
**ESTUDI DE MATRIUS DE SENSORS
PER L'AVALUACIÓ DE SISTEMES
QUÍMICS COMPLEXOS:
DETERMINACIÓ DE CREATININA EN
MOSTRES D'ORINA**

Adrián Roc Roc

Dirigit per el Dr. Jordi Riu i el Dr. Francisco Javier Andrade

TREBALL DE FI DE GRAU

Grau de Química



**UNIVERSITAT
ROVIRA i VIRGILI**

Tarragona

2020

Índex:

1. Resum.....	2
2. Objectius.....	3
3. Introducció.....	4
4. Creatinina: Què és i la seva importància.....	5
5. Mètodes per a la determinació de creatinina.....	7
5.1. Mètodes actuals prèviament utilitzats.....	7
5.2. Mètode proposat: elèctrodes potenciomètrics selectius de ions.....	11
6. Potenciometria.....	11
6.1. Fonaments de la potenciometria.....	11
6.2. Elèctrodes selectius de ions (<i>Ion Selective Electrodes, ISEs</i>).....	12
7. Tècniques de calibratge multivariant.....	14
8. Matrius de sensors.....	15
8.1. Introducció a les matrius de sensors.....	15
8.2. Revisió bibliogràfica.....	17
8.2.1. Aplicacions de matrius de sensors.....	20
8.2.2. Substrats <i>low-cost</i> per a la fabricació de sensors.....	29
9. Proposta de projecte.....	34
9.1. Composició, estructura i fabricació dels sensors.....	34
9.2. Optimització dels anàlisis.....	38
9.3. Interferències.....	39
9.4. Matriu de sensors.....	40
9.5. Anàlisis de mostres.....	41
10. Conclusions.....	44
11. Referències.....	46

1. Resum:

En el següent projecte es presenten una sèrie de mètodes per a la determinació de la concentració de creatinina en fluids humans, la qual s'utilitza com a indicador de la presència de problemes renals. Aquests mètodes pateixen d'una sèrie d'inconvenients pràctics i econòmics. Per tant, es proposa com a solució fer ús de mètodes potenciomètrics. Degut a la presència d'interferents en les mostres, es desenvolupa una matriu d'elèctrodes per a la determinació de la concentració d'anàlit, el que implica la construcció d'un model multivariant. S'ha realitzat un recull d'articles, en els quals es fa ús de diverses matrius de sensors per a la determinació de diferents espècies en diferents mostres, de manera que es manifesta la importància que té l'ús d'aquests sistemes i les diferents optimitzacions realitzades en els últims anys. Per tal de reduir els costos en la construcció d'aquests sistemes, es mostren una sèrie de materials econòmics a utilitzar com a substrats dels sensors.

This project highlights a series of methods for the determination of creatinine's concentration in human fluids, which is considered a biomarker for kidney failure. Traditional methods present some practical and economic problems. A potentiometric approach is proposed as a solution to these problems. Due to the presence of different interferences in samples, sensor arrays are developed to determine the concentration of the analyte, developing a multivariant model for this purpose. A series of articles, where they have used sensor arrays to determine different species in different samples have been studied in order to demonstrate the importance of these systems and study the different optimizations in the last years. In order to minimize the construction costs of these systems, a series of low-cost materials used as sensor substrates are shown.

2. Objectiu:

L'objectiu d'aquest treball és l'estudi d'una sèrie de matrius de sensors i materials econòmics, per tal de presentar la proposta del desenvolupament d'una matriu d'elèctrodes selectius de ions (*Ion Selective Electrodes*, ISEs) sobre un substrat *low-cost*, capaç de determinar la concentració de creatinina en orina humana en presència de nicotina, mitjançant la construcció d'un model de calibratge multivariant de regressió de mínims quadrats parcials (*Partial Least Squares*, PLS) a partir dels resultats de les diferents mesures.

Per tal de poder aconseguir el nostre objectiu haurem d'assolir altres propòsits:

- Realitzar una cerca bibliogràfica específica sobre el camp de treball.
- Entendre el funcionament de la potenciometria i dels elèctrodes emprats.
- Comprendre la construcció d'una matriu d'elèctrodes potenciomètrics del tipus ISE.
- Tenir coneixement de les interferències presents en l'anàlisi i de com solucionar-les.
- Conèixer el funcionament del model multivariant per a determinar la concentració de creatinina en presència d'interferents.

3. Introducció:

Les malalties renals cròniques (*Chronic Kidney Diseases*, CKD), són un dels principals problemes de salut a nivell mundial. A Espanya un 9,16% de la població, l'equivalent a unes 4.300.000 persones, són pacients amb CKD. Econòmicament els tractaments de CKD suposen un cost molt elevat, podent arribar fins als 50 bilions de dòlars als Estats Units o al 3% del pressupost total destinat a la sanitat en el cas d'Espanya. Per tant, la prevenció d'aquestes és molt important.¹ Un mètode per a determinar la presència de CKD en humans és analitzar la concentració de creatinina en fluids de l'organisme. El mètode més emprat a nivell mundial és l'anomenat Jaffé, descrit l'any 1886.² Aquest mètode comporta diversos problemes de selectivitat, portabilitat, cost, temps d'anàlisi i manipulació; per tant s'han desenvolupat altres mètodes, com per exemple els cromatogràfics, per a la determinació de creatinina en fluids de l'organisme. Aquests proporcionen límits de detecció i quantificació millors, però tot i així, els problemes de portabilitat, cost i temps d'anàlisi segueixen presents. Per tal de reduir els problemes que suposen aquestes tècniques, s'estan desenvolupant tècniques electroquímiques com a mètodes alternatius per a la determinació i quantificació de la creatinina. En el meu grup de treball s'ha utilitzat com a sensor un elèctrode selectiu de ions (ISE) utilitzant com a substrat un material *low-cost* (paper), per a la determinació de la concentració de creatinina en orina. Tot i ser un mètode econòmic, fàcil de manipular i amb un temps d'anàlisi curt, a l'hora d'usar els ISEs desenvolupats al laboratori per a la determinació de creatinina, sobretot en mostres de pacients fumadors, s'ha observat la presència d'elevades concentracions de nicotina, cotinina (metabòlit de la nicotina) o carnitina, que interfereixen en la determinació de creatinina. Per tal de predir la concentració de creatinina correctament i negligir els senyals produïts pels interferents, es proposa la determinació de creatinina mitjançant l'ús d'una matriu de sensors: diversos sensors i mesures a diferent pH per tal de relacionar la concentració de creatinina a mesurar, amb la resposta instrumental (força electromotriu, EMF) dels diferents sensors de la matriu. Com a resposta s'obté una matriu de dades multivariants, amb la qual, a partir d'un mètode de calibratge multivariant com la regressió de mínims quadrats parcials (*Partial Least Squares*, PLS), es podrà predir la concentració de creatinina en mostres reals d'orina.

4. Creatinina: Què és i la seva importància.

La creatinina o *2-amino-1-metilimidazol-4-ol* és un compost orgànic producte final del metabolisme muscular. La creatinina s'obté a partir de la creatina procedent del fetge, ronyons i pàncrees. Aquesta és transportada fins als teixits i els òrgans on és metabolitzada per l'obtenció de creatinina. La creatina es transforma en creatina fosfat en presència d'ATP (adenosinatrifosfat) i de l'enzim creatina fosfoquinasa. A partir de la creatina fosfat i amb la pèrdua d'un fòsfor i una molècula d'aigua mitjançant una reacció de hidròlisi, s'obté un lactam que és la creatinina. En aquest cas, quan en la conversió hi ha involucrat ATP, la creatina per si sola, és una font d'energia per a molts processos biològics, com per exemple, l'activitat muscular.³ A partir de la creatina, mitjançant la reacció d'hidròlisi en absència d'ATP, també s'obté la creatinina (figura 1). Tant la creatinina com la creatina es troben en els teixits musculars on, en el cas de la creatinina, es difon en la sang per ser transportada fins als ronyons on és filtrada i finalment eliminada de l'organisme a través de l'orina.⁴

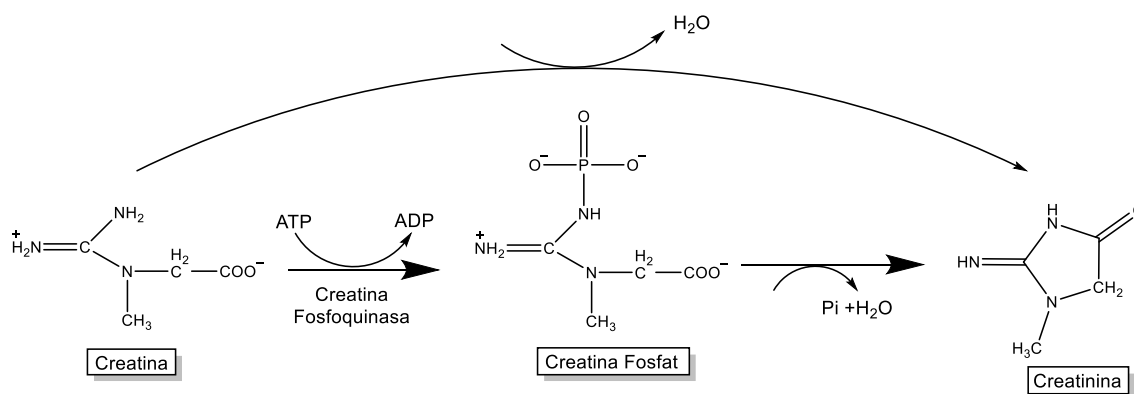


Figura 1: Biosíntesi de la creatinina a partir de la creatina.

Per una persona sana la concentració de creatinina excretada en l'orina és aproximadament 1,3-1,5 g/l (12-13 mM) i es manté constant.⁵ Quan hi ha un problema renal, la creatinina s'acumula en la sang i per tant, la concentració d'aquesta en orina disminueix. Així que, els nivells anormals de creatinina tant en sang com en l'orina poden ser senyal de la presència d'una malaltia renal crònica. Les CKD es caracteritzen per l'acumulació de metabòlits en sang que alteren el balanç d'electròlits així com, simultàniament, provoquen problemes vasculars o malalties obstructives pulmonars que poden portar a la mort del individu.¹

El diagnòstic precoç de qualsevol tipus de disfunció és molt important en la prevenció o control de les CKD, ja que aquestes malalties són asimptomàtiques durant les primeres fases. Per tant, quan l'individu nota algun símptoma, la malaltia es troba probablement en una fase molt avançada, en la qual els ronyons poden quedar força danyats. Pot comportar un canvi en la rutina del pacient, ja que, el tractament de les CKD implica visitar l'hospital cada dos dies pel tractament de diàlisi, o si el dany causat és sever, la persona requerirà d'un trasplantament de ronyó.⁶

- **Glomerular Filtration Rate (GFR):**

Per determinar si el pacient pateix d'un problema renal, es calcula l'índex de Filtració Glomerular (*Glomerular Filtration Rate*, GFR) (equació 1). És el volum de fluid filtrat per unitat de temps a través dels capil·lars glomerulars cap a la càpsula de Bowman, és a dir, el volum de sang filtrada als ronyons.⁷ El GFR es mesura en unitats de $\text{ml} \cdot \text{m}^2/\text{min}$ i es calcula a partir de la concentració de creatinina en sèrum tenint en compte l'edat, el pes, sexe i grandària del cos del pacient. Tot i que s'han presentat diferents mètodes per a la determinació del GFR, el més emprat és el basat en l'equació proposada per Cockcroft i Gault.⁷ Aquesta equació s'usa per detectar l'aparició d'insuficiència renal, per ajustar les dosis de substàncies excretades pels ronyons i per l'avaluació de l'efectivitat d'una teràpia per malalties renals progressives.⁸

$$GFR = \frac{(140 - \text{edat [anys]}) \cdot \text{pes [kg]}}{\text{Creatinina en sèrum [mg/dl]} \cdot 0,72} \cdot (0,85 \text{ en dones})$$

Equació 1: Càlcul del GFR mitjançant la fórmula proposada per Cockcroft i Gault.

Els valors de GFR obtinguts mitjançant l'equació proposada per Cockcroft i Gault per a homes sans i per a dones sanes, són respectivament $70 \pm 14 \text{ ml} \cdot \text{m}^2/\text{min}$ i $60 \pm 10 \text{ ml} \cdot \text{m}^2/\text{min}$.⁷

La determinació de creatinina també és important per al diagnòstic prematur de diverses malalties musculars, com per exemple la distròfia muscular de Duchenne, miastènia gravis, infarts aguts de miocardi... així com verificar l'estat del pacient abans i després d'una intervenció quirúrgica o bé quan pateix un accident, ja que les lesions musculars estan relacionades amb les elevades concentracions de creatinina en sang.

5. Mètodes per a la determinació de creatinina:

5.1. Mètodes actuals prèviament utilitzats:

- Mètodes basats en les reaccions de Jaffé:

S'han proposat diferents mètodes per a la determinació de creatina en sang, sèrum i orina. Molts d'aquests mètodes es basen en reaccions colorimètriques que tenen lloc entre la creatina i el sodi picrat en un medi alcalí, conegudes per el nom de reaccions de Jaffé, descrites l'any 1886 (figura 2). En reaccionar un alcalí picrat amb la creatinina en solució i en transcórrer un cert temps, la solució canvia de color prenent una tonalitat vermellosa degut a la formació del complex de Janowski.²

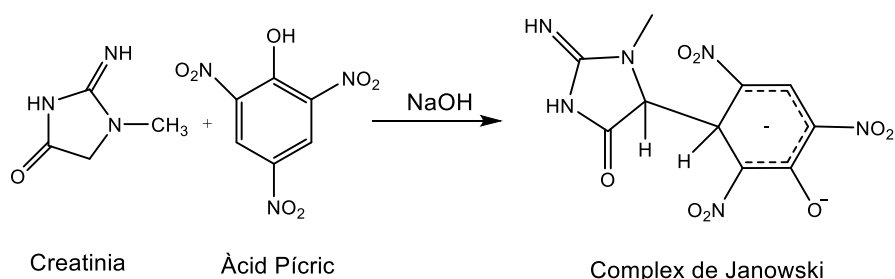


Figura 2: Reacció de Jaffé.

Un cop s'ha completat la reacció, mitjançant l'ús d'un espectrofotòmetre a una longitud d'ona fixa (520 nm), es determina la concentració de creatinina en solució a partir de la mesura de l'absorbància de la mostra. Les reaccions de Jaffé resulten problemàtiques per la falta de selectivitat per la creatinina, ja que no s'obtenen els mateixos resultats al fer l'anàlisi colorimètric del sèrum i de la sang. Tant en la sang com en el sèrum i en menor quantitat en l'orina, hi ha presència d'una o més substàncies, com per exemple acetona o glucosa, que també confereixen una coloració vermella al reaccionar amb el picrat en solució alcalina i que interfereixen en els resultats de l'anàlisi colorimètric. Per tal de millorar l'especificitat s'han dissenyat mètodes enzimàtics, més específics, exactes i precisos, però l'addició d'enzims comporta un increment en el cost econòmic de l'anàlisi.⁹ Tot i els problemes d'especificitat, portabilitat o manipulació que presenten les reaccions de Jaffé, és el mètode més àmpliament utilitzat per a la determinació de creatinina a nivell mundial.

