

OBJECTIUS

OBJECTIUS

Tal i com s'ha comentat anteriorment, la constant evolució de les tecnologies i de la mateixa societat provoca un augment en la demanda de la informació així com la necessitat d'obtenir-la de forma continua i *in situ*. És dins d'aquest context on els sensors potenciomètrics ofereixen alternatives molt atractives vers algunes tècniques d'anàlisi per tal d'obtenir dispositius de mesura fàcils d'emprar, autònoms, de baix cost i instal·lables, a ser possible, en camp.

El present treball té com a objectiu global el disseny, la construcció i l'avaluació de nous sensors potenciomètrics d'estat sòlid així com la instrumentació i el material necessari per tal d'utilitzar-los, en aplicacions de l'àmbit mediambiental i agroalimentari. D'igual manera que es pot parlar d'un objectiu central del treball, el propi desenvolupament d'aquest ha donat lloc a objectius més particulars que, finalment, s'han concretat en les publicacions que s'adjunten en aquesta memòria. Aquests objectius particulars són:

- Disseny, avaluació i optimització d'una membrana sensora a l'ió calci (basada en un polímer diacrilat-poliuretà) d'aplicació en els àmbits agroalimentari i mediambiental.
 - Disseny, construcció i avaluació de sensors tipus ISEs i ISFETs que incorporin la membrana prèviament optimitzada.

- Preparació de dispositius tipus ISFETs amb membranes fotocurables optimitzades prèviament per tal de monitoritzar paràmetres claus com calci, potassi, nitrats i pH, en aplicacions mediambientals i agroalimentàries. Més concretament, les aplicacions seran:
 - Anàlisi del sòls i/o medis inerts. Es dissenyarà una cel·la per facilitar la inserció dels sensors en el medi i s'avaluarà la viabilitat d'emprar un fil de coure com a elèctrode de referència.
 - Control del procés d'estabilització tartàrica mitjançant resines d'intercanvi catiònic i anàlisi de vins. S'avaluarà l'aplicabilitat dels sensors per monitoritzar el procés d'intercanvi iònic en la resina i la regeneració posterior d'aquesta. Així mateix s'estudiarà la utilització dels sensors en l'anàlisi de vins.
 - Identificació i anàlisi de diferents varietats de fruita. S'avaluarà la viabilitat d'emprar els sensors, a peu de camp, per tal d'obtenir una mesura que pugui ser un indicador més de maduresa de les fruites.
- Preparació de dispositius tipus ISEs i de capa gruixuda, amb membranes de PVC optimitzades prèviament, per tal de monitoritzar paràmetres claus, com nitrat i amoni, en sòls.
 - Construcció i avaluació de sondes de nitrats instal·lables directament en el sòl. Avaluació de la resposta dels sensors en el sòl i estudi de la possibilitat de calibrar els sensors *in situ*.
 - Construcció i avaluació d'elèctrodes de configuració tubular, integrables en sistemes d'anàlisi de flux continu, per tal de quantificar la pèrdua d'urea del sòl. Es desenvoluparan trapes de gasos per tal de fixar l'amoni resultant de la hidròlisi de la urea i s'analitzarà el contingut d'aquest emprant el sistema FIA potenciomètric desenvolupat així com també per mètodes de referència (Kjeldahl).

EXPERIMENTAL

Capítol 2

EXPERIMENTAL

2.1 DISSOLUCIONS I REACTIUS

2.1.1 DISSOLUCIONS

En la preparació de les diferents solucions s'utilitzà aigua desionitzada i bidestil·lada i reactius de qualitat “per anàlisi” o superior.

2.1.2 REACTIUS PER A PREPARAR MEMBRANES

Es van preparar membranes de PVC i fotocurables selectives als ions calci, potassi, nitrat i amoni. La Taula 2.1 recull els ionòfors, els plastificants, els polímers i els additius emprats per a la preparació de les membranes.

Taula 2.1: Reactius emprats per a la preparació de les membranes sensores.

Acronim	Producte	Marca
Material Polimèric		
PVC	Clorur de polivinil (HMW)	Fluka
Ebecryl 270	Oligòmer diacrilat poliuretà alifàtic	UCB
HDDA	Hexanodiol diacrilat	UCB
Irgacure 651	2-2'-dimetoxifenilacetofenona	Ciba-Geigy
Plastificant		
DOPP	Di-n-octilfenilfosfonat	Fluka
DOS	Diocetilsebacat	Fluka
BBPA	Adipat de bis(1-butilpentil)	Fluka
DBP	Ftalat de dibutil	Fluka
TOP	Triocetilfosfonat	Fluka
Ionòfor		
TMBPhPP	Fosfonat de bis-di (4-1,1,3,3-(tetra-metilbutil)fenil)	Fluka
	Valinomicina	Fluka
	Nonactina	Fluka
TOA	Sal de tetraoctil-amonia	GSB
Additius i dissolvent		
KTpClPhB	Borat de tetraquis (4-clorofenil) de potassi	Fluka
THF	Tetrahidrofurà	Fluka

2.1.3 RESINA CONDUCTORA DE GRAFIT-EPOXY

La resina conductora que actua de referència sòlida interna en els elèctrodes selectius d'ions està formada per un 50% (en pes) de grafit en pols de mida de partícula de 50 µm (Merck) i 50% (en pes) de resina epoxi, aquesta última formada per una mescla d'epoxi Araldit M (Ciba Geigy) i d'enduridor HR (Ciba Geigy) en proporció 5:2 en pes [1-4].

Per a la construcció dels elèctrodes de capa gruixuda es va utilitzar resina epòxica conductora formada per un 32.4 % (en pes) de grafit en pols de mida de partícula de 1-2 µm (Aldrich), un 58.8% (en pes) de resina EpoTek H77 (Epoxy Technology) i un 8.8 % (en pes) del seu enduridor corresponent (Epoxy Technology) [5-7]. Per tal d'ajustar la viscositat de la pasta es va emprar ciclohexanona (Merck) amb una proporció d'uns 200 µl del dissolvent per cada g de resina.

La diferència entre les resines es basa en el diferent caràcter hidrofílic de l'Epotek H77 i l'Araldit M. En la construcció dels elèctrodes de capa gruixuda es deposa una capa de resina més prima, de manera que si aquesta no és lo suficient hidrofòbica la connexió de coure es pot veure afectada al submergir l'elèctrode en solució. Per aquest motiu, s'escull l'Epotek H77 per tal de construir els elèctrodes serigrafats.

2.2 CONSTRUCCIÓ DELS ELÈCTRODES

2.2.1 ELÈCTRODES SELECTIUS D'IONS

Degut a la gran diversitat d'aplicacions que s'han plantejat al llarg d'aquesta tesi, es van preparar elèctrodes selectius d'ions emprant dissenys de fabricació diferents (convencional i tubular) així com es van depositar membranes de naturalesa diferents (basades en PVC o polímers fotocurables com a suport polimèric). En els següents apartats es descriu el procés de fabricació i deposició per a cada un d'ells.

2.2.1.1 Construcció dels elèctrodes

Per a la construcció del cos del transductor dels elèctrodes selectius d'ions es van emprar dues configuracions diferents: la convencional (amb dos dissenys, un de més curt i l'altre allargat) i la tubular [8-12].

En el cas de la configuració convencional curta, la connexió elèctrica s'introdueix a l'interior d'un cos cilíndric de PVC de 6 mm de diàmetre intern i 18 mm de longitud. El cargol metàl·lic que porta enroscada la connexió permet que aquesta quedi ben fixada a l'interior del tub de PVC, mentre que l'altre extrem del tub queda una cavitat de 3 mm, on posteriorment s'introduirà la pasta de resina conductora preparada.

En el cas dels elèctrodes de configuració convencional allargada, en un tub de metacrilat de 8 mm de diàmetre i 100 mm de llargada s'encaixa un cable elèctric que té soldat una placa de coure en el seu extrem. Es tensa el cable fins que la placa queda recolzada sobre el suport del tub de metacrilat. Finalment s'encola el cable al tub per l'extrem oposat, per tal de fixar-lo. En l'altre extrem del tub es col·loca una peça de metacrilat en forma de punxa. En un dels laterals queda una cavitat d'uns 3 mm on posteriorment s'introduirà la pasta conductora.

Per a la construcció dels elèctrodes de configuració tubular s'introdueix la connexió elèctrica a l'interior d'un cos cilíndric de metacrilat de 0.8 cm de diàmetre intern i 0.7 cm de longitud, de manera que s'asseguri el contacte d'aquesta amb la resina conductora. La Figura 2.1 ens permet veure les tres configuracions dels ISE desenvolupats.

Per a les tres configuracions, les seves cavitats s'omplen amb la resina conductora de grafit-epoxy que es cura durant 12 hores a 40°C. A continuació, es poleix la superfície. En el cas dels elèctrodes de configuració tubular, es cobreixen les superfícies amb una capa de resina aïllant (EpoTek, Epoxy Technology) per tal de protegir, una mica més, el contacte intern conductor de la solució. En el cas dels elèctrodes convencionals no cal doncs la membrana a

deposar cobreix tota la superfície. Finalment, es realitza un forat central de 1.5 mm de diàmetre en els elèctrodes de configuració tubular on posteriorment es depositarà la membrana.

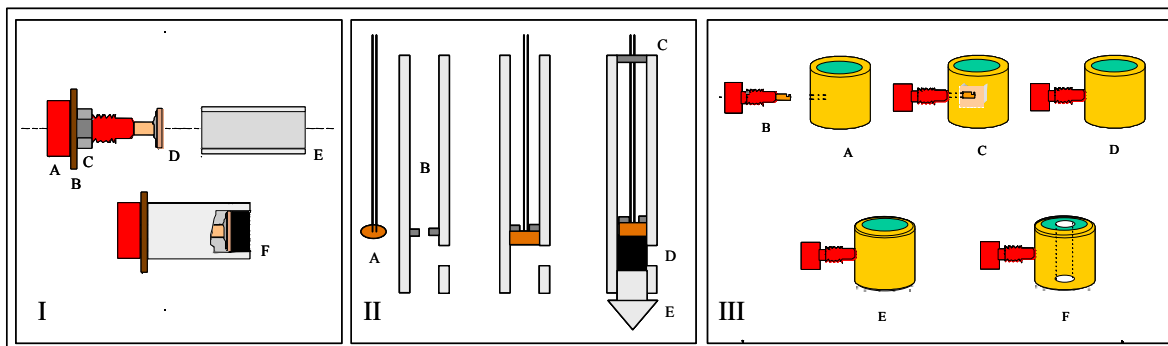


Figura 2.1: Construcció del cos dels ISE de configuració convencional (I, II) i tubular (III). I: A- Connector elèctric; B- Arandella; C- Femella metàl·lica; D- Placa de coure; E- Tub de PVC; F- Resina conductora. II: A- Fil amb placa de coure; B- Tub metacrilat; C- Encolat; D- Resina conductora; E- Peça metacrilat. III: A- Cilindre de metacrilat; B- Connector elèctric; C- Cos de l'elèctrode; D- Resina conductora; E- Aïllant; F- Orifici central.

2.2.1.2 Preparació i deposició de la membrana

Tal i com s'ha comentat anteriorment, es va treballar amb dos tipus diferents de membranes, les de PVC i les fotocurables. En ambdós casos, el còctel sensor s'obté per la mescla homogènia dels diferents components de la membrana que s'obtenen per pesada directa.

▪ Membranes de PVC

Per tal de millorar la homogeneïtat de la membrana, els components pesats són dissolts en tetrahidrofurà (5 ml de THF per cada 100.0 mg de PVC). La mescla s'agita amb l'ajuda d'un mesclador de membranes (5-15 minuts). La deposició sobre els ISEs convencionals es fa gota a gota cada 15 minuts, per tal de deixar evaporar el dissolvent. L'addició de les primeres gotes resulta el pas crític de la deposició ja que cal anar en compte de no formar bombolles d'aire que quedarien atrapades en la membrana. Pel cas dels ISEs tubulars, cal tenir present de no depositar la membrana per una sola cara i anar alternant la cara de la deposició per tal d'evitar taponar un extrem de l'orifici. L'operació es realitza un total, d'aproximadament, 10 vegades. El número de gotes que deposem marcarà el gruix de les membranes. Un cop feta la darrera deposició, la membrana es deixa assecar durant 24 hores.

▪ Membranes fotocurables

Primer de tot, es mescla l'Ebecryl 270 i l'HDDA, en una proporció de 83 i 17 % en pes, respectivament [13-18]. Aquesta solució, que anomenarem prepolímer, es mescla amb la resta de components i s'homogeneïtza finalment amb THF (250 – 300 µl de THF per cada 100.0

mg de còctel sensor). La mescla s'agita emprant un bany d'ultrasons (5-15 minuts). En la Figura 2.2 es mostren la fórmula de l'Ebecryl 270 i del HDDA emprats per desenvolupar les membranes fotocurables.

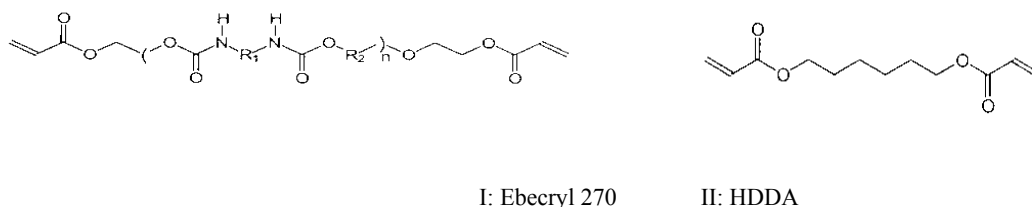


Figura 2.2: Estructura dels oligòmers emprats per obtenir les membranes fotocurables. I) l'oligòmer diacrilat poliuretà alifàtic; II) hexanodiol diacrilat.

Es van depositar 20 μl del còctel sensor sobre el ISE de configuració convencional i s'exposà durant un minut a la radiació d'una làmpada de UV (Black-Ray, Upland, CA, USA model B100AP de 365nm, $22\text{mW}\cdot\text{cm}^{-2}$). Per tal d'eliminar la resta de la membrana no polimeritzada es rentà amb etanol. El gruix de les membranes depositades va ser de 100 – 120 μm .

En tots els casos, tant per a elèctrodes convencionals com tubulars (amb membranes de PVC o fotocurables), els elèctrodes es van condicionar en una solució 0.1 M (de la sal de l'ió a què respon l'elèctrode) durant 1 hora i amb una solució de 10^{-3} M de la mateixa sal durant 6 – 12 hores.

2.2.2 ELÈCTRODES DE CAPA GRUIXUDA

2.2.2.1 Construcció dels elèctrodes

Per tal d'explicar el procés de construcció dels elèctrodes de capa gruixuda cal diferenciar clarament les etapes de construcció del suport inicial i del transductor.

▪ *Construcció del suport*

Aprofitant l'experiència del GSB en el desenvolupament d'elèctrodes de capa gruixuda es va emprar com a suport inicial de construcció plaques de circuit imprès de fibra de vidre amb sensibilitat positiva (80 \times 120 mm, Ariston). Les plaques emprades presenten com a avantatge principal que tenen una capa impresa de coure sota una capa de resina fotodegradable.

Per tal de dibuixar les pistes conductores de coure es va dissenyar una màscara o fotolit adequat per l'aplicació. En aquest cas era necessari la construcció de sensors que

incorporessin l'elèctrode de referència (pista de coure) el més proper possible a l'elèctrode selectiu a l'ió. El fotolit emprat per l'obtenció del suport de coure es mostra a la Figura 2.3.

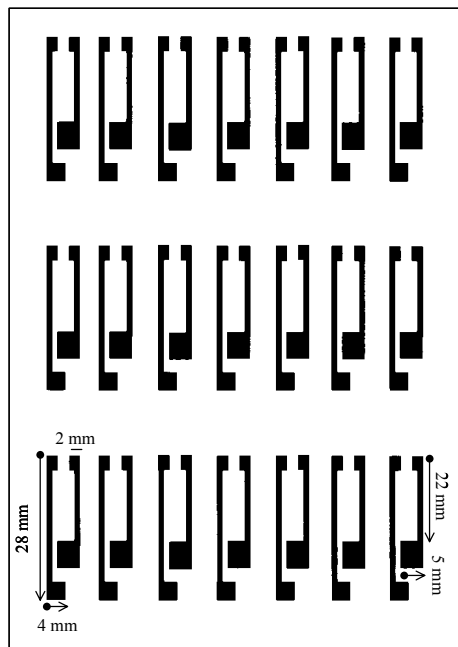


Figura 2.3: Disseny del fotolit emprat (Corel Draw) per l'obtenció del suport inicial.

Els passos per tal d'obtenir el suport metàl·lic es detallen a la Figura 2.4:

1. *Marcatge del fotolit.*

Per tal de dibuixar les pistes de coure, el fotolit es situà sobre la placa de circuit imprès i es posà un vidre a sobre per tal de impedir el moviment d'aquest durant el procés de marcatge. Es situà tot sota la làmpada de UV a uns 15 cm de distància (Black-Ray, Upland, CA, USA model B100AP de 365nm, 22mW·cm⁻²) i s'irradià durant 7 minuts.

2. *Revelat del polímer fotocurat*

La placa tractada es situà en un recipient amb 250 ml d'H₂O i 50 ml de NaOH revelador (Panreac). Es deixà la placa submergida en la solució fins que tot el polímer que havia estat exposat a la llum UV es va eliminar. Al finalitzar, es rentà bé la placa amb aigua per tal d'eliminar l'hidròxid sòdic.

3. *Eliminació del coure vist*

La placa tractada es situà en un recipient amb 40 ml d'H₂O₂ al 30% (Merck), 130 ml d'H₂O i 70 ml d'HCl al 37%. El coure que quedà exposat (no tapat pel polímer que resta a la placa)

s'oxidà. La placa es deixà submergida en la solució fins que tot el coure s'oxides. Si calia, s'afegia més H_2O_2 o HCl . Al finalitzar, es rentà bé la placa amb aigua.

4. Eliminació del polímer no fotocurat

Es va rentar la placa amb etanol per eliminar les restes de polímer que defineixen les pistes conductores. Quedaran al descobert les pistes de coure amb el dibuix del fotolit.

5. Obtenció del suport final amb les pistes de coure impreses

La placa final es tallà en tres parts, contenint cada una d'elles 7 suports metàl·lics.

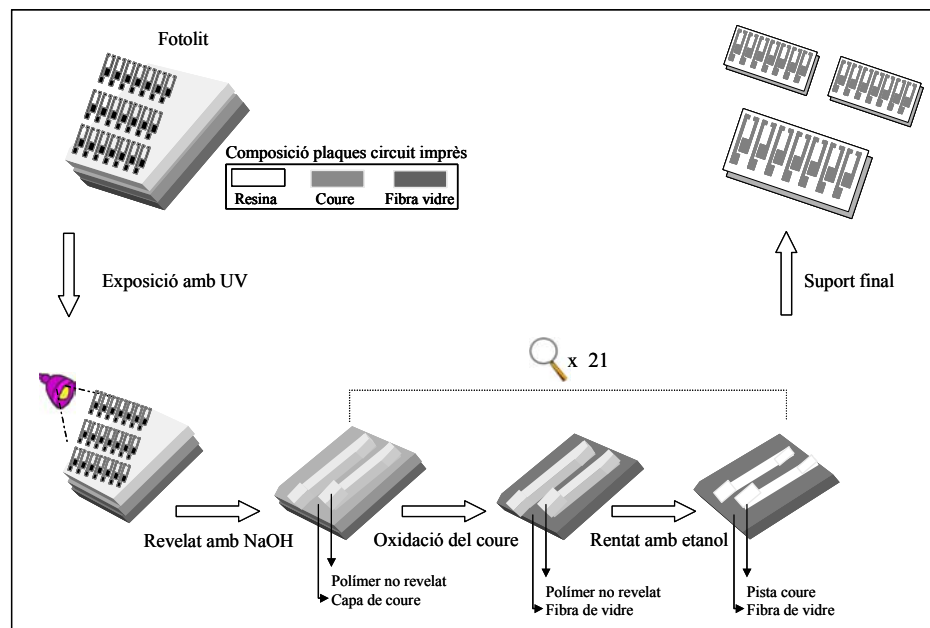


Figura 2.4: Procés fotolític d'impressió de les pistes de coure sobre el suport de fibra de vidre.

▪ Construcció del transductor

Un cop les pistes conductores van ser definides sobre el suport, es va imprimir, per serigrafia, el transductor amb la pasta conductora d'epoxi-grafit descrita en § 2.1.3 [5-7]. Inmediatament després de l'addició de ciclohexanona en la pasta conductora (necessària per reduir la viscositat d'aquesta) es van situar les plaques en la màquina serigràfica, de forma que coincidissin exactament els extrems de les pistes de coure amb les obertures de que disposa la malla. Tot seguit, es deposà la pasta sobre la malla i amb l'ajuda d'una paleta de poliuretà s'arrossegà la pasta fins obtenir la impressió desitjada. Per tal que la pasta fluís bé, el procés s'havia de fer amb rapidesa per tal d'evitar la pèrdua de ciclohexanona per evaporació. La Figura 2.5 il·lustra els passos seguits per tal d'obtenir el transductor. L'operació es repeteix fins que la comprovació amb microscopi ens assegurà que tota la pasta cobria la totalitat del coure.

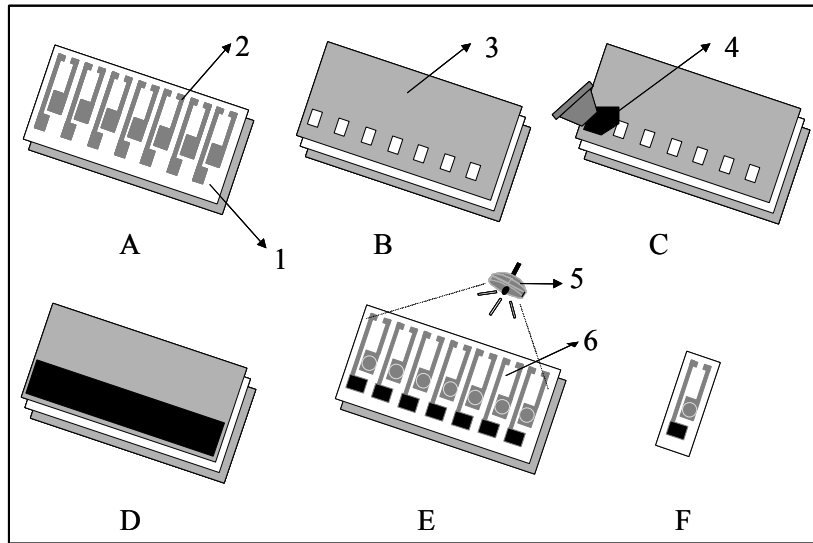


Figura 2.5: Impressió de la pasta d'epoxi-grafit emprant una malla d'impressió (screen-printed). 1) Placa base amb 2) els circuits de coure impresos. 3) Malla d'impressió amb les obertures 4) Pasta d'epoxi-grafit. 5) Làmpada UV. 6) Ebecryl 600.

El polímer es va curar a 40°C durant 12 hores per tal que adquirís la consistència apropiada. Finalment, es tallà la fibra de vidre per obtenir els transductors, que s'encapsulen individualment amb Ebecryl 600 (UCB) per tal d'evitar el contacte de la pista de coure amb la dissolució. En aquest cas, es deixà sense encapsular la zona del transductor i la pista de coure (que actuarà com a elèctrode de referència). A la Figura 2.6 es mostra fotografies dels sensors desenvolupats.

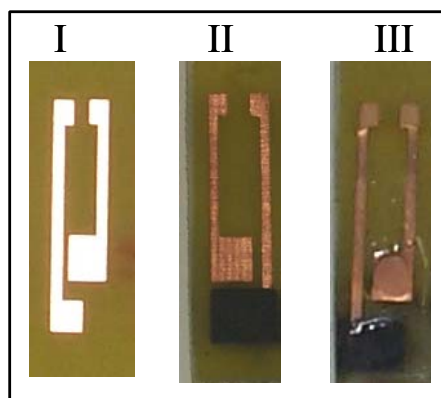


Figura 2.6: I. Suport amb les pistes de coure impreses. II. Elèctrode amb l'epoxy-grafit dipositat. III. Elèctrode encapsulat, deixant lliure la capa d'epoxi-grafit i l'elèctrode de coure.

2.2.2.2 Preparació i deposició de la membrana

Les membranes de PVC deposades sobre els elèctrodes de capa gruixuda són les mateixes que les deposades sobre els ISE. Per tant, el mètode, les proporcions i el condicionament són els mateixos que els descrits a § 2.2.1.2.

2.2.3 TRANSISTORS D'EFECTE DE CAMP SENSIBLES A IONS (ISFETs)

Els transductors tipus ISFETs utilitzats van ser subministrats pel Institut de Microelectrònica de Barcelona (IMB-CNM) i corresponen al conjunt de màscares CNM-008 i CNM-096 [19-20]. A la Figura 2.7 es mostra el xip de l'ISFET on es pot observar la porta de nitru de silici, el canal n, les zones de difusió del drenador i de la font, el substrat i els contactes elèctrics.

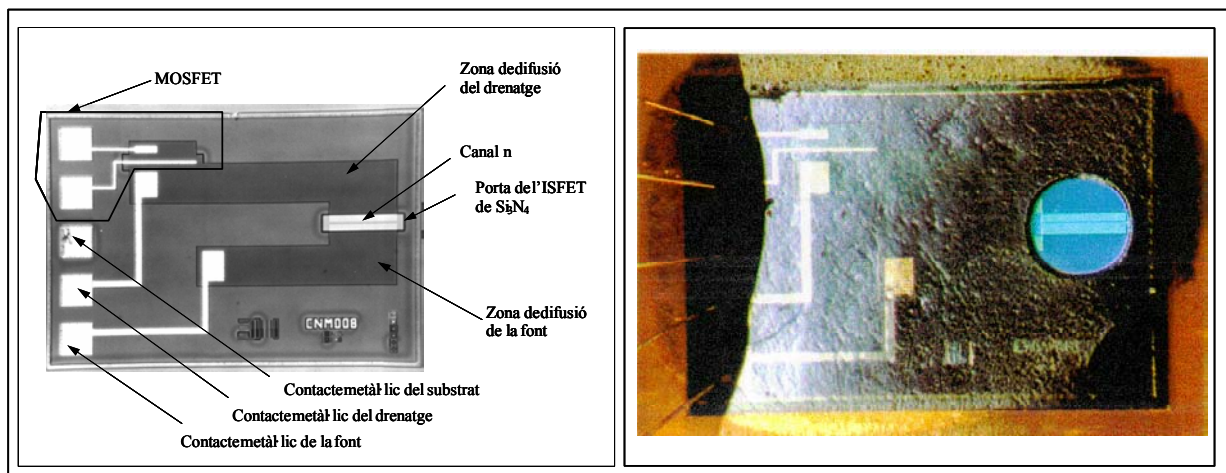


Figura 2.7: fotografia del xip d'un ISFET CNM-008, abans i després d'encapsular.

Un cop silanitzada la oblea i deposada una capa prima de pre-encapsulant, aquesta es va tallar per obtenir el xip de dimensions aproximadament $2950 \times 2050 \mu\text{m}$. Aquest es va fixar en una tira de circuit imprès i es van soldar els contactes del xip amb els del circuit imprès mitjançant fils d'alumini. L'encapsulament del dispositiu final es va fer amb Ebecryl 600 (UCB) deixant a l'aire la zona de la porta de nitru de silici i cobrint totes les parts elèctriques del dispositiu. La Figura 2.8 mostra els ISFETs subministrats en la tira de circuit imprès, encapsulats i silanitzats.

2.2.3.1 Preparació i deposició de la membrana

Sobre la superfície silanitzada dels ISFETs es van depositar membranes fotocurables preparades tal i com es comenta a § 2.2.1.2. Es van però, depositar 2 μl del còctel sensor sobre la superfície i s'exposà durant 30 segons sota la mateixa làmpada. En aquest cas, el gruix de les membranes obtingudes va ser de 20 –50 μm . Els sensors obtinguts es condicionen d'igual forma que els ISE i els elèctrodes de capa gruixuda.



Figura 2.8: Fotografia d'un ISFET subministrat pel IMB-CNM, ja encapsulat i fixat en la tira. Les dimensions de la tira són de 7 x 110 mm.

2.3 INSTRUMENTACIÓ

En aquest treball s'ha emprat instrumentació diferent atenent al tipus d'elèctrode emprat (ISEs, elèctrodes de capa gruixuda o ISFETs) així com del lloc on s'han realitzat les mesures (en laboratori o bé en camp).

2.3.1 ELÈCTRODES SELECTIUS D'IONS I DE CAPA GRUIXUDA

2.3.1.1 *Mesures discretes (batch) en el laboratori*

Per aquest tipus de mesura, només emprada en l'estudi dirigit a l'optimització de les membranes i caracterització dels sensors, es va emprar un potenciòmetre Crison 2002 (± 0.1 mV). Com a elèctrode de referència es va emprar un elèctrode de doble unió líquida Ag/AgCl (Orion 90-02-00). La dissolució de referència interna va ser subministrada per la pròpia casa

comercial Orion. Com a dissolució externa de referència s'utilitzà la mateixa que la del fons iònic de treball emprat en la caracterització dels sensors. Mitjançant un commutador, es va mesurar simultàniament la resposta de sis sensors. Les mesures es van realitzar sota agitació constant.

2.3.1.2 Mesures contínues en camp

Per tal de realitzar les mesures en camp es van emprar dos tipus d'instrumentació: una comercial i l'altre dissenyada i construïda pel grup *Embrapa Instrumentação Agropecuária*. La primera opció correspon a un Datalogger model CR10X de Campbell Scientific [21] amb una capacitat d'emmagatzemar 62000 dades. El programa associat al datalogger permet programar el temps de mesura així com el tractament de dades que es vol fer (mitjanes de dades instantànies o bé de mitjanes). La Figura 2.9 mostra el model comercial emprat. Per a les mesures en camp es va emprar un fil de coure com a elèctrode de referència.



Figura 2.9: Model de Datalogger Campbell Scientific.

La instrumentació desenvolupada per *Embrapa Instrumentação Agropecuária* incorpora amplificadors del senyal, convertidors A/D de 8 bits, multiplexadors i transmissors via radio. A l'hora, es va desenvolupar els programes de control, en entorn Windows, per tal d'adquirir i processar les dades. Les mesures potenciomètriques es van realitzar mitjançant elèctrodes selectius d'ions i elèctrodes de capa gruixuda, essent en tots dos casos, l'elèctrode de referència una placa de coure.

Per tal d'obtenir els resultats de forma totalment automatitzada, [22-24] es va desenvolupar un sistema d'instrumentació agrícola. Aquest sistema va ser concebut per recollir dades de diferents sensors interlineats en red per un únic cable. La transmissió de dades era digital, emprant un patró de comunicació multipunt RS-485. El programa de recollida de dades es va desenvolupar en LabView. El programa permetia escollir l'interval de mesura així com la freqüència d'integració de les dades. La Figura 2.10 permet observar el circuit desenvolupat.

