



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA ELÉCTRICA
SECCIÓN DE BIOELECTRÓNICA

Desarrollo de un pH-metro óptico para medidas “*in-situ*”

Tesis que presenta

Ing. Anais Ivonne Gómez Rocha

para obtener el Grado de

Maestra en Ciencias

en la Especialidad de

Ingeniería Eléctrica

Director de la Tesis: Dr. Juan Manuel Gutiérrez Salgado

México, D.F.

Febrero 2016

Desarrollo de un pH-metro óptico para medidas “*in-situ*”

Dedicatorias

Este nuevo logro es en gran parte gracias a ustedes, he logrado concluir con éxito un proyecto que en un principio podría parecer tarea titánica e interminable. Quisiera dedicar mi tesis a ustedes, a las personas que más admiro en este mundo, mis padres Ángel Francisco y Rosa Oralía.

Muchas gracias a aquellos seres queridos que siempre aguardo en mi alma, mi hermano Almir, mi cuñada, sus niños y Alancito.

A mi tío Isaías "Chachito" por su entereza ante la vida y siempre ve el lado positivo a las circunstancias y sobretodo el apoyo que uno tiene que es la familia, sin ellos sería imposible lograr un sueño sin el gusto de estar con los seres amados.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto de tesis.

A la sección de Bioelectrónica del CINVESTAV por haberme dado la oportunidad de aprender, conocer y formarme.

A Dios porque me ha permitido llegar hasta aquí y porque sé que ha estado conmigo en todo momento de mi vida.

A mi padre que me apoyó en todo momento, sin tu amor no hubiese podido lograr todo lo que me he propuesto, te amo papá, soy tu fiel seguidora y apoyarme para seguir ante las circunstancias. A mi madre que ha hecho todo para motivarme, porque sin sus consejos, la motivación, el cariño y el amor que me brinda día a día, no habría logrado este objetivo. Por su gran esfuerzo para salir adelante pese a todo y por el gran ejemplo de vida que es para mí. Gracias mami te amo. Ustedes siempre serán mis pilares en cualquier jornada.

Agradezco a mi director de tesis el Dr. Juan Manuel Gutiérrez Salgado por su esfuerzo y dedicación, quien, con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito. Así mismo le agradezco su apoyo en situaciones en donde me veía con la necesidad de contar con alguien.

Quiero agradecer especialmente a Diana por su apoyo incondicional en momentos de tristezas, ansiedad y más que nada brindarme su amistad. Al igual el apoyo de Luis, por su aporte de ideas y valiosos comentarios. Se merecen muchas y buenas palabras, ya que con ellos he compartido incontables horas de trabajo y buenos ratos, lo cual no tiene precio.

Un especial agradecimiento al Dr. Roberto Muñoz Guerrero por haberme recibido en su grupo de investigación, por sus consejos y su gran sabiduría y paciencia, apoyo y animo que me brindo durante mi estancia donde he podido tener la oportunidad de aprender y acabar una parte de este trabajo.

No puedo olvidar a mis compañeros y amigos Florencio, David, Emilio, Rafa, Esme, Juanita, Hector, Gaspar y Luis Manuel por sus risas gratas desde el propedéutico. Gracias a todos por los momentos que pasamos juntos. A mis compañeros de la generación 2012, en especial a Fátima, Tony y Efrén.

Al resto de mis compañeros de laboratorio 11, Diana, Luis, Toño, Pedro, Raquel, Saraí, Martin, Joaquín, Leo, Miguel, Armando, Lupita y Adriana, a los que han partido y tener la dicha de conocerlos como Michelle, Bere, Araceli, Ismael I, Ismael II y por hacer grata mi estancia en el laboratorio, por compartir conocimientos y experiencias. A los chicos del taller, en especial a Tonatiuh por su apoyo y paciencia en la elaboración de las celdas y Silvino por su apoyo por las placas.

A ti Luis Antonio por tu apoyo y compañía, por escucharme, amarme y ser mi mejor amigo. Porque sabes convertir mi estrés y enojo en alegría y momentos inolvidables. Gracias por aparecer en mi vida de nuevo y enseñarme que si de verdad se quiere algo hay que luchar por ello. Te amo.

Por último, quiero agradecer a los maestros revisores, por sus comentarios y críticas constructivas: Dr. Roberto Muñoz Guerrero y Dr. Berenice Domínguez Cruz.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, mi familia Gómez y Rocha, sin importar en donde estén, quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

Índice

Resumen	xi
Abstract.....	xii
Capítulo 1. Introducción	1
1.1 Planteamiento del Problema	1
1.2 Justificación.....	3
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Estructura de la tesis.....	5
Capítulo 2. Antecedentes.....	6
Antecedentes	6
2.1 El Agua y las soluciones acuosas	6
2.2 Definición del pH	9
2.3 Alternativas para determinar el pH.....	10
2.3.1 Medición Electroquímica empleando un electrodo de pH	11
2.4 Escalas de pH	13
2.5 Sensores en la Química Analítica	15
2.5.1 Sensores Químicos.....	16
2.5.2 Sensores Ópticos	16
2.6 La medida de la radiación electromagnética	20
2.7 Espectrofotometría	21
2.8 Fuente de radiación electromagnéticas.....	24
2.9 Absorbancia	25
2.10 Técnicas de Análisis de Datos	27
2.10.1 Análisis de Componentes Principales	28
2.10.2 Redes Neuronales Artificiales	30
2.11 Estado del Arte en las mediciones de pH con métodos ópticos	34

Capítulo 3. Desarrollo	38
3.1 Diseño y construcción de la solución propuesta.....	38
3.1.2 Recepción de Luz	41
3.1.3 Regulador de corriente para iluminación LEDs	42
3.1.3 Regulador de corriente para iluminación LEDs	43
3.1.4 Interruptores de LEDs	46
3.1.5 Control del sistema óptico con Arduino	46
3.1.6 Alimentación del sistema.....	47
3.1.7 Cargador LiPo miniUSB	47
3.1.8 Salida de los datos	48
3.1.9 Unión del sistema propuesto.....	48
3.2 Reactivos.....	49
3.2.1 Descripción de la preparación de muestra	50
3.3 Procesamiento de las Bases de datos	51
Capítulo 4. Aplicaciones y Resultados.....	52
4.1 Señales de Absorbancia.....	52
4.2 Discriminación de Indicadores colorimétricos.....	55
4.2.1 Análisis PCA	55
4.3 Análisis ANN	59
4.4 Comparación del pH-metro óptico realizado con el pH-metro comercial.....	67
Capítulo 5. Conclusiones y trabajo futuro	71
Apéndices	73
Apéndice A1.....	74
Apéndice A2.....	77
Apéndice A3.....	78
Apéndice A4.....	79
REFERENCIAS.....	80
ANEXOS	84
ANEXO 1.....	85
ANEXO 2.....	90
ANEXO 3.....	91

Índice de figuras

Fig. 1. Auto ionización del Agua.....	6
Fig. 2. Disociación sencilla del agua.	7
Fig. 3. Tiras Reactivas de pH	10
Fig. 4. Par de electrodos.	12
Fig. 5. Clasificación de los sensores y transductores.....	15
Fig. 6. Crecimiento en el uso de sensores químicos.	16
Fig. 7. Mercado Potencial de los sensores Fotónicos en el 2009.....	17
Fig. 8. Esquema de los sensores ópticos.....	18
Fig. 9. Espectro visible, UV-visible-IR.	20
Fig. 10. Esquema Básico de un Espectrofotómetro.	21
Fig. 11. Escala de fotómetro básico	27
Fig. 12. Arquitectura de una ANN.....	31
Fig. 13. Distribución de las muestras con respecto a las longitudes de ondas	39
Fig. 14. Diagrama a bloques del sistema óptico (Flecha negra haz de luz seleccionado y flecha azul control electrónico).	39
Fig. 15. Distribución del Diagrama Shield MegaArduino (arriba).....	40
Fig. 16. TSL254r de TAOS.....	42
Fig. 17. Gráfica que muestra la relación del Voltaje vs Ciclo de trabajo.....	43
Fig. 18. Esquemático del driver LM3432 para 6 LEDs (@20 mA).....	44
Fig. 19. Gráfica que muestra la relación de Intensidad vs Ciclo de trabajo obtenido con el LM3436.....	45
Fig. 20. P2 Relay V23079	46
Fig. 21. Diagrama eléctrico del cargador de batería Li.Po.	48
Fig. 22. Sistema propuesto.....	49
Fig. 23. Muestras de pH.	50
Fig. 24. Tiras Reactivas CRISA.....	51

Fig. 25. Cubetas patrón-analito	52
Fig. 26. Señales de Absorbancia obtenidas de las 10 pruebas realizadas a cada una de las soluciones preparadas para longitud de onda $\lambda_1=472$ nm.	53
Fig. 27. Señales de Absorbancia obtenidas de las 10 pruebas realizadas a cada una de las soluciones preparadas para la longitud $\lambda_2.=532$ nm	54
Fig. 28. Señales de Absorbancia obtenidas de las 10 pruebas realizadas a cada una de las soluciones preparadas para la longitud $\lambda_3.=638$ nm	54
Fig. 29 Modelo ANN-A,B. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha).....	61
Fig. 30. Modelo ANN-C,D,E. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha).....	62
Fig. 31. Modelo ANN-F,G,H,. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha).....	63
Fig. 32. Modelo ANN-I,J,K,. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha).....	64
Fig. 33. Modelo ANN-Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha)	65

Índice de tablas

Tabla 1. Indicadores ácido-base	11
Tabla 2. Concentraciones de iones de hidrogeno $H +$ e iones de hidróxido $OH -$..	13
Tabla 3. Comparativa de algunos sistemas comerciales de pH	14
Tabla 4. Ventajas e inconvenientes de los sensores ópticos.	19
Tabla 5. Principales clases de métodos espectro-químicos	22
Tabla 6. Características de las fuentes de radiación	24
Tabla 7. Características ópticas de las fuentes de luz	41
Tabla 8. Indicadores Colorimétricos propuestos	49
Tabla 9. Soluciones de los Reactivos.....	51
Tabla 10. Comportamiento del pH en cada uno de los indicadores colorimétricos utilizando PCA.....	56
Tabla 11. Modelos combinados de Indicadores Colorimétricos	58
Tabla 12. Datos de normalización para el set de indicadores.	59
Tabla 13. Arreglos Matriciales	60
Tabla 14. Parámetros de la regresión lineal de los modelos A-L	66
Tabla 15. Registro de pH del sistema óptico	68
Tabla 16. Registro de pH del sistema comercial	69
Tabla 17. Comparativas de errores en el sistema óptico y sistema comercial	70

Resumen

El pH es un parámetro clave para una amplia gama de aplicaciones que van desde el tipo medio ambiental hasta las de carácter industrial y biomédico. En términos generales, la determinación del pH es primordial en áreas relacionadas con las ciencias de la vida, la industria alimentaria, la investigación farmacéutica y el estudio de suelos y aguas del planeta, por nombrar unos pocos.

Tradicionalmente la determinación del pH se ha realizado mediante técnicas electroquímicas en donde suelen emplearse sensores con alta especificidad. Sin embargo, dichos procesos presentan algunas desventajas que deben tenerse en cuenta en las fases de medición relacionadas con el monitoreo continuo. Estas limitaciones pueden eludirse si la detección se realiza mediante el uso de sensores de detección óptica.

La detección óptica en los métodos analíticos, brinda la posibilidad de simplificar las medidas (al no necesitar de un electrodo de referencia), pero también permite realizar registros con alta estabilidad a largo plazo, sensibilidad y selectividad. Al respecto, los diodos emisores de luz (LED) están siendo empleados para la detección de sustancias dentro del ámbito de la Química Analítica. Los sistemas analíticos basados en esta tecnología poseen numerosas ventajas frente a los sistemas tradicionales al permitir el desarrollo de sistemas de detección más rápidos, robustos y económicos.

Considerando lo anterior, la presente tesis presenta el desarrollo de un sistema óptico basado en LEDs y la utilización de indicadores colorimétricos como medio de contraste, para la detección óptica del pH en muestras líquidas de volúmenes reducidos por medio de la detección de la absorbancia. La propuesta del trabajo tiene por fin establecer un sistema óptico que permita medidas *in situ* y tiempo real.

El sistema diseñado se opera mediante la plataforma de Arduino® y las señales de absorbancia obtenidas son procesadas mediante redes neuronales artificiales programadas en entorno Matlab®. Los valores de pH determinados por sistema diseñado fueron comparados con un pH-metro comercial obteniendo errores cuadráticos medios del orden de 0.056 lo que indica la exactitud del sistema.

Abstract

The pH is an important parameter for a wide range of environmental, industrial or biomedical application. Generally, the determination of pH is essential in areas associated with life sciences, food industry pharmaceutical research and the analysis of soil and water of the Earth, to mention a few examples.

Traditionally, the determination of pH was performed by using electrochemical techniques, where sensors with high specificity are often used. However, these processes have some disadvantages to be considered in measuring phases related to continuous monitoring. These limitations can be circumvented if the detection is performed by using optical detection sensors..

The optical detection in analytical methods provides the possibility of simplify the measures (due to it does not require a reference electrode), but also allows recorded with high stability long-term, sensitivity and selectivity. In this regard, the light-emitting diodes (LEDs) are being used to detect substances in the field of analytical chemistry. The analytical systems based on this technology have many advantages over traditional systems by allowing systems development faster, robust and economical detection.

Considering the above mentioned, in this thesis, the development of an optical system based on LEDs and using color indicators such as contrast medium for optical pH detection in liquid samples of reduced volumes by means of absorbance detection is described. The proposed work aims to establish an optical system that allows carry-out measures in-situ and in real-time.

The designed system is operated by Arduino® platform and the absorbance signals obtained are processed using artificial neural network programmed in Matlab (R).The pH values determined by the designed system were compared with a

commercial pH-meter, the mean square error of 0.056 indicate the accuracy of the designed system.

Capítulo 1. Introducción

1.1 Planteamiento del Problema

La determinación del pH es uno de los procedimientos analíticos más importantes y usados en ciencias tales como química y la bioquímica. El pH es una medida utilizada para evaluar la acidez o alcalinidad de una sustancia generalmente en su estado líquido. El potencial de Hidrógeno (pH) mide la concentración de iones de hidronio $[H_3O]^+$ presentes en determinadas disoluciones.

El pH es un parámetro clave para una amplia gama de aplicaciones que van desde el tipo medio ambiental hasta las de carácter industrial y biomédico. En términos generales, la determinación del pH es primordial en áreas relacionadas con las ciencias de la vida, la industria alimentaria, la investigación farmacéutica y el estudio de suelos y aguas del planeta, por nombrar unos cuantos.

El método más difundido en la actualidad para medir el pH se basa en un proceso electroquímico que requiere de un electrodo combinado de pH (basado en un electrodo de referencia de Ag/AgCl y un electrodo de membrana de vidrio). Un electrodo de pH es fiable y fácil de manejar, tiene un costo relativamente bajo y facilita mediciones rápidas y puntuales. Los sistemas electrónicos con los que suele acoplarse, permiten una calibración de al menos dos puntos con lo que pueden analizarse muestras en un rango amplio de trabajo. Sin embargo, a pesar de estas ventajas, existen desventajas relacionadas con las dimensiones y el diseño rígido del electrodo de pH, la susceptibilidad del mismo a las interferencias eléctricas y a ciertos analitos agresivos que pueden limitar su utilidad.

Del mismo modo, la fragilidad mecánica de su estructura, el constante mantenimiento y su uso poco recomendado para mediciones a largo plazo debido a

las fluctuaciones en el potencial de la señal, impide que se adapte bien para medir en volúmenes de muestra pequeños y en tareas de monitoreo continuo.

Con el desarrollo de métodos ópticos en la química, se abre la posibilidad no solo de simplificar las medidas (al no necesitar de un electrodo de referencia), sino también se obtiene ventaja de su alta inmunidad a las interferencias eléctricas y electromagnéticas. El diseño de un sistema óptico para determinar el pH resulta atractivo, al integrar características tales como la capacidad de realizar mediciones continuas, un bajo consumo de energía y posibilidad de miniaturización.

1.2 Justificación

Hoy en día, diferentes sistemas analíticos diseñados para la determinación de compuestos presentes en líquidos y gases, basan su operación en técnicas espectrofotométricas que emplean diodos emisores de luz (LEDs) de los cuales obtienen beneficios tales como un bajo consumo de energía y dimensiones reducidas.

Por ello, el diseño de un sistema óptico para la determinación del pH resulta atractivo, al integrar características tales como la capacidad de realizar mediciones continuas, en un instrumento de características portátiles, de bajo costo, mantenimiento mínimo y capaz de implementar las pruebas de determinación de pH en volúmenes reducidos de muestra.

En este trabajo se propone el diseño de un sistema óptico-portable para la medición del pH, basado en el principio de absorbancia de una sustancia. La medida de absorbancia se usa con frecuencia en la química analítica y en bioquímica, debido a que su magnitud es proporcional al paso óptico en la muestra y a la concentración de la sustancia en ésta. Las variaciones de su magnitud están relacionadas tanto con la composición iónica de la sustancia como de sus concentraciones independientemente de su volumen.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Diseñar y construir un pH-metro óptico portable que permita realizar determinaciones de pH en volúmenes pequeños de muestras líquidas, con el fin de realizar tareas de monitoreo continuo *in-situ*. El sistema deberá permitir medidas de pH en los rangos típicos de cualquier pH-metro comercial de membrana de vidrio.

1.3.2 Objetivos específicos

- En base a un análisis de diferentes longitudes de onda distintas, seleccionar la adecuada para determinar el valor de pH de una sustancia.
- Medir la absorbancia de una muestra a partir de la excitación de las longitudes de onda propuestas, para posteriormente relacionar su magnitud con el valor de pH, mediante un procesamiento inteligente de señal.
- A partir de las pruebas realizadas, establecer el volumen de muestra mínimo con el que el sistema es capaz de determinar pH correctamente.
- Realizar una comparativa entre las determinaciones de pH obtenidas con el pH-metro desarrollado y uno comercial, así como con tiras reactivas desechables a fin de corroborar su operación.
- Definir un protocolo para mediciones empleando el sistema óptico, que incluya un proceso de calibración que asegure una medida correcta de pH en muestras reales.

1.4 Estructura de la tesis

La presente tesis se encuentra dividida en 5 capítulos organizados de la siguiente forma:

En el capítulo 1 se han expuesto el planteamiento del problema, junto con la justificación del trabajo y se han establecido los objetivos a alcanzar en este trabajo.

El capítulo 2 corresponde al marco teórico y antecedentes para la determinación del pH. Se da un panorama general de la clasificación de los tipos de sensores haciendo especial énfasis a los sensores ópticos. De igual forma se presenta las diferentes fuentes de radiación electromagnéticas utilizadas aplicando a sensores ópticos. También se describe la técnica teórica de PCA para el procesamiento del conjunto de datos presentadas en este trabajo.

En el capítulo 3 incluye la solución propuesta y se describen a detalle la elaboración de las muestras buffers manejadas, así como la construcción del sistema propuesto. Así como también, las condiciones experimentales para la obtención de cada una de ellas. Además, se explica la metodología y las herramientas empleadas para su análisis.

El capítulo 4 muestra los resultados conseguidos por cada modelo generado a partir de la metodología descrita en el capítulo 3 y se presentan las comparativas pertinentes entre los modelos propuestos, así como la discusión de los mismos.

Finalmente, las conclusiones generadas por la realización de este trabajo son presentadas en el capítulo 5.

Capítulo 2. Antecedentes

Antecedentes

2.1 El Agua y las soluciones acuosas

El agua es una sustancia versátil que actúa como un medio para muchas reacciones, por lo que se le nombra a menudo como “el solvente universal”. Aunque el agua pura es un mal conductor de la electricidad, las impurezas que contiene de forma natural la transforman en un relativamente buen conductor.

Las moléculas de agua están en movimiento continuo, incluso a temperaturas muy bajas. Cuando dos moléculas de agua chocan, un ion de hidrogeno se transfiere de una molécula a la otra, ver figura 1. La molécula de agua que pierde al ion hidrogeno se convierte en un ion hidróxido cargado negativamente. La molécula de agua que gana el ion hidrogeno se convierte en un ion hidronio cargado positivamente. Este proceso se conoce comúnmente como la auto-ionización del agua.

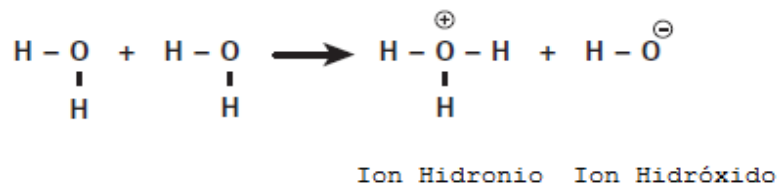


Fig. 1. Auto ionización del Agua.

Esta reacción se puede escribir como una disociación sencilla. Ver figura 2.

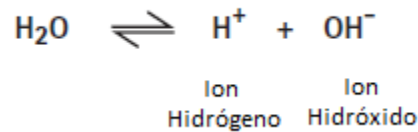


Fig. 2. Disociación sencilla del agua.

En todas las otras soluciones acuosas, las concentraciones relativas de cada uno de estos iones son desiguales. Cuando se añade más de un ion a la solución, la concentración de la otra disminuye. La Ecuación (1) describe esta relación:

$$[\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1 \times 10^{-14} \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right)^2 = K_w \quad (1)$$

El producto del hidrógeno y iones hidróxido es siempre igual a $1 \times 10^{-14} \left(\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right)^2$. Por lo tanto, si aumenta la concentración de un ion en un factor de 10, entonces la concentración del otro ion debe disminuir por un factor de 10 dado que esta relación es constante, se le da el símbolo de K_w , conocido como el producto iónico constante para el agua.

Las soluciones acuosas que tienen una concentración de iones de hidrógeno mayor que la concentración de iones hidróxido se denominan soluciones ácidas. Cuando la concentración de iones hidróxido es mayor que la concentración de iones de hidrógeno, la solución se llama básica o alcalina. Las soluciones acuosas son mezclas homogéneas de sustancias en iguales o distintos estados de agregación en las que el solvente generalmente es agua. Las soluciones acuosas son las más comunes en la mayoría de los campos científicos, desde los relacionados con la medicina hasta los asociados con la industria química y de alimentos. Algunas de sus propiedades más importantes son la concentración, temperatura y pH. Dentro de las ventajas de utilizar métodos ópticos para obtener

los parámetros de las soluciones, se encuentran que son una técnica no invasiva, fácil adquisición de datos y control.

Muchos de los procesos bioquímicos tienen problemas debidos principalmente a pequeños cambios en las concentraciones de iones de hidrógeno $[H^+]$ por lo que es necesario estabilizar la concentración de $[H^+]$ *in vitro* mediante la adición de un buffer adecuado al medio que no afecte al sistema. Si el pH de una solución permanece constante al agregarle cantidades pequeñas de ácidos o bases fuertes, se dice que la solución esta amortiguada [1]. Se conoce como buffer o solución amortiguada a aquellas sustancias que tienen la particularidad de que al ser agregadas al agua generan un sistema que ante la adición de ácidos o de álcalis, su valor de pH se modifica muy poco.

2.1.1 Actividad frente a la concentración de iones de hidrógeno $[H^+]$

En la determinación electroquímica del pH, los electrodos de vidrio empleados son sensibles a la actividad de los iones de hidrógeno de una solución. En consecuencia, la concentración de hidrógeno no es el único factor que influye en la determinación del pH. La concentración de otras especies químicas en la solución, o la fuerza iónica de la solución, es también una gran influencia en la medición del pH.

El término “fuerza iónica” [2] se utiliza para describir la cantidad de especies iónicas presentes en una solución, así como la magnitud de la carga en ellas. La presencia de iones externos en la solución tiende a limitar la movilidad del ion de hidrógeno, disminuyendo así su actividad de $[H^+]$. La ecuación 2 describe matemáticamente el efecto de esta actividad:

$$pH = -\log\{[H^+] \times [f]\} \quad (2)$$

Donde f es el coeficiente de actividad.

En soluciones en las que la fuerza iónica es muy baja, el coeficiente de actividad es de 1.00 por lo que la actividad del ion de hidrogeno es igual a su concentración. A medida que la fuerza iónica de una solución aumenta, el coeficiente de actividad disminuye. Esto tiene el efecto de disminuir la actividad del ion hidrogeno, que es visto como un aumento en el pH.

De igual forma, es conveniente mencionar que la temperatura afecta la medición del pH por la resistencia del electrodo de vidrio, debido que este es un conductor iónico y la resistencia del cristal cambiará a medida que cambia la temperatura de la solución. El valor de la resistencia del electrodo de medición se basa en una serie de influencias: temperatura de la solución, la formulación y espesor del vidrio, la forma de la punta del electrodo de medición, el área de superficie de medición y el estado físico de la capa del gel hidratado.

2.2 Definición del pH

El pH es la medición de la concentración de iones de hidrogeno [H^+]. La unidad de pH mide el grado de acidez o basicidad de una solución. Cada solución acuosa se puede medir para determinar su valor de pH dentro de un rango que varía de 0 a 14 (escala de pH).

Los valores por debajo de pH 7 presentan propiedades acidas. Los valores por encima de pH 7 tienen propiedades alcalinas. El pH 7 es el centro de la escala de la medición, no es ni ácido ni básico, por lo tanto, es llamado "neutro". El pH se define como el logaritmo negativo del ion de hidrógeno de concentración. Esta definición de pH se introdujo en 1909 [2] por el bioquímico danés, Soren Peter Lauritz Sorensen. El pH se expresa matemáticamente como:

$$pH = -\log[H^+] \quad (3)$$

Si la $[H^+]$ es mayor que $[OH^-]$ es ácido, si $[H^+]$ es menor que $[OH^-]$ es alcalino, si ambas son iguales las soluciones son neutras.

2.3 Alternativas para determinar el pH

Aunque el método electroquímico para la medición de pH en una solución acuosa es el más difundido, existen métodos alternativos para su determinación [2]:

- Tiras reactivas: son materiales que están específicamente diseñados para cambiar de color cuando se expone a diferentes valores de pH. El color del papel humedecido por la muestra corresponde con un color de la carta de colores para inferir a un valor de pH. El papel de pH está disponible para rangos de pH estrechos (por ejemplo 3.0-5.5 de pH, de 4.5-7.5 y de 6.0-8.0) y a rangos de pH bastante amplios de 1.0-11.0. Este tipo de papel se usa típicamente para medir el volumen pequeño y preliminar de una muestra (ver figura 3).



Fig. 3. Tiras Reactivas de pH

- Colorímetros: estos dispositivos utilizan un vial apropiado en la muestra, a la que se añade un reactivo. La adición de un reactivo produce un cambio de color en la muestra. El color de la solución se compara entonces con una rueda de colores estándar o espectral para interpolar el valor de pH. Normalmente se utiliza para determinar el valor de pH del agua en piscinas,

spas, torres de refrigeración y calderas, así como las aguas de lagos y ríos. En la tabla 1 se muestra la diversidad de indicadores colorimétricos para medir intervalos de pH [3].