- **Tècniques cromatogràfiques:**

Per tal de millorar els problemes de selectivitat que presenten les reaccions de Jaffé, més recentment, s'han proposat tècniques cromatogràfiques com a mètode alternatiu per a la determinació de creatinina en mostres complexes, com poden ser la sang, el sèrum o l'orina. Les tècniques cromatogràfiques són un conjunt de tècniques de laboratori a partir de les quals es pot separar l'anàlit a determinar d'una mescla en solució. Seguidament es mesura la concentració de l'espècie separada mitjançant tècniques espectrofotomètriques.¹⁰

La cromatografia d'alta resolució o *High Performance Liquid Chromatography* associada a un detector ultraviolat (HPLC-UV), la cromatografia líquida associada a un espectre de masses o *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) i la cromatografia de gasos associada a un espectròmetre de masses o *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) (figura 3), són alguns dels mètodes cromatogràfics més utilitzats en la determinació de creatinina en mostres complexes.⁴

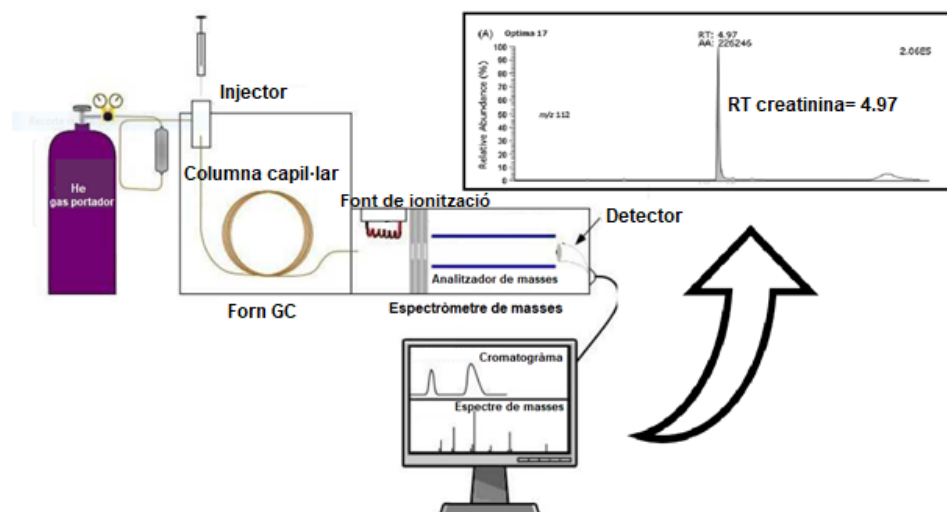


Figura 3: Instrumentació per a GC-MS i espectre obtingut en la determinació de la creatinina mitjançant GC-MS.⁴

Degut a la bona selectivitat i precisió que presenten aquestes tècniques a l'hora de determinar la concentració de creatinina, són el millor candidat per a ser usades com a mètode de referència. Proporcionen límits de detecció i quantificació excel·lents per a la determinació de creatinina,⁴ però requereixen d'un equipament costós, temps experimental, tant en anàlisi com en preparació

de mostres i la presència de personal especialitzat, a part del cost addicional i els possibles problemes que suposa el transport de les mostres, problema també present pel mètode Jaffé.

- **Espectroscòpia Raman:**

Alguns estudis més recents, han proposat l'espectroscòpia Raman de superfície millorada (*Surface-enhanced Raman spectroscopy*, SERS) per a la determinació quantitativa de creatinina en orina com a mètode ràpid. Mitjançant aquesta tècnica s'ha comprovat que els límits de detecció i els temps de les anàlisis són millors que els que s'obtenen mitjançant l'ús de kits per creatinina (*Creatinine Kits*, CK), basats en les reaccions de Jaffé modificades mitjançant l'addició d'enzims que milloren l'especificitat.¹¹

El SERS és una tècnica vibracional espectroscòpica que, tot i que es presenta com una tècnica que permet la determinació d'anàlits en mesclures complexes de manera ràpida, a l'hora de determinar creatinina en mostres de fluids humans, l'especificitat es veu afectada degut a la complexitat de les mostres biològiques.¹² La presència d'interferents, com poden ser molècules petites, sals orgàniques o proteïnes, generen soroll de fons, de manera que la selectivitat i els límits de detecció es veuen afectats. Per tal de solucionar aquests problemes dintre de les tècniques SERS, s'han proposat diverses solucions. Una d'aquestes solucions és treballar amb isòtops marcats de la creatinina, el qual resulta molt difícil degut a la baixa accessibilitat que hi ha per isòtop anàleg de la creatinina. L'altra solució que s'ha proposat és fer una extracció prèvia a l'anàlisi de tipus líquid-líquid amb un solvent (figura 4).¹³

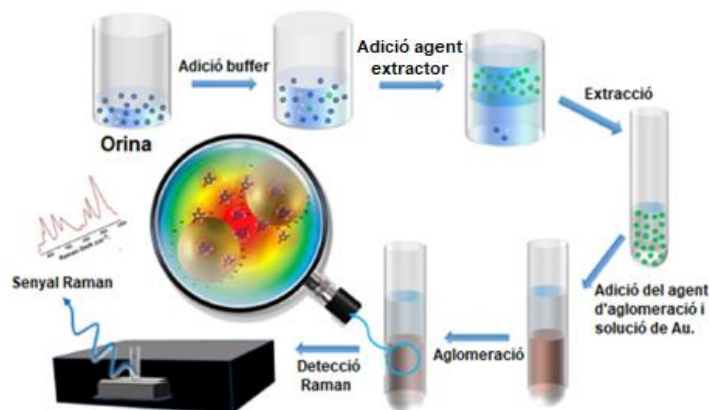


Figura 4: Procediment per a la determinació de creatinina mitjançant la tècnica SERS.¹³

Tot i que aquesta segona proposta es pot aplicar en medicina clínica i forense, el procés d'extracció comporta la presència de personal especialitzat i més temps per a la determinació de l'anàlit.

- **Kits per a la determinació de creatinina (CK):**

Actualment diferents empreses, com per exemple Ethos Biosciences, Sigma Aldrich, Thermo Fisher, Abcam... comercialitzen kits preparats per a la determinació de creatinina (figura 5). Aquests kits estan basats en un test colorimètric, adaptat del mètode Jaffé, on es compara l'absorbància de la mostra a 500 nm amb una corba estàndard. En presència de l'enzim creatininasa, al reaccionar la mostra amb el reactiu, la creatinina es converteix selectivament en creatina. Aquesta creatina, degut a la creatininasa, seguidament, es converteix en sarcosina, la qual s'oxida, obtenint un producte que reacciona amb un reactiu i genera una coloració vermella (570 nm) i fluorescència (Ex/Em= 538/587 nm). Aquest mètode té millor selectivitat per la creatinina que el mètode Jaffé per a mostres de sèrum, sang, orina o altres mesclures biològiques. El principal inconvenient d'aquests kits és el seu elevat cost, ja que cada kit al mercat costa al voltant de 300 dòlars. A més d'això, per tal de determinar l'absorbància, es requereix d'un colorímetre i per tant, la presència de personal especialitzat, fent que siguin poc accessibles per a tota la població.



Figura 5: Kit per a la determinació de creatinina.

Per tal de solucionar els problemes tant econòmics, de temps, de selectivitat, portabilitat o manipulació que suposen aquestes tècniques prèviament citades, s'estan desenvolupant tècniques electroquímiques com a mètodes alternatius per a la determinació i quantificació de la creatinina. Aquestes tècniques s'espera que permetin disminuir el cost, el temps d'anàlisi i facilitar la portabilitat i la manipulació de les mostres, mantenint la robustesa i selectivitat de tècniques complexes. Gràcies a les característiques d'aquestes tècniques, no sols es podrà detectar ràpidament si el pacient pateix d'una CKD mitjançant la determinació de creatinina, sinó que també es podrà portar un control i la monitorització rutinària d'aquestes, el que comportaria una descongestió del sistema sanitari i una disminució del pressupost sanitari invertit en el tractament de les CKD.

5.2. Mètode proposat: elèctrodes potenciomètrics selectius de ions.

L'objectiu principal per l'aplicació d'aquest mètode electroquímic és la disminució del cost econòmic, el fàcil ús i la portabilitat del sistema, mantenint la mateixa eficàcia i selectivitat de sistemes més complexos com poden ser HPLC-UV, LC-MS o GC-MS. Els mètodes electroquímics són ideals per la construcció de sistemes compactes degut a la facilitat de miniaturització i el baix consum de potència.¹⁴ Segons la IUPAC, un mètode de detecció electroquímic és un mètode en el qual el corrent i/o potencial són mesurats durant una reacció electroquímica.¹⁵ Existeixen diferents mètodes electroquímics com per exemple la potenciomètria i l'amperometria, amb els quals es treballa en el nostre grup de recerca. En el cas de la meua proposta de projecte, està basada en tècniques potenciomètriques.

6. Potenciomètria:

6.1. Fonaments de la potenciomètria:

La potenciomètria és una tècnica electroanalítica a partir de la qual es pot trobar la concentració d'un anàlit electroactiu present en solució, en el nostre cas la creatinina. Es mesura la diferència de potencial entre dos elèctrodes (elèctrode de treball i elèctrode de referència) submergits en una solució, on el potencial d'un dels elèctrodes, és funció de la concentració de l'anàlit a determinar en la solució. A partir de la diferència de potencials entre els dos elèctrodes es pot obtenir de forma directa la concentració de l'anàlit diana o seguir l'evolució d'una reacció química. Per tal de mesurar la diferència de potencial, es requereixen tres elements: Un dispositiu per a la mesura de potencial, un elèctrode de referència i un elèctrode de treball (figura 6). El dispositiu utilitzat per a la mesura de potencial és un voltímetre, el qual mesura el voltatge de la cel·la que formen tots dos elèctrodes. L'elèctrode de referència té un potencial estable i conegut, i la seva funció és proporcionar un potencial de referència constant. En l'elèctrode de treball es produeixen reaccions d'equilibri entre l'elèctrode i els elements electroactius de la cel·la. Per a la determinació de creatinina es proposa utilitzar un elèctrode de treball de tipus *Ion Selective Electrode (ISE)*.

La diferència de potencial mesurada és la contribució de la interacció de la membrana de l'elèctrode de treball amb els ions en solució, la interacció entre l'elèctrode de referència amb el medi de treball per tal d'establir un potencial constant (tenint en compte que la composició i la temperatura de la solució no varien) i per últim, del potencial d'unió líquida, que s'origina entre la solució de treball i la solució interna de l'elèctrode de referència.

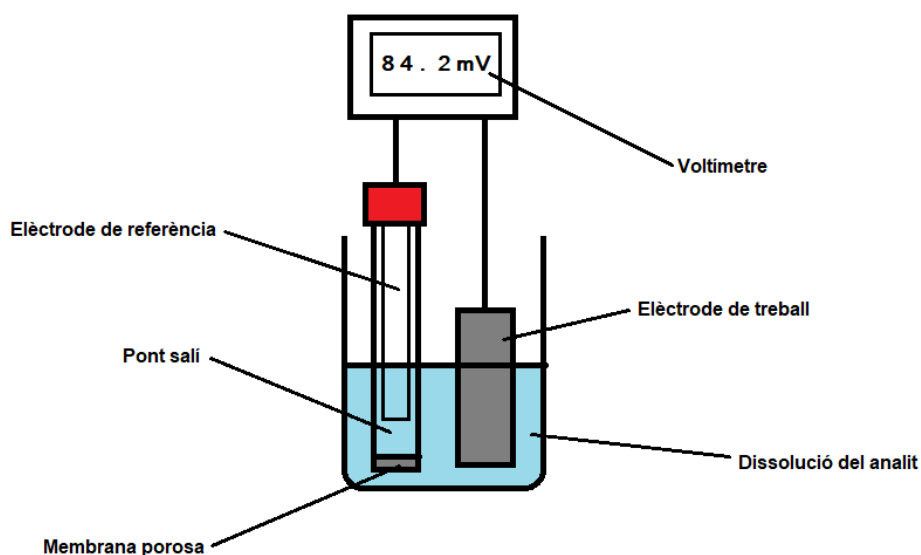


Figura 6: Esquema de un potenciòmetre.

6.2. Elèctrodes selectius de ions (*Ion Selective Electrodes, ISEs*):

Ion selective electrodes o elèctrodes selectius de ions, són sensors electroquímics capaços de determinar selectivament l'activitat d'un ió concret en una solució aquosa en presència d'altres substàncies interferents, mesurant la diferència de potencial elèctric produït a l'hora d'interaccionar aquest amb l'elèctrode. Són un subgrup de sensors electroquímics que es caracteritzen per la seva mida petita, fàcil portabilitat, baix consum d'energia i baix cost; característiques molt importants per a aplicacions pràctiques.¹⁶ Aquests sensors, a part de tenir de les característiques citades, presenten altres avantatges, sobretot en l'àmbit clínic o mediambiental, ja que requereixen de poc volum de mostra.¹⁷

La selectivitat dels ISEs s'aconsegueix gràcies a la membrana selectiva de ions que incorpora un ionòfor, una molècula que s'uneix selectivament al anàlit a determinar. Quan interaccionen específicament aquesta molècula selectiva i

l'anàlit a determinar, es produeix una variació del potencial elèctric, a partir del qual es pot determinar la concentració d'anàlit diana en solució. A la membrana selectiva de ions del ISE també hi ha presència d'intercanviador iònic. Aquesta substància conté ions que són intercanviats amb altres ions de càrrega igual presents en solució i per tant permeten l'entrada del anàlit a determinar dins de la membrana.¹⁸ De manera que la funció del intercanviador iònic dintre de la membrana del ISE és mantenir l'electroneutralitat del sistema, alliberant una càrrega igual a la incorporada pel ionòfor o captant-ne una de signe contrari. Un altre component present en la membrana selectiva dels ISE és el plastificant. Aquest component s'encarrega de conferir flexibilitat i resistència, augmentant així la durabilitat del sensor.¹⁹ El plastificant és un líquid viscos compost, normalment, d'una molècula lipofílica afí a la resta de components de la membrana, que evita que la membrana es dissolgui en la solució i que, per tant, perdi la seva funcionalitat.²⁰ Per tal d'escollir un plastificant adequat per a un determinat ISE, s'ha de tenir en compte que aquest tingui afinitat per la resta de components de la membrana, que no cristal·litzi en la superfície de la membrana i que no s'oxidi.²¹ També s'ha de considerar que sigui el més inert possible, per tal d'evitar que interfereixi en el bescanvi iònic a través de la membrana.²² La composició de la membrana selectiva de ions del ISE permet que l'anàlit en solució es pugui difondre en aquesta, i gràcies al coeficient de partició entre l'anàlit i el ionòfor, aquest es pot unir al ionòfor. Això comporta que es pugui relacionar la concentració d'anàlit a determinar amb el potencial tenint en compte el *phase boundary model*, en el qual es considera que la diferència de potencial només és funció de la concentració d'anàlit en solució, ja que es considera constant la seva concentració en l'interior de la membrana i no té en compte la presència d'altres ions interferents en solució.²³ D'aquesta manera s'obté una resposta Nernstiana:

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{zF} \ln a$$

Equació 2: Equació Nernstiana.²³

E = Potencial del elèctrode. ($V = J \cdot C^{-1}$).

E° = Potencial en condicions estàndard (tabulat) ($J \cdot C^{-1}$).

R = Constant dels gasos ideals. ($8.314472 J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$).

a = Activitat iònica en solució. ($a = \gamma_a \cdot x_a$) $\rightarrow x_a$ = fracció molar.

T = Temperatura. (K).

z = Càrrega del ió.

F = Constant de Faraday. ($C \cdot mol^{-1}$).

7. Tècniques de calibratge multivariant:

L'anàlisi multivariant és el conjunt de mètodes estadístics que tenen com a finalitat analitzar simultàniament una sèrie de dades multivariants, de manera que per a cada mostra hi ha diferents variables. La resposta instrumental pot ser processada fent us de diferents algorismes quimiomètrics, per tal d'obtenir informació qualitativa i quantitativa dels diferents anàlits en la mostra a determinar. En cas de tractar-se d'un anàlisi quantitatiu, diferents mètodes de calibratge multivariants, com per exemple la regressió de mínims quadrats parcials (*partial least squares*, PLS), són aplicats a la taula de valors obtinguts per tal de construir un model entre la resposta instrumental i els paràmetres a determinar de la mostra analitzada.²⁴

En el calibratge univariant hi té lloc l'anàlisi d'una mostra amb una única variable instrumental. Per tant, es determina la concentració de l'anàlit tenint en compte una única variable instrumental. És el mètode més comú per a la majoria de sensors, on la resposta univariant del sensor, està relacionada amb la concentració de l'anàlit a determinar mitjançant una equació lineal. En un calibratge multivariant, en canvi, la concentració de l'anàlit depèn de múltiples variables instrumentals, on per exemple, s'obté un espectre sencer o un conjunt de respostes provinents d'una matriu de sensors (figura 7). Aquestes respostes s'organitzen en forma de vector i a partir d'aquestes es construeix un model de calibratge de primer ordre.

