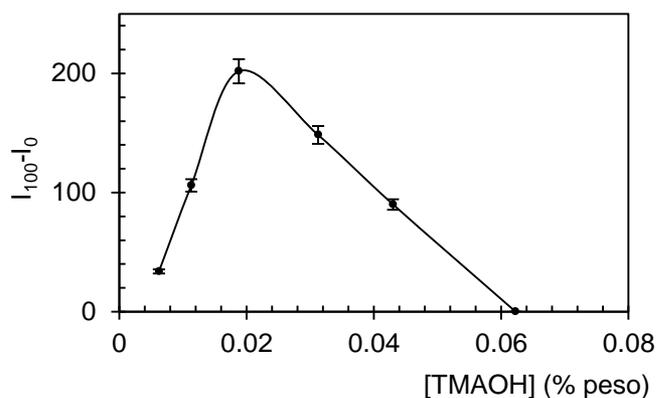


Figura 5.51. Influencia de la concentración de TMAOH en la membrana BII.

### 3.2.4. Optimización de la cantidad de del surfactante Tween 20.

Como en anteriores sensores en base agua, al objeto de disminuir la tensión superficial del sistema y aumentar la permeabilidad a los gases, fue necesaria la adición de una cantidad de surfactante. El surfactante de elección fue el Tween 20 ya que otros como el Brij 35 y Highy PSD ocasionaban opacidad en el sistema, originando membranas con malas propiedades ópticas.

En la tabla 5.19 y en la figura 5.52 se recogen los porcentajes de Tween 20 probados en el cóctel junto con el parámetro de optimización  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 5.19. Influencia de la concentración de Tween20 en membrana BII

[Tween 20] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,017	13,3
0,034	23,3
0,069	32,9
0,206	96,0
0,344	202
0,688	122
0,825	22,0
1,031	10,3

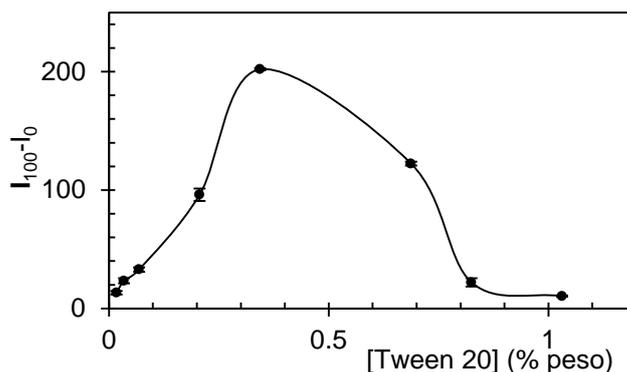


Figura 5.52. Influencia de la concentración de Tween 20 en membrana BII

Después de los resultados obtenidos se puede ver que la concentración de Tween 20 con mejor parámetro de optimización y la que aportó mayor permeabilidad a la membrana fue la de 0,344 % en peso.

### 3.2.5. Optimización de cantidad de fósforo inorgánico GAB

Para establecer la cantidad óptima de este fósforo inorgánico se hizo una batería de pruebas con distintas concentraciones del mismo. Las concentraciones fueron de 0,8 % al 28,6 % en peso. En la tabla 5.20 y en la figura 5.53, se recogen las cantidades probadas junto al parámetro  $I_{100}-I_0$ .

Tabla 5.20. Influencia de la concentración de GAB en el sensor BII.

[GAB] (% peso)	$I_{100}-I_0$
0,8	54,1
2,0	77,3
3,8	107
7,4	202
16,7	22,8
28,6	0

Como nos aportan los resultados la concentración de GAB que dio lugar al mayor valor del parámetro  $I_{100}-I_0$  fue la de 7,4 % en peso.