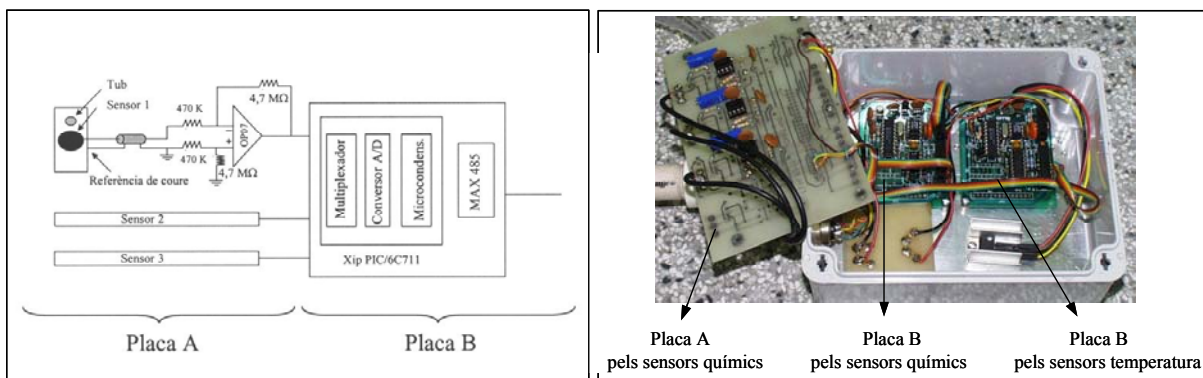


Figura 2.10: Fotografia i esquema de la instrumentació desenvolupada. La fotografia mostra la instrumentació que incorpora 3 sondes químiques i 3 sondes de temperatura.

2.3.2 TRANSISTORS D'EFECTE DE CAMP SENSIBLES A IONS (ISFETs)

Les mesures dels ISFETs es van realitzar amb un ISFETmetre multicanal (4 canals connectats a un mateix elèctrode de referència) construït pel Centre Nacional de Microelectrònica. El circuit de mesura es basa en mantenir el V_{FD} i el I_D constants en 0.5 V i 100 μ A respectivament [25-27] de forma que la variació del V_p deguda al pH o a les variacions de la concentració dels ions estudiats es compensi amb l'elèctrode de referència. L'ISFETmetre està comunicat (mitjançant un cable RS-232C) a un PC i mitjançant un programa de control (LabView) s'obtenen i visualitzen les dades. La Figura 2.11 ens permet observar una fotografia de l'instrumental emprat per a realitzar les mesures dels ISFETs.



Figura 2.11: Instrumental emprat per a realitzar les mesures amb els ISFETs.

2.4 MATERIAL EMPRAT PER A L'APLICACIÓ D'ISFETs EN SÒLS I EN SUBSTRATS INERTS

Per tal d'introduir els ISFETs en el terra o en un cultiu hidropònic, es va dissenyar una cel·la que facilités la inserció dels sensors en el medi, els protegís de la mateixa acció d'inserció i evités efectes indesitjables d'obturament i embrutiment de la porta dels ISFETs i de les membranes. Tot i que els sensors emprats són en si força robustos, la membrana depositada sobre la porta de l'ISFET és més delicada i es pot veure afectada per aquesta acció. Finalment, el disseny de la cel·la ha de permetre introduir 4 ISFETs, un elèctrode de referència i ha de facilitar, també, l'entrada i sortida de la dissolució aquosa del medi.

Com és aconsellable que els sensors es calibrin externament amb certa freqüència, es va pensar en un disseny que permetés la inserció simultània dels elèctrodes. La cel·la multiISFETs (dissenyada pel GSB i construïda per SIDSA) està formada per dues parts: una que es pot considerar fixa en el sòl i una mòbil que pot ser extreta amb facilitat. La Figura 2.12 mostra una fotografia de la cel·la desenvolupada així com el detall de les dues parts que la formen. La part fixa està formada per un tub cilíndric de parets recobertes amb un material porós que facilita l'entrada i sortida de la dissolució aquosa. Per a evitar l'acumulació d'aquesta dissolució, es va foradar el fons del tub. Aquesta part fixa s'introdueix en el sòl mitjançant tubs calats (tipus *barrenos d'inserció*) de 10 cm de profunditat.



Figura 2.12: Fotografia de les part fixa i mòbil de la cel·la multiISFET.

La part mòbil està formada per un cilindre que encaixa dins del tub extern descrit anteriorment i que permet la fixació, en la seva superfície externa, de quatre ISFETs i un elèctrode de referència. Aquesta part es pot extreure sense haver de treure l'altre del medi. Per tal de realitzar les mesures en terres i substrats inerts, es va construir un contenidor de polipropilè que va permetre plantar vuit cultius de rosers. La Figura 2.13 mostra una fotografia del contenidor emprat per fer les mesures.



Figura 2.13: Fotografia i esquema del contenidor emprat per fer les mesures. Detall de la cel·la a punt de ser inserida en un medi hidrònic de rosers.

2.5 MATERIAL EMPRAT PER A L'APLICACIÓ D'ISFETs A L'ANÀLISI I TRACTAMENT DE VINS

2.5.1 DISSENY I CONSTRUCCIÓ DE COLUMNES DE BESCANVI

Per tal de realitzar les mesures en el laboratori es va dissenyar una columna cromatogràfica de vidre (un litre de capacitat i de dimensions 50 cm de llarg i 2.3 cm de diàmetre) amb una clau de pas que permet regular el flux de sortida. La columna tenia 5 punts de presa de mostra formats per un colze de vidre amb un tap i una femella de silicona. Un orifici en el tap permetria incorporar un tub de tefló fins al mig de la columna pel qual, i mitjançant una bomba, s'aspirà la mostra fins al detector.

Es va escollir una resina amb una alta capacitat d'intercanvi iònic, de fàcil regeneració i que no alteres les característiques organolèptiques i físico-químiques finals del vi tractat (excepte

les concentracions dels ions bescanviats) [28-29]. La resina emprada va ser una resina d'intercanvi catiónic poliestirènica copolimeritzada amb divinilbenzé i sulfonades subministrada per l'INCAVI. Les característiques de la resina són: densitat de 1.278 Kg/l, capacitat d'intercanvi de 3.56 mequiv/g i un radi de partícula de 0.69 mm). Després d'hidratar-la entre 12 i 14 h amb aigua destil·lada es va omplir la columna i es va rentar amb un volum d'aigua 30 vegades el volum de resina emprada. La regeneració es realitzà amb 1.5 l d'àcid clorhídric 5% (volum) amb un flux de 4 l/h. Finalment, i abans de fer passar el vi, la resina es va rentar amb aigua fins que l'eluent va tenir una conductivitat de 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ o bé un pH de 6-7.

Es van estudiar mostres de vi blanc i negre amb denominació d'origen Penedès, proporcionades per l'Institut Català de la Vinya i el vi (INCAVI). Les mostres tractades amb la columna es van fer passar a una velocitat de flux de 4.5 l/h.

Per a la planta pilot (INCAVI) es va construir una columna d'acer inoxidable amb una capacitat de 24 l (70 cm de llarg i 10.5 cm de diàmetre). La columna permet obtenir mostra just a l'inici del tractament i al final de la columna. Per tal d'evitar sobre pressions es va construir una vàlvula de seguretat a la part superior de la columna. La Figura 2.14 mostra observar la columna emprada. El flux de mostra va ser de 48-50 l/h i es van analitzar vins negres amb denominació d'origen Penedès.

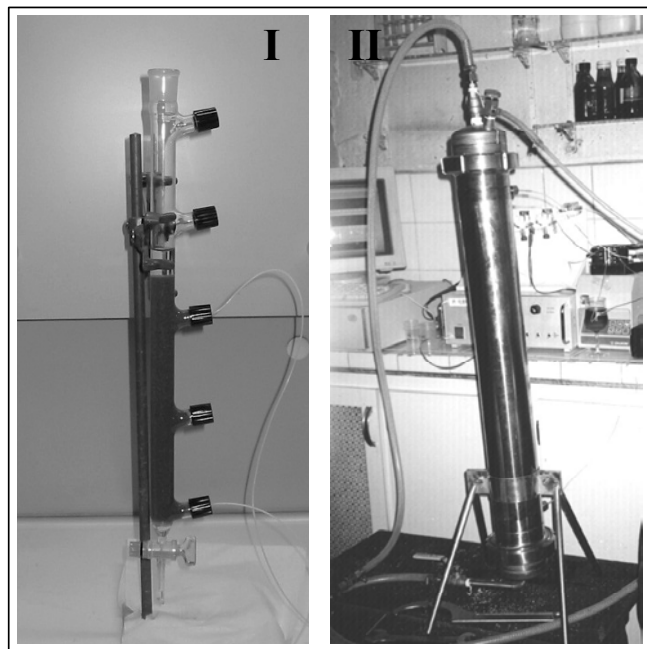


Figura 2.14: Fotografia de les columnes emprades per tal d'estudiar el comportament de la resina I.- en condicions de laboratori i II.- en la planta pilot.

2.5.2 SISTEMES DE FLUX

L'ISFET es va integrar al sistema de flux mitjançant una cel·la de metacrilat dissenyada en els laboratoris del GSB [30-31] (Figura 2.15). La cel·la està formada per dos blocs i el sensor es fixa a l'interior d'un dels dos blocs mentre que l'altre conté dos canals (l'un a 90° i l'altre a 45° respecte la superfície dels blocs) per a l'entrada i sortida del flux. Una membrana de silicona que fa de junta entre els dos blocs conté un orifici, coincident amb la porta de l'ISFET, que defineix una cambra de mesura d'aproximadament 25 µl.

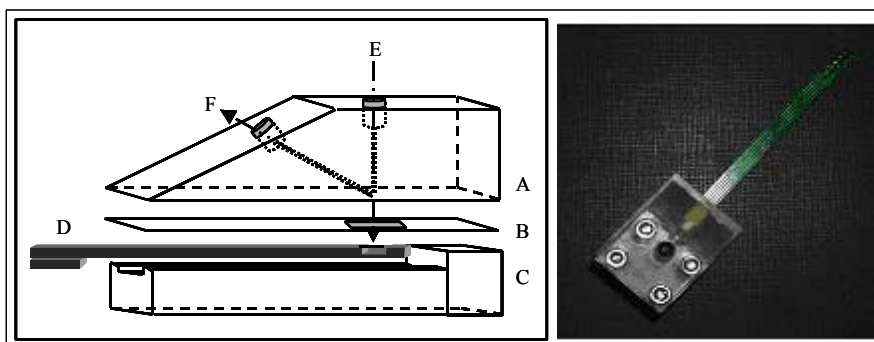


Figura 2.15: Esquema i fotografia de la cel·la per integrar l'ISFET en un sistema de flux. A/C.- Blocs de metacrilat; B.- Junta de silicona perforada; D.- ISFET; E/F.- Entrada i sortida del flux.

Per tal d'analitzar mostres discretes, els ISFETs es van integrar en un sistema FIA convencional mentre que per monitoritzar el procés d'intercanvi iònic a la columna es van integrar en un sistema de flux continu (CFS). Per tal d'aconseguir, en cada cas, la millor resposta es van optimitzar les condicions així com el disseny del sistema (Figura 2.16).

- En el sistema (FIA) es va emprar una vàlvula injectora, per tal de definir el volum de la dissolució patró i mostra que arriba al detector. Les mesures dels diferents paràmetres es van fer per separat i es va emprar una dissolució de sulfat sòdic 0.33M per tal de d'ajustar la força iònica.
- En el segon sistema (CFS) es va emprar una mesura simultània de pH, calci i potassi. Una vàlvula selectora ens va permetre escollir la dissolució que arribava als detectors. Per ajustar el pH de les mostres, es va emprar un canal addicional de Tris 0.05M a pH 7.5.

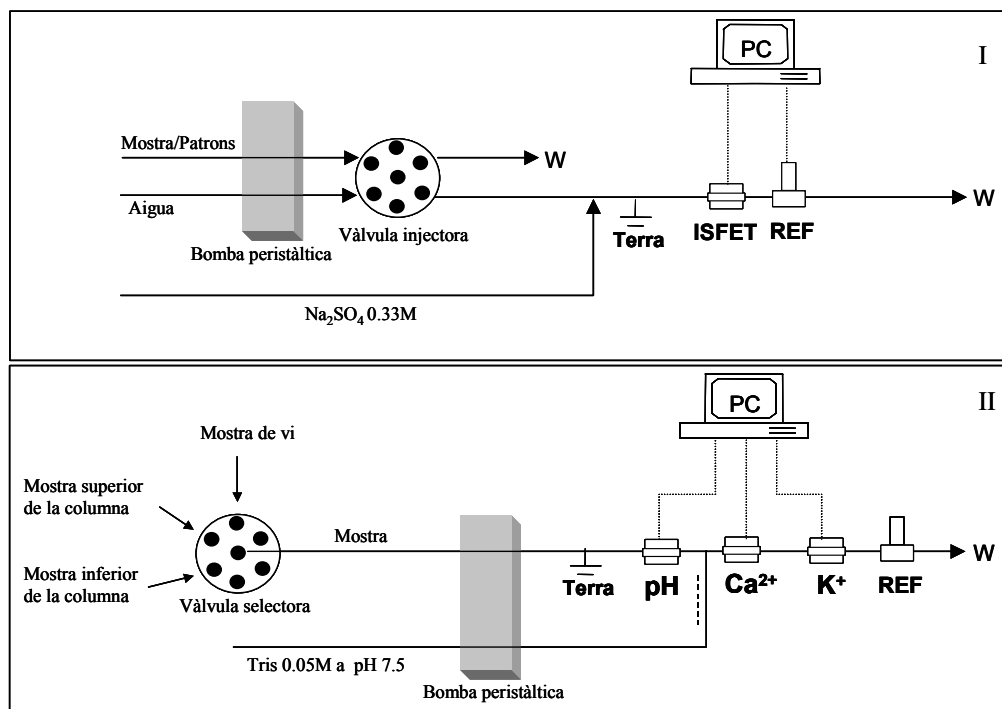


Figura 2.16: I.- Sistema FIA emprat per analitzar les mostres discretes de vi; II.- Sistema de flux continu per controlar el procés d'estabilització tartàrica dels vins.

2.6 DISSENY I CONSTRUCCIÓ DE SONDES PER A L'APLICACIÓ EN SÒLS

Per tal d'introduir els sensors en el sòl es va dissenyar inicialment un model de sonda força senzill, amb el que es van realitzar les primeres experiències. Aquest consistia en un elèctrode selectiu d'ions de configuració convencional allargat descrit en § 2.2.1.1 amb una peça de metacrilat punxeguda al final per facilitar la inserció del sensor en el sòl. El fil de coure que actua com a referència es situa al voltant de la membrana de PVC.

Per aplicacions posteriors es va dissenyar una sonda que incorporava tres sensors. Es va emprar dos tipus de tubs de PVC (un de 1,5 m de llargària i 18 mm de diàmetre extern; un de 1.2 m de llargària i 30 mm de diàmetre extern) tornejats en la part superior per tal d'enroscar una T de PVC i taponats en la part inferior mitjançant una tap a pressió. Es van construir dos tipus de sondes. La primera incorporava elèctrodes a una distància tal que al enterrar la sonda aquests estiguessin a una profunditat de 30, 60 i 90 cm respectivament. En el cas de la segona, els sensors, un cop enterrats al terra, es situaven a una distància de 15, 30 i 60 cm respectivament. En la superfície del tub de PVC es van encaixar, fent un rebaixament, els sensors. En la primera es van fer servir elèctrodes de configuració convencionals (descrits en § 2.2.1.1) mentre que en la segona es van fer servir elèctrodes de capa gruixuda (descrits en §

2.2.2.1). En ambdós casos, les connexions es van fer passar internament per dins del tub per tal de protegir-les de la humitat. Les connexions i soldadures es van aïllar amb silicona i cola tèrmica. La Figura 2.17 mostra fotografies de les sondes emprades en aquest treball. En el cas de la primera sonda (ISEs) es solda un termopar en la part interior de la placa de coure per tal de poder obtenir informació de la temperatura del sòl.

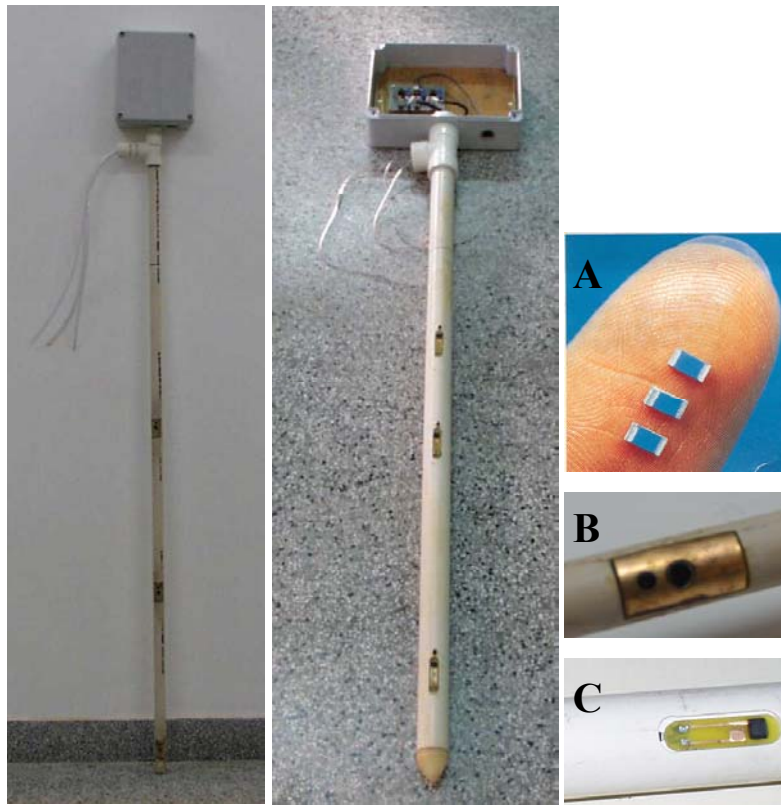


Figura 2.17: Fotografia de les sondes que incorporen tres sensors químics a alçades diferents. En la part superior de la sonda es situa la caixa on s'instal·la la instrumentació associada a la lectura, ampliació i transmissió de les dades. Detall de A.- termopar; B.- la placa de coure i l'ISE ; C.- del elèctrode de capa gruixuda.

2.7 MATERIAL EMPRAT PER A L'ANÀLISI DE MOSTRES DE SÒLS EMPRANT ELÈCTRODES TUBULARS

2.7.1 TRAMPES DE GASOS DE CAMP

Per tal de recollir l'amoníac (gas) resultant de la hidròlisi de la urea afegida al sòl com a fertilitzant, es van construir trampes de gasos instal·lables a camp. Aquestes estaven formades per un cos cilíndric de PVC de radi 10.5 cm, tancat per la part superior i obert per la part inferior. A dins es situaven dues esponges empapades amb 100-120 ml d'una dissolució àcida [32]. Les dissolucions que es van testar van ser: àcid fosfòric amb glicerina (50 ml d'àcid 85% i

40 ml de glicerina dissolts en 1 litre d'aigua) i Tris amb glicerina (50 ml de Tris 0.2 M a pH 7.5 i 40 ml de glicerina dissolts en 1 litre d'aigua).

L'interior del cos cilíndric esdevé una trampa pels gasos amb caràcter bàsic que emergeixen de la superfície del sòl. Transcorregut el temps de retenció (establert, pels diferents assaigs, entre alguns dies i varies setmanes), es va recuperar la dissolució de l'esponja (i per tant l'amoni que prové de la hidròlisi de la urea). La dissolució es va diluir amb aigua destil·lada a un volum de 1l. La dissolució resultant s'analitzà mitjançant el mètode de Kjeldahl (§2.8.5) i per potenciometria. Per tal de simplificar més el disseny es va emprar trampes més petites que contenien dipòsits amb 100 ml d'una dissolució de caràcter àcid per retenir el gas amoníac. Aquesta dissolució evitaria l'etapa de tractament de les esponges per recuperar l'amoniac. Finalment, es van preparar trampes on el gas era aspirat i recollit en una solució àcida on s'hi submergia un elèctrode d'amoni. En aquest cas, la lectura es va recollir en temps real amb l'ajuda d'un registrador de paper. La Figura 2.18 mostra una fotografia de les trampes emprades.

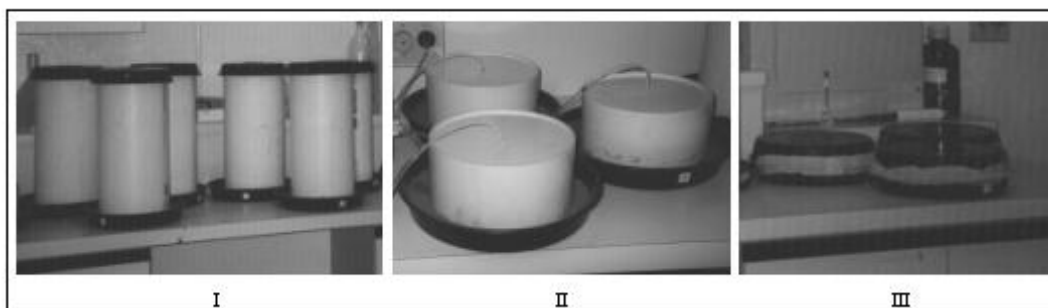


Figura 2.18: Fotografia de les trampes emprades per tal de recollir l'amoniac després. I.- Trampes d'esponges; II.- Trampes d'aspiració; III.- Trampes amb dipòsits.

2.7.2 SISTEMA DE FLUX

El sistema de flux emprat en l'anàlisi de les mostres es detalla en la Figura 2.19. Incorpora un canal portador (Tris 0.01M a pH 7.5), un canal condicionador del pH (hidròxid sòdic 10^{-2} M) així com un tercer canal de recollida del gas amoni difós a través de la cambra de difusió gasosa (Tris 0.01M a pH 7.5 amb un fons de clorur amònic 10^{-7} M). Com a elèctrode de referència s'emprà un Ag/AgCl de doble unió (ORION 900200). Es van fer servir dissolucions de clorur d'amoni com a patrons de calibratge (de 10^{-4} a 0.1 M) [33-35].

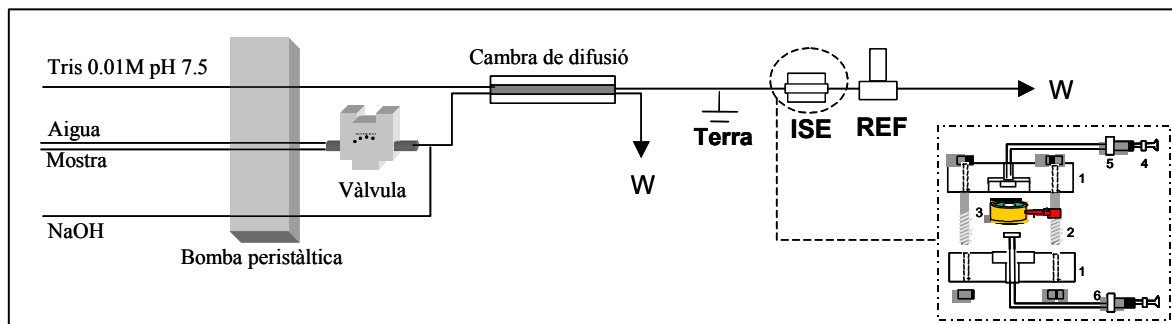


Figura 2.19: Esquema emprat del sistema per a analitzar amoni. La mostra que conté amoni s'alcalinitza. El gas amoníac alliberat i difós a través de la membrana difusora es recull en un canal portador, lleugerament àcid. Ampliació de la cel·la de mesura amb elèctrodes de configuració tubular. 1.-Peces de metacrilat; 2.- Cargols d'ajust; 3.- ISE tubular; 4.- Junta tòrica; 5.- Connexió FIA; 6.- Tubs FIA

2.8 METODOLOGIA D'AVVALUACIÓ

2.8.1 FONAMENTS DE LA TÈCNICA POTENCIOMÈTRICA

El funcionament bàsic d'un elèctrode potenciomètric d'estat sòlid es basa en la variació del potencial a la interfície de la membrana/dissolució degut a la interacció de l'analit amb l'element de reconeixement, que es troba formant part de la membrana. El potencial obtingut és proporcional al logaritme de l'activitat de l'ió segons la llei de Nernst (millorada per Nikolskii-Eisenman):

$$E = E_0 \pm \frac{0.059}{n_x} \log \left[a_x + \sum_y K_{xy}^{Pot} a_y^{\frac{n_x}{n_y}} \right]$$

on E és el potencial mesurat, E_0 el potencial estàndard i a_x l'activitat del ió principal al que és selectiu el sensor (x), a_y l'activitat del ió interferent, n_x la càrrega del ió principal, n_y la càrrega del ió interferent i K^{Pot} la constant de interferència entre el ió principal i el interferent. La membrana és doncs la responsable de la resposta del sensor i de la selectivitat de l'elèctrode. És important destacar que el potencial de l'elèctrode varia degut a canvis de l'activitat dels ions i no a variacions de concentracions. Aquesta és una de les principals fonts d'error en la mesura amb sensors doncs en la majoria de les aplicacions analítiques interessa conèixer la concentració de l'analit de la mostra i no pas l'activitat d'aquest. Per tal de relacionar concentració (C_{\pm}) i activitat (a_{\pm}), Davies ens proporciona una equació que inclou el

terme de coeficient d'activitat (γ_{\pm}), on $a_{\pm} = \gamma_{\pm} \cdot C_{\pm}$. Per tal de calcular el coeficient d'activitat s'han proposat diferents equacions algunes de les quals es poden observar a la Taula 2.2. Cal tenir present, però, que cap de les equacions descrites fins al moment ens permet calcular el coeficient d'activitat d'una manera definitiva, sobretot per a dissolucions concentrades [36].

Taula 2.2. Equacions per determinar el coeficient d'activitat derivades de la equació de Debye-Hückel així com l'equació per determinar la força iònica d'una dissolució.

Equació	Comentari
$\log \gamma_i = \frac{-A \times Z_i^2 \times \sqrt{I}}{1 + B \times a \times \sqrt{I}}$	<p>a és el radi de l'ió solvatat mesurat en angstroms; I és la força iònica del medi; A i B són paràmetres que depenen del medi (a 25°C i en aigua valen 0.512 i 0.329 respectivament). El valor de C' té en compte la interacció entre els ions i les molècules del dissolvent, essent millor per solucions més concentrades.</p>
$\log \gamma_i = \frac{-A \times Z_i^2 \times \sqrt{I}}{1 + B \times a \times \sqrt{I}} + (C' \times I)$	
$I = \frac{1}{2} \sum (C_i \times Z_i^2)$	<p>C_i i Z_i són la concentració i la càrrega de totes les espècies iòniques presents a la dissolució</p>

A l'hora de treballar amb elèctrodes potenciomètrics d'estat sòlid, s'han de tenir clares quines són les perspectives d'ús, les futures condicions de treball i la naturalesa de les mostres a analitzar. Aquests tres paràmetres determinaran el grau d'exigència i, per tant, quina és la tolerància en les característiques de resposta del sensor així com la metodologia de treball a emprar per a analitzar les mostres.

2.8.2 CARACTERÍSTIQUES DE RESPOSTA D'ELÈCTRODES POTENCIOMÈTRICS

Tal i com s'ha comentat anteriorment, les característiques de resposta del sensor determinaran la seva utilitat. S'entén com a característiques importants la sensibilitat, el límit de detecció, el rang lineal de resposta, la selectivitat, el temps de resposta i el temps de vida [36-38]. Per a avaluar la resposta es van realitzar calibrats periòdics addicionant, a 25 ml d'una dissolució aquosa, volums coneguts de solucions de concentració coneguda, 0.01M, 0.1M i 1M. La Figura 2.20 mostra una corba de calibratge teòrica en absència i presència d'interferents.

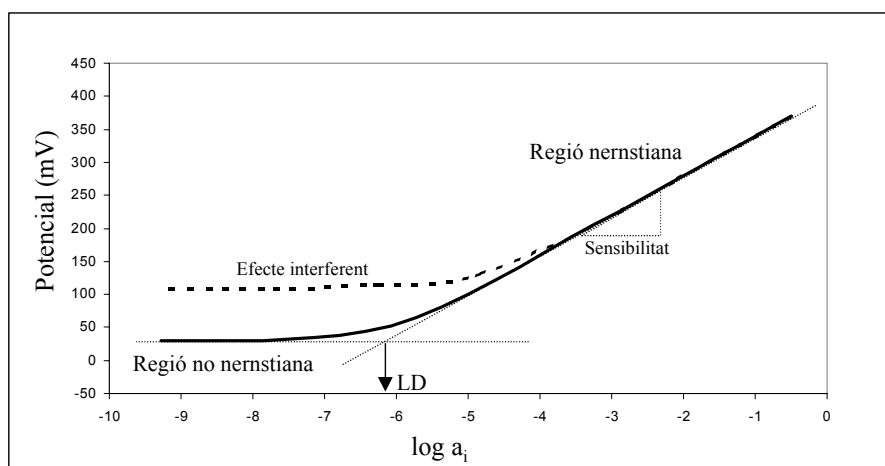


Figura 2.20. Exemple teòric de la resposta ideal d'un elèctrode potenciomètric. La corba representa la resposta descrita per Nickolsky-Eisenman. Diferents zones de la corba de calibratge i límit de detecció. Influència d'ions interferents.

- *Sensibilitat*
Coincideix amb el valor del pendent de la recta de la zona nernstiana o lineal obtinguda per mínims quadrats. Per un ió monovalent el valor teòric és de 59.16 mV/dec a 25°C.
- *Límit de detecció*
Segons les recomanacions de la IUPAC [39], es defineix com la concentració a la qual el potencial mesurat es desvia del potencial mitjà de la regió no nernstiana en un múltiple arbitrari de l'error estàndard. Experimentalment, aquest valor es pot obtenir de la interpolació de les rectes obtingudes en les dues zones del calibratge. El límit de detecció d'un sensor depèn de diversos factors, però són claus aquells que fan referència a l'aspecte i composició de la membrana. Per altre banda, el límit de detecció també depèn de la solubilitat del ionòfor en la membrana, doncs quan menor sigui la seva pèrdua cap a la dissolució exterior millor serà la resposta.
- *Rang lineal de resposta*
Interval de concentracions on es compleix la llei de Nernst i que coincideix amb la zona nernstiana o lineal. Aquest rang està limitat per dos valors extrems: el límit inferior de resposta lineal (LIRL) i el límit superior de resposta lineal (LSRL). Per tal de determinar aquest paràmetre amb precisió, cal treballar amb un elevat nombre de punts al llarg del calibratge. En aquest cas, el nombre d'addicions realitzades i per tant el nombre de punts obtinguts (durant la caracterització en batch) va ser de 26-30 punts.

- *Selectivitat*

Cap elèctrode selectiu a ions és totalment específic, sinó que la resposta és principalment deguda a un ió que anomenem principal. Coneixent els coeficients de selectivitat dels principals ions interferents i les seves concentracions, es pot saber quina és la contribució de l'interferent en l'equació millorada de Nernst. Quan més petit és el coeficient menys contribució interferent tindrem. Aquest paràmetre no és una constant i depèn de factors com ara la tècnica emprada per calcular-lo, la història de la membrana i l'activitat de l'ió interferent durant l'estudi.