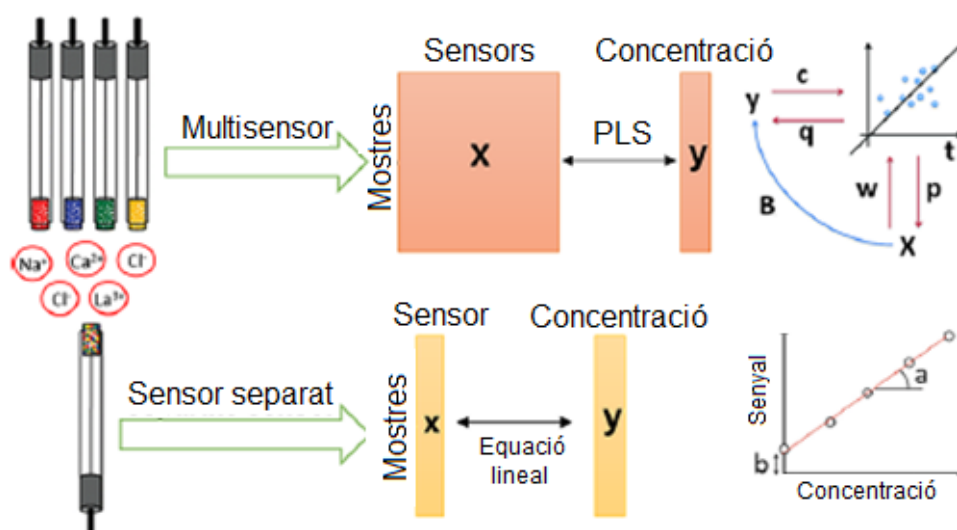


Figura 7: Comparació entre un mètode multivariant PLS i un mètode univariant.²⁵

El model PLS consisteix en un model de calibratge multivariant lineal, on es correlaciona la matriu de les variables independents X amb la variable dependent Y, considerant significatives les variables latents (variables que no s'observen directament, sinó que són combinacions de les variables observables) i la maximització de la covariància entre X i Y. Dintre d'una anàlisi multivariant, X representa el conjunt de respostes numèriques de tots els sensors que componen la matriu de sensors i Y representa el conjunt de valors de referència dels paràmetres a determinar de l'anàlit diana en la mostra analitzada.²⁵ De manera que, a partir del mètode multivariant PLS, es poden determinar senyals superposats considerant un gran nombre de variables originals. No totes les variables proporcionen la mateixa informació, algunes, només aportaran soroll de fons al model construït. Per tal de millorar la predicció del model PLS, és molt important la selecció prèvia de variables.²⁶

8. Matrius de sensors:

8.1. Introducció a les matrius de sensors:

Un sensor químic comú, normalment no és totalment selectiu a l'hora de determinar anàlits concrets en mostres complexes. L'absència de selectivitat és una limitació a l'hora d'obtenir un valor com a resposta quan es mesura la concentració d'un anàlit concret en una mostra en la qual hi ha presència d'altres substàncies interferents en concentracions desconegudes. Per tant, en l'anàlisi de mostres reals complexes o de mostres en presència d'espècies interferents en quantitats desconegudes, un sensor químic comú no és útil. Els mètodes cromatogràfics són una bona alternativa per tal de determinar un anàlit concret en una mostra complexa, però tal i com s'ha comentat en anterioritat, aquests mètodes, requereixen d'una instrumentació molt costosa. Així que per tal de solucionar els problemes d'especificitat, s'afegeixen altres sensors (figura 8) que proporcionen informació des d'un altre vessant químic, encarregats d'obtenir informació complementària, treballant d'aquesta manera amb una matriu de sensors.²⁷ Aquests sensors addicionals s'encarreguen d'obtenir informació del medi en el qual es troba la substància a determinar per tal de poder negligir-la a l'hora de mesurar i analitzar la informació procedent de l'anàlit d'interès.

Els sensors que formen la matriu poden ser de natura químicament diferent: electroquímics, sensibles a la massa, superfície d'ones acústiques, òptics...²⁵ Tot i que, els més utilitzats són els sensors electroquímics degut a la seva simplicitat, baix cost i facilitat de miniaturitzar i automatitzar.²⁸

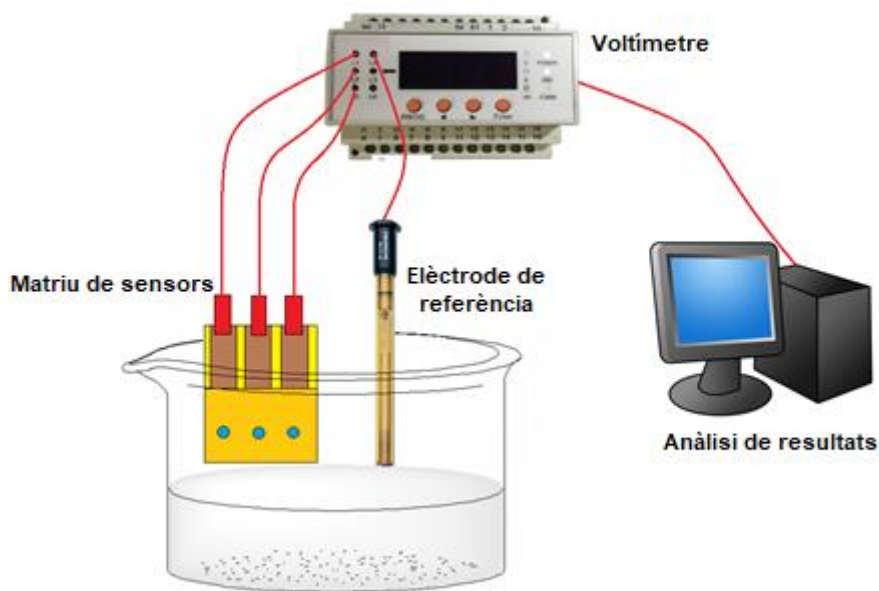


Figura 8: Esquema representatiu d'una matriu de sensors.

Poden ser utilitzats tant amb un propòsit quantitatiu, per a la determinació de la concentració d'espècies, o qualitatiu, per a la classificació de mostres en base a una característica en comú. En qualsevol dels dos casos, l'anàlisi dels resultats obtinguts es realitza a través de models multivariants basats en tècniques quimiomètriques, on s'estableix una correlació entre la informació obtinguda pel sensors i les propietats de l'entorn.²⁹

Degut a la similitud que presenten les matrius de sensors amb el sistema olfactiu dels mamífers o el sistema gustatiu, les matrius de sensors també es coneixen amb el nom de nas electrònic o llengua electrònica, si els sensors són emprats per a la determinació de gasos o substàncies en solució líquida respectivament. En el cas del nas electrònic, determina el perfil total de components volàtils de la mostra a determinar. Està compost d'una matriu de sensors no selectius que converteixen la informació química en elèctrica (resistència, voltatge, freqüència) o òptica (color). Aquesta informació es transforma en una forma digital, de tal manera que pot ser processada computacionalment (figura 9).

Les llengües electròniques segueixen un concepte similar al del dels nassos electrònics. És a dir, la matriu de sensors produeix senyals que no són necessàriament específics a una espècie en particular, però formen un patró que està relacionat amb algunes qualitats o característiques de la mostra. Aquestes contenen un grup de sensors que responen a sals, àcids, sucres, compostos amargs... Per tal d'interpretar els resultats que s'obtenen, es requereixen tècniques de calibratge multivariant. L'objectiu principal d'aquestes llengües electròniques, és l'anàlisi qualitatiu, així com el reconeixement, la classificació o identificació de mostres.³⁰

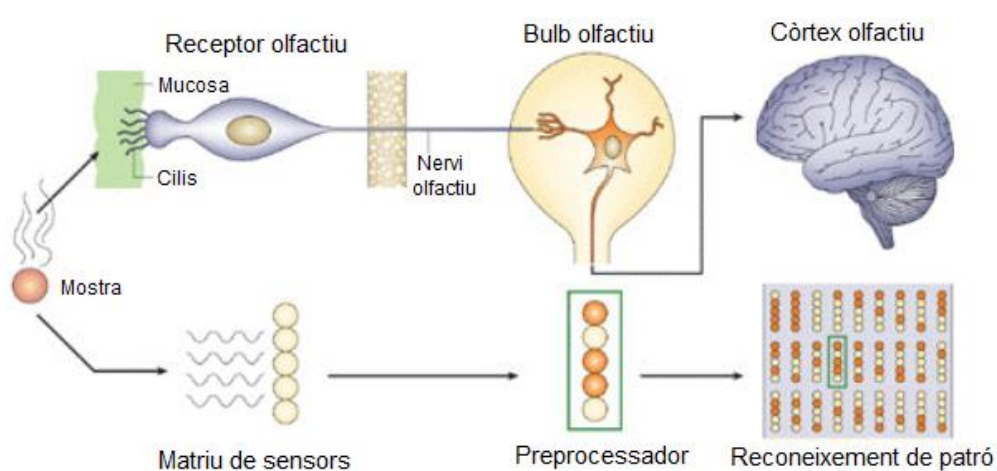


Figura 9: Comparació entre sistema olfatiu mamífer i nas electrònic.³⁰

8.2. Revisió bibliogràfica:

Les primeres matrius de sensors, van ser proposades als anys 80.^{31,32} Des de llavors, s'han desenvolupat i millorat els sistemes, portant a la creació de noves matrius de sensors per la determinació d'anàlits en mostres de mesclures líquides i gasoses. Tota la informació obtinguda a través dels sensors, és mitjançant mètodes quimiomètrics. Aquests sistemes s'han descrit principalment en l'anàlisi d'aliments (control de qualitat, optimització de bioreactors, control d'envelliment i control automatitzat del gust), l'anàlisi de productes químics (detecció de grups funcionals, determinació de la puresa del producte) , ús mèdic (monitorització clínica *in vivo*, diagnòstics no invasius, avaluació del gust de productes farmacèutics i creixement de cultius cel·lulars) i en la monitorització ambiental.³³

Un dels objectius del nostre projecte és l'obtenció d'un sistema de fàcil accés per a la determinació de creatinina en mostres reals. Per tant, és essencial que el sensor sigui econòmic, mantenint sempre la robustesa i l'exactitud del sistema. En molts països en desenvolupament s'ha detectat en algunes regions particulars una elevada prevalença a les CKD, sobre tot en la població jove i de mitjana edat que presenta un nivell socioeconòmic més baix. S'ha observat que el percentatge d'aquests casos augmenta depenent de l'ètnia i dels factors mediambientals. Molts països no poden assolir, econòmicament parlant, el tractament de CKD en malalts com per exemple Bhutan, amb una població de 708 mil persones on hi ha al voltant de 140 pacients amb CKD. Un 62% de les morts per malaltia en aquest país són degudes a una CKD, aquest fet ha provocat un augment dels costos sanitaris en el país, ja que els hospitals del país no estan preparats per a realitzar operacions de transplantament de ronyó i tots els casos han de ser enviats a altres països. Últimament s'està reportant un major nombre de casos de diabetis i hipertensió (principals factors de CKD a Bhutan) i els hospitals del país només compten amb 10 màquines de diàlisi, que no són suficients per cobrir tota la demanda de tractaments.³⁴

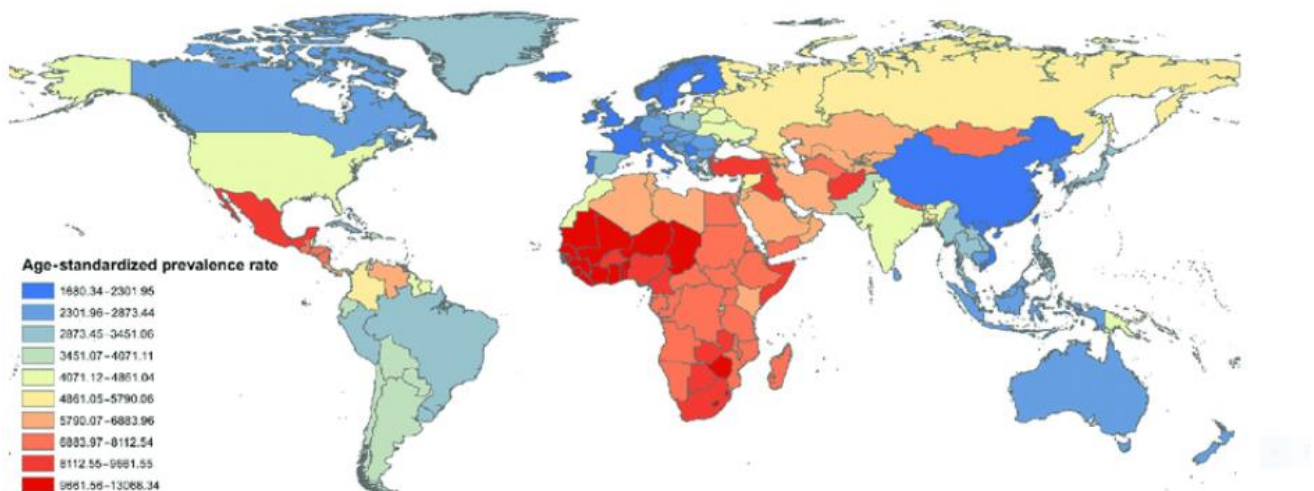


Figura 10: Prevalença de CKD al món, l'any 2016.³⁵

Igual que Bhutan, existeixen altres països del món (figura 10), com per exemple Nepal, Afganistan, Bangladesh o països del centre d'Àfrica que presenten problemes similars. El desenvolupament de sensors de baix cost, mitjançant la utilització de substrats econòmics, permetrà que la població de tot el món pugui detectar o fer un seguiment dels problemes renals. A més d'això, la simplicitat

que suposa l'ús del sensor electroquímic i la instrumentació necessària, permetrà que els mateixos pacients puguin fer l'anàlisi sense requerir la presència de personal especialitzat, fet que no només serà d'utilitat en països amb un nivell socioeconòmic inferior, si no que també influirà als països més desenvolupats, reduint les saturacions dels centres mèdics. S'han desenvolupat diferents sistemes a partir de materials d'ús habitual o de baix cost, per tal de millorar l'accessibilitat a tota la població i el seu transport. No sols això, si no que el mecanisme per fabricar-los és molt simple. Per tant, la fabricació en massa de d'aquests sensors no és un objectiu difícil d'assolir.

En la revisió bibliogràfica que presento a continuació, en un primer apartat es mostren exemples d'aplicacions de matrius de sensors en els últims 5 anys en els quals es poden veure els diferents àmbits on poden ser usades les matrius de sensors avui en dia i els avenços realitzats en els últims anys. En una segona part he fet un recull dels diferents sensors i matrius de sensors que s'han creat a partir de diferents substrats *low-cost* i les diferents aplicacions en els últims 10 anys, on es mostren millores no sols econòmiques, si no que també pràctiques. Cal destacar, que la utilització de substrats basats en materials econòmics s'ha introduït en la darrera dècada i, per tant, el número d'articles de sensors i sobre tot de matrius de sensors fabricades amb aquesta classe de substrats, és encara limitat.

L'objectiu d'aquesta revisió bibliogràfica és mostrar com s'han desenvolupat i han avançat les tecnologies per a la fabricació de les diferents matrius de sensors en els diferents camps d'aplicació i explicar com s'han fabricat diferents tipus d'elèctrodes usant materials d'ús habitual i/o econòmics. De manera que en un futur, es puguin aplicar aquestes millores a la matriu de sensors que nosaltres presentem en la nostra proposta de projecte sempre i quant sigui possible.

8.2.1. Aplicacions de matrius de sensors:

Taula 1: Resum de les aplicacions de matrius de sensors.

Mostres a determinar	Aplicació	Tipus de sensors	Número de sensors	Referència
Aigües	Determinació simultània de Cl^- i cations metàl·lics	Potenciomètrics	9	Wang, L. et. al. (2016).
	Determinació de substàncies tòxiques en xarxes de distribució d'aigua.	Òptics	10	Guanis, C. et. al. (2016).
	Determinació de la toxicitat d'aigües de rius, llacs, pous i aigües residuals.	Potenciomètrics	23	Zadorozhnaya, O. et. al. (2015).
	Determinació de toxines biològiques en aigua.	Potenciomètrics	6	Legin, E. et. al. (2019).
	Anàlisis rutinari d'aigua.	Potenciomètrics	21	Dias, L. et. al. (2016).
Productes alimentaris i begudes	Classificació de suc de fruites, té verd, cervesa i begudes alcohòliques.	Potenciomètrics	3	Sorvin, M. et. al. (2018).
	Classificació de caves.	Potenciomètrics, amperomètrics i conductimètrics	5	Giménez-Gómez, P. et. al. (2016).
	Determinació de la qualitat de diferents aliments.	Biosensors	4	Son, M. et. al. (2017).
Fàrmacs	Estudi de les formulacions farmacèutiques.	Potenciomètrics	Batch-ET (16) Flow-through-ET (8) FIA-ET (8)	Ciosek, P. et. al. (2015). Wesoły, M. et. al. (2016).
Fluids biològics	Determinació de la composició iònica de mostres d'orina.	Potenciomètrics	18	Yaroshenko, I. et. al. (2015).
	Monitorització a temps real d'anàlits en suor.	Potenciomètrics, termòmetre	7	Nery, E. et. al. (2016).
	Determinació simultània de metabòlits en sang.	Biosensors amperomètrics	3	Gao, J. et. al. (2019).