Tabla 1. Indicadores ácido-base

Indicador	Color ácido	pH viraje	Color básico
Amarillo de alizarina GG	Amarillo claro	10.0-12.1	Rojo castaño
Azul de bromofenol	Amarillo	3.0-4.6	Violeta
Azul de bromotimol	Amarillo	6.0-7.6	Azul
Fenolftaleína	Incoloro	8.2-9.8	Violeta/Rosa
m-Cresolpúrpura	Amarillo	7.4-9.0	Púrpura
Naranja de metilo	Rojo	3.1-4.4	Amarillo naranja
Púrpura de bromocresol	Amarillo	5.2-6.8	Púrpura
Rojo congo	Azul Violeta	7.0-8.8	Rojo Naranja
Rojo de bromofenol	Naranja amarillo	6.4-8.2	Púrpura
Rojo cresol	Amarillo	4.4-6.2	Púrpura
Rojo de fenol	Amarillo	6.4-8.0	Rojo
Rojo de metilo	Rojo	8.6-10.0	Amarillo Naranja
Rojo neutro	Azul Rojizo	5.0-8.0	Naranja amarillo
Timolftaleína	Incoloro	8.6-10.0	Azul
Tornasol	Rojo	5.0-8.0	Azul
Violeta de metilo	Amarillo	0.1-1.6	Azul/violeta
Verde de bromocresol	Amarillo	3.8-5.4	Azul
Rojo de Metilo/Verde de bromocresol	Rojo	4.4-5.2	Verde
Indigo carmine	Azul	11.4-13.0	Amarillo

- pH-metro: es un sistema sensor que basa su funcionamiento en el método electroquímico para medir el pH de una solución. En la sección 2.3.1 se explicará a detalle la técnica mencionada.

2.3.1 Medición Electroquímica empleando un electrodo de pH

La medición electroquímica de pH utiliza dispositivos que convierten la actividad química de los iones de hidrógeno en una señal eléctrica. El método más utilizado para la medición de pH es el electrodo de membrana de vidrio como se ilustra en la figura 4. Un medidor de pH mide la diferencia de potencial eléctrico (voltaje) que se desarrolle entre un electrodo de membrana de vidrio (o también llamado electrodo activo) y un electrodo de referencia (también se conoce como un electrodo estándar). El electrodo de vidrio consta de un delgado bulbo de vidrio

(silicato o aluminosilicato tridimensional hidratado) sensible al pH, de composición química cuidadosamente controlada.

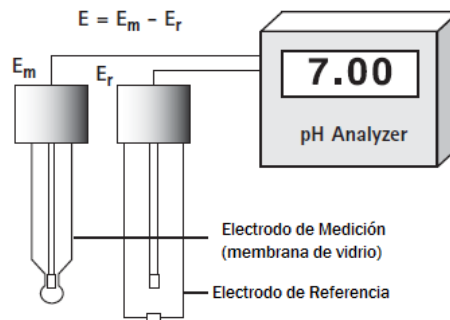


Fig. 4. Par de electrodos.

Cuando el vidrio sensible al pH entra en contacto con un líquido, se forma en la superficie una capa delgada de gel hidratado lo cual permite el intercambio de iones entre la superficie del vidrio y la muestra líquida. En la superficie del vidrio se forma el denominado potencial de Nernst. Si ambas caras del vidrio están en contacto con los líquidos, puede detectarse una tensión entre los potenciales de las dos superficies. Dicha tensión guarda correlación con la diferencia en la concentración de iones H^+ y, por consiguiente, con la diferencia de los valores de pH en ambos líquidos.

Este tipo de medición se le conoce como una medición potenciométrica y generalmente se encuentra en el orden de mili volts (mV). Puesto que los dispositivos de medida de tensión sólo determinan diferencias en los potenciales, no existe un método para determinar el potencial de un solo electrodo. Un circuito de medición galvánica se forma conectando el electrodo de medición y el electrodo de referencia a la entrada de señal del dispositivo de medición.

La salida de tensión galvánica producida por un electrodo de medición dependerá de la actividad iónica de las especies para las que el electrodo fue diseñado. En el caso de electrodos de pH, es la actividad del ion hidrógeno, definiendo el principio básico de la medición de pH.

Actualmente los electrodos de pH son construidos de forma combinada, en ellos se unen físicamente el electrodo de vidrio con uno de referencia dentro de un mismo cuerpo físico.

2.4 Escalas de pH

En la tabla 2 se muestra las concentraciones de $[H^+]$ y $[OH^-]$ [2]. El valor de pH corresponde al número de lugares decimales bajo la columna de $[H^+]$.

Tabla 2. Concentraciones de iones de hidrogeno $[H^+]$ e iones de hidróxido $[OH^-]$

$[OH^-]$ (mol/L)	pH	$[H^+]$ (mol/L)	Ejemplo	Clasificación
1×10^{-14}	0	1	HCl	Ácidos
1×10^{-13}	1	0.1	Acido estomacal	
1×10^{-12}	2	0.01	Jugo de limón	
1×10^{-11}	3	0.001	Vinagre	
1×10^{-10}	4	0.0001	Refresco	
1×10^{-9}	5	0.00001	Agua de lluvia	
1×10^{-8}	6	0.000001	Leche	
1×10^{-7}	7	0.0000001	Agua pura	Neutral
1×10^{-6}	8	0.00000001	Claras de huevo	Bases
1×10^{-5}	9	0.000000001	Levadura	
1×10^{-4}	10	0.0000000001	Antiácidos	
1×10^{-3}	11	0.00000000001	Amoniaco	
1×10^{-2}	12	0.000000000001	Caliza Mineral - $Ca(OH)_2$	
1×10^{-1}	13	0.0000000000001	Drano®	
1×10^0	14	0.00000000000001	NaOH	

Los equipos comerciales para la medición de pH se destacan por su relación calidad/precio, por lo que se pone a disposición una tabla comparativa de algunos sistemas existentes que permiten la medición *in-situ*. Se incluye el tipo de método de detección y la consideración de variables asociadas a la fluctuación del pH. Ver tabla 3.

Tabla 3. Comparativa de algunos sistemas comerciales de pH

Instrumento de Medición		Características				
Marca	Modelo	Método de detección	Temperatura	Presión	Comunicación	Peso
<i>SeaBirds Electronics Inc.</i>	SBE 27 pH/O.R.P. (Redox) Sensor	Referencia/Vidrio	No	No	S/C	-
<i>YSI Inc.</i>	pHotoFlex pH Colorimeters	Referencia/Vidrio	Si	Si	USB	0.6 kg
	SMARTROLL™ RDO® Handheld	Referencia/Vidrio	Si	Si	USB	255 g
	Pro1020	Referencia/Vidrio	Si	Si	USB	475 g
<i>Metrohm</i>	826 pH mobile	Referencia/Vidrio	Si	No	Rs232	-
	780 pH Meter	Referencia/Vidrio	No	No	Rs232	-
<i>Ocean Optics</i>	In-situ transmissive pH sensors	Colorimétrica	Si	No	USB	-
	Nonintrusive reflective pH sensors	Reflectancia	Si	No	USB	-
<i>Biotech</i>	Sartorius Stedim Biotech	Fibra óptica	Si	No	S/C	-
<i>CellPhase</i>	NoInvasive pH sensors	Excitación dual	Si	No	USB	-
Hash	Hash One	Referencia/Vidrio	Si	No	S/C	-

2.5 Sensores en la Química Analítica

Los sensores constituyen el primer y más importante eslabón de la cadena de medida, si su aportación es deficiente, las etapas subsecuentes presentaran fallas. Un importante requisito que deben cumplir los sensores es que proporcionen información de forma continua y en tiempo real, al igual que lo hacen los sentidos del cuerpo humano. Los sensores son dispositivos que transforman la información física o química en una señal útil que pueda ser procesada, además de que proporcionan la información de una manera rápida sin necesidad de análisis complejos [4]. En un sentido más amplio, el uso de los sensores no se limita solamente a la medición o la detección de cantidades físicas, también pueden ser empleados para medir o detectar propiedades químicas, biológicas, ópticas, etc. En la figura 5 se puede apreciar la clasificación existente de los sensores y transductores [5], del cual se hace énfasis en los sensores ópticos, ya que es base fundamental de este trabajo.

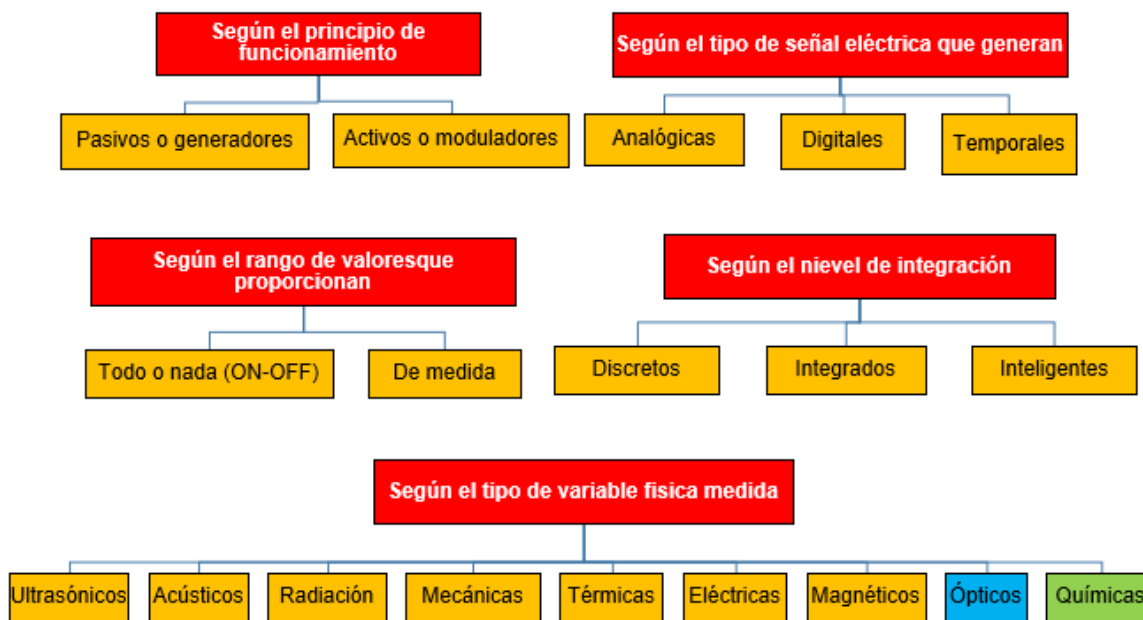


Fig. 5. Clasificación de los sensores y transductores.

2.5.1 Sensores Químicos

Los primeros sensores químicos surgen a principios del siglo XX [6, 7], pero su aplicación en el campo industrial es limitada debido a que su fabricación en mayor medida continua sigue siendo artesanal y por lo tanto su costo es elevado, en la figura 6 se muestra datos sobre el porcentaje de crecimiento previsto en los próximos 20 años [8]. Dentro de este grupo, los biosensores son dispositivos que se están convirtiendo en una de las técnicas de diagnóstico más importantes en el ámbito clínico y tienen importantes aportes en áreas asociadas a la vigilancia del medio ambiente debido a su rapidez, especificidad, facilidad de fabricación masiva y su relativo bajo costo.

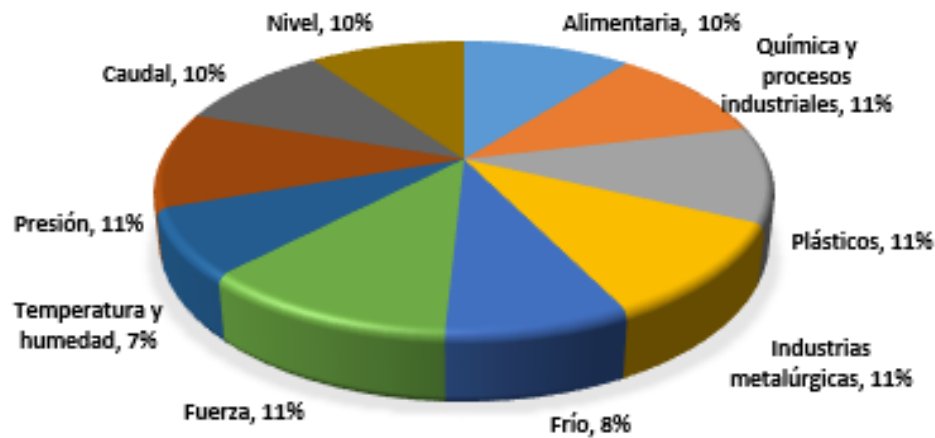


Fig. 6. Crecimiento en el uso de sensores químicos.

2.5.2 Sensores Ópticos

La aparición de las nanotecnologías está teniendo un efecto positivo sobre el desarrollo de los sensores optoelectrónicos y muy probablemente los sensores integrados a nanoescala terminaran revolucionando la atención médica, el monitoreo del clima y la detección de sustancias tóxicas. Según Michael Leby, Presidente de la Asociación de la Industria de Desarrollo Optoelectrónica OIDA [9], el mercado potencial para los sensores fotónicos en el área médica para el año

2009, muestra una alta inversión respecto a los sensores químicos tradicionales, ver figura 7.

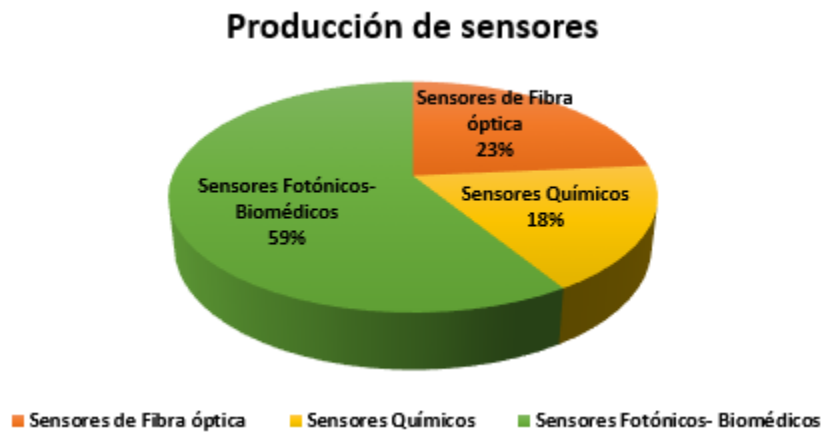


Fig. 7. Mercado Potencial de los sensores Fotónicos en el 2009

Esta tendencia de los dispositivos fotónicos de diagnóstico es justificable debido a que su constante desarrollo promueve la miniaturización, portabilidad, eficiencia energética y producción costeable, haciendo que su uso en aplicaciones biomédicas sea más atractivo.

De manera general, un sensor óptico es aquel que es capaz de detectar diferentes factores a través de un lente óptico y basa su transducción en el aprovechamiento de la interacción entre la luz y la materia para determinar las propiedades de ésta. Las complejidades de los sensores ópticos varían considerablemente en función de la aplicación.

La figura 8 muestra un esquema de la clasificación de los sensores ópticos más utilizados, atendiendo diversos aspectos [10]:

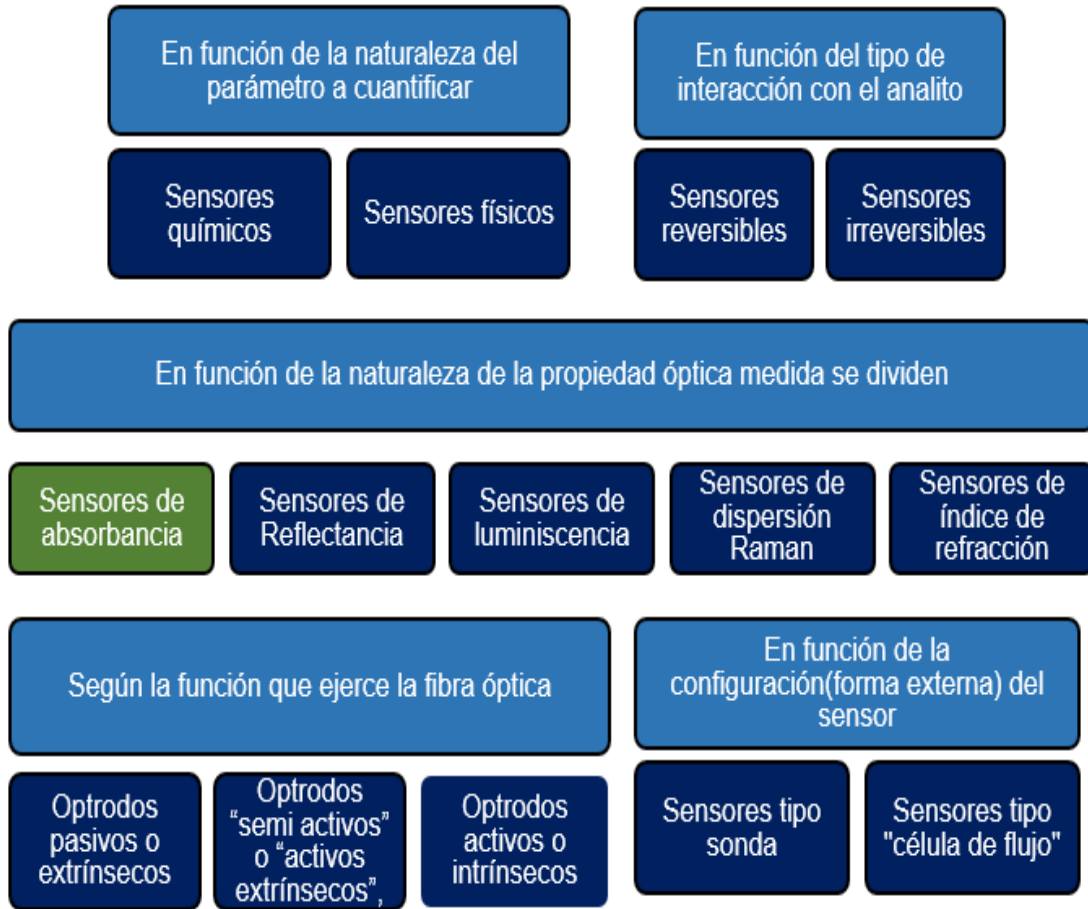


Fig. 8. Esquema de los sensores ópticos.

2.5.2.1 Ventajas e inconvenientes de los sensores ópticos

Los sensores ópticos, de más reciente aplicación que los electroquímicos, muestran ciertas ventajas sobre éstos, sobre todo en algunos campos concretos de aplicación, en contraparte existen problemas al utilizarlos. Estas ventajas y desventajas[11, 12] desventajas se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Ventajas e inconvenientes de los sensores ópticos.

Ventajas	Desventajas
No requieren de una señal de referencia como los electroquímicos.	La interferencia de la luz ambiental obliga aislar adecuadamente las terminales sensibles o a modular la señal.
Posibilidades de control a distancia de lugares poco accesibles físicamente	La fotosensibilidad del material, empleando aquellos sensores que utilizan reactivos para el reconocimiento del analito, sobre todo en los casos en que deben de estar expuestos a la radiación electromagnética durante un largo periodo de tiempo, con el fin de realizar en continuo la medida de un determinado analito.
El uso de fibras ópticas puede transmitir mucha más información que un cable eléctrico.	
Bajo coste y tecnología bien establecida.	
Las señales ópticas determinan: λ , Φ , polarización, intensidad, tiempo de decaimiento.	Los accesorios comerciales para los sistemas ópticos todavía no están optimizados ni estandarizados.
Facilidad de miniaturización	
Métodos de análisis no destructivos/invasivos.	
No está sujeto a interferencias eléctricas.	Una de las principales desventajas que presentan los optrodos, es que no miden actividad, sino concentración, siendo por ello su señal analítica fuertemente dependiente de la fuerza iónica del medio.
Capacidad de conformar redes espaciales de sensores para el control de parámetros en grandes superficies.	

2.6 La medida de la radiación electromagnética

Los sensores ópticos utilizan como estímulo físico la radiación electromagnética y todos los métodos ópticos de análisis químico se basan en la interacción de ésta con la materia. Las utilizaciones de los sensores ópticos cubren diferentes regiones del espectro (ver figura 9).

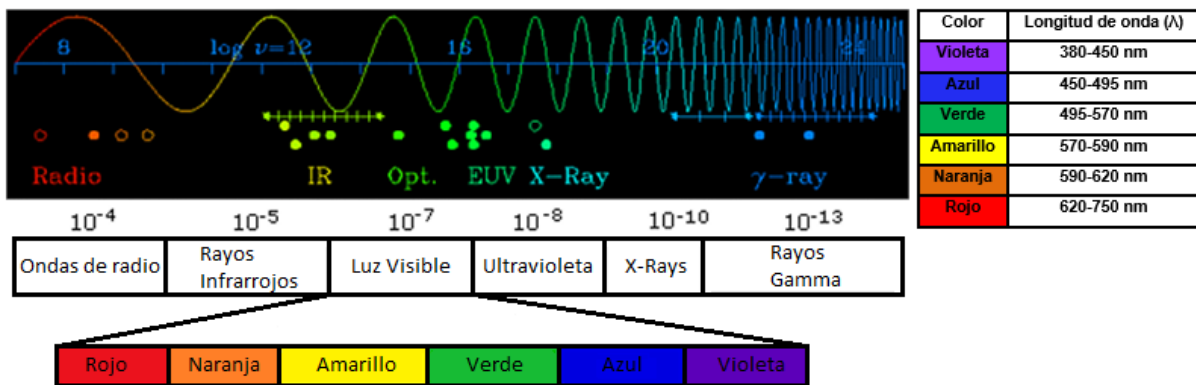


Fig. 9. Espectro visible, UV-visible-IR.

El espectro visible de luz es el espectro de radiación electromagnética que es visible para el ojo humano. Va desde una longitud de onda de 400 nm hasta 700 nm. Además, también se conoce con otro nombre: el espectro óptico de la luz.

La información que se extrae de la radiación electromagnética con objeto de cuantificar determinados parámetros, suele estar asociada con la intensidad (flujo de energía por unidad de área en unidad de tiempo). Sin embargo, de un haz de radiación es posible extraer más información que solo su intensidad; existiendo magnitudes relacionadas con la fenomenología óptica, tales como el índice de refracción y las variaciones de la luz, donde se involucra la reflectancia, luminiscencia, fluorescencia y absorbancia.

2.7 Espectrofotetría

El término espectrofotetría se refiere al uso de la luz para medir las concentraciones de sustancias químicas. Cuando una molécula absorbe un fotón, su energía se incrementa. Se dice que pasa a un estado excitado. Si por el contrario emite un fotón, su energía disminuye. El estado de menor energía de una molécula se denomina estado basal o fundamental. En la figura 10 se describe un esquema básico de un espectrofotómetro

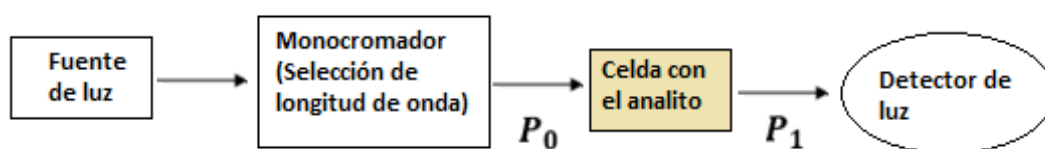


Fig. 10. Esquema Básico de un Espectrofotómetro.

Una fuente de luz se hace pasar por un monocromador. Éste permite seleccionar un haz de luz con una única longitud de onda. Este haz de luz monocromática incide sobre una celda de ancho b que contiene la solución con el analito. Si la solución absorbe la luz, la potencia radiante incidente P_0 del haz de luz disminuye al emerger de la celda. Los valores de la potencia radiante emergente P_1 tienen que cumplir necesariamente la siguiente relación:

$$P_1 \leq P_0 \quad (4)$$

Como se muestra en la tabla 5, los métodos espectroquímicos se clasifican en cuatro categorías [13]. Cada una de ellas, requieren la medida de la potencia radiante, P_R , que es la energía de un haz de radiación que alcanza un área dada por segundo.

Tabla 5. Principales clases de métodos espectro-químicos

Clase	Medida de la potencia de Radiación	Relación con la concentración	Emisión atómica
Emisión	Emitida, P_e	$P_e=kc$	Emisión Atómica
Luminiscencia	Luminiscente, P_i	$P_i=kc$	Fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia atómica y molecular
Dispersión	Dispersada, P_d	$P_d=kc$	Dispersión Raman, turbidimetría y Nefelometría
Absorción	Incidente P_0 y Transmitida P_1	$-\log P_1/ P_0 =kc$	Absorción atómica y molecular

En los instrumentos modernos, P_R , se determina con un detector de radiación que convierte la energía radiante en una señal eléctrica S . Generalmente S es un potencial o una corriente que idealmente es directamente proporcional a P_R . Esto es:

$$S = kP_R \quad (5)$$

Donde k es una constante. Algunos detectores perciben una pequeña respuesta constante, denominada corriente oscura, k_d , en ausencia de radiación. En estos casos, la respuesta se establece mediante la relación:

$$S = kP_R + k_d \quad (6)$$

k_d , es generalmente pequeña y constante al menos durante cortos periodos de tiempo. Los instrumentos espectroquímicos están normalmente equipados con un circuito compensador que reduce k_d a cero cuando se realizan las medidas. En dichos instrumentos se aplica la ecuación (5).

La potencia emitida por un analito tras la excitación para las tres primeras clases es, en general, directamente proporcional a la concentración del analito:

$$c\{P_R = k'c\} \quad (7)$$

Combinando la Ecuación (7) y la Ecuación (6) da lugar a

$$S = k'c \quad (8)$$

Donde k' es una constante que puede calcularse excitando a uno o más patrones con la radiación correspondiente del analito y midiendo S . Para los métodos basados en luminiscencia y dispersión, se aplican también relaciones análogas.

Los métodos cuantitativos basados en la absorción requieren dos medidas de potencia: una antes de que el haz haya pasado a través del medio que contiene al analito (P_0) y la otra después (P_1). La transmitancia y la absorbancia son los dos términos que se utilizan ampliamente en la espectrometría de absorción y se relaciona por la razón de P_0 y P_1 . La potencia radiante P_R se define como energía por unidad de tiempo y por unidad de área o sección.

2.8 Fuente de radiación electromagnética

Las fuentes de radiación que potencialmente se utilizan en los optrodos (de óptico y electrodo) [8] u optodos (del griego “οπκος οδος “o paso óptico) [14] se clasifican en láseres y lámparas. En la tabla 6 se muestra las ventajas e inconvenientes de algunas fuentes de radiación empleadas en la instrumentación con sensores.

Tabla 6. Características de las fuentes de radiación

Clase	Características	Aplicación a sensores ópticos
Tungsteno- halógeno	Espectro restringido al visible Moderada intensidad Bajo coste-bajo consumo Larga duración	Absorbancia Reflectancia
Deuterio	Espectro restringido al UV Baja intensidad	Absorbancia Reflectancia
Arco de mercurio	Espectro de líneas (UV-Visible) Alta intensidad	Fluorescencia
Arco de Xenón	Amplio Espectro Alta intensidad Tiempo de vida corto	Fluorescencia
LEDs	Espectro muy restringido Pequeño tamaño Relativa alta intensidad Bajo coste	Absorbancia Reflectancia
Láseres	Espectro restringido Alta intensidad Alto coste	Fluorescencia Raman

El uso de LEDs en los últimos años ha demostrado tener ventajas como es: su sencillez de operación, su bajo costo, su tamaño, su bajo consumo de energía, su alta estabilidad a vibraciones e impactos, al ser sólidos y no disponer de elementos internos móviles, su longevidad y la disponibilidad en el mercado con diversas longitudes de onda. La iluminación LED no tiene pérdidas por la reflexión y una de las ventajas es que cumplen con las regulaciones ROHS lo que significa que no tienen ninguno de los metales pesados como el plomo(Pb), el mercurio (Hg) o cadmio (Cd) en comparación de las otras clases de fuentes de luz que se hizo mención en la tabla 6, de esta manera los LEDs son una alternativa rentable en las aplicaciones de instrumentación portátil.