Una forma de calcular experimentalment el coeficient de selectivitat és emprant el mètode de les solucions mesclades, que consisteix en mantenir (al llarg del calibratge de l'ió principal) una concentració de l'ió interferent constant. L'efecte que provoca un ió interferent en la resposta del sensor es pot observar en la Figura 2.20.

- *Temps de resposta*

La IUPAC defineix el temps de resposta per un sensor com l'interval de temps des de que l'elèctrode de treball i l'elèctrode de referència entren en contacte amb la solució fins el moment en què el potencial varia respecte el potencial estacionari en 1mV. Si tenim en compte que la relació entre potencial i activitat és logarítmica, l'error de 1mV no és el mateix pels diferents rang de activitats. Per aquest motiu, normalment s'estableix el temps de resposta de l'elèctrode com el temps necessari per assolir el 95% del potencial en l'estat estacionari.

El temps de resposta depèn de diferents factors relacionats tant en la forma de treball com en l'aspecte de la membrana. En general s'obtenen millors temps de resposta emprant membranes nítides i provocant canvis de concentracions de diluït cap a concentrat. La raó principal és que sobre la superfície de la membrana es produeixen fenòmens d'absorció i desabsorció que s'incrementen en membranes rugoses i que dificulten el rentat de la superfície en cas que la solució es dilueixi.

- *Temps de vida*

Es defineix el temps de vida del sensor com aquell temps en que el sensor treballa sense la pèrdua de les seves característiques de resposta. Aquest valor dependrà molt del tipus de sensor potenciomètric, de la naturalesa de la membrana, de l'ús del sensor, de les condicions de treball i de la seva conservació. Per tal de definir un temps de vida, s'observa la variació de paràmetres importants com la sensibilitat i el límit de detecció. Normalment, es considera una pèrdua inacceptable de la sensibilitat si el pendent de la zona nernstiana disminueix en un 20% del valor original.

2.8.3 METODOLOGIA DE TREBALL EMPRANT SENSORS POTENCIOMÈTRICS

Per tal de conèixer amb exactitud la concentració d'una mostra, cal escollir el mètode més eficaç per analitzar-la. Emprant sensors potenciomètrics d'estat sòlid es poden escollir formes diferents de treball: mesura directa, mètode d'addició estàndard o per valoració. Al llarg d'aquesta tesi s'han emprat les dues primeres i per tant es detallen breument.

- *Potenciometria directa*

Per tal de poder analitzar de forma directa una mostra cal que el sensor sigui lo suficientment selectiu a l'ió a analitzar. La matriu de la mostra i la dels patrons han de ser el més semblant possible, essent la única variable entre elles l'activitat de l'ió. El sensor es calibra emprant patrons d'activitat coneguda i la interpolació del potencial mesurat amb la mostra dona l'activitat (o concentració) d'aquesta.

Una forma d'automatitzar el procés d'anàlisi de mostres de forma directa és combinant la detecció potenciomètrica amb tècniques de flux continu, com el FIA. La conjugació d'ambdues tècniques presenta nombroses avantatges ja que la resposta dels elèctrodes és més ràpida, el límit de detecció inferior i es poden evitar problemes relacionats amb la estabilitat (deriva) de la mesura.

- *Addició estàndard*

La presència en la matriu de la mostra d'espècies, a part dels interferents, com proteïnes i lípids, pot afectar al comportament dels elèctrodes així com pot deteriorar la membrana o solubilitzar alguns dels seus components o influir de forma directa en el temps de vida del sensor.

Quan és molt difícil reproduir la matriu de la mostra, ja sigui per què no es coneix o per que és molt complexa, una forma d'analitzar la mostra és mitjançant l'addició estàndard. Inicialment, l'elèctrode de referència i el sensor es submergeixen en un volum conegut de mostra, anotant-se el potencial mesurat. S'addicionen petits volums d'un patró fins provocar variacions de 40mV per ions monovalents. La representació del valors (tal i com es mostra a la Figura 2.21) permet calcular per extrapolació la concentració de la mostra.

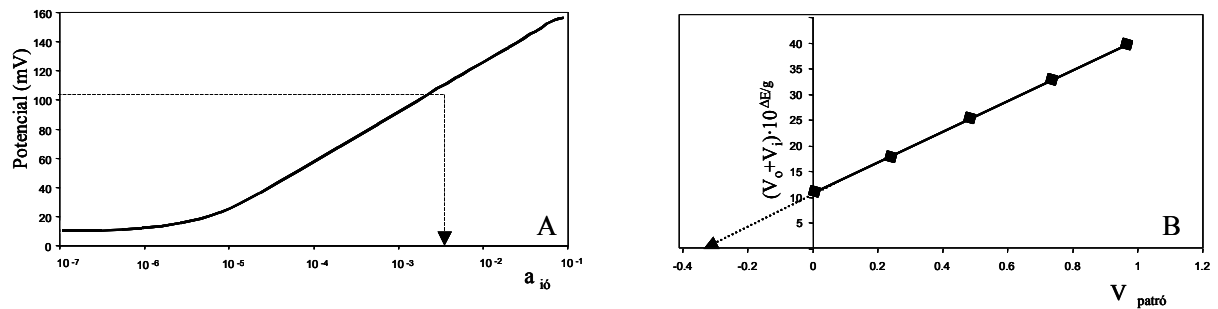


Figura 2.21. Determinació de la concentració d'una mostra emprant A.- potenciometria directa; B.- addició estàndard.

2.8.4 METODOLOGIA DE TREBALL PER L'ANÀLISI D'IDENTIFICADORS DEL GRAU DE MADURESA DE FRUITES

A partir de la fruita sencera es van realitzar les mesures de midó i textura [40-44]. Per tal de determinar el nivell de midó, es va tallar la fruita horitzontalment en dues parts. Una d'elles es va deixar en contacte amb una solució de iodur-iodat durant 5 min. Les parts amb un alt contingut de midó es coloren i l'índex de midó s'obté comparant els colors obtinguts amb els tabulats. Les mesures de textura es realitzen amb el penetròmetre i són proporcionals a la força que cal efectuar per clavar-lo en la fruita uns 5 cm.

Les mesures de sucre i d'acidesa total es van realitzar a partir del suc que s'obté d'agafar 2 axials de 20 exemplars de fruites (d'una mateixa varietat i tractament), els quals són triturats i filtrats. Part del suc s'emprà per mesurar el sucre, l'acidesa total així com el calci, potassi i nitrat. La resta es va deshidratar i es va analitzar en el Laboratori Agroalimentari de Cabrils (Cabrils, Barcelona). La determinació de l'acidesa total es realitzà per valoració potenciomètrica de 10 ml de suc amb NaOH 10^{-3} M, fins a un pH de 8.1. El contingut de sucre es determina mitjançant la mesura de l'índex de refracció (°Brix) del suc emprant un refractòmetre.

Les mesures es van realitzar durant el més de setembre i octubre de 1999, a La Tallada (Mas Badia, Girona) en pomes de les varietats Granny Smith, Smoothie i Fuji Chofu n°2. Per tal de millorar la fermesa del producte final i evitar l'aparició de Bitter Pit i altres malalties de conservació, es va alterar la composició del fertilitzant. Un total de 28 parcel·les de cultiu de poma Smoothie (7 tractaments amb 4 repeticions cada un) van ser estudiades.

2.8.5 MÈTODE KJELDAHL

Per tal d'analitzar els nitrats de les mostres de sòl així com per analitzar el contingut d'amoni d'aquelles mostres obtingudes de les trapes de gasos, es va realitzar un Kjeldahl [45].

Les mostres de sòl es van tractar de la següent forma: 15 g de terra seca i tamisada es van barrejar amb 50 ml d'aigua (agitació constant de 150 rev/min durant 30 minuts). Després de 15 minuts de repòs s'analitzà 25 ml del sobrenadant. Els nitrats i nitrats de la mostra es van reduir mitjançant l'addició de H_3SO_3 , MgO i Zn . L'amoniac resultant de la reducció es destil·là i es va recollir en 10 ml d'una solució d'àcid bòric que ja contenia l'indicador (barreja de vermell de metil i blau de metil). La dissolució es valorà amb àcid sulfúric 0.0025 M. La primera destil·lació d'amoniac correspon a la reducció de nitrats i un segon atac amb Zn ens permetrà reduir els nitrats.

Les mostres que provenen de les trapes de gasos varen ser analitzades, doncs l'amoni que contenen és proporcional al gas amoniac després del sòl (resultes de la hidròlisi de la urea). Alíquotes de la dissolució es van tractar amb un excés de base (NaOH concentrat). L'amoniac que s'allibera es va destil·lar i analitzà d'idèntica forma que la descrita anteriorment per les mostres de sòl.

2.9 BIBLIOGRAFIA

- [1] S. Alegret, J.Alonso, J. Bartrolí, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, J.M. Paulís. *Quim. Anal* 6 (1987) pp 278-283
- [2] E. Martínez-Fàbregas. *Sensors Potenciomètrics All-Solid-State d'amoní i la seva conversió en Biosensors d'urea (construcció, avaluació i aplicació)*. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona (1989)
- [3] S. Alegret, J.Alonso, J. Bartrolí, J.L.F.C. Lima, A.A.S.C. Machado, J.M. Paulís. *Anal. Lett.* 18 (1985) pp 2291-2295
- [4] S. Alegret, J. Bartrolí. *Membranes selectives d'ions per a dispositius potenciomètrics de control de processos químics*. Butll. Soc. Cat. Cièn. 9 (1989) pp 15 -19
- [5] C. Galán. *Desarrollo de sensores químicos y biosensores por tecnología Thick-film*. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona (1996)
- [6] C.A. Galán, J. Muñoz, C. Domínguez, S. Alegret. *Sensors Actuators B52* (1998) pp 275-263
- [7] M. Albareda-Sirvent, A. Merkoçi, S. Alegret. *Anal Chim. Acta* 442 (2001) pp 35-44
- [8] F. Céspedes, E. Martínez-Fàbregas, S. Alegret. *Trend in Anal. Chem.* Vol 15 (7) (1996) pp 296-304
- [9] F. Céspedes, S. Alegret. *Trend in Anal. Chim.* Vol 19 (4) (2000) pp 276-285
- [10] S. Solé, A. Merkoçi, S. Alegret. *Trend in Anal. Chim.* Vol 20 (2) (2001) pp 102-110
- [11] M. Santandreu, F. Céspedes, S. Alegret, E. Martínez-Fàbregas. *Anal. Chem.* Vol 69 (11) (1997) pp 2080-2085
- [12] F. Céspedes. *Biosensor de glucosa basado en un transductor amperométrico epoxy-grafito*. Treball de recerca. Universitat Autònoma de Barcelona, 1991
- [13] A. Bratov, N. Abramova, J. Muñoz, C. Domínguez, S. Alegret, J. Bartrolí. *Anal Chem* 67(19) (1995) pp 3589-3595
- [14] A. Beltran, J. Artigas, C. Jiménez, R. Mas, J. Bartrolí, J. Alonso. *Electroanalysis* 14 (3) (2002) pp 213-220
- [15] J. Sánchez, M. Del Valle. *Talanta* 54 (2001) pp 893-902
- [16] C. Puig-Lleixà, S. Ramírez, C. Jiménez, J. Bartrolí. *Anal. Chim. Acta* 386 (1996) pp 13-19
- [17] C. Puig-Lleixà, C. Jiménez, E. Fàbregas, J. Bartrolí. *Sensors Actuators B* 49 (1998) pp 211-216
- [18] J. Artigas, A. Beltran, C. Jiménez, J. Bartrolí, J. Alonso. *Anal. Chim. Acta* 426 (2001) 3-10
- [19] S. Alegret, J. Bartrolí, C. Jiménez, M. Valle, C. Domínguez, E. Cabruja, A. Merlos. *Electroanalysis* 3 (1991) pp 355-360
- [20] S. Alegret, J. Bartrolí, C. Jiménez, M. Valle, C. Domínguez, E. Cabruja, A. Merlos. *Electroanalysis* 3 (1991) pp 349-354
- [21] Campbell Scientific Inc. (<http://www.campbellsci.com>), 2003
- [22] Embrapa Instrumentação Agropecuária (<http://www.cnpdia.embrapa.br>), 2003
- [23] A. Torre-Neto, P.E. Cruvinel, J.F.W. Slaets, S. Crestana. *Applied Engineering in Agriculture* vol 13(1) (1997) pp 115-122

- [24] Gil S.A., (<http://www.gil.com.br>), 2002
- [25] P. Bergveld, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* BME-17 (1970) pp 70-75
- [26] J. Janata, R.J. Ruber. *Solid State Chemical Sensors*. Academic Press, Orlando, 1985
- [27] S.D. Moss, J. Janata, C.C. Johnson. *Anal Chem.* 47 (1975) pp 2238-2241
- [28] P.Hernández, S. Mínguez. *Dossier Techniques enologiques d'aujourd'hui.* 32-35
- [29] Comissió II:Enologia. ACE revista d'Enologia 3^{er} Trimestre (1996) pp 8-14
- [30] C. Jiménez, I. Marqués, J. Bartrolí. *Anal. Chem.* 68 (1996) pp 3801-3807
- [31] S. Alegret, J. Bartrolí, C. Jiménez, M. Del Valle, C. Domínguez, E. Cabruja, A. Merlos. *Electroanal.* 3 (1991) pp 349-354
- [32] Embrapa Pecuarià Sudeste (<http://www.embrapa.br>), 2003
- [33] S. Alegret, J.Alonso, J. Bartrolí, A.A.S.C. Machado, J.L.F.C. Lima, J.M. Paulís, *Quim. Anal.* 6 (1987) pp 278-292
- [34] I.M.P.L.O. Ferreira, J.L.F.C. Lima. *Anal.* 10(1) (1993) pp17-32
- [35] E. Barquero. *Disseny, construcció i avaluació d'analitzadors per a la monitorització mediambiental.* Universitat Autònoma de Barcelona, 2001
- [36] D. Diamond. *Principles of Chemical and Biological Sensors.* Willey, New York, 1998
- [37] P.C. Meier. *Anal. Chim. Acta* 136 (1982) pp 363-368
- [38] A.K. Covington. *Ion-Selective Electrode Methodology, Volume I.* CRC Press, Inc., Florida, 1979
- [39] IUPAC. *Recommendations of Nomenclature of Ion-Selective Electrodes.* Pergamon Press, Oxford, 1975
- [40] E.P. Yúfera. *Química Agrícola: Alimentos.* Alhambra Ed., Madrid, 1979
- [41] Ministerio de Agricultura y Alimentación. *Métodos oficiales de análisis*, tomo I. Ed. Secretaría General Técnica. Madrid, 1993
- [42] N.A. Turner, I.B. Ferguson, R.O. Sharples. *J. Agric. Research* 20 (1977) pp 525-529
- [43] W.J. Bramlage, S.A. Weis, M. Drake. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110(4) (1985) pp 493-496
- [44] R.G.Riley, P.E. Kolattukudy. *Hort. Science* 11(3) (1976) pp 249-253
- [45] Dahnke W.C. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 2(2) (1971) pp 73-85

DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

Capítol 3

DISCUSSIÓ GLOBAL DELS RESULTATS

Tal i com s'ha comentat en el capítol 1, l'ús de sensors químics ha experimentat un augment important en el control de processos industrials, en l'anàlisi clínic o en el camp mediambiental, degut principalment a las avantatges que ofereixen respecte les tècniques estàndards d'anàlisi. Alguns exemples en són la naturalesa del seu senyal, l'ús d'instrumental econòmic i fàcil d'emprar (per tal de realitzar les mesures així com per construir els sensors) o bé la versatilitat del disseny i de la configuració dels sensors (adaptables en tot moment a l'aplicació en concret) que donen lloc a equips portàtils, robustos i integrables en sistemes de flux. Cal destacar també, que l'ús de sensors ha permès pensar en la possibilitat d'obtenir informació en temps real i *in situ*.

Actualment, es comercialitza un gran nombre de sensors com a eines útils per millorar el control de processos industrials, per monitoritzar paràmetres d'interès ambiental o agroalimentari, per aprofundir en estudis a llarg temps i per controlar la qualitat de productes (com poden ser els del sector alimentari). Paral·lelament a l'increment en nombre de

fabricants i de tipus de sensors accessibles, s'ha incrementat també el nombre d'aplicacions i el nombre de mètodes de referència que inclouen l'ús d'aquests dispositius, essent els sensors potenciomètrics els més implantats.

Dins d'aquest context la comunitat científica resulta ser una peça clau a l'hora de plantejar i aprofundir en la recerca i el desenvolupament de nous tipus de sensors, essent el *Grup de Sensors i Biosensors* un grup amb una àmplia experiència i força consolidat en aquest camp. Les diferents línies d'investigació que s'hi estudien donen lloc a sensors de naturalesa tant diferents com els biosensors, genosensors, sensors òptics i sensors potenciomètrics. A l'hora, la integració d'aquests dispositius en sistemes de flux continu automatitzables, tipus FIA, que milloren la seva resposta i n'augmenten la seva robustesa ha donat lloc a analitzadors comercials pel control de la qualitat d'aigües superficials, com l'*Aquanitra*, l'*Aquamonia* o l'*Aquatens* (dissenyats conjuntament pel GSB i per ADASA SISTEMAS-AGBAR).

En aquest treball es planteja l'ús de sensors potenciomètrics per tal d'obtenir dispositius de mesura fàcils d'emprar, autònoms, de baix cost i instal·lables, a ser possible, *in situ*. Per aquest motiu, tant els detectors desenvolupats com la instrumentació associada s'han dissenyat per adaptar-se a aquests requisits, tenint molt present les particularitats de cada una de les aplicacions estudiades.

Tot i que els treballs tenen entre ells un fil conductor clar, el desenvolupament i l'aplicació de sensors tant pel control de processos de producció agrícola com pel control de l'impacte mediambiental derivat d'aquests, tots són a l'hora diferents, doncs cada un d'ells presenta una aplicació en concret. En el capítol 2 els treballs s'han agrupat en funció del tipus de sensor i de l'instrumental i material emprat. Per tant, en aquest capítol es plantejaran les aplicacions realitzades agrupades en els diferents articles que han donat lloc. La Figura 3.1 mostra un esquema de les línies generals dels treballs així com el fil conductor que existeix entre ells. Els treballs presentats a l'annex d'aquesta tesi són:

AI Development of a photopolymerisable membrane for calcium ion sensors. Applications to soil drainage waters.

Analytica Chimica Acta 426 (2001) 3-10

J. Artigas, A. Beltran, C. Jiménez, J. Bartrolí, J. Alonso

AII Application of Ion Sensitive Field Effect Transistors based sensors to soil analysis.

Computers and Electronics in Agriculture 31 (2001) 281-293

J. Artigas, A. Beltran, C. Jiménez, A. Baldi, R. Mas, C. Domínguez, J. Alonso

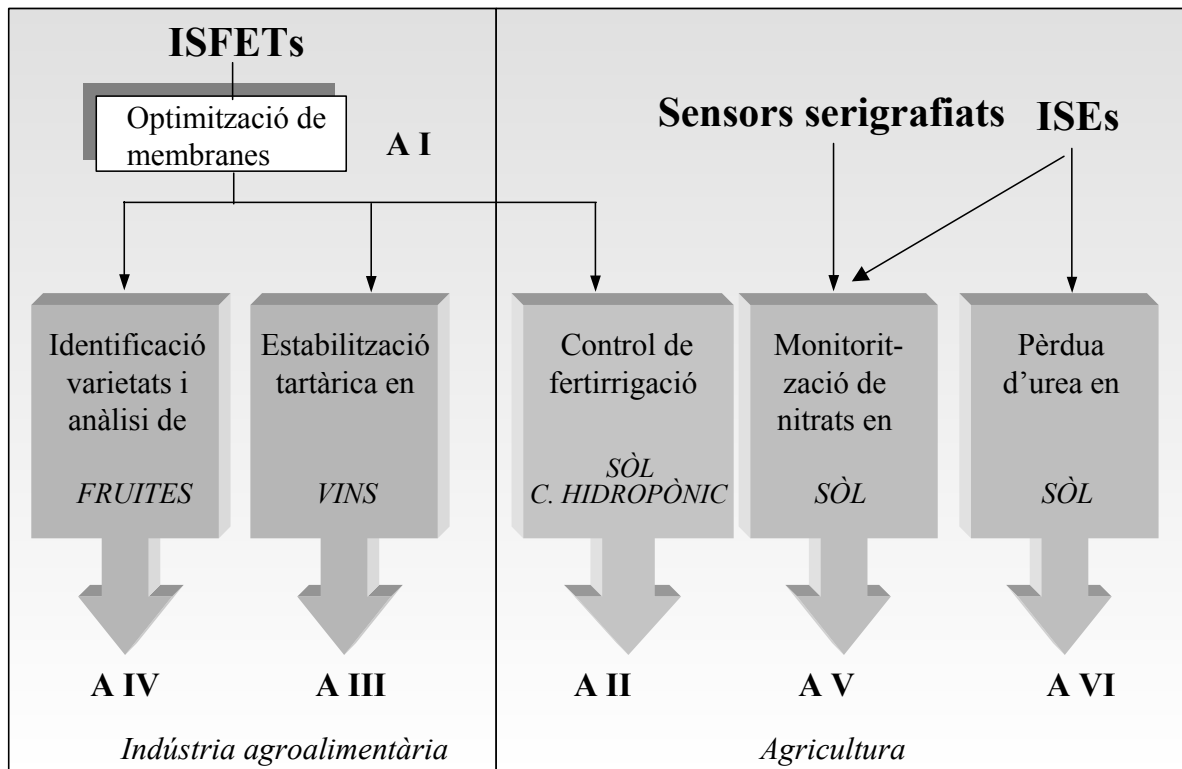


Figura 3.1: Esquema de les línies de treball i discussió dels resultats del capítol 3. AI, AII, AIII, AIV, AV, AVI corresponen a la nomenclatura dels articles referenciats en l'Annex d'aquesta memòria.

AIII Development of a multiparametric analyser based on ISFET sensors applied to process control in the wine industry.

Sensors and Actuators B89 (2003) 199-204

J. Artigas, C. Jiménez, C. Domínguez, S. Mínguez, A. Gonzalo, J. Alonso

AIV Analysis and identification of several apple varieties using ISFETs sensors.

Talanta 59/6 (2003) 1245-1252

J. Artigas, C. Jiménez, J. Alonso

AV Development of a screen-printed thick-film nitrate sensor based on a graphite-epoxy composite for agricultural applications.

Sensors and Actuators B88 (2003) 337-344

J. Artigas, C. Jiménez, S.G. Lemos, A.R.A. Nogueira, A. Torre-Neto, J. Alonso

AVI Anàlisi de la pèrdua de urea en sòl mitjançant la integració de sensors tubulars d'amoni en un sistema d'injecció en flux.

J. Artigas, A.R.A. Nogueira, J. Alonso

La discussió global dels resultats es divideix en els següents apartats:

- I. *Desenvolupament de sensors potenciomètrics d'estat sòlid de calci emprant membranes fotocurables.*
En aquest apartat es discuteix l'optimització d'una membrana de calci emprant polímers fotocurables. L'optimització es durà a terme, en primer lloc, emprant elèctrodes selectius d'ions i finalment es depositarà la membrana optimitzada sobre la superfície silanitzada d'un ISFET. S'avaluarà les característiques del sensor que s'emprarà en aplicacions posteriors.
- II. *Aplicació d'ISFETs pel control de processos de producció i processament agroalimentaris i el seu impacte mediambiental.*
Es descriuen les aplicacions dutes a terme amb ISFETs de calci, potassi, nitrats i pH per l'anàlisi de sòls i substrats inerts, pel control de processos de vinificació i per a la identificació i anàlisi de varietats de fruites.
- III. *Aplicació de sensors tipus ISEs i Serigrafiats per a usos agrícoles i mediambientals.*
Es descriu l'ús de sensors tipus ISEs i Serigrafiats de nitrats i urea per l'anàlisi de sòls. Es desenvoluparan sondes per ser instal·lades *in situ* així com es discutirà un mètode per a determinar la pèrdua d'urea del sòl.

3.1 DESENVOLUPAMENT DE SENSORS POTENCIOMÈTRICS D'ESTAT SÒLID DE CALCI EMPRANT MEMBRANES FOTOCURABLES

El calci és un catió important dins de moltes de les funcions dels organismes vius (participa en alguns sistemes enzimàtics com a cofactor, intervé en el control de la transmissió neuronal, en el metabolisme energètic o bé en la coagulació sanguínia). És per això, que els elèctrodes de calci han estat des de sempre un dels sensors més estudiats i emprats en l'anàlisi de mostres tant diferents com els fluids biològics, les aigües o bé el sòl. Treballs com el de Ross (1967) i el de Moody i Thomas (1974) [1-2] han derivat en elèctrodes comercials que es basen en membranes amb matriu polimèrica selectives a l'ió calci situades en l'extrem d'un cilindre que conté la dissolució de referència interna (CaCl_2 0.1M).

L'aparició d'elèctrodes selectius amb referència interna sòlida van oferir robustesa, miniaturització i la possibilitat d'obtenir diferents tipus de configuracions. En les últimes dècades, les membranes de PVC desenvolupades pels ISEs s'han dipositat sobre altres transductors com ara els ISFETs. Però la baixa adherència d'aquestes sobre la superfície de SiO_2 ha fet necessari l'estudi d'alternatives que solucionin aquest problema. La substitució del

PVC per polímers fotocurables és una de les alternatives amb més potencial degut a que aquest material permet dissenyar mètodes quasi-automatitzats de deposició de la membrana, compatibles amb la tecnologia microelectrònica de fabricació d'ISFETs.

Per tal de dissenyar una membrana (basada en una matriu polimèrica fotocurable) que tingués les característiques de resposta adequades (sensibilitat, selectivitat, baix nivell d'interferències, entre altres) es va optimitzar inicialment sobre els elèctrodes tipus ISEs fabricats en el GSB (degut a la facilitat d'obtenció d'aquests). A partir de la formulació escollida, es van depositar i estudiar les membranes sobre els ISFETs.

3.1.1 OPTIMITZACIÓ DE LA MEMBRANA EMPRANT SENSORS TIPUS ISEs

L'objectiu de l'optimització és aconseguir una membrana amb unes característiques idònies per l'aplicació que es vol fer. Com que, a la pràctica, és poc viable optimitzar la composició d'una membrana per a cada aplicació s'escull una d'idònia per a usos generals, en funció de diversos paràmetres mesurables de qualitat com ara la sensibilitat, el límit de detecció, el rang lineal, el rang de pH de treball, el temps de resposta, la selectivitat i el seu temps de vida.

Es van preparar i depositar (§2.2.1.2) membranes de diversa composició per tal d'avaluar la influència del tipus de plastificant així com de les proporcions relatives de polímer, plastificant i ionòfor en la membrana. En tots els casos, es van preparar tres sensors de cada un dels còctels sensors. Com a polímer es va emprar l'Ebecryl 270 (UCB), polímer diacrilat-poliuretà testat amb anterioritat en el *Grup de Sensors i Biosensors* pel desenvolupament de membranes de potassi, nitrat, amoni, monocloracetat i tensioactius aniònics, entre altres [3-14]. Com a ionòfor de calci es va emprar el bis-di(4-1,1,3,3-(tetrametilbutil)fenil)fosfonat, un ionòfor àmpliament utilitzat pel desenvolupament de sensors per aquest ió.

Per tal de caracteritzar la resposta dels sensors, es van realitzar calibratges seguint el procediment descrit en §2.8.2. En un inici, es va assajar diferents sals de calci així com diferents medis de calibratge. Els resultats preliminars van permetre concloure l'ús de CaCl_2 com a sal de calci (tal i com es podia preveure per la sèrie de Hofmeister els nitrats són més interferents que els clorurs) i Tris a pH 7.5 (0.01M) com a medi de calibratge. La Figura 3.2 mostra els resultats obtinguts.

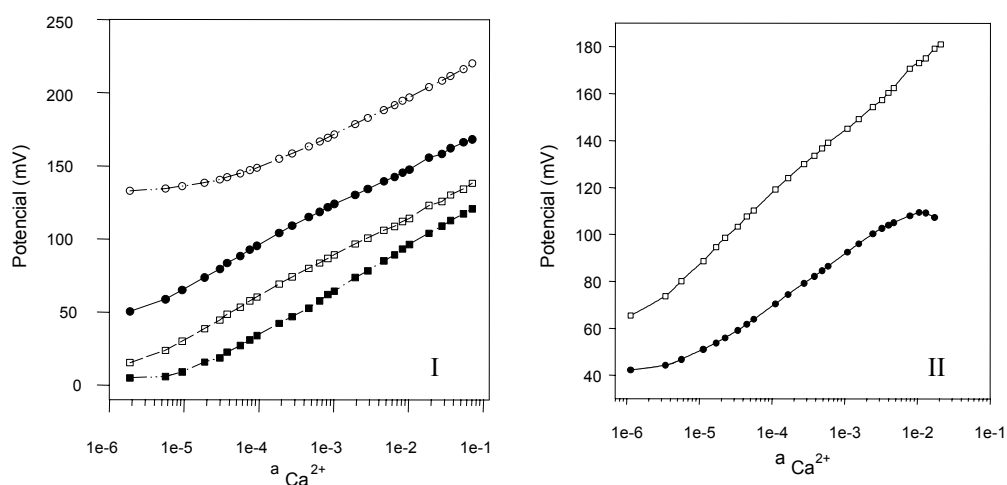


Figura 3.2: I.- Influència del medi de calibratge (○) Acetat sòdic 0.05M a pH 5.5, (●) Aigua destil·lada, (□) Tris 0.01M a pH 7.5 i (■) Borat 0.01M a pH 9.0, emprant CaCl_2 com a sal; II.- Influència de la sal de calci emprada (□) CaCl_2 i (●) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, en Tris 0.01M a pH 7.5.

- *Elecció del plastificant*

Donat l'alt percentatge de plastificant en la membrana i la seva influència en les propietats físiques i químiques d'aquesta, és imprescindible verificar la compatibilitat del plastificant amb el polímer fotocurable emprat així com amb el ionòfor. Es van assajar tres dels plastificants descrits en la literatura pel desenvolupament de membranes de calci amb matriu de PVC: el di-n-octilfenilfosfonat (DOPP), el tri-octilfosfonat (TOP) i l'orto-nitrofeniloxilèter (o-NPOE). La composició de les membranes (en % en pes) va ser d'un 36.5% de prepolímer, d'un 56.5% de plastificant, d'un 4.5% de ionòfor i d'un 2.5% de fotoiniciador.

Es va poder observar com les membranes amb DOPP i TOP fotopolimeritzaven adequadament mentre que les corresponents a o-NPOE no ho feien, tot i ser irradiades amb UV durant més temps. Això ens va permetre constatar que els grups nitro del plastificant o-NPOE inhibeixen la fotopolimerització [15]. Tot i no existir diferències significatives entre les sensibilitats dels sensors DOPP i TOP, es va observar que els sensors amb TOP presentaven un rang lineal de treball menor, pel que es va decidir optimitzar millor la composició de les membranes amb DOPP.

