

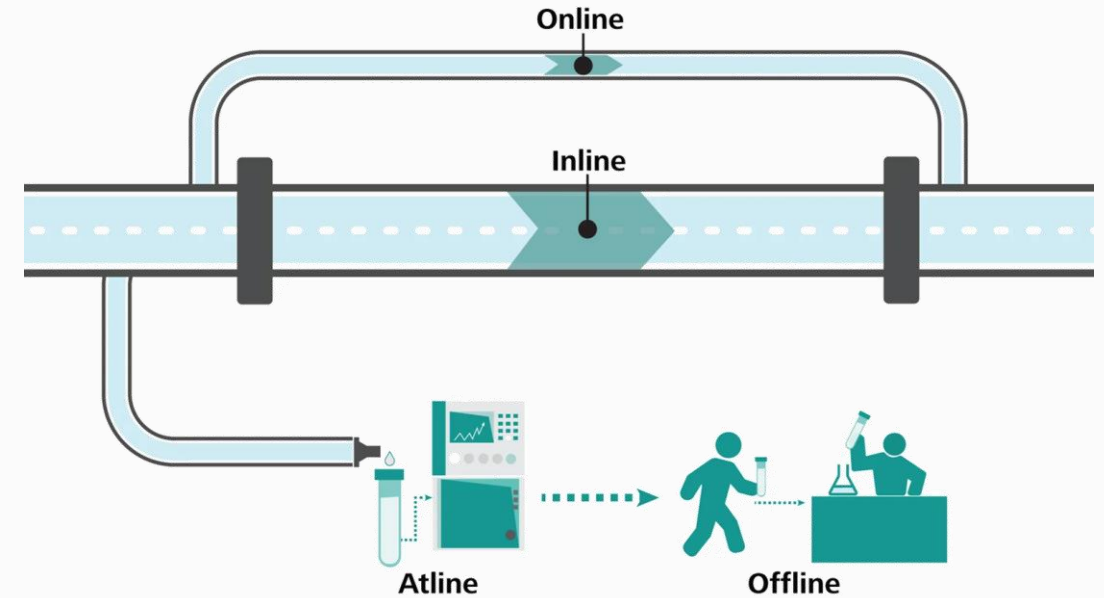
Procesos biotecnológicos

Instrumentación

Definiciones

Tipos de análisis

- On-line/In-line: continuo, muestreo automático, ubicado directamente en el proceso.
- Off-line: discontinuo, se retira muestra manualmente, se la procesa y analiza.
- At-line: similar al off-line, pero un equipo automatiza las tareas.

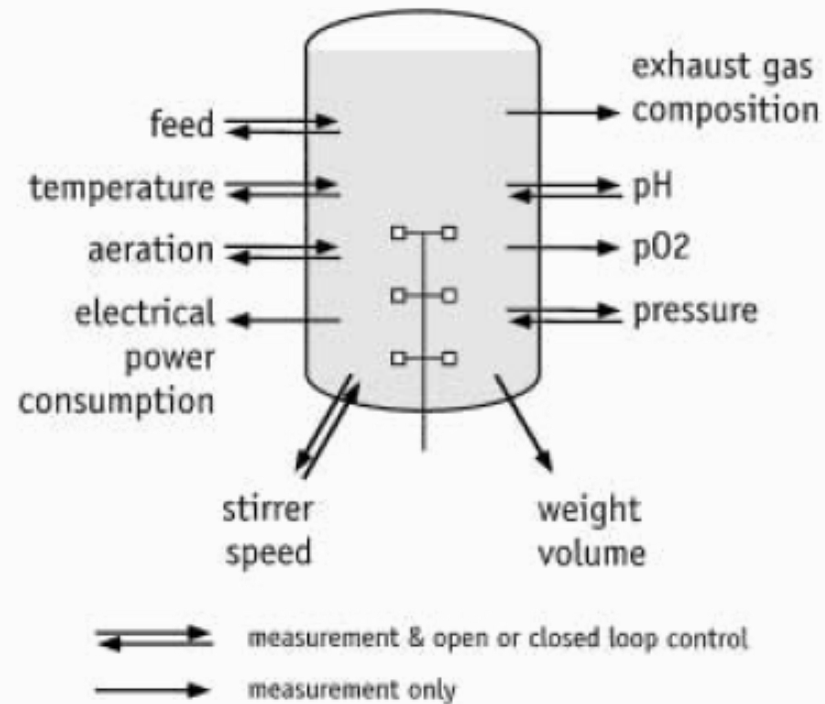


Off-line y at-line requieren mayor tiempo: menos adecuados para control.

On-line e in-line: medida rápida, adecuado para control.

Medidas típicas (on-line)

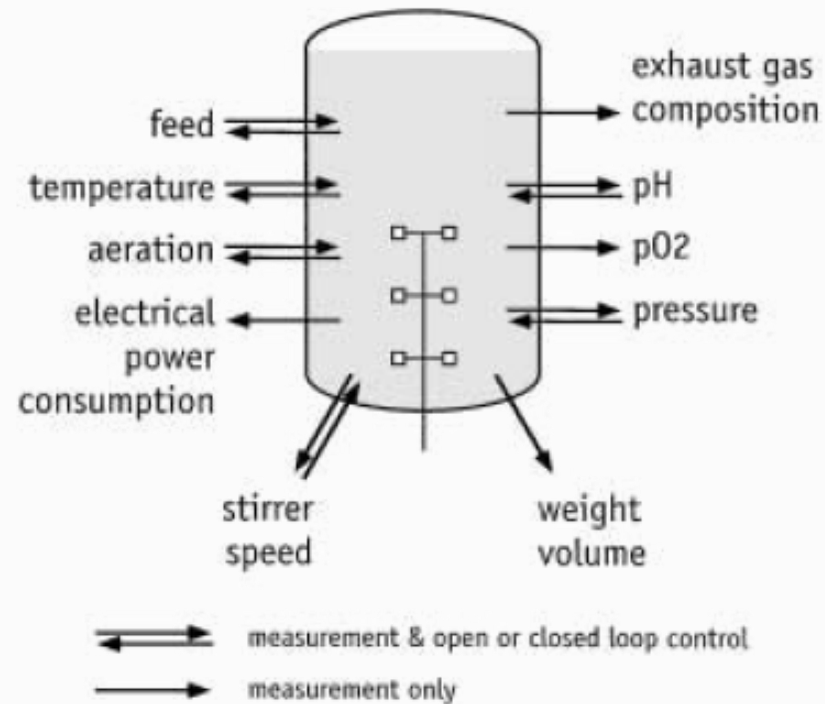
accepted standard of M&C:
necessary, important & reliable



- Fase líquida:
 - Temperatura.
 - pH.
 - Oxígeno disuelto.
 - Pesos y caudales.
- Fase gaseosa:
 - Flujo y presión.
 - Composición (presiones parciales).

Medidas no tan típicas (on-line)

accepted standard of M&C:
necessary, important & reliable



- Fase líquida:
 - Concentración de microorganismos.
 - Conductividad, alcalinidad, ORP.
 - Concentración de FN (amoníaco, amonio).
 - Concentración de FCE (COD, glucose, lactato).

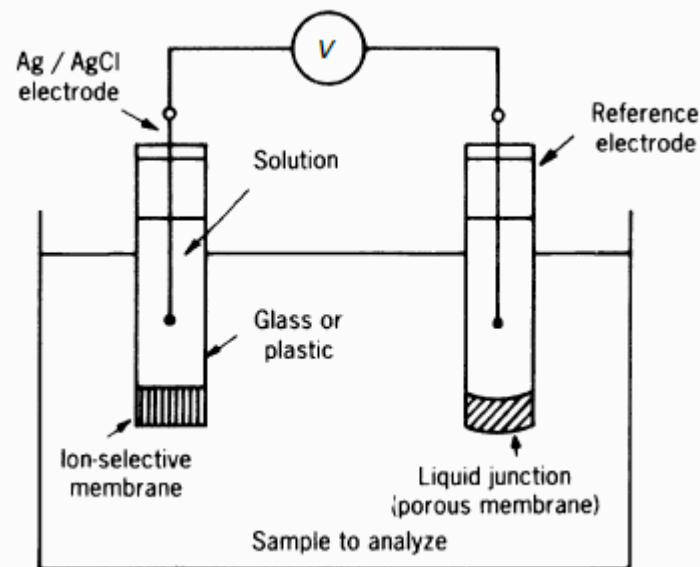
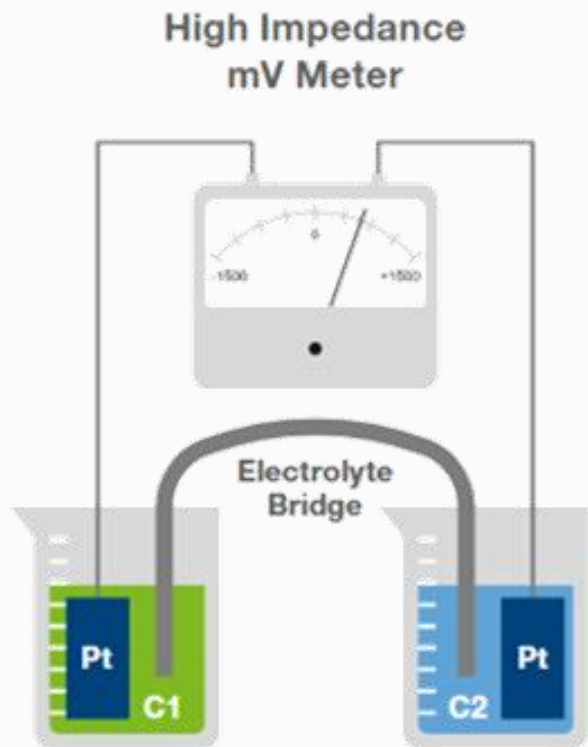
Sensores electroquímicos

Sensores potenciométricos

Sensores potenciométricos

Ante cambios en la concentración de una solución muestran cambios de potencial.

En particular los *ion selective electrodes* (ISE) se basan en la tensión generada en la interfaz entre fases con diferentes concentraciones.



Suponiendo que hay una única especie de ión (o que una membrana deja pasar solamente un tipo) .

Los iones tienden a migrar de la zona de mayor concentración a la de menor.

Debido a la diferencia de cargas aparece un potencial eléctrico en oposición.

Sensores potenciométricos

Ante cambios en la concentración de una solución muestran cambios de potencial.

En particular los *ion selective electrodes* (ISE) se basan en la tensión generada en la interfaz entre fases con diferentes concentraciones.

Ecuación de Nernst

$$E = \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln\left(\frac{C_1}{C_2}\right)$$

$$E = E_0 + \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln(C_1)$$

E = diferencia de potencial (*mV*)

R = constante de gases ideales ($8.31439 \text{ J} \times \text{mol}^{-1} \times \text{K}^{-1}$)

F = constante de Faraday ($96495.7 \text{ C} \times \text{mol}^{-1}$)

T = temperatura absoluta (*K*)

n = número de carga del ión ($n_H = 1$)

C1 = concentración de iones H activa en solución C_1

C2 = concentración de iones H activa en solución C_2

Para $C_1/C_2 = 10$ a 25°C el potencial es $U_N = 59.16 \text{ mV}$

pH

Es una medida de acidez o alcalinidad en soluciones.

Se calcula como el logaritmo de la actividad de iones de hidrógeno.

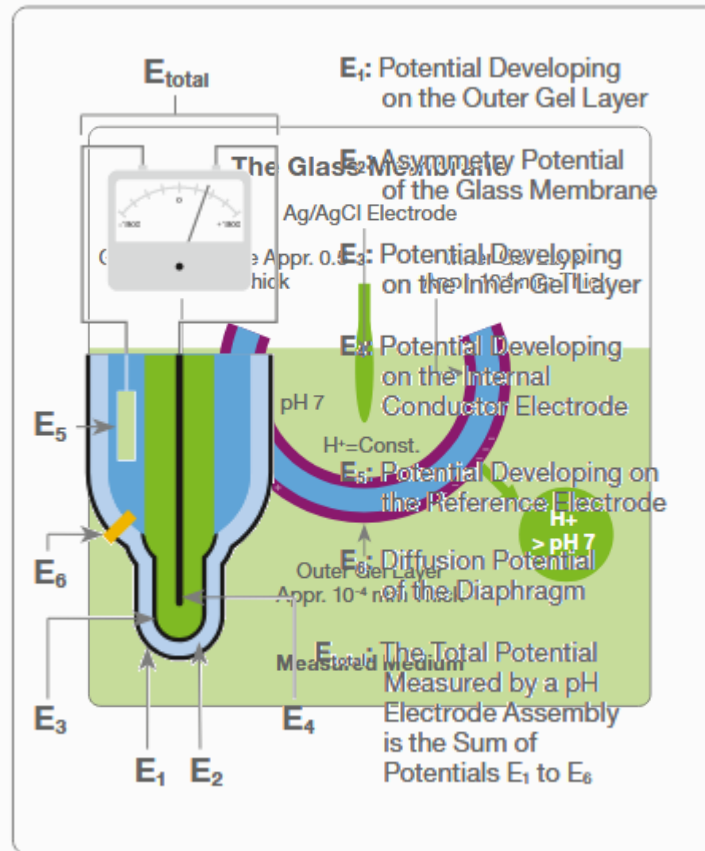
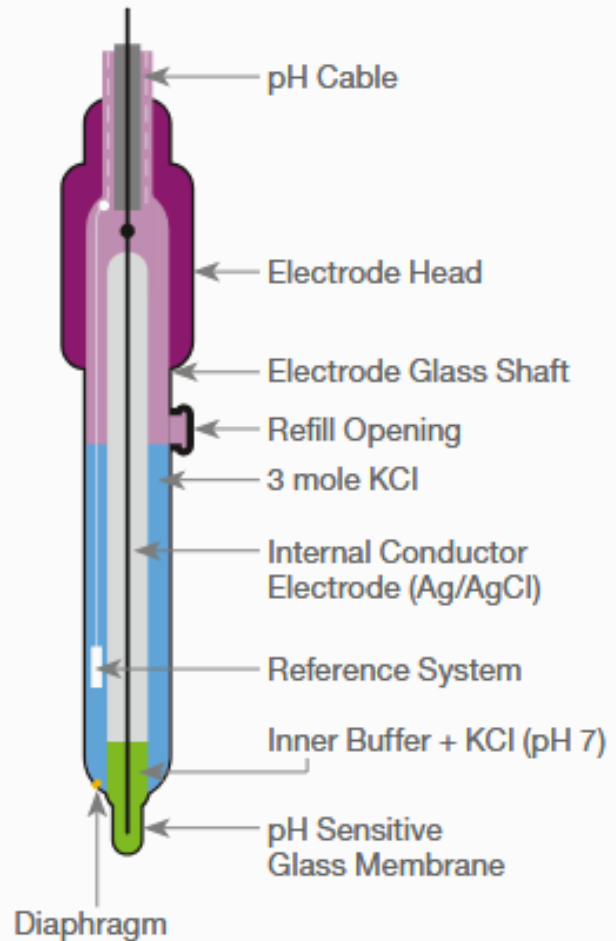
$$pH = -\log_{10} a_{H^+}$$

Los microorganismos y las enzimas son muy sensibles al pH.

