



# **Biosensor Amperomètric**

## **Potenciostato**

**Jordi Colomer Farrarons**  
**Pere Miribel Català**

*Self-Powered Smart BioInspired Systems*  
*(SSPBS-UB)*

## 1. INTRODUCCIÓN

Un biosensor es un dispositivo capaz de convertir en señales eléctricas u ópticas las variaciones producidas en un material biológico, permitiendo la detección de infinidad de sustancias como proteínas, encimas, etc...

Esta formado generalmente por dos partes, el Bioreceptor, o elemento biológico de detección, encargado de reconocer el elemento a estudiar (encimas, anticuerpos, etc...) y el transductor encargado de detectar la reacción biológica y generar una señal eléctrica que permita ser analizada. En función del tipo de transductor la respuesta del biosensor puede ser potenciométrica, amperométrica, conductométrica, etc...

Para la realización de esta práctica nos centraremos en los sensores amperométricos. Estos sensores generan una corriente al aplicar un potencial ente dos electodos, que es proporcional a las variaciones producidas en el bioreceptor. Generalmente podemos encontrar sensores con 2 o 3 electodos, Fig 1., aunque los más usuales son los sensores de 3 electodos ya que permiten controlar de forma muy precisa la tensión aplicada entre los electodos de medida. En esta práctica se trabajará con sensores de 3 electodos, que son los siguientes:.

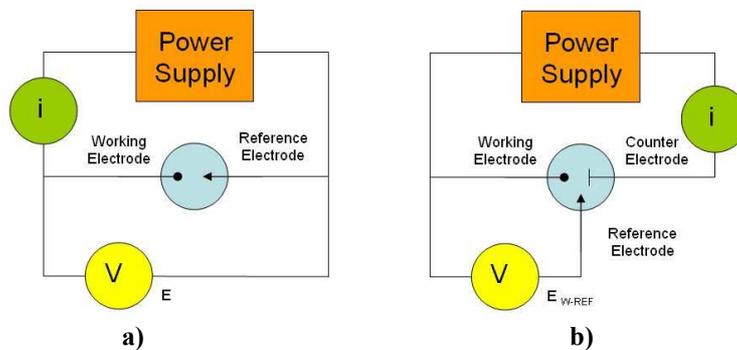


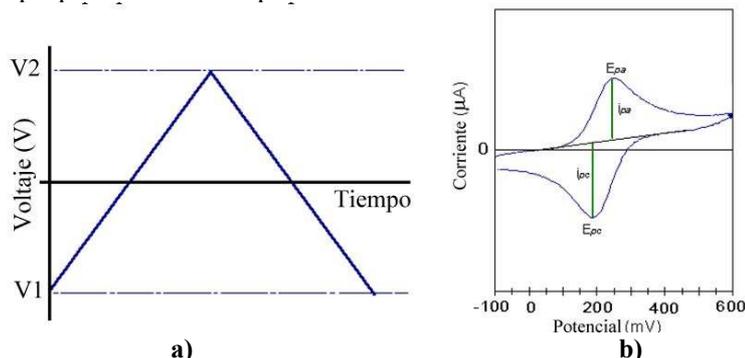
Figura 1: Representación de un sensor de 2 electodos (a) y 3 electodos (b).

1. *Counter Electrode (C/A)*: Es el encargado de inyectar la corriente que circulará a través del biosensor. La variación de esta corriente nos proporcionará información sobre la interacción electroquímica. También conocido como *Counter Electrode* o Electrodo Auxiliar.
2. *Reference Electrode (R)*: Este electrodo permite establecer y controlar una tensión conocida para realizar el estudio. También conocido como Electrodo de Referencia
3. *Working Electrode (W)* o Electrodo de trabajo: En este electrodo es donde sucede la reacción electroquímica a estudiar. Las variaciones producidas provocan una variación en la corriente inyectada.