- **Aplicació de matrius de sensors en mostres d'aigua:**

Els mètodes tradicionals per a l'anàlisi d'aigües, com per exemple, l'espectroscòpia d'absorció o emissió atòmica o la cromatografia líquida, entre d'altres mètodes, per a la determinació de la toxicitat de l'aigua o la demanda d'oxigen químic (*Chemical Oxygen Demand*, COD), estan ben establerts per un preu raonable. Tot i així treballar amb matrius de sensors comporta certs avantatges, com per exemple: ràpides deteccions quantitatives i qualitatives d'anàlits, a temps real i amb capacitat de ser monitoritzades per a un llarg termini. A més d'això, cal tenir en compte que la instrumentació usada per les matrius de sensors i les anàlisis realitzades amb aquesta són més econòmiques.³⁶ Les primeres aplicacions de matrius de sensors per a l'anàlisi de mostres d'aigua van ser descrites fa vora de 25 anys, per a la quantificació de substàncies potencialment perilloses dissoltes en aigua.^{37,38}

Més recentment s'ha presentat una matriu de sensors, la qual conté una sèrie de ISEs, per a la determinació simultània de ions clorur i una sèrie de cations metàl·lics en solució aquosa. Entre els cations metàl·lics a determinar es troba el catió Cu^{2+} , el qual presenta interferències en presència de l'ió Cl^- en solució, per a l'ISE usat. Per a l'anàlisi dels resultats i per tal de minimitzar el màxim possible les interferències entre ions, es fa ús del mètode d'anàlisi multivariant del tipus anàlisi de components principals (*Principal component analysis*, PCA). Aquest mètode multivariant també ha permès reduir la complexitat dels resultats obtinguts de la matriu de sensors, classificant les dades obtingudes segons la seva similitud sense perdre informació.³⁹

Normalment les matrius de sensors òptiques s'usen per a la identificació de substàncies químiques en l'aire, però tot i així també poden ser aplicades per a la determinació de substàncies tòxiques en l'aigua.⁴⁰ Guanais et. al. (2016), han presentat una matriu de sensors òptica que treballa en la franja del visible per a la identificació de substàncies tòxiques, (figura 11) com poden ser traces de pesticides, fàrmacs o productes intermedis industrials presents en les xarxes de distribució d'aigua potable. S'ha estudiat la sensibilitat d'una matriu de sensors basada en colorants sensibles a canvis químics que consisteixen en metal·loporfirines i indicadors de pH. Tot i que, individualment cadascun dels sensors ha mostrat una selectivitat limitada davant els contaminants en solució,

la matriu de sensors òptica ha mostrat tenir bona sensibilitat pels anàlits amb uns límits de detecció d'entre 10^{-7} M a 10^{-4} M depenent de l'espècie.⁴¹ Per tal de classificar les substàncies individuals segons el tipus de contaminant, s'ha aplicat un mètode d'anàlisi multivariant de tipus PCA.

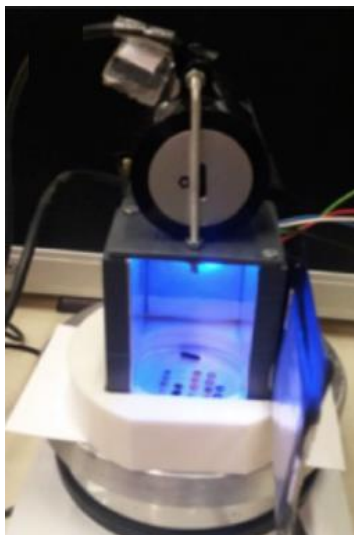


Figura 11: Imatge de la preparació experimental de les mostres sota il·luminació blava.⁴¹

Una matriu de sensors potenciomètrica ha sigut utilitzada per a l'anàlisi d'aigües superficials. En aquest estudi, s'han analitzat mostres reals d'aigua obtingudes de pous, rius i llacs de Catalunya (en total 55 mostres reals d'aigua contaminada). S'han comparat els resultats obtinguts a partir de la matriu potenciomètrica, amb els obtinguts per l'analitzador Microtox®, amb el qual es pot determinar la toxicitat de l'aigua mitjançant la determinació de la luminescència dels bacteris *Vibrio fischeri*, que depèn de les condicions de metabolisme i la toxicitat del medi.^{42,43} Una matriu constituïda de 23 sensors s'ha utilitzat per a la determinació de les mostres, analitzant les dades obtingudes amb anàlisi multivariant de tipus PLS per obtenir la concentració de les substàncies tòxiques. El fet de treballar amb una matriu de sensors que mimetitzi la funció dels bacteris en les mostres d'aigua, fa que no sigui necessària la presència d'organismes vius en les mostres, a més que l'avaluació de la toxicitat és més ràpida. Substituir els bacteris per matrius de sensors potenciomètrics és un gran avantatge, ja que treballar amb anàlits vius comporta controlar contínuament les condicions del medi per mantenir l'hàbitat apropiat per als éssers vius.⁴⁴

Més recentment s'ha usat una matriu potenciomètrica composta per 20 sensors per l'avaluació de mostres d'aigua procedents de rius, llacs, pous i aigües residuals de la ciutat de Sant Petersburg (Rússia) en diferents condicions climàtiques.⁴⁵ Prèviament al seu anàlisi, les mostres han sigut tractades amb ultrasons de cavitació (*cavitation ultrasound treatment*, UST) per tal de reduir la concentració de contaminants i purificar l'aigua de cianobacteris.⁴⁶ Per tant, s'ha ideat un sistema al qual s'ha acoblat un aparell UST a una matriu de sensors potenciomètrica. El que permet aquest sistema, en comparació al mètode tradicional per a l'avaluació de la toxicitat de l'aigua mitjançant un bioassaig, és la reducció del temps requerit per a l'anàlisi, i de la mateixa manera que en el cas anterior, no es requereix un control continu de les condicions del medi. Aquest sistema també ha sigut utilitzat per a la determinació de la qualitat de l'aigua tenint en compte el COD de 20 mostres d'aigua procedents de pous i rius de Kolkata (Índia) i 320 mostres procedents de plantes de tractament d'aigua. S'ha determinat la concentració de fòsfor inorgànic, amoni i nitrats. Els resultats obtinguts han mostrat una bona correlació al comparar-los amb els resultats obtinguts mitjançant un bioassaig estàndard.⁴⁵

Les llengües electròniques també s'han utilitzat en la determinació de toxines biològiques en aigua. Mitjançant una matriu composta de sis sensors potenciomètrics miniaturitzats s'han pogut quantificar toxines paralítiques de mariscs en extractes de musclos.⁴⁷ A partir d'un model de regressió PLS, s'han pogut obtenir les concentracions de 4 tipus de diferents toxines, en 16 mostres de musclos recol·lectats a les costes portugueses i han sigut comparats amb els resultats obtinguts per un mètode de referència cromatogràfic.⁴⁷

Aquests sistemes també són usats en anàlisis rutinaris d'aigua.⁴⁸ Els sensors estan compostos amb membranes polimèriques lipídiques per a l'avaluació rutinària quantitativa de paràmetres fisicoquímics (pH i conductivitat) i per la classificació qualitativa de les diferents mostres d'aigua depenent de cada tipus. Mitjançant una matriu composta de 21 sensors s'ha pogut classificar el 100% de les diferents mostres d'aigua i mitjançant models de regressió multivariant lineals, s'ha pogut determinar la conductivitat i el pH amb elevada precisió.⁴⁸

- **Aplicació de matrius de sensors en l'anàlisi de productes alimentaris i begudes:**

L'aplicabilitat de les matrius de sensors és especialment rellevant en els controls de qualitat dels aliments i les begudes, on en els últims anys s'ha vist un increment en la demanda de la producció sostenible i d'alta qualitat, que ha comportat el desenvolupament de sistemes analítics més precisos i veloços.⁴⁹

S'ha proposat una matriu de sensors la qual conté una sèrie d'elèctrodes selectius de ions amb una membrana de polianilina i *thacali[4]arene* per a l'anàlisi de diferents mostres de suc de fruites, té verd, cervesa i begudes alcohòliques. S'han classificat en base al seu origen, marca i estil.⁵⁰ Tot i les millores que s'han dut a terme en el desenvolupament de matrius de sensors i en el software per a l'anàlisi de dades obtingudes per aquest sistema, s'ha proposat la millora del número de ISEs i el disseny d'aquests. Treballar amb un menor nombre de elèctrodes en les matrius de sensors, simplifica el funcionament i accelera el processament de les dades obtingudes. Gràcies a l'ús del macrocicle com a ionòfor, juntament amb la polianilina, s'ha pogut compactar el sistema, sense perdre selectivitat ni funcionalitat d'aquest davant diferents espècies o mostres complexes.⁵¹ El macrocicle provoca l'oxidació de la polianilina, de manera que quan ions de Fe(III) s'introdueixen en l'interior del macrocicle, la concentració parcial del macrocicle varia, de manera que afecta a la participació d'aquest en l'oxidació parcial de la polianilina i per tant a la variació del potencial.⁵²

La portabilitat del sistema és molt important ja que en ocasions, el transport de la mostra és inviable. Així doncs, s'han desenvolupat sistemes portàtils basats en matrius de sensors. Gimenez-Gómez, P. et. al. (2016) presenten un sistema amb aquestes característiques per a l'anàlisi de cava.⁵³ Han creat un sistema compacte basat en sis transistors d'efecte camp selectius (*ion-selective field effect transistor*, ISFET) sensibles a pH i una sèrie de cations i anions. Juntament als ISFETs s'han unit un sensor de conductivitat, un sensor redox de potencial i dos elèctrodes d'or amperomètrics per a la creació de la matriu de sensors (figura 12). Aquest sistema juntament amb eines quimiomètriques ha permès l'anàlisi de 78 mostres de cava diferent, classificant-les en funció dels anys, acidesa total, pH, grau en alcohol, concentració de potassi, glicerol i conductivitat.⁵³ En comparació a altres llengües electròniques usades per l'anàlisi de cava,^{54,55}

aquest sistema permet determinar simultàniament fins a set paràmetres químics, a part de l'anàlisi qualitatiu, gràcies a la natura híbrida dels sensors electroquímics (potenciomètric, amperomètric i conductimètric).



Figura 12: Esquema de tot el sistema de mesura. A) Sensor conductimètric; B) Sensor amperomètric; C) Elèctrode de referència; D) Elèctrode potenciomètric E) ISFET.⁵³

A les llengües electròniques s'han incorporat biosensors, portant a la creació del que es coneix com llengües bioelectròniques. Aquests sistemes proporcionen un rendiment superior mitjançant la combinació de la capacitat de les llengües electròniques per donar significat a dades o mostres complexes i l'elevada especificitat o selectivitat dels biosensors.⁵⁶ Una matriu de sensors bioelectrònica ha sigut desenvolupada amb el propòsit de proporcionar deteccions ràpides, al instant i simultànies de diferents molècules. A partir d'aquest sistema s'han pogut mesurar els canvis en la conductància amb una selectivitat i sensibilitat elevada i s'han identificat molècules de gust o olor característiques del menjar contaminat.⁵⁷ La matriu de sensors ha sigut capaç de distingir satisfactòriament quatre molècules diferents i ha reconegut els patrons de mescleres complexes mitjançant la unió de molècules als receptors específics sense cap tipus d'interferència, de manera que s'han pogut analitzar diferents aspectes de la qualitat del menjar. Altres sistemes actuals basats en matrius bioelectròniques han sigut referenciats en altres revisions bibliogràfiques,⁵⁶ on es mostren, sobretot aplicacions en anàlisis d'aigües i de la qualitat del menjar.

- **Aplicació de matrius de sensors en l'anàlisi farmacèutic:**

En els últims anys els requisits dels consumidors i els fabricants de productes farmacèutics han augmentat i cada cop són més avançats, de manera que, el número de controls de qualitat s'ha vist incrementat en matèries primes, productes finals i en processos de producció. L'aplicació de llengües electròniques en els controls de qualitat en la indústria farmacèutica s'ha aplicat en els últims anys per a satisfer aquesta demanda.⁵⁸ S'han proposat diferents estructures, estratègies experimentals, tècniques de processament de resultats i mètodes de referència diferents per a satisfer la demanda.

Łabanska et. al. proposen tres estructures diferents de llengües electròniques, utilitzades prèviament en l'estudi d'altres substàncies, per a l'estudi de les formulacions farmacèutiques. Cadascuna aporta diferents senyals com a resposta, que es processen mitjançant mètodes d'anàlisi multivariant:

- **Batch-ET:** És un sistema dedicat a la mesura de mostres individuals, equipat amb una matriu de sensors selectius de ions clàssica. Aquest sistema està constituït per 16 ISEs com a màxim, els quals estan submergits en la mostra a determinar (figura 13A).
- **Flow-through-ET:** És un sistema dedicat a les mesures de flux, equipat amb una matriu de sensors d'elèctrodes selectius de ions miniaturitzats, dintre d'una cel·la de flux personalitzada (figura 13B). La mostra es bombeja contínuament a l'interior de la cel·la, obtenint com a resultats les diferents respostes de cada sensor, similars a les que s'obtenen per *Batch- ET*.^{59,60}
- **FIA-ET (flow injection analysis ET):** El sistema conté el mateix sensor, és a dir, una cel·la de flux modular, amb ISEs miniaturitzats connectats entre sí. A més d'això conté una vàlvula multicanal amb dos posicions i un dispositiu d'injecció de mostra amb un *loop* per a la dosificació precisa de la mostra injectada (figura 13C). En aquest cas la solució portadora es bombejada contínuament a les cel·les on es troben els sensors i la mostra es introduïda periòdicament, obtenint una resposta amb pics de senyals. El gran avantatge que presenta aquest mètode és la reducció de volum necessari per els anàlisis.⁶¹

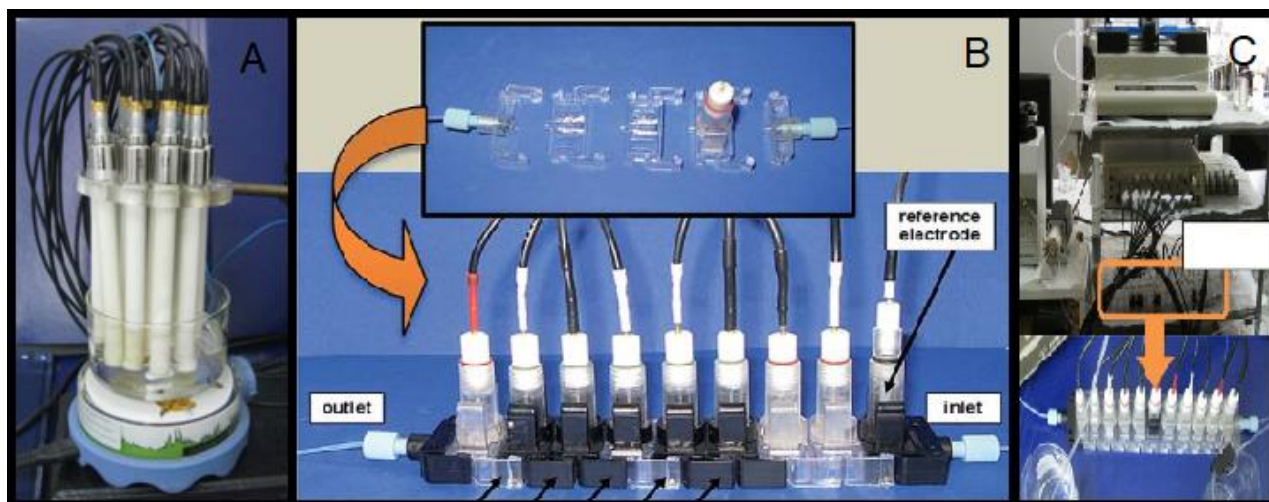


Figura 13: A) Batch-ET; B) Flow-through-ET; C) FIA-ET.⁵⁸

S'han utilitzat tots tres tipus d'arquitectura de sensors per a comparar-los segons la seva capacitat per reconèixer mostres que contenen ibuprofè emmascarades amb gust.⁶¹ S'ha demostrat que en el cas del sistema FIA-ET, el procediment és més curt degut a l'automatització, però mostra tenir una pitjor repetibilitat. Mitjançant les altres estructures s'han pogut classificar els resultats a partir d'un mètode PLS, però no ha sigut possible mitjançant aquest mètode.