- *Estudi de la resposta vers la relació polímer/ plastificant/ ionòfor*

Un cop seleccionats els components de la membrana, es va estudiar i optimitzar la seva composició relativa. Així, es van determinar les característiques de resposta de sensors preparats amb membranes que contenien diferents proporcions de plastificant/polímer/ionòfor (Taula 3.1). Totes les membranes desenvolupades amb DOPP presentaven un aspecte

brillant, homogeni i sense problemes d'adherència al suport conductor excepte les membranes amb un 75.8% de plastificant (DOPP7) que presentaven un aspecte gelatinós i poc consistent. Aquest fet es deu a l'alt percentatge de plastificant, que dona a la membrana una consistència massa plàstica i dificulta la polimerització de l'oligòmer. Poques hores després de condicionar aquests sensors, van aparèixer esquerdes en les membranes DOPP7, impossibilitant el seu ús. La resta de les membranes van polimeritzar sense cap problema. S'estudià la sensibilitat i el rang lineal dels sensors durant tres setmanes per tal de decidir quina de les composicions presentava millors característiques de resposta. Les dades obtingudes es detallen a la Taula 3.1.

Es va observar que per percentatges baixos de plastificant, 25.7% (DOPP1), la resposta obtinguda era negativa, el que ens indica que a mesura que augmentem la concentració de CaCl_2 en la dissolució de calibratge el sensor respon a anions i no pas a cations. En aquest cas es pot observar l'efecte de la permselectivitat del polímer: predomina la resposta del polímer sobre la del ionòfor, donant lloc a una baixa selectivitat a calci i a una alta afinitat pels ions clorurs. Per percentatges superiors de plastificant la resposta dels sensors va ser positiva, tot i que la influència del polímer també era present en la membrana DOPP2. En aquest cas, l'efecte del polímer es reflexa en l'aparició de pendents subnernstianes. La Figura 3.3 permet observar la relació entre el contingut de polímer i la resposta dels sensors. Tant sols per continguts de plastificant al voltant de 57 – 69% (en pes) les respostes observades van ser nernstianes (entre 25-29 mV/dec).

Taula 3.1 : Composició (% en pes) i característiques de resposta dels sensors de calci emprant DOPP com a plastificant. Sensibilitat com a mitjana de n mesures. L'error es calcula amb un 95% de confiança.

COMPOSICIÓ DE LA MEMBRANA							
	DOPP1	DOPP2	DOPP3	DOPP4	DOPP5	DOPP6	DOPP7
Prepolímer	68.7	53.2	36.3	35.7	28.6	27.8	18.2
Plastificant	25.7	41.1	57.1	58.5	65.7	65.8	75.8
Fotoiniciador	2.0	2.2	2.2	2.4	2.1	2.1	2.4
Ionòfor	3.6	3.5	4.4	3.4	3.6	4.3	3.6
RESPOSTA DELS SENSORS							
Sensibilitat (mV/dec)	-13 ± 8 n = 6	12 ± 2 n = 6	26 ± 5 n = 57	29 ± 3 n = 18	21 ± 2 n = 12	27 ± 4 n = 48	-
Rang lineal (M)	$10^{-5} - 10^{-2}$	$10^{-5} - 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-2}$	$10^{-5} - 5 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-5} - 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-2}$	-

A l'hora, es va estudiar l'efecte de la proporció del ionòfor, relacionant la resposta de les membranes DOPP3-DOPP4 i DOPP5-DOPP6. Es va observar que les membranes amb un contingut de ionòfor al voltant de 4.3% (en pes) presentaven un rang lineal més ampli que les membranes amb un contingut de ionòfor al voltant d'un 3.5% (en pes).

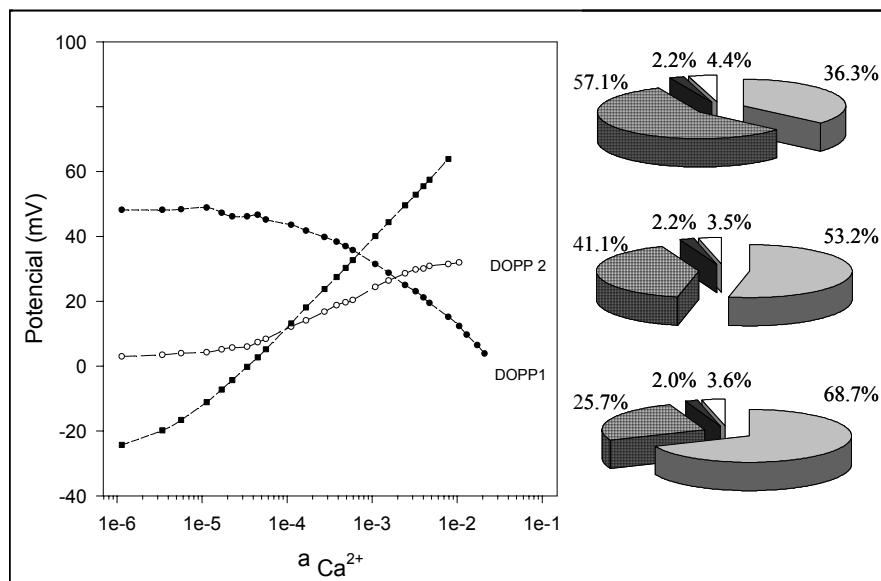


Figura 3.3: Resposta dels sensors de calci amb diferents composicions de membrana; percentatge de prepolímer, DOPP, Irgacure 651 i ionòfor.

Fins al moment, les millors característiques de resposta les oferien les membranes DOPP3 i DOPP6, membranes amb un contingut de plastificant comprès entre un 57-69% (en pes) i un contingut de ionòfor d'un 4.3% (en pes). Si més no, per tal d'optimitzar millor la composició de la membrana, es va fer un estudi més exhaustiu d'aquests elèctrodes avaluant l'efecte del pH i de diferents interferències, el temps de resposta i el temps de vida.

3.1.1.1 Influència del pH

La determinació del marge útil de pH en el qual es pot treballar amb les membranes és una característica important, atès que sovint les mostres a analitzar tenen pHs força diferents. L'estabilitat de la resposta enfront del pH s'avalua mitjançant els diagrames potencial/pH anomenats de Reilley. En aquest cas, les membranes DOPP3 i DOPP6 presentaven una estabilitat similar davant del pH. En tots els casos, les oscil·lacions del potencial no variaven en més de 2-4 mV al voltant del valor mig, en l'interval de pH comprès entre 3.5 i 9. Per a altes concentracions de H^+ així com per altes concentracions de OH^- apareix una alteració del senyal del sensor provocada tant per l'efecte interferent d'aquests ions com per la variació induïda de la força iònica de la dissolució.

3.1.1.2 Estudi d'interferències

Pensant en aplicacions futures, és important conèixer el grau d'interferència d'altres cations en la resposta subministrada per la membrana de calci. Per aquest motiu, es van determinar els

coeficient de selectivitat per a diferents cations mitjançant el mètode de les solucions mesclades. A la Taula 3.2 es mostren els valors mitjos dels coeficients de selectivitat (expressats com a $\log K^{\text{Pot}}$), obtinguts pels sensors DOPP3 i DOPP6, respecte a alguns dels cations més habitualment presents en mostres.

Donat que aquestes constants poden variar en funció de l'ús a que estan sotmeses les membranes i del temps de vida d'aquestes, es va estudiar l'evolució de les K^{Pot} amb el temps. Es va observar com transcorreguts 4-5 mesos d'ús continuat dels sensors, els coeficients de selectivitat obtinguts van ser del mateix ordre que a l'inici de l'experiment (Figura 3.4), confirmant l'estabilitat de les membranes i la limitada exsudació d'aquesta.

Taula 3.2 : Coeficients de selectivitat expressats com $\log K^{\text{Pot}}$ pels sensors DOPP3 i DOPP6. Cada valor correspon a la mitja de tres valors.

Ió interferent	M	DOPP3	DOPP6
K^+	0.1	-3.4	-3.4
Na^+	0.1	-3.1	-3.2
NH_4^+	0.1	-3.0	-3.2
Mg^{2+}	10^{-3}	-2.0	-1.4
Fe^{3+}	0.1	-3.0	-3.1
Al^{3+}	0.1	-1.5	-1.4
Zn^{2+}	0.1	-3.0	-3.0
Cu^{2+}	0.1	-1.6	-1.5
Mn^{2+}	0.1	-2.5	-2.6

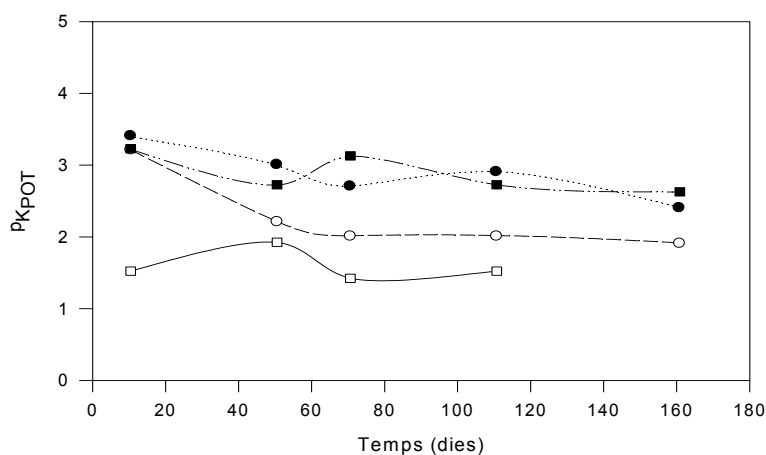


Figura 3.4: Evolució amb el temps dels coeficients de selectivitat pel sensor DOPP6; (●) potassi; (○) sodi; (■) amoni; (□) magnesi.

3.1.1.3 Temps de resposta dels sensors

El temps de resposta es defineix com el temps necessari per tal d'assolir un 90% de la resposta final estacionària quan es provoca un salt controlat de concentració. No es van observar diferències significatives entre els valors obtinguts respecte els sensors DOPP3 i DOPP6, oscil·lant en tots els casos en 1 minut.

3.1.1.4 Estudi del temps de vida

Una característica que cal destacar, en funció del tipus d'aplicació que es pretén donar al sensor desenvolupat, és el temps de vida. És important que les membranes desenvolupades siguin robustes i tinguin un temps de vida adequat per viabilitzar la seva aplicació en mesures contínues durant llargs períodes de temps. L'evolució de les dades de calibratge, sensibilitat i límit de detecció, permet obtenir informació sobre l'estat de la membrana. Una disminució del pendent de la recta de calibratge així com un augment del límit de detecció són símptomes de deteriorament de la qualitat de la resposta del sensor i limitaran el seu temps de vida. Per tal d'avaluar l'efecte que pot tenir la metodologia d'emmagatzematge dels sensors en el temps de vida, es van guardar uns sensors en sec i els altres en una solució 10^{-3} M de CaCl_2 . Els resultats obtinguts, al llarg dels més de 8 mesos que va durar l'estudi, no van demostrar diferències significatives entre els elèctrodes DOPP3 i DOPP6 així com no es van observar diferències pel fet d'emmagatzemar els elèctrodes en sec o en humit. A la Figura 3.5 es pot observar la variació de la sensibilitat i el límit de detecció per les tres unitats del sensor DOPP6.

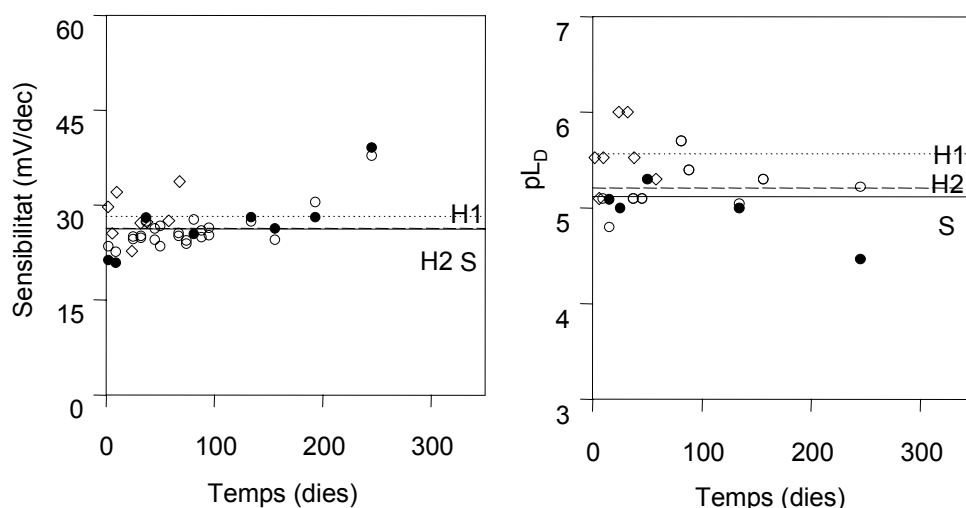


Figura 3.5: Evolució del valor de la sensibilitat i del límit de detecció per a tres unitats del sensor DOPP6 (○,◇) guardats en solució 10^{-3} M de CaCl_2 i (●) guardats en sec. H1 i H2 corresponen a les mitjanes pels elèctrodes guardats en humit i S per l'elèctrode guardat en sec.

3.1.2 CARACTERITZACIÓ DELS SENSORS TIPUS ISFETs DE CALCI

La deposició d'una mateixa membrana en dispositius de naturalesa diferent, com són els ISEs i els ISFETs, pot alterar lleugerament algunes de les característiques de resposta dels sensors. Paràmetres com el temps de resposta i el temps de vida poden veure's notablement afectats. Els gruixos de membranes deposades sobre dispositius tipus ISFETs són molt més petits que els obtinguts amb ISEs, alterant notablement el temps de resposta. La naturalesa diferent de la superfície de l'epoxy-grafit i la superfície silanitzada dels ISFETs, provoca que l'adherència en una o altre es degui principalment a raons físiques (rugositat) o químiques (enllaços covalents) fent possible alteracions en el temps de vida dels sensors. Per aquest motiu, tot i haver caracteritzat la resposta dels ISEs, amb les membranes, cal avaluar les característiques de resposta dels ISFETs (§2.2.3.1).

L'estudi amb ISEs no va permetre obtenir diferències significatives entre les membranes DOPP3 i DOPP6 de forma que ambdues es van depositar sobre ISFETs, caracteritzant-se tres unitats per membrana. La Figura 3.6 mostra calibratge emprant diferents medis iònics i sals de calci per un dels DOPP3-ISFETs. A l'igual que amb els ISEs, es va escollir el CaCl_2 com a sal de calci (doncs presentava una menor interferència respecte els nitrats) i el Tris a pH 7.5 (0.01M) com a medi iònic per tal de caracteritzar la resposta dels sensors.

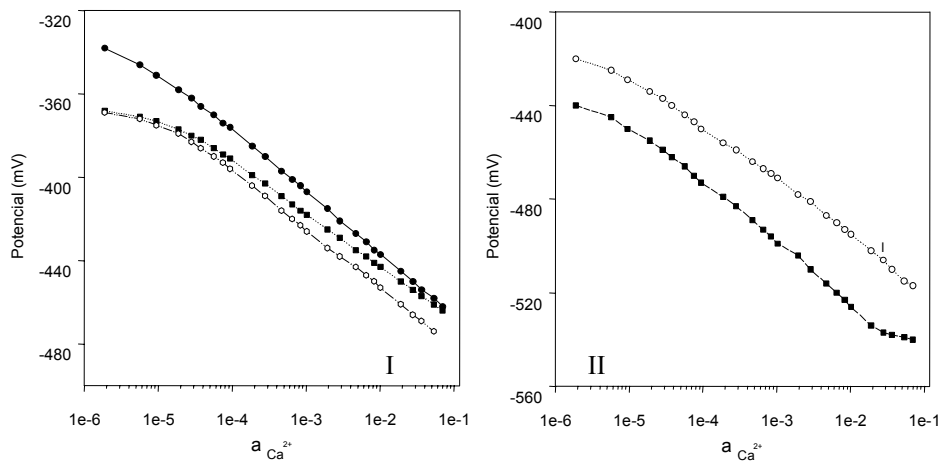


Figura 3.6: Resposta dels ISFETs per a determinar I) Influència del medi de calibratge (●) aigua, (○) Tris 0.01M a pH 7.5 (■) Borat 0.01M a pH 8.5. II) influència de la sal de calci (■) $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ i (○) CaCl_2 .

De l'estudi de les característiques de resposta (sensibilitat, rang lineal i límit de detecció) així com de l'estudi de la influència del pH i d'interferències es va concloure que no hi havien diferències significatives entre les dues membranes deposades sobre el nou transductor. Tampoc es van observar diferències entre els ISFETs emmagatzemats en sec o en humit.

L'única diferència observada va ser el temps de vida, essent molt superior l'obtingut amb la membrana amb un contingut major de prepolímer. Aquest fet permet suposar que la copolimerització del prepolímer amb els grups metacrilats de la superfície silanitzada dels ISFETs es la responsable de la major adherència. La Taula 3.3 mostra els paràmetres de resposta dels ISFETs.

Taula 3.3 : Característiques de resposta dels ISFETs DOPP3-ISFET i DOPP6-ISFET conservats en sec i dins d'una solució 10^{-3} M de CaCl_2 . Els errors s'expressen amb un 95 % de confiança i per n mesures.

	DOPP3-ISFET	DOPP6-ISFET
Sensibilitat (mV/dec)	-26 ± 1 (n=60)	-26 ± 1 (n=27)
Rang lineal (M)	$7 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-2}$	$9 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-2}$
pL_D	5.3 ± 0.1	5.1 ± 0.2
Rang de pH	3.5 - 10	4 - 9
Temps de vida (mesos)	9 - 10	3 - 4
Coeficients de selectivitat $\log K_{POT}$		
Ió	Concentració (M)	
K^+	0.1	-3.1
Na^+	0.1	-2.8
NH_4^+	0.1	-2.6
Mg^{2+}	10^{-3}	-1.9

3.2 APLICACIÓ DE SENSORS TIPUS ISFETs PEL CONTROL DE PROCESSOS DE PRODUCCIÓ I PROCESSAMENT AGROALIMENTARI I EL SEU IMPACTE MEDIAMBIENTAL

L'objectiu principal d'aquest subcapítol és desenvolupar dispositius sensors capaços de ser aplicables en el camp agroalimentari així com en l'estudi de l'impacte ambiental d'aquest tipus d'indústria. Per aquest motiu, ISFETs de pH, calci, potassi i nitrats (amb membranes fotocurables) van ser emprats en tres aplicacions lo suficientment diferents com per comprovar la versatilitat dels sensors. Les aplicacions van ser:

- 1 Aplicació d'ISFETs de pH, calci, potassi i nitrats en l'anàlisi de sòls i cultius inerts.
- 2 Aplicació d'ISFETs de pH, calci i potassi en la monitorització del procés d'estabilització tartàrica de vins.
- 3 Aplicació d'ISFETs de calci, potassi i nitrats en l'anàlisi i identificació de diverses varietats de fruites.

3.2.1 APLICACIÓ D'ISFETs EN SÒLS I MEDIS INERTS

Les noves tendències, tant en agricultura extensiva com en intensiva, estant generant la necessitat d'implantar nous mètodes d'anàlisi que garanteixin mesures ràpides, contínues, selectives i a poder ser *in situ*. En el cas concret d'anàlisi de sòls, les perspectives de futur s'encaminen cap a l'ús de sensors capaços d'establir o definir mapes de distribució i d'evolució dels nutrients essencials [16-20]. Igualment les noves tendències de futur en el disseny d'hivernacles també demanen l'ús de sensors, essent en aquest cas l'objectiu principal tenir millor controlat el procés global de fertilització [21-23].

Els ISFETs ofereixen uns avantatges que els fan atractius com a sistemes generadors d'informació. La seva resposta ràpid a la possibilitat d'automatitzar la deposició de la membrana i acoblar-la com un pas més de fabricació i la dràstica reducció del cost degut a la seva fabricació massiva en són un exemple. Per aquest motiu, es van testar ISFETs de pH, calci, potassi i nitrats en sòl i en medis inerts (turba i perlita).

3.2.1.1 Característiques de resposta dels sensors emprats

Membranes fotocurables de potassi i nitrats (optimitzades prèviament en el *Grup de Sensors i Biosensors* [3,7,8]) juntament amb membranes de calci van ser depositades sobre la superfície dels l'ISFETs (§2.2.3.1). La seva composició i les característiques de resposta dels ISFETs desenvolupats es mostren a la Taula 3.4.

Taula 3.4: Composició (% en pes) de les membranes fotocurables de calci, potassi i nitrats. Característiques de resposta dels ISFETs desenvolupats així com de l'ISFET de pH emprat.

Composició de les membranes							
	Calci		Potassi		Nitrats		pH
Prepolimer	Eb270/HDDA	38.4	Eb270/HDDA	48.4	Eb270/HDDA	34.7	-
Plastificant	DOPP	55.1	DOS	46.4	TOP	59.4	-
Fotoiniciador	Irgacure	2.4	Irgacure	2.3	Irgacure	2.0	-
Ionòfor	TMBPhPP	4.1	Valinom.	2.3	TOA	3.9	-
Additius	-		KTpClPhB	0.6	-		-
Característiques de resposta							
Sensib.(mV/dec)	-26.5		-55.7		62.6		54.1
Rang lineal (M)	$7 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-2}$		$7 \cdot 10^{-5} - 0.1$		$2.3 \cdot 10^{-5} - 6 \cdot 10^{-2}$		2-12
Límit detecció (M)	10^{-6}		$4 \cdot 10^{-5}$		10^{-6}		-
Rang de pH	3.5 - 10		3.5 - 8		2-11		-
Temps vida (mesos)	9 - 10		7		> 7		9

3.2.1.2 Elèctrode de referència

L'elèctrode de referència emprat fins al moment presenta una sèrie de desavantatges importants quan es pensa en aplicacions de sensors en camp com ara poca robustesa i un alt cost. El fet de tenir una dissolució de referència interna líquida, redueix la possibilitat de miniaturització de nous dissenys i implica un manteniment constant de l'elèctrode.

Per l'aplicació prevista, era necessari l'ús d'un elèctrode de referència amb un manteniment mínim (amb una freqüència superior a 15 dies) i que presentés una configuració la suficientment robusta, senzilla i econòmica com per integrar-lo en la cel·la de mesura desenvolupada. Es van estudiar diferents propostes tal com un fil de coure submergit en CuCl_2 , un fil de plata recobert amb AgCl , un fil de platí i l'ús d'un fil de coure. Va ser aquesta última la que es va escollir degut als resultats més que acceptables obtinguts així com la seva facilitat d'obtenció i baix cost.

El potencial que oferirà el fil de coure dependrà en gran part del potencial redox del sòl, el qual depèn de diferents factors com el pH i la temperatura, factors força estables en un sòl. En les condicions típiques del sòl, ambients humits i en presència de diòxid de carboni, les espècies termodinàmicament més estables són el Cu^{2+} , el CuO_2 i $\text{Cu}(\text{CO}_3)_2$, espècies que donen lloc al recobriment verdós/blavós del fil de coure enterrat. Aquest recobriment apareix al cap d'unes hores i estabilitza el potencial subministrat per l'elèctrode tot i que no és fins al cap de dos dies quan es pot considerar aquest com a constant.

Es va fer un estudi comparatiu entre la resposta del fil de coure, amb la superfície polida, vers la d'un elèctrode comercial (ORION 90-00-02) tant en dissolució aquosa com en un sòl.

- Ambdós van ser introduïts en una dissolució aquosa de CuCl_2 0.1M i es va enregistrar el potencial mesurat (Figura 3.7-A). Es va observar que la deriva, després d'un temps d'estabilització d'unes 4-5 hores, va ser de 0.12 mV/h.
- Ambdós van ser enterrats en el sòl i es va enregistrar el potencial mesurat. Igualment es va observar la necessitat d'un període d'estabilització d'unes 2-3 hores (Figura 3.7-B). La deriva observada va ser de 0.4 mV/h

La deriva observada pot ser corregida. En el cas de les mesures en el sòl, l'augment del valor de deriva no es pot atribuir únicament al comportament del coure, doncs en aquestes condicions no es coneix si el ORION és un bon elèctrode de referència.

3.2.1.3 Avaluació de la resposta dels sensors en el sòl

Es va avaluar la resposta obtinguda amb els sensors quan aquests estaven inserits en el sòl i s'addicionaven dissolucions de l'analit de concentració diferent dels ions estudiats. Per aquest motiu es van enterrar els sensors, per separat, emprant la cel·la comentada en § 2.4. La Taula 3.5 mostra un recull del procediment emprat.

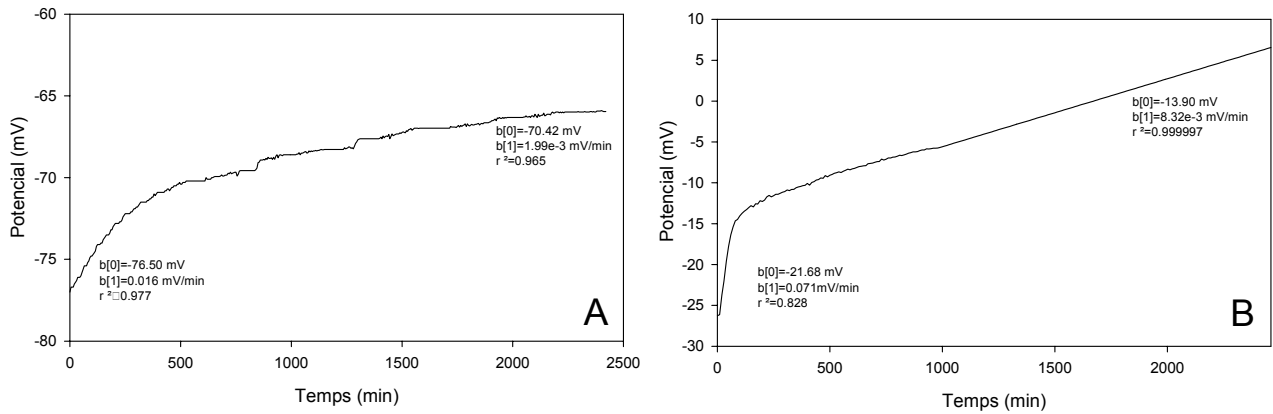


Figura 3.7: Evolució del potencial en el temps mesurat entre un fil de coure i un elèctrode ORION (amb referència externa 0.1M de KCl). A: dissolució 0.1M de CuCl₂; B: terra humida.

Es va observar en tots els casos que l'addició al sòl d'una dissolució de l'analit estudiat provocava un canvi coherent en el potencial mesurat el qual s'estabilitzava al cap de 30 – 40 minuts. A la Figura 3.8 es mostra un registre obtingut per l'ISFET de potassi on s'observa com l'addició d'aigua produeix un augment del potencial i l'addició de KNO₃ una disminució del potencial. El temps d'estabilització del senyal quan s'addiciona aigua és aproximadament de 30 minuts mentre que l'addició d'una solució concentrada provoca una estabilització més ràpida del senyal (menys de 10 minuts).

Taula 3.5: Procediment emprat per tal d'avaluar el correcte funcionament dels ISFETs en sòl .

	Calci	Potassi	Nitrats	pH
Calibratge extern	Cada matí els ISFETs es calibraven seguint metodologia exposada en § 2.7.2			
Inserció/Mesures/ Addició dissolució	Inserció dels ISFETs en el sòl durant 9 hores. Addició de 30-40 ml de dissolució en intervals de 3-4 hores.			
	- CaCl ₂ 0.1 M	- Aigua	- Aigua	- Fertilizant pH 8.2
	- Aigua	- KNO ₃ 0.1 M	- KNO ₃ 0.1 M	- Aigua
	- CaCl ₂ 0.1 M	- Aigua	- Aigua	- Tampó Tris 0.01M a pH 7.6
Extracció	Extracció i rentat amb aigua destil·lada per eliminar impureses que queden adherides a la porta i a les membranes			
Calibratge extern	Calibratge extern per avaluar l'efecte del medi en la resposta del sensor			

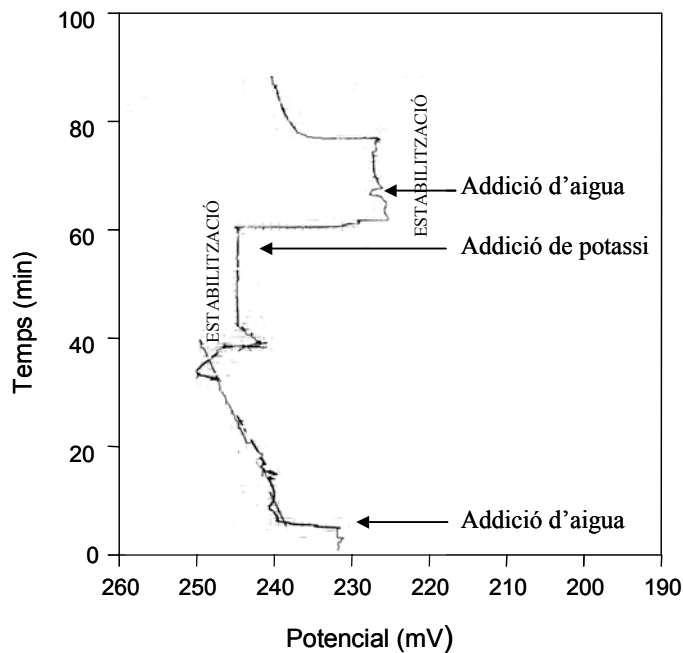


Figura 3.8: Resposta de l'ISFET de potassi en el terra durant la irrigació amb diferents dissolucions.

Finalment es van testar els 4 ISFETs simultàniament i es van addicionar 100 ml de les següents dissolucions (Figura 3.9): dissolució a pH 7 amb CaCl_2 10^{-3} M i KNO_3 10^{-5} M; dissolució a pH 7 amb CaCl_2 10^{-3} M i KNO_3 10^{-3} M; dissolució a pH 3 amb CaCl_2 0.1M i KNO_3 0.1M; NaOH pH 12; aigua.