A grandes rasgos el funcionamiento de estos sensores es el siguiente: Al aplicar una tensión entre los electodos *Counter* i *Working* (Power suplí, Fig 1b) se establece una corriente (i) a través de estos. Al mismo tiempo aparece una tensión entre *Reference* y *Working* (V), que produce el inicio de la reacción electroquímica en el electrodo *Working*.

Con los biosensores se pueden realizar varios tipos de análisis como voltametrías, espectroscopias de impedancia (EIS), medidas en tiempo, etc... En esta práctica se va a realizar un análisis voltamétrico cíclico (Voltametría Cíclica). Este análisis consiste en aplicar una variación de potencial en función del tiempo entre los electodos de *Working* y *Reference* mientras se mide la corriente generada en el *Working*. El potencial aplicado tiene una forma triangular (Fig.2a) y viene definido por dos tensiones,  $V_{min}$  (V1) y  $V_{max}$  (V2), que son la

tensión de menor y mayor valor respectivamente. Generalmente la voltametría cíclica se usa para el estudio de las propiedades electroquímicas de un analito en una solución.



**Figura 2:** Tensión aplicada entre los electrodos *Reference* y *Working* durante una voltametría cíclica (a) y respuesta típica (b)

La respuesta típica del sensor a un análisis de este tipo se muestra en la figura 2b. En ella se representa la corriente que circula por el electrodo *Working* en función de la tensión aplicada entre los electrodos *Reference* y *Working*. Cuando la superficie del electrodo *Working* alcanza un potencial suficientemente positivo o negativo la sustancia analizada puede recibir electrones transferidos desde el *Working* o puede donar electrones hacia el *Working*. Esta transferencia bidireccional de electrones se convierte en una corriente que fluye a través del electrodo de trabajo y puede ser detectada. Este fenómeno se conoce como proceso de Oxidación – Reducción o *Redox*.

Se debe tener en cuenta que el valor de la corriente medida varía en función de la estructura física del sensor, el área de los electrodos, sobre todo del electrodo de trabajo, de la sustancia a analizar y de otros factores. Esta misma respuesta también puede verse modificada en función de las tensiones utilizadas para el barrido, así como de la velocidad de barrido, es decir el tiempo total invertido en realizar el análisis (*scan rate*).

Normalmente para controlar la tensión que se aplica entre los electrodos de Referencia y Trabajo se utilizan unos circuitos electrónicos llamados Potenciostators. Normalmente estas estructuras están formadas por amplificadores operacionales (AO) de buenas prestaciones como bajo nivel de offset, resistencia de entrada elevada, etc... y componentes pasivos como resistencias y condensadores. Además, en la gran mayoría de ellos, se añade algún tipo de control digital (microprocesador, ordenador) con una intuitiva interfase de usuario para definir los parámetros del análisis y visualizar los resultados obtenidos.

En esta práctica se utilizará una estructura clásica de potenciostator formada por 5 AO con una etapa de control (3 AO) y una etapa de lectura de corriente (2 AO) basada en un amplificador de transimpedancia o conversión corriente tensión (I to V). Para la generación de la rampa DC y la lectura de datos se usará una tarjeta de adquisición de datos de National Instruments.

Durante la realización de la práctica el alumno observará el proceso de oxidación - reducción de 5mM  $K_3[F_e(CN)]_6$  (ferrocianuro) mediante la técnica de voltametría cíclica, al mismo tiempo que se familiarizará con el circuito electrónico que permite realizarla.

### 2. OBJETIVOS

1. Identificar la arquitectura de potenciostato que se usará en la práctica.
2. Identificar cada uno de los componentes que la forman.
3. Hallar la función de transferencia de cada una de sus partes, control y conversión I to V.
4. Identificar cada uno de los electrodos del sensor a utilizar.
5. Describir su función y funcionamiento.
6. Realizar varias voltamétrías cíclicas sobre diferentes sustancias.
7. Discutir los resultados de las interacciones químicas obtenidas.
8. Presentar la memoria final con las imágenes de los análisis realizados.