2.9 Absorbancia

La absorbancia es una medida de la radiación que absorbe una sustancia cuando sobre esta inciden las ondas electromagnéticas de una determinada longitud de onda. La absorbancia varía con la composición y la concentración de los elementos en una muestra, por lo que se emplea comúnmente en la química analítica para la caracterización de líquidos y gases. Cuando la medición de la absorbancia se hace a una longitud de onda específica la técnica es conocida como colorimetría y se usan todas las longitudes de onda del espectro visible o cuando se incluye el ultravioleta se le conoce como espectrofotometría.

La absorbancia, A_λ , se puede calcular en función de las intensidades de la luz transmitida y recibida por la muestra, tal como se expresa en la Ecuación (9), y se rige por la ley de Lambert-Beer [15].

$$A_\lambda = -\text{Log} \frac{I_1}{I_0} = \epsilon b C \quad (9)$$

Donde I_0 es la intensidad incidente sobre la solución e I_1 es la intensidad que sale de la solución, λ es la longitud de onda de la luz aplicada, C es la concentración de la muestra absorbente ($\text{moles} \cdot \text{l}^{-1}$), b es el paso óptico (espesor de la celda cm) y ϵ es el coeficiente de absortividad molar. Esta ley expresa la relación directamente proporcional entre la absorbancia y la concentración de un determinado compuesto.

El coeficiente de absortividad molar, ϵ , depende de la naturaleza de la especie y de la longitud de onda de la medida [16]; su valor está relacionado con la probabilidad de que se produzca una determinada transición de los electrones implicados en los enlaces moleculares para dar lugar a una molécula electrónicamente excitada. La relación entre las probabilidades de la transición y el coeficiente, ϵ , viene dada por la siguiente expresión:

$$\varepsilon = 8.7 \times 10^{19} P \cdot a \quad (10)$$

Donde P es la probabilidad de la transición ($0 < P < 1$) y a es el área de la sección transversal de la molécula, expresada en centímetros cuadrados: ($a \approx 10^{-15} - 10^{-14} \text{ cm}^2$).

La absorbancia tiene una fuerte dependencia con la longitud de onda incidente que interacciona con la muestra. Esta interacción es débil o fuerte dependiendo de cómo es el acople de la radiación electromagnética con la estructura molecular del sistema en estudio. En los sistemas de medición comercial se emplea para relacionar la absorbancia con respecto a la intensidad emitida y detectada, como se muestra en la ecuación (9).

Cuando la luz interacciona con los materiales puede ocurrir los siguientes procesos: Reflexión (I_R), Absorción (I_A) y Transmisión (I_T), que se encuentran fundamentados en la conservación de la energía y se puede ver representado en la ecuación (11):

$$I_0 = I_R + I_A + I_T \quad (11)$$

La absorción de la energía radiante de las moléculas en solución depende de la forma en que dichas moléculas se encuentren en equilibrio. En particular para las especies que presentan propiedades ácido-base, la absorción de la luz será diferente si dicha especie se encuentra protonada o no, consecuentemente las disoluciones de especies ácido base presentaran valores de absorbancia que dependerán del valor de pH de equilibrio. La longitud de onda, para la cual ambas especies tienen la misma absorbitividad molar, se llama punto isosbético (del griego, *iso-*, igual y *sbennyai*, extinguir). Así, ambas especies tienen la misma capacidad para absorber (extinguir) radiación.

En la figura 11 se aprecia la escala de un fotómetro, lo cual es importante para tener en consideración el rango de las mediciones de absorbancia [13].

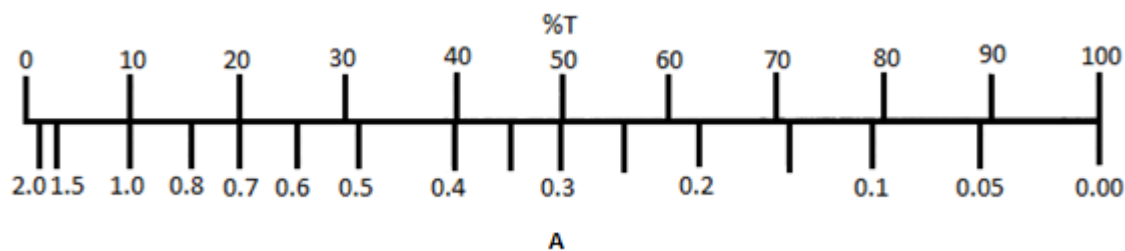


Fig. 11. Escala de fotómetro básico

2.10 Técnicas de Análisis de Datos

El procesamiento de datos es una parte primordial en el desarrollo de los sistemas instrumentales, debido a que es la fase que se encarga de interpretar la información adquirida y tomar decisiones.

De manera general, el procesamiento suele llevarse en dos etapas principales. En la primera de ellas su propósito está enfocado en analizar preliminarmente la información a fin de establecer que los registros adquiridos poseen información analítica suficiente mediante la identificación de patrones, eliminación de ruido y posibles redundancias. En la segunda etapa se elaboran los modelos matemáticos necesarios para conseguir interpretar cuantitativa o cualitativamente la información disponible.

2.10.1 Análisis de Componentes Principales

El Análisis de Componentes Principales (PCA, por sus siglas en inglés) es una herramienta de análisis de datos mediante la cual es posible conseguir información relevante de un conjunto de variables, dispuestas en una matriz (donde las filas corresponden a los objetos de estudio y las columnas corresponden a las variables medidas) mediante una transformación basada en proyecciones ortogonales de los datos. La técnica es capaz de eliminar las posibles redundancias en la información y permite reducir el conjunto de datos a una dimensión menor, siempre y cuando exista una estrecha relación lineal entre variables.

Con un análisis PCA es posible observar de forma gráfica las relaciones ortogonales que describen la variabilidad de los datos. Estas relaciones ortogonales son llamadas Componentes Principales (PCs) y son utilizadas como el sistema de ejes de coordenadas al que serán transportados los datos.

Cada PC representa un porcentaje de variabilidad del conjunto de datos original. Es así como el primer PC representa la máxima variabilidad contenida en el conjunto de datos completo, el segundo PC corresponde a la máxima variabilidad de los datos una vez excluida la primera componente y así sucesivamente hasta conseguir un número de componentes igual al número de variables consideradas. En general, las últimas componentes suelen asociarse a las pequeñas variaciones debidas al ruido instrumental o errores producidos al momento de la medición, por lo que hasta cierto punto pueden ser excluidas, este hecho permite asociar a la técnica como una herramienta de reducción de datos [17].

Matemáticamente un análisis PCA está representado por la siguiente ecuación.

$$X = TP^T + E = \sum_{a=1}^A t_a p_a^T + E \quad (12)$$

Donde X es la matriz que será descompuesta en el producto de una matriz de cargas P que representa los ángulos establecidos entre los ejes de coordenadas originales y los ejes del nuevo universo de datos; y una matriz de scores T que contiene las coordenadas de los datos en los nuevos ejes. Añadido a este producto una matriz E que almacena los residuos de la matriz original.

El número de componentes principales utilizado para modelar un conjunto de datos es definido mediante el porcentaje de varianza explicada que presenta cada uno de los PCs. Como los PCs se encuentran en orden de importancia, el número adecuado de componentes a utilizar estará establecido hasta que el cambio de la varianza entre una componente y otra no sea significativo.

El análisis PCA tiene gran aceptación debido a la interpretación gráfica que se puede conseguir en el análisis de datos. Sin embargo, debe tomarse en cuenta que, si los datos analizados presentan características de no linealidad, el análisis PCA carece de relevancia [18].

2.10.2 Redes Neuronales Artificiales

Las Redes Neuronales Artificiales (ANNs, por sus siglas en inglés) son un sistema matemático desarrollado para imitar algunas características del cerebro humano. Aunque todavía se ignora mucho sobre la forma en que el cerebro aprende a procesar la información, estudios sobre la anatomía del cerebro humano evidencian que las neuronas y las conexiones entre ellas (conocidas como sinapsis), representan la clave en el proceso cognitivo. El interés inicial en estos sistemas surgió con la esperanza de permitirnos aumentar nuestro conocimiento sobre el cerebro, la cognición humana, y la percepción[19].

El éxito de estos sistemas en tareas como la clasificación, la regresión y el pronóstico atrajo la atención de las diferentes comunidades científicas[20, 21], quienes por primera vez tenían a su disposición una herramienta para construir sistemas verdaderamente no lineales con una gran cantidad de variables de entrada

Una ANN trata de encontrar la relación que existen entre un conjunto de datos de entrada denominados variables independientes o descriptores y un conjunto de datos de salida llamados variables dependientes o respuestas. Esta relación entre datos de entrada y salida se lleva a cabo mediante la interconexión de elementos llamados neuronas que forman la estructura de una ANN.

La arquitectura de una ANN se caracteriza por la función activación, la topología de la red y el algoritmo de entrenamiento [22]. Los datos descriptores son presentados en la arquitectura de la ANN por la capa de entrada y conforme llegan a una capa oculta los datos son ponderados, después se efectúa una sumatoria de los datos ponderados evaluados mediante la función de activación de esta capa. Los datos son enviados posteriormente a la capa de salida, donde nuevamente son ponderados y sumados después de ser evaluados por la función de activación de esta capa, véase figura 12 [23-25].

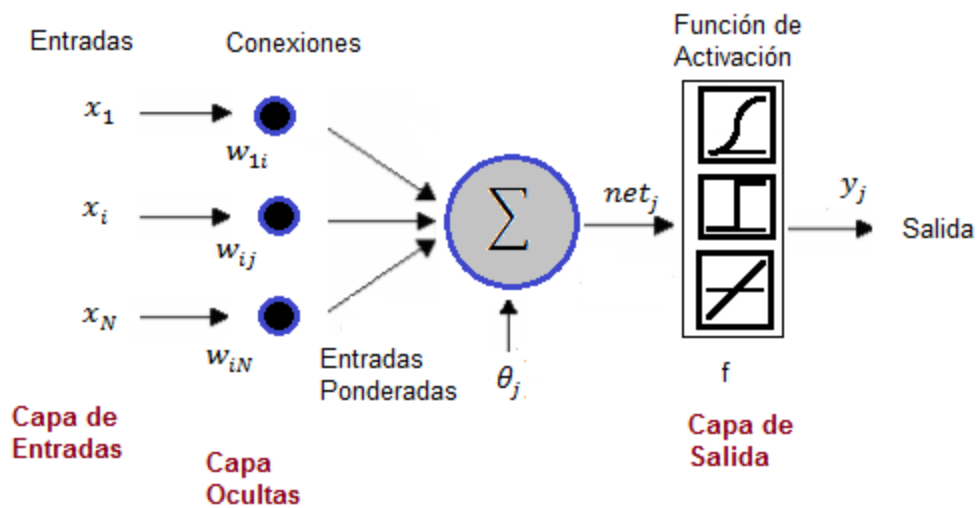


Fig. 12. Arquitectura de una ANN

Para comprender el funcionamiento del modelo, definiremos los siguientes conceptos:

Conexiones ponderadas: Hacen el papel de las conexiones sinápticas, el peso de la conexión equivale a la fuerza o efectividad de la sinápsis. La existencia de conexiones determina si es posible que una unidad influya sobre otra, el valor de los pesos y el signo de los mismos definen el tipo (excitatorio/inhibitorio) y la intensidad de la influencia.

Función de propagación o de red: Calcula el valor neto de la entrada total a la unidad, generalmente corresponde a la suma de todas las entradas ponderadas recibidas, es decir, de las entradas multiplicadas por el peso o valor de las conexiones, esta suma equivale a la combinación de las señales excitatorias e inhibitorias de las neuronas biológicas. Si asumimos que tenemos un número N de entradas, se tiene la siguiente definición

$$net_j = \sum_{i=1}^N W_{ji}x_i \quad (13)$$

Función de activación: Es quizá la característica principal de la neurona, y la encargada de definir el comportamiento de la misma. Entre las funciones de activación más utilizadas están el logaritmo sigmoideal, tangente sigmoideal y función líneal. Retomando lo anterior, una vez que la entrada neta de la neurona ha sido calculada, se transforma al valor de activación o activación simplemente. Este valor de activación puede escribirse como sigue:

$$a_j(k) = f(a_j(k-1), net_j(k)) \quad (14)$$

De lo anterior es posible observar que la activación $a_j(k)$ es función de la entrada total net_j y que depende también de un valor anterior de la activación $a_j(k-1)$. La notación de $k-1$ denota un paso previo antes del instante k .

En la mayoría de los casos, la activación y la entrada total son idénticas y los términos pueden intercambiarse. De éste modo, el único parámetro que es modificado por la función de activación f de la neurona será directamente la suma ponderada net . Por lo que la salida de la neurona y_j está dada por la siguiente expresión:

$$y_j = f(net_j + \theta_j) = f\left(\sum_{i=1}^N W_{ji}x_i + \theta_j\right) \quad (15)$$

El término θ_j que aparece en esta última definición obedece al hecho de que la función de activación no está centrada en el origen del eje que representa el valor de la entrada total, sino que existe cierto desplazamiento debido a las características internas de la propia neurona y que difiere en cada una de ellas, por lo que su valor tan sólo representa un parámetro de ajuste y no una entrada más. Este valor es conocido como bias y representa el nivel de activación de la neurona.

Salida: Corresponde al valor calculado por la función de activación de la neurona, este valor cumpliría la función de la tasa de disparo en las neuronas biológicas.

La selección de los parámetros apropiados en una red neuronal (número de capas y neuronas, funciones de transferencia, error de entrenamiento, etc.) suele ser un proceso que se realiza a prueba y error.

El Perceptrón Multicapa (MLP, Multi-Layer Perceptron) esta red es la más usada en la actualidad ya que se puede aplicar en problemas de clasificación, modelado, predicción de series temporales, control discreto, etc. [26].

Dentro de los algoritmos de entrenamiento más utilizados se encuentra el de Retropropagación del Error (*Backpropagation*, por sus siglas en inglés) y el de Regularización Bayesiana. El lector puede encontrar información más detallada al respecto en siguiente referencia [27, 28].

2.11 Estado del Arte en las mediciones de pH con métodos ópticos

En 1987, Jiri Janata [29] presenta uno de los primeros trabajos en donde se documenta la determinación óptica del pH. En dicho trabajo se describen los problemas asociados a dicha determinación empleando óptrodos, así como los trabajos termodinámicos al momento de considerar un diseño óptico.

En 1989, Whitney King *et al.*, [30] reportan un proceso colorimétrico para la determinación del pH en agua de mar a 25°C utilizando 5 indicadores (azul de timol, azul bromofenol, verde bromocresol, violeta bromocresol y rojo fenol). Las mediciones que realizaron fueron usando un sistema espectrofotométrico, para determinar el punto isobéptico para cada longitud de onda. Su aporte marca una alternativa a las mediciones clásicas de pH en el agua de mar empleando sensores potenciométricos basados en un electrodo de vidrio y un electrodo de referencia

En ese mismo año, Robert H. Byrne *et al.* [31] utilizan un indicador llamado rojo cresol en la solución por analizar, donde indican las comparaciones significativas de pH en el mar y se pueden obtener en un nivel de 0.001 unidades de pH. Ellos utilizan un espectrofotómetro comercial *DMS-100 UV-VIS* para realizar las mediciones con diferentes longitudes de onda, donde tuvieron mejores resultados de precisión para la salinidad, usando la longitud roja y amarilla.

En 1998, Schnable *et al.* [32] desarrollaron una matriz de LEDs (para la longitud de onda visible e infrarroja) múltiple portátil, donde su espectro se encuentra en el rango de los 420-950 nm, donde afirman que la sensibilidad obtenida en las medidas es igual o mejor que muchos espectrofotómetros de grado investigación. La característica principal de su diseño, es la colocación de los LEDs a 90° para la medición de las muestras.

En 2003, Todd R. Martz *et al.* [33] emplean un sensor autónomo de pH para mediciones *in-situ* de largo plazo en aguas naturales. El sistema se basa en las mediciones espectrofotométricas de una mezcla obtenida entre un volumen de muestra de agua y el indicador sulfonephthaleina. El diseño óptico utilizado contiene una pequeña bomba de baja potencia con válvula que permite hacer mediciones de absorbancia y la determinación directa de la perturbación del indicador de pH. Las longitudes de onda que registran son tres: 439,579 y 735 nm.

Ese mismo año, Li et al. [34] describen un instrumento de analizador de flujo, barato y portátil utilizando diferentes técnicas espectrofotométricas, aplicado a una amplia gama de analitos. Por su parte Dasgupta y Wego [35, 36] han desarrollado fotómetros basados en LED aplicados en la instrumentación espectrofotométrica como fuentes de radiación.

En 2006, King Tong Lau *et al.* [37] fabricaron un LED de estado sólido y de bajo costo, que contiene una membrana verde de bromo-cresol para poder trabajar como un sensor de pH. El diseño del sistema óptico consta de un compartimiento rectangular donde se puso en contracara el LED con el fotorresistor (LDR). En medio de los LEDs se colocó la muestra real, lo que permite el LDR sea capaz de detectar las mediciones del experimento. Los datos fueron adquiridos por una computadora usando comunicación RS232.

En este mismo año, Tai-Sheng Yeh *et al.* [38] elaboran un espectrómetro de LED de bajo costo que puede ser operado de manera independiente o bajo el control de un ordenador. Para poder realizar el espectrofotómetro se utilizó un PIC16F877 donde incluyen 7 longitudes de onda que proporcionan espectros de absorción visible y predicen la máxima absorción de la muestra real. Los espectros obtenidos fueron comparados por el espectrofotómetro comercial *Ocean Optics USB2000*. Las muestras buffer de pH fueron indicadores universales dentro de la escala de 1 al 13 y las muestras reales fueron indicadores como son: Morado de Bromocresol y Verde Bromocresol.

En 2009, Germano Veras *et al.* [39] construyen un espectrofotómetro microcontrolado portátil de bajo costo, usando como fuente de radiación un LED blanco, un *CD (Compact Disc)* como rejilla de difracción para poder elegir la longitud de onda de la región visible. El sistema óptico-mecánico ocupa una lente para focalizar la rejilla, un motor paso a paso para mover la rejilla de difracción para promover la exploración de la región espectral de interés. Con el fin de aumentar la relación señal a ruido en las mediciones espectrofotométricas, se utilizó un fototransistor de alta sensibilidad espectral en la región visible para obtener las mediciones de colorantes alimentarios comparando resultados con aparatos comerciales *HP* y *Micronal*. El control del instrumento propuesto, la adquisición y el tratamiento de los datos se lleva a cabo de un circuito electrónico basado en un microcontrolador programable (*PIC16F877*).

En 2010, Hai-xu Chen *et al.* [40] utilizan un diseño óptico *in-situ*, para sensar de manera colorimétrica el pH de una película delgada de sol-gel fluorescente en un rango de pH de 1 a 7. El método de detección de pH colorimétrico está compuesto por un doble sistema de emisión de luz, usan un LED con una longitud de onda de 465 nm, para excitar el colorante del indicador de pH y otro LED de 660 nm usado como luz de fondo, en el cual están posicionados a 90° de la película. La luz de fondo sirve para dar estabilidad y es punto de referencia para calibrar los efectos de temperatura y fluctuaciones del medio. Con el fin de obtener imágenes óptimas utilizaron una CDD para medir parámetros que son: balance de blancos, apertura, sensibilidad. Para registrar los espectros de fluorescencia utilizaron un espectro comercial *F-4500 Hitachi Co. Ltd, Japón*.

En 2011, S. Abman *et al.* [41] realizan un espectrómetro de alta precisión para determinar el pH del agua de mar *in-situ* que soporta las duras condiciones del mar. El espectrómetro utiliza una CCD (fotodetector) conectado a un sistema de fibras ópticas para reducir el impacto de las burbujas. La configuración que presentan es un sistema automatizado que consiste en una bomba de jeringa, un

sistema de intercambio de calor, una unidad de control y registros de datos y por el último el sistema óptico. El manejo de los líquidos utilizan una bomba peristáltica (*ISMATEC,ISM597D*) para asegurar el flujo estable y la bomba de jeringa sirve para la inyección precisa del indicador. Para las mediciones ópticas usan un LED blanco ultra brillante como fuente de luz.

El trabajo más reciente es del año 2014 de Bo Yang *et al.* [42] en donde desarrollan un sistema óptico portable para hacer mediciones de pH. Su principal aporte es la propuesta de utilizar dos fuentes de luz LED diferentes de longitudes de 434 nm y 578 nm para generar una salida de la absorbancia máxima de la muestra dependiendo de cada longitud de onda.

Finalmente, un review interesante presentado por Dorota en el año 2013 [43], tiene un aporte importante al actualizar la definición de sensor óptico-químico como un dispositivo de análisis miniaturizado que puede ofrecer en tiempo real, la información en línea sobre la presencia de compuestos o iones específicos en muestras complejas. Los trabajos incluidos en esta revisión se basan en sensores de ópticos de pH, donde la absorción y fluorescencia son base clave para la determinación de pH haciendo uso de colorantes, indicadores colorimétricos o indicadores fluorescentes.

Capítulo 3. Desarrollo

3.1 Diseño y construcción de la solución propuesta

En este trabajo se describe el desarrollo de un sistema óptico portátil usando LEDs, para mediciones espectrofotométricas en diferentes soluciones buffer de pH utilizando ocho clases de indicadores colorimétricos.

Inicialmente la elección de las longitudes de onda para los LEDs, fue tomada en base a los trabajos de Tai-Sheng y Bo Yang [38, 42], considerando 6 longitudes de onda del espectro visible: Cyan (430 nm), Azul (472 nm), Verde (532 nm), Amarillo (590 nm), Naranja (592 nm), Rojo (638 nm). Sin embargo, después de diferentes pruebas se descartaron 3 de ellas, debido a que no hubo mayor respuesta en la obtención de la absorbancia, al obtener magnitudes por debajo de 0. Las longitudes de onda finalmente elegidas son: Azul (472 nm), Verde (532 nm) y Rojo (638 nm).

El prototipo desarrollado dispone de 6 canales; uno para cada LED por duplicado, permitiendo realizar una comparativa de la muestra de referencia (blanco) y aquella en la que se determinará el pH (basada en una solución buffer de pH y un indicador colorimétrico).

En la figura 13 se muestra la distribución de los canales destinados para cada una de las muestras.

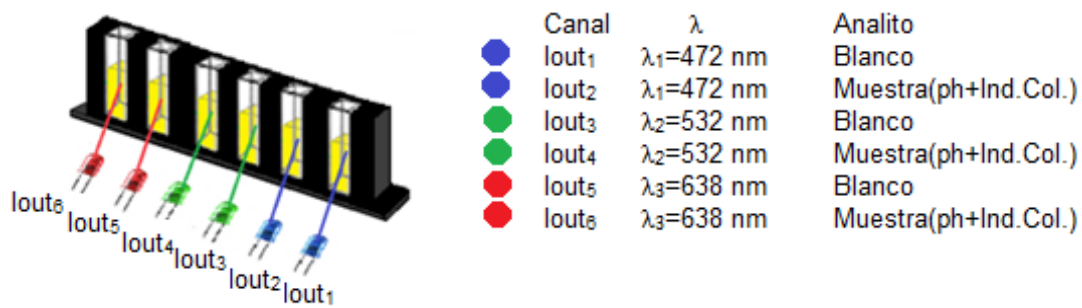


Fig. 13. Distribución de las muestras con respecto a las longitudes de ondas ($\lambda_1=472$ nm, $\lambda_2=532$ nm, $\lambda_3=638$ nm).

El diseño general del instrumento se divide en 5 etapas: Selector de fuente de luz, etapa de acoplamiento de la señal (sensor), sistema de medición de absorbancia programado dentro del microcontrolador, análisis de la señal y finalmente la identificación del pH de las muestras, vea figura 14.

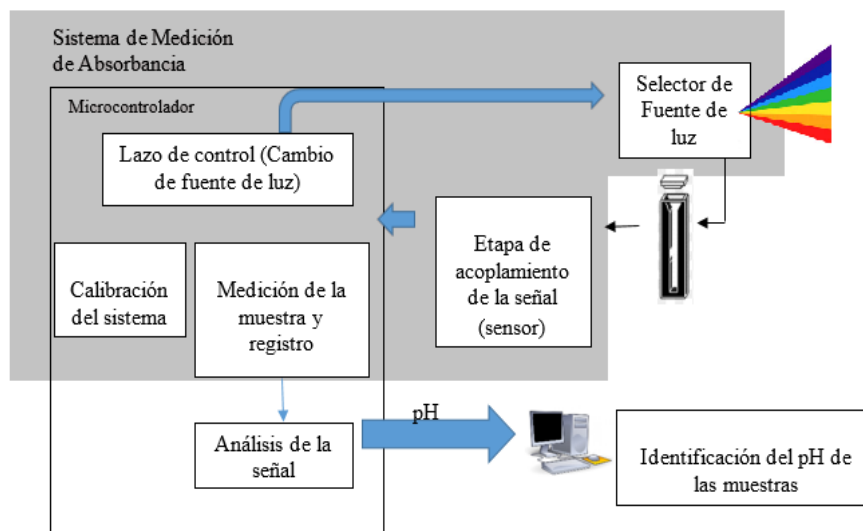


Fig. 14. Diagrama a bloques del sistema óptico (Flecha negra haz de luz seleccionado y flecha azul control electrónico).

El sistema opera en diferentes módulos. El primer módulo consiste en un selector de fuente de luz, de tal forma que se pueda elegir que longitud de onda va a incidir y excitar a la muestra. Después se encuentra la etapa de acoplamiento de la señal, donde la señal entregada por el sensor se acondiciona para ser enviada

al sistema de registro en el microcontrolador Arduino® Mega 2560 [44]. Este último será el encargado de controlar el sistema para obtener las señales de absorbancia y por consiguiente analizar las señales incidentes de la muestra entregadas del sistema.

Los materiales utilizados para la fabricación del instrumento tienen una alta resistencia química y está debidamente aislado de la luz externa con la finalidad de reducir interferencias ópticas que afecten al sistema óptico diseñado. Por ello, para el chasis del prototipo se utilizó una lámina de acrílico negro pulido de la empresa Plástico Acrílico y celdas de plástico desechables para análisis espectrofotométricos en la región UV-VIS de la empresa BRAND [45]. En la figura 15 se muestran la placa shield MegaArduino 2560 del instrumento diseñado y el principio básico de la espectrofotometría del sistema.

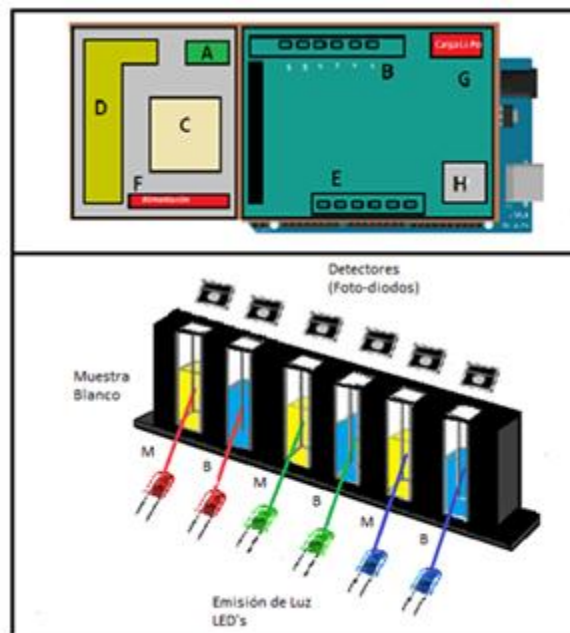


Fig. 15. Distribución del Diagrama Shield MegaArduino (arriba)
(Sistema óptico del haz incidente a la muestra y salida al detector(abajo)).

