

## Desarrollo y Evaluación de un Potenciostato Electrónico Digital de Bajo Costo para la Cuantificación de Sustancias Químicas Mediante Biosensores Amperométricos

José Luis González-Vidal<sup>a,1</sup>, Carlos Andrés Galán-Vidal<sup>b,2\*</sup>, Francisco Morales-Jiménez<sup>a,3</sup>, Miguel García-Dávila<sup>a,4</sup> y Mayra Reyes-Ángeles<sup>a,5</sup>

<sup>a</sup> Área Académica de Computación y Electrónica, ICBI, Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Col. Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

<sup>b</sup> Área Académica de Química, ICBI, Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, Col. Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

---

### Resumen

En este trabajo se describe el diseño, desarrollo y evaluación de un potenciostato de bajo costo para la cuantificación de sustancias química mediante biosensores amperométricos. El instrumento hace uso de amplificadores operacionales (opamps) y, una etapa de conversión analógica-digital con un display digital para determinar la corriente de oxidación de ferrocianuro de potasio. El equipo desarrollado fue evaluado con un electrodo de carbón vítreo y electrodos serigráficos de carbono en buffer de fosfatos 0.1 M en NaCl 0.1 M pH = 7.0. Los resultados de las mediciones del potenciostato son equivalentes a los obtenidos mediante un instrumento comercial y en ambos casos se ubican en el rango de los nanoamperes, destacando así su alta sensibilidad.

*Palabras Clave:* Potenciostato nanoamperométrico, biosensores electroquímicos, opamp.

---

---

<sup>1</sup> José Luis González Vidal, Profesor-Investigador Titular de Área Académica de Computación y Electrónica de la UAEH. Ingeniero en Electrónica (1993) por el Instituto Tecnológico de Orizaba. Maestro (1994) y Doctor (2006) en Ingeniería Eléctrica por el CINVESTAV-IPN.

<sup>2</sup> Carlos Andrés Galán-Vidal, Profesor-Investigador Titular del Área Académica de Química de la UAEH. Químico Farmacéutico Biólogo (1990) y Maestro en Físicoquímica (1993) por la UNAM. Doctor en Química por la Universidad Autónoma de Barcelona (1996). Autor de correspondencia.

<sup>3</sup> Francisco Morales Jiménez, Profesor de Asignatura del Área Académica de Computación y Electrónica de la UAEH. Ingeniería Eléctrica por el Instituto Tecnológico de Pachuca (1993).

<sup>4</sup> Miguel García Dávila, Egresado de Ingeniería en Electrónica y Telecomunicaciones del Área Académica de Computación y Electrónica, UAHEH (2010).

<sup>5</sup> Mayra Reyes Ángeles, Egresada de Ingeniería en Electrónica y Telecomunicaciones del Área Académica de Computación y Electrónica, UAHEH (2010).

\* Autor en correspondencia.

Correos electrónicos: [jlvidal@uaeh.edu.mx](mailto:jlvidal@uaeh.edu.mx), [galanv@uaeh.edu.mx](mailto:galanv@uaeh.edu.mx), [ciscofran@gmail.com](mailto:ciscofran@gmail.com), [mreyesangeles@gmail.com](mailto:mreyesangeles@gmail.com) y [garcia.d.miguel@gmail.com](mailto:garcia.d.miguel@gmail.com).

## 1. Introducción

Muchos de los esfuerzos dentro del campo de la química analítica, están dirigidos a la simplificación del proceso analítico, reduciendo en gran medida su complejidad y costo. En la actualidad y como fruto de estas inquietudes, destaca la integración de sensores electroquímicos con instrumentos electrónicos, los cuales permiten realizar el análisis con elevada sensibilidad y fiabilidad en intervalos muy reducidos de tiempo; no obstante, estos equipos suelen ser altamente sofisticados y costosos, por lo que se encarece su utilización.