El pH cambia por actividad la actividad de los microorganismos (ej. consumo de NH_3 da lugar a NH_4^+ que baja al pH)

H+ concentration (mole/liter)	OH- concentration (mole/liter)	pH
1	0.0000000000000001	0
0.1	0.000000000000001	1
0.01	0.00000000000001	2
0.001	0.0000000000001	3
0.0001	0.000000000001	4
0.00001	0.00000000001	5
0.000001	0.000000001	6
0.0000001	0.0000001	7
0.00000001	0.000001	8
0.000000001	0.00001	9
0.0000000001	0.0001	10
0.00000000001	0.001	11
0.000000000001	0.01	12
0.0000000000001	0.1	13
0.00000000000001	1	14

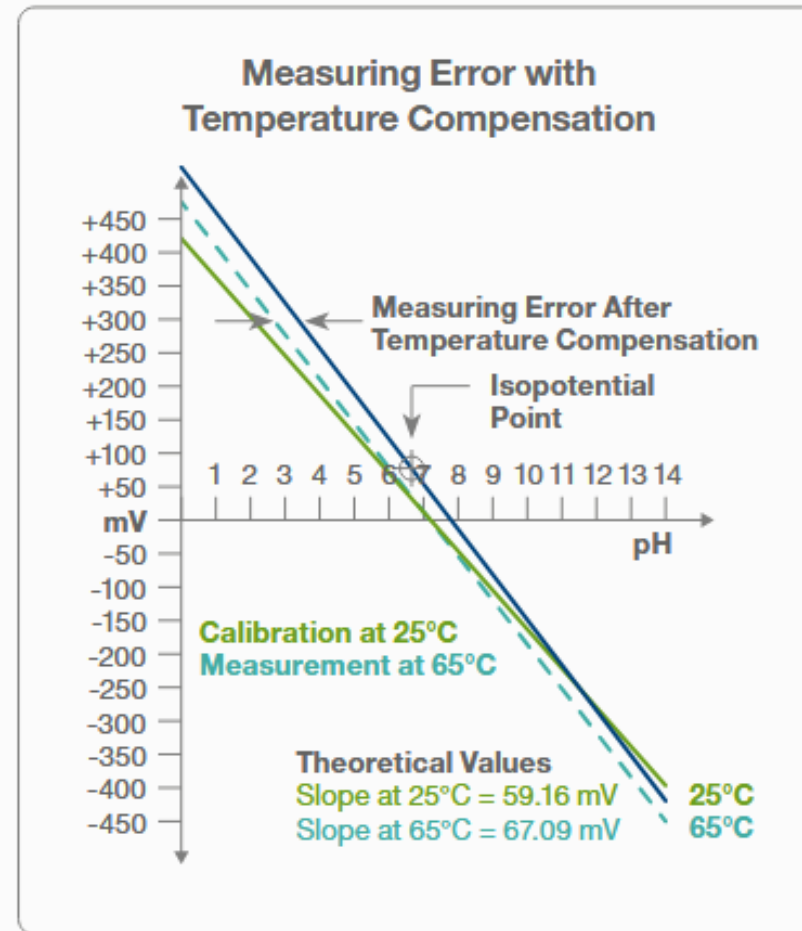
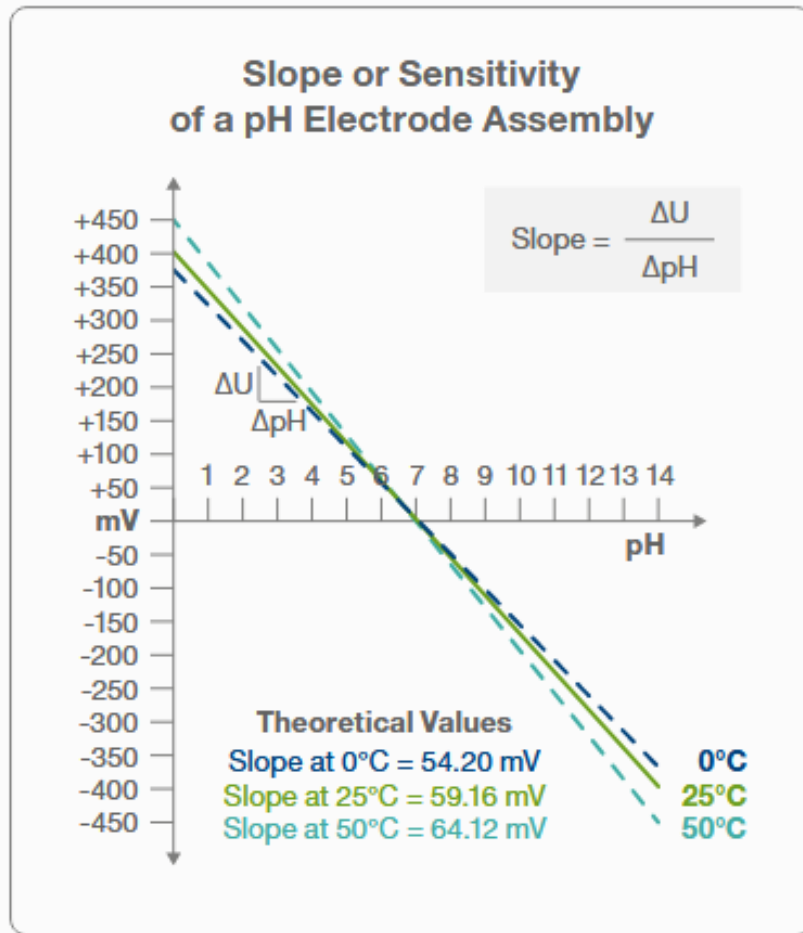
pH: determinación por método polarimétrico



Lo usual son electrodos combinados de vidrio:

- Membrana de vidrio sensible al pH
- Solución buffer
- Solución de referencia
- Diafragma

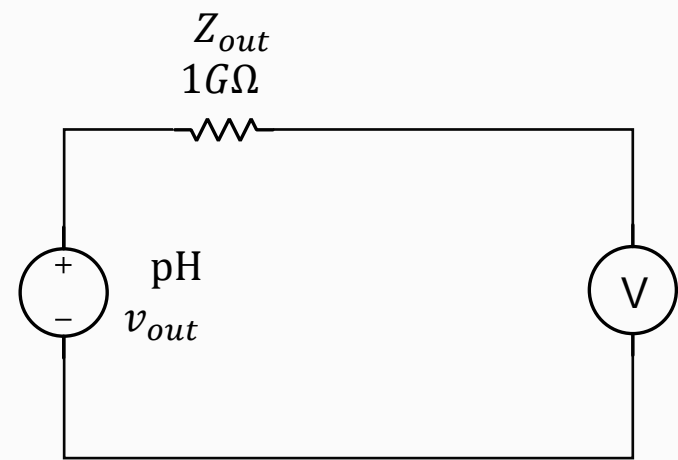
pH: determinación por método polarimétrico



$$E = E_0(T) - \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot pH \cdot cte$$

Acondicionamiento

Los ISE pueden presentar impedancias desde los $10M\Omega$ hasta los $5G\Omega$.
Se requieren instrumentos con alta impedancia de entrada.

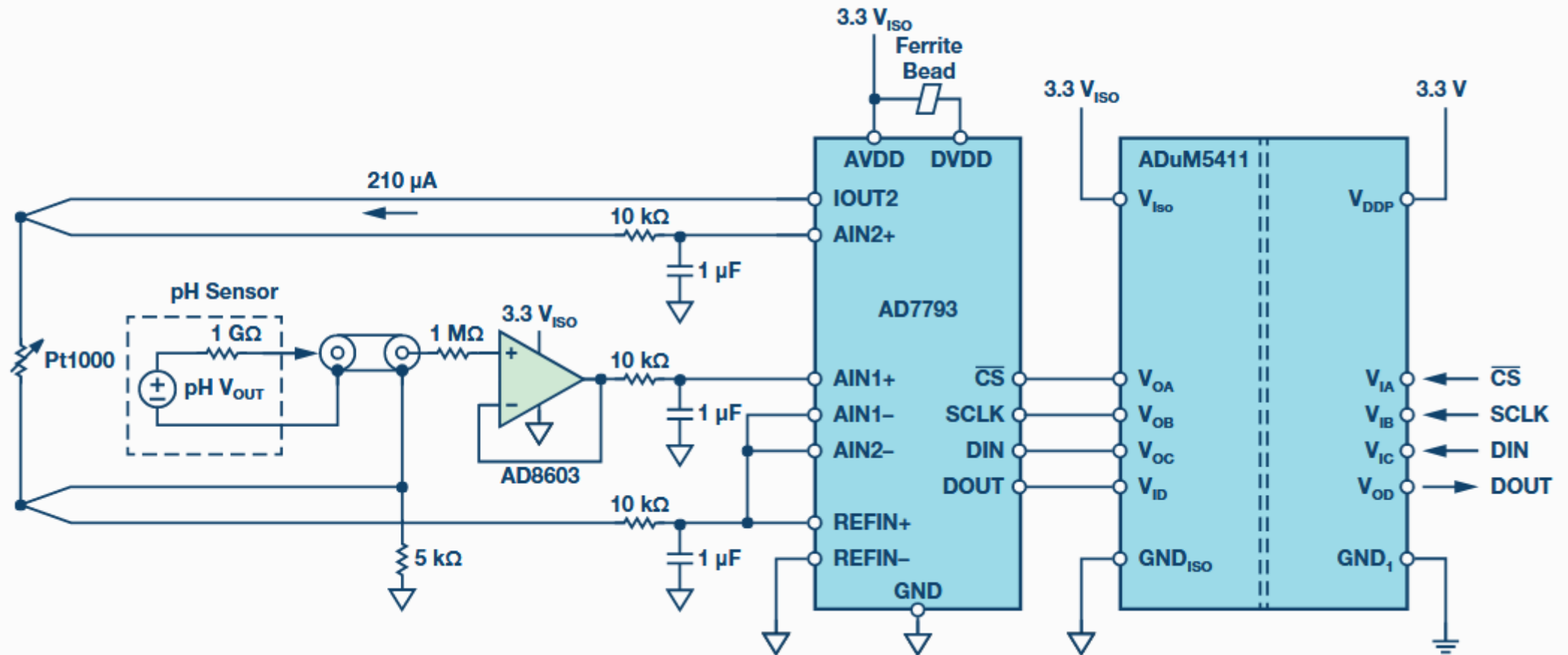


$$i \ll \frac{50mV}{1G\Omega} = 50pA$$

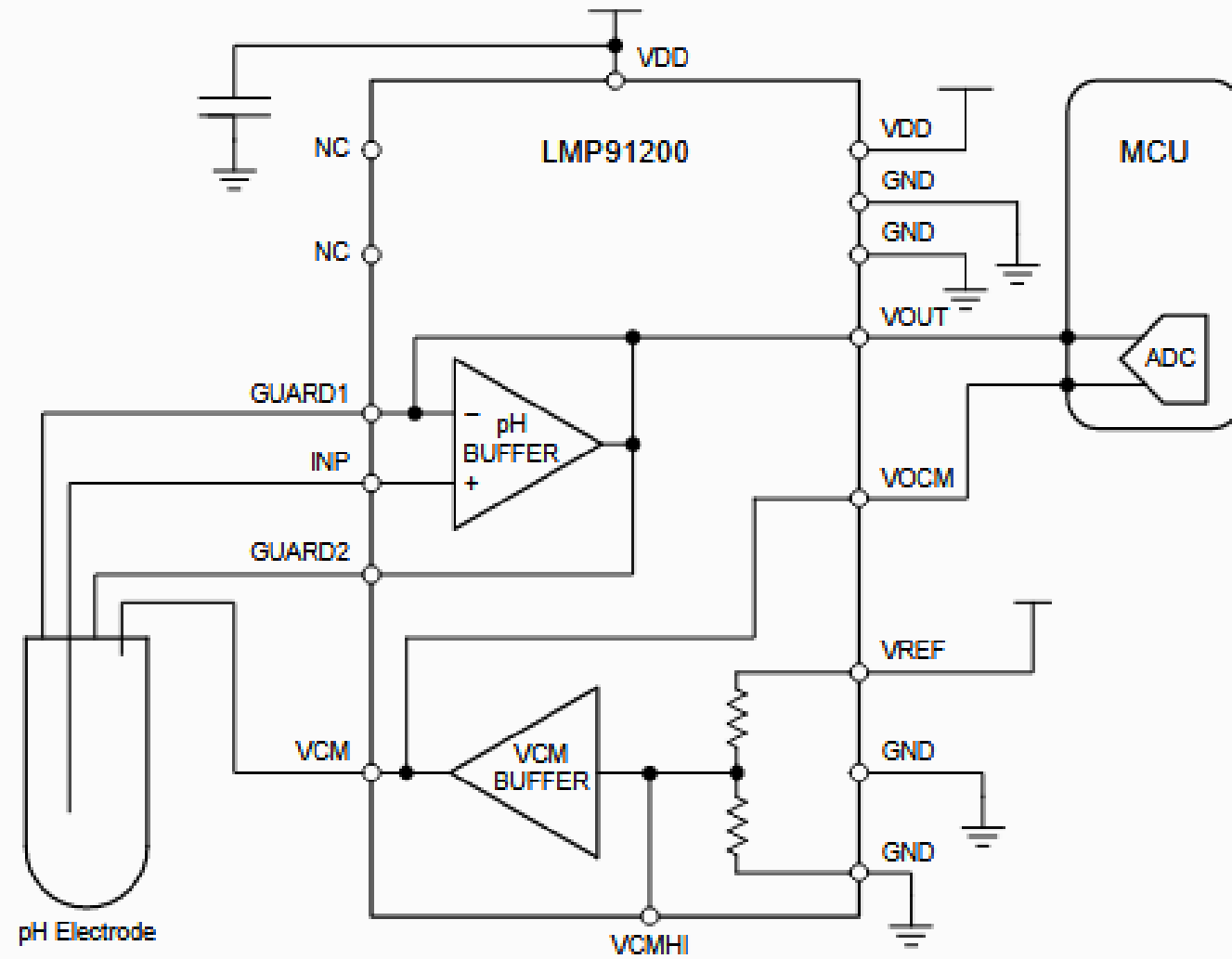
LM358	BJT	45nA
TLC2274	CMOS	Typ 1pA / max 60pA
ADA4530-1	PMOS	< 20fA
AD8625	JFET	< 1pA
AD8603	CMOS	Typ 200fA/max 1pA

$$0.2mV < 0.5\%$$

Acondicionamiento (pH)