3.- MATERIAL

Para la realización de la práctica se utilizará el siguiente material del laboratorio;

1. Placa Circuito Impreso PCB

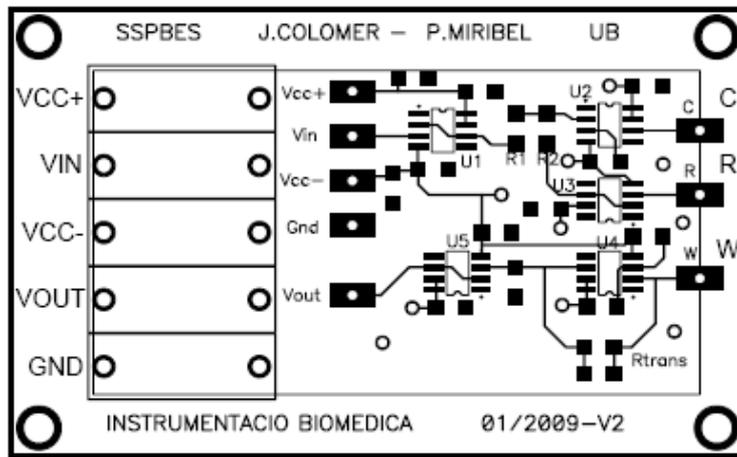


Figura 3: PCB con el diseño del potenciostator

2. Fuente de alimentación bipolar (+/- 6 Volts)

El laboratorio dispone de dos fuentes de alimentación DC de dos canales de 0 – 30V, estas son la PROMAX FAC-662B y la KAISE DC Power Supply HY3305D-3.



a)



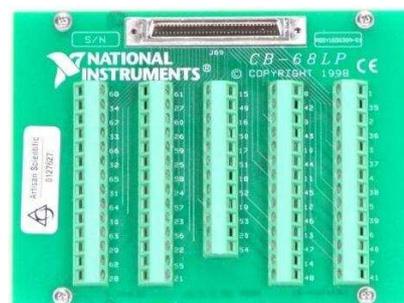
b)

Figura 4: a) Promax FAC-662B y b) KAISE HY3305D-3

3. Tarjeta de Adquisición de Datos National Instruments PCI-6014 + adaptador CD-68LP



a)



b)

Figura 5: a) NI PCI 6014 + adaptador CD-68LP y b) detalle del conector CD-68LP

4. Sensor AC1.W1.R1 de BVT Technologies (Fig. 5)

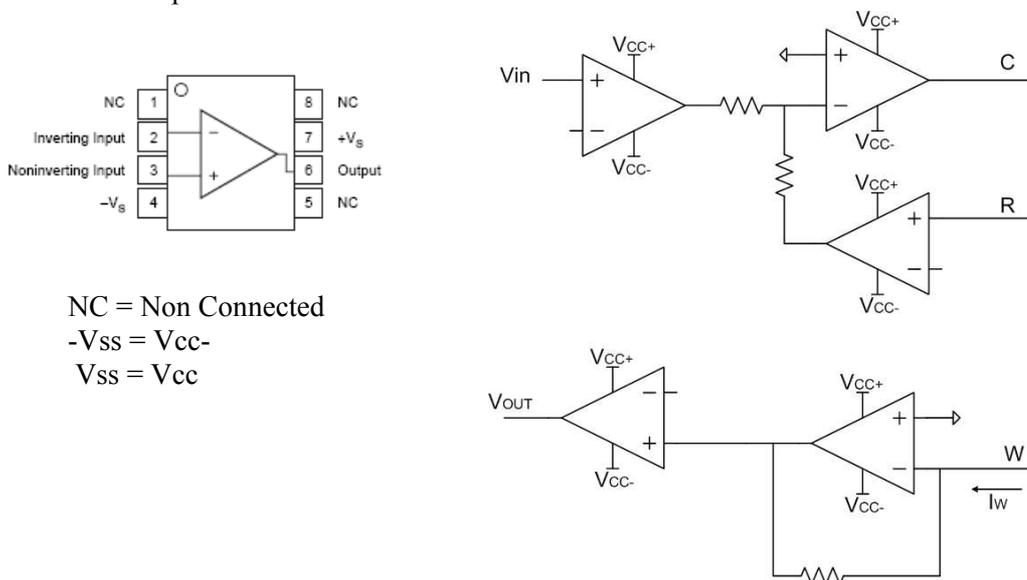
### 3. REALIZACIÓN DE LA PRÁCTICA

#### PARTE TEORICA

Partiendo de la PCB que se proporciona (Fig. 3):