Entre los métodos electroanalíticos más simples y asequibles se encuentra la amperometría. Esta técnica consiste en la medición o seguimiento de la corriente eléctrica generada como resultado de una reacción electroquímica que se lleva a cabo en la interface de un electrodo con la solución que contiene la especie química de interés o analito; dicha medición es posible al imponer un potencial fijo y suficiente para que la reacción electroquímica tenga lugar. La característica clave en la amperometría es que la corriente medida sea proporcional a la concentración del analito. La simplicidad de la técnica ha permitido diversas aplicaciones, principalmente en el desarrollo de biosensores (Reddy, 2000). Las ventajas del desarrollo de la detección amperométrica han sido extendidas para la determinación in situ de moléculas importantes, incluyendo aquellas de relevante significado biológico. La determinación de glucosa en la sangre es una de las aplicaciones de biosensores amperométricos más ampliamente estudiada, aunque esta idea ha sido extendida a otros analitos como: colesterol, urea, triglicéridos, ácido úrico, creatinina, etc. (Donald, 2013).

Los sensores químicos son dispositivos analíticos que permiten generar una señal eléctrica a partir de la composición de una muestra. Están constituidos fundamentalmente por un receptor o elemento de reconocimiento y un transductor; de tal manera que, al interactuar el receptor con el analito, se genera una señal primaria (cambio de resistencia, producción de algún compuesto, etc.) que el transductor se encarga de transformar en una señal eléctrica proporcional a la concentración del analito. Cuando el elemento de reconocimiento es de origen biológico (enzimas, anticuerpos, etc.), el sensor químico es denominado biosensor (Hernández, 2013).

Para trabajar con biosensores electroquímicos se requiere de un potenciostato, el cual es un instrumento que permite imponer un potencial fijo a un electrodo (biosensor), para producir la perturbación deseada y registrar simultáneamente la intensidad de corriente, el potencial y el tiempo en el que transcurre. El equipo es conectado a la celda electroquímica, la cual típicamente consiste de una celda de tres electrodos denominados de trabajo, auxiliar (contraelectrodo) y de referencia.

En la instrumentación moderna el potenciostato, así como los amplificadores y otros módulos empleados para acondicionar las señales de corriente y potencial, son dispositivos electrónicos analógicos construidos con amplificadores operacionales (Wang, 2010) (Bard, 2000).

La figura 1 muestra el diagrama esquemático básico de un potenciostato; donde se controla el voltaje existente entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia sumergidos en una celda electroquímica. El potenciostato realiza el control por inyección de corriente dentro de la celda a través del

electrodo auxiliar. La variable controlada en un potenciostato es el potencial de la celda y la variable medida es la corriente de la celda. En la figura 1, el símbolo X1 indica que es un amplificador diferencial de ganancia unitaria; la salida de voltaje de este circuito es la diferencia entre sus dos entradas. Voltaje y Corriente \*R<sub>m</sub> son las señales de voltaje y corriente que son enviadas al sistema de conversión (Franco, 2014).

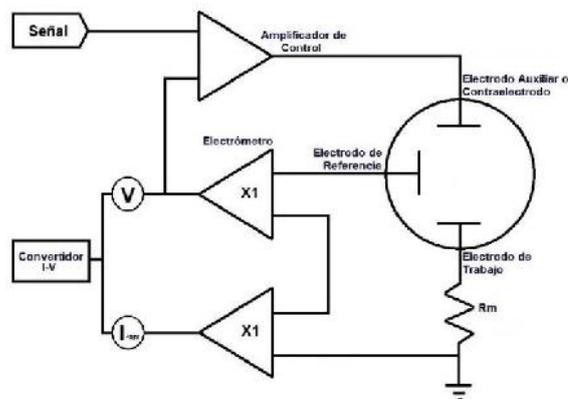


Figura 1. Diagrama esquemático simplificado de un potenciostato de Gamry Instruments.

## 2. Desarrollo

En la figura 2 se representa el funcionamiento estructurado del potenciostato mediante un diagrama a bloques; en este caso constituido como un nanoamperímetro al imponer un potencial fijo y registrar las bajas corrientes que comúnmente se obtienen de los biosensores. La celda electroquímica representada en el diagrama, es el dispositivo utilizado para llevar a cabo las reacciones de reconocimiento y de transferencia de electrones (electroquímicas). Los electrodos introducidos en la celda son los encargados de hacer el contacto eléctrico con la solución a analizar.

