

SENSORES ELECTROQUÍMICOS PARA LA DETECCIÓN DE CONTAMINANTES Y LA AUTENTIFICACIÓN DE ALIMENTOS

María A. Tapia, Clara Pérez-Ràfols, Núria Serrano, José Manuel Díaz-Cruz*, Cristina Ariño, Miquel Esteban

Sección de Química Analítica. Facultad de Química. Universidad de Barcelona.
C/Martí i Franquès 1-11, 08028 Barcelona.

Introducción: El grupo de Electroanálisis

El grupo de Electroanálisis de la Universidad de Barcelona fue fundado en los años 80 del pasado siglo por el Profesor Enric Casassas i Simó (1920-2000). Poco después de conmemorarse el centenario de su nacimiento, su legado científico y humano continúa siendo fuente de inspiración para nosotros.

En los últimos 40 años muchas cosas han cambiado, tanto en el grupo, con la incorporación de nuevos miembros y el desarrollo de nuevas líneas de investigación, como en la sociedad y la ciencia, con la aparición de nuevos problemas y desafíos [1]. En este tiempo, en el grupo hemos pasado de estudiar la complejación de iones metálicos pesados con electrodos de mercurio y modelos electroquímicos clásicos a desarrollar sensores basados en electrodos serigrafiados para la detección de contaminantes persistentes y emergentes en el medio ambiente y para la caracterización, clasificación y autenticación de muestras alimentarias, todo ello con el apoyo de potentes herramientas quimiométricas [2]. En la Figura 1 aparecen los miembros actuales del grupo de Electroanálisis: tres Catedráticos/as de Universidad, una Profesora Contratada Doctor, una Profesora Ayudante Doctor y una estudiante de doctorado.



Figura 1: Miembros del grupo de Electroanálisis. De izquierda a derecha: José Manuel Díaz-Cruz, Núria Serrano, Cristina Ariño, María A. Tapia, Miquel Esteban y Clara Pérez-Ràfols.

En este artículo resumiremos las últimas líneas de investigación del grupo, enmarcadas en la estrategia general de desarrollar sistemas de sensores económicos, sensibles y fiables que en un futuro puedan ser implementados en redes de control inalámbricas [3] en ámbitos de creciente interés social, como la gestión

del agua en un contexto de cambio climático o el control y la seguridad de los productos alimentarios.

Para llevar a cabo estas investigaciones, el grupo cuenta con un proyecto del Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-107102RB-C22), dentro de un proyecto coordinado más amplio dirigido por el Prof. Manel del Valle, de la Universidad Autónoma de Barcelona. Así mismo, el grupo de Electroanálisis está reconocido como grupo consolidado por la Generalitat de Catalunya (2017SGR311). Para más información nos remitimos a nuestra página web (<http://www.ub.edu/dqaelc/>).

Desarrollo de sensores voltamperométricos a partir de electrodos serigrafiados

En los últimos tiempos, la creciente complejidad de los problemas planteados a la Química Analítica, el vertiginoso avance de las tecnologías de la información y la comunicación y la urgente necesidad de controlar la evolución de los procesos a tiempo real han hecho cambiar drásticamente algunos paradigmas del proceso analítico. Así, se ha pasado de una concepción basada exclusivamente en laboratorios centralizados, con equipos sofisticados y caros (especialmente GC, LC-MS y ICP-MS) y personal altamente cualificado, a una visión que, sin renunciar a estas grandes infraestructuras (imprescindibles para la resolución de problemas complejos), las complementa con una amplia red de (bio)sensores desplegados *in situ* en estaciones depuradoras de agua, plantas industriales o puntos de atención médica capaces de adquirir y transmitir información (bio)química en tiempo real. En primer lugar, esto permite actuar rápidamente en caso necesario (si los parámetros monitorizados se descontrolan) y, en segundo lugar, se ahorran muchos recursos en cuanto a recogida, transporte y almacenamiento de muestras, a la vez que se minimizan los gastos en reactivos y personal y los residuos generados, en plena sintonía con el concepto de Química Verde [4].