1. Completar el el *schematic* de la Fig. 6 del potenciostato que utilizareis en la práctica.
2. Identificar los componentes (Relacionar los nombres de los componentes de la Fig. 3 con los de la Fig. 6)
3. Identificar que componentes forman la parte de control y cuales la parte de conversión corriente – tensión

Tomar como ayuda las siguientes figuras donde se muestran: la configuración de los pins del amplificador usado (OPA 656 de Texas Instruments) y una parte del esquemático del potenciostato implementado..



**Figura 6: Configuración de pins del AO OPA-665 y esquema parcial del circuito implementado**

Con el *schematic* ya resuelto encontrar la función de transferencia (expresión matemática) que relaciona la caída de tensión entre los electrodos Working (W) y Reference (R) y la tensión de entrada  $V_{in}$ .

Respuesta:

Del mismo modo encontrar la expresión matemática que relaciona la corriente del Working ( $I_w$ ) con la tensión de salida ( $V_{OUT}$ ), teniendo en cuenta que la etapa de conversión I to V es una etapa de transimpedancia. ¿Qué componente eléctrico nos marca la relación en la conversión corriente tensión?

Respuesta:

Identificar cada uno de los electrodos del sensor AC1.W1.R1 (BVT Technologies) que vamos a utilizar para la realización experimental de la práctica y explicar brevemente su función. ¿De que material está formado cada uno de los electrodos? ¿Por qué?



A:

B:

C:

**Figura 7: Imagen del sensor AC1.W1.R1**

Counter / Auxiliar (C / A):

Reference (R):

Working (W):

MOSTRAR AL PROFESOR DE PRACTICAS LA PARTE TEORICA

**PARTE EXPERIMENTAL**

Una vez solucionada la parte teórica procederemos a realizar la parte experimental. Para esta parte se utilizara el siguiente material:

- Placa Circuito Impreso PCB con el potenciostato
- Fuente de alimentación bipolar (+/- 6 Volts)
- Ordenador con el programa Lab View
- Tarjeta de Adquisición de Datos nacional Instruments PCI-6014 + adaptador CD-68LP
- Sensor AC1.W1.R1 de BVT Technologies
- Pipetas, probetas, etc ...
- Solución 5mM  $K_3[F_e(CN)]_6$

El primer paso consiste en conectar correctamente la alimentación del potenciostato. Para ello utilizaremos una fuente de alimentación capaz de proporcionar tensiones positivas y negativas de forma simétrica. Para conectar la PCB a la alimentación seguir el esquema que se muestra a continuación.