La figura 15(arriba) se encuentra constituida por los siguientes bloques:

- A. Fuente de luz;
- B. Recepción de luz;

- C. Regulador de corriente de alta tensión para 6 canales para iluminación LED;
- D. Interruptores de LED;
- E. Control del sistema óptico con Arduino;
- F. Alimentación del sistema;
- G. Cargador Li-Po mini USB;
- H. Salida de los datos (USB).

A continuación, se describe el funcionamiento de cada una de las secciones de la que está constituida la tarjeta.

3.1.2 Recepción de Luz

De la selección previa, de las fuentes de luz se encuentran resumidas en la tabla 7.

Tabla 7. Características ópticas de las fuentes de luz

Características	Longitud de onda		
	$\lambda_1 = 472 \text{ nm}$	$\lambda_2 = 532 \text{ nm}$	$\lambda_3 = 638 \text{ nm}$
Modelo	LTL2R3TBV3KS-032 [46]	LTL2R3TGY3KS-032A [47]	LTL-4268-H3/4268-H4 [48]
Fabricante	Lite On	Lite On	Lite On
Categoría de producto	LED estándar-Montaje interfacial	LED estándar-Montaje interfacial	LED estándar-Montaje interfacial
Marca	Lite On Electronics Inc	Lite On Electronics Inc	Lite On Electronics Inc
Color de iluminación	Azul	Verde	Rojo
Intensidad Luminosa	2500 mcd	1600 mcd	220 mcd
Estilo de lentes	Water Clear	Water Clear	Water Clear
Corriente directa	20 mA	20 mA	20 mA
Voltaje de operación	3.3-5 V	3.3-5 V	1.8-5 V
Angulo de Visualización	30 deg	30 deg	30 deg
RoHS	Si cumple	Si cumple	Si cumple

3.1.3 Regulador de corriente para iluminación LEDs

El modulo del detector se compone de un fotodiodo de silicio y un amplificador de transimpedancia en un mismo circuito CMOS (TSL254r de TAOS Inc, ver figura 16) se encarga de convertir la luz a voltaje. El voltaje de salida es directamente proporcional a la intensidad de la luz (irradiancia) en el fotodiodo asociado a un ciclo de trabajo. La figura 17 muestra la calibración de los sensores con diferentes ciclos de trabajo y su respuesta en voltaje.

El detector opera de 2.7 V a 6 V y puede soportar temperaturas hasta 85°C, otras de sus características son:

- Convierte Intensidad de la luz a un voltaje
- Voltaje de salida $222\mu\text{W}/\text{cm}^2 = 1.5 V_{\min} - 4.0 V_{\max}$
- Respuesta de irradiancia $E_e = 9 \text{ mV}/(\mu\text{W}/\text{cm}^2)$
- Corriente de salida 20 mA
- La irradiancia E_e entrada es suministrada por un LED con el pico de longitud de onda de $635 \text{ nm} = \lambda_p$
- Económico y fácil de conseguir.
- Disponible solo en un encapsulado (RoHS-LF).
- Respuesta Espectral del fotodiodo $A_{\max} = 1.2$ en los 750 nm

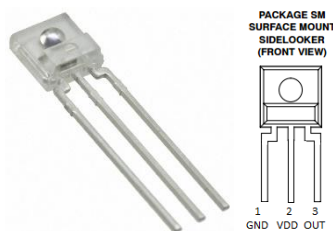


Fig. 16. TSL254r de TAOS

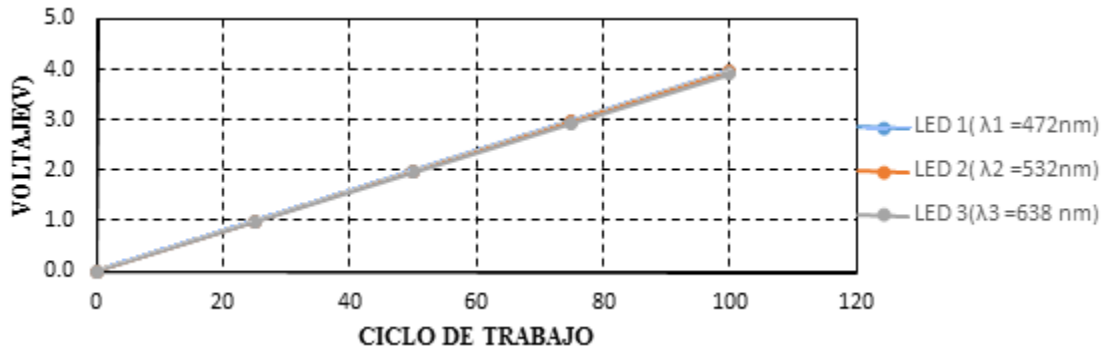


Fig. 17. Gráfica que muestra la relación del Voltaje vs Ciclo de trabajo.

3.1.3 Regulador de corriente para iluminación LEDs

En esta etapa se usa un regulador de corriente para mantener la corriente constante de los LEDs, a través de una carga independiente de su valor resistivo. El LM3432[49] de Texas Instruments es un regulador de corriente de alta tensión de 6 canales con programación en cadena para aplicaciones de LEDs. Los seis canales se pueden ajustar de 10 mA a 40 mA por una resistencia externa. Las salidas de los canales pueden soportar hasta 80 V para una cadena de 72 LEDs. Tanto la señal de atenuación de PWM como la señal analógica se pueden utilizar para controlar el ciclo de trabajo de los seis canales. La señal de respuesta del LED, será la luz que incidirá en la muestra y la señal de salida es la señal entregada al arduino Mega 2560. En la figura 18 se muestra la aplicación típica para el manejo de una red de LEDs a una corriente de 20 mA por lo que se ajusta al diseño implementado.

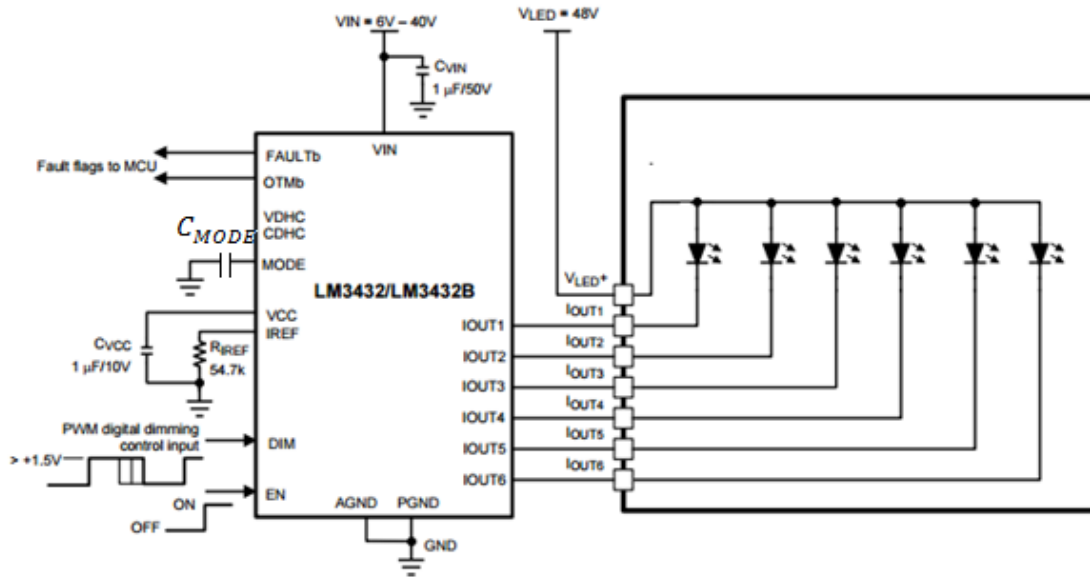


Fig. 18. Esquemático del driver LM3432 para 6 LEDs (@20 mA).

La determinación de los componentes externos solo requiere de:

1. La programación en cadena de la salida I_{OUT1} a I_{OUT6} es obtenida por una resistencia externa R_{IREF} mediante la ecuación (16)

$$R_{IREF} = \frac{1.094}{I_{OUT}} \text{ en } K\Omega \quad (16)$$

La corriente de referencia definida por la Ecuación (17) para una aplicación típica es de 20 mA, por lo tanto

$$R_{IREF} = \frac{1.094}{I_{OUT}} = 54.7 \text{ } k\Omega \quad (17)$$

Considerando el valor calculado, se empleará el valor resistivo comercial de 54.9 $k\Omega$.

2. Para un funcionamiento adecuado, se requiere de un capacitor de salida C_{VCC} de al menos 680 nF por razones de estabilidad eléctrica. En el sistema se empleó un capacitor de 1 μF .
3. El propósito del capacitor en V_{in} es suministrar la corriente transitoria al dispositivo y suprimir el ruido de V_{in} con el fin de garantizar un

funcionamiento correcto por lo que se recomienda capacitor de $0.1 \mu F$ a $1 \mu F$.

- Para el control de regulación analógica, se debe conectar C_{MODE} a tierra. La relación que existe entre la frecuencia de atenuación PWM y la capacitancia se muestra como:

$$f_{PWM} = \frac{1.65 \times 10^{-5}}{C_{MODE}} \quad (18)$$

$$\therefore C_{MODE} = \frac{1.65 \times 10^{-5}}{f_{PWM}} = \frac{1.65 \times 10^{-5}}{490 \text{ Hz}} = 3.3674 \times 10^{-8} \quad (19)$$

Donde los 490 Hz que se muestra en la Ecuación (19), es la frecuencia PWM propio de Arduino. El capacitor empleado es de un valor comercial de 33 nF.

En la gráfica 19 donde se muestra la calibración lineal del driver para cada uno de los LEDs del sistema, además del ciclo de trabajo con respecto a la corriente de referencia obtenida de la Ecuación (17) para el funcionamiento del driver.

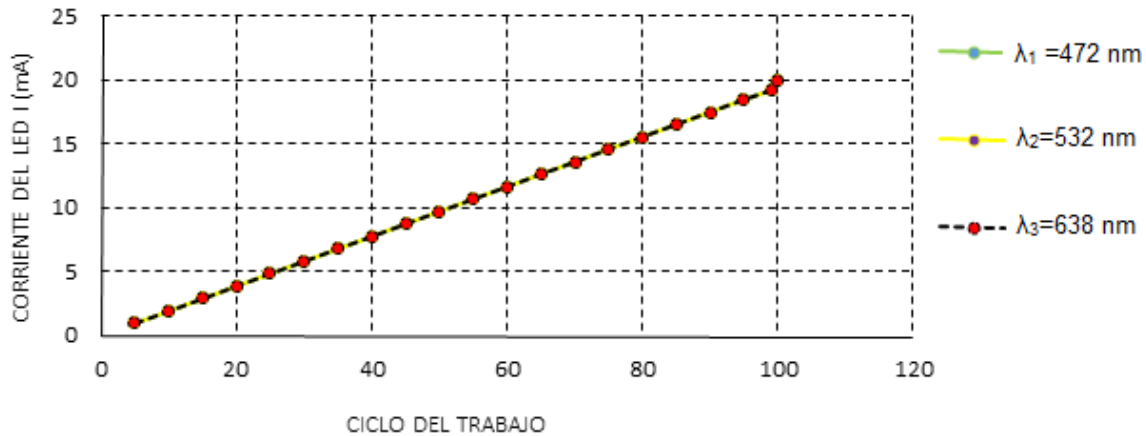


Fig. 19. Gráfica que muestra la relación de Intensidad vs Ciclo de trabajo obtenido con el LM3436.

3.1.4 Interruptores de LEDs

Se utilizaron 6 relevadores a modo biestable en cada una de las salidas de los canales del driver selector de longitud de onda. Los relés modelo P2-V23079-D1001 de la marca AXICOM, ver figura 20 tienen un voltaje de operación V_{DC} de 100 μ V hasta 220V /2A y tiempo de respuesta de operación 2ms.

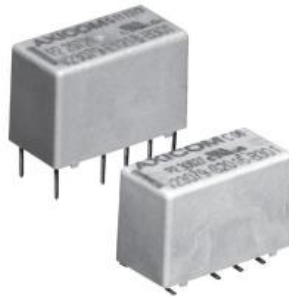


Fig. 20. P2 Relay V23079

3.1.5 Control del sistema óptico con Arduino

Para cada una de las mediciones, los LEDs son activados de forma alternada y las señales obtenidas de cada uno de ellos son enviadas al Microcontrolador ATmega 2560 [44]. Este microcontrolador tiene 16 entradas analógicas, cada uno de los cuales proporcionan 10 bits de resolución (es decir, 1024 valores diferentes). A una frecuencia de 16 MHz requiere operar a un voltaje de 5 V, tiene una memoria Flash de 256 KB de los cuales 8 KB es utilizado por el gestor de arranque.

Cuando la luz de una longitud de onda determinada seleccionada por un filtro incide sobre una muestra, parte de esa luz se absorbe [50]. Considerando esta definición, la Ecuación (9) se implementó dentro del microcontrolador para que la absorbancia óptica medida sea mostrada en una computadora personal por medio de una interfaz diseñada en entorno de Matlab® 2011a (MathWorks, Natick, MA).

3.1.6 Alimentación del sistema

La tarjeta arduino Mega se alimenta por $5V_{DC}$ del puerto de una PC. La tarjeta shield arduino que se elaboró necesita una alimentación de 8V para activar el driver LM3432 y controlar el encendido de los LEDs, para tal fin se utilizaron 4 baterías de Li-Po de 3.7 V @2500mAh. Es necesario el uso de estas 4 baterías de manera separada para que la intensidad de los LEDs no se vea afectada y el sistema pueda realizar medidas continuas.

3.1.7 Cargador LiPo miniUSB

El sistema diseñado dispone de un sistema de carga para las baterías de Li-Po de 3.7 V @2500mAh conectadas de dos en dos en serie, dos para las terminales de ENABLE (EN), y dos para el V_{in} del driver. Considerando la Ecuación (24), la duración de la batería en la operación del instrumento es de aproximadamente 13 horas.

$$\begin{aligned} & \text{Carga de la batería} \\ & = \frac{2500 \text{ mAh}}{50 \text{ mA}(\text{Arduino}) + 40 \text{ mA}(\text{Driver}) + 100 \text{ mA}(\text{reles})} \quad (24) \\ & = 13.1578 \text{ h} \end{aligned}$$

El circuito implementado para el cargador mini USB es el MCP73831 de la marca Microchip (vea figura 21).

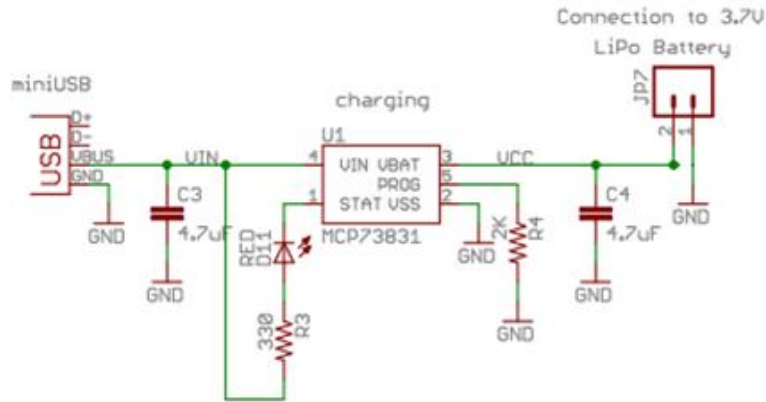


Fig. 21. Diagrama eléctrico del cargador de batería Li.Po.

3.1.8 Salida de los datos

La comunicación entre la computadora y el sistema Arduino se realiza a través de comunicación serial con Matlab®.

3.1.9 Unión del sistema propuesto

El sistema construido se presenta en la figura 22, donde se puede observar la tarjeta shield realizada, al igual que el funcionamiento de las diferentes fuentes de luz. El diseño eléctrico de la tarjeta shield y el diseño de las caras de la portacelda, se muestra en el apéndice A1. Las dimensiones del chasis final son de 32 cm x 10.5 cm x 22 cm.

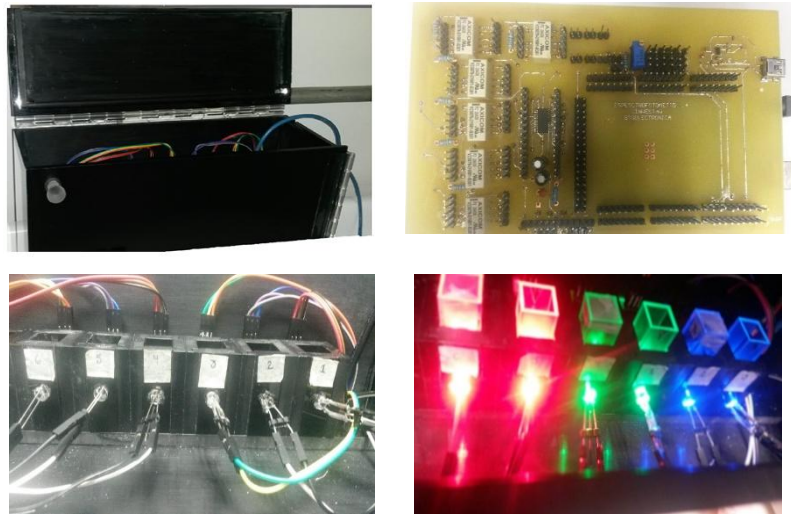


Fig. 22. Sistema propuesto.

3.2 Reactivos

Las muestras elaboradas fueron obtenidas de la mezcla de diferentes soluciones buffer de pH del rango del 1 al 13 con 8 indicadores colorimétricos, ver la tabla 8:

Tabla 8. Indicadores Colorimétricos propuestos

Soluciones de Indicadores Colorimétricos Sigma Aldrich	
1	Azul de Bromotimol: $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$
2	Indigo Carmine: $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$
3	Naranja de Metilo: $C_{14}H_{14}N_3O_3Na$
4	Phenolphthaleina: $C_{20}H_{14}O_4$
5	Púrpura de Bromocresol: $C_{21}H_{15}Br_4NaO_5S$
6	Rojo Fenol: $C_{19}H_{14}O_5S$
7	Verde de Bromoresol: $C_{21}H_{13}Br_4NaO_5S$
8	Verde de BromocresolRojo deMetilo: CH_3CH_2OH

Todos los reactivos son de grado analítico de la empresa Sigma Aldrich [51-58].

Se dispone de un total de 312 muestras patrón para ser analizadas por las 3 fuentes de luz LEDs y 3 muestras de referencia (agua bidestilada) actuando como blanco. En la figura 23 se muestran las soluciones elaboradas, considerando que la cantidad de llenado en la semicubeta-UV semimicro es de 1,5 mL min. -3,0 mL máx., cuyas dimensiones son de 4,5 x 23 mm [59].

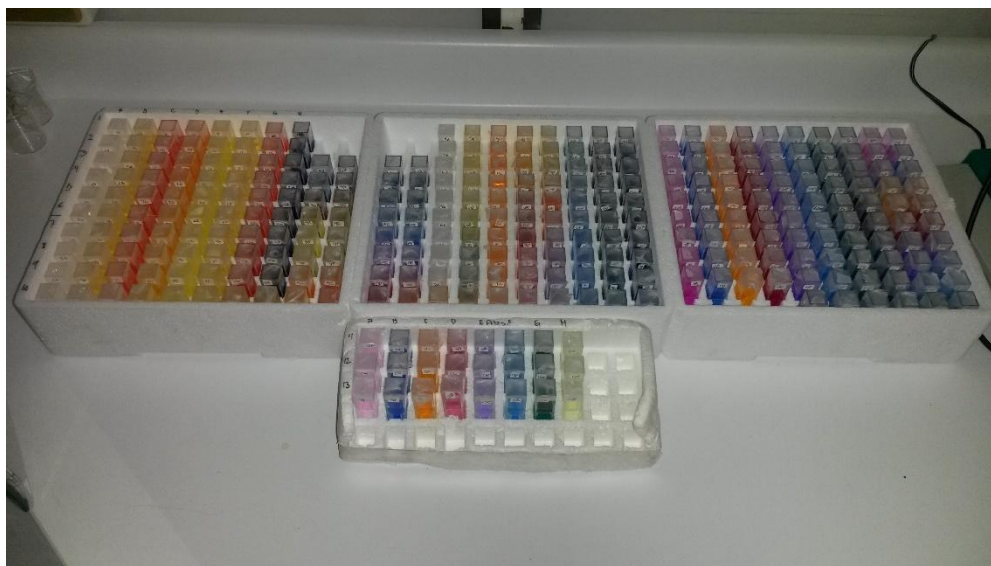


Fig. 23. Muestras de pH.

3.2.1 Descripción de la preparación de muestra

Las muestras por medir se prepararon a partir de soluciones de cada indicador colorimétrico (25 mL) en una solución buffer de acetato (625 μ L). La cantidad de muestra se eligió en base a la proporción de muestra del trabajo realizado [60]. La cantidad de muestra que se arrojó en las semi-cubetas fue de 1.5 mL. A partir de esta solución, se prepararon las 312 muestras. La tabla 9 muestra las soluciones preparadas para cada buffer de pH en el rango del 1 al 13 para cada una de las diferentes longitudes de ondas.

Tabla 9. Soluciones de los Reactivos

Indicadores Colorimétricos	Buffer de pH	Longitud de onda (λ) nm
Azul de Bromotimol	1-13	$\lambda_1 = 472$ nm; $\lambda_2 = 532$ nm; $\lambda_3 = 638$ nm
Indigo Carmine		
Naranja de Metilo		
Phenolphthaleina		
Púrpura de Bromocresol		
Rojo Fenol		
Verde de Bromocresol		
Verde de Bromocresol/Rojo de Metilo		

De igual forma, las muestras por medir se validaron con el uso de tiras reactivas de pH de la empresa CRISA pH-Fix 0-14 (modelo 053450). En la figura 24 se muestra los indicadores de color fijo. Se pueden ver en el Apéndice A2.



Fig. 24. Tiras Reactivas CRISA

3.3 Procesamiento de las Bases de datos

Cada base de datos será procesada mediante algunas rutinas desarrolladas en la plataforma de programación MATLAB® 2011a basándose en los modelos matemáticos descritos en el capítulo 2 de la presente tesis.

Previo a la etapa de procesamiento, se decidió emplear un Análisis PCA para construir un modelo preliminar, que permitió mostrar si las medidas de absorbancia adquiridas contienen suficiente información analítica para identificar la escala de los diferentes pH en los diferentes indicadores colorimétricos para cada longitud de onda.

Capítulo 4. Aplicaciones y Resultados

En este capítulo se describen los resultados obtenidos para el análisis en la base de datos.

4.1 Señales de Absorbancia

La potencia del haz transmitido por la solución del analito es comparada comúnmente con la potencia del haz transmitido por una celda idéntica que contiene solamente solvente, como se puede apreciar en la figura 25. En este caso el solvente es una muestra patrón de agua bidestilada. Para determinar la absorbancia experimental, se emplea la definición 25 presentada en el capítulo 2, en donde interviene la intensidad de la solución blanco y la solución muestra [61]



Fig. 25. Cubetas patrón-analito

$$A_{experimental} = \log \frac{I_{solvente}}{I_{solución}} \quad (25)$$

La frecuencia de muestreo fue de 50 muestras/s para la adquisición de los registros asociados a cada una de las soluciones preparadas. El registro que se consiguió fueron los voltajes para las muestras blanco y las muestras de analito.

Una vez adquiridos, se realizaron 10 repeticiones de lectura por cada muestra con el fin de observar la repetibilidad en el registro. Dado que las variaciones observadas fueron mínimas, se decidió realizar un promedio para cada una de las pruebas en cada rango de la solución pH/Indicador Colorimétrico.

Las señales de absorbancia real, se obtuvieron tomando en consideración las condiciones expuestas en el capítulo 2. De esta forma se tiene un total de 312 muestras considerando los 8 indicadores colorimétricos, 10 repeticiones por medida, 13 soluciones buffer que comprenden el rango de pH y 3 longitudes de onda.

La dimensión máxima de datos disponible está formada por 80 repeticiones por medida de los indicadores x13 rangos de pH x 3 longitudes de onda.

En las figuras 26,27 y 28 pueden observarse las mediciones de las soluciones buffer para cada una de las fuentes de luz.

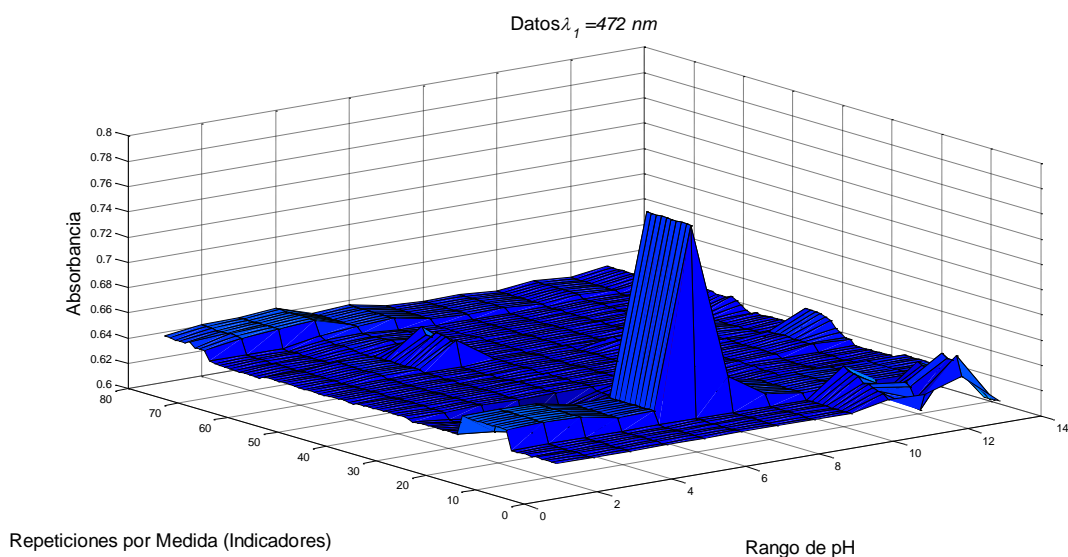


Fig. 26. Señales de Absorbancia obtenidas de las 10 pruebas realizadas a cada una de las soluciones preparadas para longitud de onda $\lambda_1=472 \text{ nm}$.