En el marco de esta constante revalorización de los sensores químicos, constatable en los crecientes índices de impacto de las revistas a ellos dedicadas, apreciamos dos tendencias destacadas: por un lado, el desarrollo de biosensores para aplicaciones biomédicas y, por otro, el diseño de sensores modificados con reactivos selectivos y nanomateriales para la detección de contaminantes persistentes y emergentes. La primera opción cuenta en España con grupos muy relevantes a nivel internacional. Nuestro grupo, en cambio, se encuadra en la segunda vía, quizás más modesta en cuando a medios materiales

y visibilidad mediática pero igualmente necesaria y prometedora.

Nuestros esfuerzos más recientes en este sentido se han dirigido al desarrollo de sensores modificados basados en electrodos serigrafados comerciales y a su utilización como sensores voltamperométricos capaces de detectar diversos contaminantes en aguas.

Así pues, para cumplir este objetivo, los electrodos serigrafados (*screen-printed electrodes*) son un valioso sustrato [5]. Se obtienen imprimiendo sobre un soporte plástico o cerámico varias tintas que contienen materiales como carbono, oro o plata que, al secarse, conforman un circuito impreso que incluye los tres electrodos en el mismo dispositivo. El carácter económico, desechable y reproducible de estos electrodos, que pueden fabricarse con nanomateriales como los nanotubos de carbono, las nanofibras de carbono o el grafeno, entre otros, junto con las múltiples posibilidades de modificación que ofrecen, los han hecho muy populares en el desarrollo de (bio)sensores electroquímicos. Hay que destacar, además, el papel fundamental de la empresa española Dropsens, recientemente absorbida por Metrohm, en la difusión internacional de este tipo de dispositivos.

En el caso de nuestro grupo, el uso de electrodos serigrafados comerciales sin modificar nos ha permitido detectar concentraciones razonablemente bajas de filtros UV orgánicos como la oxibenzona y el octocrileno [6] y de fármacos como el paracetamol, el ibuprofeno y la cafeína [7]. Sin embargo, pueden lograrse sensibilidades y selectividades mucho mejores modificando convenientemente los electrodos.

Las primeras modificaciones realizadas en nuestro grupo consistieron en recubrimientos de bismuto y antimonio que pretendían emular las características de los electrodos de mercurio y fueron aplicadas al análisis de metales pesados y sus complejos con moléculas de interés biológico y medioambiental [8, 9].

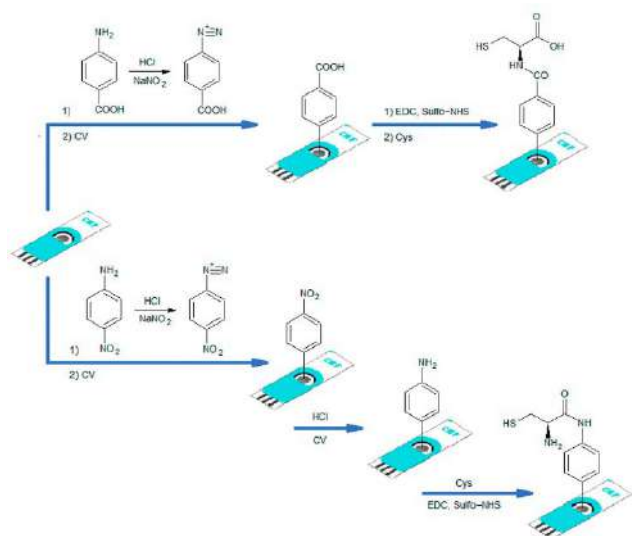


Figura 2: Mecanismos alternativos de modificación de electrodos serigrafados con cisteína por *electrografting* con sales de aril diazonio.