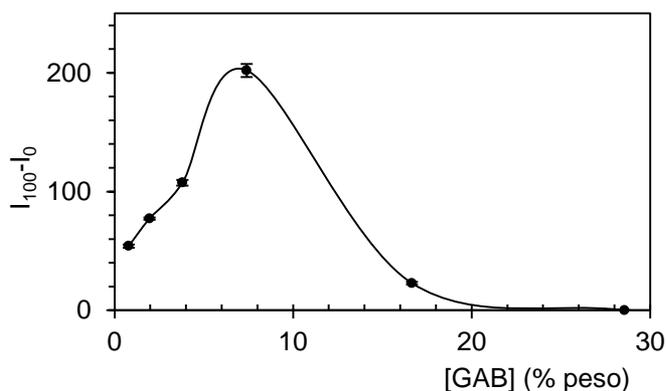


Figura 5.53. Influencia de la concentración de GAB en el sensor BII

A continuación en la tabla 5.21, se recogen, a modo de resumen los componentes de cada uno de los sensores optimizados.

Tabla 5.21. Composición de los señores optimizados

Membrana	azaBODIPY (%)	GAB (%)	EC (%)	HPMC (%)	TOAOH (%)	TMAOH (%)	TBP (%)	Tween 20 (%)
AzaBODIPY I	0,04	3,3	4,6	---	0,23	---	1,5	---
AzaBODIPY II	0,03	8,0	---	2	---	0,02	---	0,35
AzaBODIPY III	0,03	---	4,0	-	$5,3 \cdot 10^{-3}$	---	1,3	---

### 3.3. Caracterización analítica de los sensores B I y BII

Para la caracterización analítica de los sensores se han elegido los parámetros analíticos calculados a partir de los resultados obtenidos y que nos van a permitir compararlos con sensores de referencia.

Estos sensores, fueron sometidos a mezclas de concentraciones conocidas de CO<sub>2</sub> y N<sub>2</sub> procedentes del mezclador de gases, midiéndose las intensidades de fluorescencia del sensor para cada concentración de CO<sub>2</sub> conocida. De modo que a continuación se muestra la respuesta de los sensores con azaBODIPY I y con azaBODIPY II ante las variaciones de dichas concentraciones de CO<sub>2</sub>.

Se utilizaron las condiciones de medida descritas en el apartado 2.5.1, midiéndose como se ha dicho, las intensidades de fluorescencia en función de concentraciones conocidas de CO<sub>2</sub> gas.

En la figura 5.55 queda representada la respuesta del sensor BI, que corresponde a una curva logarítmica de rango dinámico hasta el 50% de CO<sub>2</sub>, aproximadamente.

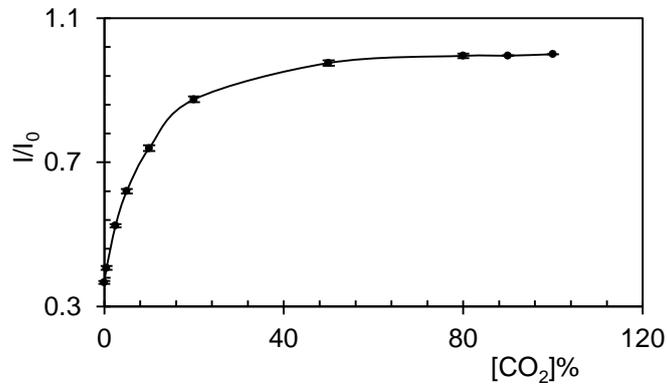


Figura 5.54. Curva de respuesta del sensor BI.

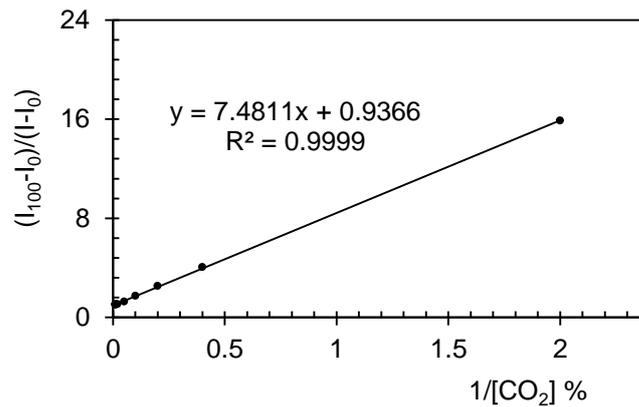


Figura 5.55. Linealización de la respuesta del sensor BI.

La figura 5.53 representa la linealización de la respuesta de sensor con un buen ajuste de los datos experimentales ( $R^2=0,9999$ ).