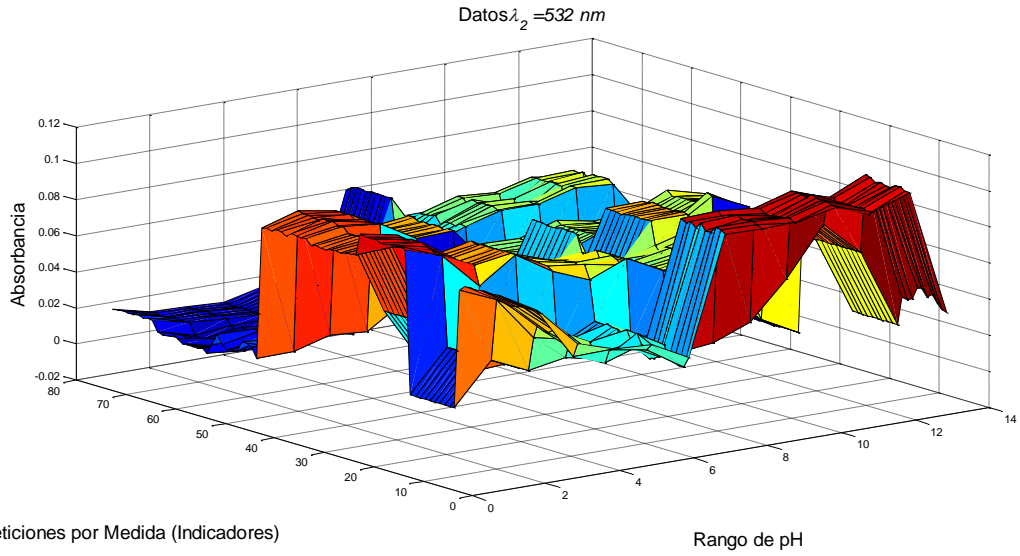


Fig. 27. Señales de Absorbancia obtenidas de las 10 pruebas realizadas a cada una de las soluciones preparadas para la longitud $\lambda_2 = 532 \text{ nm}$

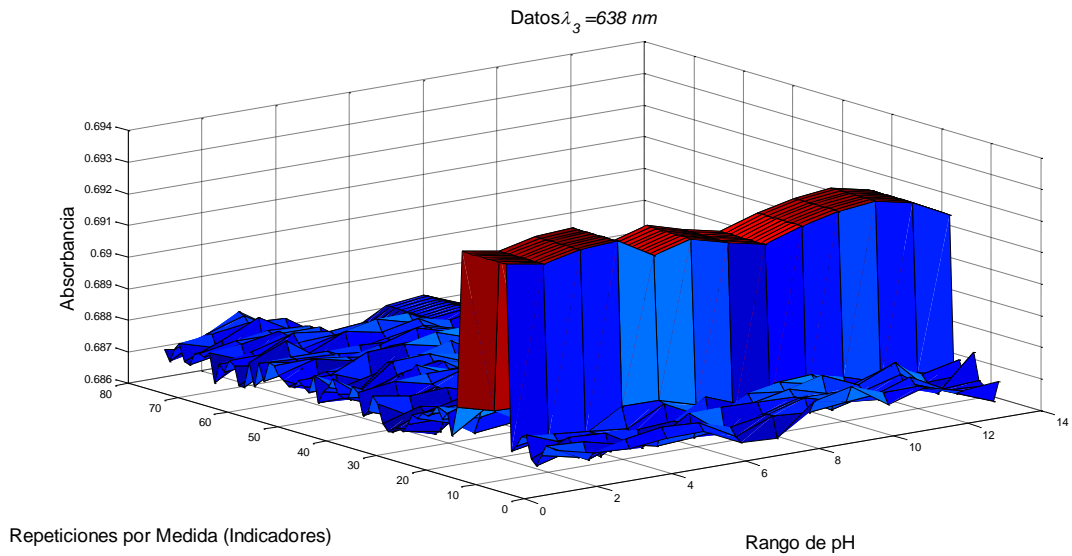


Fig. 28. Señales de Absorbancia obtenidas de las 10 pruebas realizadas a cada una de las soluciones preparadas para la longitud $\lambda_3 = 638 \text{ nm}$

4.2 Discriminación de Indicadores colorimétricos

4.2.1 Análisis PCA

Se realizó un análisis PCA con el fin de conocer las características de la información de partida. Con ello, fue posible establecer que la información contenida en las señales presenta información significativa que puede ser interpretada mediante un modelo de predicción. La representación PCA permite observar de forma gráfica la distribución de los diferentes rangos de pH para cada uno de los indicadores colorimétricos.

A partir de la base de datos tridimensional de $80 \times 13 \times 3$, se decidió ordenar los datos con respecto a los indicadores teniendo distintos canales de acuerdo a las repeticiones por cada medida y el rango de pH, teniendo una dimensión de 10×13 .

En el Apéndice A3 se muestra el procesamiento realizado. El agrupamiento de ciertas características se representa en la tabla 10. Cada palomita simboliza la distinción de las clases de pH por cada indicador colorimétrico en cada una de las longitudes de onda λ_1 , λ_2 y λ_3 . Aunque la distinción de los diferentes tipos de pH presenta regiones de agrupamiento, en los casos no palomeados existen solapamientos entre algunos valores de pH. Esto implica que es necesario realizar una selección de indicadores colorimétricos que permita la identificación del pH en las muestras.

Tabla 10. Comportamiento del pH en cada uno de los indicadores colorimétricos utilizando PCA

Longitud de onda		$\lambda_1=472 \text{ nm}$												
Rango de pH		Ácidos						N	Bases					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Indicadores colorimétricos	RF										✓	✓	✓	✓
	PT		✓			✓	✓							
	MO			✓										
	IC								✓				✓	✓
	BGMR						✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	BG					✓								✓
	BP				✓	✓	✓	✓				✓		✓
	BB	✓	✓	✓	✓									
Longitud de onda		$\lambda_2=532 \text{ nm}$												
Rango de pH		Ácidos						N	Bases					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Indicadores colorimétricos	RF	✓	✓	✓	✓	✓	✓							✓
	PT					✓					✓	✓	✓	✓
	MO	✓					✓						✓	
	IC	✓	✓					✓	✓	✓	✓		✓	✓
	BGMR		✓						✓				✓	✓
	BG	✓	✓	✓	✓		✓							
	BP						✓	✓			✓		✓	
	BB	✓	✓	✓	✓									
Longitud de onda		$\lambda_3=638 \text{ nm}$												
Rango de pH		Ácidos						N	Bases					
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Indicadores colorimétricos	RF	✓	✓		✓	✓			✓	✓	✓		✓	✓
	PT	✓			✓			✓						
	MO	✓	✓	✓			✓		✓					✓
	IC						✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
	BGMR		✓	✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	BG	✓	✓	✓		✓								
	BP	✓	✓				✓							
	BB	✓	✓	✓										

Donde las abreviaturas de los indicadores colorimétricos son:

RF: Rojo Fenol
PT: Phenolphtaleina
MO: Naranja de Metilo
IC: Índigo Carmine
BGMR: Mezcla de Bromocresol verde con Rojo de Metilo
BG: Bromocresol verde
BP: Bromocresol Púrpura
BB: Bromotimol Azul
N: Neutro

A partir de análisis PCA, se estableció que cada indicador colorimétrico identifica un rango limitado de pH, al tiempo que se observó que el indicador Naranja de Metilo y Bromocresol verde, presentan asociaciones para distinguir solo algunos valores de pH, por lo que su uso no presenta ventajas respecto del resto de indicadores. Esta situación motivo a que fueran descartados definitivamente.

Tomando en consideración el rango de pH discriminado por los indicadores colorimétricos restantes y las tres longitudes de onda disponibles, se propusieron 12 modelos donde se combinan diferentes indicadores colorimétricos que cumplan con todo el rango de valores de pH (1-13), usando inicialmente, una, dos, y las tres longitudes de onda. La tabla 11 se muestran los modelos empleando las combinaciones posibles en base a los resultados del análisis de PCA.

Tabla 11. Modelos combinados de Indicadores Colorimétricos

Modelo	$\lambda_1=472$ nm	$\lambda_2=532$ nm	$\lambda_3=638$ nm
A	RF-BGMR-BP-BB		
B	BGMR- BP-BB		
C		RF-IC-PT	
D		RF	BGMR
E	BGMR	RF	
F	BGMR		RF-BB
G	BB	PT	IC-PT
H	BB-BP	RF	BGMR
I	RF	RF	BGMR
J	BP	BB	BGMR
K		RF	BP-BGMR
L	BGMR	RF	BP

4.3 Análisis ANN

Con la finalidad de obtener un modelo para relacionar las mediciones de absorbancia en las muestras con su valor de pH, se construyó un modelo de ANN.

Los datos del conjunto de indicadores se normalizaron para ser ingresados a la red de la siguiente forma: Se obtuvo el promedio total (p_t) para cada una de las mediciones de absorbancia originales del conjunto de pruebas (a_o) y este valor se le resta a los valores originales de absorbancia ($d_{va} = a_o - p_t$). Para finalizar se obtuvo el máximo ($\max. d_{va}$) del nuevo conjunto de datos llamado d_{va} y se dividió el dato para el mismo conjunto de datos d_{va} ($n_d = d_{va} / \max. d_{va}$). En la tabla 12 se muestran los resultados del promedio, el máximo y el mínimo para la normalización de los datos para el set de indicadores.

Tabla 12. Datos de normalización para el set de indicadores.

	Indicador	λ	Promedio	Máximo	Mínimo
1	RF	1	0.62837912	0.02670845	-0.01355488
2	BGMR	1	0.62777593	0.00372247	-0.00143559
3	BP	1	0.62704217	0.00432299	-0.00174031
4	BB	1	0.6332854	0.01081925	-0.00618531
5	RF	2	0.7537479	0.03243066	-0.04743789
6	IC	2	0.04529414	0.04145415	-0.04534075
7	PT	2	0.03862983	0.04431987	-0.0221863
8	IC	3	0.6867598	0.00076346	-0.0006064
9	PT	3	0.69245222	0.00040741	-0.00055859
10	RF	3	0.68712455	0.00068227	-0.00071772
11	BGMR	3	0.68717851	0.00070717	-0.00090489
12	BP	3	0.68708862	0.00066902	-0.00815
13	BB	3	0.68694084	0.0007315	-0.00052693

Considerando el arreglo de 10x13 del análisis PCA de cada indicador colorimétrico por cada LED, se hizo un arreglo matricial de 130x1 por cada LED correspondiente al conjunto de indicadores normalizados.

Por su parte se organizaron los datos correspondientes a los modelos construidos de la tabla 11. El valor de los arreglos difiere debido al número de indicadores seleccionados. En dichos arreglos ya viene incluido los valores del objetivo (pH).

Fue indispensable que se organizaran de esta forma con el fin que los objetivos esperados sean de la misma dimensión que de la elección de prueba. Posteriormente se creó un índice aleatorio para seleccionar los conjuntos de entrenamiento y prueba considerando un 70% para el primero y el 30% restante para el segundo.

La arquitectura de este modelo tiene un total de 15 neuronas en la capa oculta. La función de transferencia empleada en la capa de entrada y oculta fue Tangente Sigmoidal (tansig), en tanto que la capa de salida se utilizó una función lineal (purelin). La dimensión de la capa de entrada y la capa de salida se muestra reflejada en la tabla 13.

Tabla 13. Arreglos Matriciales

Modelos de Indicadores Colorimétricos	Capa de Entrada	Capa de Salida	Arreglos Matriciales
A,I,G	4	1	130x4
B,C,D ,H,J,K,L	3	1	130x3
E,F	2	1	130x2

Para la fase de entrenamiento se eligió el algoritmo de Levenberg-Marquardt, estableciendo un error de entrenamiento de 0.2 y una tasa de aprendizaje de 0.0001.

Para poder evaluar la capacidad de predicción de los modelos construidos, se empleó una validación cruzada k-fold (k=4), eligiendo un conjunto de prueba de forma aleatoria a partir del conjunto de muestras totales.

En las figuras 29-33 se puede observar un caso de k-fold de las predicciones obtenidas. La línea punteada es la línea ideal y la línea sólida es la regresión comparativa de los datos. El valor de correlación se muestra para cada gráfica como R.

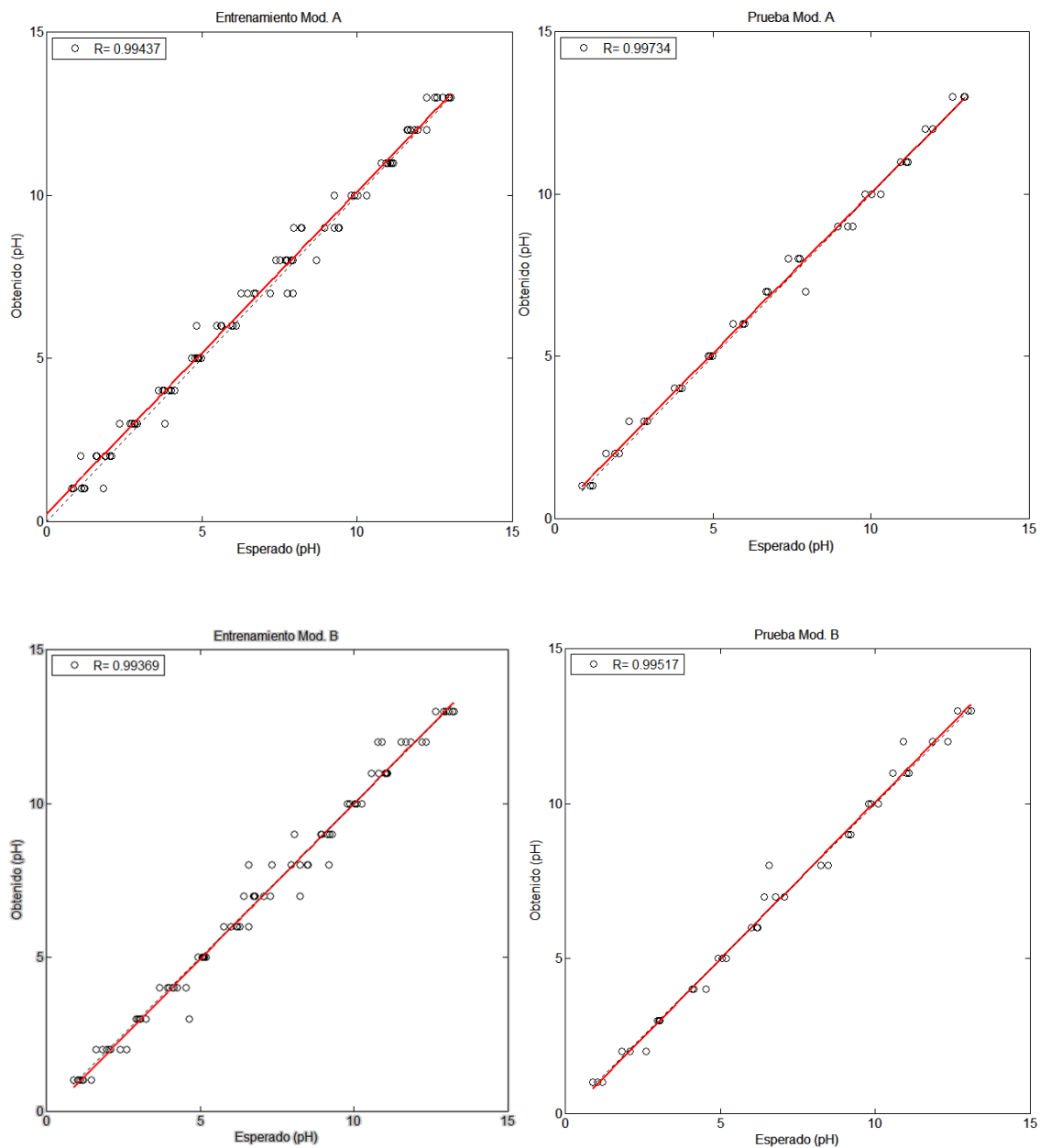


Fig. 29 Modelo ANN-A,B. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha)

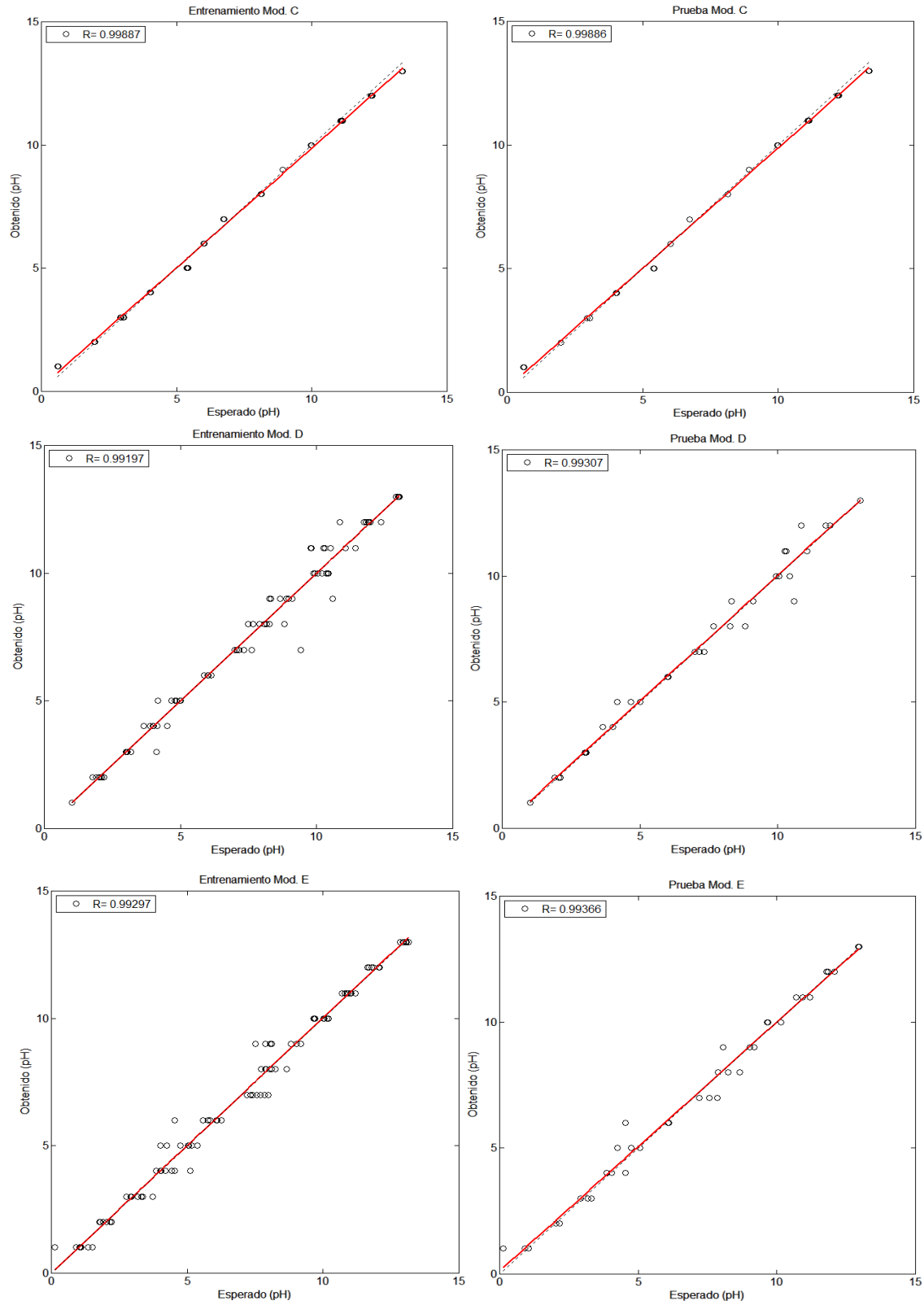


Fig. 30. Modelo ANN-C,D,E. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha)

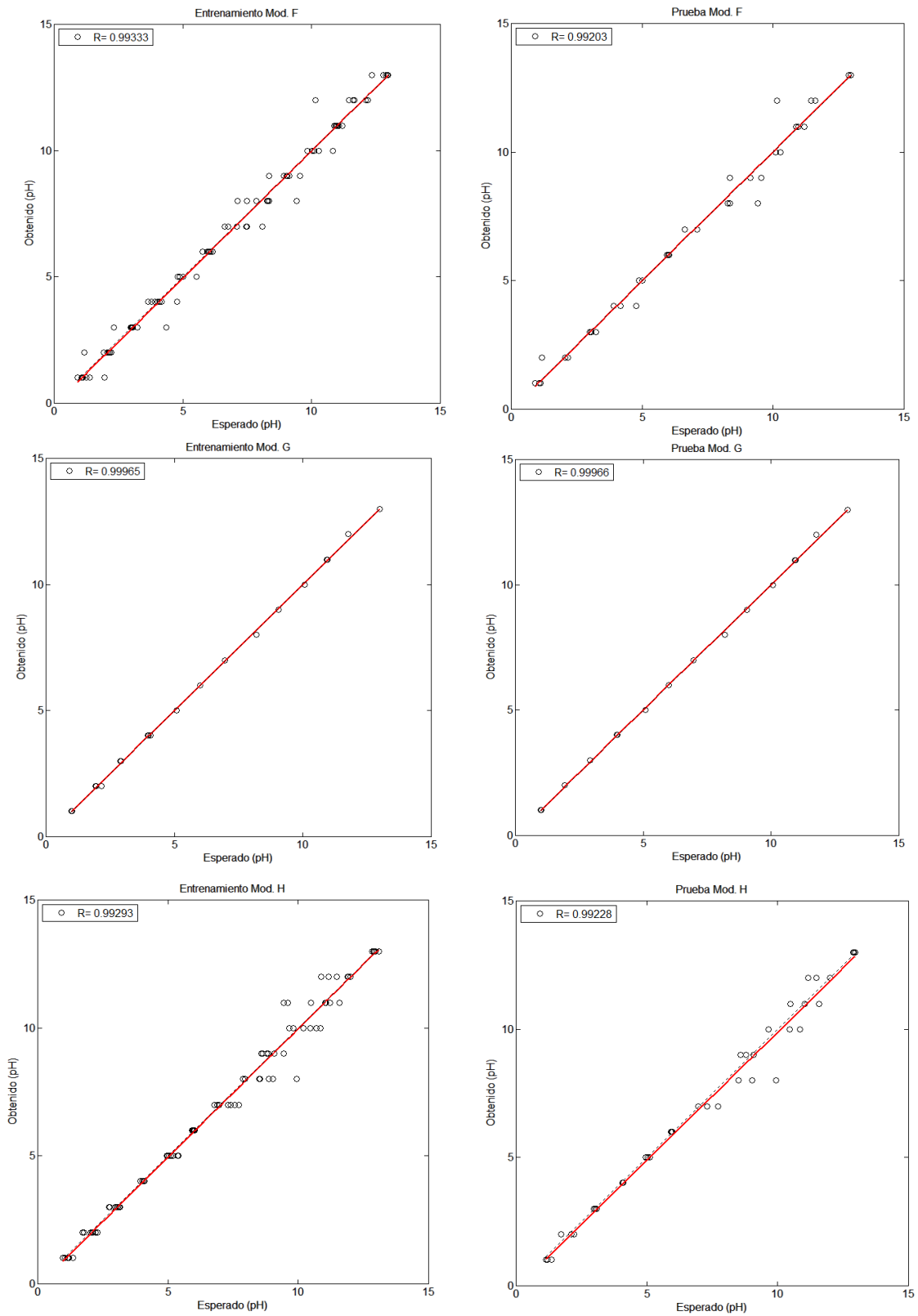


Fig. 31. Modelo ANN-F,G,H,. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha)

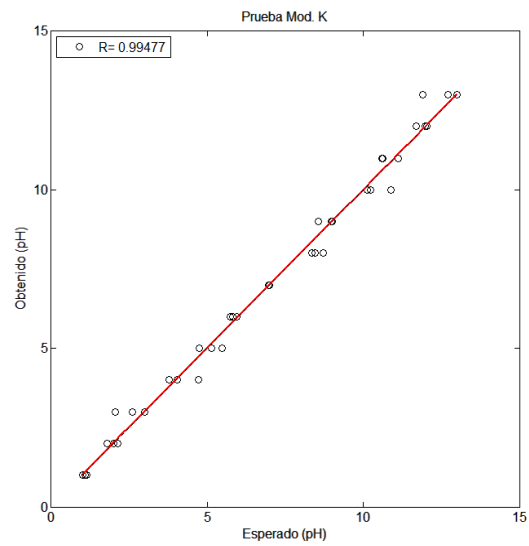
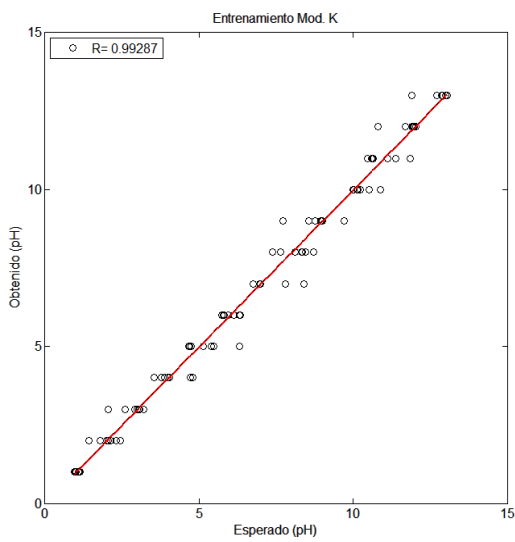
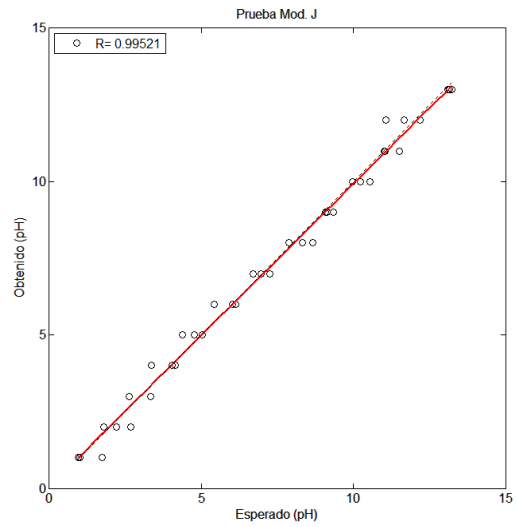
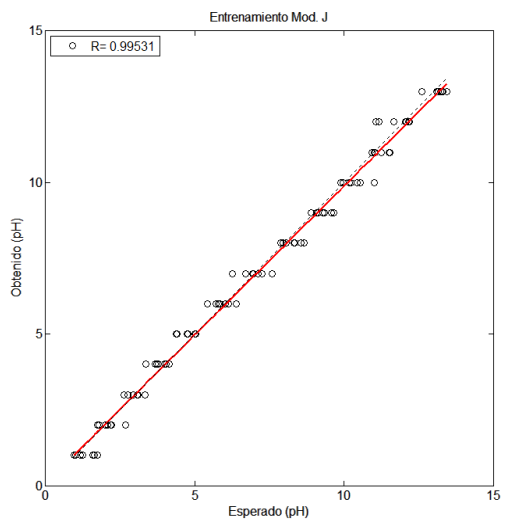
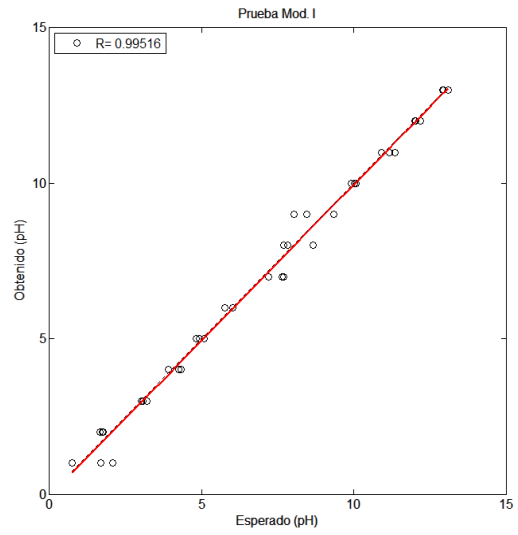
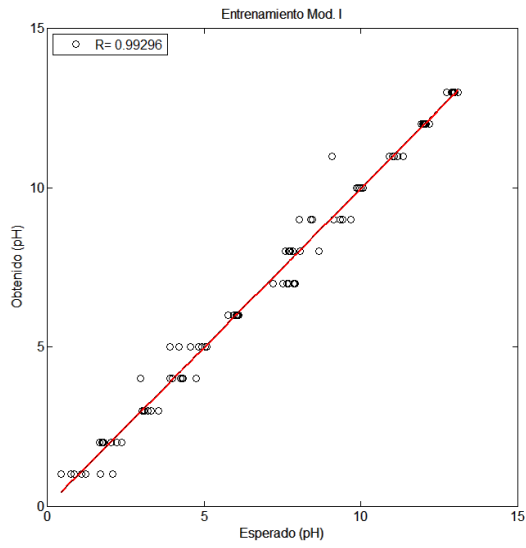


Fig. 32. Modelo ANN-I,J,K,. Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha)

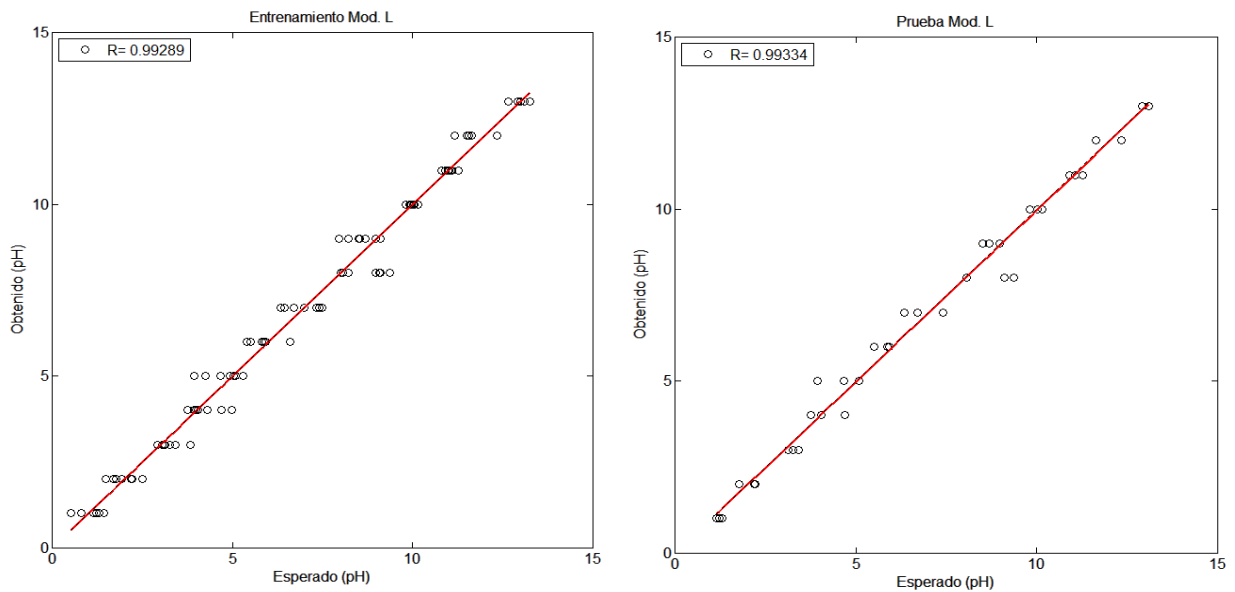


Fig. 33. Modelo ANN-Comparación de entrenamiento (izquierda) y prueba (derecha)

A partir de las regresiones lineales, se puede deducir que existe estabilidad en la respuesta del modelo y que del proceso de k-fold empleado se obtienen rectas de regresión similares, por lo que los modelos construidos se consideran aceptables.