Más adelante inmovilizamos con enlaces covalentes (utilizando la técnica de *electrografting* con sales de aril diazonio) moléculas con afinidad por metales. Este es el caso de la penicilamina, la cisteína, algunos éteres corona, el glutatión o la selenocistina [10, 11]. Estas moléculas favorecen la acumulación de los metales reducidos en el electrodo y aumentan la sensibilidad y la selectividad de la detección. En la Figura 2 se comparan dos procedimientos alternativos para este tipo de modificación. Por otra parte, la inmovilización de nanopartículas de plata y oro mediante la técnica de *drop casting* nos permitió mejorar considerablemente la detección de metales pesados y algunos tioles [12, 13]. Actualmente estudiamos las posibilidades de modificación con un nuevo tipo de materiales 2D análogos al grafeno pero generados por exfoliación de elementos del grupo del nitrógeno (pnictógenos) [14]. Todo ello se realiza en colaboración con los Drs. Rui Gusmão y Zdeněk Sofer, de la *University of Chemistry and Technology of Prague*. De entre estos nuevos materiales, el bismuteno ha demostrado excelentes prestaciones en la detección de plomo y cadmio, como se muestra en la Figura 3 [15], y el fósforo negro o fosforeno parece adecuado para determinar moléculas como la dopamina, el ácido ascórbico, el ácido úrico o el paracetamol.

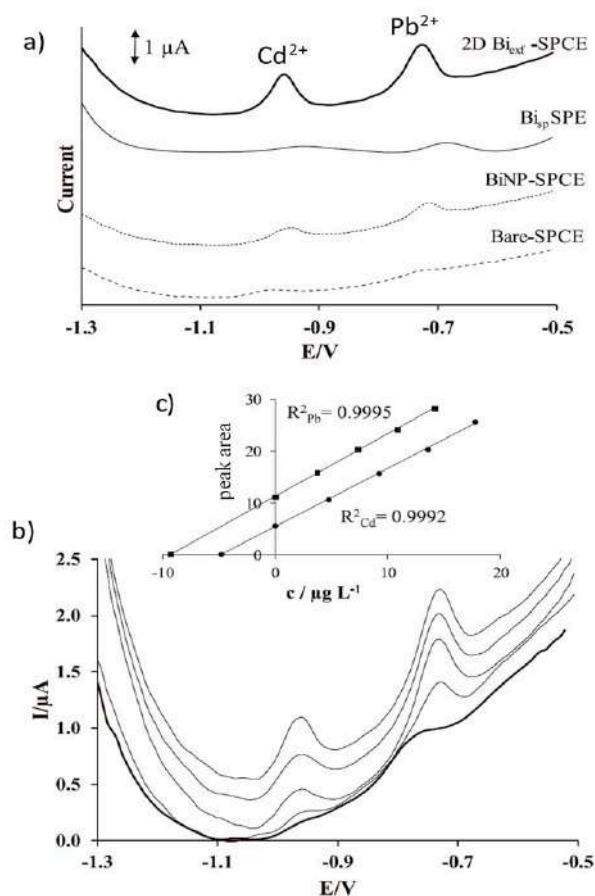


Figura 3: a) Voltamperogramas (nV.A) medidos en una disolución de 25 µg L⁻¹ de Pb²⁺ y Cd²⁺ con electrodos serigrafados de carbono sin modificar (Bare-SPCE) y modificados con nanopartículas de Bi (BiNP-SPCE), Bi sputtered (Bi_{sp}-SPCE) y bismuteno (2DBi_{exf}-SPCE). b) y c)

Análisis de una muestra de agua de estuario certificada con $2\text{DBi}_{\text{ext}}\text{-SPCE}$.

Agrupaciones de sensores: lenguas electrónicas

En las situaciones más complejas, cuando los sensores individuales no bastan, es posible combinar sus sensibilidades cruzadas hacia diferentes analitos en agrupaciones de sensores denominadas lenguas electrónicas [16]. En nuestro grupo hemos diseñado lenguas electrónicas voltamperométricas basadas en electrodos serigrafiados modificados (Figura 4) y las hemos aplicado a la resolución de mezclas complejas de iones metálicos y de tioles [17, 18]. Actualmente intentamos combinar medidas voltamperométricas y espectrofotométricas para el diseño de lenguas híbridas basadas en la espectroelectroquímica [19]. Esta incipiente línea de investigación presenta el problema de la distinta sensibilidad de las medidas voltamperométricas y espectrofotométricas, que intentamos contrarrestar con la acumulación de derivados ópticamente activos de los analitos en la superficie del electrodo. A cambio, esta estrategia presenta la ventaja de combinar medidas basadas en mecanismos radicalmente diferentes, una circunstancia que debería aumentar la selectividad de la detección.