Midiendo como antes las intensidades de fluorescencia en función de concentraciones conocidas de CO<sub>2</sub> gas, se obtiene la respuesta de sensor BII representada en la figura 5.54, donde observamos que se trata de una curva logarítmica de rango dinámico hasta el 60 % de CO<sub>2</sub>, aproximadamente.

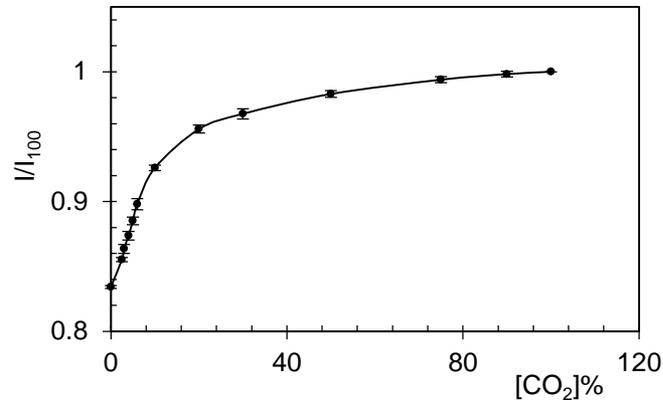


Figura 5.54. Curva de respuesta del sensor de BII.

La figura 5.55 queda representada la linealización de la respuesta de sensor BII con un ajuste de los puntos de  $R^2=0,961$ .

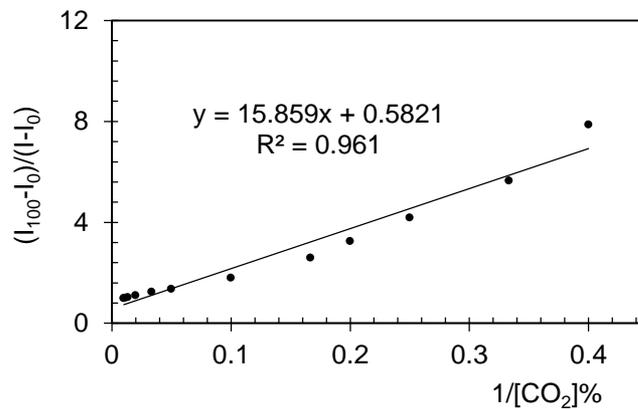


Figura 5.55. Linealización de la respuesta del sensor BII.

A continuación, se describen los parámetros analíticos elegidos y calculados para cada una de las membranas: función de calibrado, límites de detección y cuantificación, precisión, tiempos de vida y de recuperación y tiempo de respuesta. Para el cálculo de estos parámetros se han usado los mismos criterios ya empleados en capítulos anteriores.

### 3.3.1. Parámetros del sensor BI

La precisión obtenida en términos de desviación estándar fue de 0,56 para una concentración del 0,60% de CO<sub>2</sub> y 0,39 para una concentración del 16,70 % de CO<sub>2</sub>.

El LOD es de 0,04 %, que es del orden de la concentración de CO<sub>2</sub> en la atmosfera (0,0387%) y el límite de cuantificación de 0,5 %. Los ciclos de tiempos de recuperación y respuesta del sensor se recogen en la figura 5.56, teniendo tiempos de respuesta de 53 s para  $t_{0 \rightarrow 100}^{\downarrow}$  y un tiempo de recuperación de 129 s para  $t_{100 \rightarrow 0}^{\uparrow}$ .

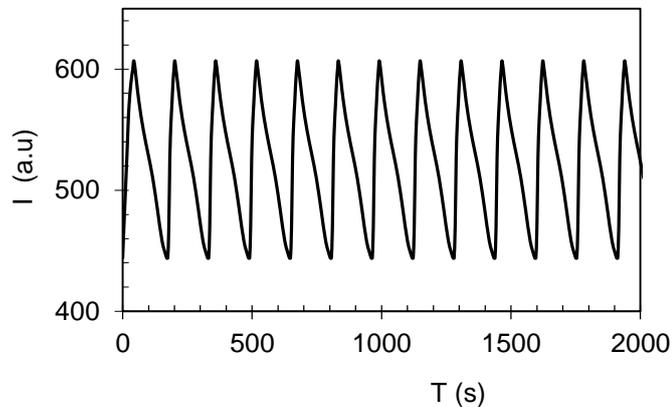


Figura 5.56. Tiempos de recuperación y respuesta del sensor BI.