Ahora bien, los valores de la pendiente m y la intersección b que definen la línea comparativa ($y = mx + b$) que mejor ajusta a los datos (en un intervalo de confianza del 95%) se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Parámetros de la regresión lineal de los modelos A-L

Modelos	Entrenamiento			Prueba		
	R	m	B	R	m	B
A	0.9944	0.9537±0.0814	0.1973±0.0407	0.9973	0.9513±0.0732	0.1987±0.0366
B	0.9937	0.9521±0.0833	1.0353±0.0416	0.9952	0.9763±0.0798	0.1354±0.399
C	0.9989	0.9791±0.0396	0.1959±0.0198	0.9989	0.9511±0.0379	0.1909±0.0189
D	0.9920	0.9407±0.1025	0.0494±0.0512	0.9931	0.9375±0.1188	0.1217±0.0594
E	0.9930	0.9438±0.0984	0.044±0.0492	0.9937	0.9362±0.1013	0.1796±0.0507
F	0.9933	0.9451±0.0964	0.0122±0.0482	0.9920	0.9555±0.0955	0.0268±0.0478
G	0.9997	0.9832±0.0329	0.0142±0.0164	0.9997	0.9856±0.0277	0.024±0.0138
H	0.9929	0.9436±0.0986	0.0328±0.0493	0.9923	0.95±0.0957	0.0497±0.0479
I	0.9930	0.9442±0.0975	0.0542±0.0487	0.9952	0.956±0.0908	0.0159±0.0454
J	0.9953	0.9628±0.0651	0.1012±0.0325	0.9952	0.9566±0.0618	0.084±0.0309
K	0.9929	0.9444±0.0968	0.0357±0.0484	0.9948	0.9577±0.0828	0.0729±0.0414
L	0.9929	0.9513±0.0832	0.0341±0.0416	0.9933	0.9547±0.0869	0.0308±0.0434

4.4 Comparación del pH-metro óptico realizado con el pH-metro comercial

Se compararon las mediciones realizadas con el sistema construido y las obtenidas con un pH-metro comercial de la marca Metrohom (mod. 826 pH mobile). Todos los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente. Para tener noción de la temperatura en el sistema óptico, se utilizó un termómetro de mercurio (mod.76mm immersion Brannan). A continuación, se muestra la comparativa en la tabla 15 y 16 para ambos sistemas en todo el conjunto de muestras disponibles.

Se obtuvo el error cuadrático médico (ECM) de las predicciones y mediciones para evaluar el desempeño de los modelos propuestos y el pH-metro electroquímico. La tabla 17 presenta la comparativa del ECM para ambos sistemas.

La respuesta del pH-metro óptico se obtuvo a partir de la combinación de los indicadores colorimétricos que permitían evaluar todo el rango de pH para alimentar al modelo neural, quien a partir de las señales de absorbancia efectúa la predicción de los valores de pH de las muestras.

En el caso de las medidas del pH-metro comercial, los valores de pH se obtuvieron midiendo cada muestra colorimétrica por separado. Para obtener una única respuesta que considere a diferentes indicadores colorimétricos, se calculó el promedio de las lecturas obtenidas de cada indicador colorimétrico presente en la combinación de los modelos construidos en la tabla 11.

Tabla 15. Registro de pH del sistema óptico

Rango de pH	Modelos construidos											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	1.14575909	0.9968291	1.24279196	1.03069886	0.96585455	1.36143264	1.01672659	1.01443062	1.21564189	1.1867891	1.02028359	1.21097601
2	2.17732877	2.04549776	1.95986865	1.9988722	2.0560789	2.0416166	2.13773618	2.01661119	1.99865265	2.16012211	2.06251795	2.07192818
3	2.77978049	3.04503521	3.00036045	3.08987008	3.21360101	2.99331883	3.07479622	3.01129813	3.1554769	2.75763608	2.91996896	3.21265281
4	4.01139703	4.1866921	4.15485512	4.10074064	4.24072482	4.04758004	3.98941316	3.99455175	4.34039463	3.87721439	4.08467338	4.19184565
5	5.16045821	4.97578394	5.2599048	4.80581506	4.6610822	4.94199654	5.03127115	5.01746564	4.94317771	4.94454692	5.02675477	4.82979669
6	5.72010523	6.02984829	5.87989042	6.00068617	5.76685234	6.01501342	5.96982038	5.97018974	5.89827089	5.91844112	5.92467181	5.9133734
7	7.14308428	6.72104551	6.67322084	7.39441285	7.57592418	6.84501261	6.96967032	7.199339	7.44250959	6.8755978	7.32852142	7.35104267
8	8.07554929	8.06306384	7.94736448	8.24278087	8.03651752	8.14245566	7.94911652	8.5174987	8.02159374	8.2307937	8.09131676	8.23730638
9	8.82287017	9.1326055	8.73148838	9.11095356	8.80522533	8.94660701	9.1414234	9.03732087	8.69596151	9.27422876	8.99506589	8.91226555
10	9.84843753	9.95168366	9.86788593	10.1621228	9.89840176	10.1419938	10.0291586	10.2870866	9.97404871	9.94539739	10.314118	10.05098
11	10.878306	10.9615576	10.9424215	10.4593555	10.8824159	11.0400294	10.9399229	10.7589259	10.9265583	11.1786258	10.8312797	11.0210532
12	11.9624395	11.7925469	12.1220653	11.7119271	11.6788594	11.7851751	12.0062306	11.4556634	12.0079351	11.7453592	11.6998897	12.0006995
13	12.7709128	12.9631327	13.1818789	13.0296413	12.9982779	12.9298979	12.8652988	13.0041199	12.8365863	13.0117976	12.7651546	13.0011442
ECM	0.14644609	0.15957183	0.07572188	0.23757445	0.20269081	0.19102381	0.05539487	0.19140591	0.18159951	0.12363375	0.16551204	0.17378283

Tabla 16. Registro de pH del sistema comercial

Rango de pH	Modelos Construidos											
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	1.025	1.000	0.993	1.005	1.070	1.037	0.950	1.025	1.080	1.000	1.043	1.043
2	1.963	1.963	1.880	3.005	1.960	1.967	1.887	1.963	1.960	1.963	1.957	1.957
3	2.983	2.987	2.983	4.035	2.990	2.987	2.987	2.983	2.983	2.987	2.983	2.983
4	4.020	4.027	4.010	5.080	4.020	4.023	4.020	4.020	4.013	4.027	4.017	4.017
5	5.068	5.073	5.020	6.080	5.070	5.070	5.027	5.068	5.063	5.073	5.067	5.067
6	6.075	6.080	6.037	7.115	6.075	6.070	6.037	6.075	6.070	6.080	6.080	6.080
7	7.093	7.100	7.067	7.115	7.095	7.097	7.077	7.093	7.087	7.100	7.090	7.090
8	7.983	7.997	8.287	8.030	8.000	7.997	8.303	7.983	7.980	7.997	7.980	7.980
9	8.958	8.950	9.023	9.055	9.040	8.970	8.973	8.958	9.020	8.950	9.000	9.000
10	10.083	10.130	9.987	10.470	10.285	10.060	9.877	10.083	10.170	10.130	10.240	10.240
11	10.890	10.913	10.947	11.260	10.920	10.867	10.927	10.890	10.887	10.913	10.933	10.933
12	11.880	11.990	11.850	12.165	11.815	11.833	11.957	11.880	11.727	11.990	11.883	11.883
13	12.798	12.899	12.647	12.985	12.620	12.740	12.890	12.798	12.497	12.980	12.737	12.970
ECM	0.008	0.005	0.020	0.461	0.023	0.011	0.012	0.008	0.030	0.004	0.013	0.008

Tabla 17. Comparativas de errores en el sistema óptico y sistema comercial

Modelos	ECM óptico	ECM Comercial
A	0.14644609	0.00753077
B	0.15957183	0.00471422
C	0.07572188	0.01954615
D	0.23757445	0.4608
E	0.20269081	0.02264615
F	0.19102381	0.01076838
G	0.05539487	0.0116265
H	0.19140591	0.00753077
I	0.18159951	0.03042137
J	0.12363375	0.00395641
K	0.16551204	0.0129735
L	0.17378283	0.00770855

En la tabla 17 se muestra los errores comerciales y ópticos, donde se aprecia que el modelo G construido muestra mejor respuesta en comparación de los otros modelos. El modelo G se encuentra constituido por 3 indicadores Bromocresol Azul, Phenolphthaleina e Indigo Carmine y los 3 LEDs disponibles.

Considerando la cantidad de modelos construidos que son 12 y la cantidad de repeticiones para cada lectura de medición, el error de 0.055 del pH-metro óptico lo hace competitivo con el valor comercial que es 0.01.

Capítulo 5. Conclusiones y trabajo futuro

Se diseñó y construyó un sistema óptico usando 6 canales para el uso de 3 longitudes de onda (azul, verde y rojo) en base a un estudio exhaustivo para la elección de longitudes de onda.

Se decidió hacer uso de sensores ópticos de tamaño reducido que permitan convertir la luz a un voltaje, con el fin de obtener un registro de absorbancia en muestras contenidas en un volumen máximo de 1.5 mL.

Para el modelado de las señales, el uso de redes neuronales permite asociar los valores de absorbancia a un valor específico de pH. La propuesta de emplear diferentes modelos construidos a partir de combinaciones distintas de indicadores colorimétricos y longitudes de onda, permitió establecer que el modelo G, donde se utilizan las tres longitudes de onda disponibles y los indicadores Bromocresol Azul, Phenolphthaleina e Indigo Carmine, presenta el menor error cuadrático medio en la predicción de la escala de pH.

Esta situación, da la pauta para establecer que el pH-metro óptico es robusto al emplear las tres longitudes de onda (472 nm, 532 nm y 638 nm) en la determinación del pH de una muestra real.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la versión actual del sistema óptico tiene un error en la medida de 0.0553 de pH, que se puede considerar como aceptable, considerando que el error del pH-metro comercial (con determinación electroquímica) es de 0.0116 pH para el mismo conjunto de muestras contenidas en un volumen mayor.

Como trabajo a futuro se plantea que el sistema sea completamente automático y embebido, capaz de entregar mediciones continuas en el menor tiempo posible con la versatilidad de trabajar de forma autónoma e integrarse a un sistema de inyección de flujo.

La versión actual del sistema, podría ser rediseñada para que solo se use un solo sensor para la obtención de los datos y que la emisión de luz se efectúe mediante un solo canal en donde exista un solo arreglo de LEDs.

Finalmente, aunque los objetivos de este trabajo fueron alcanzados con resultados satisfactorios, existen algunas recomendaciones que se dejan para trabajos posteriores:

- Estudiar y evaluar más a profundidad las técnicas de procesamiento.
- Basados en los resultados reportados, hacer pruebas de pH en soluciones orgánicas y cierto grado de turbidez.

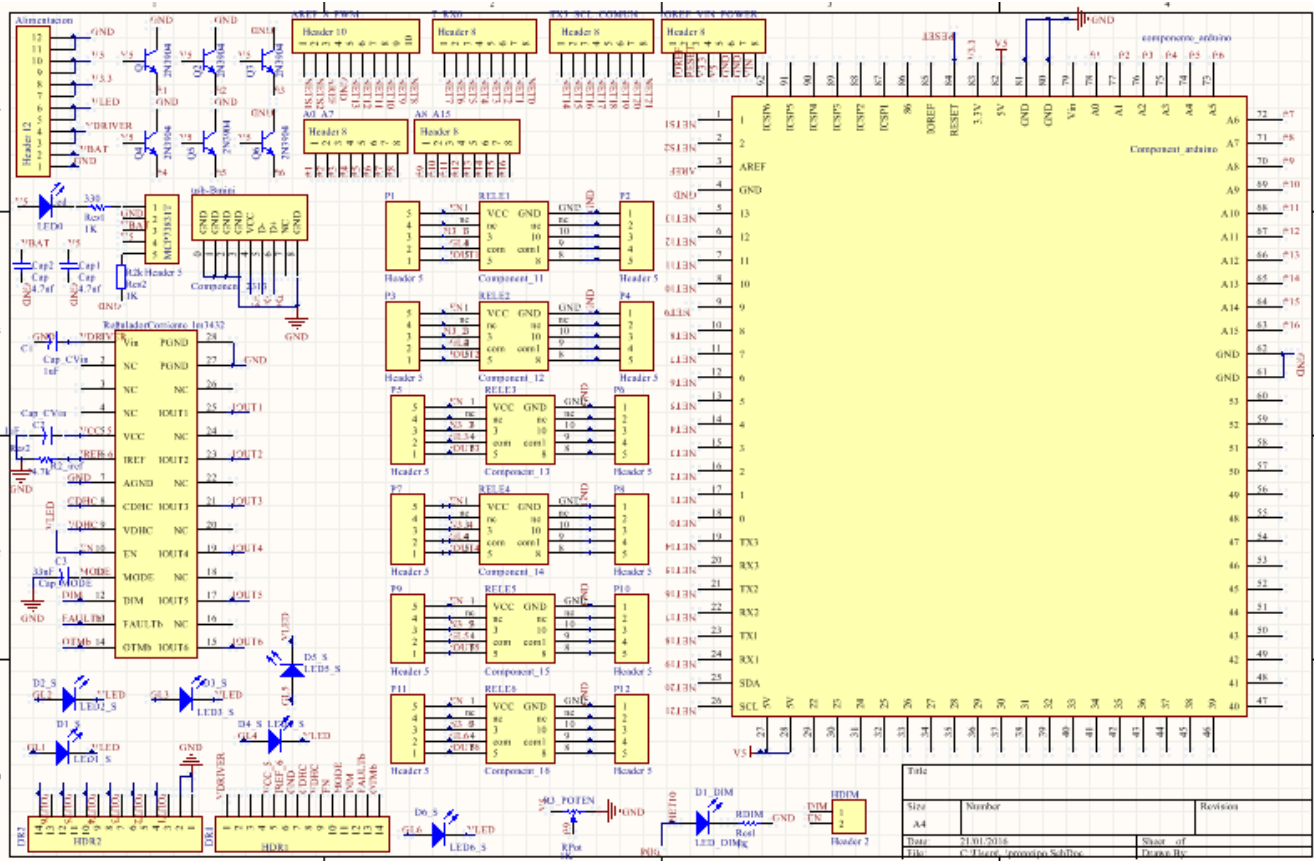
Productos obtenidos del desarrollo de la tesis.

Este trabajo dio la posibilidad de presentar un trabajo en extenso publicado en las memorias del SOMI XXX Congreso de Instrumentación (Anexo3), titulado: Diseño de un pH-metro óptico para mediciones *in-situ*. ISSN 2395-8499