Figura 4: Lengua electrónica diseñada por el grupo de Electroanálisis, constituida por cuatro electrodos serigrafiados modificados.

Las agrupaciones de sensores permiten el análisis simultáneo de varios analitos con una selectividad reforzada en comparación a las medidas realizadas con sensores individuales. Sin embargo, la complejidad de los datos aumenta considerablemente y ello obliga a utilizar métodos quimiométricos de calibrado. En el grupo hemos usado esencialmente un método ‘clásico’ como la calibración por mínimos cuadrados parciales (PLS) y otro más reciente, basado en la resolución multivariante de curvas por mínimos cuadrados alternos (MCR-ALS). En ambos casos hemos desarrollado una versión para el método de adiciones

estándar que está proporcionando resultados muy prometedores [20, 21]. Sin embargo, tanto PLS como MCR-ALS son métodos para datos lineales y la habitual falta de linealidad de las medidas electroquímicas hace que no sean siempre aplicables. En estas ocasiones, intentamos modelizar la no linealidad con ecuaciones paramétricas o probamos métodos de calibrado no lineales como las redes neuronales artificiales (ANN) o las máquinas de vectores de soporte (SVM).

Detección amperométrica en sistemas de flujo

Si bien la estrategia de las lenguas electrónicas intenta detectar varias especies sin necesidad de separarlas, en ocasiones la complejidad de las muestras obliga a una separación previa. En este caso, el acoplamiento entre la cromatografía de líquidos y la detección amperométrica es una herramienta muy útil. En nuestro grupo hemos utilizado electrodos serigrafiados con esta finalidad y hemos patentado una celda de flujo compatible con estos dispositivos que actualmente comercializa Metrohm-Dropsens mediante un contrato de licencia. Así hemos podido analizar tioles en plasma sanguíneo, fitoquelatinas en plantas [22] y sustancias fenólicas en productos alimenticios. Actualmente nos planteamos posibles aplicaciones de la espectroelectroquímica en combinación con la cromatografía de líquidos.

Caracterización, clasificación y autenticación de alimentos

Una aplicación especialmente interesante de los sensores desarrollados por el grupo es el análisis de alimentos. En esta línea de investigación cabe destacar la discriminación de diferentes tipos de cerveza mediante voltamperometría cíclica con un único electrodo serigrafiado [23].

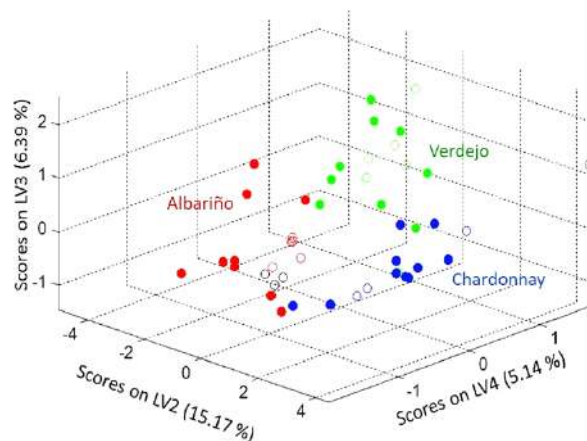


Figura 5: Gráfico de scores obtenido en el análisis PLS-DA de cromatogramas HPLC-EC de muestras de vinos blancos. Las muestras de calibrado y validación se representan con círculos llenos y vacíos, respectivamente.