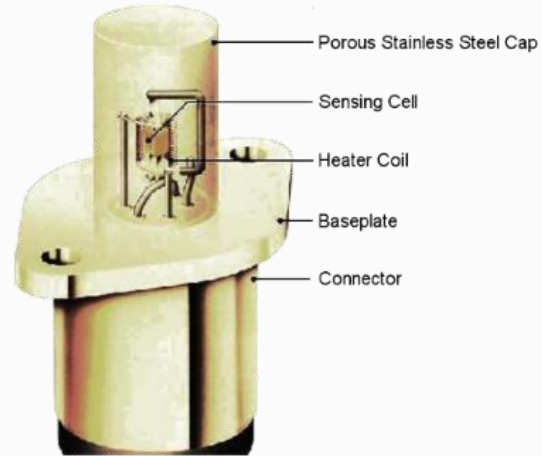
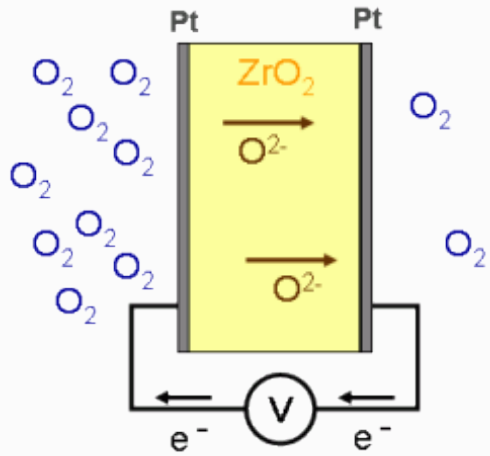


Acondicionamiento (pH)



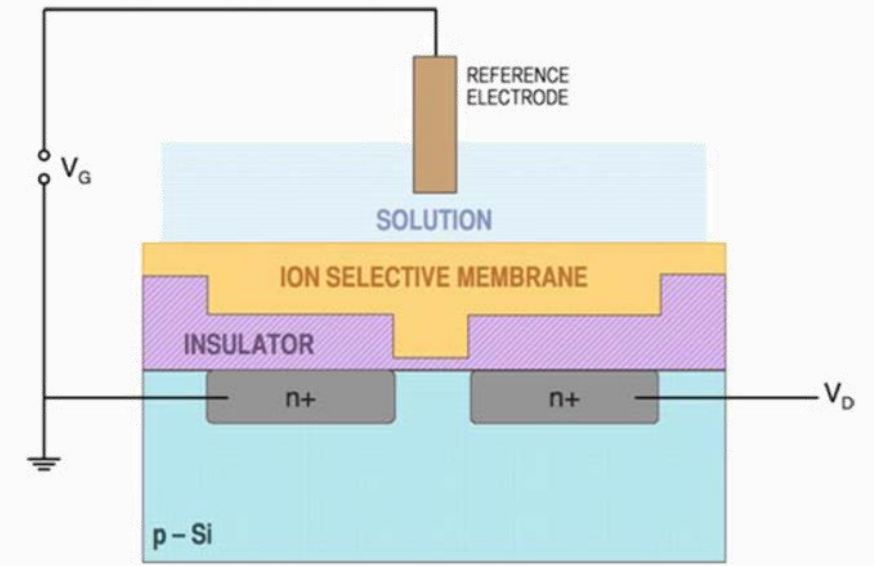
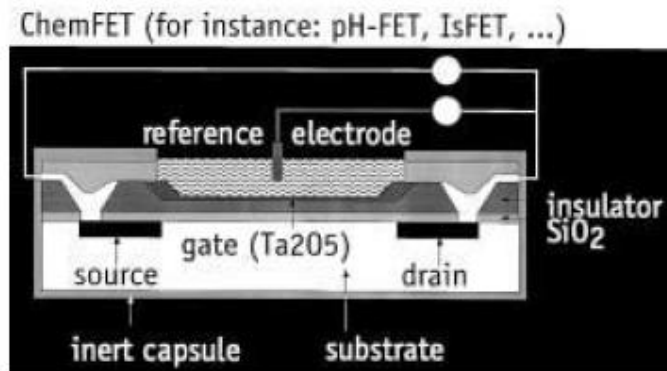
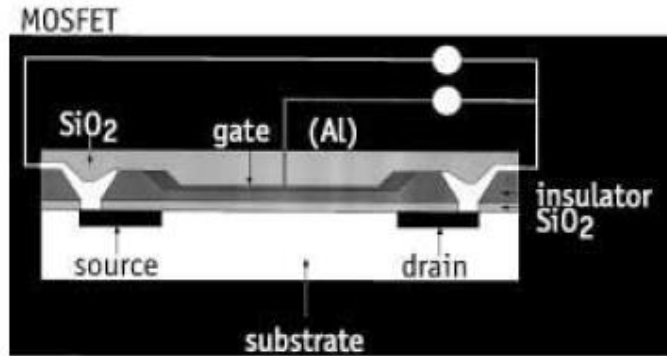
$$I_b < 600fA$$

Oxígeno gaseoso: dióxido de zircono



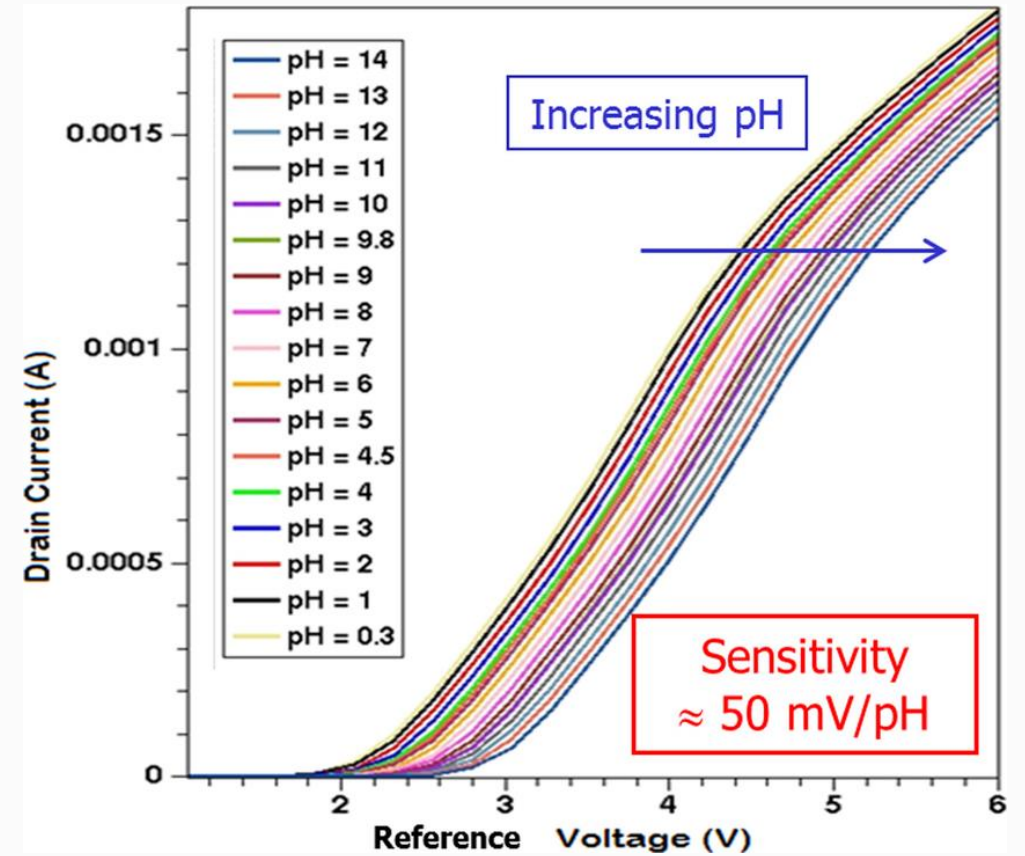
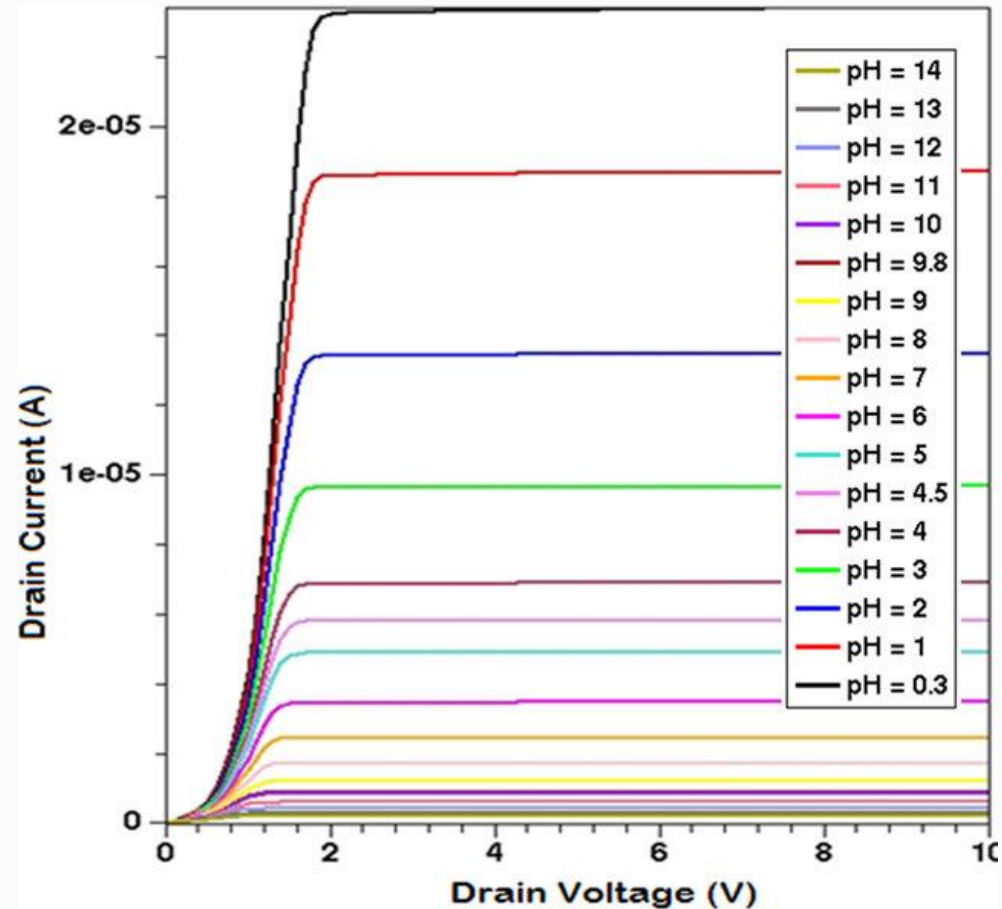
- El electrolito es sólido: dióxido de zirconio.
- Se calienta a 600 o 700°C -> Iones de oxígeno puede pasar de una zona de alta concentración a una de baja.

ISFET (no es electroquímico)

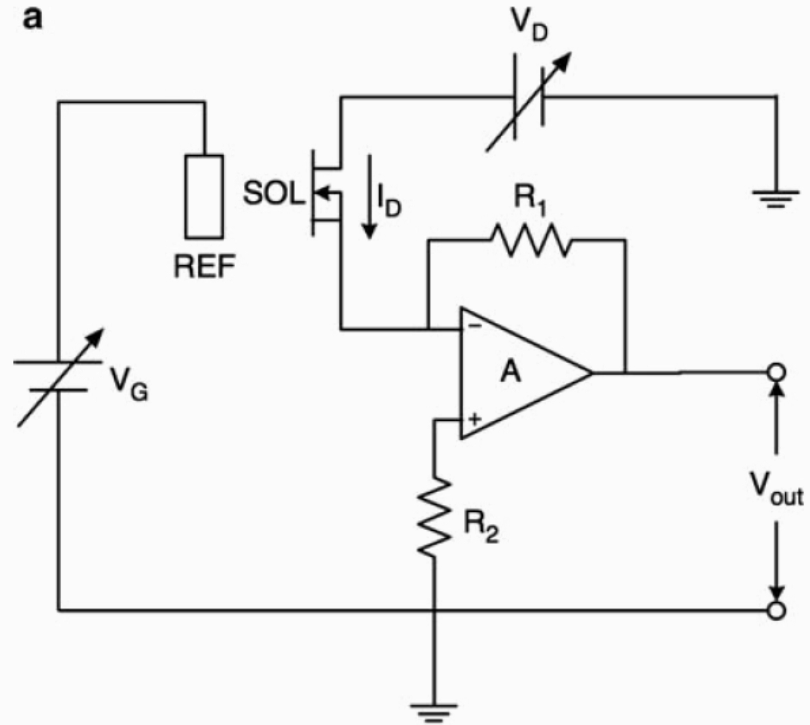


En lugar de tener un gate metálico, tiene una membrana selectiva

ISFET (no es electroquímico)



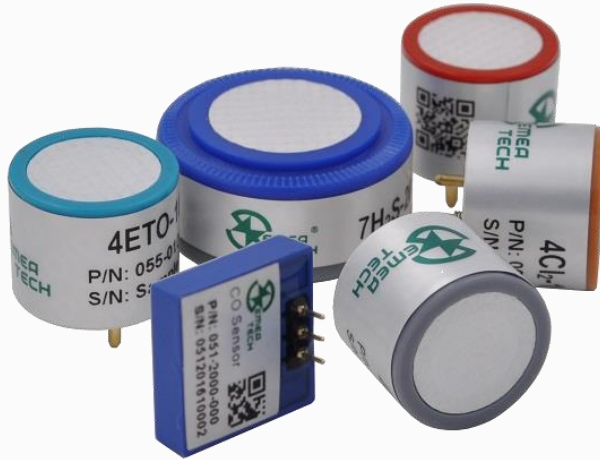
ISFET (no es electroquímico)