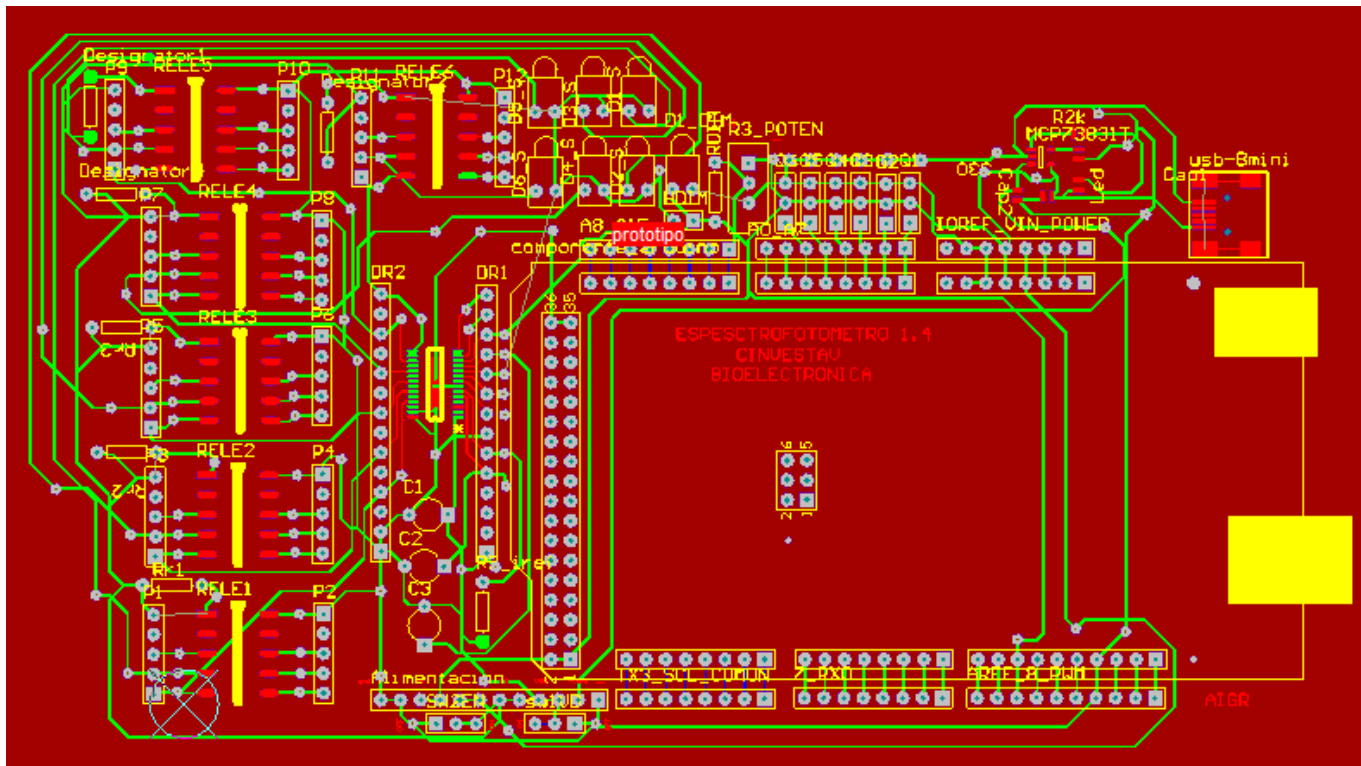
Apéndices

Apéndice A1

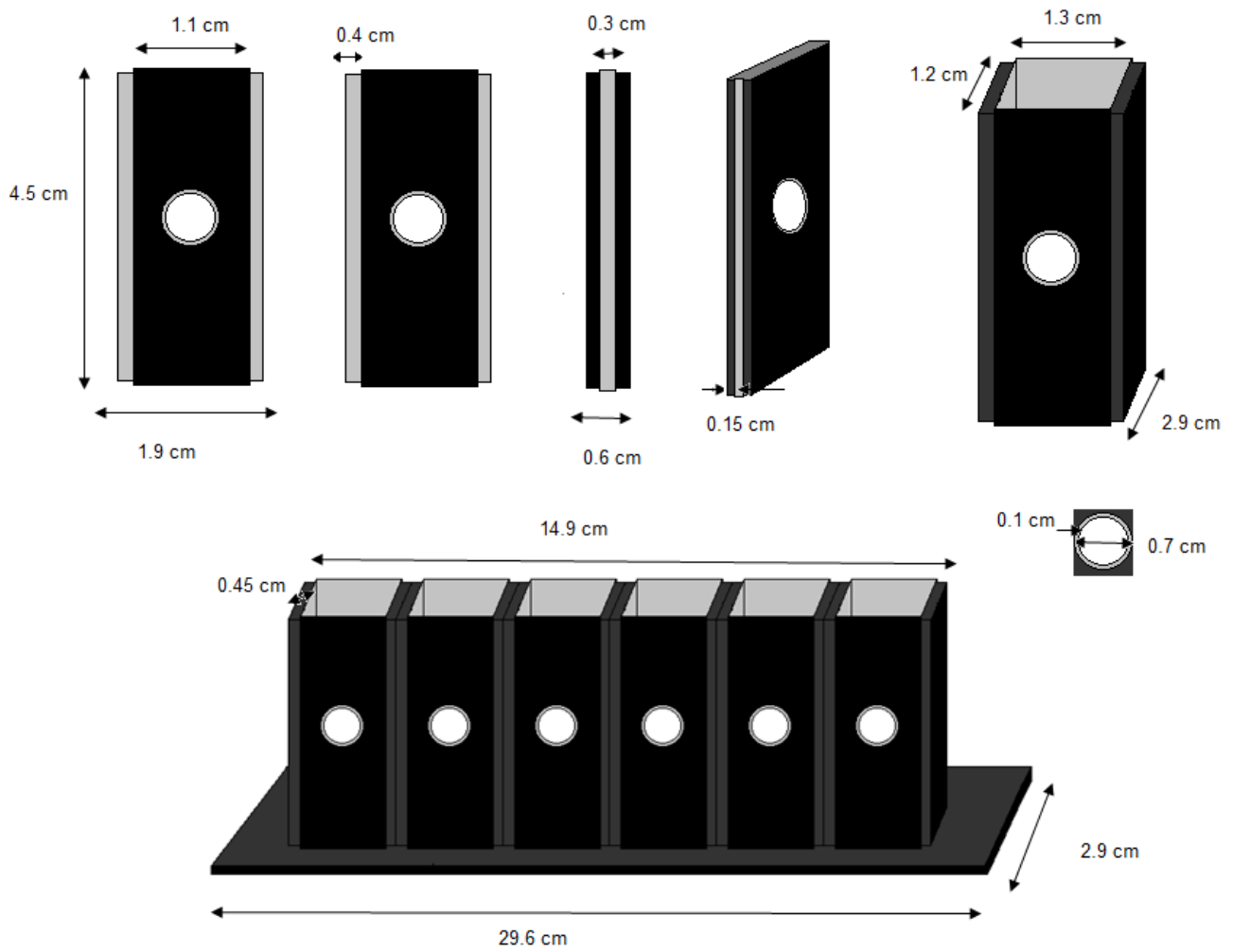
1. Diseño Eléctrico de la placa shield



2. PCB de la tarjeta shield y la ubicación de componentes

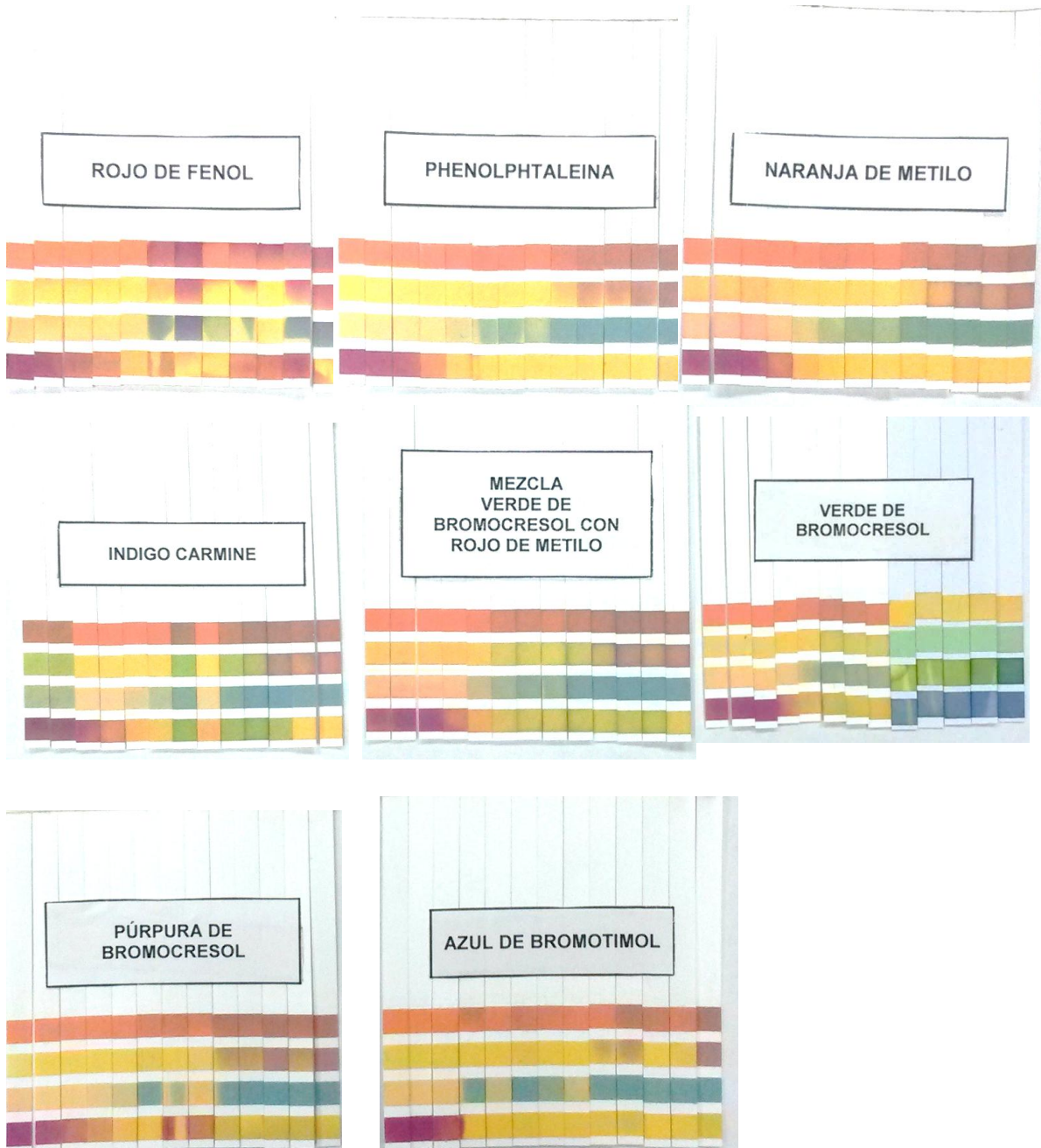


3. Diseño de las caras y porta celdas



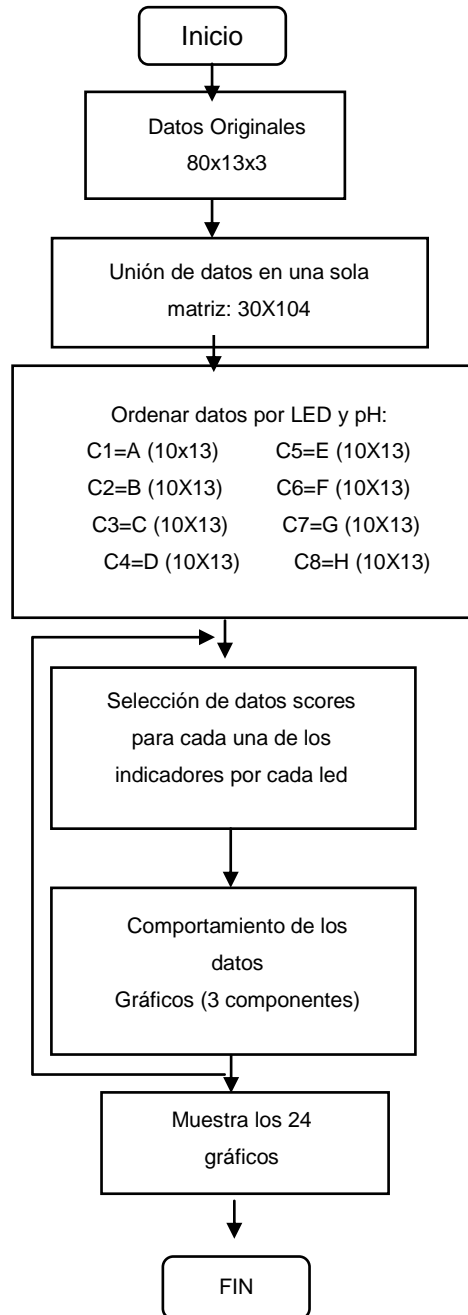
Apéndice A2

1. Respuesta de las tiras reactivas para cada de las muestras usando indicadores colorimétricos



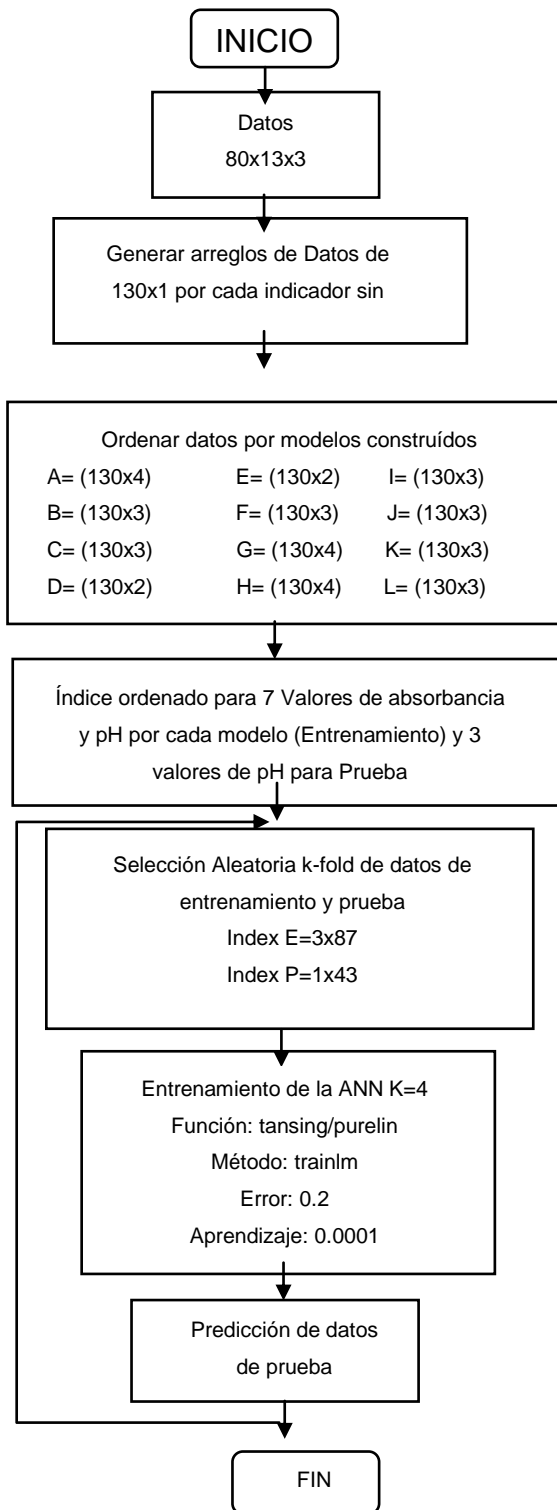
Apéndice A3

1. PCA



Apéndice A4

1. ANNs



REFERENCIAS

- [1] AppliChem. (2008, 07/01/2016). *Biological Buffers* Available: <https://www.applichem.com/fileadmin/Broschueren/BioBuffer.pdf>
- [2] F. J. Kohlmann. (2003) What is pH, and how is it measured? *GLI International*. 3-22.
- [3] G. G. Sosa, "Indicadores de pH," Facultad de Química UNAM2010.
- [4] R. P. Areny, *Sensores y acondicionadores de señal*: Marcombo, 2004.
- [5] C. R. Gonzales. (2011, 6/01/2016). *Clasificación de los sensores y transductores (Arex ed.)*. Available: <http://es.scribd.com/doc/52731537/2-1-Clasificacion-de-los-sensores-y-transductores#scribd>
- [6] J. H. J. Z. W. Göppel, *Fundamentals and General Aspects, Volume 1, Sensors: A Comprehensive Survey*, 1 ed. vol. 1, 1986.
- [7] W. Gopel, J. Hesse, J. N. Zemel, T. Jones, M. Kleitz, J. Lundstrom, *et al.*, *Sensors: a comprehensive survey. chemical and biochemical sensors, Part 2*: VCH, 1992.
- [8] C. P. Conde, "¿Porque los sensores?," in *Sensores Ópticos*, U. d. Valencia, Ed., ed Valencia, 1996, pp. 16-17.
- [9] G. C. Righini, *An introduction to optoelectronic sensors Vol. 7*: World Scientific, 2009.
- [10] C. P. Conde, "Sensores Ópticos," in *Sensores Ópticos*, U. d. Valencia, Ed., ed Valencia, 1996.
- [11] C. P. Conde, *Sensores Ópticos*. Valencia: Univeritat de Valencia, 1996.
- [12] V. Ceron. (2014, 09/Enero/2015). *Sensores Ópticos*. Available: <https://prezi.com/wfbwo9wqt4tm/sensores-opticos/>
- [13] D. A. Skoog, F. J. Holler, T. A. Nieman, and M. d. C. M. Gómez, *Principios de análisis instrumental* vol. 5: McGraw-Hill España., 2001.
- [14] R. Narayanaswamy, "Optical chemical sensors and biosensors for food safety and security applications," *Acta Biologica Szegediensis*, vol. 50, pp. 105-108, 2006.
- [15] M. García, E. Montero, and M. Á. V. Broncano, "Estudio de las propiedades ópticas de recubrimientos Sol-Gel dopados con fluoresceína en función de la concentración y del pH," *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, vol. 43, pp. 8-11, 2004.
- [16] C. P. Conde, "Sensores de Absorbancia," in *Sensores Ópticos*, U. d. Valencia, Ed., ed, 1996.
- [17] F. L. Hitchcock, "Multiple Invariants and Generalized Rank of a P-Way Matrix or Tensor," *Journal of Mathematics and Physics*, vol. 7, pp. 39-79, 1928.
- [18] X. Cetó, F. Céspedes, and M. del Valle, "Comparison of methods for the processing of voltammetric electronic tongues data," *Microchimica Acta*, vol. 180, pp. 319-330, 2013.

- [19] J. Garson, "Connectionism. In: Zalta EN (ed), The Stanford Encyclopaedia of Philosophy ", ed, 2007.
- [20] R. J. Beale, T., "Neural computing, an introduction.," *IOP Publishing Ltd*, 1992.
- [21] T. Fine, *Feedforward neural network methodology*. New York, 1999.
- [22] M. I. Pividori and S. Alegret, "Nuevos genosensores amperométricos," 2004.
- [23] Á. A. Arrieta, M. L. Rodríguez-Méndez, and J. A. D. Saja, "Voltametric electronic tongue application to wines classification and correlation study with the chemical and sensory characterization," *Química Nova*, vol. 33, pp. 787-793, 2010.
- [24] G. S. J. Manuel, "Sistema de monitoreo en tiempo real para la cuantificación de compuestos en soluciones acuosas basado en lenguas electrónicas híbridas e inteligencia artificial " 2008, Ingeniería Eléctrica Sección Bioelectrónica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politecnico Nacional México, D.F., 2008.
- [25] A. G. Santana Rayo, "Implementación de modelos multivaria en el procesamiento de señales de lenguas electrónicas," Maestría, Ingeniería Eléctrica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politecnico Nacional, México, D.F., 2013.
- [26] J. Hertz, Krogh, A., Palmer, R.G, *Introduction to the theory of neural computation*. Reedwood City, 1991.
- [27] J. Wu, J. Liu, M. Fu, G. Li, and Z. Lou, "Classification of Chinese Yellow Wines by Chemometric Analysis of Cyclic Voltammogram of Copper Electrodes," *Sensors*, vol. 5, pp. 529-536, 2005.
- [28] J. A. Freeman, Skapura, D.M., , *Neural networks: algorithms, applications and programming techniques*. Redwood City, C.A., 1992.
- [29] J. Janata, "Do optical sensors really measure pH?," *Analytical Chemistry*, vol. 59, pp. 1351-1356, 1987.
- [30] D. W. King and D. R. Kester, "Determination of seawater pH from 1.5 to 8.5 using colorimetric indicators," *Marine chemistry*, vol. 26, pp. 5-20, 1989.
- [31] R. H. Byrne and J. A. Breland, "High precision multiwavelength pH determinations in seawater using cresol red," *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, vol. 36, pp. 803-810, 1989.
- [32] J. G. Schnable, P. J. Grochowski, L. Wilhelm, C. Harding, M. Kiefer, and R. S. Orr, "Portable LED-array VIS–NIR spectrophotometer/nephelometer," *Field Analytical Chemistry & Technology*, vol. 2, pp. 21-28, 1998.
- [33] T. R. Martz, J. J. Carr, C. R. French, and M. D. DeGrandpre, "A submersible autonomous sensor for spectrophotometric pH measurements of natural waters," *Analytical chemistry*, vol. 75, pp. 1844-1850, 2003.
- [34] Q. Li, K. J. Morris, P. K. Dasgupta, I. M. Raimundo, and H. Temkin, "Portable flow-injection analyzer with liquid-core waveguide based fluorescence, luminescence, and long path length absorbance detector," *Analytica Chimica Acta*, vol. 479, pp. 151-165, 2003.
- [35] P. K. Dasgupta, I.-Y. Eom, K. J. Morris, and J. Li, "Light emitting diode-based detectors: Absorbance, fluorescence and spectroelectrochemical measurements in a planar flow-through cell," *Analytica Chimica Acta*, vol. 500, pp. 337-364, 2003.

- [36] A. Wego, "Accuracy simulation of an LED based spectrophotometer," *Optik-International Journal for Light and Electron Optics*, vol. 124, pp. 644-649, 2013.
- [37] K. T. Lau, R. Shepherd, D. Diamond, and D. Diamond, "Solid state pH sensor based on light emitting diodes (LED) as detector platform," *Sensors*, vol. 6, pp. 848-859, 2006.
- [38] T.-S. Y. a. S.-S. Tseng, "A Low Cost LED Based Spectrometer," *Journal of the Chinese Chemical Society*, vol. 53, pp. 1067-1072, 2006.
- [39] G. Veras, E. C. Silva, W. S. Lyra, S. F. C. Soares, T. B. Guerreiro, and S. R. B. Santos, "A portable, inexpensive and microcontrolled spectrophotometer based on white LED as light source and CD media as diffraction grid," *Talanta*, vol. 77, pp. 1155-1159, 2009.
- [40] H.-x. Chen, X.-d. Wang, X.-h. Song, T.-y. Zhou, Y.-q. Jiang, and X. Chen, "Colorimetric optical pH sensor production using a dual-color system," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 146, pp. 278-282, 2010.
- [41] C. F. S. Abmann, and A. Körtzinger, "Spectrophotometric high-precision seawater pH determination for use in underway measuring systems," *Ocean Science*, vol. 7, pp. 597-607, 2011.
- [42] B. Yang, M. C. Patsavas, R. H. Byrne, and J. Ma, "Seawater pH measurements in the field: A DIY photometer with 0.01 unit pH accuracy," *Marine Chemistry*, vol. 160, pp. 75-81, 2014.
- [43] D. Wencel, T. Abel, and C. McDonagh, "Optical chemical pH sensors," *Analytical chemistry*, vol. 86, pp. 15-29, 2013.
- [44] *Arduino MEGA 2560 & Genuino MEGA 2560 (2016 ed.)*. Available: <https://www.arduino.cc/en/Main/ArduinoBoardMega2560>
- [45] BRAND. *Cubetas de plástico desechables para análisis espectrofotométricos en la región UV-VIS*.
- [46] "LED estándar - Montaje interfacial Blue/ Water Clear 465-472nm2500mcd," in *Property of Lite - On Only*, L.-O. T. CORPORATION, Ed., ed: Mouser.
- [47] "LED estándar - Montaje interfacial Green/ Water Clear 525-532nm7800mcd," in *Property of Lite - On Only*, L.-O. T. CORPORATION, Ed., ed: Mouser.
- [48] "LED estándar - Montaje interfacial Red Clear," in *Property of Lite - On Only*, L.-O. T. CORPORATION, Ed., ed: Mouser.
- [49] "6-Channel Current Regulator for LED Backlight Application: : LM3432, LM3432B," T. Instruments, Ed., ed, 2007.
- [50] H. J. Vreman, R. J. Wong, D. K. Stevenson, R. K. Route, S. D. Reader, M. M. Fejer, *et al.*, "Light-emitting diodes: a novel light source for phototherapy," *Pediatric research*, vol. 44, pp. 804-809, 1998.
- [51] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad: : Fenolftaleina Solución," ed, 2015.
- [52] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad: Anaranjado de metilo, Solución," 2015.
- [53] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad: Bromocresol Green/Methyl Red, mixed indicator solution," 2015.
- [54] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad: Bromocresol Púrpura, Solución," ed, 2015.

- [55] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad: Indigo carmine solution," ed, 2015.
- [56] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad: Verde de Bromocresol, Solución " 2015.
- [57] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad:Azul de bromotimol solución," ed, 2015.
- [58] Sigma-Aldrich, "Ficha de Datos de seguridad: Rojo Fenol, Solución " 2015.
- [59] Brand, "Cubetas de plástico desechables para análisis espectrofotométricos en la región UV-VIS," in *HIGH-TECH DISPOSABLES*, ed: Wertheim · Germany.
- [60] T. S. Yeh and S. S. Tseng, "A low cost LED based spectrometer," *Journal of the Chinese Chemical Society*, vol. 53, pp. 1067-1072, 2006.
- [61] M. A. M. Brunatti C., "Introducción a la Espectroscopía de Absorción Molecular Ultravioleta, Visible e Infrarrojo Cercano," ed.

ANEXOS

ANEXO 1

1. Código Control Arduino

```
int potPin1 = 0; //detector pin
int potPin2 = 1; //detector pin
int potPin3 = 2;
int potPin4 = 3;
int potPin5 = 4;
int potPin6 = 5;
```

```
int dim = 10; //intensidad del led
int pot = 8; //potenciometro conectado al pin 8
int tension = 0; //variable en el que se almacena el dato leido
```

```
int i;
```

```
x1a=0;
y1a=0;
x1aLSB=0;
x1aMSB=0;
y1aLSB=0;
y1aMSB=0;
```

```
x3a=0;
y3a=0;
x3aLSB=0;
x3aMSB=0;
y3aLSB=0;
y3aMSB=0;
```

```
x5a=0;
y5a=0;
x5aLSB=0;
x5aMSB=0;
y5aLSB=0;
y5aMSB=0;
```

```
int vala=0; //"blank" button value
int valb=0; //"sample" button value
```

```
int Boton = 0; // almacena el dato serie
int dato= 0;
```

```

int apin=8; //pin8 blank button
int bpin=9; //pin9 sample button

void setup(){

  Serial.begin(9600);
  delay(1000); //Delay1000ms
  pinMode(apin,INPUT); //setup blank button
  pinMode(bpin,INPUT); //setup sample button
  pinMode(2, OUTPUT); //LED azul 472nm
  pinMode(3,OUTPUT); // LED azul 472nm
  pinMode(4, OUTPUT); //LED verde 532 nm
  pinMode(5,OUTPUT); // LED verde 532 nm
  pinMode(6, OUTPUT); // LED rojo 638nm
  pinMode(7,OUTPUT); // LED rojo 638nm

  pinMode(dim, OUTPUT); //EL PIN DE SALIDA

}

void loop(){
  tension = analogRead(pot); //lee la tension en el pin
  analogWrite(dim, tension/4);
  //Condiciones para control a través del puerto Serial
  if (Serial.available() > 0) {
    // {int dato=Serial.read();
    Boton=Serial.read();
  }

  if( Boton==1){
    digitalWrite(2,LOW);
    Boton=0;
    delay(2000);
    for(i=0; i<10; ++i){
      x1a +=analogRead(potPin1);
    }
    //x1a=((x1a/10)*5)/1024); //read the blank
    digitalWrite(2,HIGH);
    digitalWrite(3,LOW);
    delay(2000);
    for(i=0; i<10; ++i){
      y1a +=analogRead(potPin2);
    }

    //y1a = (((y1a/10)*5)/1024); //read the blank

    digitalWrite(3,HIGH);

```

```

x1aLSB=x1a&255;
x1aMSB=(x1a&65280)>>8;

y1aLSB=y1a&255;
y1aMSB=(y1a&65280)>>8;

Serial.write(x1aLSB);
Serial.write(x1aMSB);

Serial.write(y1aLSB);
Serial.write(y1aMSB);
}

if( Boton==2){
digitalWrite(4,LOW);
Boton=0;
delay(2000);
for(i=0; i<10; ++i){
x3a +=analogRead(potPin3);
}
//x3a=(((x3a/10)*5)/1024); //read the blank
digitalWrite(4,HIGH);
digitalWrite(5,LOW);
delay(2000);
for(i=0; i<10; ++i){
y3a +=analogRead(potPin4);
}
//y3a = (((y3a/10)*5)/1024); //read the blank
digitalWrite(5,HIGH);
x3aLSB=x3a&255;
x3aMSB=(x3a&65280)>>8;

y3aLSB=y3a&255;
y3aMSB=(y3a&65280)>>8;

Serial.write(x3aLSB);
Serial.write(x3aMSB);

Serial.write(y3aLSB);
Serial.write(y3aMSB);

}

if( Boton==3){
digitalWrite(6,LOW);
Boton=0;
delay(2000);

```

```

    for(i=0; i<10; ++i){
    x5a +=analogRead(potPin5);
    }
    //x5a=(((x5a/10)*5)/1024); //read the blank
    digitalWrite(6,HIGH);
    digitalWrite(7,LOW);
    delay(2000);
    for(i=0; i<10; ++i){
    y5a +=analogRead(potPin6);
    }
    //y5a = (((y5a/10)*5)/1024); //read the blank
    digitalWrite(7,HIGH);
x5aLSB=x5a&255;
    x5aMSB=(x5a&65280)>>8;

    y5aLSB=y5a&255;
    y5aMSB=(y5a&65280)>>8;
    Serial.write(x5aLSB);
    Serial.write(x5aMSB);

    Serial.write(y5aLSB);
    Serial.write(y5aMSB);

}

```

2. Código Control Matlab (Adquirir las señales muestra blanco y muestra real)

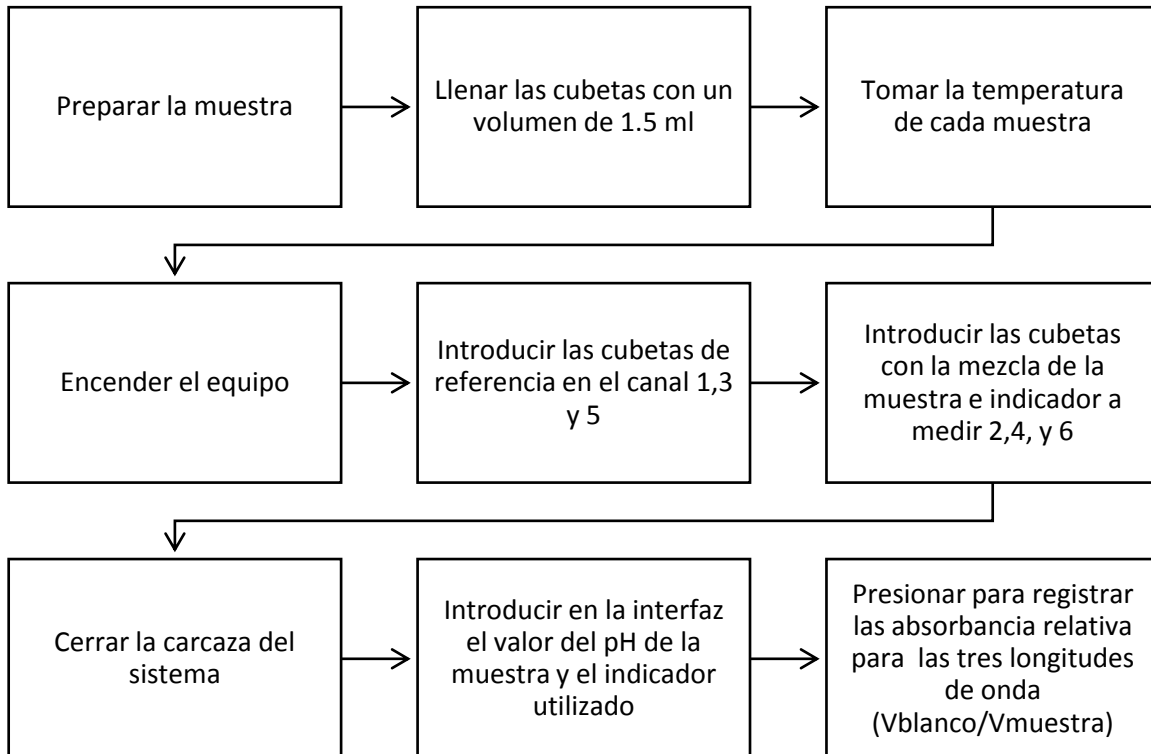
```
close all
clear
clc
delete(instrfind({'Port'}
, {'COM5'}));
%Leer el puerto serie
port = serial('COM5');
set(port, 'Baudrate', 9600);
set(port, 'DataBits', 8);
set(port, 'Parity', 'none');
set(port, 'StopBits', 1);
set(port, 'FlowControl', 'none');
fopen(port);
que=1;
ph=input(' Introduzca el ph: ');
indicador=input(' Introduzca el indicador: ');
fprintf ('\r\npresione enter para comenzar');
pause;

    for h=1:50
        for n=1:3
            fwrite(port,n,'uint8');
            ardu = fread(port,4,'uint8');
            x1a=ardu(1)+(ardu(2)*256);
            x1a2=((x1a)*5)/1024;
            vblanco(n,h)=x1a2;
            y1a=ardu(3)+(ardu(4)*256);
            y1a2=((y1a)*5)/1024;
            vmuestra(n,h)=y1a2;
        end
    end
    figure(1)
    plot(vmuestra(1,:), 'b')
    hold on
    plot(vmuestra(2,:), 'g')

    plot(vmuestra(3,:), 'r')
    figure(2)
    plot(vblanco(1,:), 'b')
    hold on
    plot(vblanco(2,:), 'g')
    plot(vblanco(3,:), 'r')
    nombre=strcat(indicador,num2str(ph), 'avr.mat')
    save(nombre, 'vblanco', 'vmuestra', 'ph', 'indicador')
    fclose(port);          % se cierra el objeto; si no se cierra y luego se
    intenta abrir de nuevo, este puerto se bloquea
    delete(port);
    clear port;
```

ANEXO 2

1. Protocolo de medida



ANEXO 3

Desarrollo de un pH-metro óptico para medidas “*in-situ*”

Anais Ivonne Gómez, Juan Manuel Gutiérrez

Sección de Bioelectrónica

Departamento de Ingeniería Eléctrica

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional

Av. Instituto Politécnico Nacional No.2508 Col. San Pedro Zacatenco, D.F., México

arochag@cinvestav.mx; mgutierrez@cinvestav.mx

RESUMEN

En este trabajo se describe el diseño de un sistema óptico-portable para la medición del pH en volúmenes pequeños de muestra. El pH-metro óptico diseñado consta de un conjunto de diodos emisores de luz (LED) con una longitud de onda de 638 nm, 532 nm, 472 nm y un detector que se compone de un fotodiodo de silicio y un amplificador de transimpedancia en un mismo circuito CMOS, lo que permite registrar valores de absorbancia no mayores a 1.0. El diseño del sistema integra características tales como la capacidad de realizar mediciones continuas, un bajo consumo de energía y ensayos *in situ*. Lo que aventaja el proceso electroquímico clásico de medir el pH en un entorno de laboratorio empleando un electrodo combinado de pH (basado en un electrodo de referencia de Ag/AgCl y un electrodo de membrana de vidrio).

La instrumentación del sistema óptico diseñado, utiliza la plataforma de software libre de Arduino lo que permite analizar la respuesta de intensidad de las diferentes longitudes de onda descritas. Las muestras analizadas con el pH-metro óptico diseñado son buffers de pH conteniendo diferentes indicadores colorimétricos tales como Bromocresol púrpura, Bromocresol verde, Bromocresol verde/Methyl Red, Indigo Carmine.

PALABRAS CLAVE: pH, Óptico, LED, Absorbancia, Arduino.

1.-INTRODUCCIÓN

El agua es la fuente y la base de la vida. Como solvente y agente de transporte, no solamente contiene metales y nutrientes vitales, sino también sustancias contaminantes que se acumulan en organismos acuáticos o terrestres. Para el control de calidad y la evaluación de riesgos, los laboratorios de análisis de agua necesitan instrumentos y métodos rentables y efectivos que permitan identificar una gran variedad de compuestos peligrosos a niveles de detección cada vez más bajos. El pH es el parámetro más comúnmente medido en diversas sustancias; desde la determinación en agua potable, aguas superficiales, subterráneas y residuales, hasta la determinación del pH en el agua de uso farmacéutico [1].