Si se calcula para la variación 10 a 90% y 90 a 10%, se obtiene para el tiempo de respuesta un valor de 42 s para  $t_{10 \rightarrow 90}^{\downarrow}$  y para el de recuperación 103 s para  $t_{90 \rightarrow 10}^{\downarrow}$ .

Los valores obtenidos en el estudio del tiempo de vida del sensor BI se recogen en la tabla 5.22 y figura 5.57.

Tabla 5.22. Seguimiento del tiempo de vida del sensor BI.

T (días)	0	1	2	3	5	6	7	8	9	12	13	15	18	20	25
$I_{100} - I_0$	485	420	189,6	114	35	30	23,5	16	13,2	8	5	4	2	1	0,1

El tiempo de vida  $T_1$  del sensor BI, como muestra la gráfica fue solamente de 1 día, a partir del cual la señal  $I_{100}-I_0$  se sale de la línea de control  $-3s$  y va disminuyendo hasta llegar a 0 a los 20 días. Luego el tiempo  $T_2$  fue de sólo 20 días.

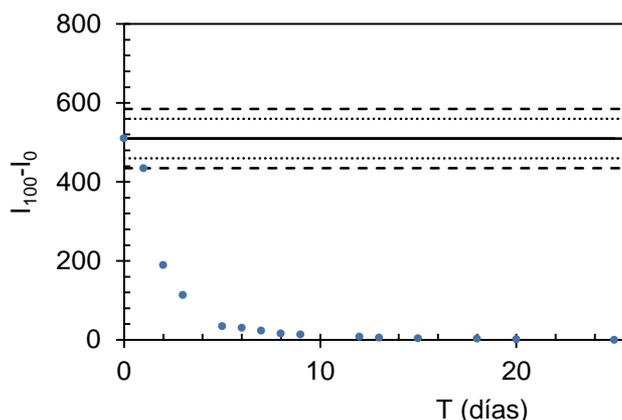


Figura 5.57. Evolución del tiempo de vida del sensor BI.

Del estudio de la fotoestabilidad se concluyó que esta era buena por lo que el bajo tiempo de vida del sensor se puede deber a su reacción con el agente de transferencia de fase.

### 3.3.2. Parámetros analíticos del sensor BII

La precisión del sensor BII obtenida en términos de desviación estándar fue de 1,23 para una concentración del 0,60% de  $\text{CO}_2$  y 0,623 para una concentración de 16,70 %  $\text{CO}_2$ .

El LOD calculado fue 0,57 %, superior porcentaje de  $\text{CO}_2$  en la atmosfera (0,0387%) y el límite de cuantificación del 1,7 %.

Los ciclos de tiempos de recuperación y respuesta del sensor se recogen en la figura 5.58, teniendo tiempos de respuesta de 75 s para  $t_{\downarrow 0 \rightarrow 100}$  y un tiempo de recuperación de 150 s para  $t_{\uparrow 100 \rightarrow 0}$ .

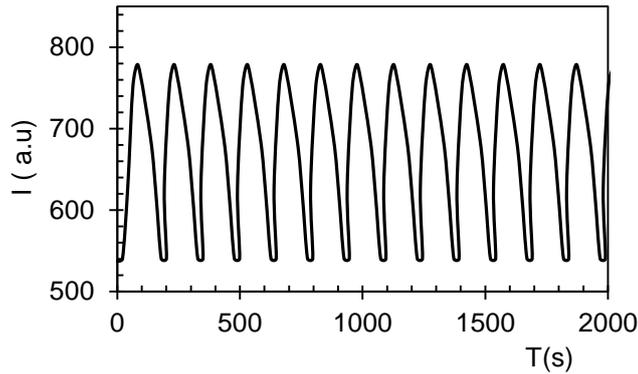


Figura 5.58. Tiempos de recuperación y respuesta del sensor II.