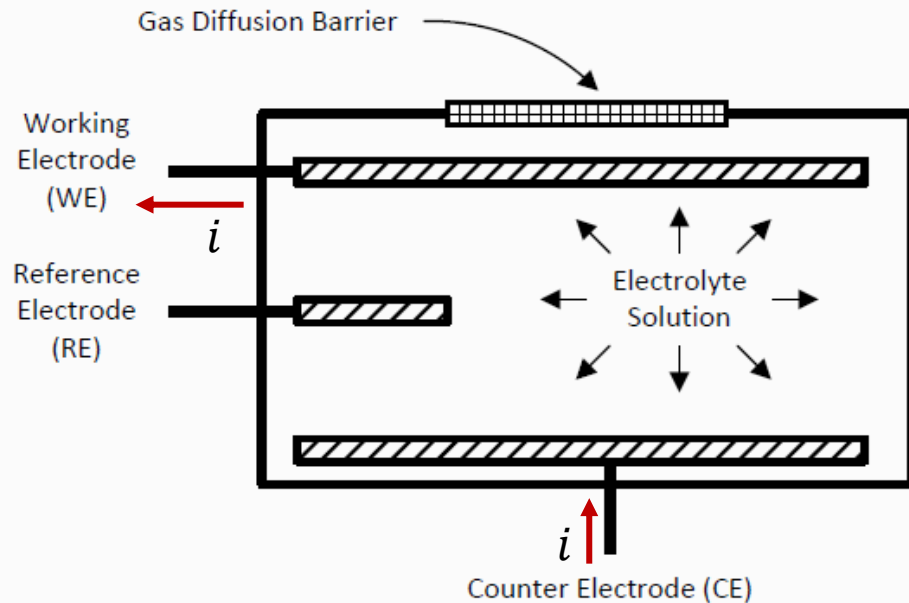
Sensores electroquímicos

Sensores amperométricos

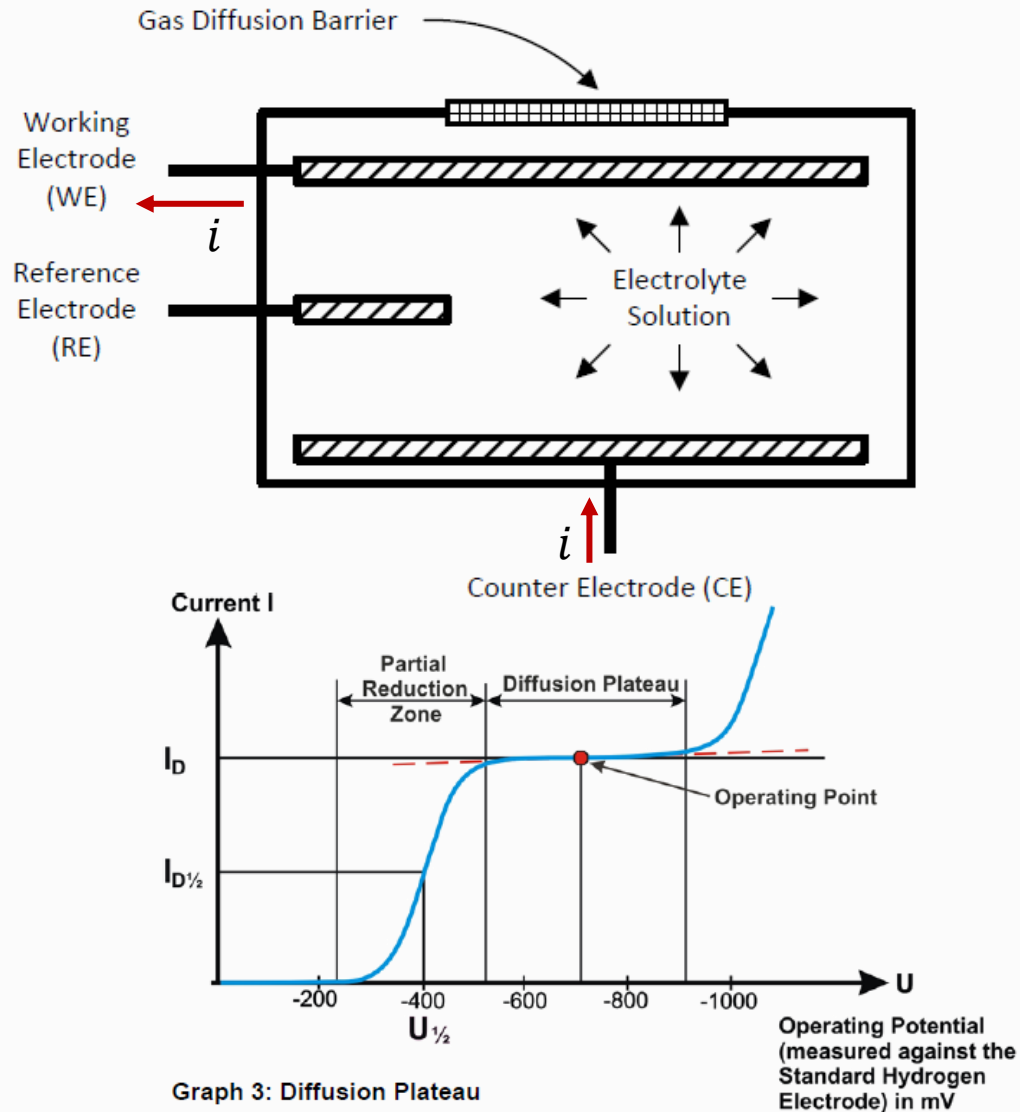
Principio de funcionamiento



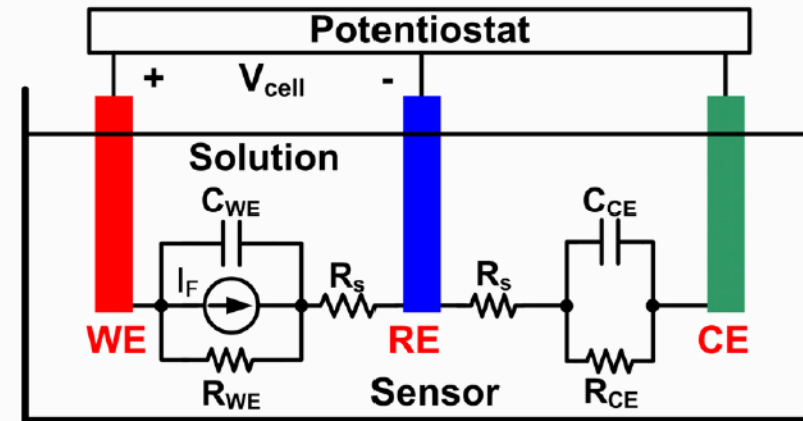
- Entre el WE y el gas sucede una oxidación (pierde electrones) o una reducción (gana electrones)
- En el CE se da la reacción complementaria
- Las reacciones generan un flujo de cargas, que tiende a mantener la carga del electrolito
- Las cargas se mueven entre WE y CE
- La corriente resultante es proporcional a la concentración del gas



Principio de funcionamiento



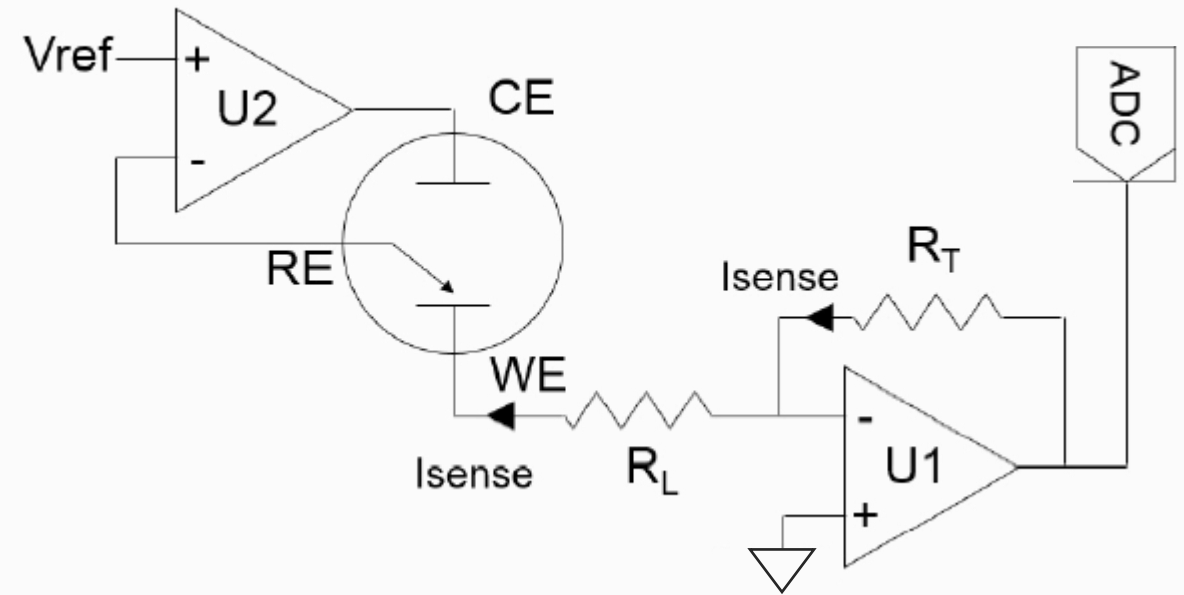
- WE debe polarizarse a una tensión adecuada para favorecer su oxidación/reducción.
- El movimiento de cargas hace variar el potencial de la interfaz electrolito/WE, lo que puede afectar la medida.
- RE sirve para fijar ese potencial.
- La corriente por RE es nula



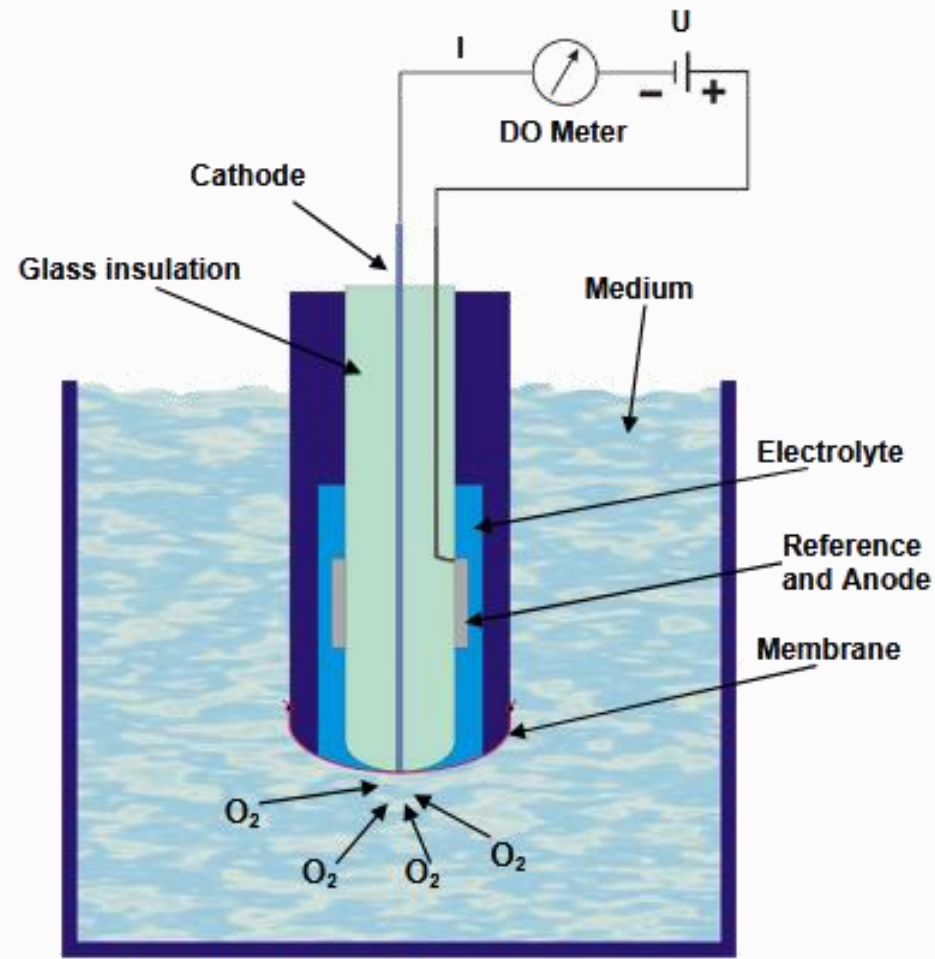
Potenciostatos

Acondicionamiento para la configuración de 3 electrodos:

- Mantener tensión adecuada entre WE y RE.
- Proveer corriente de WE a través de CE.
- Corriente nula por RE.
- Carga adecuada para WE ($10\Omega \sim 100\Omega$).