S'han pogut determinar quantitativament diferents mesclades de substàncies farmacèutiques actives mitjançant el sistema *Flow-through-ET*. Un sistema compost de vuit ISEs miniaturitzats connectats entre si, han permès automatitzar la anàlisi de 18 mesclades que contenen tres substàncies farmacèutiques en diferents rangs de concentració. Gràcies a aquesta automatització s'ha pogut reduir el temps experimental i aplicar el sistema per al control rutinari de productes farmacèutics.⁶²

- **Aplicació de matrius de sensors en la determinació de fluids biològics:**

Gràcies a l'especificitat que presenten les llengües electròniques, poden ser usades com a diagnosi per a la identificació i monitorització de malalties que no poden ser detectades en les primeres fases. Els anàlisis a determinar per a la identificació de malalties es troben en mostres de fluids biològics com poden ser sang, orina, sèrum o suor.⁶³ Aquests sistemes s'apropen més al sistema que nosaltres presentem en la proposta de projecte per a la determinació de creatinina en orina.

S'ha proposat un sistema per a determinar la composició iònica de 136 mostres d'orina, per a la detecció preventiva de problemes renals com pot ser la urolitiasis. Per tal de fer-ho possible s'ha treballat amb una matriu de sensors composta de 18 ISEs i com a mètode de referència s'ha utilitzat l'ultraforesis capil·lar. Juntament amb mètodes quimiomètrics de tipus PLS s'ha pogut fer l'anàlisi quantitatiu de 10 substàncies iòniques presents en l'orina.⁶⁴

La monitorització del suor és una altra aplicació potencial que tenen les matrius de sensors. En aquest cas s'han creat sensors basats en tatuatges que es col·loquen en diferents parts dels cos per tal de monitoritzar en temps real les concentracions de glucosa, ions, àcid làctic...⁶⁵ S'ha proposat un sistema d'aquest tipus per a la determinació de la concentració de glucosa en suor, per tal de prevenir la diabetis (figura 14). S'han comparat els resultats obtinguts amb sensors comercials per a la determinació de glucosa. L'avantatge principal que presenta aquest tipus de sistema és el monitoratge continu de la concentració de glucosa a llarg termini.⁶⁶

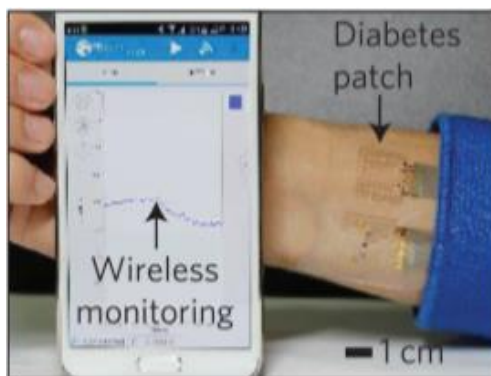


Figura 14: Sistema portàtil per al monitoratge de la diabetis.⁶⁶

S'han desenvolupat matrius de biosensors econòmics i versàtils per a la determinació simultània de múltiples metabòlits en sang. Gao et. al. (2019) presenten una microagulla flexible com a elèctrode, funcionalitzat amb glucosa oxidasa, ureasa i colesterol oxidasa per a la determinació simultània de glucosa, àcid úric i colesterol en sang de manera ràpida.⁶⁷

8.2.2. Substrats *low-cost* per a la fabricació de sensors:

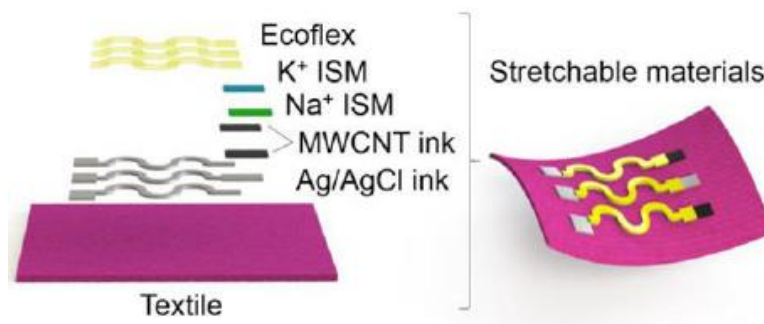
A continuació presento una sèrie de materials d'ús habitual i econòmics que han sigut aplicats com a substrat per a la fabricació de sensors i matrius de sensors en els últims 10 anys. Cal destacar que la utilització d'aquests materials com a substrat, és un camp emergent, així que per tal de tenir un major nombre d'exemples, he ampliat a 10 anys la franja de recerca. El número d'articles referenciats en la fabricació de matrius de sensors mitjançant aquests substrats en l'última dècada és molt petit, així que no només descriuré la fabricació de matrius de sensors, sinó que també descriuré la fabricació de sensors convencionals.

Taula 2: Resum dels substrats *low-cost* per a la fabricació de sensors.

Substrat	Beneficis	Aplicacions	Referència
Teixit	Bones propietats elàstiques. Contacte total entre el sensor i la pell.	Determinació de ions en suor a partir d'una matriu de sensors independents.	Parrilla, M. et. al. (2016)
		Monitoratge terapèutic del liti en fàrmacs de forma no invasiva en fluids intersticials mitjançant un sensor químic portable sobre una base de cotó.	Sweilam, M. et. al. (2018)
Paper	Permet l'obtenció de dispositius microfluídics.	Determinació de cations electrolítics usant un sensor fabricat amb paper de diari.	Yoon, J. et. al. (2017)
	Es veu facilitat l'emmagatzematge de reactius dintre de la fibra i el transport de fluids.	Anàlisi i classificació de cerveses a partir d'una matriu de sensors sobre substrat de paper.	Nery, E. et. al. (2016)
Goma	Bona resistència química i mecànica.	Desenvolupament d'un ISE sobre un substrat de goma per a la determinació de K ⁺ .	Cuartero, M. et. al. (2014)
Fibra de carboni comercial	Elevada conductivitat, rigidesa i resistència a la tracció.	Determinació de sodi en suor a partir d'una cel·la potenciomètrica.	Parrilla, M. et. al. (2016)
	Resistència química, mecànica i a elevades temperatures. Baix pes.	Determinació de cortisol en suor mitjançant una cel·la conductimètrica.	Sekar, M. et. al. (2019)

- **Teixits:**

Els teixits són un bon material per a la fabricació de sensors portables, ja que ofereixen unes propietats elàstiques molt bones, a més a més de permetre un contacte total entre el sensor i la pell. A l'hora d'integrar els sistemes químics directament als teixits, es pot treballar sota la influència de tensions mecàniques extremes sense afectar al rendiment analític.⁶⁸



*Figura 15: Disseny de un sensor basat en un teixit com a substrat.*⁶⁹

Parrilla et al. (2016), han desenvolupat una matriu de sensors potenciomètrics per a la determinació de diferents ions en suor (figura 15) basats en teixits altament flexibles, mitjançant la combinació de membranes de poliuretà (proporciona biocompatibilitat i major resistència al estrès mecànic) i tintes selectives de ions, organitzades amb un patró de sensors i elèctrodes impresos. D'aquesta manera la selectivitat, la conductivitat elèctrica, la reproductibilitat i la forta adhesió a teixits convencionals queden garantides. En aquest cas, entre els diferents ISEs que componen la matriu no hi ha interferències, de manera que cada sensor dona un senyal independent i no es requereix de tècniques quimiomètriques per a l'anàlisi dels resultats. D'aquesta manera s'ha aconseguit un monitoratge no invasiu a temps real de diferents electròlits.⁶⁹

Més recentment s'ha presentat un sensor químic portable per al monitoratge terapèutic del liti en fàrmacs de forma no invasiva en fluids intersticials. Aquest sistema s'ha construït a partir d'una base de cotó sobre la qual s'hi ha depositat un ionòfor selectiu al liti i s'ha unit juntament amb un elèctrode de referència de fibra de carboni, per tal de construir un sistema potenciomètric miniaturitzat.⁷⁰ La fabricació del elèctrode selectiu de liti s'ha realitzat de manera senzilla, submergint la base de cotó en una solució en la que s'hi troba juntament al ionòfor plastificant dissolt i un bescanviador iònic.⁷¹

- **Paper:**

El paper també s'ha utilitzat en estudis previs com a substrat per a la fabricació de sensors *low-cost*, aquest material permet l'obtenció de dispositius microfluídics (*Microfluidic paper-based analytical devices*, μ PADs) sense necessitat d'utilitzar una bomba, degut a la capacitat del paper per absorbir la mostra.⁷² La gran relació àrea/volum dels μ PADs permet que a l'hora d'utilitzar-los en reaccions químiques i/o en detecció, l'emmagatzematge de reactius dintre de la fibra es veu facilitat igual que el transport de fluids a través de l'acció capil·lar. Altrament, els μ PADs són susceptibles a modificacions, per tant poden ser utilitzats en la determinació de diferents substàncies, sempre i quan sigui compatible amb les condicions de treball. A partir de paper s'han desenvolupat sensors ISE potenciomètrics usant una tinta composta de nanotubs de carboni com a material conductor i membranes polimèriques, de manera que s'ha demostrat que aquests sensors de paper, poden tenir una funcionalitat similar a un sensor convencional de laboratori. L'ús de sensors sòlids en potenciomètria, proporciona una forta capacitat de detecció, simplicitat, poc consum d'energia i baix manteniment, el que fa del paper com a substrat *low-cost* en tècniques potenciomètriques, un material molt atractiu.⁷³ El paper, a més a més, és un material de fàcil accés, per tant, és econòmic.

A partir de paper de diari s'ha fabricat un sensor potenciomètric per la detecció de cations electrolítics (figura 16). Sobre el substrat de paper de diari s'hi ha depositat paril·lina C mitjançant un procés de deposició química de vapor. L'elèctrode obtingut, permetrà la creació de sistemes potenciomètrics econòmics, química i mecànicament estables a gran escala i de manera senzilla.⁷⁴



Figura 16: Sensor potenciomètric amb base de paper de diari.⁷⁴

En els últims anys s'han presentat matrius de sensors amb base de paper. L'any 2016 Nery et. al. van presentar un sistema amb aquestes característiques (figura 17), compost de 5 elèctrodes, dels quals un actua com a ISE i un altre com a elèctrode de referència.⁷⁵ Mitjançant aquesta llengua electrònica, s'han pogut analitzar diferents cerveses i classificar-les segons el seu tipus, marca i determinar la presència d'antioxidants, estabilitzants i colorants, a partir de la determinació del pH, el tipus de fermentació i la quantitat d'alcohol. Mitjançant el mateix sistema s'ha treballat en condicions de flux, de manera que amb una mínima quantitat de mostra s'han analitzat les diferents mostres de vi i s'han classificat en funció de cada classe.⁷⁶



Figura 17: Llengua electrònica amb elèctrode de referència integrat. A) Elèctrode de treball; B) elèctrode de referència Ag/AgCl; C) Contactes electrònics; D) Substrat de paper.⁷⁶

També s'ha referenciat la creació de matrius de sensors microfluídiques amb substrat de paper sobre el qual s'hi han depositat elèctrodes de carboni revestits amb hidrogels d'àcid borònic fenílic. A partir d'aquest sistema, combinat amb l'anàlisi de dades quimiomètric, s'han pogut classificar diferents tipus de sucres (glucosa, fructosa i sacarosa) i diferenciar entre marques de suc de poma utilitzant una concentració de 6 μ l de mostra.⁷⁷

- **Goma:**

Tant el paper com els teixits mostren bones propietats per a un gran àmbit d'aplicacions, però estan limitats en termes de resistència tant química com mecànica, així que també s'han desenvolupat sensors basats en un substrat de goma, material fàcil d'obtenir degut a l'ús habitual que té en la indústria. Cuartero et al. (2014), proposen desenvolupar una superfície conductora sobre una goma comercial a partir de nanotubs de carboni i, a partir d'aquesta, crear un ISE

mitjançant l'adició de la membrana polimèrica corresponent per a la determinació de K^+ . És molt simple de construir i d'operar i es poden produir sensors a gran escala.¹⁴

- **Fibres de carboni comercials:**

Les fibres de carboni són un bon material a usar com a substrat per a la fabricació de sensors portàtils. Aquests es fabriquen a partir de fibres de carboni extruïdes en forma de fil, amb una matriu polimèrica que sol ser un epòxid. Les fibres de carboni són ideals, ja que, presenten una elevada conductivitat, gran rigidesa i resistència a la tracció, baix pes; la tolerància a elevades temperatures, la resistència química i mecànica és elevada i el seu cost és relativament baix.⁷⁸ Parrilla et al. (2016), proposen usar aquest material com a substrat per la fabricació de una cel·la potenciomètrica portable completament integrada per a la determinació de sodi en suor a temps real, per tant, sobre aquestes fibres de carboni s'hi diposita una membrana que conté un ionòfor selectiu de sodi.⁷⁹

També s'ha pogut monitoritzar i determinar la concentració de cortisol en suor a partir d'un sensor conductimètric fabricat sobre un substrat de fibres de carboni. Per a la determinació d'aquests biomarcadors s'ha utilitzat un elèctrode immunosensor, el qual té una gran sensibilitat per el cortisol i és capaç de detectar-lo en una franja de temps curta.⁸⁰

Per a qualsevol dels materials citats que s'utilitzi com a substrat, la composició de la membrana selectiva de ions i de les tintes impreses s'ha d'adaptar per garantir conductivitat elèctrica i la correcta adhesió als substrats.

9. Proposta de projecte:

Tenint en compte la bibliografia citada i els diferents coneixements i avenços aportats en aquesta, el projecte proposat pel meu grup de recerca és la fabricació d'un sensor potenciomètric *low-cost* per a la determinació de creatinina en mostres reals d'orina. Tal i com s'ha comentat en anterioritat, les CKD són un problema a nivell mundial que ha incrementat en els últims anys, augmentant així els costos sanitaris que comporta la demanda dels tractaments i disminuint l'accessibilitat d'aquests tractaments a part de la població mundial. El fet d'incorporar un sensor potenciomètric econòmic per a la determinació de la concentració de creatinina, permetrà la detecció de possibles problemes renals i la monitorització d'aquest. No només s'observarà una disminució dels costos sanitaris, sinó que també es notarà una dessaturació del sistema sanitari, ja que aquest sistema és fàcil de manipular per el pacient, tot i no tenir experiència.

9.1. Composició, estructura i fabricació dels sensors:

- **Substrat:**

Com a substrat per a la fabricació dels sensors s'ha usat paper, s'ha demostrat que per a les condicions de treball a les quals es sotmeten els sensors és suficientment resistent. Tal com s'ha comentat en l'apartat de substrats *low-cost* per a la fabricació de sensors de la recerca bibliogràfica, el paper és un bon material a utilitzar com a substrat per a la fabricació de sensors, ja que, a part de ser un material econòmic i de fàcil accés que permet rebaixar el cost del sensor, la seva estructura fibrosa permet l'absorció de les mostres a determinar sense requerir la presència d'una bomba que ho faci, per tant, les dimensions del sistema es veuen reduïdes, facilitant la seva portabilitat.⁷³ També cal tenir en compte que el paper és un material biodegradable. Aquest fet facilita el reciclatge del sistema i rebaixa els costos que suposa el reciclatge d'un sensor comercial comú amb característiques similars. Per a conferir-li conductivitat al substrat, s'ha pintat amb una tinta de carboni. El carboni és un material de gran interès a l'hora de fabricar sensors electroquímics, ja que, és químicament inert i és un material molt econòmic.⁸¹ La seva hibridació sp^2 manté deslocalitzats els electrons en l'orbital π , el que fa de la tinta de carboni un bon conductor d'electricitat, sent

capaç de substituir a l'or com a material conductor. El carboni, a més d'això, manté una excel·lent estabilitat del potencial, degut a l'àrea de contacte entre el material conductor i la membrana selectiva de ions que li confereix una capacítancia de doble capa (doble capa de càrregues amb polaritat oposada, de manera que actua com a material dielèctric), que estabilitza el potencial.¹⁶

Sobre aquest substrat de paper, s'ha dipositat la membrana selectiva de ions. La taula 3 mostra els diferents components de la membrana selectiva de ions per a diferents sensors (ISE i blanc).