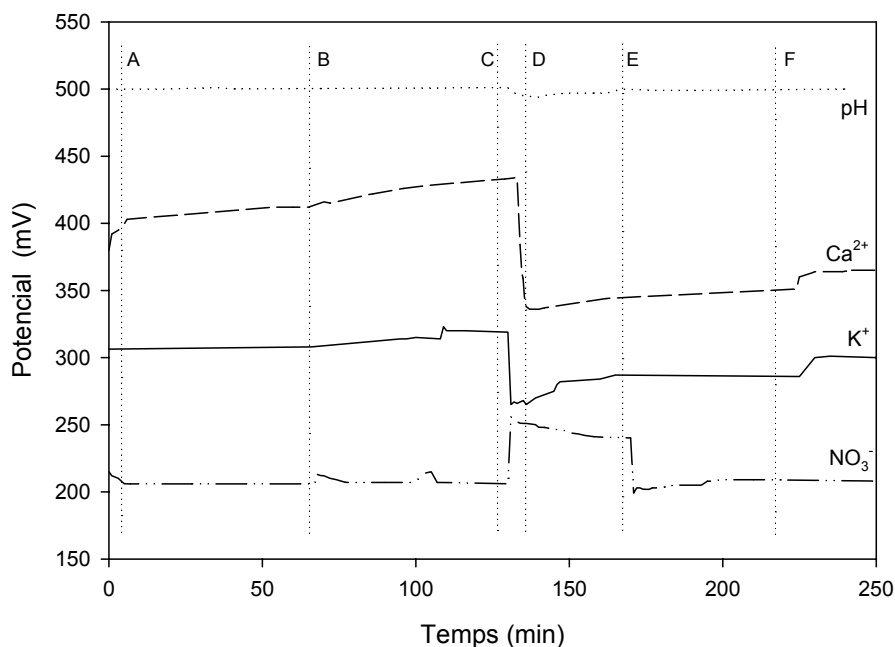


Figura 3.9: Resposta en terra dels ISFETs de calci, potassi, nitrats i pH durant l'addició de diverses dissolucions. A: dissolució a pH 7 amb CaCl_2 10^{-3} M i KNO_3 10^{-5} M; B: dissolució a pH 7 amb CaCl_2 10^{-3} M i KNO_3 10^{-3} M; C: dissolució a pH 3 amb CaCl_2 0.1M i KNO_3 0.1M; D: NaOH pH 12; E: aigua; F: aigua.

Els resultats obtinguts ens permeten observar:

- La resposta del sensor de pH no varia notablement tot i addicionar solucions de pH molt diferents. Aquest efecte es deu a la forta capacitat amortidora del sòl.
- L'addició de dissolucions de concentracions 10^{-3} M i 10^{-5} M de calci, potassi i nitrats no provoquen una variació important en la resposta dels sensors. Aquest efecte es deu a que la concentració de calci, potassi i nitrats del sòl emprat és superior a 10^{-3} M, doncs aquest ja havia estat fertilitzat amb anterioritat.
- L'addició d'una dissolució de concentració 0.1M, superior als nivells de calci, potassi i nitrats del sòl, provoca una variació notable i coherent del senyal, el que confirma la existència d'una bona relació entre la concentració de l'analit en el sòl i el senyal mesurat.
- L'addició d'aigua demostra la reversibilitat de la resposta dels sensors. El fet de que no hi hagi un retorn a la línia base inicial per tots els ions és degut a que el rentat amb 100 ml d'aigua no és del tot efectiu. S'observen diferències entre els cations estudiats: el rentat és més fàcil per ions nitrat (espècie més soluble) mentre que els ions potassi i en especial els ions calci queden fortament retinguts en el sòl (espècies més retingudes), essent necessari altres rentats amb aigua.

3.2.1.4 Estudi de la deriva del senyal dels ISFETs

La deriva és un dels problemes intrínsecs de tot tipus de sensor i, davant la possibilitat de realitzar mesures *in situ*, és important conèixer la magnitud d'aquesta per tal d'introduir les correccions oportunes en els programes d'adquisició i tractament de dades.

És conegut que els ISFETs presenten una deriva important durant les primeres hores de funcionament en dissolució aquosa però, després d'un determinat temps, aquesta disminueix i es fa constant, aproximadament 1mV/h. Per a avaluar la deriva dels ISFETs en el terra es va mesurar el potencial dels sensors durant 22 hores (emprant el fil de coure com elèctrode de referència).

Es va confirmar que, pel cas de l'ISFET de pH, la deriva inicial de les dues primeres hores era de 3 mV/h aproximadament i que després s'estabilitzava a 1mV/h. El temps d'estabilització de la deriva disminueix amb l'ús dels sensors, de forma que després de setmanes d'ús el temps disminueix de 2 hores a aproximadament de 15 minuts. La Figura 3.10 mostra la resposta d'un ISFET així com la resposta corregida d'aquest.

D'igual forma que amb l'ISFET de pH, s'estudià el senyal dels ISFETs de calci, potassi i nitrats. Tots van presentar una deriva positiva d'uns 3-5 mV/h durant les dues primeres hores de funcionament, tot i que posteriorment s'estabilitzava en 1-1.5mV/h. A diferència del pH,

que és un paràmetre més estable en terra, és difícil atribuir quina part del senyal correspon a la deriva o a la variació pròpia del medi. Per tant, es pot concloure que per a major autonomia dels sensors (menys freqüència de calibratge) es podria fer una correcció per software del potencial de sortida amb el temps corresponent a 1mV/h.

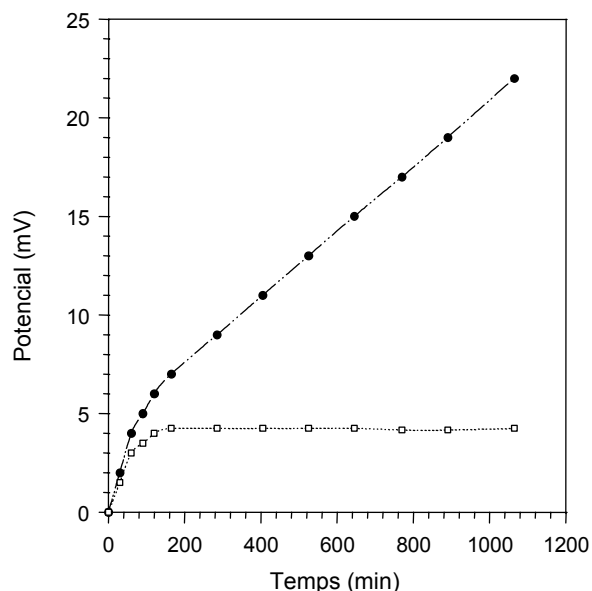


Figura 3.10: (●) Resposta de l'ISFET de pH i un fil de coure enterrat en el sòl durant 20 hores. (□) Resposta aplicant un factor de correcció de 1mV/h.

3.2.1.5 Estudi del temps de vida de les membranes en el sòl

Degut a que el sòl és un medi força agressiu, es va estudiar si aquest afectava, amb el temps, a la membrana i en conseqüència a la resposta dels sensors. L'evolució de la sensibilitat (calibratge) dels sensors i l'observació periòdica de l'aspecte de la membrana donen informació sobre l'estat d'aquesta. Tres sensors de calci, potassi, nitrats i pH van ser inserits al sòl, on van romandre durant dos mesos. Amb una freqüència de 12 h es mullava el sòl amb 30 – 40 ml d'una dissolució fertilitzant. Passades 6 h del rec, els sensors s'extreien i es calibraven externament.

Es va observar que durant els dos mesos d'estudi, la sensibilitat dels sensors de pH, calci i potassi era propera a la nernstiana (53 ± 1 mV/dec per l'ISFET de pH; -32 ± 4 mV/dec per l'ISFET de calci; -52 ± 2 mV/dec per l'ISFET de potassi). Aquests valors permeten confirmar el bon funcionament dels sensors i la no interacció del medi amb els components de la membrana. L'aspecte d'aquestes va ser bo, tot i que s'observà l'aparició de ratllades en les seves superfícies (possiblement degut a fregaments amb la cel·la), Figura 3.11. No es va observar el desprendiment de les membranes, el que indicava una bona adherència d'aquestes.

Els resultats amb les membranes de nitrat no van ser tant bons, doncs a partir de la tercera setmana d'estudi la sensibilitat va disminuir notablement respecte la sensibilitat inicial (62 ± 4 mV/dec), indicant la pèrdua de components de la membrana.

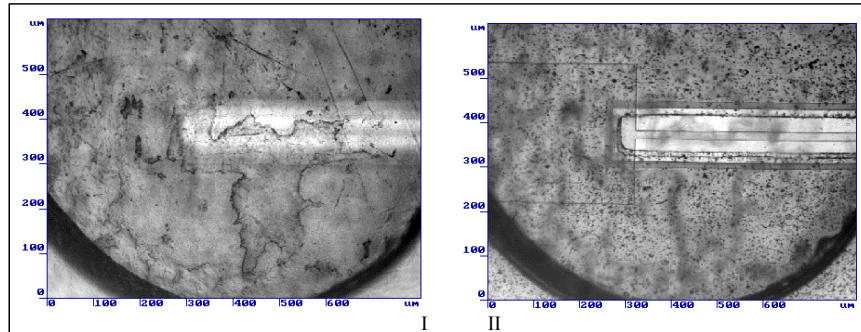


Figura 3.11: Fotografies on s'observa l'aspecte de les membranes (ratllades i restes de terra) I) Fotografia enfocant a la superfície de la membrana II) Fotografia enfocant a la porta de l'ISFET.

3.2.1.6 Anàlisi de mostres reals

Per tal d'avaluar l'efecte de la matriu, es van realitzar inicialment dos tipus de calibrats: els descrits en § 2.7.2 i calibrats utilitzant com a fons una mostra de sòl. L'objectiu d'aquest estudi era determinar si la matriu del sòl afectava al calibrat. Es va rentar un sòl amb aigua per tal de garantir que les concentracions de calci, potassi i nitrats eren menyspreables. A 12 g del sòl rentat i assecat, es van addicionar volums (0.01, 0.1, 0.5, 1 i 5 ml) de KNO_3 i CaCl_2 1M per tal d'obtenir 5 solucions de concentració coneguda i amb un fons que incorpora la matriu del sòl. No es van observar diferències significatives entre els calibrats realitzats amb els dos mètodes, senyalant que la interpolació de valors de potencial de mostres en ambdues rectes hauria de ser el mateix.

Es van analitzar mostres del cultiu de rosers. Aquests es regaven cada 3 dies amb un fertilitzant que contenia (per cada 2 l) 2.40g de nitrat d'amoní, 10.11g de nitrat potàssic, 1.84 g de sulfat de magnesi, 15.3 g de nitrat de calci, 200 μl d'àcid nítric concentrat, 170 μl d'àcid fosfòric, 20 ml de clorur de ferro (III) 0.1M i 1.5 ml de sulfat de zinc 0.1M. Després de calibrar els sensors i de situar-los en la cel·la, aquesta es va enterrar primer en terra i després en el substrat inert. Passats 40 minuts de la inserció de la cel·la amb els sensors es mesurà el potencial, per triplicat, en intervals de 5 minuts. Els valors s'interpolaven en la recta de calibrat i es realitzà una mitjana de les mesures obtingudes. Finalitzades les mesures en terra, la cel·la i els sensors es van rentar amb aigua i es situaven en el cultiu inert. Els resultats s'obtenen d'idèntica forma. Els valors s'exposen a la Taula 3.6.

Per tal de comparar els resultats obtinguts es van analitzar mostres del sòl i del substrat inert amb mètodes estàndards [24-26]. Totes les mesures es van realitzar per triplicat. Els mètodes clàssics emprats es detallen a continuació:

Mostres del sòl

- Per tal de mesurar el pH, 10 g de terra es varen dissoldre en 50 ml d'aigua destil·lada. La pasta resultant es deixava reposar unes tres o quatre hores abans de mesurar el pH amb un elèctrode de vidre.
- Per tal de mesurar el calci, es pesaven 10g de mostra i es realitzà una extracció amb 25ml de NH₄Cl 0.1M. La dissolució s'agità un parell d'hores i, finalment, es centrifugà a 2500 rpm durant 15 minuts. El sobrenadant es determinà complexiomètricament.
- Per tal de mesurar el potassi i els nitrats, s'obtenien mostres de la dissolució aquosa del sòl emprant una bomba (GILSON Minipuls3) que aspirà un mil·lilitre de dissolució aquosa. Aquest es va diluir en 50 ml i s'analitzà el potassi per espectroscòpia d'emissió atòmica (FES) i els nitrats per espectrofotometria. Per les mesures de potassi, les mostres es van guardar en vials de vidre a pH 2, amb àcid nítric i a la nevera. El blanc per fer les mesures d'absorció es realitzà amb aigua destil·lada a pH 2 i es guardà a la nevera igual temps que les mostres.

Mostres de substrat inert (25% perlita- 75% turba)

- Per tal de mesurar el pH, l'elèctrode de vidre era submergit directament en el cultiu.
- Per tal de mesurar el potassi i els nitrats s'operà d'identica forma que en el cas de les mostres de sòl. En aquest cas, l'anàlisi de la dissolució aspirada també inclou l'anàlisi complexiomètric de calci.

Taula 3.6a: Mitjanes dels resultats de pH obtinguts amb un 95% de confiança per l'anàlisi in situ amb l'ISFET de pH i l'elèctrode de vidre per mostres de terra i substrat inert (25%perlita-75% turba).

Data	Mesures en sòl		Mesures en substrat inert	
	ISFET	Elèctrode de Vidre	ISFET	Elèctrode de Vidre
4 - 6 - 97	6.1 ± 0.2	6.7 ± 0.4	5.3 ± 0.2	5.0 ± 0.1
9 - 6 - 97	5.8 ± 0.3	6.9 ± 0.3	6.49 ± 0.03	5.1 ± 0.1
13 - 6 - 97	7.00 ± 0.05	7.34 ± 0.07	6.5 ± 0.1	4.96 ± 0.03
16 - 6 - 97	6.79 ± 0.09	7.4 ± 0.1	6.55 ± 0.04	4.83 ± 0.04
18 - 6 - 97	6.27 ± 0.07	7.3 ± 0.2	5.2 ± 0.2	4.9 ± 0.2
Resultats estadístics	F _{calculada} = 1.5 F _{tabulada} = 9.605	t _{calculada} = 5.14 t _{tabulada} = 2.77	F _{calculada} = 6.9 F _{tabulada} = 9.605	t _{calculada} = 3.35 t _{tabulada} = 2.78

Taula 3.6b: Mitjanes dels resultats de calci obtinguts amb un 95% de confiança per l'anàlisi in situ amb l'ISFET de calci i per l'anàlisi complexiomètric de mostres de terra i substrat inert (25%perlita-75% turba).

Data	Mesures en sòl		Mesures en substrat inert	
	ISFET	M.Complexiomètrica	ISFET	M.Complexiomètrica
4 - 6 - 97	-	$1.97 \cdot 10^{-2} \pm 2 \cdot 10^{-4}$	$0.014 \pm 8 \cdot 10^{-3}$	0.0133 ± 10^{-4}
9 - 6 - 97	$1.26 \cdot 10^{-2} \pm 1 \cdot 10^{-4}$	$1.55 \cdot 10^{-2} \pm 3 \cdot 10^{-4}$	$1.4 \cdot 10^{-3} \pm 2 \cdot 10^{-4}$	$8.21 \cdot 10^{-3} \pm 6 \cdot 10^{-5}$
13 - 6 - 97	$3.9 \cdot 10^{-3} \pm 5 \cdot 10^{-4}$	$6.3 \cdot 10^{-3} \pm 6 \cdot 10^{-4}$	$2.48 \cdot 10^{-3} \pm 4 \cdot 10^{-5}$	$6.4 \cdot 10^{-3} \pm 10^{-4}$
16 - 6 - 97	$3.3 \cdot 10^{-3} \pm 6 \cdot 10^{-4}$	$7.4 \cdot 10^{-3} \pm 2 \cdot 10^{-4}$	$3.2 \cdot 10^{-3} \pm 10^{-4}$	$5.6 \cdot 10^{-3} \pm 5 \cdot 10^{-4}$
18 - 6 - 97	$1.3 \cdot 10^{-3} \pm 5 \cdot 10^{-4}$	$1.7 \cdot 10^{-3} \pm 4 \cdot 10^{-4}$	-	-
Resultats estadístics	$F_{\text{calculada}} = 1.29$ $F_{\text{tabulada}} = 15.44$	$t_{\text{calculada}} = 3.16$ $t_{\text{tabulada}} = 3.18$	$F_{\text{calculada}} = 2.97$ $F_{\text{tabulada}} = 15.44$	$t_{\text{calculada}} = 2.35$ $t_{\text{tabulada}} = 3.18$

Taula 3.6c: Mitjanes dels resultats de nitrats obtinguts amb un 95% de confiança per l'anàlisi in situ amb l'ISFET de nitrats i valors obtinguts de mostres de terra i substrat inert (25%perlita-75% turba) per espectrofotometria.

Data	Mesures en sòl		Mesures en substrat inert	
	ISFET	Espectrofotometria	ISFET	Espectrofotometria
4 - 6 - 97	$1.5 \cdot 10^{-2} \pm 5 \cdot 10^{-3}$	$2.4 \cdot 10^{-2}$	$4.1 \cdot 10^{-2} \pm 3 \cdot 10^{-3}$	$1.8 \cdot 10^{-2}$
9 - 6 - 97	$3.0 \cdot 10^{-2} \pm 4 \cdot 10^{-3}$	$3.1 \cdot 10^{-2}$	$2.7 \cdot 10^{-2} \pm 3 \cdot 10^{-3}$	$1.8 \cdot 10^{-2}$
13 - 6 - 97	$1.0 \cdot 10^{-2} \pm 5 \cdot 10^{-3}$	$3.0 \cdot 10^{-2}$	$3.2 \cdot 10^{-2} \pm 3 \cdot 10^{-3}$	$1.8 \cdot 10^{-2}$
18 - 6 - 97	$2.7 \cdot 10^{-2} \pm 5 \cdot 10^{-3}$	$1.8 \cdot 10^{-2}$	-	-
Resultats estadístics	$F_{\text{calculada}} = 2.50$ $F_{\text{tabulada}} = 15.44$	$t_{\text{calculada}} = 0.85$ $t_{\text{tabulada}} = 3.18$	$F_{\text{calculada}} (\sigma_{\text{spectr.}} = 0)$ $F_{\text{tabulada}} = 15.44$	$t_{\text{calculada}} = 3.74$ $t_{\text{tabulada}} = 4.3$

Taula 3.6d: Mitjanes dels resultats de potassi obtinguts amb un 95% de confiança per l'anàlisi in situ amb l'ISFET de potassi i valors obtinguts de mostres de terra i substrat inert (25%perlita-75% turba) per FES.

Data	Mesures en sòl		Mesures en substrat inert	
	ISFET	FES	ISFET	FES
4 - 6 - 97	$1.4 \cdot 10^{-2} \pm 8 \cdot 10^{-3}$	$3.9 \cdot 10^{-3}$	$9 \cdot 10^{-3} \pm 10^{-3}$	$6.6 \cdot 10^{-3}$
9 - 6 - 97	$1.0 \cdot 10^{-2} \pm 8 \cdot 10^{-3}$	$5.6 \cdot 10^{-3}$	$1.4 \cdot 10^{-2} \pm 10^{-3}$	$5.9 \cdot 10^{-3}$
13 - 6 - 97	$3.8 \cdot 10^{-2} \pm 8 \cdot 10^{-3}$	$6.5 \cdot 10^{-3}$	$3.3 \cdot 10^{-2} \pm 3 \cdot 10^{-3}$	$6.1 \cdot 10^{-3}$
16 - 6 - 97	$1.4 \cdot 10^{-2} \pm 7 \cdot 10^{-3}$	$5.6 \cdot 10^{-3}$	$1.6 \cdot 10^{-2} \pm 10^{-3}$	$5.9 \cdot 10^{-3}$
18 - 6 - 97	$4 \cdot 10^{-3} \pm 10^{-3}$	$4.7 \cdot 10^{-3}$	$8.0 \cdot 10^{-3} \pm 9 \cdot 10^{-4}$	$6.0 \cdot 10^{-3}$
Resultats estadístics	$F_{\text{calculada}} = 100$ $F_{\text{tabulada}} = 9.605$		$F_{\text{calculada}} > 100$ $F_{\text{tabulada}} = 9.605$	

Per tal de comparar les dades obtingudes es va realitzar el test t de les diferències o prova t per parelles així com el test de les variàncies, les dades del qual es detallen a cada taula. Les conclusions que s'obtenen de l'estudi són:

- I. El caràcter inert de la perlita no tampona el pH de la dissolució fertilitzant tal i com ho fa el sòl. Tot i que el fertilitzant és àcid, el pH mesurat en el terra és pràcticament neutre mentre que el pH del cultiu hidropònic és lleugerament àcid (tant si el pH és mesurat amb l'ISFET com amb l'elèctrode de vidre). Tot i obtenir-se resultats del mateix ordre i amb exactituds comparables, tal i com demostra el test F, el test t de les diferències confirma que existeixen diferències significatives entre els resultats obtinguts amb l'ISFET i l'elèctrode de vidre. Aquesta diferència, que és més gran en el cas del sòl, pot ser deguda a que les mesures no es realitzen exactament en la mateixa mostra. En un cas es mesura directament la dissolució aquosa del sòl i en l'altre és mesura un extracte.
- II. El test F i t de les diferències confirma que no existeixen diferències significatives entre les exactituds i els resultats obtinguts per calci i nitrats amb els dos mètodes, tant pel cas de les mostres de sòl com de substrat inert. La bona correlació entre les dades obtingudes amb els ISFETs de calci i nitrats i les mesures obtingudes amb els mètodes estàndards ens confirma el bon funcionament dels sensors aplicats.
- III. Pel cas de les mesures amb potassi, el test F mostra que existeixen diferències significatives entre l'exactitud dels dos mètodes, amb el que és impossible aplicar el test t. Els resultats obtinguts amb els ISFETs són, per norma general, mitja dècada superior als obtinguts per FES.

Els resultats obtinguts amb ISFETs permeten confirmar la viabilitat d'emprar aquests sensors en l'anàlisi de sòls, essent possible l'obtenció d'informació vàlida de la concentració de la dissolució aquosa del sòl en temps real. Els resultats demostren l'enorme potencial d'aplicació d'aquests sensors per a la monitorització *in situ* i en continu de processos de fertilització.

3.2.2 APLICACIÓ D'ISFETs EN LA MONITORITZACIÓ DE PROCESSOS DE VINIFICACIÓ

Dins dels processos de vinificació, una etapa important és l'estabilització tartàrica dels vins. L'ús de resines d'intercanvi iònic per tal d'estabilitzar vins blanc o negres es presenta com una alternativa als processos clàssics de refredament, doncs permet l'automatització del procés tractant grans quantitats de vins en continu i en temps real. D'aquesta forma s'eliminen els desavantatges dels processos actuals, que no garanteixen l'estabilització total en les ampolles comercials, i a més requereixen d'una etapa final de filtració (que eleva el consum de temps i de personal). L'ús, però, de resines de bescanvi iònic va acompanyat d'una sèrie de normes que obliguen a un control major del procés. En concret, els vins que es tracten mitjançant resines han de mantenir el seu color original, no poden tenir concentracions d'anions majors de 10 mg/l, no poden tenir concentracions menors de cations metàl·lics de 300 mg/l i no poden rebaixar el pH final del vi per sota de 3.0 (essent la diferència màxima entre el vi original i el tractat de 0.3 unitats de pH) [27].

Degut a que els vins en brut es troben saturats en tartrats de potassi i calci principalment i que les resines emprades bescanvien principalment aquests cations per ions H^+ , els detectors més útils per controlar aquest procés són sensors de calci, potassi i pH. La Figura 3.12, mostra un esquema per implementar analitzadors en la línia de procés per tal de controlar la recirculació de les fraccions de vi (fins el punt òptim d'obtenció d'un vi estabilitzat) i detectar el punt de saturació d'ela resina.

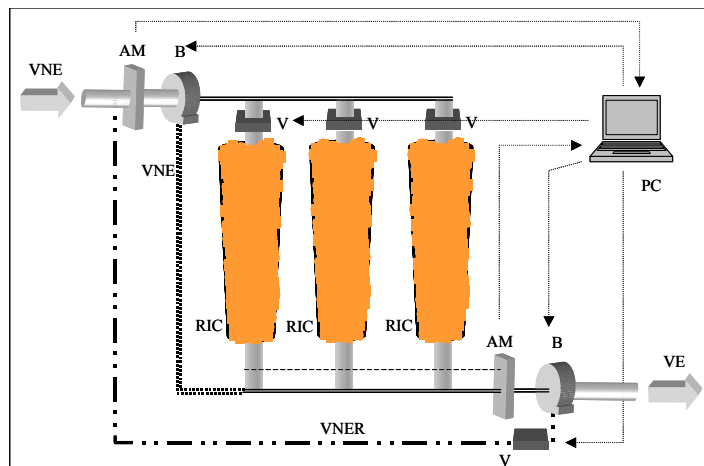


Figura 3.12: Disseny del muntatge a escala pilot del procés d'estabilització tartàrica de vins mitjançant resines d'intercanvi catiónic. **VNE:** Vi no estabilitzat; **AM:** Analitzador multiparamètric; **B:** Bomba; **V:** Vàlvula; **RIC:** Resina d'intercanvi catiónic; **VNER:** Vi no estabilitzat i recirculat; **VE:** Vi estabilitzat.

3.2.2.1 Estudi de l'efecte de la matriu

Un dels aspectes més crítics en aplicar els sensors en vins és comprovar que la matriu (sobretot l'etanol) no afecta a cap dels seus components. Per aquests motius, i sabent que el prepolímer base de les membranes i l'encapsulant és soluble en etanol abans d'irradiar-lo, es va avaluar si un medi hidroalcohòlic (saturat en bitartrat) afectava a les característiques de resposta dels sensors. Quatre unitats de cada sensor es van submergir en una dissolució al 15% d'alcohol etílic i saturada amb 1400 ppm de bitartrat potàssic, realitzant-se calibratges periòdics al llarg de set mesos, tal i com es detalla en § 2.8.2.

Pels ISFETs de pH, un estudi realitzat al llarg de set mesos demostrà que a partir del cinquè més els sensors començaven a tenir corrents de fuga elevades, degut a la degradació de l'encapsulat i a l'entrada de dissolució a la interfície encapsulant-ISFET. Malgrat tot, la sensibilitat es va mantenir estable durant els set mesos. Es pot establir, per tant, en cinc mesos el temps de vida dels sensors. La Figura 3.13 mostra l'evolució de la sensibilitat dels sensors avaluats en els primers dos-tres mesos de l'estudi.

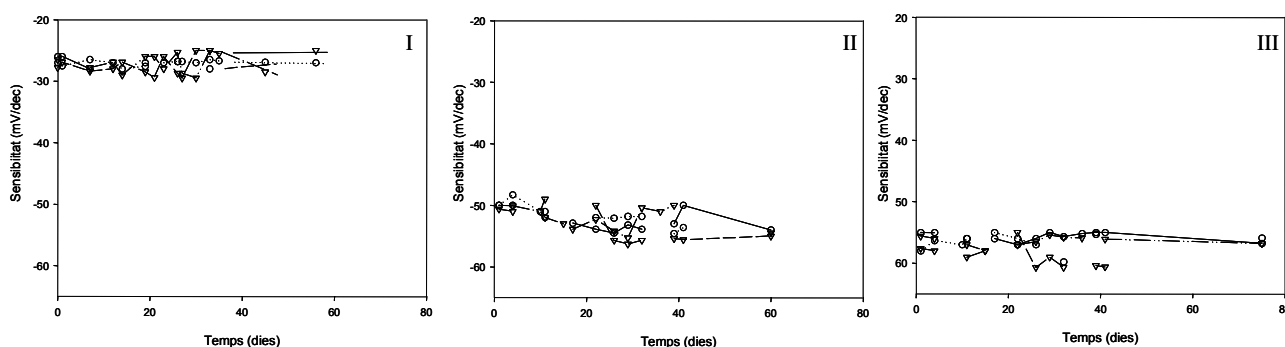


Figura 3.13: Evolució de la sensibilitat pels sensors de I.-calci, II.- potassi i III.- pH, conservats en una dissolució al 15% d'etanol i 1400 ppm de bitartrat potàssic.

3.2.2.2 Analitzadors de potassi, calci i pH en mostres discretes de vi

Per tal de verificar l'aplicabilitat del sistema multiparamètric en l'anàlisi automatitzada rutinària de mostres discretes de vins, es va emprar el sistema de flux descrit en § 2.5.2. Prèviament, es va escollir la dissolució condicionadora, el cabal i el volum d'injecció amb els que calia treballar.

Dissolució condicionadora

Els vins tenen una conductivitat de 900-1500 $\mu\text{S}/\text{cm}$, valors que oscil·len molt en funció de la varietat, l'edat i de si són vins blancs o negres. Per tal de no tenir problemes amb les diferències de conductivitat de les mostres així com tampoc entre patró/mostra, es va escollir una dissolució condicionadora d'una conductivitat 10 vegades superior a la de les mostres. Aquesta dissolució asseguraria també una bona conductivitat elèctrica entre l'elèctrode de referència i l'elèctrode de treball. Per tal d'escollir la sal a emprar, s'havia de mirar que el catió i l'anió que la formen siguin lo menys interferents possibles en les mesures de pH, calci i potassi. El sodi és un catió poc interferent pels tres casos i seguint la sèrie de Hofmeister l'anió menys interferent de tots és el SO_4^{2-} . Per tant, la sal escollida va ser el sulfat sòdic 0.33M (13000 $\mu\text{S}/\text{cm}$).

Cabal

El cabal és un paràmetre que, a l'igual que el volum d'injecció, influeix en la dispersió que pateix la mostra i afecta a l'alçada dels pics. Cabals petits provoquen dispersió gran doncs la mostra resideix durant més temps en el sistema. Cabals grans, però, provoquen que la mostra circuli molt ràpida donant lloc a poca interacció entre la mostra i el sensor. Es van avaluar diferents cabals (0.5, 1, 2, 3 ml/min) essent el millor de tots el de 0.5 ml/min.

Volum d'injecció

El volum d'injecció és un paràmetre clau que afecta molt al nivell de dispersió/dilució que pot patir la mostra en el sistema de flux i a més defineix el temps d'interacció d'aquesta amb l'elèctrode. En principi quan més gran sigui aquest volum més gran serà el senyal obtingut, però també es tindran temps d'anàlisi més grans degut a que el temps de rentat serà més gran. Es van avaluar volums d'injecció de 75, 100, 330, 500 i 750 μl essent l'escollit de 500 μl .

Després d'optimitzar els diferents paràmetres, es van realitzar calibrats dels elèctrodes per tal d'analitzar mostres de vins blancs i negres. A la Figura 3.14 es mostra un calibrat d'un ISFET de potassi. Tot i que el rang lineal de treball no és el més òptim, aquest inclou les concentracions típiques de les mostres a analitzar.

Part dels vins analitzats, tant per potenciometria com pels altres mètodes estàndards, van ser estabilitzats mitjançant el mètode tradicional de refredament. Les dades es detallen a la Taula 3.7. Es pot observar com les dades obtingudes amb els diferents mètodes, per un mateix analit, són del mateix ordre i no s'observen diferències entre vins estabilitzats o no. El test F va concloure que no existien diferències significatives entre les precisions dels mètodes i el test t que no existien diferències significatives entre les mesures realitzades amb mètodes diferents. Això confirma el bon funcionament dels sensors tipus ISFETs per l'anàlisi de vins.