Tradicionalmente la determinación del pH se ha realizado mediante técnicas electroquímicas [2] en donde suele emplearse sensores con alta especificidad. Sin embargo, dichos procesos presentan algunas desventajas que deben tenerse en cuenta durante las fases de medición. Con la aplicación de los métodos ópticos en la química, se abre la posibilidad no solo de simplificar las medidas (al no necesitar de un electrodo de referencia), sino también de aprovechar la alta inmunidad a las interferencias eléctricas y electromagnéticas. Hoy en día, diferentes sistemas analíticos diseñados para la determinación de compuestos presentes en líquidos y gases, basan su operación en técnicas espectrofotométricas que emplean diodos emisores de luz (LED) de los cuales obtienen beneficios tales como un bajo consumo de energía y dimensiones reducidas [3-7]. Por ello, el diseño de un sistema óptico para la determinación del pH resulta atractivo, al integrar características tales como la capacidad de realizar mediciones continuas, en un instrumento de características portátiles, de bajo costo, mantenimiento mínimo y capaz de implementar las pruebas de identificación de pH en volúmenes reducidos de muestra basándose en el principio de absorbancia de una sustancia, cuya magnitud varía dependiendo de la composición y concentración de los elementos que la componen [8].

2 METODO Y MATERIALES

2.1 Diseño y construcción del medidor de pH-metro óptico

En este trabajo se describe el desarrollo de un sistema óptico portátil usando LEDs, para mediciones espectrofotométricas en diferentes soluciones buffer de pH utilizando cuatro clases de indicadores colorimétricos. El prototipo desarrollado dispone de 6 canales; para cada longitud de onda disponible, realizando una comparativa de 2 LEDs del mismo rango de luz visible para la medición de la muestra de referencia (blanco) y aquella en la que se determinará el pH (basada en una solución buffer de pH y un indicador colorimétrico).

En la figura 1 se muestra la distribución de los canales destinados para cada una de las muestras.

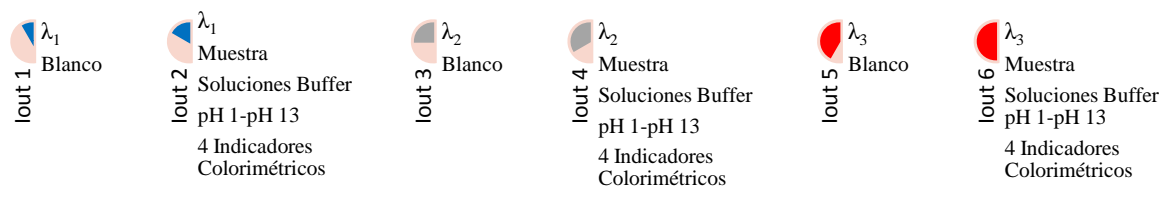


Figura 1. Distribución de las muestras con respecto a las longitudes de ondas ($\lambda_1=472$ nm, $\lambda_2=532$ nm, $\lambda_3=638$ nm).

El diseño general del instrumento se divide en 5 etapas: Selector de fuente de luz, etapa de acoplamiento de la señal (sensor), sistema de medición de absorbancia programado dentro del microcontrolador, análisis de la señal y finalmente la identificación del pH de las muestras (vea figura 2).

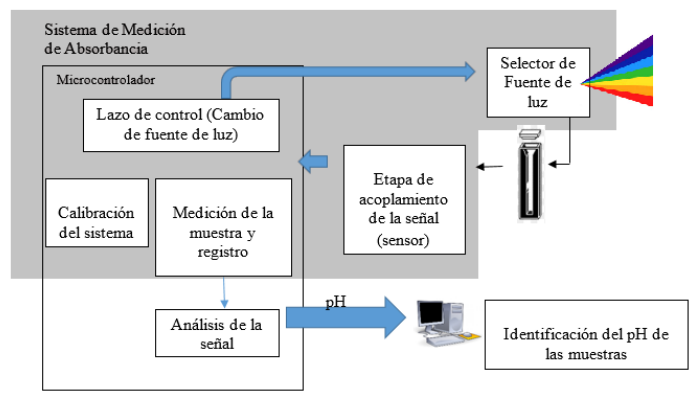


Figura 2. Diagrama a bloques del sistema óptico (Flecha negra haz de luz seleccionado y flecha azul control electrónico).

El sistema opera en diferentes módulos. El primer módulo consiste en un selector de fuente de luz, de tal forma que se pueda elegir que longitud de onda a incidir y excitar a la muestra. Después se encuentra la etapa de acoplamiento de la señal, donde la señal entregada por el sensor se acondiciona para ser enviada al sistema de registro en el microcontrolador Arduino. Este último será el encargado de controlar el sistema para obtener las señales de absorbancia y por consiguiente analizar las señales incidentes de la muestra entregadas del sistema.

Los materiales utilizados para la fabricación del instrumento tienen una alta resistencia química y está debidamente aislado de la luz externa con la finalidad de reducir interferencias ópticas que afecten al sistema óptico diseñado. Por ello, para el chasis del prototipo se utilizó una lámina de acrílico negro pulido de la empresa Plástico Acrílico y celdas de plástico desechables para análisis espectrofotométricos en la región UV-VIS de la empresa BRAND [9]. En la figura 3a) se muestra la placa shield MegaArduino 2560 del instrumento diseñado y en la figura 3b) se observa el principio básico de la espectrofotometría del sistema.

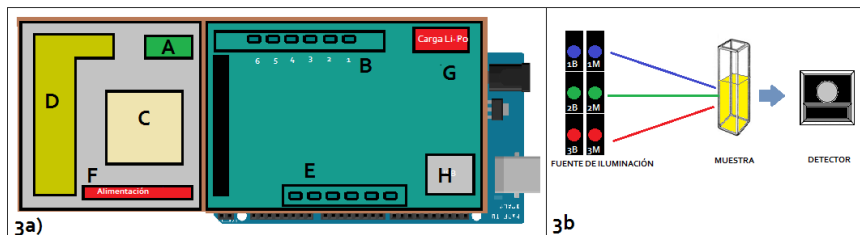


Figura 3. (3a) Distribución del Diagrama Shield MegaArduino : A) Emisión de luz; B) Recepción de luz C) Regulador de corriente de alta tensión para 6 canales para iluminación LED; D) Interruptores de LED; E) Control del sistema óptico con Arduino; F) Alimentación del sistema ; G) Cargador Li-Po mini USB; H) Salida de los datos (USB) .

(3b) Sistema óptico del haz incidente a la muestra y salida al detector.

2.1.1 Emisión de Luz

El instrumento usa 3 diferentes diodos emisores de luz, como se observa en la figura 3b), para lo cual el LED 1 (modelo LTL2R3TBV3KS-032A) tiene una longitud de onda de $\lambda_1 = 472$ nm; el LED 2 (modelo LTL2R3TGY3KS-032A) posee una longitud de onda de $\lambda_2 = 532$ nm y para el LED 3 (modelo L/4268-H4TL-4268-H3) conserva una longitud de onda de $\lambda_3 = 638$ nm. Los tres LED son de la marca Lite On Electronics Inc.

2.1.2 Recepción de Luz

El modulo del detector se compone de un fotodiodo de silicio y un amplificador de transimpedancia en un mismo circuito CMOS, y se encarga de convertir la luz a voltaje (TSL254r de TAOS Inc). El voltaje de salida es directamente proporcional a la intensidad de la luz (irradiancia) en el fotodiodo asociado a un ciclo de trabajo. La figura 4 muestra la calibración de los sensores con diferentes ciclos de trabajo y su respuesta en voltaje.

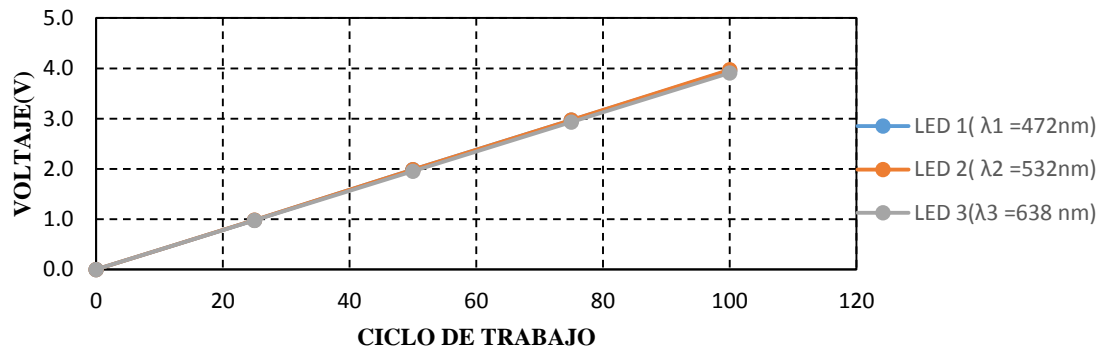


Figura 4. Gráfica que muestra la relación del Voltaje vs Ciclo de trabajo.

2.1.3 Regulador de corriente de alta tensión de 6 canales para iluminación LED

En esta etapa se usa un regulador de corriente para mantener la corriente constante de los LEDs, a través de una carga independiente de su valor resistivo. El LM3432 de Texas Instruments es un regulador de corriente de alta tensión de 6 canales con programación en cadena para aplicaciones de LEDs. Los seis canales se pueden ajustar de 15 mA a 40 mA por una resistencia externa. Las salidas de los canales pueden soportar hasta 80 V para una cadena de 72 LEDs. Tanto la señal de atenuación de PWM como la señal analógica se pueden utilizar para controlar el ciclo de trabajo de los seis canales. La señal de respuesta del LED, será la luz que incidirá en la muestra y la señal de salida es la señal entregada al arduino Mega. En la figura 5 se muestra la aplicación típica para el manejo de una red de LEDs a una corriente de 20 mA por lo que se ajusta al diseño implementado.

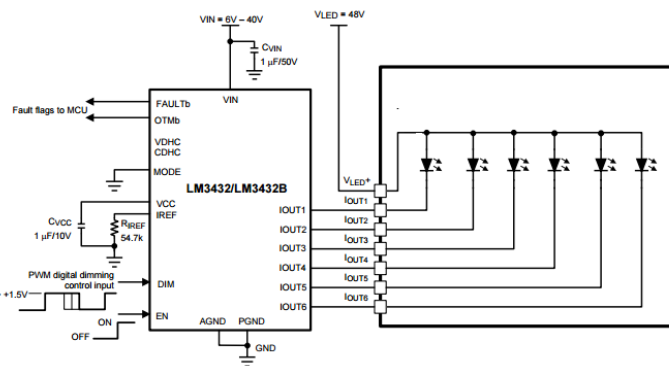


Figura 5. Esquemático del driver LM3432 para 6 LEDs (@20 mA).



La determinación de los componentes externos solo requiere de:

1. La programación en cadena de la salida I_{OUT1} a I_{OUT6} es obtenida por una resistencia externa R_{IREF} mediante la ecuación (1)

$$R_{IREF} = \frac{1.094}{I_{OUT}} \text{ en } K\Omega \quad (1)$$

La corriente de referencia definida por la Ec. (1) para una aplicación típica es de 20 mA, por lo tanto

$$R_{IREF} = \frac{1.094}{I_{OUT}} = 54.7 \text{ k}\Omega \quad (2)$$

Considerando el valor calculado, se empleará el valor resistivo comercial de 54.9 kΩ

2. Para un funcionamiento adecuado, se requiere de un capacitor de salida C_{VCC} de al menos 680 nF por razones de estabilidad eléctrica. En el sistema se empleó un capacitor de 1 μF.
3. El propósito del capacitor en V_{in} es suministrar la corriente transitoria al dispositivo y suprimir el ruido de V_{in} con el fin de garantizar un funcionamiento correcto por lo que se recomienda capacitor de 0.1 μF a 1 μF.
4. La relación que existe entre la frecuencia de atenuación PWM y la capacitancia se muestra como:

$$f_{PWM} = \frac{1.65 \times 10^{-5}}{C_{MODE}} \quad (3)$$

$$\therefore C_{MODE} = \frac{1.65 \times 10^{-5}}{f_{PWM}} = \frac{1.65 \times 10^{-5}}{490 \text{ Hz}} = 3.3674 \times 10^{-8} \quad (4)$$

Donde los 490 Hz que se muestra en la Ec. (4) es la frecuencia PWM propio de Arduino. El capacitor empleado es de un valor comercial de 33 nF.

En la gráfica 6 donde se muestra la calibración lineal del driver para cada uno de los LED del sistema, además del ciclo de trabajo con respecto a la corriente de referencia obtenida de la Ec.(2) para el funcionamiento del driver.

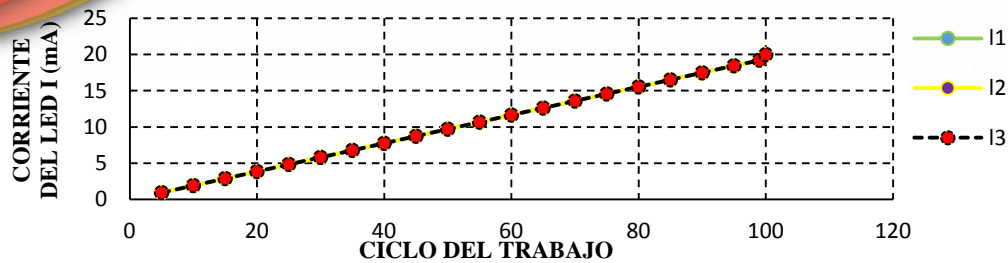


Figura 6. Gráfica que muestra la relación de Intensidad vs Ciclo de trabajo obtenido con el LM3436.

2.1.4 Interruptores de LED

Se utilizaron 6 relevadores a modo biestable en cada una de las salidas de los canales del driver selector de longitud de onda. Los relés modelo P2-V23079-D1001 de la marca AXICOM tienen un voltaje de operación V_{DC} de 100μV hasta 220V /2A y tiempo de respuesta de operación 2ms.

2.1.5 Control del sistema óptico con Arduino

Para cada una de las mediciones, los LEDs son activados de forma alternada y las señales obtenidas de cada uno de ellos son enviadas al Microcontrolador ATmega 2560. Este microcontrolador tiene 16 entradas analógicas, cada uno de los cuales proporcionan 10 bits de resolución (es decir, 1024 valores diferentes). A una frecuencia de 16 MHz requiere operar a un voltaje de 5 V, tiene una memoria Flash de 256 KB de los cuales 8 KB es utilizado por el gestor de arranque.

La Absorbancia se define como la relación entre la intensidad de la luz que incide (I) sobre una muestra y la intensidad de esa misma luz que es transmitida (I_0) a través de ella (ver Ec. 5). Cuando la luz de una longitud de onda determinada seleccionada por un filtro incide sobre una muestra, parte de esa luz es absorbida [7]. Considerando esta definición se implementó dentro del microcontrolador para que la absorbancia óptica medida sea mostrada en una computadora personal por medio de una interfaz diseñada en entorno de Matlab 2009a

$$A = \log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) \quad (5)$$

2.1.6 Alimentación del sistema

La tarjeta arduino Mega se alimenta por 5V_{DC} del puerto de una PC. La tarjeta shield arduino que se elaboró necesita una alimentación de 8V para activar el driver LM3432 y controlar el encendido de los LEDs, para tal fin se utilizaron 4 baterías de Li-Po de 3.7 V @2500mAh. Es necesario el uso de estas 4 baterías de manera separada para que la intensidad de los LEDs no se vea afectada y el sistema pueda realizar medidas continuas.

2.1.7 Cargador LiPo mini USB

El sistema diseñado dispone de un sistema de carga para las baterías de Li-Po de 3.7 V @2500mAh conectadas de dos en dos en serie, dos para las terminales de ENABLE (EN), y dos para el V_{in} del driver. Considerando la Ec. 6, la duración de la batería en la operación del instrumento es de aproximadamente 13 horas-

$$\begin{aligned}
 \text{Vida de la batería} &= \frac{\text{Capacidad de la batería en mAh}}{\text{Carga de la corriente mAh}} = \\
 &= \frac{50 \text{ mA}(\text{Arduino Mega}) + 40 \text{ mA}(\text{Driver}) + 100 \text{ mA}(\text{reles})}{2500 \text{ mAh}} \\
 &= 13.1578 \text{ h} \tag{6}
 \end{aligned}$$

El circuito implementado para el cargador mini USB es el MCP73831 de la marca Microchip (vea figura 7).

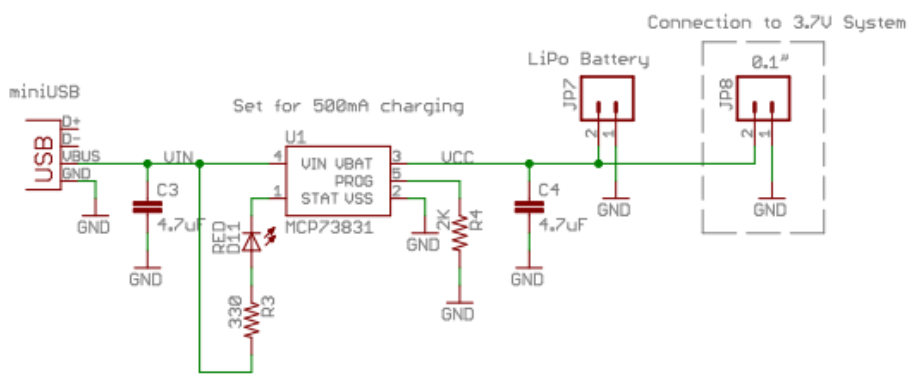


Figura 7. Diagrama eléctrico del cargador de batería Li.Po.

2.1.8 Salida de los datos

La comunicación entre la computadora y el sistema Arduino se realiza a través de comunicación serial con Matlab.

2.1.9 Reactivos

Las muestras elaboradas fueron obtenidas de la mezcla de diferente soluciones buffer de pH del rango del 1 al 13 con 4 indicadores colorimétricos: Púrpura de Bromocresol ($C_{21}H_{15}Br_2NaO_5S$), Verde de Bromocresol ($C_{21}H_{13}Br_4NaO_5S$), Verde de Bromocresol con rojo de metilo e Índigo Carmine ($C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$). Todos los reactivos fueron de grado analítico de la empresa Sigma Aldrich.

Se dispone de un total de 156 muestras patrón para ser analizadas por los 3 LEDs y 3 muestras de referencia (agua bidestilada) actuando como blanco. En la figura 8 se muestran las soluciones elaboradas.



Figura 8. Muestras de pH.

3.-RESULTADOS

Como principal resultado se tiene el prototipo del sistema óptico portátil con todas sus etapas ensambladas y circuitos electrónicos en PCB, tal como se muestra en la figura 9.

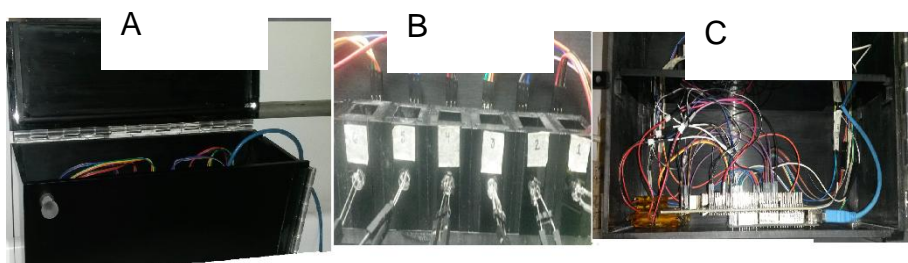


Figura 9. Prototipo óptico portátil para mediciones de pH, A) vista frontal, B) ubicación de las muestras y C) circuito electrónico.

Del mismo modo, se tienen las medidas obtenidas de las pruebas realizadas y el comportamiento de las muestras ante la excitación de cada uno de los LEDs y cada uno de los indicadores colorimétricos [10]. De dichos registros de absorbancia se tiene lo siguiente: para el led 1 ($\lambda=472$ nm) es posible identificar el pH en 4 con $abs=0.6047$ usando verde de bromocresol y el pH 9 con Indigo Carmine; para el led 2 ($\lambda=532$ nm) se identifica el pH 5.0 con $abs=0.5215$ con púrpura de bromocresol y para el led 3 ($\lambda=638$ nm) se identifican pH 7, pH 11 y pH 12, para los dos primeros usando púrpura de bromocresol y el tercero usando verde de bromocresol con rojo de metilo. En las gráficas 10, 11 y 12 se puede observar la identificación de los pH mencionados.

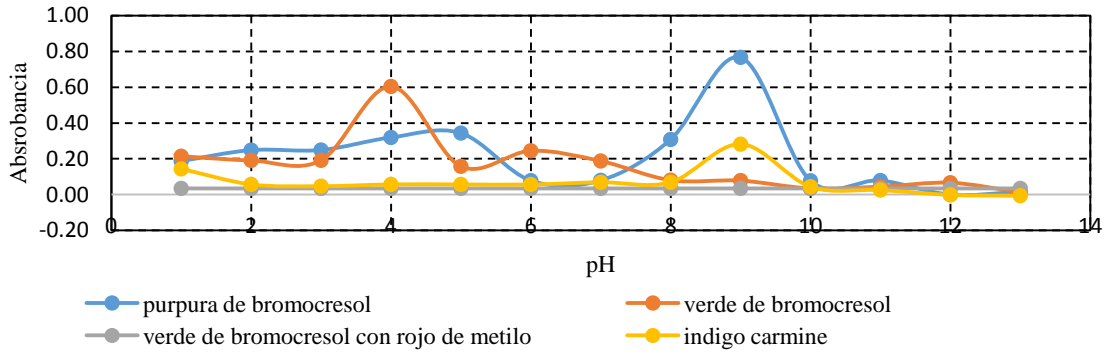


Figura 10. Intensidad del LED 1 $\lambda=472$ nm para los 4 indicadores colorimétricos.

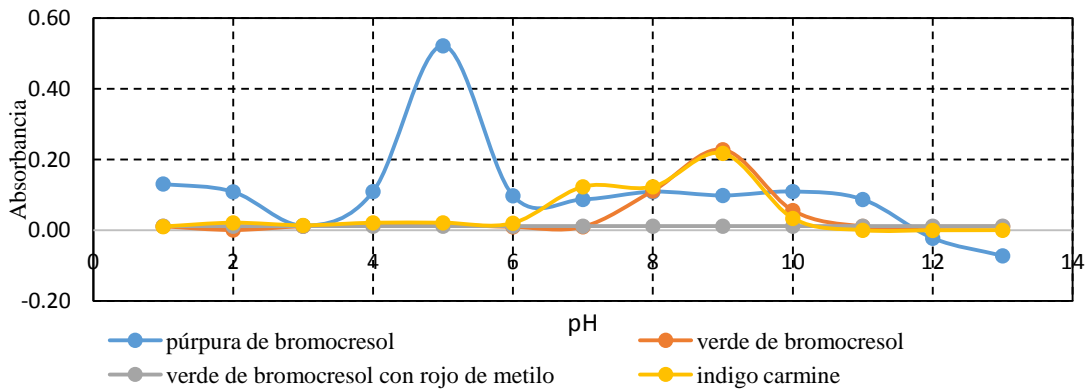


Figura 11. Intensidad del LED 2 $\lambda=532$ nm para los 4 indicadores colorimétricos.

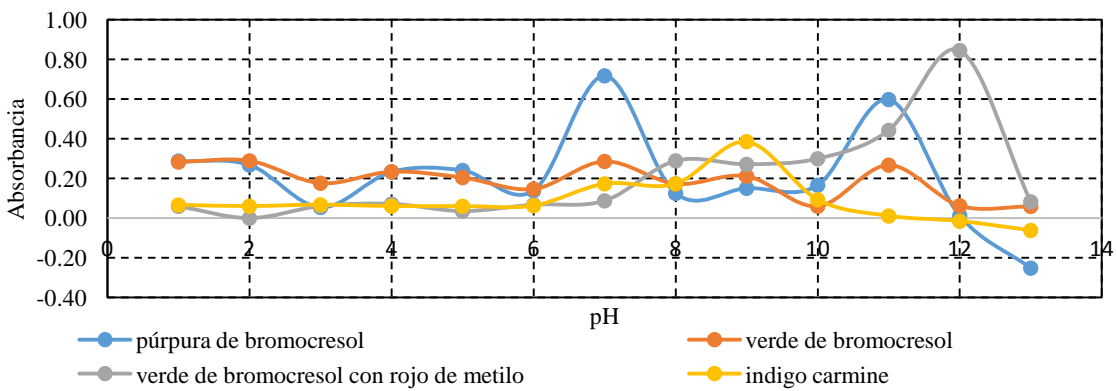


Figura 12. Intensidad del LED 3 ($\lambda=638$ nm) para los 4 indicadores colorimétricos.



4.-DISCUSION DE RESULTADOS

Observando los resultados es posible mencionar que el indicador colorimétrico que presenta mejor respuesta para identificar pH es el Purpura de bromocresol para los tres LEDs mencionados. Así mismo el indicador colorimétrico Verde de Bromocresol con rojo de metilo no ofreció una respuesta de detección aceptable de pH para los LED 1 ($\lambda=472$ nm) y LED 2 $\lambda=532$ nm. El sistema obtenido cumple con el objetivo de ser portable ya que las dimensiones del chasis final son de 32x10.5x22 cm y la fuente de alimentación se basa en baterías recargables de Li-Po.

5.-CONCLUSIONES

El prototipo actual cumple con las características necesarias para realizar las medidas pertinentes de absorbancia y voltaje de las muestras preparadas. Para discriminar entre las medidas realizadas de absorbancia, solo se consideraron aquellos cercanos a 1. De forma que fue posible identificar las combinaciones entre los detectores de luz y los indicadores colorimétricos que favorecen la determinación de pH en las muestras analizadas.

De los resultados obtenidos hasta el momento, es posible establecer que las medidas de absorbancia se ven favorecidas empleando una longitud de onda de $\lambda=532$ nm en combinación con el indicador púrpura de bromocresol.

6.-AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento y la beca de posgrado otorgada a Anais Ivonne Gómez Rocha.

7.-REFERENCIA

- [1] Metrohm. Análisis de Agua. Control de calidad del agua. Ecknauer+Schoch ASW, impreso por Metrohm AG, CH-9101 Herisau 8.000.5027 ES-2010-11.
- [2]. Kohlmann F. J, What is pH, and how is it measured?, *GLI International*, pp. 3-22, 2003.
- [3] Dasgupta, P.K., et al., Light emitting diode based flow-through optical absorption detectors, *Talanta* 40(1),53-74. 1993.
- [4] Gaião, E. N. et al. An inexpensive, portable and microcontrolled near infrared LED photometer for screening analysis of gasoline, *Talanta*, 75(3), 792-796, 2008.
- [5] Li Q., Morris K. J., Dasgupta P. K., Raimundo I.M.,. Portable flow-injection analyser with liquid-core waveguide based fluorescence, luminescence, and long path length absorbance detector, *Analytica Chimica Acta*, 479(2), 151-165, 2003.
- [6] Veras G., et al. A portable, inexpensive and microcontrolled spectrophotometer based on White LED as light source and CD media as diffraction grid *Talanta*, 77 (3), 1155–1159, 2009.
- [7] Vreman H. J., et al. Light-emitting diodes: a novel light source for phototherapy *Pediatr. Res.*, p. 804, 1998.
- [8] Yang B, et al.. Seawater pH measurements in the field: A DIY photometer with 0.001 unit pH accuracy, *Marine Chemistry*, vol. 160, pp. 75-81, 2014.
- [9] Catálogo de Cubetas-UV, HIGH-TECH DISPOSABLES at:
http://www.brand.de/fileadmin/user/pdf/Leaflets/UV_Kuevette_ES.pdf (accessed on: abril 3, 2015)
- [10] Whitney K. D., Determination of Seawater pH from 1.5 to 8.5 using Colorimetric Indicators, *Marine Chemistry*, nº 26, pp. 5-20, 1989.