Si se calcula para la variación 10 a 90% y 90 a 10%, se obtiene para el tiempo de respuesta un valor de 60 s para  $t_{\downarrow 10 \rightarrow 90}$  y para el de recuperación 120 s para  $t_{\downarrow 90 \rightarrow 10}$ .

Se le ha estudiado el tiempo de vida a las membranas sensoras guardas en una caja y sin condiciones especiales, referidas en cuanto a atmósfera ausencia de luz como en el caso de los anteriores sensores. Recogemos, por lo tanto, los valores obtenidos en el estudio del tiempo de vida del sensor II en la tabla 5.23 y figura 5.59.

Tabla 5.23. Seguimiento del tiempo de vida del sensor B2.

Tiempo (días)	$I_{100}-I_0$
0	165,9
4	140,1
6	121,0
8	93,7
18	80,0
30	72,7
52	60,0
62	58,0
200	20,0
570	14,0

El tiempo de vida T1 del sensor BII, como muestra la gráfica fue de 6 días, a partir del cual la señal  $I_{100}-I_0$  se sale de la línea de control -3s y va

disminuyendo progresivamente hasta los 570 días durante los cuales se sometió a estudio. Luego el tiempo T2 fue al menos de 570 días.

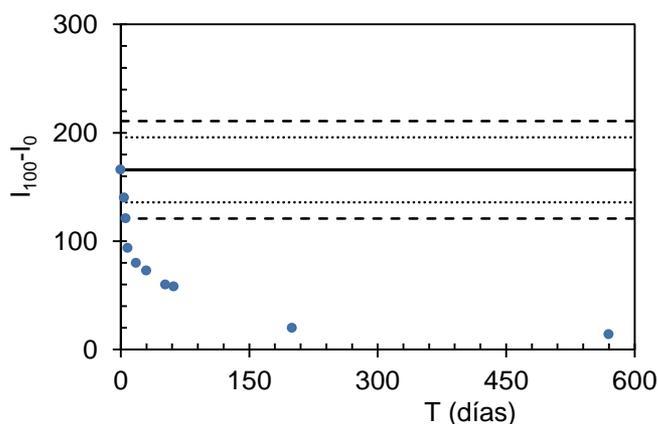


Figura 5.59. Evolución del tiempo de vida del sensor BII.

Una vez llevada a cabo la caracterización de los sensores BI y BII, a modo de resumen se recogen en la tabla 5.24 los parámetros analíticos de ambos sensores.

Tabla 5.24. Parámetros analíticos de sensores BI y BII.

Parámetros analíticos	Sensor BI	Sensor BII
$I_{100} - I_0$	513	140,7
Pendiente	$7,48 \pm 0,01$	$15,9 \pm 0,8$
O.O.	$0,9 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,163$
$R^2$	0,9999	0,9999
LOD (%CO <sub>2</sub> )	0,04	0,57
LDQ (%CO <sub>2</sub> )	0,5	1,7
Límite superior rango dinámico (%CO <sub>2</sub> )	50	60
Intervalo de detección (%CO <sub>2</sub> )	0,04-0,5	0,57-1,7
Intervalo de cuantificación (%CO <sub>2</sub> )	0,5-50	1,7-60
Precisión (DER; n = 15) al 0,60 % CO <sub>2</sub>	0,56	1,23
Precisión (DER; n = 15) al 16,70 % CO <sub>2</sub>	0,39	0,623
Tiempo de respuesta $t_{10-90}$ (s)	$42,0 \pm 0,03$	$60 \pm 2$
Tiempo de recuperación $t_{90-10}$ (s)	$103 \pm 0,1$	$120,0 \pm 0,6$
Tiempo de vida T1 (días)	1	6
Tiempo de vida T2 (días)	20	570
Almacenamiento	En recipiente sin condiciones especiales	En recipiente sin condiciones especiales

En la tabla 5.25 se realiza una comparación entre los sensores propuestos, basados en BODIPYs y diferentes sensores ópticos propuestos para la determinación de CO<sub>2</sub> gaseoso.

Tabla 5.25. Comparación con sensores de CO<sub>2</sub> de bibliografía.