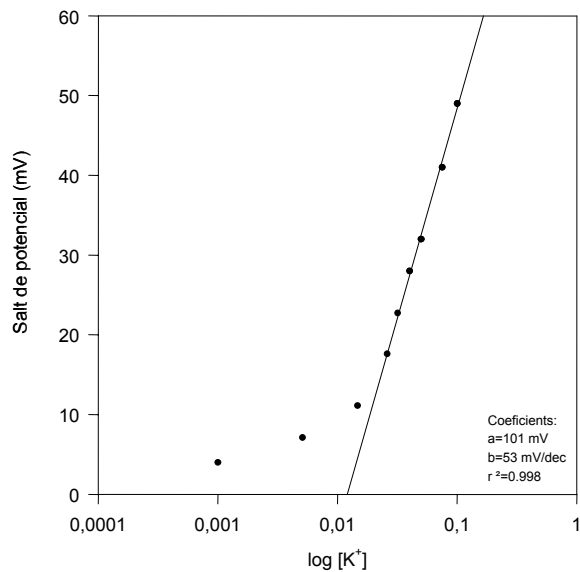


Figura 3.14: Corba de calibratge d'un ISFET de potassi. Dissolució condicionadora: sulfat sòdic 0.33 M; Cabal: 0.5 ml/min; Volum d'injecció: 500 µl.

Taula 3.7: Valors de pH, calci i potassi de diferents mostres de vi blanc (B) i negre (N) estabilitzats (VE) i sense estabilitzar (VNE). EV: Elèctrode de vidre; FES: Espectroscòpia d'emissió atòmica; AAS: Espectroscòpia d'absorció atòmica. Valors obtinguts al aplicar el test F i el test t de les diferències, per a un 95% de confiança.

	pH		K ⁺ (M)		Ca ²⁺ (M)	
	ISFET	EV	ISFET	FES	ISFET	AAS
B1NE	3.30	3.29	0.020	0.029	0.0030	0.0036
B2NE	3.23	3.15	0.015	0.026	0.0025	0.0023
B3E	3.24	3.16	0.009	0.025	0.0018	0.0016
B4E	2.94	2.99	0.008	0.024	0.0016	0.0021
N5E	3.66	3.69	0.031	0.044	0.0012	0.0023
N6E	4.21	4.09	0.024	0.036	0.0015	0.0016
N7NE	3.67	3.71	0.041	0.041	0.0013	0.0019
N8NE	3.88	3.91	0.063	0.061	0.0002	0.0004
N9E	3.59	3.57	0.026	0.040	0.0013	0.0019
Resultats estadístics	F _{calculada} : 1.050; F _{tabulada} : 3.179 t _{calculada} : 0.875; t _{tabulada} : 2.31		F _{calculada} : 2.078; F _{tabulada} : 3.179 t _{calculada} : 1.463; t _{tabulada} : 2.31		F _{calculada} : 1.100; F _{tabulada} : 3.179 t _{calculada} : 0.98; t _{tabulada} : 2.31	

3.2.2.3 Detecció del punt de saturació de la resina

L'objectiu principal d'aquest estudi és determinar el punt de saturació de les columnes emprades per estabilitzar el vi. Es van dissenyar i construir dues columnes, § 2.5.1, a través de les quals es va fer recircular vi fins saturar la resina. Aquest punt es determina pel canvi bruscat de la concentració d'ions del vi que elueix de la columna. Aquest canvi és detectat amb l'ús d'ISFETs de pH, calci i potassi (§ 2.5.2). La Figura 3.13 mostra un resultat teòric de la monitorització del pH del vi eluït al llarg del temps. Inicialment, el vi hauria de tenir la mateixa composició que el vi sense tractar, de forma que el seu pH hauria de ser, més o menys, de 3.3-3.5. Ràpidament s'hauria de produir un canvi bruscat en la composició del eluent degut a l'intercanvi de cations per protons, disminuint notablement el pH així com la concentració de metalls alcalins com sodi, calci o potassi. Finalment, la saturació de la resina hauria de provocar que no es bescanviïn més cations, essent el vi que elueix igual que el vi normal. Aquesta variació de les concentracions i el pH determinen el punt de saturació tot i que caldrà definir unes condicions per tal de quantificar-lo (doncs la saturació és gradual i no sobtada).

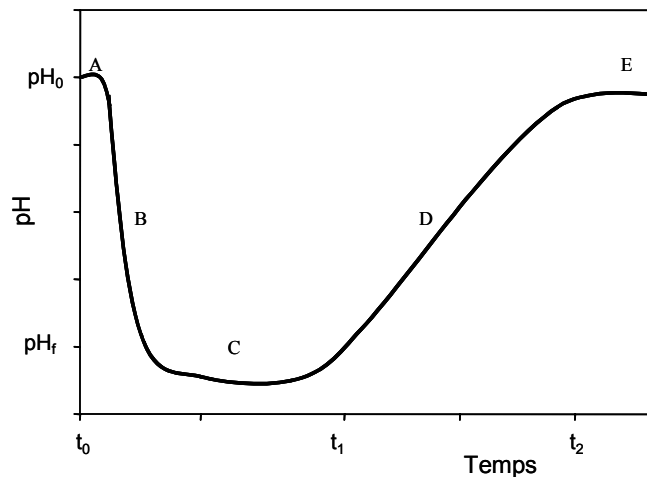


Figura 3.15: Corba teòrica d'evolució del pH amb el temps del vi que elueix de la columna. A: Elueix vi sense tractar; B: Inici del bescanvi de cations; C: Estabilitat del vi eluït; D: Saturació de la resina; E: Elueix vi sense tractar.

Prototip de laboratori: sistema de monitorització

A diferència de l'apartat anterior on l'interès principal és analitzar el contingut de certs ions en el vi, en aquest apartat es tracta de monitoritzar el comportament de la resina per tal de determinar el moment de regeneració d'aquesta. Per aquest motiu, es va pensar treballar en un sistema de flux molt més senzill (§2.5.2). Seqüencialment es van fer passar, cada tres minuts, mostres de vi pel sistema monocanal, corresponents a vi sense tractar (que l'emprarem com a línia base) i vi eluït de la columna (que emprarem per monitoritzar el comportament de la

resina). Tot i que el potencial mesurat per l'ISFET de calci i potassi responia coherentment al pas d'una o altra mostra es va observar una clara dependència, en ambdós casos, respecte al pH. Aquesta dependència es manifestava amb una certa deriva del senyal en passar el vi eluït (pH 2.5). La variació del senyal, molt més aguda en el cas de calci, es deu a l'efecte del pH sobre els sensors que tenen un rang de treball de pH òptim de entre 3.5 – 10. Per tal de minimitzar aquest efecte, es va treballar amb un sistema bicanal (que es detalla en § 2.6.1). La incorporació d'un canal addicional (tampó Tris 0.05M a pH 7.5), posterior a la mesura del pH, que ajusti el pH de la mostra (al voltant de 4) eliminava aquest efecte, tal i com mostra la Figura 3.16.

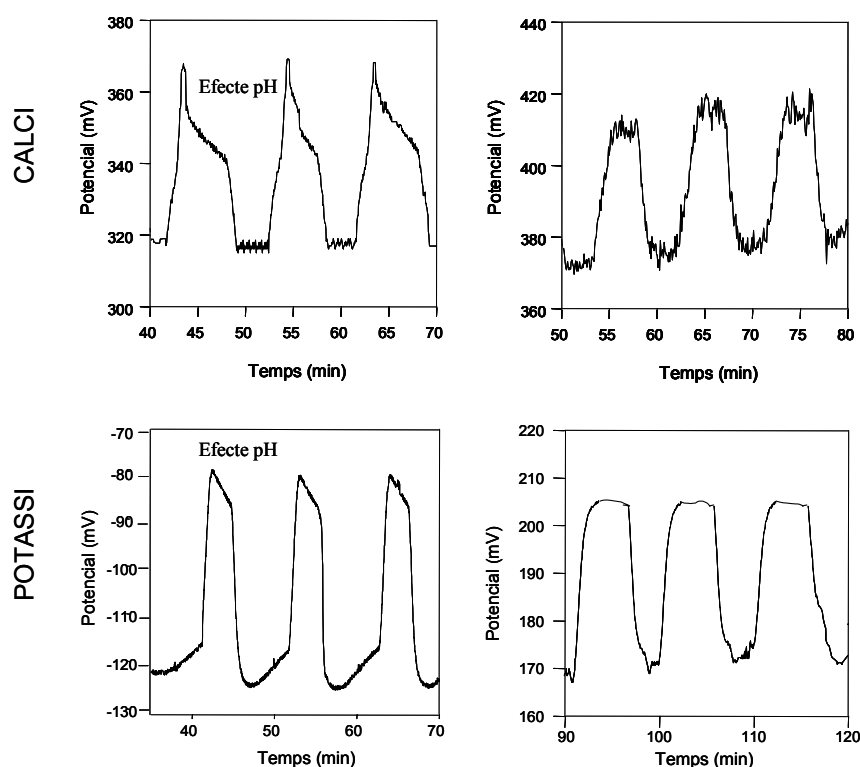


Figura 3.16: Efecte del pH en la mesura de calci i potassi. Correcció de l'efecte emprant Tris 0.05M a pH 7.5.

En el cas del pH, no es van observar cap fet singular. La Figura 3.17 mostra els resultats obtinguts pels tres sensors en el sistema de flux, on van ser necessaris més de 12 litres de vi per tal de saturar la columna.

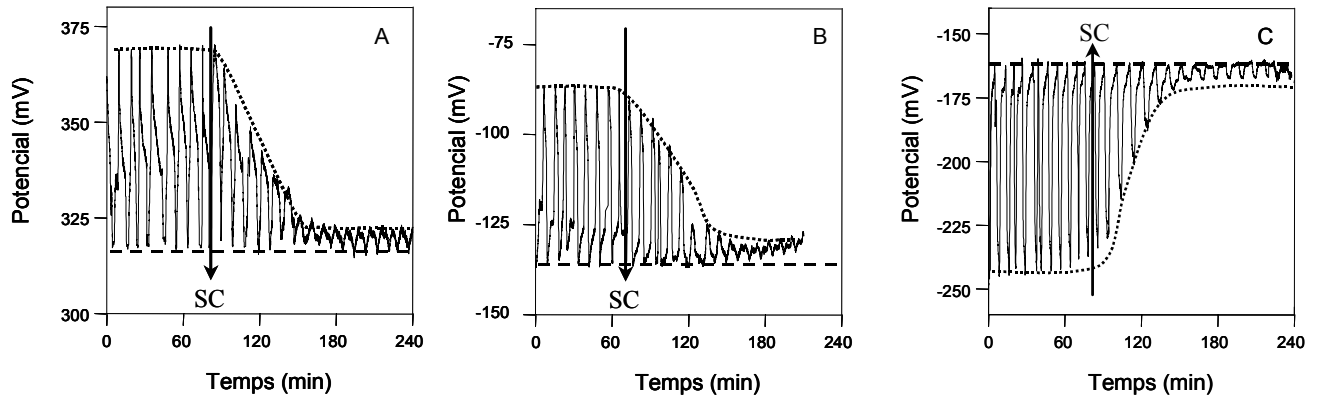


Figura 3.17: Resposta dels sensors en el sistema de flux. A: calci; B: potassi; C: pH per (---) el vi sense tractar i per (···) el vi que elueix de la columna. Detecció del punt de saturació de la columna (SC).

Prototip de planta pilot: sistema de monitorització

Per validar el funcionament del sistema en condicions reals, es va muntar una planta pilot a l'INCAVI emprant una columna d'acer inoxidable amb una capacitat 25 vegades superior a l'emprada al GSB. El volum necessari per saturar la resina va ser superior a 250 l. En aquest cas, la freqüència de pas de les mostres va ser de 2 minuts, passant vi normal i vi eluit pel sistema de flux bicanal. Al finalitzar la determinació de la saturació de la columna, es van passar dissolucions patrons (0.05M de CaCl_2 i KNO_3 a pH 4; 0.005M de CaCl_2 i KNO_3 a pH 7) per tal de calibrar els sensors i determinar la concentració dels diferents analits en el vi.

Les Figures 3.18 i 3.19 mostren els resultats obtinguts en un dels experiments. Es pot observar que el punt de saturació pels tres ions és semblant i es pot determinar amb certa exactitud. El calibratge final tenia com a objectiu conèixer l'eficàcia de la retenció de la columna. Els resultats van permetre concloure que la resina és més eficaç en la retenció del potassi doncs les concentracions d'aquest ió passen de ser $9.1 \cdot 10^{-3}$ M en el vi a $7.0 \cdot 10^{-5}$ M en el vi que elueix de la columna. L'existència de quasi 3 ordres de magnitud entre ambdues concentracions confirma la bona capacitat de retenció de la resina. En el cas del calci, aquesta retenció no és tant efectiva doncs el bescanvi de protons per calci es veu desplaçat pel bescanvi de protons per potassi, degut a les concentracions inicials de cada un dels ions. En concret, pel calci les concentracions disminueixen de $9.3 \cdot 10^{-4}$ M a $1.4 \cdot 10^{-4}$ M, una diferència de tant sols un ordre de magnitud.

Finalment, el pH del vi eluit (pH de 2.2 mesurat amb l'ISFET i de 2.18 mesurat amb l'elèctrode de vidre) era més àcid respecte el del vi normal (pH de 3.2 mesurat amb l'ISFET i de 3.27 mesurat amb l'elèctrode de vidre). Es va observar com les mesures realitzades amb ISFET o amb elèctrode de vidre donaven diferències de pH entre els vins normal i eluit d'una dècada de pH. Les sensibilitats dels elèctrodes de calci, potassi i pH van ser de -29, -33 i 49 mV/dec respectivament. Tot i que els valors del pendent d'aquests són lleugerament inferiors

als teòrics són força acceptables després d'estar treballant en condicions extremes durant més de 8 hores. A més, en aquest cas no cal tenir una gran precisió de la mesura per tal de poder monitoritzar el comportament de la resina, essent els valors obtinguts força acceptables.

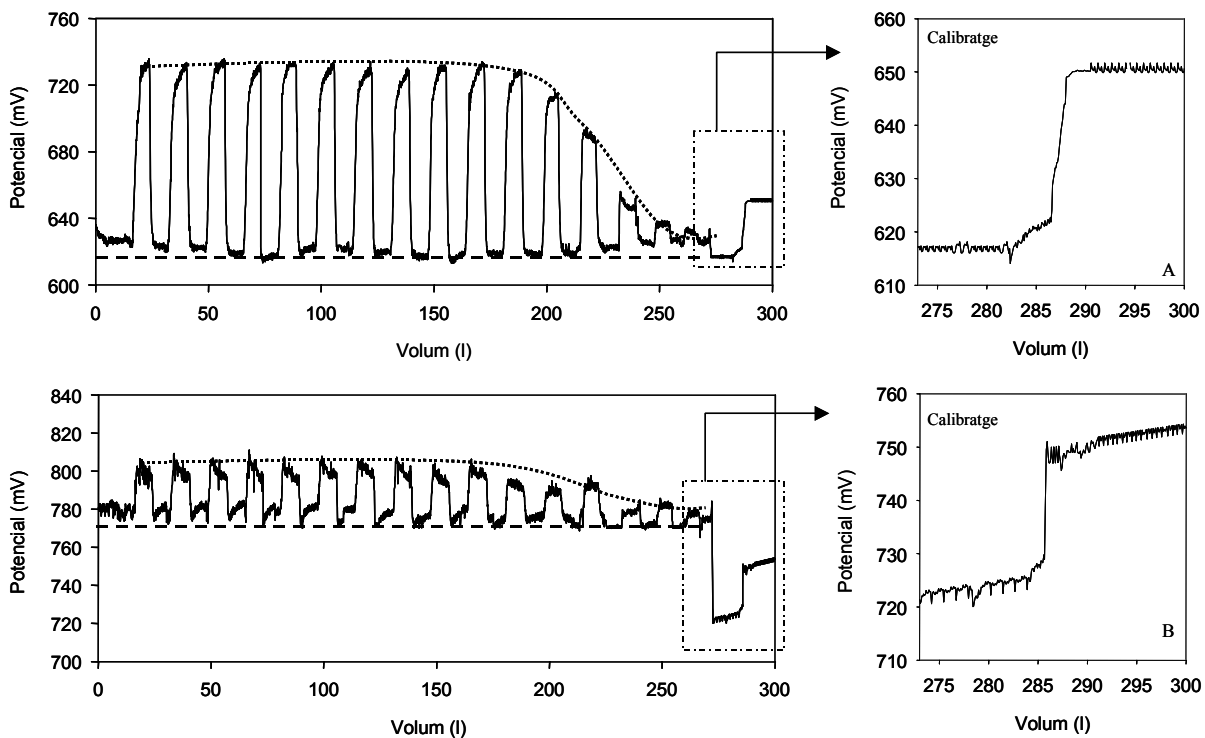


Figura 3.18: Resultats obtinguts al monitoritzar potassi (A) i calci (B) del vi (---) sense tractar i (···) l'eluit de la columna. Al final de l'experiència es van calibrar els ISFETs fent passar dues dissolucions de concentració 0.05M de $\text{CaCl}_2 / \text{KNO}_3$ i 0.005M de $\text{CaCl}_2 / \text{KNO}_3$.

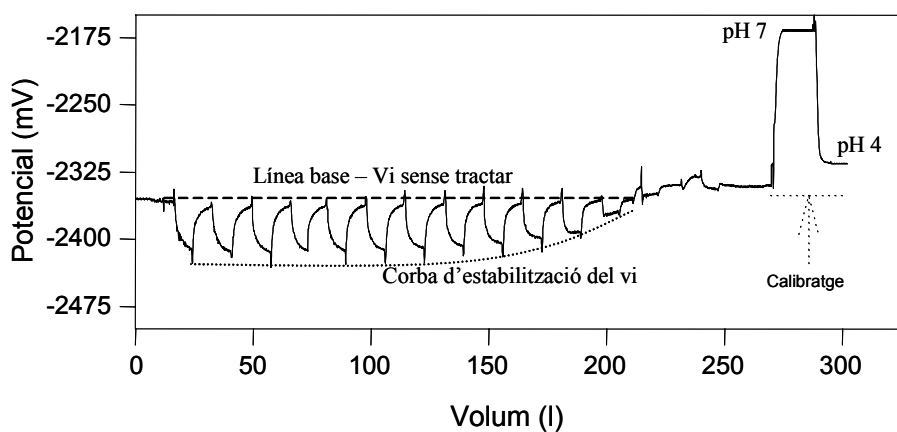


Figura 3.19: Monitorització, amb un ISFET de pH, del vi (---) sense tractar i (···) l'eluit de la columna. Al final de l'experiència es van calibrar l'ISFET fent passar dues dissolucions tampó de pH 7 i 4.

3.2.3 APLICACIÓ D'ISFETs EN L'ESTUDI I IDENTIFICACIÓ DE DIFERENTS VARIETATS DE FRUITES

Les diferents varietats de fruita es diferencien entre elles pel seu aspecte exterior així com pel seu valor nutricional. Aquests però, oscil·len molt dintre d'una mateixa varietat degut al grau de maduresa de la peça. El contingut de sucre i midó, l'acidesa i la fermesa, juntament amb altres paràmetres físics i químics, com el contingut de cert nutrients, determinen la maduresa de la fruita i, en conseqüència, el seu valor nutricional. Actualment, per tal de determinar el grau de maduració es realitzen mesures visuals (aspecte, color, olor, pes) en camp i l'anàlisi de sucre, midó, acidesa i fermesa en petits laboratoris [28-33], normalment dins de les finques d'explotació, que permeten obtenir més informació per establir el moment òptim de recol·lecció. La possibilitat de poder mesurar altres paràmetres (com calci o potassi) ajudarien a establir millor l'estat de maduració de la fruita.

L'objectiu principal de l'estudi va ser establir relacions amb les mesures realitzades amb els ISFETs (tant *in situ* com en el suc de les fruites) i els mètodes establerts com estàndards, per tal d'obtenir mètodes alternatius o complementaris de resposta ràpida que permetin seguir el procés de maduració així com la identificació varietal i nutricional de fruites.

En primer lloc, es va avaluar la possibilitat de realitzar mesures directament en fruites. Els ISFETs, juntament amb el fil de coure, es van inserir fins a una profunditat de 1 –1.2 cm de la superfície de 10 pomes de tres varietats diferents. Els resultats obtinguts es van comparar amb els trobats mesurant el suc (mètode addició estàndard, § 2.8.4) obtingut de les mateixes peces analitzades *in situ*. Les mitjanes de les mesures, així com les desviacions associades a aquests valors es mostren a la Taula 3.8. Es va establir que no existien diferències significatives entre les mesures que es van realitzar de forma directa en la fruita així com les que es van realitzar per addició estàndard a partir de l'anàlisi del suc.

Per tal de comprovar si els nivells d'ions mesurats *in situ* permeten identificar la varietat de pomes, ISFETs de potassi i nitrat, prèviament calibrats, es van clavar, juntament amb l'elèctrode de coure, a 10 pomes de les varietats Granny Smith, Smoothie i Fuji Chofu nº 2. Els valors obtinguts s'interpolaren en les rectes de calibratge realitzades amb anterioritat. La mesura permet obtenir la concentració dels ions lliures en la mateixa carn de la fruita. Els resultats obtinguts així com els de índex de sucre i midó de les 30 pomes analitzades es detallen a la Taula 3.9.

Taula 3.8: Mitjanes i desviacions estàndards (95% de confiança) de la concentració de nitrat i potassi obtinguts a partir de la mesura in situ dels ISFETs i a partir de l'anàlisi del suc per addició estàndard. Es van analitzar 10 pomes, a partir de les quals s'obté el suc, de cada varietat i es van realitzar n addicions estàndards. Valors del test F i t.

	<i>In situ</i>		<i>Addició estàndard</i>		<i>Estadística</i>	
	NO ₃ ⁻	K ⁺	NO ₃ ⁻	K ⁺	NO ₃ ⁻	K ⁺
Granny Smith	1.9·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁴ σ = 4.7·10 ⁻⁴ (n = 10)	3.2·10 ⁻² ± 5·10 ⁻³ σ = 7.3·10 ⁻³ (n = 10)	1.2·10 ⁻³ ± 5·10 ⁻⁴ σ = 3.3·10 ⁻⁴ (n = 4)	2.6·10 ⁻² ± 4·10 ⁻³ σ = 3.2·10 ⁻³ (n = 5)	F _{Calc} : 2.03 F _{Tab} : 14.47 T _{Calc} : 2.68 T _{Tab} : 2.18	F _{Calc} : 5.02 F _{Tab} : 8.90 T _{Calc} : 1.73 T _{Tab} : 2.14
Smoothie	5.1·10 ⁻⁴ ± 7·10 ⁻⁵ σ = 7.2·10 ⁻⁵ (n = 10)	1.6·10 ⁻² ± 3·10 ⁻³ σ = 4.1·10 ⁻³ (n = 10)	5.0·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁴ σ = 1·10 ⁻⁴ (n = 3)	1.7·10 ⁻² ± 2·10 ⁻³ σ = 1.0·10 ⁻³ (n = 3)	F _{Calc} : 1.927 F _{Tab} : 5.715 T _{Calc} : 0.17 T _{Tab} : 2.18	F _{Calc} : 16.81 F _{Tab} : 39.40 T _{Calc} : 0.38 T _{Tab} : 2.18
Fuji Chofu n°2	3.7·10 ⁻⁴ ± 6·10 ⁻⁵ σ = 9.4·10 ⁻⁵ (n = 10)		5·10 ⁻⁴ ± 1·10 ⁻⁴ σ = 9·10 ⁻⁵ (n = 4)		F _{Calc} : 1.09 F _{Tab} : 14.47 T _{Calc} : 2.16 T _{Tab} : 2.18	

Taula 3.9: Valors de l'índex de sucre (SC, °Brix) i midó (MD, índex de regressió del midó) per 10 fruites de les varietats Granny Smith, Smoothie i Fuji Chofu n°2. Concentracions (M) obtingudes amb ISFETs de nitrat i potassi in situ (1 – 1.2 cm de profunditat). Errors d'interpolació amb un 95% de confiança.

Granny Smith				Smoothie				Fuji Chofu n°2		
SC	MD	NO ₃ ⁻ (M)	K ⁺ (M)	SC	MD	NO ₃ ⁻ (M)	K ⁺ (M)	SC	MD	NO ₃ ⁻ (M)
13.6	5	2.7·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁴	0.01±0.008	17	6	1.01·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	0.011±0.008	16.4	9	3.7·10 ⁻⁴ ± 4·10 ⁻⁵
13	6	1.48·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	0.03±0.001	17.6	7	1.01·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	0.014±0.009	17	9	4.3·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵
12.4	5	1.48·10 ⁻³ ± 4·10 ⁻⁵	0.03±0.001	16.2	9	7.1·10 ⁻⁴ ± 7·10 ⁻⁵	0.014±0.008	15.8	10	3.8·10 ⁻⁴ ± 5·10 ⁻⁵
12.4	6	1.78·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	0.025±0.008	15.2	10	5.8·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵	0.013±0.008	17.2	10	2.9·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵
12	6	2.61·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	0.028±0.008	14	10	5.8·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵	0.015±0.008	18.2	9	4.3·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵
12.8	5	2.2·10 ⁻³ ± 2·10 ⁻⁴	0.026±0.008	16.8	9	4.2·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵	0.024±0.009	16.2	10	3.4·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵
12.2	5	1.5·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁴	-	17	8	4.6·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵	0.019±0.008	15.4	9	2.5·10 ⁻⁴ ± 4·10 ⁻⁵
11.8	6	1.55·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	-	15	10	4.6·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵	0.019±0.008	18.4	10	4.5·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵
13	6	1.77·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	0.039±0.008	15	8	6.0·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵	0.011±0.008	17.4	9	5.3·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵
11	6	1.90·10 ⁻³ ± 3·10 ⁻⁵	0.039±0.008	16	9	5.0·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵	0.018±0.008	16	9	2.3·10 ⁻⁴ ± 3·10 ⁻⁵

La representació radial de les dades normalitzades (veure Figura 3.20) permet observar diferències significatives entre les varietats, sobretot entre la varietat Granny Smith i les altres dues. Per observar millor si existien diferències significatives entre les varietats es va fer un anàlisi de components principals, PCA [34]. Aquest anàlisi es va dur a terme per les tres varietats emprant tant sols les variables sucre, midó i concentració de nitrats degut a la falta de valors de la concentració de potassi per la varietat Fuji Chofu n°2. La representació dels valors obtinguts es mostren a la Figura 3.21.

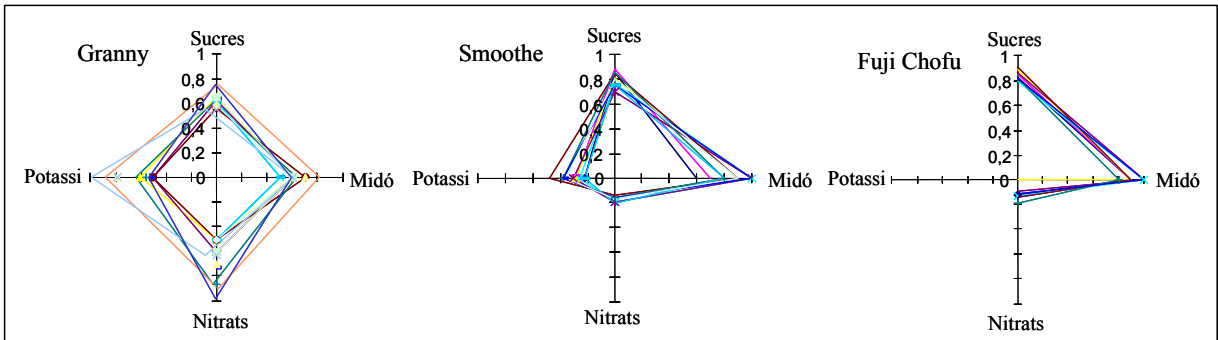


Figura 3.20: Representació dels valors normalitzats de sucre, midó, nitrat i potassi, per les varietats de pomes Granny Smith, Smoothee i Fuji Chofu n°2.

L'anàlisi factorial (tres components) va senyalar que les contribucions dels components principals 1, 2 i 3 a la variança total explicada van ser d'un 85.7%, 10.5% i 3.8% respectivament. Aquest fet ens permet concloure que la separació entre varietats és deguda principalment al component principal 1, tal i com també es pot observar a la Figura 3.21. De l'anàlisi de la matriu de components pel component principal 1 s'obté que el sucre té un coeficient de 0.889, el midó de 0.931 i els nitrats de -0.957 . Aquestes dades ens permeten observar que la contribució dels tres paràmetres és força similar conclouent que les tres variables participen per igual en la variable varietat. Per tal de millorar la discriminació entre varietats s'hauria d'augmentar el nombre de mostres, sobre tot per la varietat Fuji Chofu n°2 i Smoothee.

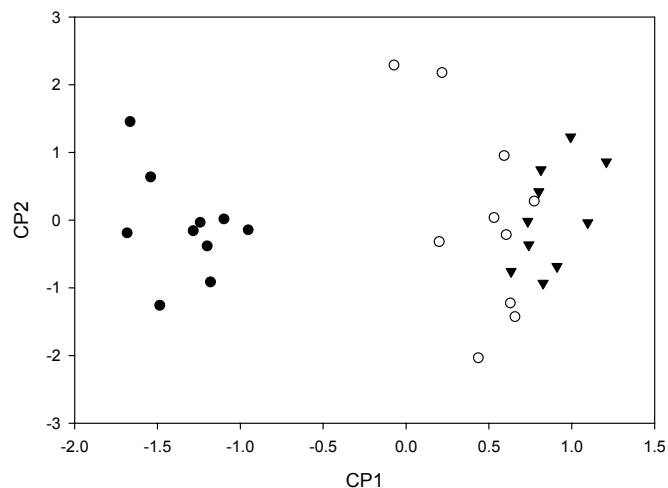


Figura 3.21: Resultats de l'anàlisi de components principals per les varietats (●) Granny Smith, (○) Smoothee i (▼) Fuji Chofu n°2.

Finalment, es van emprar els sensors com a eina per a la realització dels estudis agrònoms dirigits a la millora dels processos de producció en base a la composició dels fertilitzants emprats. La experiència pretenia establir una relació entre la composició del fertilitzant i la fermesa de les pomes de la varietat Smoothie. Un total de 28 parcel·les de pomers van ser tractades, entre el setembre de 1998 i l'agost de 1999, amb fertilitzants amb concentracions variables de calci. Es va analitzar el suc fresc de les pomes mitjançant addició estàndard (amb ISFETs de calci, potassi i nitrats) així com el suc deshidratat per mètodes estàndards en el Laboratori Agrícola de Cabrils. L'anàlisi per separat de les mostres va permetre comparar els resultats obtinguts per ambdós mètodes. També es van analitzar altres paràmetres com duresa, contingut de sucre i midó i acidesa total sense observar-se diferències significatives en funció del fertilitzant emprat. La Taula 3.10 recull les dades obtingudes.

Taula 3.10: Valors de fermesa, midó, sucre i acidesa total (A.T) pels diferents tractaments aplicats en els pomers de la varietat Smoothie. Les mesures són mitjanes de 4 valors i l'error s'expressa en un 95% de confiança.