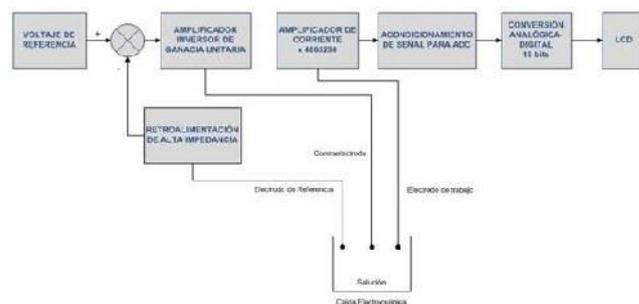


Figura 2. Diagrama a bloques del nano amperímetro conectado a una celda electroquímica.

A continuación, se describe de manera breve cada bloque mostrado en el diagrama, su funcionamiento y configuraciones correspondientes (Gamry Instruments, 2017).

2.1. Voltaje de referencia

Este genera un voltaje de referencia ajustable, gracias a su estabilidad y bajo ruido permite proveer un voltaje de corriente directa CD estable. El dispositivo que realiza esta función es la referencia de voltaje KIA431, la figura 3 representa el diagrama interno del componente.

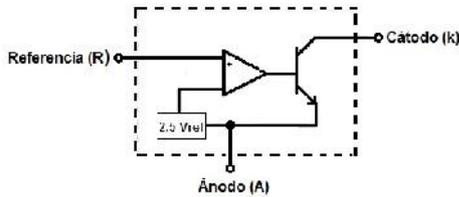


Figura 3. Diagrama del KIA431.

2.2. Amplificador inversor de ganancia unitaria

El amplificador inversor de ganancia unitaria impone el potencial constante del voltaje de referencia en el electrodo auxiliar (CE); se utiliza un amplificador operacional de potencia OPA541. Este amplificador utiliza dos configuraciones de manera simultánea, la configuración de amplificador inversor de la figura 4 para obtener una retroalimentación negativa y como amplificador seguidor de voltaje (figura 5) que consigue la ganancia unitaria. El voltaje de salida  $V_0$  del amplificador inversor, está denotado por:

$$V_0 = -\frac{V_1}{R_1} R_2 \quad (1)$$

Donde  $R_1 = R_2$ , esto significa que el voltaje de salida  $V_0$  tiene valor del voltaje de entrada con polarización invertida (Franco, 2014) (Driscoll, 2004).

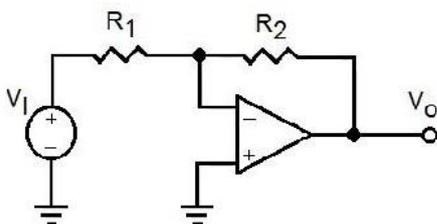


Figura 4. Amplificador Inversor.

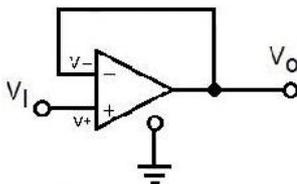


Figura 5. Seguidor de voltaje.

2.3. Retroalimentación de alta impedancia

El electrodo de referencia (RE) realiza la retroalimentación. La característica principal de la retroalimentación, es su alta impedancia, de tal manera que la corriente no pasa por este lazo, sino por el electrodo de trabajo. Se utiliza un opamp CA3140 y la representación es mostrada en la figura 6 (Franco, 2014) (Driscoll, 2004).

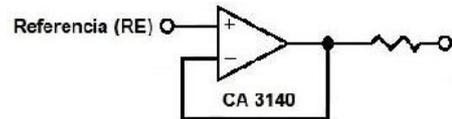


Figura 6. Retroalimentación de alta impedancia.

2.4. Amplificador de corriente

La corriente del electrodo de trabajo (WE) es amplificada por un factor ((bits de conversión 15625)/966.479) y convertida a voltaje. Para disminuir la resistencia de la red de realimentación y no afectar la precisión del circuito, se utiliza una red T (convertidor I-V) para lograr una alta sensibilidad. El dispositivo que realiza esta función es el OPA129U, un amplificador operacional monolítico de ultra baja corriente de polarización (figura 7) (Franco, 2014) (Driscoll, 2004).