Química de sensado	Tipo de medida	LOD (%)	Tiempo de respuesta	Tiempo de recuperación	Tiempo de vida	Ref.
HPTS/EC	I	0,1	15	---	5 días	[28]
HPTA/IL/EC	I/R	---	20-54 s	---	---	[29]
HPTS/(TOA) <sub>4</sub> /SG	I	0,1	20-30s	---	---	[30]
Ru (dzth) <sub>3</sub> (PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub> /PTFE	I	9·10 <sup>-6</sup> MPa	2 min	---	120 días	[31]
PtOEP/N/EC /PVCD	I	0,02	9 s	115	120 días	[1]
EB/ di-OH-azabodipy/silicona (pCO <sub>2</sub> )	R	---	6 s	93	42 días	[32]
PtOEP/NA/HPMC	I	0,007	41 s	100	300 días	[2]
HPTS/IL/Silicona	R	---	50 s	320	30 días	[19]
di-OH-aza-Bodipy/Hyflon AD 60/AE	R	0,007 KPa	---	---	---	[15]
BI	I	0,04	42 s	103	20 días	Presente trabajo
BII	I	0,57	60s	120	570 días	Presente trabajo

HPTS: 1-hidroxipireno-3,6,8-trisulfonato; AE: Azul Egipcio; IL: Líquido iónico; I: basado en intensidad; R: radiométrico; TOA: tetraoctil amonio; HPMC: hidroxipropil metil celulosa; PTOEP: complejo de octaetilporfirina de platino; EC: etil celulosa; NA:  $\alpha$ -naftoltaleina; SG: Sol-gel; Ru(pzth)<sub>3</sub>(PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>: tris[2-(2-pirazinil)-1,3-tiazol]rutenio(II)dihexafluorofosfato; PTFE: poly(tetrafluoroetileno).

#### 4. Conclusiones

Las membranas sensoras propuestas para la determinación de CO<sub>2</sub> y denominadas BI y BII, presentan potenciales aplicaciones en muestras biológicas y biotecnológicas, a pesar de que los valores obtenidos de  $\epsilon$  y rendimiento cuántico  $\phi$  son inferiores a los encontrados para BODIPYs similares en bibliografía [7,14]. Sin embargo en este trabajo se demuestra que estos valores son suficientes para poder realizar la determinación y cuantificación de CO<sub>2</sub> gas mediante el empleo de un sensor óptico con buenos resultados. Ambos ofrecen unos tiempos de recuperación y respuesta aceptables comparados con los de otros sensores publicados. El sensor BI presenta un mayor valor de  $I_{100}-I_0$ , mayor precisión y mejores tiempos de respuesta, aunque presenta un considerable menor tiempo de vida.

Como propuesta de futuro, se tratará de emplear líquidos iónicos para la preparación de la zona sensora con objeto de conseguir mejorar los tiempos de vida y de recuperación así como la estabilidad.