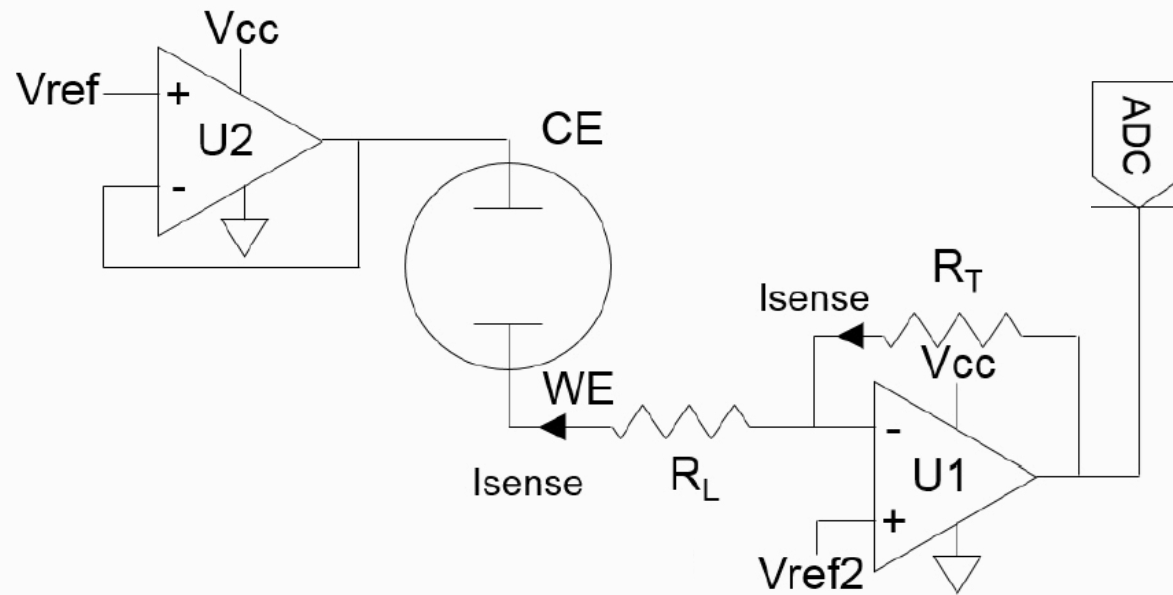
Oxígeno disuelto: electrodos de Clark

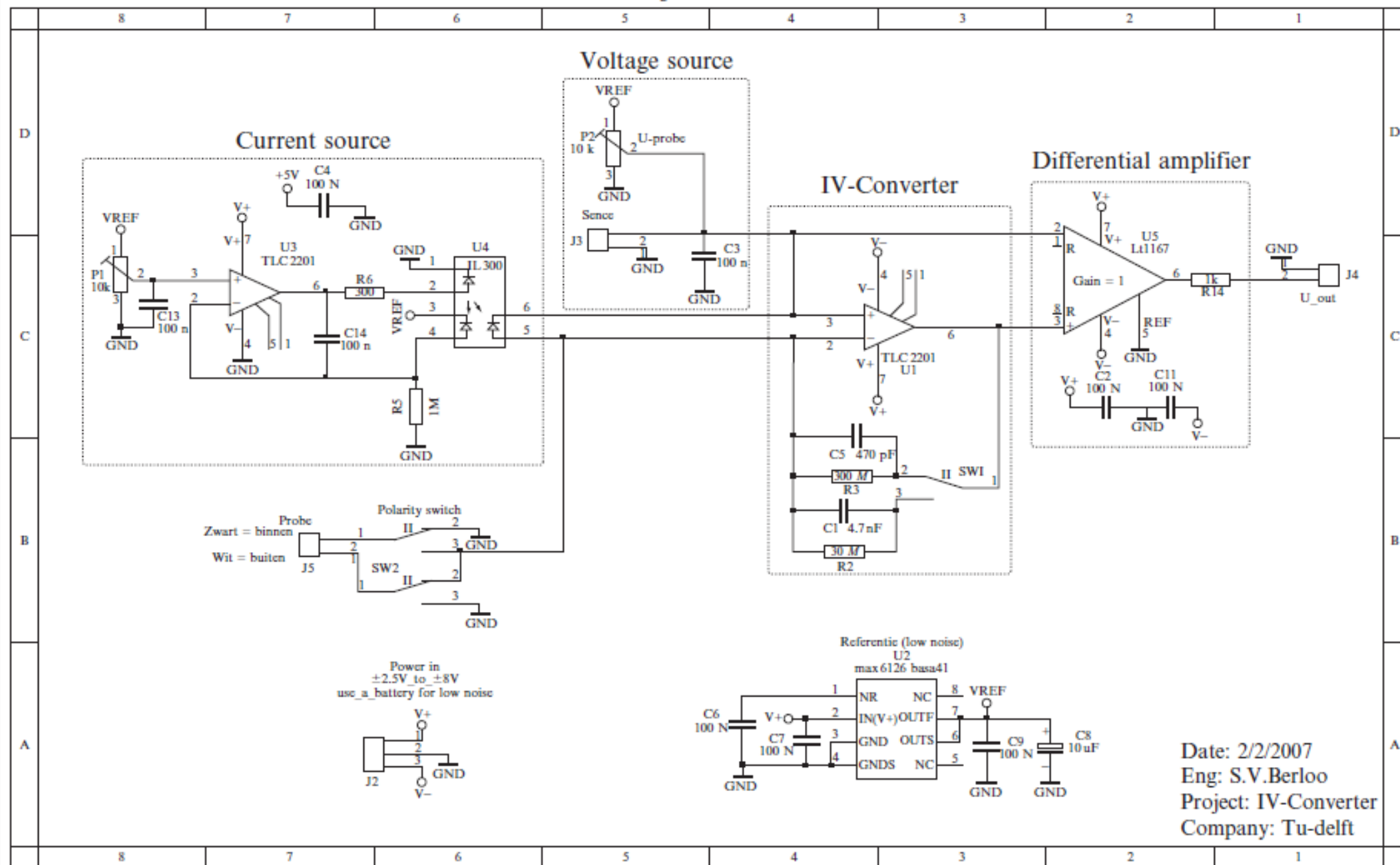


The Clark Dissolved Oxygen Sensor

- 2 electrodos (ánodo de plata, cátodo de platino) sumergidos en solución de KCl (electrolito).
- Membrana permeable para el oxígeno separa electrolito del medio.
- El cátodo está aislado y solamente la punta está expuesta al electrolito.
- Se polariza con alrededor de -600mV.
- El flujo de electrones es proporcional a la concentración de oxígeno en el medio.
- Corriente típica del orden de 100nA

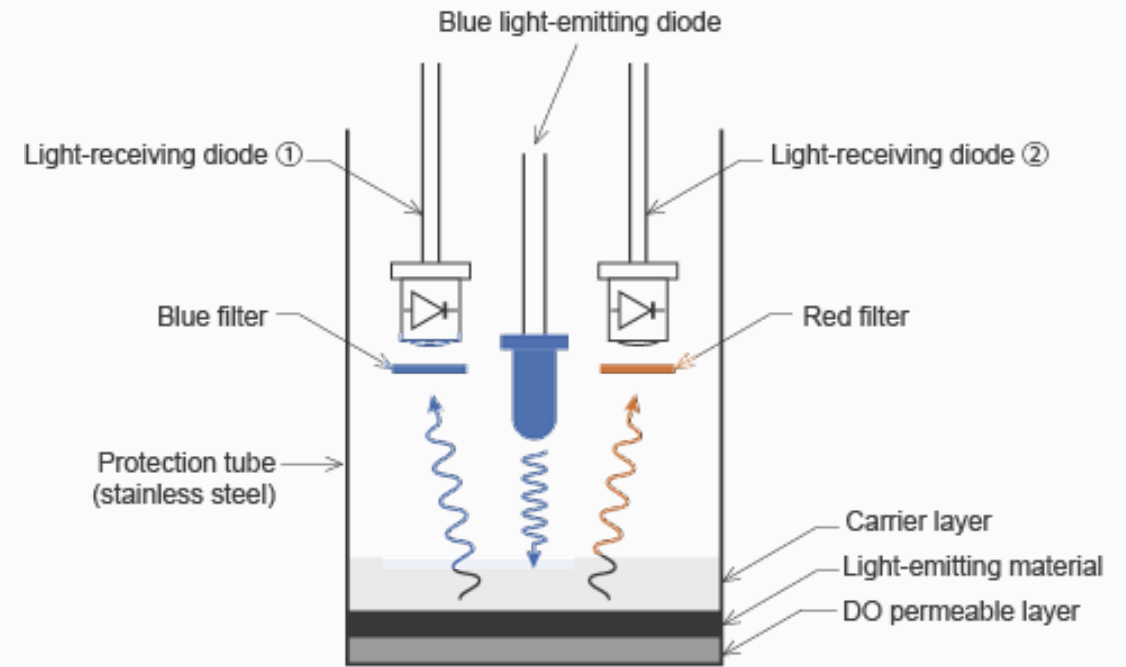
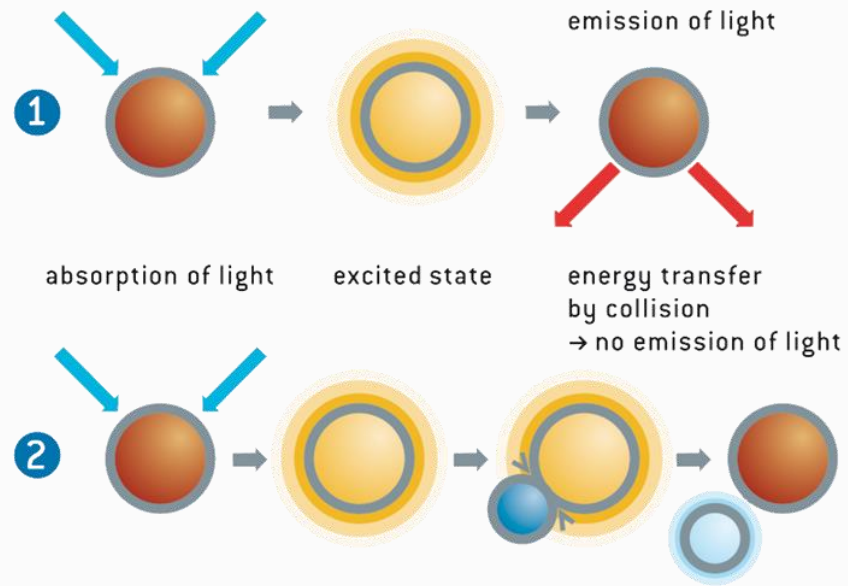
Acondicionamiento para 2 electrodos



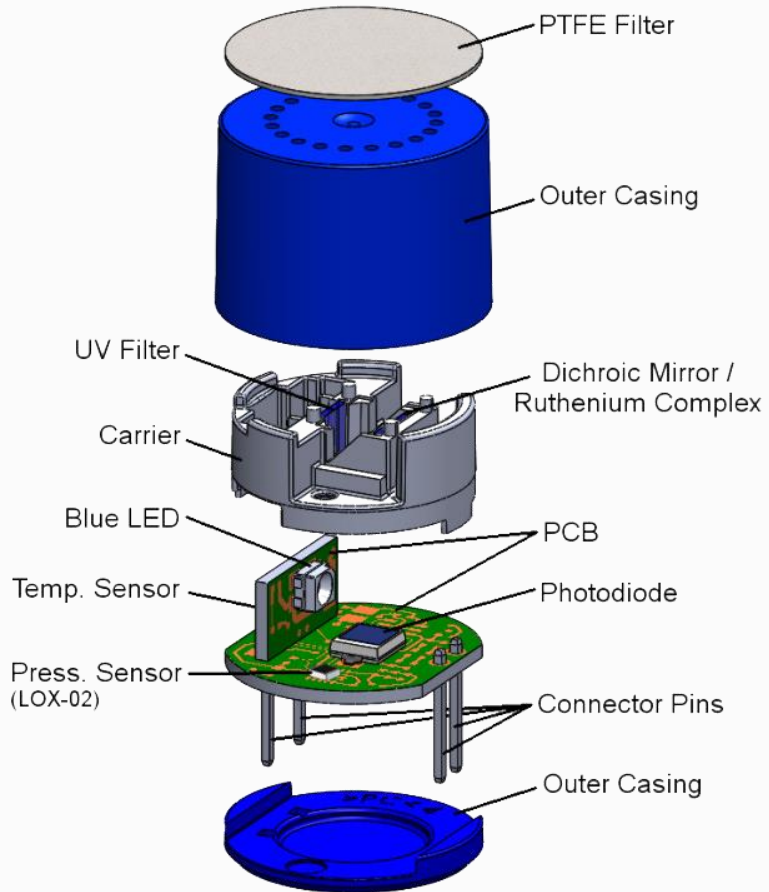


Date: 2/2/2007
 Eng: S.V.Berloo
 Project: IV-Converter
 Company: Tu-delft

Fluorescence quenching



Fluorescence quenching: Oxígeno gaseoso

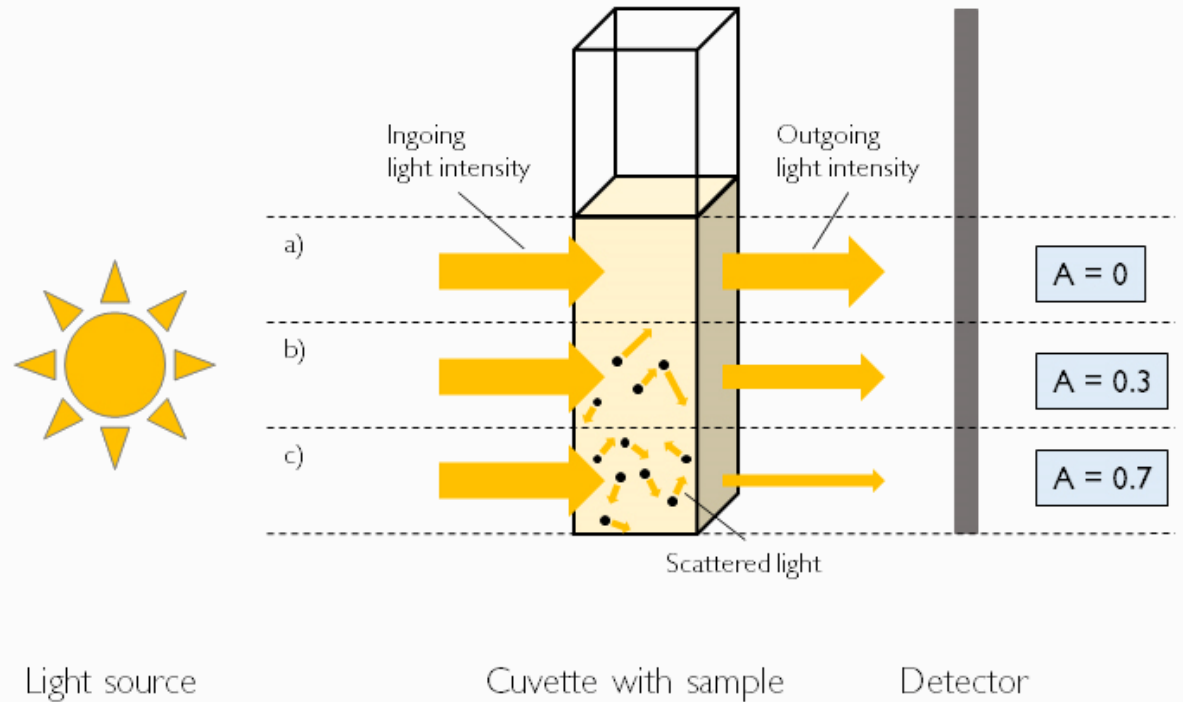


Fluorescence quenching: Oxígeno disuelto



Densidad óptica

- Método rápido y simple para determinar la concentración de biomasa o niveles de pigmentos.
- Se mide la intensidad de luz transmitida a través de una muestra con células en suspensión:
- Se necesita conocimiento previo del proceso para calibrar.



Densidad óptica

Ley de Beer Lambert

$$OD = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

I_0 : intensidad de luz incidente.

I : intensidad de luz transmitida.

ε : coeficiente de atenuación.

c : concentración de la muestra.

l : longitud del camino óptico.

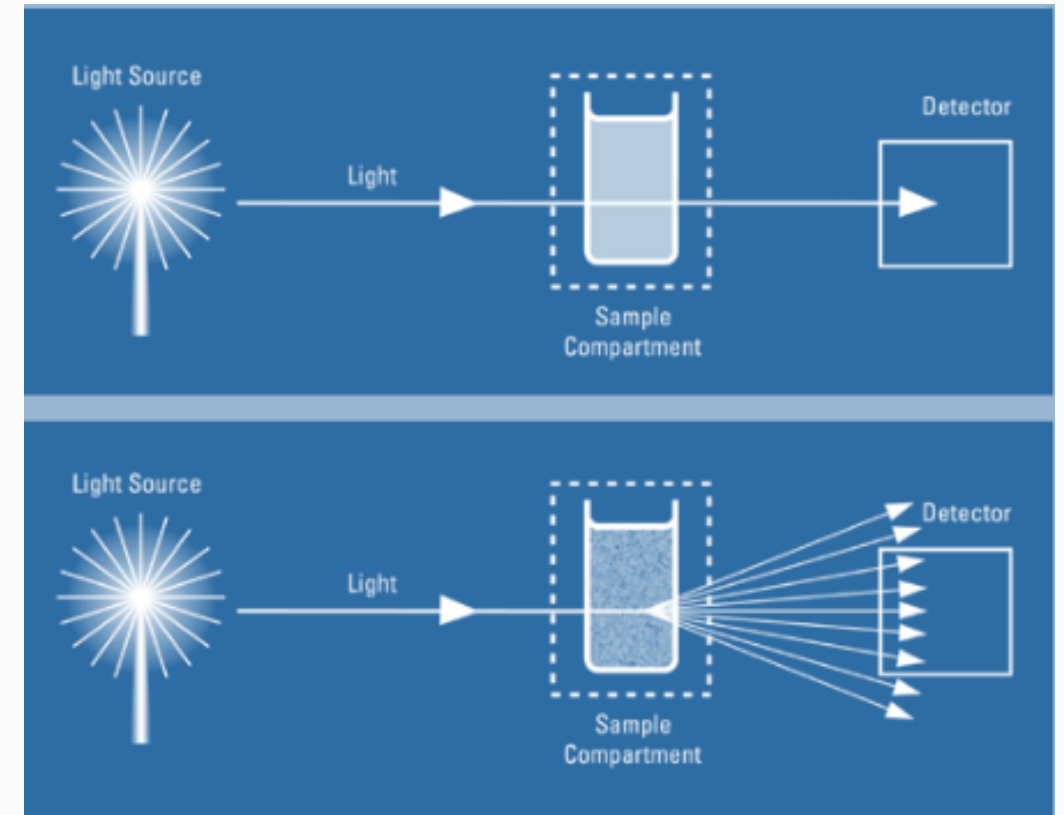
Si el coeficiente de atenuación y longitud de camino son constantes:

$$x \left[\frac{g}{l} \right] = m \cdot OD$$

Densidad óptica

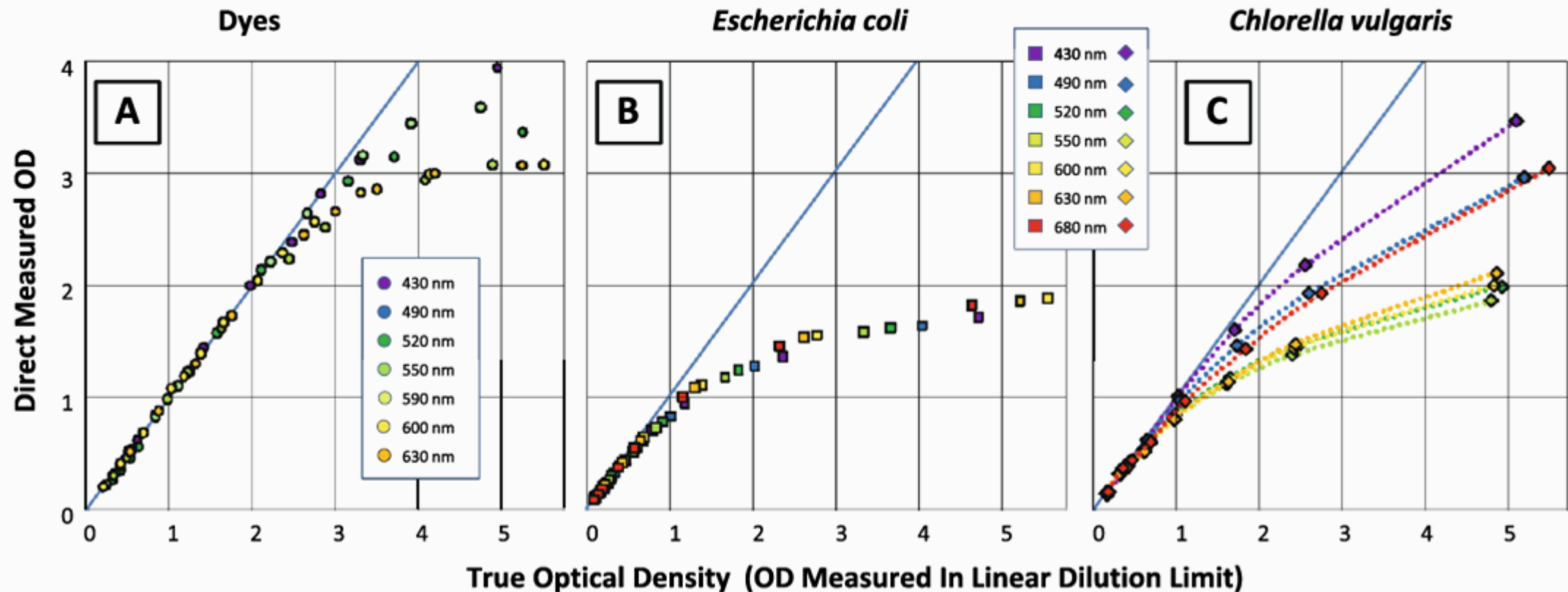
Mecanismos de atenuación:

- Absorción: la luz es absorbida y convertida a otra forma de energía.
- Dispersión: la luz es absorbida y reemitida en una dirección diferente (a la misma frecuencia: elástica).

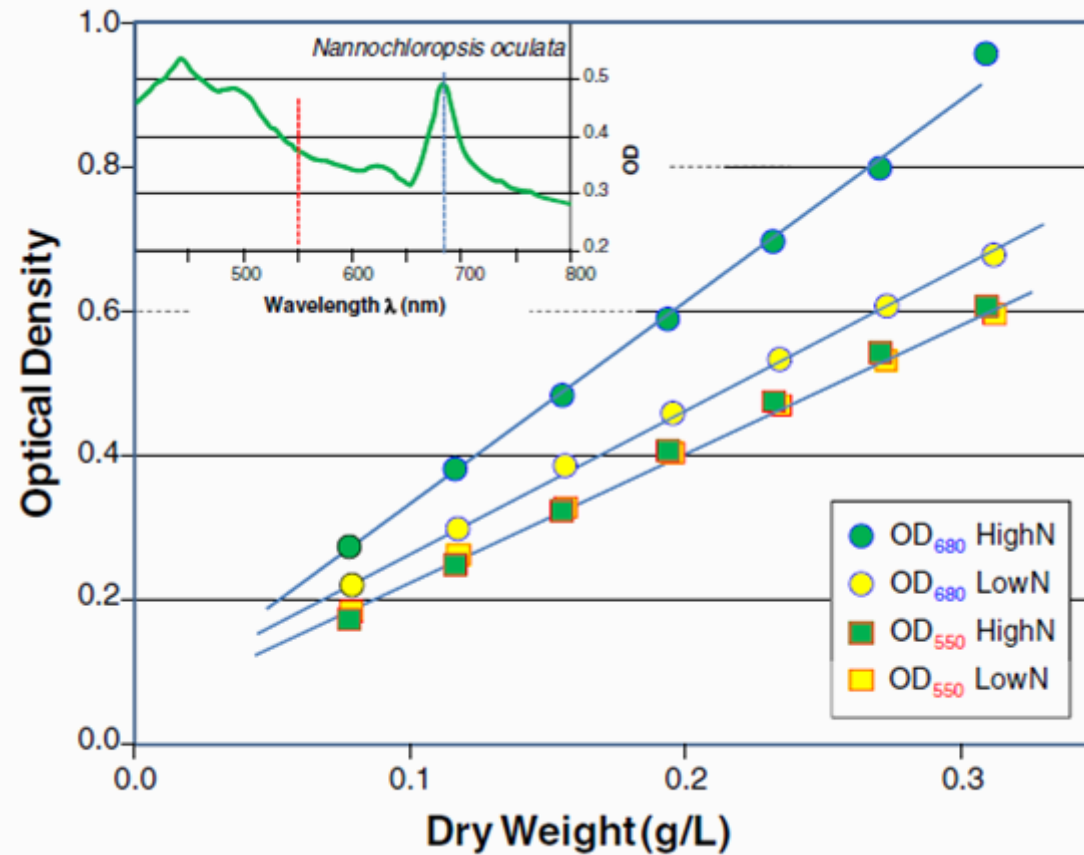


Densidad óptica

- No son mutuamente excluyentes. Parte de la energía se convierte a otro tipo y el resto se emite a una longitud de onda mayor(inelástica) → Disminución de rango.
- La absorción sucede a longitudes de onda específicas relacionadas a los pigmentos-> selección de longitud de onda.

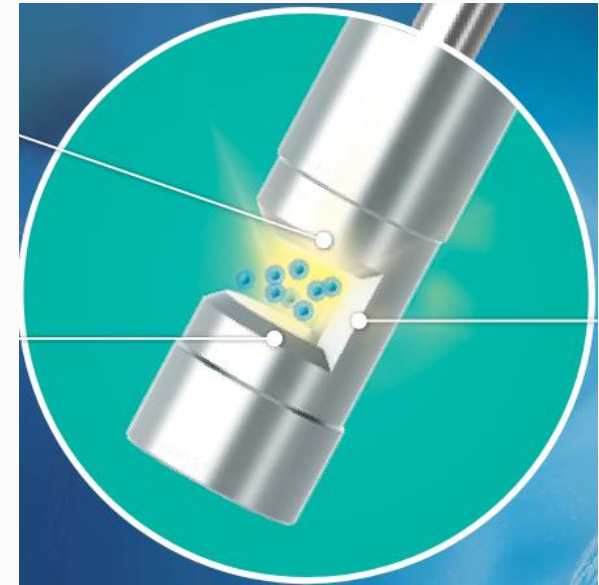


Densidad óptica



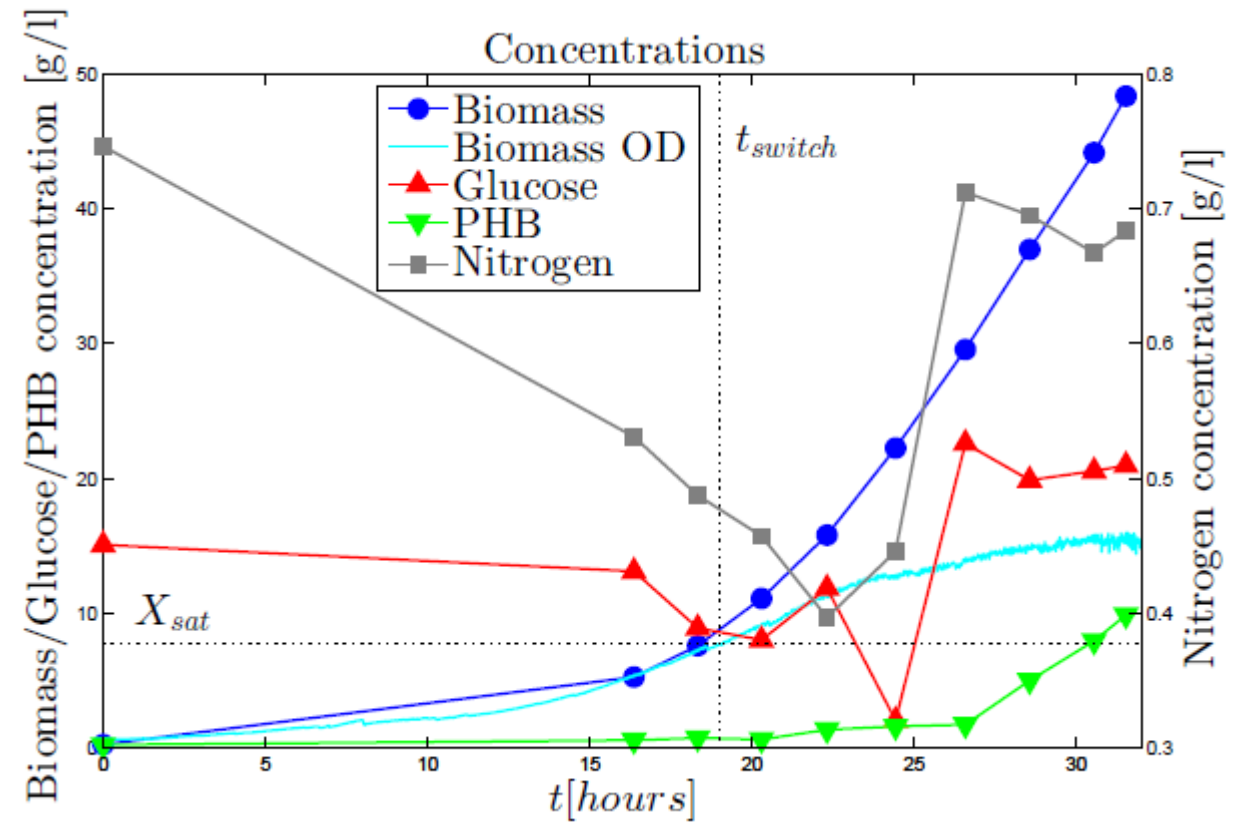
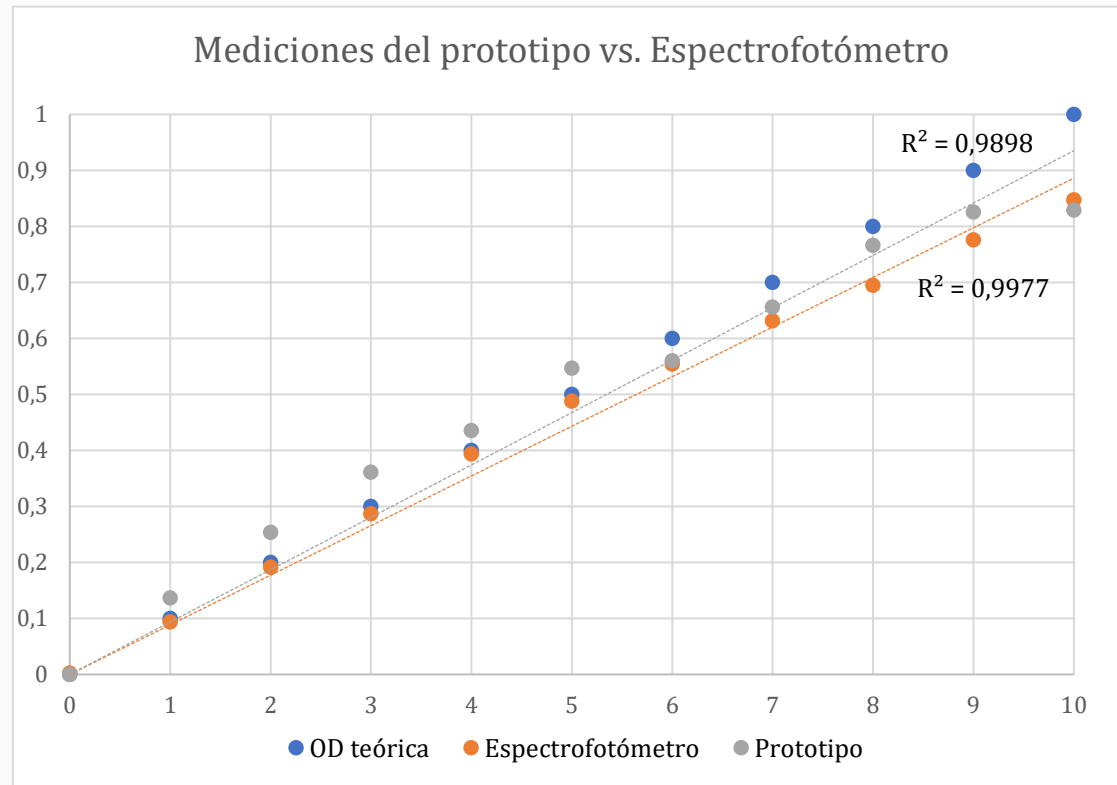
La correlación es más robusta si se selecciona una longitud de onda de poca absorción.