Tractament	Aplicacions /dies	%CaO p/v	ml/hl per aplicació	Fermesa	Midó	Sucre	A.T.
1		testimoni		6.1 ± 0.3	8.4 ± 0.7	14.1±0.3	4.0 ± 0.4
2	7/15	17.36	1000	6.0 ± 0.2	8.2 ± 0.7	14.3±0.3	4.2 ± 0.6
3	13/10	17.36	1000	6.3 ± 0.3	8.2 ± 0.2	14.9±0.5	4.2 ± 0.5
4	7/15	43.00	500	5 ± 1	8.3 ± 0.3	14.9±0.6	4.3 ± 0.4
5	13/10	43.00	500	6.2 ± 0.6	8.2 ± 0.3	14.5±0.7	4.2 ± 0.7
6	7/15	43.00	1000	6.2 ± 0.9	8.3 ± 0.8	14.4±0.9	4.0 ± 0.6
7	13/10	43.00	1000	6.1 ± 0.9	8.1 ± 0.5	15 ± 1	4.1 ± 0.4

Fermesa: Kg; **Midó:** Índex de regressió; **Sucre:** Índex de refracció (°Brix); **Acidesa total:** (g d'àcid màlic/l).

Tampoc les mesures realitzades amb els ISFETs i amb els mètodes estàndards van permetre diferenciar entre els diferents tractaments de fertilització aplicats als arbres fruiters (Taula 3.11). Tant sols es va observar una relació entre la concentració de nitrats i els diferents tractaments emprats (continguts més alts de nitrats en dosis de 43 %CaO i freqüències de 13 aplicacions en 10 dies). És important destacar que les mesures obtingudes amb els ISFETs i amb els mètodes estàndards no són comparables degut a que, tot i que mesuren la mateixa mostra, no mesuren el mateix contingut. Cal destacar dues diferències importants: els ISFETs mesuren la concentració d'ions lliures de la mostra mentre que els mètodes estàndards mesuren la concentració total d'aquests; la concentració mesurada amb els sensors fa referència a una dissolució aquosa mentre que la dels mètodes estàndards normalment és refereix al contingut de les cendres de la mostra.

Taula 3.11: Mitja dels valors obtinguts de l'anàlisi de cadascun dels suc (20 pomes) de les 4 parcel·les tractades amb el mateix fertilitzant. Els errors es calculen amb un 95% de confiança. El suc fresc és analitzat pel mètode potenciomètric mentre que el suc deshidratat és analitzat pels mètodes estàndards.

Tractament	Mètodes Estàndards			Mètode Potenciomètric		
	N _T %	Ca _T (mg/g)	K _T (mg/g)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	Ca (mg/l)	K ⁺ (mg/l)
1	0.21±0.03	0.54(8) ± 0.08	189 ± 33	74 ± 12	56 ± 8	700 ± 80
2	0.25±0.06	0.58(8) ± 0.08	205 ± 36	74 ± 12	52 ± 8	660 ± 80
3	0.22±0.04	0.53(9) ± 0.08	222 ± 70	75 ± 12	48 ± 2	700 ± 80
4	0.22±0.08	0.5(3) ± 0.1	166 ± 20	81 ± 12	40 ± 2	800 ± 400
5	0.23±0.05	0.55(8) ± 0.04	205 ± 19	112 ± 49	49 ± 2	660 ± 80
6	0.24±0.1	0.53(9) ± 0.09	174 ± 53	93 ± 12	64 ± 8	700 ± 80
7	0.23±0.07	0.52(0) ± 0.04	197 ± 17	105 ± 25	43 ± 2	660 ± 80

N_T % : % (en pes) de N en cendres; Ca_T : µg Ca/ g cendra; K_T : µg K/ g cendra; NO₃⁻, Ca, K⁺ (mg/l): Mitja de 4 addicions estàndards. Cendres obtingudes a partir del suc deshidratat.

3.3 APLICACIÓ DE SENSORS TIPUS ISEs I DE CAPA GRUIXUDA EN L'ESTUDI DE L'IMPACTE AMBIENTAL DE L'AGRICULTURA

Tal i com s'ha comentat àmpliament a la introducció d'aquesta tesi, la reducció de l'impacte mediambiental ocasionat per les tècniques agrícoles passa per l'obtenció d'informació de paràmetres claus, com poden ser els fosfats, els derivats del nitrogen, alguns metalls lleugers (com sodi, potassi, magnesi i calci) o els pesticides, introduïts en el medi durant el procés de producció. La minimització d'aquest impacte passa per l'optimització del procés de fertilització. Disposar d'informació continua de la composició del sòl permetrà a l'agricultor addicionar tant sols els nutrients que cal sense la necessitat d'afegir més i provocar efectes indesitjables. L'agricultura de precisió promou l'ús de sondes, instal·lades *in situ*, que ofereixen la possibilitat d'obtenir informació en continu de l'estat del sòl. Dins del ventall de paràmetres claus a determinar, és important conèixer la concentració dels compostos que formen part del cicle del nitrogen i que són assimilables per les plantes (nitrat i amoni principalment). Degut a que es disposa de membranes potenciomètriques selectives per aquests dos paràmetres es van realitzar dos treballs, els objectius dels quals són:

1. Desenvolupar sondes de nitrat per tal de ser instal·lades en el sòl. Mesurar la tendència d'aquest paràmetre.
2. Desenvolupar un mètode per a mesurar la pèrdua d'urea d'un sòl fertilitzat mitjançant un sensor d'amoni.

3.3.1 DESENVOLUPAMENT DE SONDES DE NITRAT

El gran avantatge que ofereix l'ús de sondes és la possibilitat d'obtenir informació *in situ*, en continu i en temps reals permetent la possibilitat d'ampliar i aprofundir els estudis implicats en la química del sòl (transport/moviment de nutrients i zones d'acumulació i/o empobriment del sòl). Tractant les dades [35-38] que proporcionen les sondes es poden obtenir models i mapes de distribució que permetrien resoldre el problema de falta de homogeneïtat del sòl. L'ús dels programes per modelitzar dades requereixen d'un tipus de dades força específiques: dades obtingudes en temps real, un número elevat de punts de mostreig i un número elevat de dades per punt. Les sondes en estudi s'adeqüen a aquestes necessitats doncs permeten mesurar amb una elevada freqüència de temps, *in situ* i, degut al seu cost, es poden instal·lar en ret en molts punts d'un camp. A la Figura 3.22 es representa, esquemàticament, l'objectiu final d'aquesta part del treball. Per tal de realitzar els estudis inicials, es van desenvolupar sondes de nitrat emprant elèctrodes selectius d'ions i posteriorment es van desenvolupar elèctrodes de capa gruixuda, fàcils de fabricar massivament amb un baix cost.

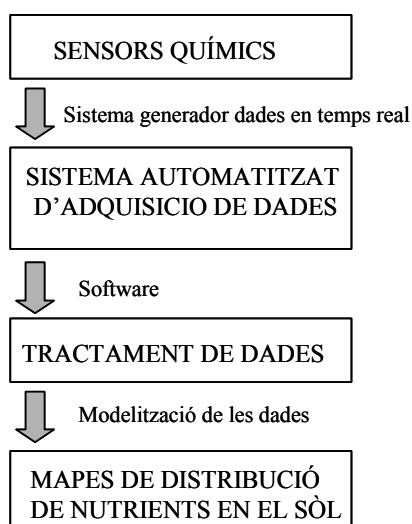


Figura 3.22: Objectius de l'ús de sondes per a mesurar *in situ* en sòls.

3.3.1.1 Ús d'elèctrodes selectius d'ions

Durant les primeres experiències (març i juliol de 1999) es van desenvolupar sondes de PVC (40 cm de longitud i diàmetre de ½') a on, una vegada instal·lades al sòl, els elèctrodes (ISEs) quedaven enterrats a una profunditat de 30cm. S'utilitzà com a elèctrode de referència una placa de coure (§ 2.6, § 3.2.1.2). Es van depositar membranes selectives a l'ió nitrat amb matriu polimèrica de PVC degut al reduït temps de vida observat en estudis previs amb les membranes fotocurables per aquest ió (§ 3.2.1.5). Inicialment es va treballar en parcel·les

agrícoles de la fundació *IRTA-Mas Badia* (Girona). Per tal d'assegurar que no hi havien fonts de nitrats en el sòl que causessin variacions en la concentració d'aquest element durant l'estudi, es van escollir parcel·les no cultivades des de feia 4 anys. Les dades es van recollir cada minut amb un datalogger comercial [39] (Campbell Scientific CR10x), emmagatzemant les mitjanes cada 30 minuts.

3.3.1.1.1 Característiques de resposta dels sensors emprats

S'emprà com a membrana de nitrats la optimitzada prèviament en el GSB [40]. La composició de la membrana va ser (% en pes): 28.7% PVC; 65.2% DBP; 6.1% TOA. Els components es van dissoldre en THF, en una proporció de 0.05 ml per mg de còctel sensor. Les característiques de resposta d'aquesta membrana en elèctrodes selectius d'ions és adequada per l'aplicació proposada, essent els límits de detecció esperats inferiors a 1ppm (valor que depèn de les condicions de calibratge). L'estudi d'interferències es resumeix en els valors del $\log K_{Pot}$. Per a solucions 0.1 M de HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , CH_3COO^- , HCO_3^- els valors obtinguts van ser de -3.42, -3.94, -3.73 i -2.19, respectivament. Per una solució 0.01 M de Cl el valor del $\log K_{Pot}$ va ser de -1.68

3.3.1.1.2 Resposta a l'addició de fertilitzant

L'addició d'una dissolució concentrada de fertilitzant en l'àrea de treball va permetre comprovar que els elèctrodes responien correctament a l'addició de nitrats. A la Figura 3.23 es pot observar com el dia 3/4/99 l'addició provoca un salt brusc en el potencial mesurat, indicant un augment en la concentració de nitrats del sòl. Els salts mesurats, pels diferents sensors, van ser de 160, 70 i 100 mV, essent la mitjana de 110mV. La oscil·lació dels resultats es pot associar a la falta de homogeneïtat del sòl.

Es van recollir mostres de sòl abans i després de l'addició del dia 3/4/99 per tal d'analitzar-les al laboratori amb l'analitzador comercial Aquanitra (ADASA). Les dades obtingudes de l'anàlisi dels extractes de les mostres es poden veure a la Taula 3.12, observant-se que l'addició del fertilitzant provoca una variació mitja de 800 ppm, el que equivaldria a un salt negatiu de 120 mV (emprant un elèctrode amb una sensibilitat teòrica de 59 mV/dec). Les diferències entre els anàlisi dels extractes de les diferents zones de la mateixa parcel·la és deguda a la falta d'homogeneïtat tal i com s'havia observat anteriorment amb els elèctrodes. La correlació entre les dades obtingudes amb els sensors *in situ* i els anàlisis dels extractes permet afirmar que els sensors responen a l'addició del fertilitzant, mesurant adequadament la concentració de nitrats en sòl. Degut a que un interferent important per les mesures de nitrats amb ISEs és l'ió clorur, es va analitzar el contingut d'aquest ió en les mostres de sòl. No es va observar una diferència apreciable en el contingut de clorur per a totes les mostres, poden

establir que el contingut d'aquest ió es manté constant al llarg de l'estudi i que no interfereix en la mesura de nitrats.

L'augment del potencial mesurat després del dia 3/4/99 (disminució de la concentració de nitrats) es pot atribuir a la progressiva lixiviació dels nitrats afegits. Aquest augment s'estabilitza al cap de 10-15 dies. L'addició d'aigua (17/3/99), després d'aquesta estabilització no provocà una variació important en el potencial, el que fa pensar que el sòl va arribar a un estat d'equilibri.

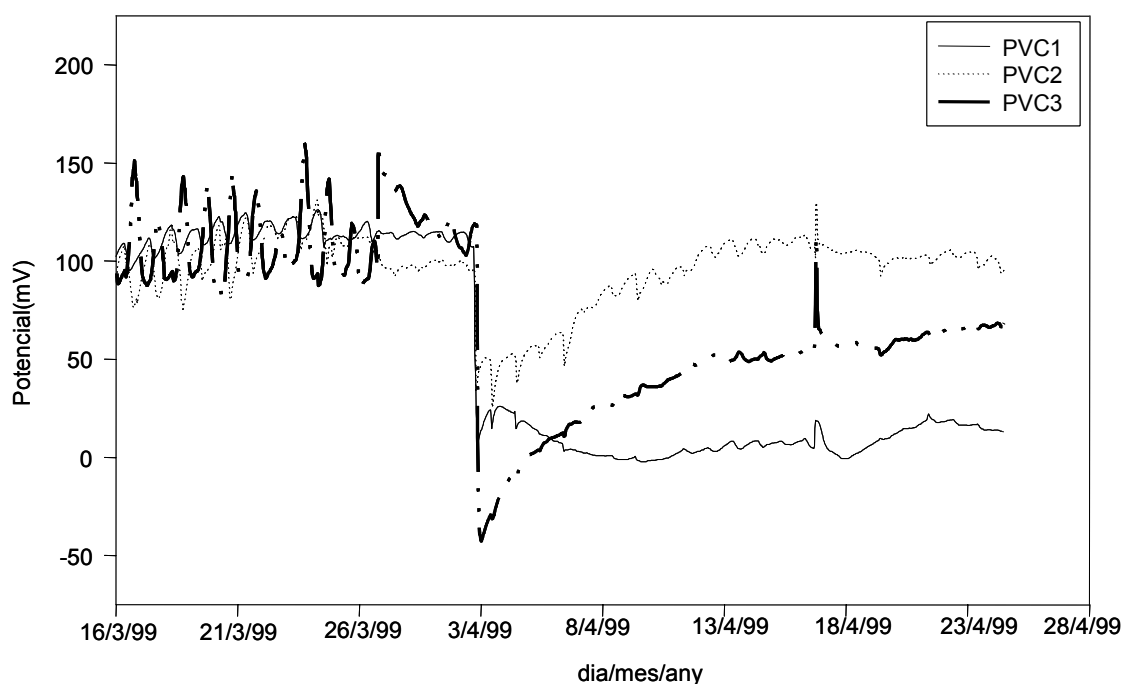


Figura 3.23: Evolució del potencial enfront del temps per les sondes PVC1, PVC2 i PVC3. Addició de fertilitzant el dia 3/4/99 i aigua el dia 17/3/99.

Taula 3.12: Concentracions de nitrats i clorurs (ppm) dels extractes del sòl, abans i després del rec. Per tal d'obtenir els extractes 15 g de terra seca i tamisada es van mesclar amb 50 ml d'aigua . Agitació a 150 rpm durant 30'. Anàlisi del sobrenadant.

Mostres abans del rec			Mostres després del rec		
	[NO ₃ ⁻]	[Cl ⁻]		[NO ₃ ⁻]	[Cl ⁻]
M1	0.5 ± 0.8	48 ± 4	M4	623 ± 3	63 ± 15
M2	7.6 ± 0.9	48 ± 4	M5	176 ± 2	57 ± 14
M3	9.7 ± 0.8	43 ± 4	M6	1507 ± 5	64 ± 15

3.3.1.1.3 Temps de vida dels sensors.

Per tal d'avaluar l'efecte del medi en els diferents components de la membrana així com en les connexions elèctriques, es van realitzar calibrats externs periòdics de les sondes enterrades, emprant 4-5 dissolucions de patró. Una pèrdua de les principals característiques de resposta (disminució de la sensibilitat i augment del límit de detecció) permetrà evidenciar l'efecte del medi en la resposta dels sensors, limitant l'ús d'aquests. Les rectes de calibrat obtingudes a l'inici de l'experiment, després de 7 i 17 setmanes d'estudi es poden observar a la Figura 3.24. Els paràmetres de les rectes de calibratge es poden observar a la Taula 3.13. De l'observació de l'aspecte de les membranes així com dels resultats obtinguts, es pot concloure que els sensors es poden emprar per l'anàlisi de nitrats en sòls durant més de 4-5 mesos sense que la seva resposta es vegi afectada pel fet d'estar enterrats directament en sòl.

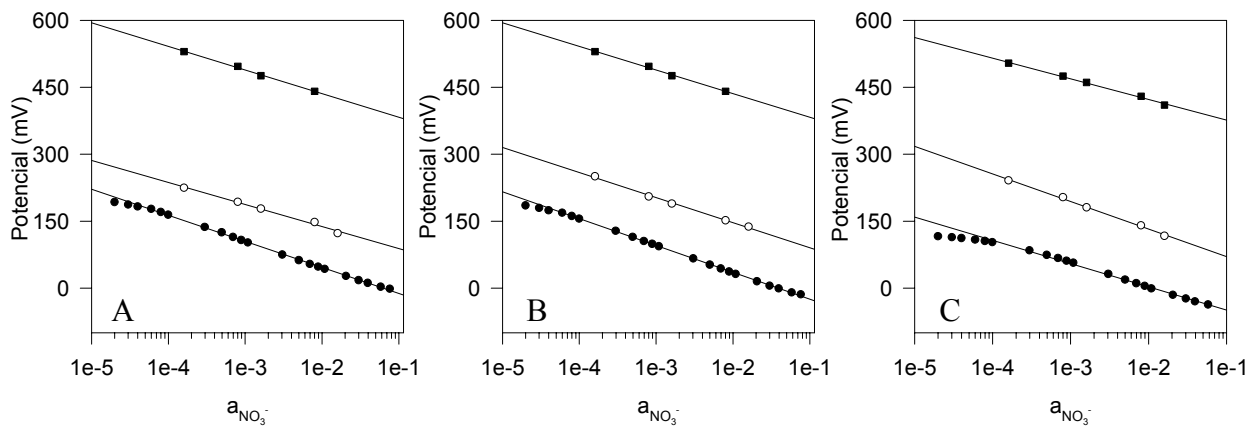


Figura 3.24: Calibratges dels elèctrodes A.- PVC1; B.- PVC2; C.- PVC3. (●) Inici de l'experiment, (□) al cap de 7 setmanes i (■) al cap de 17 setmanes d'estar en el sòl.

Taula 3.13: Paràmetres del calibratge extern de les sondes de nitrats enterrades en sòl.

Temps		Sonda PVC1	Sonda PVC2	Sonda PVC3
Inici estudi	Sensibilitat (mV/dec)	-58.4 ± 0.9	-60 ± 1	-52.1 ± 0.8
	Coefficient regressió	0.9996	0.9998	0.9998
7 setmanes	Sensibilitat (mV/dec)	-49 ± 8	-56 ± 6	-61 ± 6
	Coefficient regressió	0.996	0.998	0.998
17 setmanes	Sensibilitat (mV/dec)	-53 ± 7	-53 ± 7	-47 ± 6
	Coefficient regressió	0.998	0.998	0.997

3.3.1.1.4 Influència de la temperatura.

Les causes principals de deriva en mesures potenciomètriques són les variacions de conductivitat (entre l'elèctrode de referència i el de treball) i les oscil·lacions de temperatura, tot i que també existeixen efectes menors deguts a variacions de pressió, pèrdues de components de la membrana o efectes de llum. Si la conductivitat del medi és suficient per mantenir un bon contacte entre els elèctrodes, les variacions de potencial degudes a aquest efecte poden considerar-se menyspreables. Per evitar la influència de la temperatura en mesures potenciomètriques, normalment es treballa sota condicions isotèrmiques.

En el nostre cas, és impossible aconseguir unes condicions isotèrmiques en el sòl, doncs la temperatura d'aquest varia al llarg del dia i depèn de factors climàtics. Per tal d'estudiar l'efecte dels canvis de temperatura del sòl en les mesures potenciomètriques, es van enterrar tres sondes de nitrats a una profunditat de 30 cm i es va estudiar el comportament del potencial durant cicles de 24 hores (Figura 3.25).

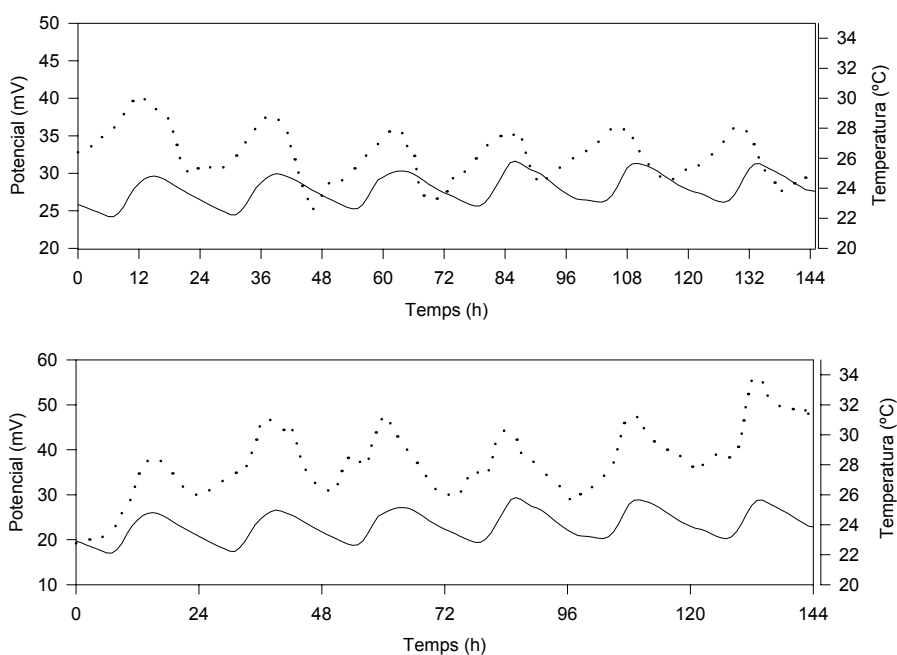


Figura 3.25: Evolució del potencial en el temps de dos elèctrodes de nitrat (—) vers la temperatura ambiental (...).

Es va observar una variació cíclica i diària del potencial on el màxim es situava cap a les 17-18 h de la tarda i el mínim cap a les 2-4 h de la matinada. Aquesta oscil·lació cíclica sembla indicar una clara dependència del senyal amb la temperatura del sòl, que varia exactament de la mateixa forma. La instal·lació d'una sonda de temperatura exterior (a prop de les sondes de nitrats) per tal de mesurar la T ambiental, ens va permetre estudiar millor aquest efecte. Els resultats obtinguts al llarg de sis dies es mostren a la Figura 3.25. Es va observar una clara

dependència entre les oscil·lacions cícliques dels sensors de nitrats i les oscil·lacions cícliques de la temperatura ambiental tot i que també es va poder observar un desplaçament temporal entre els mínims i els màxims dels senyals dels elèctrodes i la sonda de temperatura. La temperatura ambiental presentava uns mínims al voltant de les 4-6h de la matinada mentre que les sondes de nitrat presentaven, reiteradament, els mínims al voltant de les 2-4h. Aquesta diferència de 2 h es podria deure a diferències de refredament/escalfament entre els dos medis (aire i terra).

Per tal de verificar que la temperatura del sòl disminueix abans que l'ambiental es va dissenyar una sonda (§2.6) que incorporava tres sondes de nitrat i tres termopars a profunditats diferents (30, 60 i 90 cm). Es va decidir estudiar tres profunditats per controlar millor l'efecte de la temperatura doncs, com és sabut, les variacions de temperatura d'un sòl es redueixen amb la profunditat (es veu menys afectada per la T ambiental), essent en molts casos, pràcticament constant a profunditats superiors a 90 cm. En aquest cas, l'experimental es va realitzar a la *Facenda Canchin* (São Carlos, Brasil) i es va dissenyar la instrumentació necessària per que les mesures s'emmagatzemessin via radio (§2.3.1.2). La Figura 3.26 permet observar la dependència de la temperatura del sòl amb la profunditat. S'observa com a profunditats de 30 cm la temperatura oscil·la diàriament uns 4 graus essent la mitja, per als dies estudiats, d'uns 24°C. Per a profunditats de 60 cm i 90 cm la temperatura es pot considerar constata, essent les mitjanes de 23 i 21°C respectivament. S'observa com a mesura que la profunditat augmenta, les variacions cícliques del potencial dels sensors desapareixen, confirmant que es deuen a l'efecte de la temperatura.

Fent una relació de pendent entre les corbes experimentals es pot estudiar la dependència entre temperatura i potencial. Es va observar que per períodes de temps on la variació de temperatura era menor a $0.2^{\circ}\text{C}/\text{h}$, la relació obtinguda entre el potencial i la temperatura va ser de $4.4 \pm 0.5 \text{ mV}/^{\circ}\text{C}$. Per períodes de temps on la variació de temperatura era més gran de $0.2^{\circ}\text{C}/\text{h}$, la variació observada era de $1.0 \pm 0.1 \text{ mV}/^{\circ}\text{C}$. Aquests fets es van confirmar tant pels resultats obtinguts a Girona (Catalunya) com a São Carlos (Brasil).

El fet de treballar amb sistemes automatitzats d'adquisició de dades permet corregir de forma totalment automatitzada i a temps real l'efecte de la temperatura sobre el potencial subministrat (Figura 3.27).

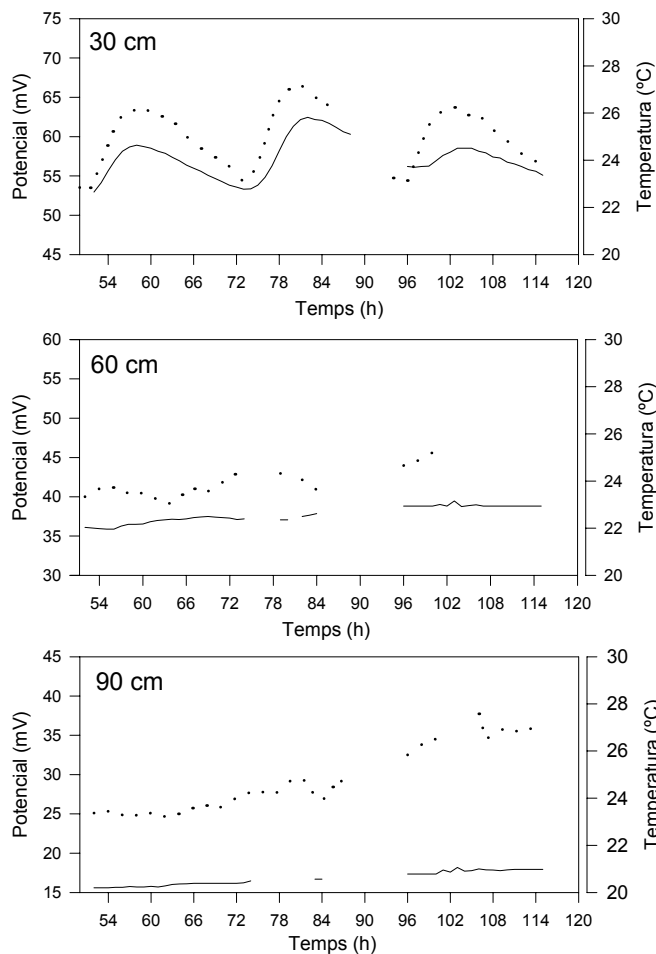


Figura 3.26: Variació del potencials dels elèctrodes i la temperatura en funció de la profunditat del sòl.

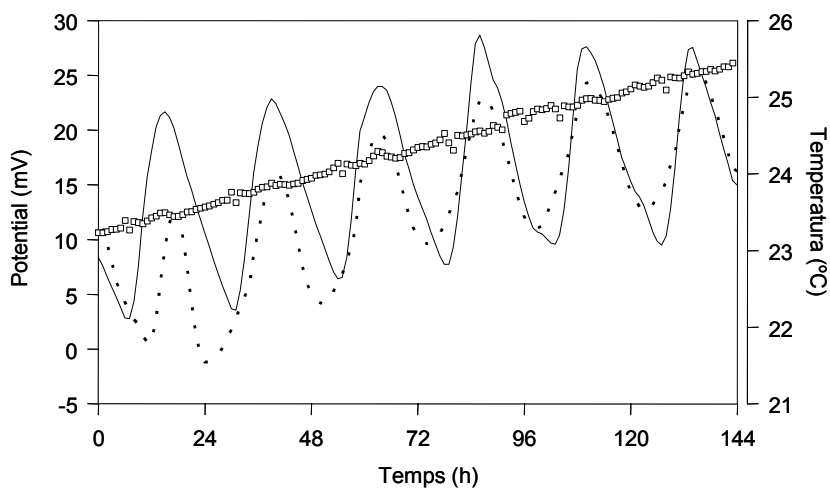


Figura 3.27: Correcció de la temperatura per elèctrodes emprats a Mas Badia (Girona). El factor de correcció aplicat per $\Delta T < 0.2^\circ\text{C/h}$ va ser de $E_{\text{corregit}} = E_0 - (4.4\text{mV}/^\circ\text{C} \times \Delta T)$ i per per $\Delta T > 0.2^\circ\text{C/h}$ va ser de $E_{\text{corregit}} = E_0 - (1.0\text{mV}/^\circ\text{C} \times \Delta T)$. La deriva en aquest cas, després d'aplicar la correcció de temperatura, va ser de 0.1mV/h .

3.3.1.2 Ús d'elèctrodes de capa gruixuda

El treball amb elèctrodes selectius d'ions va permetre concloure que és viable l'aplicació *in situ* de sondes per tal d'analitzar les concentracions de nutrients en sòl. Els temps de vida de les membranes i la utilització de coure com a referència feia possible l'ús de dispositius lo suficientment autònoms com per ser instal·lats en grans quantitats i en grans superfícies. Per tal de millorar la proposta es va avaluar l'ús d'un altre tipus de transductor, que millorés les mancances d'automatització del procés de fabricació que presenten els elèctrodes selectius d'ions clàssics.

El procés planar de construcció d'elèctrodes de capa gruixuda permet pensar en un procés global de construcció quasi automatitzat, sobretot si l'etapa de construcció de les pistes conductores també es realitza mitjançant les tècniques serigràfiques. Per aquest motiu, es va realitzar una sonda amb elèctrodes de capa gruixuda.

Per tal de minimitzar els efectes de la temperatura i solucionar els problemes de calibratge *in situ*, que fins ara no s'havien abordat, es van realitzar les mesures en l'ambient controlat de laboratori. Per aquest motiu, es va construir una columna de 30 cm de diàmetre i 1.5 m de profunditat, amb obertures laterals a 15, 30 i 60 cm que permetien agafar mostres de sòl, així com una sonda amb mànegues de calibratge i petits orificis en la part superior del sensor (§ 2.6).

Calibratge in situ del sensor en sòl arenós

Per tal de comprovar la resposta del sensor vers l'addició de patrons de calibratge (5 ml per les mànegues de calibratge), es va omplir la columna amb un terra arenós que facilités el drenatge de les dissolucions afegides així com el rentat del sòl. L'addició de dissolucions de NaNO_3 que diferien una dècada de concentració (0.001 M i 0.01 M), alternant amb aigua per tal de rentar al voltant del sensor, va provocar salts d'uns 60 mV en ambdós casos, resultats que permeten assegurar que els sensors funcionen d'acord amb l'equació de Nernst, tot i estar inserit en terra. L'addició final d'aigua permet rentat bé el sòl, doncs es recuperen els valors inicials del potencial. La Figura 3.28-I permet observar el salt i la recuperació del potencial que s'origina al addicionar dissolucions de concentració diferent.