RECORDAR QUE LA ALIMENTACIÓN MÁXIMA DEL POTENCIOSTATOR ES DE +/- 6 VOLTS

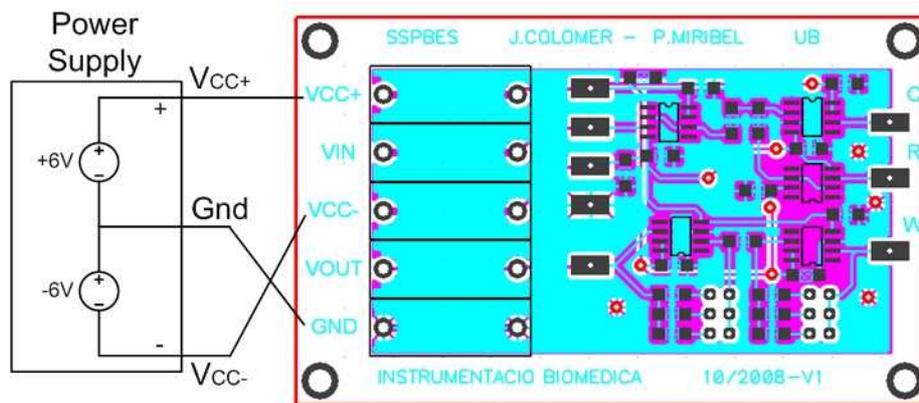


Figura 8: Diagrama de conexiones de la alimentación con la PCB

Una vez alimentada la PCB conectaremos la señal de salida Vout a la tarjeta de adquisición de datos de National Instruments PCI-6014. El conexionado se muestra en la siguiente imagen. (La señal Vout es proporcional a la corriente generada en el electrodo working del sensor durante la reacción electroquímica)

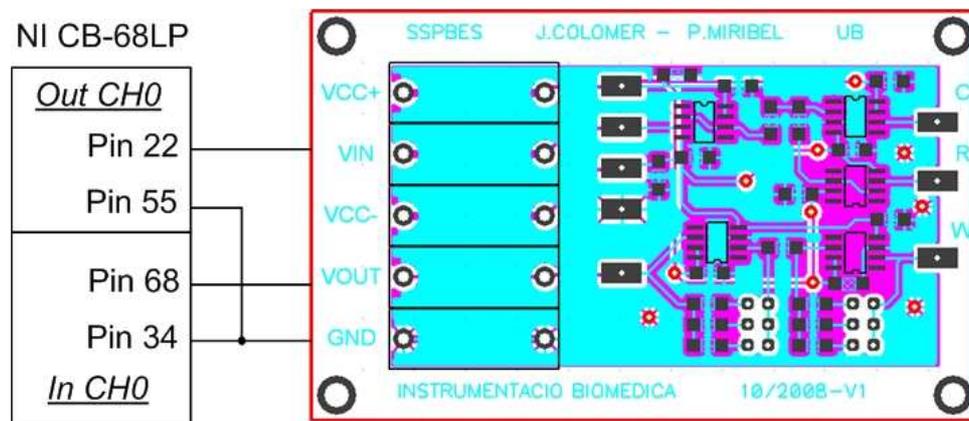
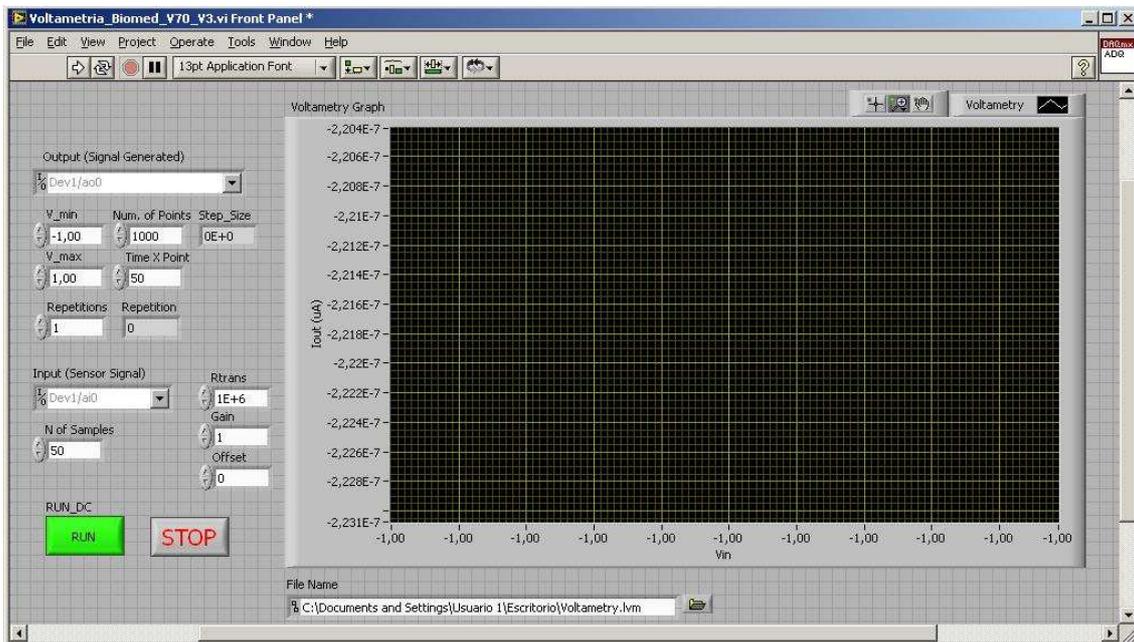