Densidad óptica

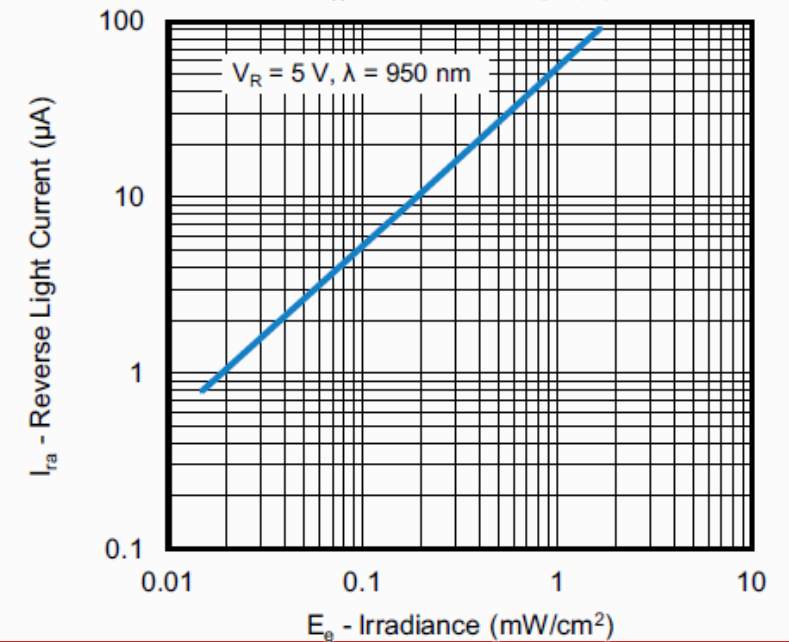
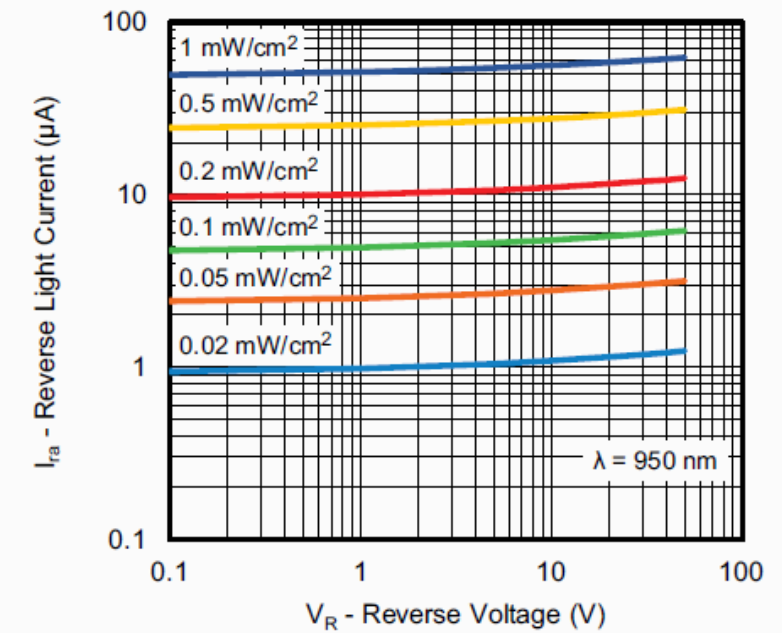
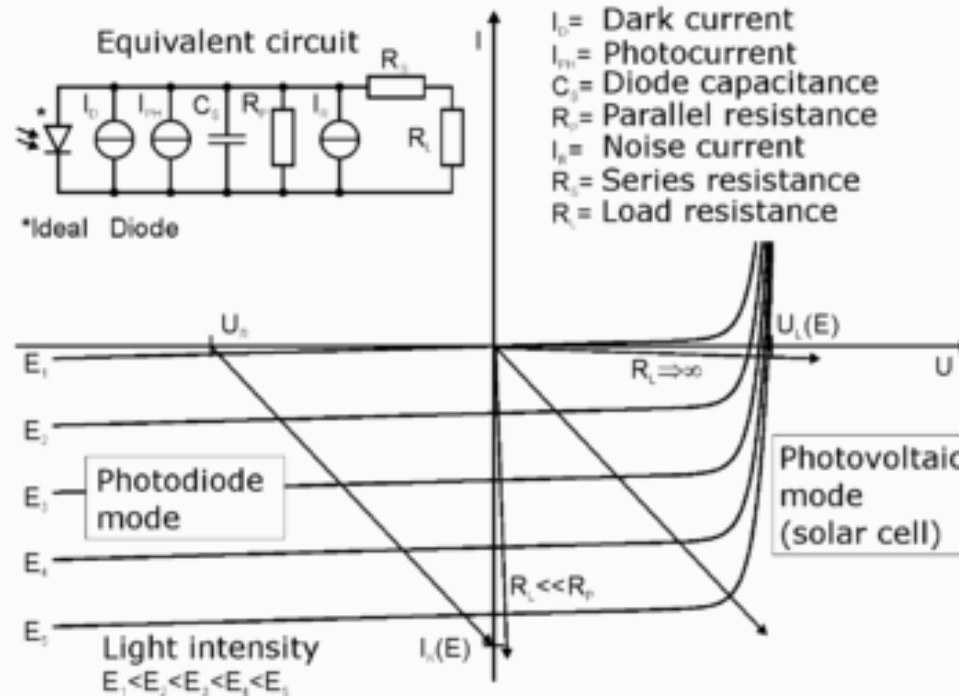
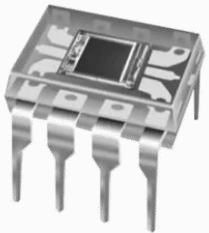


HAMILTON

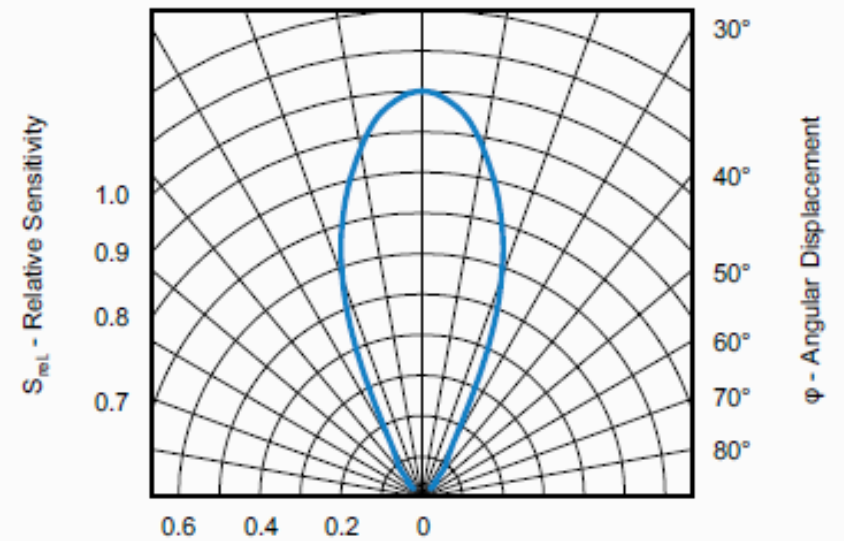
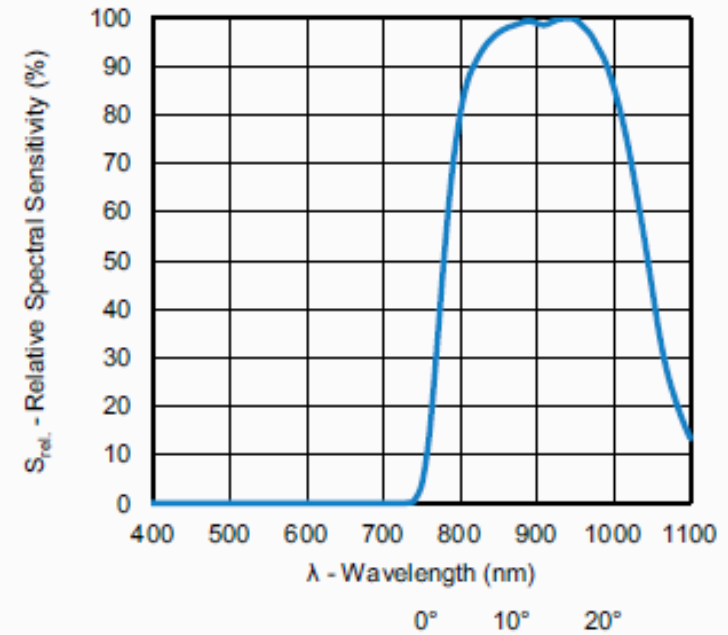
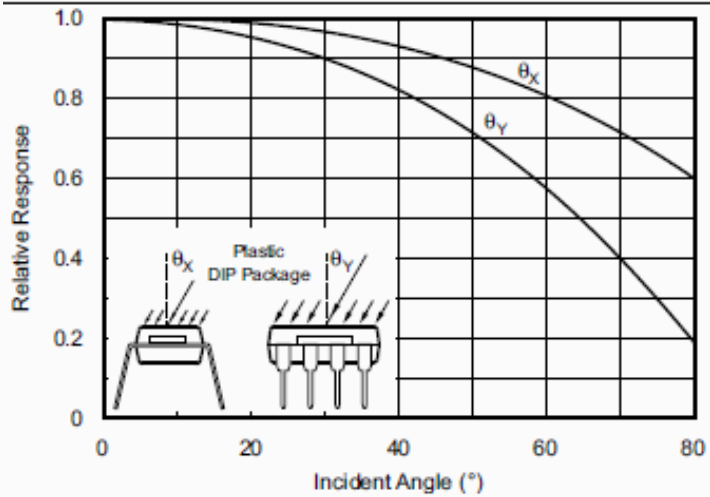
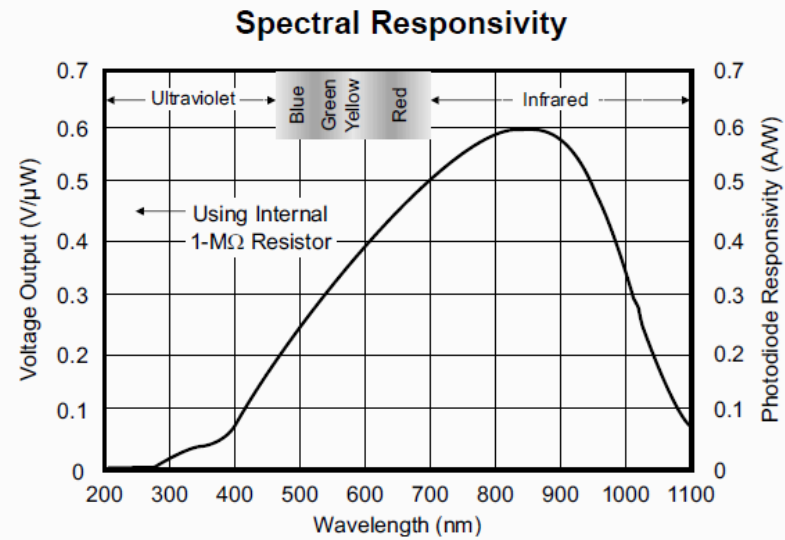
Densidad óptica



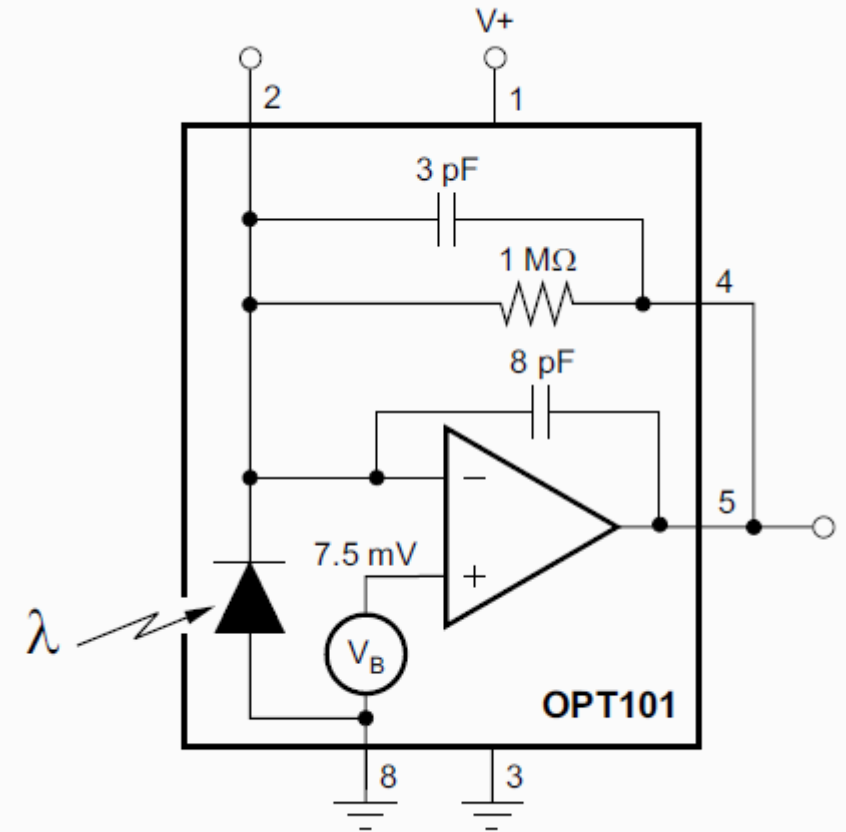
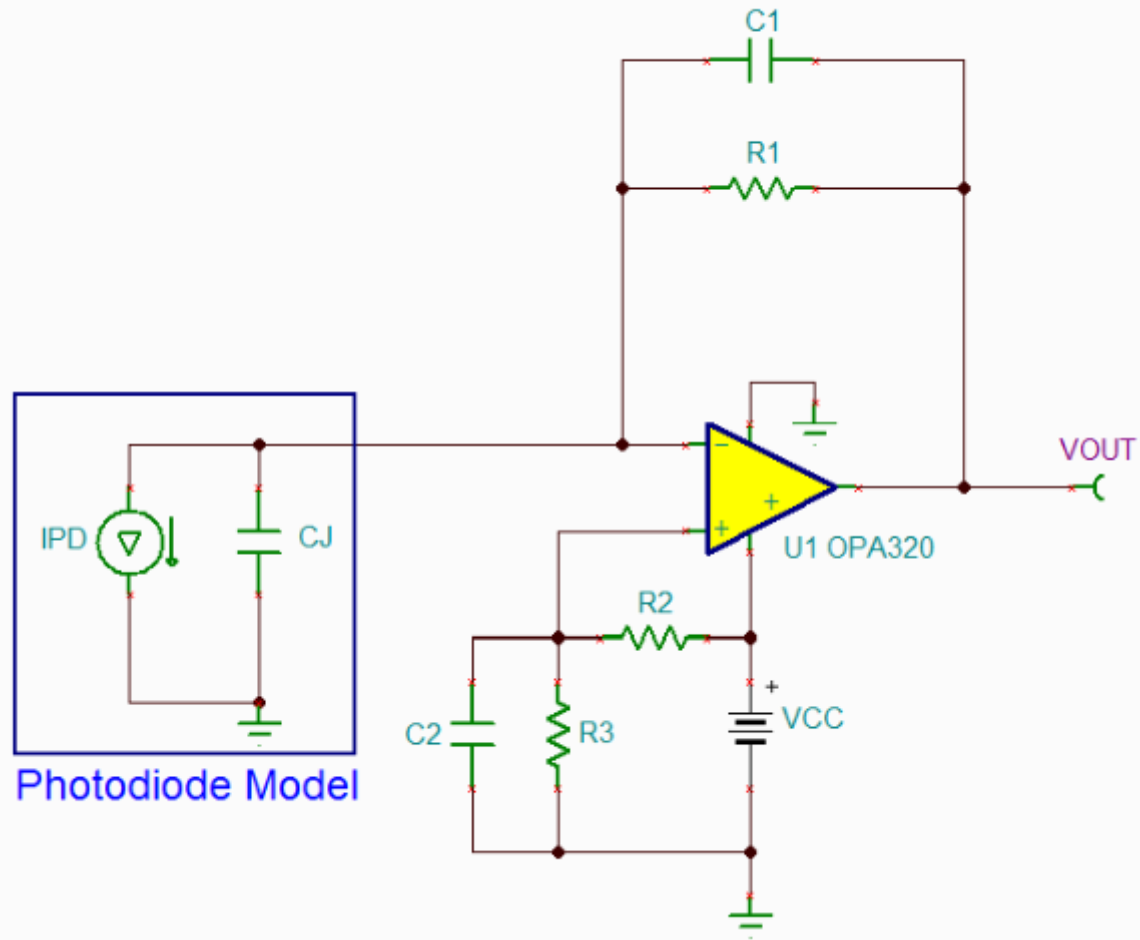
Fotodiodos