Taula 3: Composició de les matrius dels sensors ISE i blanc.

Compost	ISE	Blanc
PVC	✓	✓
o-NPOE	✓	✓
KBARF	✓	✓
<i>calix[4]pyrrole</i>	✓	✗

- **PVC:**

El PVC o policlorur de vinil (figura 18), és un material polimèric que s'usa en la fabricació dels sensors per tal de donar consistència i forma a la membrana selectiva de ions. És la base amb la qual s'hi solubilitzaran la resta de components de la membrana. Aquest material és inert, en solució es pot mesclar amb la resta de components i permet l'entrada i sortida de ions de la membrana,¹⁹ característiques per les quals ha sigut escollit per a la creació dels sensors proposats, a més a més del seu baix cost.

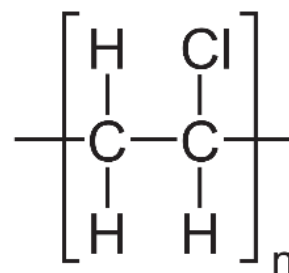


Figura 18: Unitat repetitiva del PVC.

- **o-NPOE:**

El o-NPOE o 2-nitrofenil octil èter (figura 19), és un compost químic que actua com a plastificant en la membrana selectiva de ions. És una substància lipofílica, de manera que no es dissol en la solució aquosa a determinar i per tant confereix consistència sòlida a la membrana. Té gran afinitat amb la resta de components de la membrana, de manera que és soluble en aquests.²⁰ Aquestes propietats

fan del o-NPOE un material ideal per actuar com a plastificant en els sensors presentats per a la determinació de creatinina en orina.

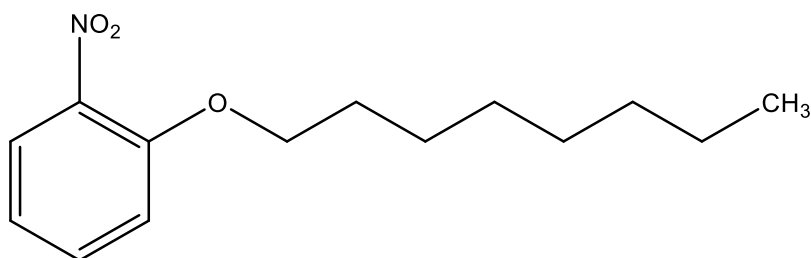


Figura 19: Molècula o-NPOE.

- **KBARF:**

El KBARF o Tetrakis[3,5-bis(trifluoromethyl)fenil]borat de potassi (figura 20), actua com a bescanviador iònic de en la membrana selectiva de ions. La seva funció és mantenir l'electroneutralitat del sistema, captant o alliberant ions a la solució, de manera que la membrana sempre tingui una diferència de càrrega igual a zero. En aquest cas s'ha escollit el KBARF, degut a que té càrrega contrària i de mateix nombre a l'anàlit a determinar i així poder interaccionar amb espècies de càrrega +1. A més d'això, la seva solubilitat el fa idoni en la resta de components de la membrana.

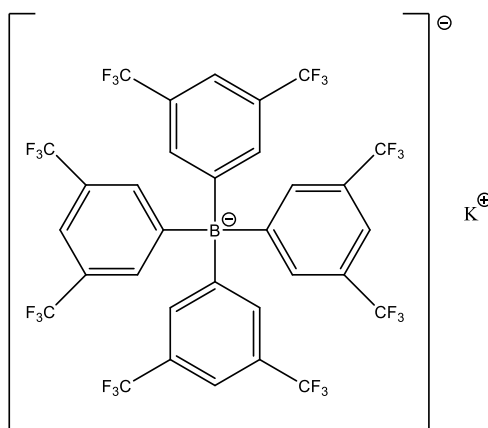


Figura 20: KBARF.

- **Calix[4]pyrrole:**

El ionòfor que s'ha incorporat en la membrana del ISE per a la determinació de creatinina en orina és del tipus *calix[4]pyrrole* (figura 21), el qual té una excel·lent selectivitat per la creatinina degut a les múltiples interaccions *host-guest*, que permeten la introducció de la creatinina iònica en l'interior de la cavitat del ionòfor.⁸²

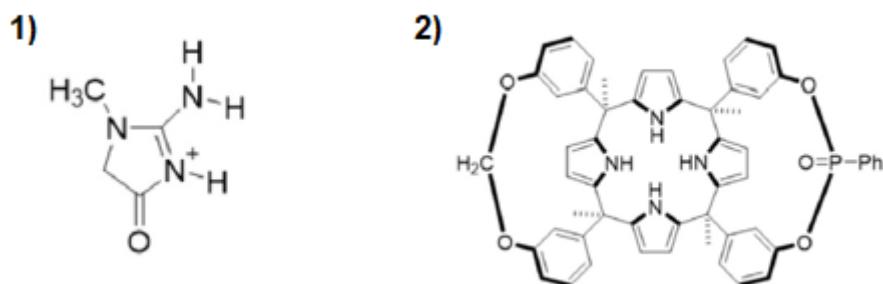


Figura 21: Estructura molecular de 1) Catió Creatinina, 2) *calix[4]pyrrole*.⁸²

En l'estructura cristal·lina per raig-X (figura 22), s'observa la formació d'interaccions de tipus *host-guest* entre els nitrògens dels pirròls de la molècula *calix[4]pyrrole* i l'àtom d'oxigen de la lactama del catió creatinina. També es produeixen interaccions de tipus π -dador π -acceptor entre els hidrògens del catió creatinina i els centres dels benzens que componen el *calix[4]pyrrole*. D'aquesta manera la deslocalització de la carga positiva del ió creatinina es veu afavorida. Aquestes interaccions supramoleculares provoquen que hi hagi una major constant d'afinitat entre el ionòfor i l'ió creatinina que amb altres substàncies catióniques presents en orina com poden ser K^+ o Na^+ , que només tenen interaccions ió-dipol amb el fosfonat del calze.⁸²

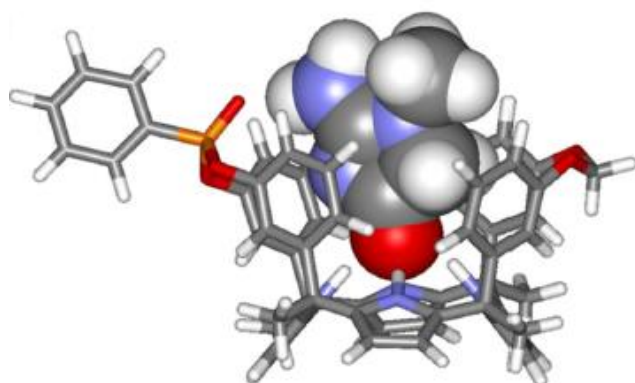


Figura 22: Estructura cristal·lina per raig-X del ionòfor *Calix[4]pyrrole* amb la creatina amb la seva forma catiónica en l'interior de la seva cavitat.⁸²

- **Construcció dels sensors:**

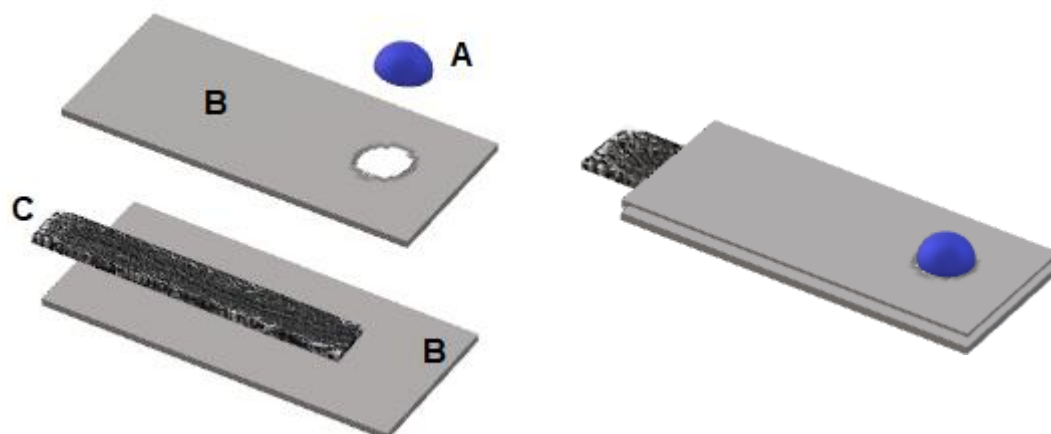


Figura 23: Muntatge d'un sensor sobre un substrat de paper. A) Membrana selectiva de ions; B) Màscara protectora hidrofòbica; C) Substrat de paper pintat amb tinta de carboni.

Es retallen tires de paper, cada tira serà el substrat de cada sensor que composi la matriu. Aquestes es pinten amb tinta de carboni per a conferir conductivitat al paper i s'uneix a la màscara protectora tal i com es mostra en la figura 23. La màscara protectora és en un paper recobert d'un plastificant impermeable que protegeix el substrat de la solució a determinar. Aquesta màscara té un petit orifici que deixa al descobert el substrat de paper, en el qual s'hi deposita la membrana selectiva de ions. Per a preparar la membrana, s'han dissolt tots els components presentats en la Taula 1, amb tetrahidrofurà (THF). S'ha utilitzat THF com a dissolvent degut a que és un dissolvent dipolar apròtic, poc viscos i capaç de solubilitzar tots els components.⁸²

9.2. Optimització dels anàlisis:

Dos aspectes a tenir en compte per tal de tenir una determinació òptima de la concentració de creatinina en mostres reals mitjançant la utilització del ISE presentat, són la dilució de la mostra i el pH. A partir de la dilució es redueix significativament l'acumulació d'espècies interferents sobre la superfície del sensor a l'hora de determinar mostres reals (*biofouling*). A més d'això, al diluir la mostra, s'obté una concentració de creatinina que es troba dintre de l'interval de linealitat dels sensors. Pel que fa el pH, s'ha demostrat que els paràmetres de

detecció es milloren, degut a que el pKa de la creatinina és 4.8. Per tant, per sota d'un pH de 4.8, l'espècie predominant en solució, serà la creatinina catiònica.⁸³ En la corba representada (figura 24) s'observa que el valor màxim de la resposta del potenciòmetre (EMF/mV) s'assoleix quan el pH de la solució és 3.8 i que tal com augmenta el pH, la resposta potenciomètrica disminueix de manera constant.⁸² Aquest fet demostra la importància de calibrar el pH a l'hora de determinar creatinina en mostres reals.

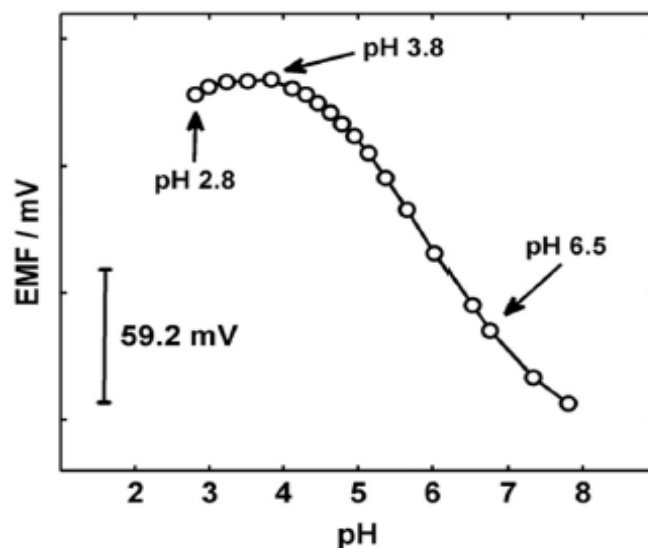


Figura 24: Variació de la resposta potenciomètrica (eix y), a mesura que el pH (eix x) varia.⁸²

9.3. Interferències:

El fet d'incorporar un ionòfor al elèctrode, comporta una notable millora en la selectivitat i afinitat d'aquest per la creatinina. Tot i així, aquest sistema electroquímic ha de ser capaç de mantenir aquest comportament selectiu i eficaç a l'hora de determinar creatinina en mostres reals, en particular, en fluids biològics com és el cas de l'orina. El *calix[4]pyrrole* utilitzat com a ionòfor en la fabricació de la membrana del ISE, té una forta afinitat per la forma catiònica de la creatinina. Per tant, s'ajusta el pH de les mostres per a que sigui inferior al pKa de la creatinina.⁸⁴ El problema de treballar a un pH inferior a 7.9, és que en mostres reals d'orina obtingudes de pacients fumadors, hi ha presència de nicotina en la seva forma catiònica, degut a que és el pKa1 de la nicotina. La nicotina en la seva forma catiònica també té una forta afinitat pel ionòfor, tal i com s'ha observat en estudis previs recents. Per tant, es produeixen interferències a

l'hora de determinar la concentració de creatinina en mostres reals de determinats pacients, ja que la resposta instrumental en l'anàlisi correspondrà a ambdues espècies (figura 25).

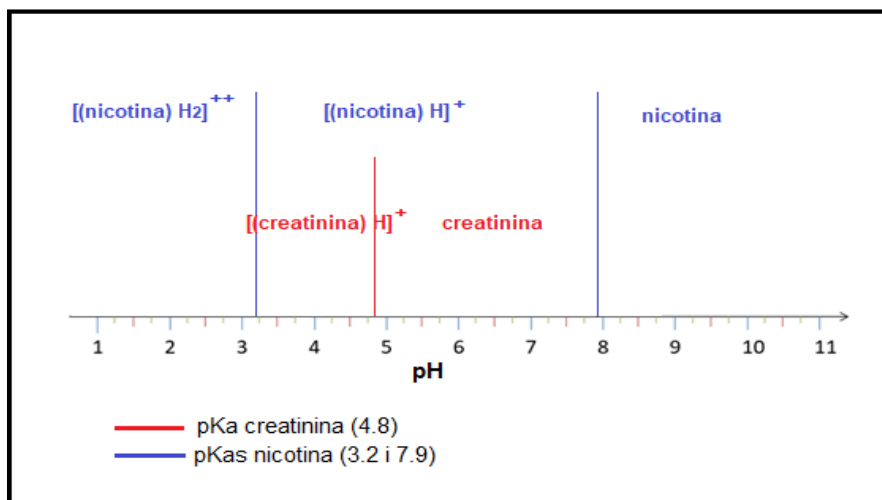


Figura 25: pKas de la creatinina (vermell) i la nicotina (blau).

Tinc dos incògnites en una sola equació, així que es treballa a un pH diferent (pH=7.4), on el senyal de potencial és majoritàriament corresponent a la nicotina, ja que a aquest pH, la concentració de ió creatinina serà pràcticament nul·la. D'aquesta manera podria tenir dos incògnites en dos equacions per fer un sistema d'equacions, però s'ha de tenir en compte que en solució, a major o menor concentració, tindrà també nicotina doblement carregada i altres espècies carregades que alteraran el valor de potencial. Per tant, s'ha de treballar amb una matriu de sensors i amb un model de calibratge multivariant per a la determinació de la concentració de cada espècie.

9.4. Matriu de sensors:

L'afinitat que presenta la nicotina pel ionòfor és similar a la que presenta la creatinina pel mateix.

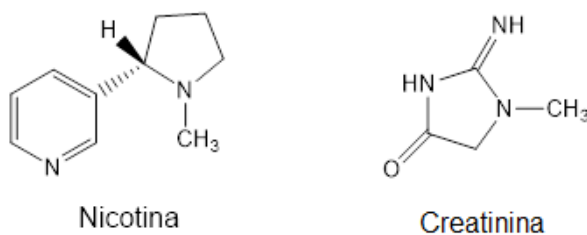


Figura 26: Estructura molecular de la Nicotina i la Creatinina.

Tant la creatinina com la nicotina presenten unes dimensions moleculars òptimes per introduir-se en l'interior del ionòfor i unir-se a aquests mitjançant múltiples interaccions supramoleculares. A més, cal tenir en compte que ambdues espècies es poden desprotonar, en el cas de la creatinina només una vegada i en el cas de la nicotina dos.