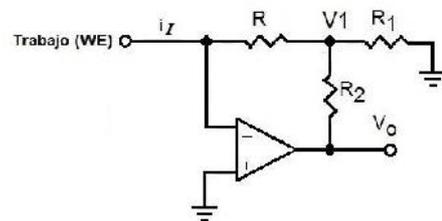


Figura 7. Amplificador convertidor de I-V.

$$A = 1 = \frac{V_0}{V_I} \quad R_i = \infty \quad R_o = 0 \quad (2)$$

y

$$V_0 = i_1 \frac{R_2 + R_2 R}{R_1 + R} \quad (3)$$

2.5. Acondicionamiento de la señal para ADC

La salida del convertidor de corriente se ajusta al máximo voltaje de entrada del ADC de 18 bits. Para realizar el ajuste se utiliza la siguiente configuración con los opamps CA3140 (figura 8).

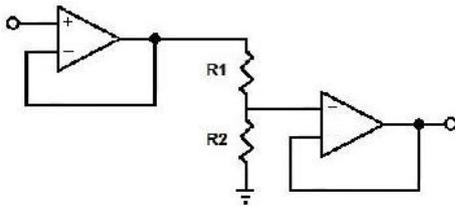


Figura 8. Acondicionamiento de señal para el convertidor analógico-digital (ADC).

## 2.6. Conversión analógica digital

Se utiliza un convertidor MCP3421 que es un convertidor de un solo canal de bajo ruido y de alta precisión de conversión A/D, de 18 bits controlado por un PIC18F4585 y con una capacidad de 3.75 muestras por segundo (sps). Para el despliegue de la información se utilizó un display de cristal líquido (LCD); en este último elemento del diagrama, se muestran los valores de la conversión en una LCD (figura 9). En la figura 10 se muestra la imagen del circuito impreso en 3D del potencióstato diseñado y fabricado (Reyes, 2010).



Figura 9. Pantalla LCD donde se despliegan los datos de conversión.

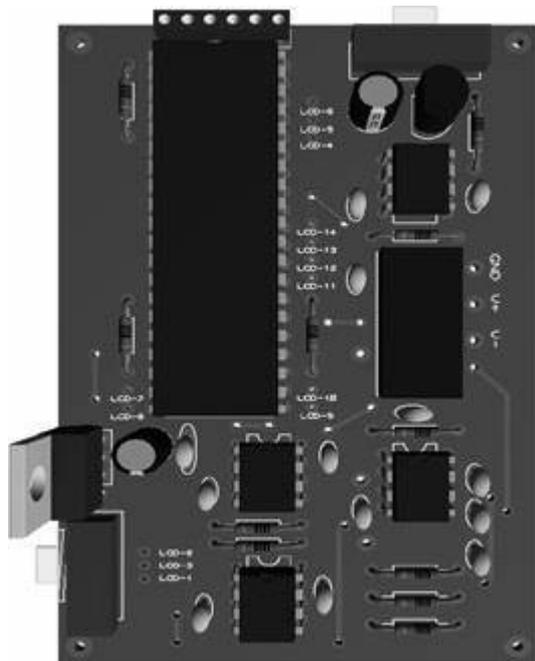


Figura 10. Imagen en 3D del circuito impreso del potencióstato.

## 2.7. Instrumentación

Para los estudios en celda convencional se utilizó un electrodo de referencia de doble camisa de Ag/AgCl ORION 90200; además se utilizaron el electrodo de trabajo de carbón vítreo BAS y como electrodo auxiliar un electrodo de anillo de platino METROHM. Para los electrodos en configuración plana la celda electroquímica se constituyó por un electrodo de referencia de Ag/AgCl (1x3 mm), un electrodo de trabajo de grafito (2x3 mm) y un electrodo auxiliar de 4x3 mm. Los registros cronoamperométricos fueron obtenidos mediante un amperímetro BAS LC-4C y el equipo desarrollado en régimen convectivo por agitación magnética.

Una vez preparados el buffer y la solución de ferrocianuro de potasio 10 mM, los electrodos son sumergidos ligeramente para registrar las corrientes conectándolos al nanoamperímetro desarrollado o al comercial. Una vez conectados los electrodos, se enciende el nanoamperímetro y se espera el tiempo suficiente para que se establezca la lectura (3 minutos aproximadamente). Enseguida que el nanoamperímetro se ha estabilizado, se agregan sucesivamente 20  $\mu$ L de la solución de ferrocianuro de potasio 10 mM y en la pantalla LCD del nanoamperímetro se visualiza la corriente detectada en nanoamperes; al agregar lentamente las adiciones de ferrocianuro se observan los cambios y se toma nota del desempeño de los equipos.