## 5. Bibliografía

1. I.M. Pérez de Vargas-Sansalvador, M.A. Carvajal, O.M. Roldan-Muñoz, J. Banqueri, M.D. Fernández-Ramos, L.F. Capitán-Vallvey, *Anal. Chim. Acta* 655 (2009) 66-74.
2. M.L. Aguayo-López, L.F. Capitán-Vallvey, M.D. Fernández-Ramos, *Talanta* 126 (2014) 196.
3. N. Boens, V. Leen, W. Dehaen, *Chem. Soc. Rev.*, 41 (2012) 1130-1172.
4. A. Mills, Q. Chang, *Anal. Chim. Acta* 285 (1994) 113-123.
5. Y. Ni, J. Wu, *Org. Biomol. Chem.*, 12 (2014) 3774-3791.
6. S. Pascal, L. Bucher, N. Desbois, C. Bucher, C. Andraud, C.P. Gros, *Chem. Eur. J.*, 22 (2016) 4971 – 4979.
7. M.M. Salim, E.A. Owens, T. Gao, J. H. Lee, H. Hyun, H.S. Choi, M. Henary, *Analyst*, 139 (2014) 4862-4873.
8. L. Lochman, P. Zimcik, I. Klimant, V. Novakova, S. M. Borisov, *Sens. Actuators B* 246 (2017) 1100–1107.
9. J. W. Severinghaus, A. F. Bradley, *Jour. Appl. Physiology*, 13, (1958) 515–520.
10. J. Killoran, et al, *Chem. Commun.* 72002, 1862-1863.
11. L. Jiao et al. *Org. Biomol. Chem.* 8 (2010) 2517-2519.
12. Z.H. Pan, G.G. Luo, J.-W. Zhou, Jiu-Xu Xia, Kai Fang, Rui-Bo Wu, *Dalton Trans*, 43 (2014) 8499.
13. M. Y. Berezin, K. Guo, W. Akers, R. E. Northdurft, J. P. Culver, B. Teng, O. Vasalatiy, K. Barbacow, A. Gandjbakhche, G. L. Griffiths, S. Achilefu, *Biophysic. J.*, 100 (2011) 2063.
14. T. Jokic, S.M. Borisov, R. Saf, D.A. Nielsen, M. Kühl, I. Klimant, *Anal. Chim. Acta* 84 (2012) 6723-6730.
15. S. Schutting, T. Jokic, M. Strobl, S. M. Borisov, D. Beer, I. Klimant, *Jour. Mater. C*, 3 (2015) 5474-5483.
16. S. M. Borisov, I. Klimant, *Anal. Chim. Acta.*, 787(2013) 219-225.
17. I. Klimant, S.M. Borisov, *Europ. Patent Appl.* EP2728343A1 (2014).
18. W. M. Yen, M. J. Weber. CRC Press: 2004.
19. S.M. Borisov, K. Gatterer, B. Bitschnau, I. Klimant, *J. Phys. Chem. C.*, 114 (2010) 9118-9124.

20. A. Gorman, J. Killoran, O'Shea, T. Kenna, William M. Gallagher, Donal F. O'Shea, *J. Am. Chem. Soc.* 126(2004)10619-10631.
21. A. Williams, S. Winfield, J. N. Miller, *Analyst*, 108 (1983) 1067-1071.
22. W. Freyer, S. Mueller, K. Teuchner. *Jour. Photochem. Photobio. A:* 163 (2004) 231-240.
23. Z. Li, L.J. Li, T. Sun, L. Liu, Z. Xie, *Dyes Pigments*, 128 (2016) 165-169.
24. J. R. Lakowicz, *Principl. Fluoresc. Spectrosc.* 2nd ed. Springer: 1999.
25. T. Förster, *Ann. Phys.*, 2 (1948) 55-57.
26. N.B. Borchert, J.P. Kerry, D.B. Papkovsky, *Sens. Actuators B* 176 (2013)157-165.
27. M. Strobl, T. Mayr, I. Klimant, S. Borisov, *Sens. Actuators B* 245 (2017) 972-979.
28. K. Ertekin, I. Klimant, G. Neurauter, O.S. Wolfbeis, *Talanta* 59 (2003) 261.
29. O. Oter, K. Ertekin, S. Derinkuyu, *Talanta* 76 (2008) 557.
30. C. Malins, B.D. MacCraith, *Analyst* 123 (1998) 237.
31. M.P. Xavier, G. Orellana, M.C. Moreno-Bondi, J. Diaz-Puente, *Quim. Anal.* 19 (2000) 118.
32. E. Fritzche, P. Gruber, S. Schutting, J. P. Fischer, M. Strobl, J. D. Müller, S. M. Borisov, I. Klimant, *Anal. Methods*, 9 (2017) 55-65.