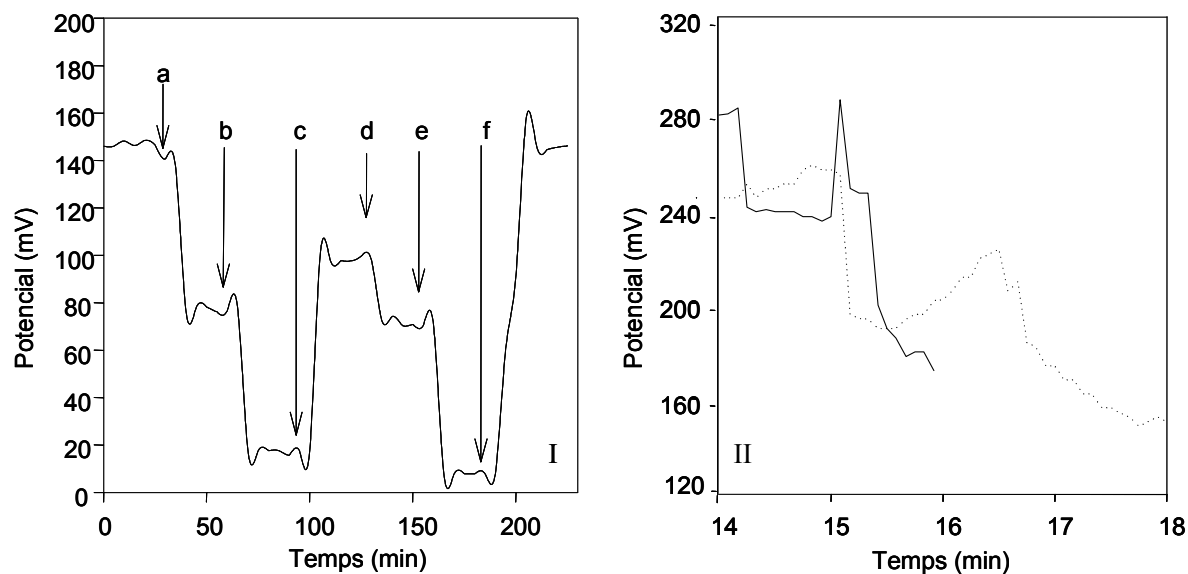


Figura 3.28: I.- Calibratge *in situ* del sensor de 15 cm enterrat en sòl arenós. Addició de 5ml de a.- 0.001M NaNO_3 b.- 0.01M NaNO_3 c.- H_2O d.- 0.001 M NaNO_3 e.- 0.01 M NaNO_3 f.- H_2O ; II: Detall de la resposta del sensor de 15 cm (—) i de 30 cm (····) al provocar dos salts amb solucions 0.01 M i 0.1 M de NaNO_3 . Es pot observar els dos fronts (més importants quan més concentrada és la dissolució) i fronts més amples (en augmentar la profunditat).

La resposta dels sensors és ràpida, considerant el moment en que la dissolució ha arribat a la profunditat d'aquest. L'addició d'una dissolució provoca un canvi bruscat i coherent de potencial en el sensor de 15 cm de profunditat. La resposta del sensor de 30 cm s'enregistrà al cap d'un minut més tard (degut al temps que triga la dissolució en percolar els 15 cm de sòl) mentre que pel sensor de 60 cm no s'observà canvi apreciable en la resposta. La resposta del sensor de 30 cm permet observar, molt millor que en el cas de 15 cm, les diferents velocitats de lixiviació dels components de la dissolució, atenent a diferències de retenció dels ions respecte l'aigua. L'addició d'una dissolució concentrada provoca dos fronts que ocasionen dos canvis de potencial: inicialment un augment d'aquest (corresponent a una disminució de nitrats) i posteriorment una disminució del potencial (corresponent a l'augment de la concentració). La Figura 3.28-II permet observar els dos fronts.

Calibratge in situ del sensor en sòl orgànic

Per tal d'obtenir valors semblants en sòls orgànics cal addicionar dissolucions de concentració superior a 0.01M, essent necessària l'addició d'una dissolució 0.1 M de NaNO_3 per provocar salts de 60-80 mV. Aquest fet es deu a la composició del sòl orgànic que, inicialment, té un contingut major d'ions com sodi, calci, potassi, fosfats i nitrats. La Figura 3.29 permet observar el calibratge *in situ* dels sensors en sòls orgànics.

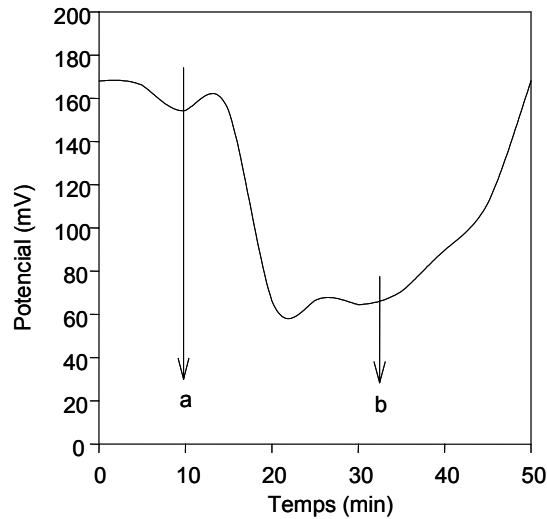


Figura 3.29: Calibratge in situ del sensor de 15 cm en un sòl orgànic. Addició de 5 ml de a.- 0.1 de NaNO_3 ; b.- H_2O .

Deriva observada

L'ús d'un elèctrode de coure permet obtenir resultat satisfactoris, doncs en cap moment la mesura va ser sorollosa ni va presentar deriva (un cop estabilitzat el sistema, el potencial mesurat resta constant, essent la deriva menor a 0.4 mV/h), Figura 3.30.

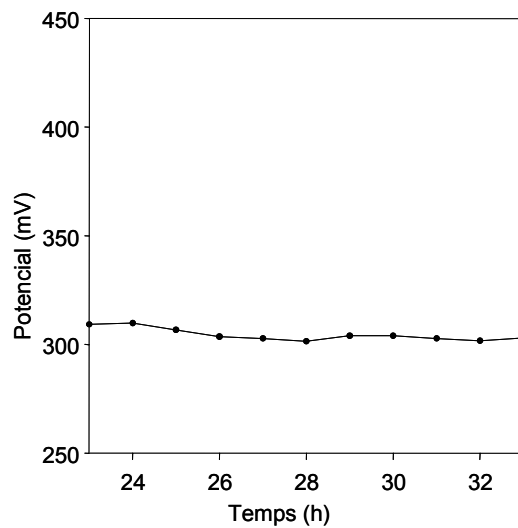


Figura 3.30: Estabilitat de la resposta enfront del temps.

L'anàlisi de mostres de sòl amb el mètode Kjeldahl confirmaren els resultats obtinguts amb la sonda.

3.3.2 MESURA DE LA PÈRDUA D'UREA EN CAMP

Tal i com s'ha comentat anteriorment, un dels paràmetres més importants en la fertilització de sòls agrícoles són les formes assimilables del nitrogen. La urea representa un dels productes més emprats com a fertilitzant d'aquest element, degut al seu alt percentatge de N i a que és un compost força soluble i fàcil d'aplicar en grans extensions. El gran desavantatge que ofereix, però, és la pèrdua de part del fertilitzant per volatilització del N en forma de NH_3 (g), el que ocasiona, en molts casos, l'addició d'un excés que perjudica greument al mediambient.

3.3.2.1 *Trampes de gasos per al camp*

Per tal d'analitzar el percentatge d'aprofitament d'aquest producte, que a l'hidrolitzar-se es perd en forma d'amoníac, es van preparar diverses trampes (§2.7). L'objectiu d'aquestes trampes és atrapar l'amoníac (gas) després en forma d'amoní, per tal d'analitzar-lo posteriorment.

Les trampes emprades contenen dues esponges empapades en dissolucions que tenen la funció d'atrapar els gasos emesos del sòl. Per altre banda, la funció de les dues esponges és diferent doncs l'esponja més propera al sòl hauria de retenir l'amoníac alliberat mentre que la segona esponja hauria d'evitar la possible contaminació exterior. L'assaig amb diferents àcids va permetre concloure que una dissolució fortament àcida (com àcid fosfòric 0.63M) permetia retenir tot l'amoníac alliberat en la primera esponja, obtenint-se valors d'amoní menyspreables en la segona. Aquest fet no es va observar tant clar a l'emprar dissolucions menys àcides per empapar les esponges. La recuperació de la dissolució que conté les esponges permet quantificar la urea perduda per unitat d'àrea analitzada i relacionar-ho amb l'aprofitament del fertilitzant.

3.3.2.2 *Característiques de resposta del sensor emprat*

Les mostres es van analitzar mitjançant elèctrodes selectius d'ions de configuració tubulars, acoblats a un sistema FIA, prèviament optimitzat en altres treballs. La membrana d'amoní emprada va ser optimitzada prèviament en el GSB [40] i té una composició en pes de 33.5% PVC; 65.5% BBPA; 1% nonactina. Les mostres es van analitzar amb el sistema FIA descrit en §2.7.2 així com pel mètode Kjeldahl [41] descrit en § 2.8.5. La Figura 3.31 mostra el FIAGrama obtingut al calibrar l'elèctrode d'amoní.

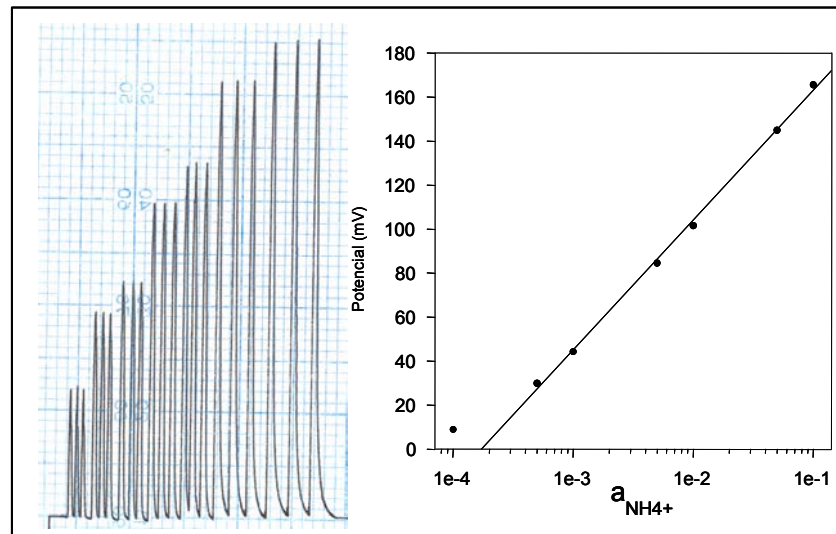


Figura 3.31: FIAGrama i recta de calibratge del sensor d'amoni emprant patrons de concentració 10^{-4} , $5 \cdot 10^{-4}$, 10^{-3} , $5 \cdot 10^{-3}$, 10^{-2} , $5 \cdot 10^{-2}$ i 0.1M .

3.3.2.3 Anàlisi de mostres

La Taula 3.14 recull els resultats obtinguts en l'anàlisi de mostres de sòl, tant pel mètode Kjeldahl com per potencimètria. Els resultats ens permeten observar:

- La dissolució d'àcid fosfòric emprada per empapar les esponges ens permet assegurar que tot l'amoniac gas alliberat del sòl és retingut en l'esponja inferior, deixant l'esponja superior per evitar la contaminació d'aquesta. Aquest fet no s'observa a l'emprar Tris.
- Els resultats més repetitius es van obtenir amb l'ús de dipòsits, tot i que les retencions de l'amoniac no són tant bones. Aquest fet es deu en part a la composició de la dissolució del dipòsit (Tris 0.01M a pH 7.5) i al fet d'estar arran de terra.

Taula 3.14: Valors de mg d'amoni per unitat d'esponja obtinguts per potenciometria i per titulació. AF: Àcid fosfòric 0.63M; TRIS: Tris 0.01M a pH 7.5; Dipòsit: Contenidor amb Tris 0.01M a pH 7.5.

		M. potenciomètric	Mètode Kjeldahl
AF 1	Inferior	33.94	22.49
AF 1	Superior	Inferior L _D	0.19
AF 2	Inferior	55.56	62.36
AF 2	Superior	Inferior L _D	0
AF 3	Inferior	95.77	138.08
AF 3	Superior	Inferior L _D	0
TRIS 4	Inferior	45.52	51.67
TRIS 4	Superior	21.97	26.00
TRIS 5	Inferior	10.20	10.67
TRIS 5	Superior	Inferior L _D	0.44
TRIS 6	Inferior	35.09	40.10
TRIS 6	Superior	20.04	21.09
Dipòsit 1	-	13.23	13.38
Dipòsit 2	-	17.84	18
Dipòsit 3	-	12.72	15.5

Es va demostrar que les mesures potenciomètriques realitzades amb FIA/elèctrodes tubulars són una alternativa viable al mètode estàndard de rutina (Kjeldahl) per analitzar les mostres que contenen amoníac. Aplicant el test de correlació entre les dades d'ambdós mètodes s'obté una recta amb coordenada 14 ± 17 mV i pendent de 0.91 ± 0.08 (coeficient de regressió de 0.998) el que indica que no existeixen diferències significatives entre les dades dels dos mètodes, essent el mètode potenciomètric més ràpid i amb un consum menor de reactius.

3.4 BIBLIOGRAFIA

- [1] G.J. Moody, J.D.R. Thomas. *Ion-Selective Electrode Rev.* Vol1 (1979)
- [2] J.D.R. Thomas. *Anal. Chim. Acta* 180 (1986) pp 289-294
- [3] C. Jiménez. *Sensors químics tipus ISFETs*. Tesi doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, 1992
- [4] C. Jiménez, I. Marqués, J. Bartrolí. *Anal. Chem.* 68 (1996)
- [5] A. Bratov, N. Abramova, J. Muñoz, C. Domínguez, S. Alegret, J. Bartrolí. *J. Electrochem. Soc* vol141 (9) (1994) pp L111-L112
- [6] J. Muñoz, C. Jiménez, A. Bratov, S. Alegret, J. Bartrolí, C. Domínguez,. *Biosens. & Bioelectr.* Vol(12)-7 (1997) pp 577-585
- [7] A. Bratov, N. Abramova, J. Muñoz, C. Domínguez, S. Alegret, J. Bartrolí. *Anal Chem* 67(19) (1995) pp 3589-3595
- [8] A. Beltran, J. Artigas, C. Jiménez, R. Mas, J. Bartrolí, J. Alonso. *Electroanalysis* 14 (3) (2002) pp 213-220
- [9] J. Sánchez, A. Beltran, J. Alonso, C. Jiménez, M. Del Valle. *Anal. Chim. Acta.* 382 (1999) pp 157-164
- [10] J. Sánchez, M. Del Valle. *Talanta* 54 (2001) pp 893-902
- [11] J. Sánchez, M. Del Valle. *Electroanal.* 13 (2001) pp 471-476
- [12] J. Sánchez. *Sensors potenciomètrics selectius a tensioactius aniònics*. Tesi doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, 2002
- [13] C. Puig-Lleixà, S. Ramírez, C. Jiménez, J. Bartrolí. *Anal. Chim. Acta* 386 (1996) pp 13-19
- [14] C. Puig-Lleixà, C. Jiménez, E. Fàbregas, J. Bartrolí. *Sensors Actuators B* 49 (1998) pp 211-216
- [15] C. Dumschat, R. Frömer, H. Rautschek, H. Müller, H.J. Timpe. *Anal. Chim. Acta* 243 (1991) pp 123-126
- [16] F.A. Costa, M.L. Dos Santos. *Agricultura de Precisão: Economia rural.* Julho/Setembro vol 23 (1994) pp 33-36
- [17] S. Blackmore. *Outlook on Agriculture* vol 23 n°4 (1994) pp. 275-280
- [18] S. Wolf, H. Buttel. *Am. J. Agric. Econ.* 78 (1996) pp 1269-1274
- [19] F. Fuller. *Fertiliser Focus* April (1997) pp 33-38
- [20] P. Roblin, D.A. Barrow. *J. Environ. Monit. Critical Review* 2 (2000) pp 385-392
- [21] M.C.C. Ballarín. *Agrícola Vergel* Septiembre (1993) pp 492-500
- [22] Hydroponics Dosing System (<http://www.tpssite.com>), 2002
- [23] Hidroponia (<http://www.collegePark/Dorm/7635/Hidroponia.html>), 2002
- [24] V.G. Thomas and P.G. Kegan. *J. Agric. Environ. Ethic.* 6 (1993) pp 1-7

- [25] Handbook on Reference Methods for Soil Analysis. *Soil and Plant Analysis Council Inc.*, 1992, 157.
- [26] J. Fuller. *Fertiliser Focus* April (1997) pp 33-38
- [27] Comissió II:Enologia. ACE revista d'Enologia 3^{er} Trimestre (1996) pp 8-14
- [28] E.P. Yúfera. *Química Agrícola: Alimentos*. Alhambra Ed., Madrid, 1979
- [29] Ministerio de Sanidad y Consumo. *Control e inspección de frutas y hortalizas*. Centro de publicaciones, documentación y biblioteca del Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid, 1986
- [30] Ministerio de Agricultura y Alimentación. *Métodos oficiales de análisis* (tomo I). Ed. Secretaría General Técnica, Madrid, 1993
- [31] N.A. Turner, I.B. Ferguson, R.O. Sharples. *J. Agric. Research* 20 (1977) pp 525-529
- [32] W.J. Bramlage, S.A. Weis, M. Drake. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110(4) (1985) pp 493-498
- [33] R.G.Riley, P.E. Kolattukudy. *Hort. Science* 11(3) (1976) pp 249-254
- [34] R. Compañó Beltran, A. Ríos Castro. *Garantía de la calidad en los laboratorios analíticos*. Ed. Síntesis, S.A., Madrid, 2002
- [35] P. Roblin, D.A. Barrow. *J. Environ. Monit.* 2 (2000) pp 385-392
- [36] J. Namiesnik. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 30 (2000) pp 221-269
- [37] Crismer M.E. *Soil. Sci.* 154(6) (1992) pp 149-153
- [38] A. Torre-Neto, P.E. Cruvinel, J.F.W. Slaets, S. Crestana. *Applied Engineering in Agriculture* 13(1) (1997) pp 115-122
- [39] Campbell Scientific Inc. ([http://www. Campbell.com](http://www.Campbell.com)), 2002
- [40] E Barquero. *Disseny, construcció i avaluació d'analitzadors per a la monitorització mediambiental*. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona, 2001
- [41] Dahnke W.C. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 2(2) (1971) pp 73-85

CONCLUSIONS GENERALS

CONCLUSIONS GENERALS

Al llarg del present treball s'han dissenyat, construït, avaluat, optimitzat i aplicat diferents tipus de sensors així com l'equipament instrumental necessari per desenvolupar, en particular, cada una de les aplicacions realitzades. En tots els casos, s'ha pretès obtenir sensors que poguessin ser instal·lables a peu de procés o *in situ*, amb una alta sensibilitat, temps de resposta reduïts, una bona reproduïbilitat i una gran versatilitat donat el nombre d'aplicacions diferents que s'han treballat en aquesta tesi. En particular, les conclusions que es poden obtenir per cada un dels treballs són:

▪ **Optimització de la membrana de calci basada en una matriu de poliuretà diacrilat**

Després d'un primer estudi en ISEs amb diferents plastificant, es va escollir el di-n-octilfenilfosfonat (DOPP) com a millor solvent per a desenvolupar les membranes fotocurables de calci, doncs era compatible amb el polímer i el ionòfor emprats i era amb el que s'obtenien característiques de resposta més bones. Així, els components de la membrana de calci van ser: una matriu polimèrica formada per un prepolímer compost per un oligòmer (Ebrexyl 270), un agent entrecruador, hexanodiol diacrilat (HDDA), i un fotoiniciador, la 2-2'-dimetoxi-fenilacetofenona (Irgacure 651); com a plastificant el di-n-octilfenilfosfonat (DOPP) i com a ionòfor de calci el bis-di(4-1,1,3,3-(tetrametilbutil)fenil)fosfonat de calci. Un

cop seleccionats els components de la membrana es detallen les conclusions dels diferents punts avaluats en aquest estudi:

1. *Optimització de la membrana.*

Es van estudiar diferents composicions de membrana. Per a membranes amb un baix percentatge de plastificant es van obtenir respostes subsnernstianes, degut a la permselectivitat del polímer. Per alts percentatges de plastificant es van obtenir membranes amb una consistència massa plàstica, fet que impedia una correcta polimerització i l'esquerdament d'aquesta. Les millors característiques de resposta es van obtenir amb les composicions que tenien entre un 57 i un 69% (en pes) de plastificant. No només la relació polímer/plastificant afectava a les característiques de resposta dels sensors doncs es va observar que el rang lineal de resposta es veia afectat pel percentatge de ionòfor present en la membrana. Així, emprant percentatges lleugerament superiors a un 4% (en pes) s'obtenien millors resultats que amb percentatges d'un 3% (en pes).

2. *Estudi d'interferències i pH*

És de destacar que el baix grau d'interferència que presenten les membranes estudiades davant dels ions inorgànics comuns les fa idònies per futures aplicacions de mesura de calci incloent mostres que tinguin una matriu complexa.

3. *Temps de vida*

El temps de vida dels ISEs optimitzats va ser superior a 8 mesos, demostrant la viabilitat i robustesa de les membranes fotocurables. Després d'aquest temps no es va observar, pràcticament, pèrdua dels components de la membrana. La conservació dels elèctrodes en sec no semblava afectar a les característiques de resposta dels sensors.

4. *Deposició de les membranes sobre la superfície dels ISFETs*

Les dues membranes que van donar lloc a ISEs amb millors característiques de resposta es van depositar sobre la superfície de l'ISFET. Després de l'estudi realitzat es va concloure que la membrana més adequada era la que tenia un 57.1% de plastificant, un 36.3% de prepolímer, un 2.2% de fotoiniciador i un 4.4% del ionòfor (% en pes). Resumidament les característiques de resposta dels sensors desenvolupats va ser:

Sensibilitat (mV/dec)	-26 ± 1 (n=60)
Rang lineal (M)	$7 \cdot 10^{-6} - 8 \cdot 10^{-2}$
pL _D	5.3 ± 0.1
Rang de pH	3.5 - 10
Temps de vida (mesos)	9 - 10

5. Metodologia de preparació i deposició

Es va demostrar com la preparació i deposició de les membranes fotocurables era, vers les membranes de PVC, més fàcil i ràpida, doncs el temps necessari per polimeritzar el còctel va ser d'un minut pel cas dels ISEs i de trenta segons pel cas dels ISFETs.

▪ Aplicació d'ISFETs de calci, potassi, nitrat i pH en l'anàlisi de sòls i medis inerts

El correcte funcionament dels ISFETs en terres i substrats inerts ha permès assegurar la viabilitat d'aquests sensors com a dispositius per fer mesures contínues *in situ* i a temps real per conèixer la concentració dels nutrients en el medi estudiat. Alguns dels punts que cal destacar d'aquest treball són:

1. Elèctrode de referència

Els valors obtinguts amb els sensors, emprant un fil o placa de coure com a elèctrode de referència, són comparables amb els obtinguts amb els mètodes estàndards i la deriva d'aquests comparable amb la de l'ISFET de pH en condicions controlades de laboratori (1mV/h). Això confirma el bon funcionament del coure com a elèctrode de referència per a les aplicacions en sòls (gràcies al recobriment d'òxid que es forma en la seva superfície).

2. Cel·la de mesura

L'avaluació de la resposta dels sensors en el sòl va permetre confirmar la coherència del senyal en relació a l'addició de diferents dissolucions de concentració variable el que demostra que la cel·la emprada per inserir els sensors en el sòl o en el cultiu hidropònic permet una bona humectació d'aquests així com una correcta entrada/sortida de la dissolució aquosa.

3. Temps de vida dels sensors

Els ISFETs de potassi i calci han demostrat tenir una bona sensibilitat al llarg de dos mesos de funcionament en continu en terres. Aquest fet demostra la robustesa dels sensors i la qualitat de la membrana, doncs en aquest temps han mantingut l'adherència i no presenten un deteriorament important. No s'observa el mateix amb els ISFETs de nitrats, els quals presenten una pèrdua de sensibilitat al voltant de la tercera setmana, indicant la pèrdua d'algun component de la membrana.

▪ Aplicació d'ISFETs de calci, potassi i pH en l'anàlisi i control d'estabilització tartàrica dels vins

Aquesta aplicació permet constatar les bones característiques de resposta de les membranes fotocurables optimitzades en el GSB, en concret el baix grau d'interferència que presenten davant dels ions inorgànics més comuns. La matriu complexa dels vins, amb un alt contingut

d'ions potassi, calci, sodi, magnesi, bitartrat i etanol entre altres, no afecta significativament als components de la membrana ni a l'encapsulat del dispositiu. L'estudi del temps de vida de sensors guardats en dissolucions amb un 15% d'alcohol etílic i 1400 ppm de bitartrat potàssic va permetre concloure que les característiques dels sensors es mantenen estables durant més de 4 mesos. Els sensors es van utilitzar per tal de determinar el punt de saturació/regeneració de la resina emprada en el procés d'estabilització tartàrica dels vins així com per l'anàlisi de vins. Les conclusions que s'obtenen d'aquests estudis són:

1. *Anàlisi de mostres reals*

Per tal d'analitzar mostres discretes de vins, els ISFETs es van integrar en un sistema FIA bicanal. Les condicions operacionals òptimes del sistema van ser: aigua com a dissolució portadora; sulfat sòdic 0.33 M com a dissolució condicionadora; cabal de 0.5 ml/min i volum d'injecció de 500 µl. Les dades obtingudes tant pels ISFETs com pels mètodes estàndards, per un mateix analit, són del mateix ordre i no s'observen diferències entre vins estabilitzats o no estabilitzats. Tant el test F com el test T van concloure que no existien diferències significatives entre les precisions i les mesures realitzades ambdós mètodes, confirmant la capacitat operativa dels sensors tipus ISFETs per l'anàlisi de vins.

2. *Detecció del punt de saturació de la resina*

Els sensors permeten determinar amb claredat el punt en què la resina es satura i cal ser regenerada, tant en l'estudi realitzat al GSB (emprant una columna de vidre amb capacitat de 1l) com en l'estudi realitzat a l'INCAVI (emprant una columna d'acer inoxidable de capacitat de 24 l). Es va observar com la disminució brusca del pH en el vi que elueix de la columna afectava a la resposta dels sensors de calci i potassi, fet que es va solucionar introduint, a través d'un canal addicional, una dissolució amortidora (Tris 0.05M a pH 7.5) que regula el pH de la mostra després de la mesura de pH i just abans de la mesura de calci i potassi.

▪ **Aplicació d'ISFETs de calci, potassi i nitrat en l'estudi i identificació de diferents varietats de fruites**

Es va demostrar la viabilitat d'emprar ISFETs per tal de realitzar mesures en camp o bé en el laboratori agrícola per tal d'obtenir mesures d'ions com calci, potassi i nitrats relacionats amb l'estat de maduració de la fruita. No es van observar diferències significatives entre les mesures realitzades directament en la fruita i les realitzades en el suc. Tots dos procediments permeten obtenir informació addicional per determinar el moment òptim de collita. Les dades obtingudes permeten discriminar entre varietats de fruites.

▪ Desenvolupament de sondes de nitrat per tal de mesurar in situ en sòl

El desenvolupament i l'avaluació de sondes que incorporaven tant un sol elèctrode com tres a profunditats diferents van donar resultats molt esperançadors. En tots els casos, l'ús d'un fil o placa de coure com a elèctrode de referència permet obtenir resultats satisfactoris, doncs en cap moment la mesura va ser sorollosa ni va presentar deriva important. Les derives observades van ser de l'ordre de 0.5 mV/h, valor totalment acceptable i comparable amb la d'altres sensors. El temps de vida de les membranes de PVC emprades va ser superior als 5 mesos, no observant-se en aquest període una pèrdua de les característiques de resposta dels sensors enterrats de forma continua en el sòl.

Tant amb l'ús d'ISEs de configuració convencional com de sensors serigrafats, la resposta dels sensors vers l'addició de dissolucions fertilitzants és ràpida i coherent amb el canvi que s'està provocant. A mesura que augmenta la profunditat, la resposta dels sensors es fa més lenta i es redueix la seva magnitud, arribant a ser poc apreciable a 60 cm. Més concretament, el treball en cada un dels dos tipus de sondes construïdes va permetre concloure:

1. *Sondes emprant ISEs*

Es va observar una clara dependència del potencial mesurat amb la temperatura. La construcció d'una sonda amb tres elèctrodes de nitrat i tres termopars, a diferents profunditats, va permetre concloure que la relació existent entre la deriva cíclica presentada pels sensors i la temperatura del sòl era de 4.4 ± 0.5 mV/°C (per períodes on la variació de temperatura era menor a 0.2°C/h) i de 1.0 ± 0.1 mV/°C (per períodes on la variació de temperatura era major a 0.2°C/h). Es va observar com a profunditats de 90cm l'efecte de la temperatura és menyspreable.

2. *Sondes emprant sensors serigrafats*

Gràcies a les mànegues de calibratge de la sonda es van calibrar els sensors directament en el sòl. Es va poder observar que la resposta del sensor depèn de la composició del sòl, de forma que per establir una relació directa entre el potencial i la concentració de la dissolució caldria analitzar el sòl inicialment. En aquest punt, cal emfatitzar la dificultat que hi ha per normalitzar els valors obtinguts amb els sensors, doncs els mètodes d'anàlisi estàndards no ens permeten conèixer la concentració del sòl en l'instant en que es realitzen les mesures amb els sensors.

Amb l'ús dels sensors es va poder observar com efectivament l'addició d'aigua rentava el sòl, provocant la lixiviació temporal dels nitrats addicionats amb anterioritat. L'addició d'una dissolució concentrada provocava dos fronts que ocasionen dos canvis de potencial, deguts a la diferència entre les velocitats de lixiviació de l'aigua i dels ions de la dissolució.

Es va observar la possibilitat de que es formessin bancs de nitrats a profunditats superiors a 60cm.

▪ **Mètodes per determinar la pèrdua d'urea en sòl**

Es demostra la viabilitat d'emprar trampes de gasos instal·lables en camp per tal de retenir l'amoníac gas després al hidrolitzar-se la urea. De les diferents trampes assajades, les que van donar resultats més reproduïbles van ser les que incorporaven dipòsits amb una solució de retenció. Aquestes trampes, minimitzaven el treball de recuperació del nitrogen a analitzar però tenien el problema que presentaven un nivell baix de retenció. Aquest fet es deu a l'ús d'una dissolució poc àcida com és el Tris a pH 7.5. Les trampes que contenien esponges amb àcid fòsfòric 0.63M van permetre retenir grans quantitats d'amoníac, el que les fa idònies per analitzar amb seguretat la pèrdua d'urea del sòl, tot i que l'etapa de recuperació de la dissolució a analitzar és laboriosa.

Per tal d'analitzar les mostres, es van integrar sensors d'amoní de configuració tubular d'amoní en un sistema de flux continu que incorporava un procés de separació per difusió gasosa, evitant els problemes derivats de la limitada selectivitat del sensor enfront els cations alcalins. No es van observar diferències significatives entre les mesures obtingudes potenciomètricament i mitjançant el mètode de referència (Kjeldahl) el que confirma el bon funcionament del sistema proposat que permet minimitzar el pretractament de les mostres, el temps d'anàlisi i els reactius a emprar.