Después de ejecutar las series de pruebas con el nanoamperímetro, se sigue la misma metodología para el amperímetro BAS LC-4C, se conectan los electrodos a este equipo, y ahora se evalúa el desempeño del nanoamperímetro contra el equipo comercial BAS LC-4C.

## 3. Resultados

Para evaluar el comportamiento del nanoamperímetro, se obtuvieron los registros cronoamperométricos haciendo seis adiciones sucesivas de ferrocianuro (Figura. 11a). Dichos registros fueron obtenidos también con el equipo comercial LC-4C. En ambos casos se utilizó el electrodo de trabajo de carbón vítreo.

Como puede observarse, ambos equipos registran corrientes similares, aunque el instrumento desarrollado presenta mayor ruido. Este hecho puede resolverse en futuras versiones incorporando un filtro más eficiente que el de 1.5 Hz diseñado originalmente. Es importante mencionar que los registros del equipo comercial se obtuvieron con un filtro de 0.1 Hz.

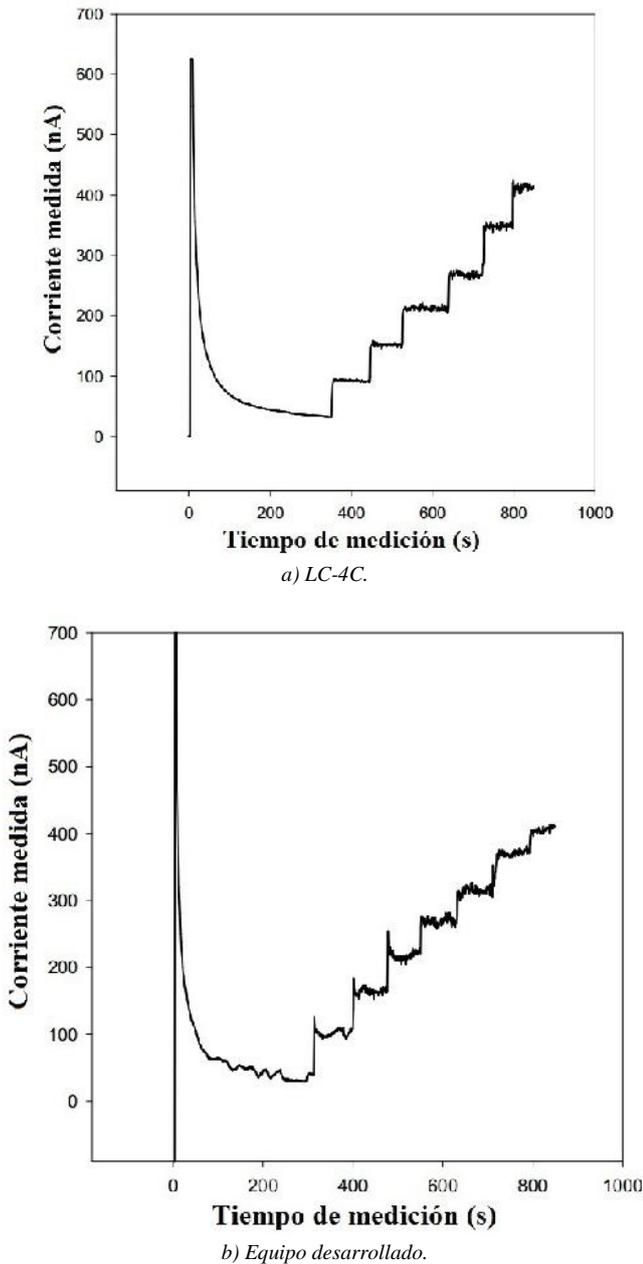


Figura 11. Registros cronoamperométricos para adiciones sucesivas de 20 µL de ferrocianuro de potasio 10 mM a 20 mL de buffer de fosfatos 0.1 M en NaCl 0.1 M pH = 7.0. a) LC-4C, b) equipo desarrollado.