## ***Conclusiones finales***



Como resultado del trabajo realizado en esta Tesis Doctoral, se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. Se ha realizado una mejora en los sensores ópticos para la determinación de dióxido de carbono gaseoso basados en sensores secos, donde se sustituye el ampliamente empleado agente de transferencia de fase hidróxido de tetraoctilamonio (TOAOH) por el hidróxido de tetrametilamonio (TMAOH). Este agente de transferencia de fase que al no presentar protones en posición  $\beta$ , como le ocurre al TMAOH, evita la degradación de Hoffman y por lo tanto se consigue aumentar el tiempo de vida del sensor.
2. Por otra parte, en ese mismo estudio se sustituye la habitual matriz hidrofóbica de los sensores de dióxido de carbono por una matriz hidrofílica, en este caso se sustituye la etil celulosa por la hidroxipropilmetil celulosa (HPMC). De esta forma se consigue aumentar la retención de agua en la membrana sensora, que es necesaria para el correcto funcionamiento del sensor, así como se aumenta de forma muy considerable la durabilidad del sensor.
3. Al introducir estas dos variantes en el diseño de la zona sensora, se consigue también eliminar la necesidad de almacenar los sensores en atmósferas especiales como es habitual en estos sensores. En este caso las membranas deben almacenarse en un recipiente cerrado, en oscuridad y en condiciones atmosféricas ambientales.
4. Se ha estudiado el desarrollo de sensores ópticos para determinar dióxido de carbono gaseoso incluyendo en la zona sensora líquidos iónicos de diferente estructura química. Para ello, se ha partido de una membrana sensora que utiliza la matriz hidrofílica HPMC y TMAOH como agente de transferencia de fase. Se basa en un proceso de transferencia de energía, mediante filtro interno, entre el indicador de pH  $\alpha$ -naftoltaleína y el luminóforo octaetil porfirina de Pt (II) (PtOEP). Se han desarrollado cinco sensores para determinar dióxido de carbono gaseoso, que incluyen cada uno los siguientes líquidos iónicos: tetrafluoroborato de 1-etil-3-metilimidazolio (LI-I), cloruro de 1-etil-3-metilimidazolio (LI-II), tetrafluoroborato de 1-hexil-3-metilimidazolio (LI-VI), 1-etil-3-metilimidazolio

bis(trifluorometilsulfonil)imida (LI-VII) y cloruro de 1- metil- 3- octilimidazolio (LI-VIII). Con todas las membranas sensoras desarrolladas se ha conseguido disminuir los límites de detección; así para el LI-I disminuye cinco veces y para el LI-VII disminuye la mitad, en comparación con el sensor en ausencia. También se logra disminuir los tiempos de respuesta de forma considerable; así con los sensores que contienen LI-I y LI-VII se disminuye cuatro veces su valor comparando con el mismo sensor sin líquido iónico; lo mismo ocurre con los tiempos de recuperación, y además en todos ellos se consigue mejorar el tiempo de vida del sensor.

5. Se ha realizado un estudio preliminar para determinar la viabilidad del empleo de estos sensores en empaquetado inteligente de alimentos, con ayuda de una cámara fotográfica. Para ello se seleccionó el sensor que contiene LI-I, obteniendo la información del contenido en dióxido de carbono a partir de las coordenadas de color calculadas a partir de las fotografías realizadas. Se han encontrado buenos resultados en cuanto a sensibilidad con la coordenada tonal R y en todo caso comparables a los resultados obtenido con la medida de luminiscencia.
6. Se ha propuesto dos sensores para determinar dióxido de carbono gaseoso empleando reactivos que originan señal luminiscente en la región del IR cercano, con las ventajas que conlleva el trabajar en esta región del espectro: baja interferencia por dispersión Raman, coeficientes de absorción molar altos, altos rendimientos cuánticos de fluorescencia, estabilidad frente a la fotodescomposición y degradación química, entre otras, incluyendo valores de constantes de acidez compatibles con aplicaciones fisiológicas. Se han desarrollado dos sensores basados en azaBODIPYs de estructura simple, sintetizados por nosotros, como indicadores de pH. En conjunción con el luminóforo inorgánico borato de aluminio y gadolinio dopado con Cr(III) (GAB) se ha logrado producir un proceso de transferencia de energía de tipo FRET, modulando la emisión del GAB con el dióxido de carbono presente. Estos sensores para dióxido de carbono gaseoso, presentan buenas características analíticas que los hacen útiles para su uso.

7. Se ha demostrado a lo largo de este trabajo presentado como Tesis Doctoral que es posible modular la composición de sensores de tipo membrana seca para dióxido de carbono de manera que se ajuste a las necesidades del usuario en términos de sensibilidad, eliminación de diversos tipos de interferencias y tiempos de vida.

## Conclusiones finales