La matriu de sensors que es proposa està composta d'un elèctrode de tipus ISE i un elèctrode blanc. Cadascun amb una membrana selectiva de ions composta dels components presentats en la Taula 2. El blanc tendeix a captar totes les espècies positives de la mostra (cations monovalents preferentment), tot i que aquestes tenen preferència per estar en solució que en la membrana plàstica del blanc. D'aquesta manera es descarta qualsevol potencial generat per una espècie negativa, ja que el KBARF només tindrà afinitat per espècies catióniques. L'ISE, conté el ionòfor, el que comporta una millora en la selectivitat per la determinació de creatinina, tot i que també té forta afinitat per la nicotina. Encara i així altres espècies catióniques seran captades pel ionòfor, però amb menor afinitat.



Figura 27: Matriu de sensors composta d'un blanc i un ISE.

9.5. Anàlisi de mostres:

En la determinació de mostres reals, tal i com s'ha comentat anteriorment, s'ha d'ajustar el pH per tal de tenir la màxima concentració de creatinina catiónica. Per realitzar la mesura, els elèctrodes de la matriu presentada en l'apartat anterior el blanc i el ISE actuen com a elèctrodes de treball, mentre que com a elèctrode de referència es fa ús d'un elèctrode comercial de plata-clorur de plata (Ag/AgCl). La diferència de potencial que provoca la presència de creatinina o el

seu principal interferent, la nicotina, al interaccionar amb el ionòfor, és major a la que pot aportar qualsevol altra espècie atòmica catiònica. Això és degut a la força d'interacció que tenen unes i altres espècies amb el ionòfor. En el cas dels àtoms catiònics, l'única interacció que hi haurà serà del tipus ió-dipol entre ell mateix i els grups fosfonat del *calix[4]pyrrole*, de manera que la força d'enllaç és baixa i per tant la diferència de potencial que aporten aquestes espècies és menor. En canvi, les formes catiòniques de la creatinina o la nicotina, tenen una sèrie de interaccions supramoleculares amb el ionòfor que provoquen un augment en la constant d'enllaç entre aquestes espècies i per tant, la diferència de potencial d'aquestes dues és major (figura 28).⁸²

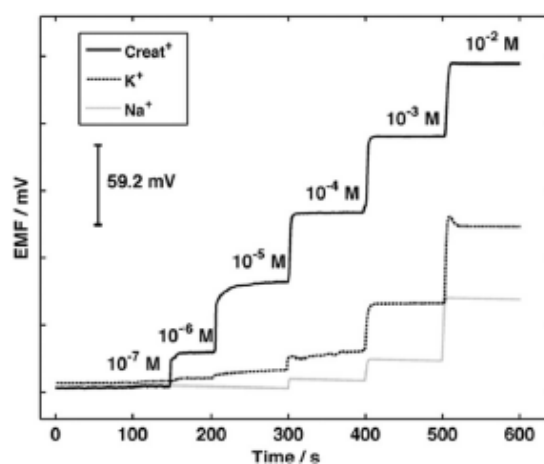


Figura 28: Diferència de potencial tal com varia la concentració de les espècies catiòniques creatinina, potassi i sodi. Eix x: Variació de temps (s); eix y: Variació de potencial (mV).⁸⁴

• Model multivariant:

L'objectiu principal del model PLS és correlacionar els valors de potencial obtinguts en les diferents mesures a diferents pH tant del blanc com del ionòfor (resposta instrumental), amb la concentració de creatinina. En la taula 4 es presenten aquestes relacions, on per a cada valor de la concentració de creatinina, s'observa el senyal de potencial tant del blanc com del ionòfor a diferents pH. Aquesta taula proporcionada pel meu grup de laboratori, s'ha creat a partir de la mesura dels potencials de les diferents mostres a diferents concentracions conegudes de creatinina i nicotina. D'aquesta manera podem conèixer a cada concentració i pH el senyal de potencial obtingut i crear un model multivariant.

Taula 4: Variació de potencial en el ISE i el blanc a pH 3.8 i 7.4, tal i com varia la concentració de creatinina i nicotina.

Número	Log([creatinine,M])	Log([nicotine,M])	EMF Blank pH 3.8	EMF In 1 pH 3.8	EMF Blanks pH 7.4 (mV)	EMF In 1 pH 7.4 (mV)
1	-3	-5	145	172	18	64
2	-3	-6	114	147	3	14
3	-3	-6,1	121	154	1	11
4	-2	-5	178	215	31	71
5	-2	-6	167	214	13	42
6	-2	-6,1	179	210	12	40
7	-2,3	-5	165	203	27	72
8	-2,3	-6	157	205	6	32
9	-2,3	-6	158	207	-2	23
10	-2	-5,2	181	223	32	64
11	-3	-5,2	126	162	15	40
12	-2	-4,7	182	227	50	86
13	-3	-4,7	149	185	45	78
14	-3	-5,7	119	164	2	15
15	-4	-5,7	76	141	2	6
16	-2	-5,4	174	220	39	67
17	-3	-5,4	127	178	8	26
18	-4	-5,4	71	136	4	28
19	-2,5	-4,7	168	190	52	87
20	-2,5	-5	153	192	24	68
21	-2,5	-5,4	146	177	11	33
22	-2,5	-5,7	151	196	12	33
23	-2,5	-6	145	182	10	30
24	-3,5	-6	96	144	2	7
25	-3,5	-5,4	118	156	43	61

EMF Blank, correspon al senyal de potencial obtingut del elèctrode blanc, tant a pH 3.8 com a pH 7.4, mentre que *EMF In 1*, correspon a la resposta de potencial obtinguda en l'ISE a pH 3.8 i pH 7.4. Tal i com s'aprecia en la taula, al treballar a pH=7,4 el senyal de potencial és menor, degut a la menor concentració d'espècies carregades que hi ha en respecte pH=3,8.

A partir de taules com aquesta, en les quals s'estableix una relació entre la resposta instrumental (potencial) i els paràmetres a determinar (concentració de creatinina), es pot crear un model multivariant PLS. Quan s'analitzin mostres reals, automàticament, tenint en compte el model multivariant PLS creat, s'obtindrà una concentració de creatinina mitjançant la mesura de la variació del valor de potencial en la mostra.

10. Conclusions:

- **Català:**

En aquest treball s'ha estudiat l'aplicabilitat de les matrius de sensors en la determinació d'anàlits en mostres químicament complexes. L'evolució d'aquests sistemes ha permès la classificació i/o quantificació d'un gran nombre d'espècies de manera eficaç i amb un temps d'anàlisi curt. A més d'això, mitjançant la utilització de materials de baix cost com a substrat per a la fabricació de matrius de sensors, es poden reduir els costos de fabricació d'aquests sistemes, de manera que poden tenir una major accessibilitat a nivell mundial. En el cas del substrat usat en la proposta de projecte, el paper, no només es tracta d'un material econòmic i ideal degut a la seva capacitat d'absorció, sinó que també és un material biodegradable, així que és fàcil de reciclar.

La determinació de creatinina en mostres d'orina mitjançant l'ús de matrius potenciomètriques presenta una bona visió de futur, vist que es tracta d'un mètode no invasiu, veloç i fàcil de manipular, que permetrà que el mateix pacient pugui realitzar un seguiment de la concentració de creatinina en orina a casa seva i que pugui predir l'aparició de CKD.

El fet d'incorporar un ISE com a elèctrode de treball, proporciona una bona selectivitat i bons límits de detecció per a la creatinina en mostres d'orina. Tot i així altres espècies, com la nicotina, interfereixen en la mesura del potencial. Al treballar amb una matriu de sensors i mitjançant un model de calibratge PLS, es poden correlacionar els senyals de potencial obtinguts de l'anàlisi de les mostres amb la concentració de creatinina en presència d'altres espècies interferents. En el meu cas, la matriu de sensors està constituïda per dos elèctrodes de treball i un elèctrode de referència, però l'ideal seria treballar amb el màxim nombre d'elèctrodes de treball possibles per tal d'obtenir la major informació possible per poder establir una millor correlació entre els potencials obtinguts i concentració de creatinina de la mostra.

- **English:**

In this project we studied the applicability of sensor arrays for the determination of analytes in chemistry complex samples. The evolution of these systems allowed the effective classification and quantification of a huge group of species into a short analysis time. Apart from that, using low-cost materials as substrates to fabricate sensor arrays, lead to a decrease of the fabrication costs, so that, there could be a major accessibility worldwide. The substrate used for this project, paper, is a cheap biodegradable solution, easy to recycle and with a high capacity of absorption.

The determination of creatinine in urine samples using potentiometric sensor arrays, has a good future vision, as it is a non-invasive method, fast and easy to manipulate, allowing the patient to perform himself a creatinine concentration tracing in urine at home to predict the emergence of CKD.

The incorporation of an ISE as working electrode, provides good selectivity and limits of detection for creatinine in urine samples. Nevertheless, there are other species, as the nicotine, that interfere in the measurement of the potential. Working with a sensor array and using a multivariant calibration model PLS, the obtained potential signals in the sample's measurements could be correlated with the creatinine's concentration in presence of other interfering species. In my case, the sensor array is constituted by two working electrodes and one reference electrode, but the ideal would be to work with a major number of working electrodes in order to get as much information as possible, so as to obtain a better correlation between the obtained potential signals and the creatinine's concentration in the samples.

11. Referències:

- (1) Calvo-Lobo, C.; Neyra-Bohorquez, P. P.; Seco-Calvo, J. Aerobic exercise effects in renal function and quality of life of patients with advanced chronic kidney disease. *Rev. Assoc. Med. Bras.* vol. 65 núm. 5 pàgs. 657-662, **2019**.
 - (2) Jaffe, M. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem Harn erzeugt und über eine neue Reaction des Kreatinins. *Z. Physiol. Chem.* **1886**.
 - (3) Cánovas, R.; Cuartero, M.; Crespo, G. A. Modern creatinine (Bio)sensing: Challenges of point-of-care platforms. *Biosensors and Bioelectronics.* vol. 130 pàgs. 110-124, **2019**.
 - (4) Tsikas, D.; Wolf, A.; Mitschke, A.; Gutzki, F. M.; Will, W.; Bader, M. GC-MS determination of creatinine in human biological fluids as pentafluorobenzyl derivative in clinical studies and biomonitoring: Inter-laboratory comparison in urine with Jaffé, HPLC and enzymatic assays. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* vol. 878 núm. 27 pàgs. 2582-92, **2010**.
 - (5) Barr, D. B.; Wilder, L. C.; Caudill, S. P.; Gonzalez, A. J.; Needham, L. L.; Pirkle, J. L. Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: Implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ. Health Perspect.* vol. 113 núm. 2 pàgs. 192-200, **2005**.
 - (6) Bagalad, B. S.; Mohankumar, K. P.; Madhushankari, G. S.; Donoghue, M.; Kuberappa, P. H. Diagnostic accuracy of salivary creatinine, urea, and potassium levels to assess dialysis need in renal failure patients. *Dent. Res. J. (Isfahan).* vol. 14 núm. 1 pàgs. 13-18, **2017**.
 - (7) Cockcroft, D. W.; Gault, M. H. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* vol. 16 núm. 1 pàgs. 31-41, **1976**.
 - (8) Levey, A. S.; Bosch, J. P.; Lewis, J. B.; Greene, T.; Rogers, N.; Roth, D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. *Ann. Intern. Med.* vol. 130 núm. 6 pàgs. 461-470, **1999**.
 - (9) OWEN, J. A.; IGGO, B.; SCANDRETT, F. J.; STEWART, C. P. The determination of creatinine in plasma or serum, and in urine; a critical examination. *Biochem. J.* vol. 58 núm. 3 pàgs. 426-437, **1954**.
 - (10) Mohabbati-Kalejahi, E.; Azimirad, V.; Bahrani, M.; Ganbari, A. A review on creatinine measurement techniques. *Talanta.* vol. 97 pàgs. 1-8, **2012**.
 - (11) Yamato, H.; Ohwa, M.; Wemet, W. A Polypyrrole/Three-Enzyme Electrode for Creatinine Detection. *Anal. Chem.* vol. 67 núm. 17 pàgs. 2776-80, **1995**.
 - (12) Li, M.; Du, Y.; Zhao, F.; Zeng, J.; Mohan, C.; Shih, W.-C. Reagent- and separation-free measurements of urine creatinine concentration using stamping surface enhanced Raman scattering (S-SERS). *Biomed. Opt. Express.* vol. 6 núm. 3 pàgs. 761-769, **2015**.
 - (13) Zhu, W.; Wen, B. Y.; Jie, L. J.; Tian, X. D.; Yang, Z. L.; Radjenovic, P. M.; Luo, S. Y.; Tian, Z. Q.; Li, J. F. Rapid and low-cost quantitative detection of creatinine in human urine with a portable Raman spectrometer. *Biosens. Bioelectron.* vol. 154 pàgs. 1-8, **2020**.
 - (14) Cuartero, M.; del Río, J. S.; Blondeau, P.; Ortuño, J. A.; Rius, F. X.; Andrade, F. J. Rubber-based substrates modified with carbon nanotubes inks to build flexible electrochemical sensors. *Anal. Chim. Acta* vol. 827 pàgs. 95-102, **2014**.
 - (15) *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*; 2009.
 - (16) Bobacka, J.; Ivaska, A.; Lewenstam, A. Potentiometric ion sensors. *Chemical Reviews.* vol. 108 núm. 2 pàgs. 329-351, **2008**.
 - (17) Borchardt, M.; Dumschat, C.; Cammann, Karl; Knoll, M. Disposable ion-selective electrodes. *Sensors Actuators B. Chem.* vol. 25 pàgs. 721-723, **1995**.
 - (18) Ettre, L. S. Nomenclature for chromatography (iupac recommendations 1993). *Pure Appl. Chem.* vol. 65 núm. 4 pàgs. 819-872, **1993**.
 - (19) M., M. Plasticizers and Their Role in Membrane Selective Electrodes. En *Recent Advances in Plasticizers* pàgs. 113-124, **2012**.
 - (20) Mihali, C.; Vaum, N. Use of Plasticizers for Electrochemical Sensors. En *Recent Advances in Plasticizers*; pàgs. 125-140, **2012**.
 - (21) Eugster, R.; Rosatzin, T.; Rusterholz, B.; Aebersold, B.; Pedrazza, U.; Rüegg, D.; Schmid, A.; Spichiger, U. E.; Simon, W. Plasticizers for liquid polymeric membranes of ion-selective chemical sensors. *Anal. Chim. Acta* vol. 289 núm. 1 pàgs. 1-13, **1994**.
 - (22) Bedlechowicz, I.; Maj-Zurawska, M.; Sokalski, T.; Hulanicki, A. Effect of a plasticizer on the detection limit of calcium-selective electrodes. *J. Electroanal. Chem.* vol. 537 núm. 1-2 pàgs. 111-118, **2002**.
 - (23) Bakker, E.; Bühlmann, P.; Pretsch, E. The phase-boundary potential model. *Talanta.* vol. 63 pàgs. 3-20, **2004**.
-