A partir de las mesetas obtenidas después de cada adición, es posible obtener el promedio de corriente; así como su porcentaje de desviación estándar relativa. A partir de estos resultados se construyeron las respectivas curvas de calibración (Tabla 1).

De acuerdo a los resultados mostrados anteriormente, es posible comprobar el buen desempeño del nano amperímetro desarrollado; ya que en términos de corriente y desviación estándar es muy similar a su contraparte comercial (Figura. 12).

Con la finalidad de confirmar el buen desempeño del nanoamperímetro, se obtuvieron registros cronoamperométricos con los electrodos serigráficos de carbono en configuración plana; mismos que son la plataforma fundamental para desarrollar biosensores amperométricos.

Cabe destacar que el orden de corrientes obtenidas es equivalente al registrado por dichos biosensores y que los gráficos se obtienen para una sola concentración en virtud del carácter desechable de los dispositivos electroquímicos. Los resultados obtenidos con tres sensores diferentes se presentan en la figura 13 para ambos equipos y se puede observar que el comportamiento es similar, aunque la estabilidad de la respuesta es menor que con el electrodo de carbón vítreo. Asimismo, es notable el mayor ruido registrado por el equipo desarrollado; mismo que se eliminará en futuras versiones con un circuito adicional de filtrado de la señal.

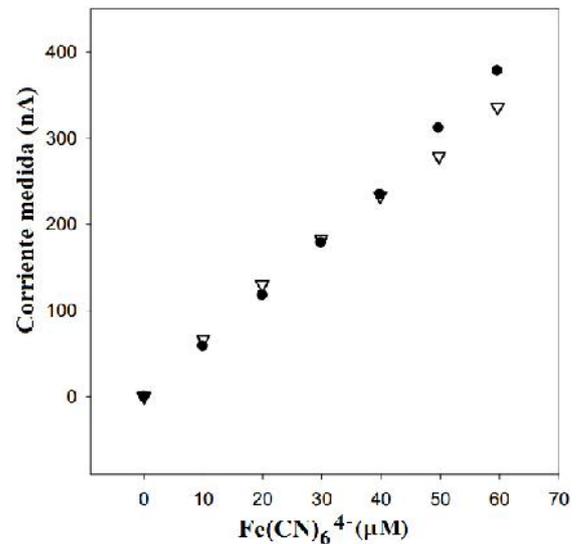
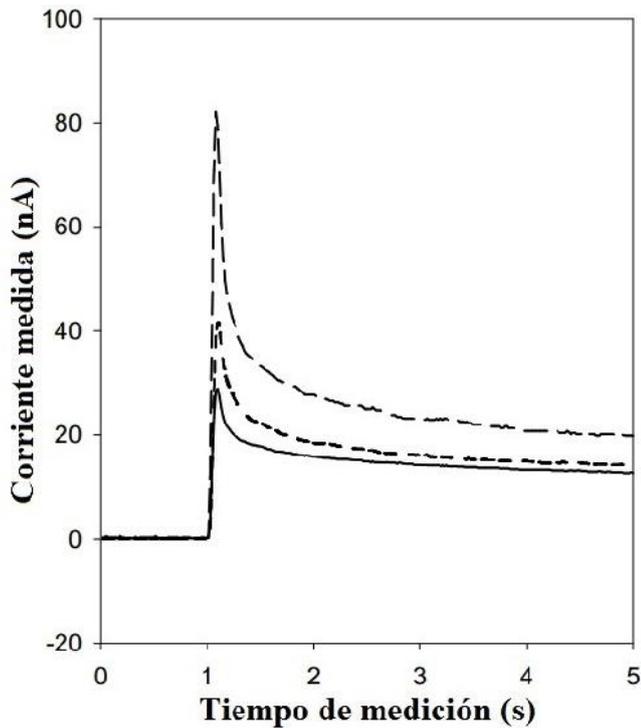