Figura 9: Diagrama de conexiones de la PCB con la tarjeta de NI CD-68LP

Finalmente conectaremos los electrodos del sensor al conector correspondiente de la PCB.

Ejecutaremos el programa de Lab-View.”*Voltametry.vi*”y aparecerá la pantalla principal (Fig. 5). Esta se encuentra dividida en tres secciones:

1. Generación de la señal: se encarga de generar la rampa DC para realizar la voltametría.
2. Adquisición de la señal: se encarga de leer los valores de tensión que proporciona la salida del potenciostato.
3. Representación y almacenamiento de datos.



**Figura 10: Pantalla principal del programa de adquisición de datos**

Para generar el barrido en DC:

- primero es necesario configurar el canal de salida, se utilizará el canal 0 o *CH0 / ao0*.
- Después se introducirán los valores máximo y mínimo ( $V_{max}$ ;  $V_{min}$ ) del análisis y dos variables más, el número de puntos totales del análisis (*Num. of Points*) y el tiempo de espera de cada valor (*Time X Point*).

Esto significa que si queremos un análisis de 100 muestras y que el tiempo de espera de cada valor sea de 100ms el tiempo total del análisis será de 10 segundos. Se pide generar un análisis DC de 50 segundos con 1000 puntos, calcular el tiempo de espera de cada valor (*Time X Point*)?

La lectura de datos funciona de la siguiente manera:

- primero se debe configurar el canal de lectura, canal de entrada 0 o *CHi0 / ai0*, que nos permitirá adquirir la señal del potenciostator.
- Una vez configurado se debe introducir el numero de muestras (*N of Samples*) a adquirir cada vez que el dispositivo lea. El tiempo de muestreo o lectura viene definido por el *Time X Point* introducido en la generación de la rampa DC.

El valor de la resistencia de transimpedancia se debe introducir en la variable *Rtrans*. Este valor debe coincidir con la resistencia de la etapa de conversión I to V, que en su defecto es 1MΩ. Las variables *Gain* y *Offset* deben permanecer a 1 y 0 respectivamente. Finalmente en la variable *Repetitions* introduciremos el número de voltametrías que queremos realizar por ensayo.

Una vez configurado el software se prepara la muestra para realizar el análisis voltamétrico. Se utilizarán 5 ml de 5mM  $K_3[Fe(CN)_6]$  (Ferro Cianuro). Con la solución preparada se introduce el sensor teniendo en cuenta que no se deben sumergir los contactos exteriores.

Finalmente se iniciará la voltametría activando el software mediante el botón RUN.

#### 4. PREGUNTAS

1. Comenta el resultado obtenido? A que tensión se encuentran los potenciales de oxidación y reducción?
2. Si aumentamos la concentración de SUBSTANCIA a 10 ml que sucede con la voltametría ? Por qué?
3. Que sucede si reducimos a la mitad el número de muestras para generar el análisis DC???

#### 5. INFORME DE PRÁCTICAS

Realizar un informe de la parte experimental. Este se deberá entregar conjuntamente con la parte teórica una semana después de la finalización de la práctica. El informe debe contener como mínimo:

1. Respuestas a las preguntas del apartado 4.
2. Todas las gráficas obtenidas de la realización de las voltametrías comentadas.

A parte de los contenidos de las respuestas también se valorará la presentación y el lenguaje utilizado en las explicaciones.