-
- (24) Kirsanov, D.; Mednova, O.; Vietoris, V.; Kilmartin, P. A.; Legin, A. Towards reliable estimation of an «electronic tongue» predictive ability from PLS regression models in wine analysis. *Talanta* vol. 90 pàgs. 109-116, **2012**.
- (25) Parastar, H.; Kirsanov, D. Analytical Figures of Merit for Multisensor Arrays. *ACS Sensors* vol.5 núm. 2 pàgs. 580-587, **2020**.
- (26) Arcos, M. J.; Alonso, C.; Ortiz, M. C. Genetic-algorithm-based potential selection in multivariant voltammetric determination of indomethacin and acemethacin by partial least squares. *Electrochim. Acta* vol. 43 núm. 5-6 pàgs. 479-485, **1997**.
- (27) Johnson, K. J.; Rose-Pehrsson, S. L. Sensor Array Design for Complex Sensing Tasks. *Annu. Rev. Anal. Chem.* vol. 8 pàgs. 287-310, **2015**.
- (28) Kimmel, D. W.; Leblanc, G.; Meschievitz, M. E.; Cliffel, D. E. Electrochemical sensors and biosensors. *Analytical Chemistry*. vol. 84 núm. 2 pàgs. 685-707, **2012**.
- (29) Di Natale, C.; D'Amico, A. Introduction to the Multicomponent Analysis with Arrays of Non-selective Chemical Sensors. En *Optical Sensors and Microsystems* pàgs. 183-192, **2002**.
- (30) Tudor Kalit, M. Application of electronic nose and electronic tongue in the dairy industry. *Mljekarstvo* vol.64 núm. 4 pàgs. 228-244, **2014**.
- (31) Persaud, K.; Dodd, G. Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose. *Nature* vol. 299 pàgs. 352-355, **1982**.
- (32) Otto, M.; Thomas, J. D. R. Model Studies on Multiple Channel Analysis of Free Magnesium, Calcium, Sodium, and Potassium at Physiological Concentration Levels with Ion-Selective Electrodes. *Anal. Chem.* vol. 88 núm. 5 pàgs. 2937-43, **1985**.
- (33) Ciosek, P.; Wróblewski, W. Sensor arrays for liquid sensing - Electronic tongue systems. *Analyst*. vol. 132 núm. 2 pàgs. 962-978, **2007**.
- (34) Abraham, G.; Varughese, S.; Thandavan, T.; Iyengar, A.; Fernando, E.; Naqvi, S. A. J.; Sherif, R.; Ur-Rashid, H.; Gopalakrishnan, N.; Kaffle, R. K. Chronic kidney disease hotspots in developing countries in South Asia. *Clin. Kidney J.* vol. 315 núm. 4 pàgs. 757-758, **2016**.
- (35) Xie, Y.; Bowe, B.; Mokdad, A. H.; Xian, H.; Yan, Y.; Li, T.; Maddukuri, G.; Tsai, C. Y.; Floyd, T.; Al-Aly, Z. Analysis of the Global Burden of Disease study highlights the global, regional, and national trends of chronic kidney disease epidemiology from 1990 to 2016. *Kidney Int.* vol. 94 núm. 4 pàgs. 567-581, **2018**.
- (36) Kirsanov, D.; Correa, D. S.; Gaal, G.; Riul, A.; Braunger, M. L.; Shimizu, F. M.; Oliveira, O. N.; Liang, T.; Wan, H.; Wang, P.; et al. Electronic tongues for inedible media. *Sensors (Switzerland)*. vol. 19 núm. 23 pàgs. 2-20, **2019**.
- (37) Di Natale, C.; Davide, F.; Brunink, J. A. J.; D'Amico, A.; Vlasov, Y. G.; Legin, A. V.; Rudnitskaya, A. M. Multicomponent analysis of heavy metal cations and inorganic anions in liquids by a non-selective chalcogenide glass sensor array. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 34 núm. 3 pàgs. 539-542, **1996**.
- (38) Di Natale, C.; Macagnano, A.; Davide, F.; D'Amico, A.; Legin, A.; Vlasov, Y.; Rudnitskaya, A.; Selezenev, B. Multicomponent analysis on polluted waters by means of an electronic tongue. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 44 núm. 1-3 pàgs. 423-428, **1997**.
- (39) Wang, L.; Cheng, Y.; Lamb, D.; Chen, Z.; Lesniewski, P. J.; Megharaj, M.; Naidu, R. Simultaneously determining multi-metal ions using an ion selective electrode array system. *Environ. Technol. Innov.* vol. 6 pàgs. 165-176, **2016**.
- (40) McDonagh, C.; Burke, C. S.; MacCraith, B. D. Optical chemical sensors. *Chemical Reviews*. vol. 108 núm. 2 pàgs. 400-422, **2008**.
- (41) Guanais Goncalves, C.; Dini, F.; Martinelli, E.; Catini, A.; Lundström, I.; Paolesse, R.; Di Natale, C. Detection of diverse potential threats in water with an array of optical sensors. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 19 núm. 23 pàgs. 2-20, **2016**.
- (42) Johnson, B. T. Microtox® acute toxicity test. En *Small-Scale Freshwater Toxicity Investigations: Volume 1 - Toxicity Test Methods*; vol. 1 pàgs. 69-105, **2005**.
- (43) Ledda, C.; Rapisarda, V.; Bracci, M.; Proietti, L.; Zuccarello, M.; Fallico, R.; Fiore, M.; Ferrante, M. Professional exposure to basaltic rock dust: Assessment by the *Vibrio fischeri* ecotoxicological test. *J. Occup. Med. Toxicol.* vol. 8 núm. 23 pàgs. 1-5, **2013**.
- (44) Zadorozhnaya, O.; Kirsanov, D.; Buzhinsky, I.; Tsarev, F.; Abramova, N.; Bratov, A.; Muñoz, F. J.; Ribó, J.; Bori, J.; Riva, M. C.; et al. Water pollution monitoring by an artificial sensory system performing in terms of *Vibrio fischeri* bacteria. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 207 pàgs. 1069-75, **2015**.
- (45) Legin, E.; Zadorozhnaya, O.; Khaydukova, M.; Kirsanov, D.; Rybak, V.; Zagrebina, A.; Ignatyeva, N.; Ashina, J.; Sarkar, S.; Mukherjee, S.; et al. Rapid evaluation of integral quality and safety of surface and waste waters by a multisensor system (electronic tongue). *Sensors (Switzerland)* vol. 19 núm. 9 pàgs. 1-15, **2019**.
- (46) Méndez-Arriaga, F.; Torres-Palma, R. A.; Pétrier, C.; Esplugas, S.; Gimenez, J.; Pulgarin, C. Ultrasonic treatment
-

-
- of water contaminated with ibuprofen. *Water Res.* vol. 42 núm. 16 pàgs. 4243-48, **2008**.
- (47) Cruz, M. G. N.; Ferreira, N. S.; Gomes, M. T. S. R.; Botelho, M. J.; Costa, S. T.; Vale, C.; Rudnitskaya, A. Determination of paralytic shellfish toxins using potentiometric electronic tongue. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 263 pàgs. 550-556, **2018**.
- (48) Dias, L. G.; Alberto, Z.; Veloso, A. C. A.; Peres, A. M. Electronic tongue: a versatile tool for mineral and fruit-flavored waters recognition. *J. Food Meas. Charact.* vol. 10 núm. 2 pàgs. 264-273, **2016**.
- (49) Rodríguez Méndez, M. L. *Electronic Noses and Tongues in Food Science*; vol. 4 núm. 81 pàgs. 1-12, **2016**.
- (50) Sorvin, M.; Belyakova, S.; Stoikov, I.; Shamagsumova, R.; Evtugyn, G. Solid-contact potentiometric sensors and multisensors based on polyaniline and thiacalixarene receptors for the analysis of some beverages and alcoholic drinks. *Frontiers in Chemistry.* vol. 134 núm. 6 pàgs. 1-16, **2018**.
- (51) Stoikov, I. I.; Yushkova, E. A. P-tert-butyl thiacalix[4]arenes functionalized with amide and hydrazide groups at the lower rim in cone, partial cone, and 1,3-alternate conformations are «smart» building blocks for constructing nanosized structures with metal cations of s-, p-, and d-el. *Langmuir* vol. 25 núm. 9 pàgs. 4919-28, **2009**.
- (52) Evtugyn, G. A.; Belyakova, S. V.; Shamagsumova, R. V.; Saveliev, A. A.; Ivanov, A. N.; Stoikova, E. E.; Dolgova, N. N.; Stoikov, I. I.; Antipin, I. S.; Budnikov, H. C. Discrimination of apple juice and herbal liqueur brands with solid-state electrodes covered with polyaniline and thiacalixarenes. *Talanta* vol. 82 núm. 2 pàgs. 613-619, **2010**.
- (53) Giménez-Gómez, P.; Pujol, R. E.; Capdevila, F.; Pujol, A. P.; Jiménez-Jorquera, C.; Capitán, M. G. Portable electronic tongue based on microsensors for the analysis of cava wines. *Sensors (Switzerland)* vol. 16 núm. 11 pàgs. 1-12, **2016**.
- (54) Cetó, X.; Gutiérrez, J. M.; Moreno-Barón, L.; Alegret, S.; Del Valle, M. Voltammetric electronic tongue in the analysis of cava wines. *Electroanalysis* vol. 23 núm. 1 pàgs. 72-78, **2011**.
- (55) Cetó, X.; Capdevila, J.; Puig-Pujol, A.; del Valle, M. Cava Wine Authentication Employing a Voltammetric Electronic Tongue. *Electroanalysis* vol. 26 núm. 7 pàgs. 1504-12, **2014**.
- (56) Cetó, X.; Voelcker, N. H.; Prieto-Simón, B. Bioelectronic tongues: New trends and applications in water and food analysis. *Biosensors and Bioelectronics.* vol. 15 núm. 79 pàgs. 608-626, **2016**.
- (57) Son, M.; Kim, D.; Ko, H. J.; Hong, S.; Park, T. H. A portable and multiplexed bioelectronic sensor using human olfactory and taste receptors. *Biosens. Bioelectron.* vol. 87 núm. 15 pàgs. 901-907, **2017**.
- (58) Łabańska, M.; Ciosek-Skibińska, P.; Wróblewski, W. Critical evaluation of laboratory potentiometric electronic tongues for pharmaceutical analysis—an overview. *Sensors (Switzerland)* vol. 19 núm. 24 pàgs. 1-16, **2019**.
- (59) Kutyla-Olesiuk, A.; Ciosek, P.; Romanowska, E.; Wróblewski, W. Effect of lead accumulation in maize leaves on their chemical images created by a flow-through electronic tongue. *Talanta* vol. 103 pàgs. 179-185, **2013**.
- (60) Kutyla-Olesiuk, A.; Nowacka, M.; Wesoly, M.; Ciosek, P. Evaluation of organoleptic and texture properties of dried apples by hybrid electronic tongue. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 187 núm. 37 pàgs. 234-240, **2013**.
- (61) Ciosek, P.; Wesoly, M.; Zabada, M.; Lisiecka, J.; Sołohub, K.; Cal, K.; Wróblewski, W. Towards flow-through/flow injection electronic tongue for the analysis of pharmaceuticals. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 207 pàgs. 1087-94, **2015**.
- (62) Wesoly, M.; Cetó, X.; delValle, M.; Ciosek, P.; Wróblewski, W. Quantitative Analysis of Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) Using a Potentiometric Electronic Tongue in a SIA Flow System. *Electroanalysis* vol. 28 núm. 3 pàgs. 626-632, **2016**.
- (63) Podrazka, M.; Bączyńska, E.; Kundys, M.; Jeleń, P. S.; Nery, E. W. Electronic tongue-A tool for all tastes? *Biosensors.* vol. 8 núm. 1 pàgs. 1-24, **2017**.
- (64) Yaroshenko, I.; Kirsanov, D.; Kartsova, L.; Sidorova, A.; Borisova, I.; Legin, A. Determination of urine ionic composition with potentiometric multisensor system. *Talanta* vol. 131 pàgs. 556-561, **2015**.
- (65) Bandodkar, A. J.; Hung, V. W. S.; Jia, W.; Valdés-Ramírez, G.; Windmiller, J. R.; Martinez, A. G.; Ramírez, J.; Chan, G.; Kerman, K.; Wang, J. Tattoo-based potentiometric ion-selective sensors for epidermal pH monitoring. *Analyst* vol. 138 núm. 1 pàgs. 123-128, **2013**.
- (66) Nery, E. W.; Kundys, M.; Jeleń, P. S.; Jönsson-Niedziółka, M. Electrochemical glucose sensing: Is there still room for improvement? *Anal. Chem.* vol. 88 núm. 23 pàgs. 11271-82, **2016**.
- (67) Gao, J.; Huang, W.; Chen, Z.; Yi, C.; Jiang, L. Simultaneous detection of glucose, uric acid and cholesterol using flexible microneedle electrode array-based biosensor and multi-channel portable electrochemical analyzer. *Sensors Actuators, B Chem.* vol. 287 pàgs. 102-110, **2019**.
- (68) Bandodkar, A. J.; Jeerapan, I.; You, J. M.; Nuñez-Flores, R.; Wang, J. Highly Stretchable Fully-Printed CNT-Based Electrochemical Sensors and Biofuel Cells: Combining Intrinsic and Design-Induced Stretchability. *Nano Lett.* vol. 16 núm. 1 pàgs. 721-727, **2016**.
- (69) Parrilla, M.; Cánovas, R.; Jeerapan, I.; Andrade, F. J.; Wang, J. A Textile-Based Stretchable Multi-Ion Potentiometric Sensor. *Adv. Healthc. Mater.* vol. 5 núm. 9 pàgs. 996-1001, **2016**.
-

-
- (70) Sweilam, M. N.; Cordery, S. F.; Totti, S.; Velliou, E. G.; Campagnolo, P.; Varcoe, J. R.; Delgado-Charro, M. B.; Crean, C. Textile-based non-invasive lithium drug monitoring: A proof-of-concept study for wearable sensing. *Biosens. Bioelectron.* vol. 12 núm. 30 pàgs. 34337-61, **2020**.
- (71) Sweilam, M. N.; Varcoe, J. R.; Crean, C. Fabrication and Optimization of Fiber-Based Lithium Sensor: A Step toward Wearable Sensors for Lithium Drug Monitoring in Interstitial Fluid. *ACS Sensors* vol. 3 núm. 9 pàgs. 1802-1810, **2018**.
- (72) Gao, B.; Li, X.; Yang, Y.; Chu, J.; He, B. Emerging paper microfluidic devices. *Analyst.* vol. 144 pàgs. 1282-1291, **2019**.
- (73) Novell, M.; Guinovart, T.; Blondeau, P.; Rius, F. X.; Andrade, F. J. A paper-based potentiometric cell for decentralized monitoring of Li levels in whole blood. *Lab Chip* vol. 14 pàgs. 1308-1314, **2014**.
- (74) Yoon, J. H.; Kim, K. H.; Bae, N. H.; Sim, G. S.; Oh, Y. J.; Lee, S. J.; Lee, T. J.; Lee, K. G.; Choi, B. G. Fabrication of newspaper-based potentiometric platforms for flexible and disposable ion sensors. *J. Colloid Interface Sci.* vol. 508 pàgs. 167-173, **2017**.
- (75) Barlag, R.; Nyasulu, F.; Starr, R.; Silverman, J.; Arthasery, P.; McMills, L. A student-made silver-silver chloride reference electrode for the general chemistry laboratory: ~10 min preparation. *J. Chem. Educ.* vol. 96 núm. 8 pàgs. 1773-77, **2014**.
- (76) Nery, E. W.; Kubota, L. T. Integrated, paper-based potentiometric electronic tongue for the analysis of beer and wine. *Anal. Chim. Acta* vol. 918 pàgs. 60-68, **2016**.
- (77) Daikuzono, C. M.; Delaney, C.; Morrin, A.; Diamond, D.; Florea, L.; Oliveira, O. N. Paper based electronic tongue-a low-cost solution for the distinction of sugar type and apple juice brand. *Analyst* vol. 144 pàgs. 2827-32, **2019**.
- (78) Bandodkar, A. J.; Nuñez-Flores, R.; Jia, W.; Wang, J. All-printed stretchable electrochemical devices. *Adv. Mater.* vol. 27 núm. 19 pàgs. 3060-65, **2015**.
- (79) Parrilla, M.; Ferré, J.; Guinovart, T.; Andrade, F. J. Wearable Potentiometric Sensors Based on Commercial Carbon Fibres for Monitoring Sodium in Sweat. *Electroanalysis* vol. 28 pàgs. 1267-75, **2016**.
- (80) Sekar, M.; Pandiaraj, M.; Bhansali, S.; Ponpandian, N.; Viswanathan, C. Carbon fiber based electrochemical sensor for sweat cortisol measurement. *Sci. Rep.* vol. 9 núm. 1 pàgs. 1-14, **2019**.
- (81) Phillips, C.; Al-Ahmadi, A.; Potts, S. J.; Claypole, T.; Deganello, D. The effect of graphite and carbon black ratios on conductive ink performance. *J. Mater. Sci.* vol. 52 núm. 16 pàgs. 9520-30, **2017**.
- (82) Guinovart, T.; Hernández-Alonso, D.; Adriaenssens, L.; Blondeau, P.; Rius, F. X.; Ballester, P.; Andrade, F. J. Characterization of a new ionophore-based ion-selective electrode for the potentiometric determination of creatinine in urine. *Biosens. Bioelectron.* vol. 87 pàgs. 587-592, **2017**.
- (83) Gao, J.; Hu, Y.; Li, S.; Zhang, Y.; Chen, X. Tautomeric equilibrium of creatinine and creatinium cation in aqueous solutions explored by Raman spectroscopy and density functional theory calculations. *Chem. Phys.* vol. 410 pàgs. 81-89, **2013**.
- (84) Guinovart, T.; Hernández-Alonso, D.; Adriaenssens, L.; Blondeau, P.; Martínez-Belmonte, M.; Rius, F. X.; Andrade, F. J.; Ballester, P. Recognition and Sensing of Creatinine. *Angew. Chemie - Int. Ed.* vol. 55 núm. 7 pàgs. 2435-40, **2016**.
-