Sin embargo, los resultados más interesantes se han obtenido mediante cromatografía de líquidos y detección amperométrica. De esta forma hemos podido discriminar entre distintas variedades y cosechas de vino blanco (Figura 5) [24] y autenticar muestras de

pimentón de La Vera y de Murcia [25]. En estos casos se han considerado tanto las áreas de los picos de componentes concretos como zonas características del perfil cromatográfico que actúan como huellas dactilares (*fingerprints*) de las variedades en estudio. Para el tratamiento de datos utilizamos técnicas quimiométricas como el análisis de componentes principales (PCA), el análisis discriminante lineal (LDA) y el análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales (PLS-DA), así como una aproximación para datos no lineales basada en las máquinas de vectores de soporte (SVM-DA).

Referencias

- Díaz-Cruz, J.M.; Serrano, N.; Pérez-Ràfols, C.; Ariño, C.; Esteban, M. Electroanalysis from the past to the twenty-first century: challenges and perspectives. *J. Solid State Electrochem.*, 24, 2653-2661 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10008-020-04733-9>
- Díaz-Cruz, J.M.; Esteban, M.; Ariño, C. *Chemometrics in Electroanalysis. Inside 'Monographs in Electrochemistry'*, Ed. by F. Scholz, Springer Nature, Cham, Switzerland, 2019. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-21384-8>
- Kassal, P.; Steinberg, M.D.; Steinberg, I.M. Wireless chemical sensors and biosensors: A review. *Sens. Actuat. B:Chem.*, 266, 228-245 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.03.074>
- del Valle, M. Sensors as Green Tools. In *Challenges in Green Analytical Chemistry*, Vol. 66, 55, 2020. <https://doi.org/10.1039/9781788016148-00055>
- Barton, J.; García, M.B.G.; Santos, D.H.; Fanjul-Bolado, P.; Ribotti, A.; McCaul, M.; Diamond, D.; Magni, P. Screen-printed electrodes for environmental monitoring of heavy metal ions: A review. *Microchim. Acta*, 183, 503-517 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00604-015-1651-0>
- Sunyer, A.; González-Navarro, A.; Serra-Roig, M.P., Serrano, N.; Díaz-Cruz, M.S.; Díaz-Cruz, J.M. First application of carbon-based screen-printed electrodes for the voltammetric determination of the organic UV filters oxybenzone and octocrylene. *Talanta*, 196, 381-388 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.092>
- Serrano, N.; Castilla, O.; Ariño, C.; Díaz-Cruz, M.S.; Díaz-Cruz, J.M. Commercial screen-printed electrodes based on carbon nanomaterials for a fast and cost-effective voltammetric determination of paracetamol, ibuprofen and caffeine in water samples. *Sensors*, 19, 4039 (2019). <https://doi.org/10.3390/s19184039>
- Serrano, N.; Alberich, A.; Díaz-Cruz, J.M.; Ariño, C.; Esteban, M. Coating methods, modifiers and applications of bismuth screen-printed electrodes. *Trends Anal. Chem.*, 46, 15-29 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.01.012>
- Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M.; Ariño, C.; Esteban, M. Antimony-based electrodes for analytical determinations. *Trends Anal. Chem.*, 77, 203-213 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.01.011>
- Pérez-Ràfols, C.; Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M.; Ariño, C.; Esteban, M. Glutathione modified screen-printed carbon nanofiber electrode for the voltammetric determination of metal ions in natural samples. *Talanta*, 155, 8-13 (2016). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.04.011>
- Pérez-Ràfols, C.; Rosal, M.; Serrano, N.; Ariño, C.; Esteban, M.; Díaz-Cruz, J.M. Expanding the possibilities of electrografting modification of voltammetric sensors through two complementary strategies. *Electrochim. Acta*, 319, 878-884 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.07.034>
- Pérez-Ràfols, C.; Bastos-Arrieta, J.; Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M.; Ariño, C.; de Pablo, J.; Esteban, M. Ag nanoparticles drop-casting modification of screen-printed electrodes for the simultaneous voltammetric determination of Cu(II) and Pb(II). *Sensors*, 17, 1458-1469 (2017). <https://doi.org/10.3390/s17061458>