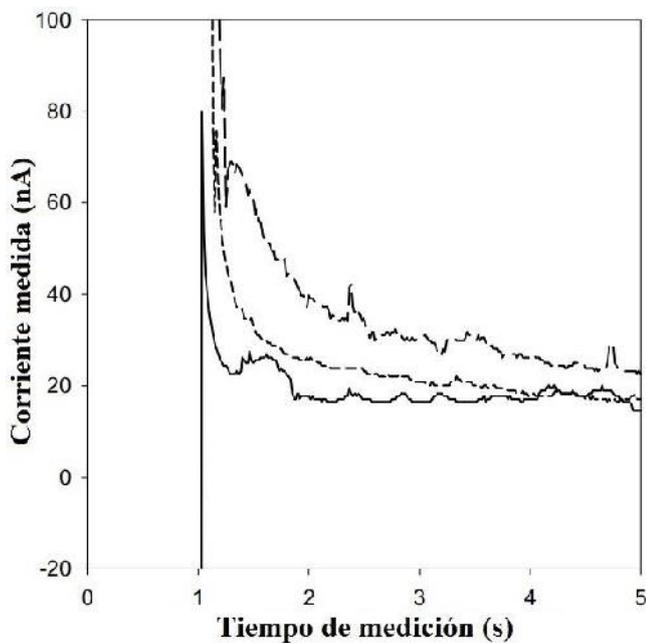
Figura 12. Curvas de calibración de ferrocianuro de potasio, obtenidas a partir de los registros cronoamperométricos mostrados en la figura 11.

Tabla 1. Resultados de registros cronoamperométricos.

Ferrocianuro (µM)	Equipo comercial LC-4C			Equipo desarrollado		
	i (nA)	ds	% dsr	i (nA)	ds	% dsr
0.00	34.4	1.0	2.9	33.8	4.6	13.5
9.99	93.0	1.0	1.1	100.5	4.2	4.2
19.96	152.1	2.1	1.4	163.8	4.6	2.8
29.91	212.6	2.8	1.3	216.3	5.7	2.6
39.84	268.8	3.7	1.4	266.7	7.9	2.9
49.75	345.8	11.8	3.4	312.5	10.1	3.2
59.64	412.1	4.4	1.1	369.2	3.9	1.1



a) LC-4C.



b) Equipo desarrollado.

Figura 13. Registros cronoamperométricos para tres sensores electroquímicos planos en ferrocianuro de potasio  $9.99 \mu\text{M}$  en buffer de fosfatos  $0.1 \text{ M}$  en  $\text{NaCl } 0.1 \text{ M}$   $\text{pH} = 7.0$ . a) LC-4C. b) equipo desarrollado.

En cuanto a la magnitud promedio de la corriente obtenida a partir de los tres sensores, en cada caso se presenta mayor corriente en el equipo desarrollado; muy probablemente debido al filtro de  $0.1 \text{ Hz}$  del LC-4C (Figura 14).

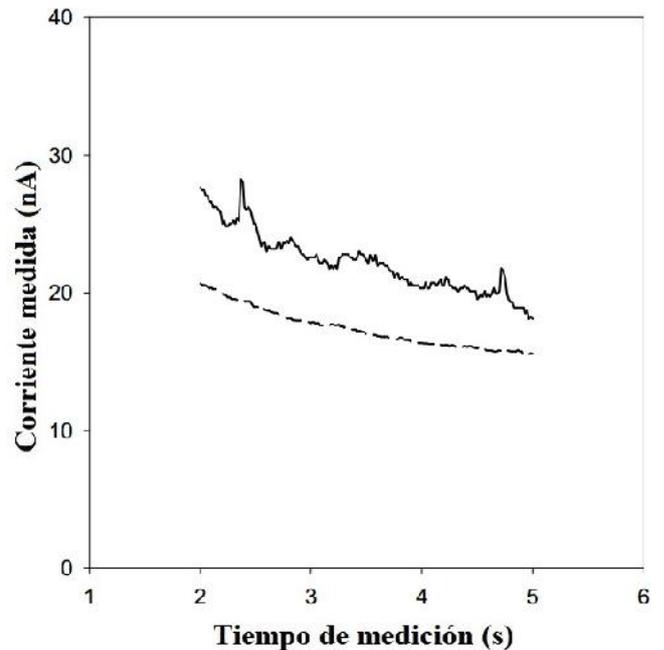


Figura 14. Registros cronoamperométricos promedio para tres sensores electroquímicos planos en ferrocianuro de potasio  $9.99 \mu\text{M}$  en buffer de fosfatos  $0.1 \text{ M}$  en  $\text{NaCl } 0.1 \text{ M}$   $\text{pH} = 7.0$ . Abajo LC-4C. Arriba equipo desarrollado.