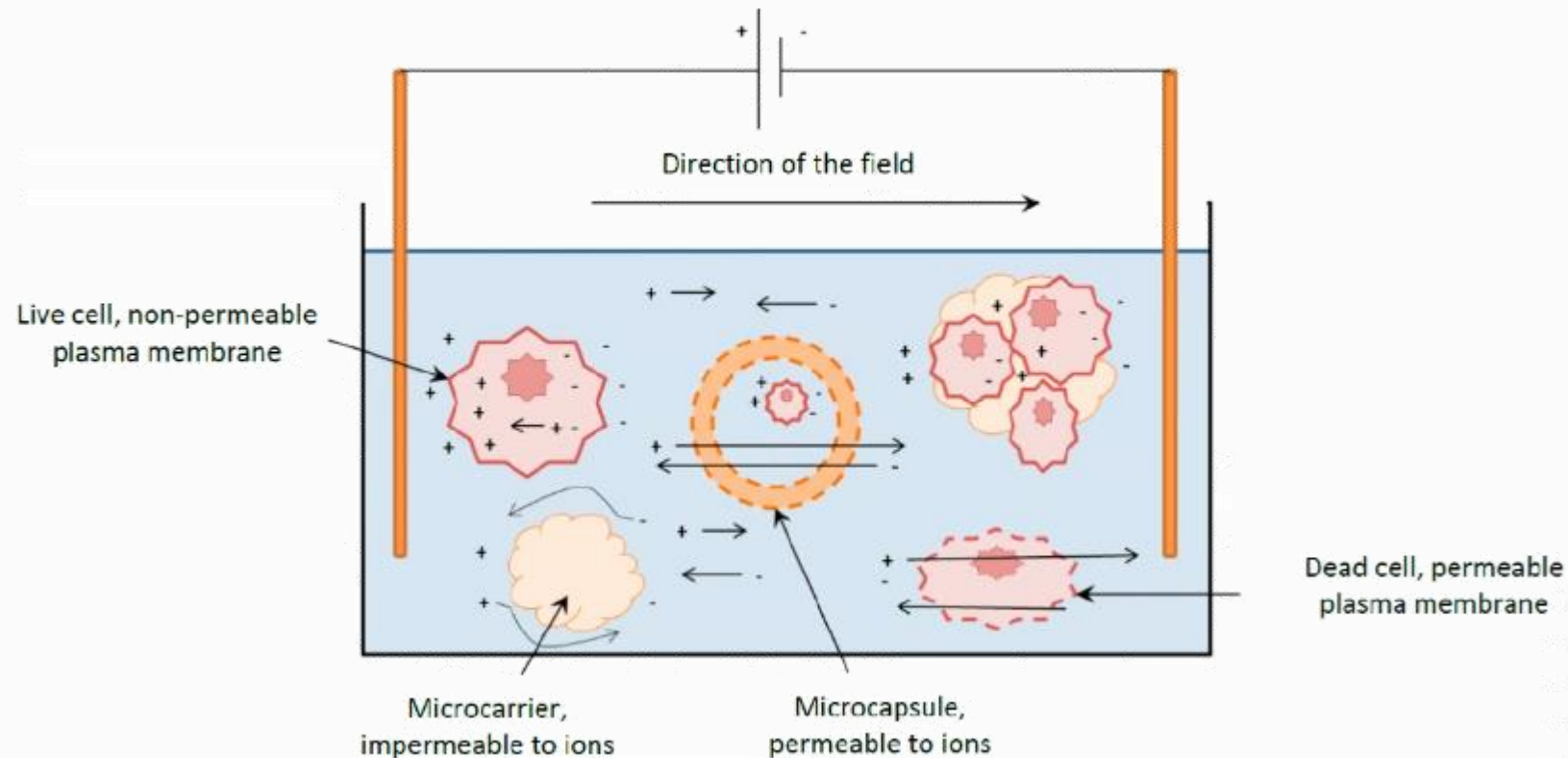
Fotodiodos



Acondicionamiento para fotodiodos

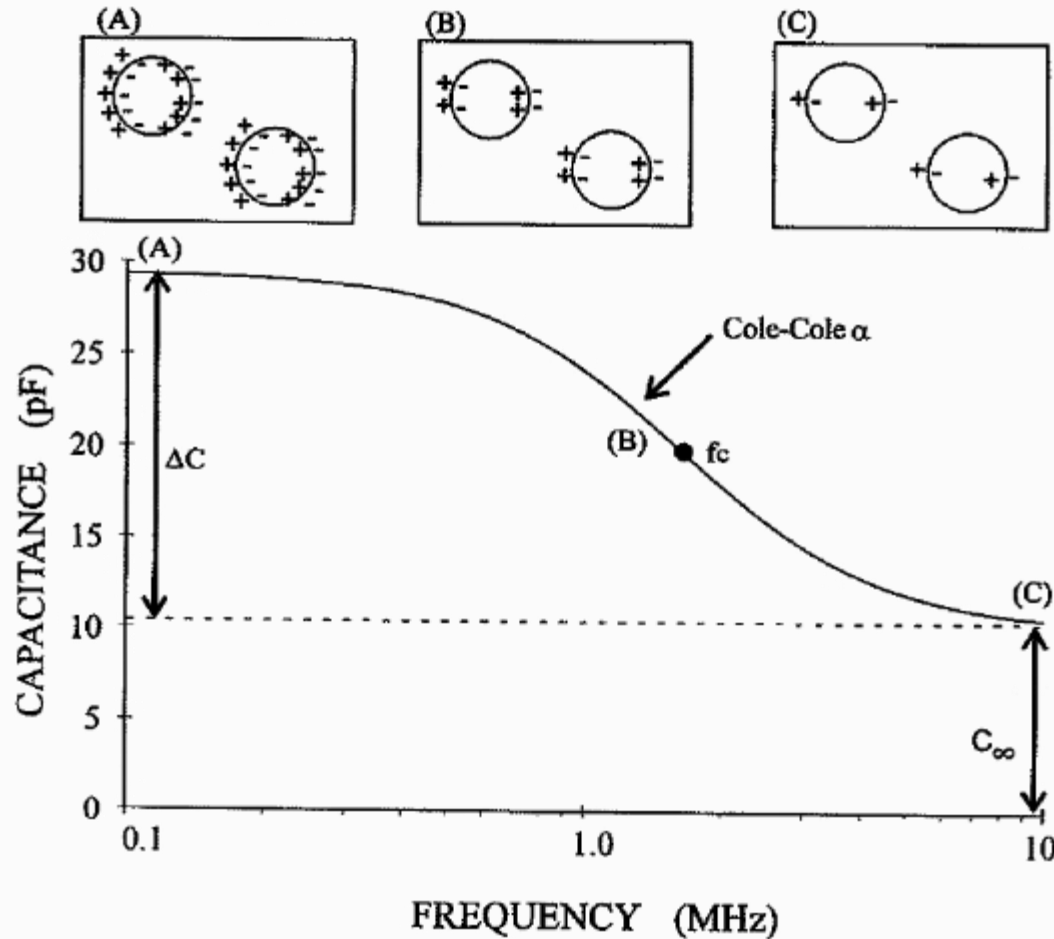


Espectroscopía dieléctrica



Bajo la influencia de un campo eléctrico, se produce una separación de cargas (iones) en las células, que actúan como pequeños capacitores.

Espectroscopía dieléctrica

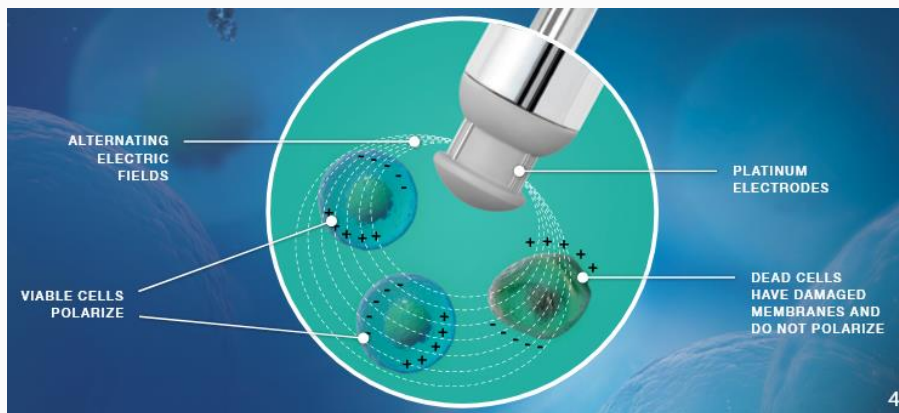
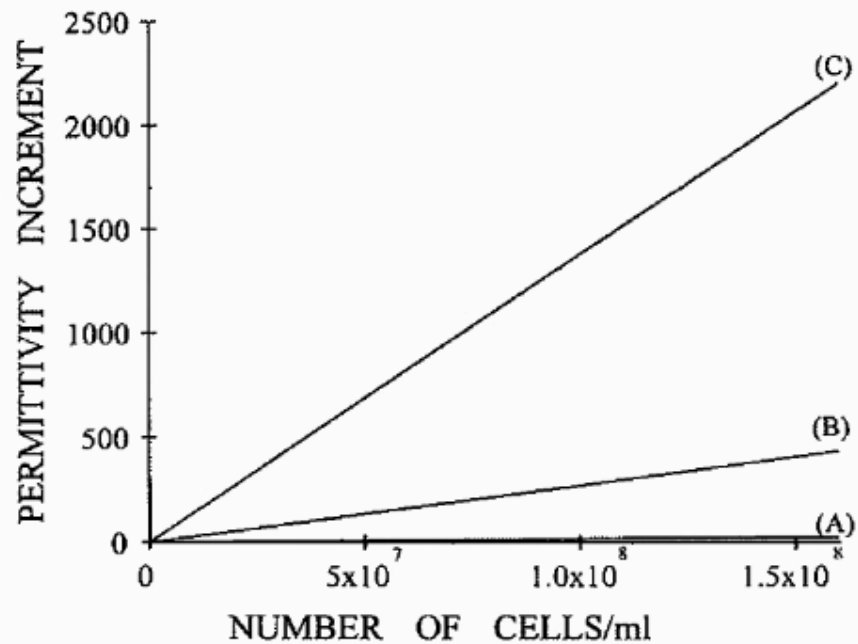


Si se aplica un campo variable en el rango de 0,1 a 10MHz (dispersión beta) se producen cambios en la polarización, relacionados con la movilidad de las cargas.

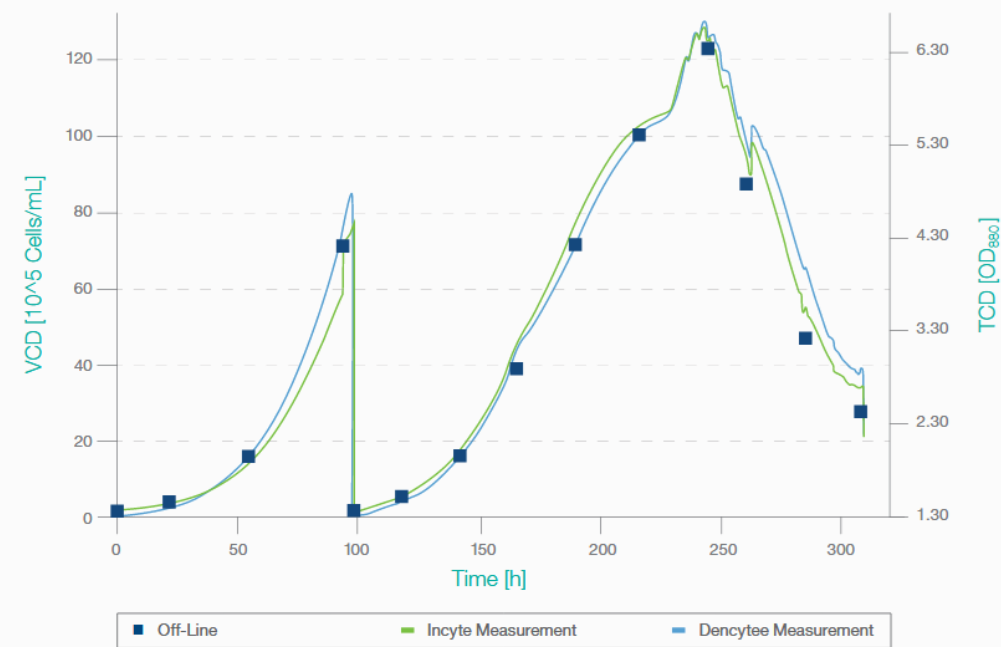
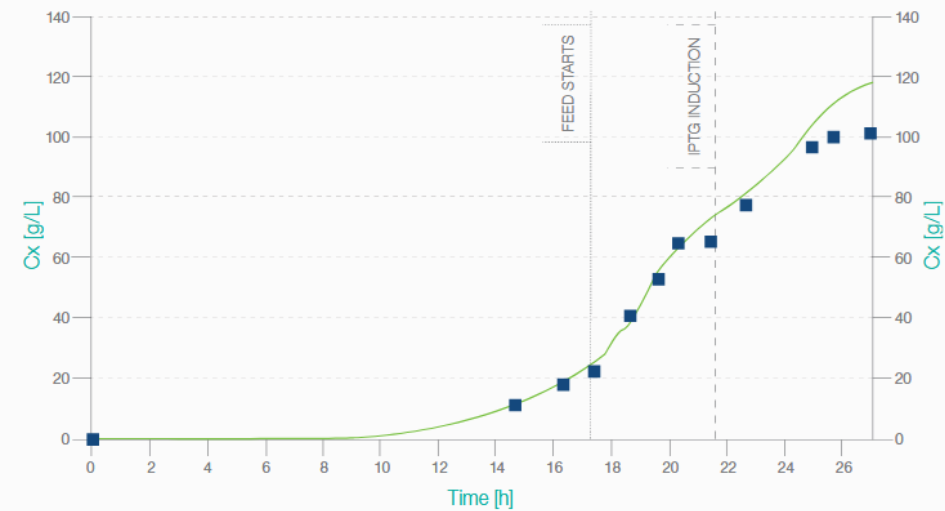
$$C = \frac{C_0 - C_\infty}{1 + \left(\frac{f}{f_c}\right)^{1-\alpha}} + C_\infty$$

$$\varepsilon = C \cdot \frac{K}{\varepsilon_0}$$

Espectroscopía dieléctrica



4



Referencias

- Hamilton Company, pH Measurement Guide
- Analog Devices, Circuit Note CN-0326, Isolated Low Power pH Monitor with Temperature Compensation.
- ST, Application Note AN4348, Signal conditioning for electrochemical sensors