- Bernardo-Boongaling, V.R.R.; Serrano, N.; García-Guzmán, J.J.; Palacios-Santander, J.M.; Díaz-Cruz, J.M. Screen-printed electrodes modified with green-synthesized gold nanoparticles for the electrochemical determination of aminothiols. *J. Electroanal. Chem.*, 847, 113184 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2019.05.066>
- Tapia, M.A.; Gusmão, R.; Serrano, N.; Sofer, Z.; Ariño, C.; Díaz-Cruz, J.M.; Esteban, M. Phosphorene and other layered pnictogens as a new source of 2D materials for electrochemical sensors. *Trends Anal. Chem.*, 139, 116249 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.trac.2021.116249>
- Tapia, M.A.; Pérez-Ràfols, C.; Gusmão, R., Serrano, N.; Sofer, Z.; Díaz-Cruz, J.M. Enhanced voltammetric determination of metal ions by using a bismuthene-modified screen-printed electrode. *Electrochim. Acta*, 362, 137144 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.137144>
- Tahara, Y.; Toko, K. Electronic tongues—a review. *IEEE Sensors J.*, 13, 3001-3011 (2013). <https://doi.org/10.1109/JSEN.2013.2263125>
- Pérez-Ràfols, C.; Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M.; Ariño, C.; Esteban, M. A screen-printed voltammetric electronic tongue for the analysis of complex mixtures of metal ions. *Sens. Actuat. B: Chem.*, 250, 393-401 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.165>
- Pérez-Ràfols, C.; Gómez, A.; Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M.; Ariño, C.; Esteban, M. A voltammetric electronic tongue based on commercial screen-printed electrodes for the analysis of aminothiols by differential pulse voltammetry. *Electroanalysis*, 29, 1559-1565 (2017). <https://doi.org/10.1002/elan.201700053>
- Garoz-Ruiz, J.; Perales-Rondon, J.V.; Heras, A.; Colina, A. Spectroelectrochemical sensing: current trends and challenges. *Electroanalysis*, 31, 1254-1278 (2019). <https://doi.org/10.1002/elan.201900075>
- Pérez-Ràfols, C.; Puy-Llovera, J.; Serrano, N.; Ariño, C.; Esteban, M.; Díaz-Cruz, J.M. A new multivariate standard addition strategy for stripping voltammetric electronic tongues: application to the determination of Tl(I) and In(III) in samples with complex matrices. *Talanta*, 192, 147-153 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.09.035>
- Tapia, M.A.; Pérez-Ràfols, C.; Ariño, C.; Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M. New approach to multivariate standard addition based on multivariate curve resolution by alternating least squares: Application to voltammetric data. *Anal. Chem.*, 92, 3396-3402 (2020). <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b05477>
- Dago, A.; Navarro, J.; Ariño, C.; Díaz-Cruz, J.M.; Esteban, M. Carbon nanotubes and graphene modified screen-printed carbon electrodes as sensitive sensors for the determination of phytochelatins in plants using liquid chromatography with amperometric detection. *J. Chromatogr. A*, 1409 (2015) 210-217. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.07.057>
- Roselló, A.; Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M.; Ariño, C. Discrimination of beers by cyclic voltammetry using a single carbon screen-printed electrode. *Electroanalysis*, 33, 864-872 (2021). <https://doi.org/10.1002/elan.202060515>
- Pérez-Ràfols, C.; Subirats, X.; Serrano, N.; Díaz-Cruz, J.M. New discrimination tools for harvest year and varieties of white wines based on hydrophilic interaction liquid chromatography with amperometric detection. *Talanta*, 201, 104-110 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2019.03.099>
- Serrano, N.; Cetó, X.; Núñez, O.; Aragón, M.; Gámez, A.; Ariño, C.; Díaz-Cruz, J.M. Characterization and classification of Spanish paprika (*Capsicum annum* L.) by liquid chromatography coupled to electrochemical detection with screen-printed carbon-based nanomaterials electrodes. *Talanta*, 189, 296-301 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.06.085>