#### 4. Conclusión

Cada serie de pruebas, permitió evaluar el desempeño del nanoamperímetro desarrollado y realizar las modificaciones respectivas, corregir operaciones, revisar las configuraciones de los amplificadores para mejorar los resultados. En cada una de las gráficas se observa que el nanoamperímetro a pesar de contar con componentes de bajo costo, logra alcanzar resultados equivalentes a los que entrega el detector amperométrico comercial BAS LC-4C.

Entre los resultados registrados se obtuvieron corrientes del orden de los picoamperes ( $10^{-12} \text{ A}$ ), dando muestra de la calidad de detección con la que cuenta el equipo desarrollado a muy bajo costo en comparación con el equipo comercial BAS LC-4C.

Los niveles de corrientes medidas con eficiencia por parte de la instrumentación desarrollada, son totalmente compatibles para su integración con los biosensores electroquímicos. Así, el presente trabajo es un paso importante para constituir un sistema total de análisis portátil y económico de utilidad para cuantificar especies de interés biomédico o medioambiental.

#### English Summary

#### Development and Evaluation of a Low Cost Digital Electronic Potentiostat for the Quantification of Chemical Substances by Mean of Amperometric Biosensors

#### Abstract

This work describes the design, development and evaluation of a low cost potentiostat for the quantification of chemical substances by mean of amperometric biosensors. The instrument makes use of opamps and an analog-digital

conversion stage with a digital display to determine the oxidation current of potassium ferrocyanide. The developed equipment was evaluated with a vitreous carbon electrode and screen printed carbon electrodes in phosphate buffer 0.1 M in 0.1 M NaCl pH = 7.0. The results of the signals of the potentiostat are equivalent to those obtained by a commercial instrument and in both cases are located in the range of the nanoamperes, emphasizing its high sensitivity.

#### *Keywords*

Nanoamperometric potentiostat, electrochemical biosensors, opamp.

#### **Agradecimientos**

El presente trabajo ha sido financiado gracias a los apoyos del CONACyT (proyectos 62462 y 242677) y de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. J.L.G.V y C.A.G.V. agradecen al SNI la distinción y estímulo recibido.

#### **Referencias**

- Bard, A., & Faulkner, L. (2000). *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, 2nd Edition*. New York.: John Wiley & Sons.
- Donald, M. (2013). *Fundamentals of Analytical Chemistry [International Edition] (9th Edition)*. International Edition..
- Driscoll, R. F. (2004). *Operational Amplifiers and Linear Integrated Circuits, 6th ed.*. Prentice-Hall.
- Franco, S. (2014). *Desing with Operational Amplifiers and Analog Integrated Circuits, 4th ed.*. McGraw-Hill.
- Gamry Instruments. (01 de mayo de 2017). *Gamry Instruments*. Obtenido de Potentiostat Primer: <https://www.gamry.com/application-notes/instrumentation/potentiostat-fundamentals/>
- Hernández-Cruz, Mónica et al, (2013). "Behavior of Two and Three Electrode Configuration and Different Mediators in Working Electrode on Development of Disposable Screen-Printing Biosensors for Sensible Determination of Free Cholesterol", *Journal of The Mexican Chemical Society*, (Jmcs11091), Abril de 2013.
- Reddy, K.-A. (2000). *Modern electrochemistry*. Springer Science & Business Media..
- Reyes, Á. (05 de Agosto, de 2010). Desarrollo de un Nanoampémetro para la Cuantificación de Colesterol con Biosensores Electroquímicos.. *Tesis Ingeniería En Electrónica Y Telecomunicaciones, UAEH*. Mineral de la Reforma., Hidalgo., México.
- Wang, W.-S., Kuo, W.-T., Huang, H.-Y., & Luo, C.-H. (2010). Wide Dynamic Range CMOS Potentiostat for Amperometric Chemical Sensor.. *Sensors*., 1782-1797.