

Fosforímetro modular de bajo coste para la determinación *in situ* de oxígeno gaseoso

Santiago Medina Rodríguez⁽¹⁾, Carlos Medina Rodríguez⁽¹⁾, Ángel de la Torre Vega⁽²⁾,
José C. Segura Luna⁽²⁾, Jorge F. Fernández Sánchez⁽³⁾

smedina@ugr.es, cmedina@ugr.es, atv@ugr.es, segura@ugr.es, jffernan@ugr.es

⁽¹⁾MODOTIC S.L. Spin-Off UGR. C/ Pablo Picasso, 17. 18195 Cúllar Vega (Granada), España.

⁽²⁾Dpto. de Teoría de la Señal, Telemática y Comunicaciones. Universidad de Granada. ETS Ingenierías Informática y de Telecomunicación. C/ Periodista Daniel Saucedo Aranda, s/n. 18071 Granada (España).

⁽³⁾Dpto. de Química Analítica. Universidad de Granada. Facultad de Ciencias. Avda. Fuentenueva, s/n. 18071 Granada (España).

Resumen—In this work we present the architecture of a modular, portable and low-cost phosphorescence instrument for accurate determination of gaseous oxygen. This instrument implements a novel multifrequency phase-modulation method for luminescence spectroscopy based on a rectangular-wave modulated excitation source with a short duty cycle. From the Fast Fourier Transform (FFT) of the excitation and emission rectangular-wave signals, phase-shift- and modulation-factor-based apparent lifetimes are estimated at each harmonic independently (together with their corresponding standard errors) and optimally combined to improve the accuracy in the determination of oxygen. The accuracy of the phosphorescence instrument has been evaluated using a gas station. The experimental results show an excellent measurement accuracy with a similar performance to the most modern phosphorescence instruments.

I. INTRODUCCIÓN

La fosforescencia de una fase sensora está asociada a la desactivación radiativa de los estados excitados de un material fosforescente (proceso que implica la absorción y posterior emisión de fotones). En el caso de los materiales fosforescentes sensibles al oxígeno, la fosforescencia se ve alterada por la presencia de oxígeno, ya que el oxígeno produce mecanismos de desactivación no radiativos (sin emisión de luz). La desactivación no radiativa atenúa la fosforescencia (fenómeno conocido como ‘*quenching*’ de fosforescencia) y reduce tanto la intensidad luminiscente como el tiempo de vida de la luminiscencia. Por consiguiente, dado que la magnitud de dicha atenuación es una función de la concentración de oxígeno, una medida adecuada de la intensidad de la fosforescencia y/o del tiempo de vida, junto con una calibración apropiada, es el principio en el que se basa la instrumentación de fosforescencia para la detección de oxígeno [1]–[3].

El modelo más simple para describir una fase sensora fosforescente es una ecuación diferencial de primer orden, con una constante de tiempo (o tiempo de vida) como único coeficiente relevante, el cual es una función de la concentración del analito. La solución de esta ecuación describe la fosforescencia del sistema cuando éste es excitado con una luz pulsada, y se trata, sencillamente, de un decaimiento mono-exponencial caracterizado por la constante del tiempo de vida, mientras que la respuesta en frecuencia es un filtro paso-bajo de primer orden con una frecuencia de corte inversamente proporcional al tiempo de vida [4].

Desde el punto de vista de la instrumentación de detección de oxígeno, el tiempo de vida de fosforescencia puede determinarse tanto en el dominio del tiempo como en el dominio de la frecuencia [1]. Si bien ambos métodos son matemáticamente equivalentes, en la práctica, las medidas de tiempo de vida en el dominio de la frecuencia suelen ser las preferidas a la hora de diseñar nuevos instrumentos fosforimétricos [1], debido a que requieren de una instrumentación más sencilla y barata, y además presentan una mayor robustez frente al ruido. [2].

Gracias a los avances tecnológicos de los últimos años, se han reducido de manera muy significativa los costes de los dispositivos optoelectrónicos utilizados habitualmente para el registro de medidas fosforimétricas en el dominio de la frecuencia. Asimismo, cabe destacar también la irrupción en el mercado de nuevos y potentes mini-ordenadores y microcontroladores con prestaciones mejoradas, bajo coste y menor tamaño. Todos estos componentes y dispositivos proporcionan un nuevo contexto para el desarrollo de nuevos instrumentos de fosforescencia flexibles y baratos basados en medidas en el dominio de la frecuencia [1].

Bajo esta perspectiva, en este trabajo proponemos el desarrollo de un instrumento fosforimétrico flexible y de bajo coste, basado en medidas de tiempo de vida en el dominio de la frecuencia, que permite la determinación *in situ* y en tiempo real de la concentración de oxígeno gaseoso en diferentes escenarios de medida. Dicho instrumento presenta una arquitectura modular, y considera al sistema fosforescente como un sistema lineal, modelándolo con una ecuación diferencial lineal (o una respuesta en frecuencia). Esto permite la aplicación de técnicas avanzadas de procesamiento digital de señal para: proporcionar una caracterización óptima de la fase sensora, mejorar la precisión de la determinación de oxígeno, proporcionar un intervalo de confianza para la determinación de oxígeno (a partir del análisis espectral del ruido de fondo de la señal de emisión) o combinar de forma óptima la información de varios armónicos para obtener una medida más precisa y fiable de la determinación de oxígeno [7].

II. ARQUITECTURA DEL FOSFORÍMETRO

Hoy en día, la tecnología digital está desplazando a los instrumentos analógicos, con la consiguiente reducción de costes y mejora de las prestaciones de los actuales instrumentos de

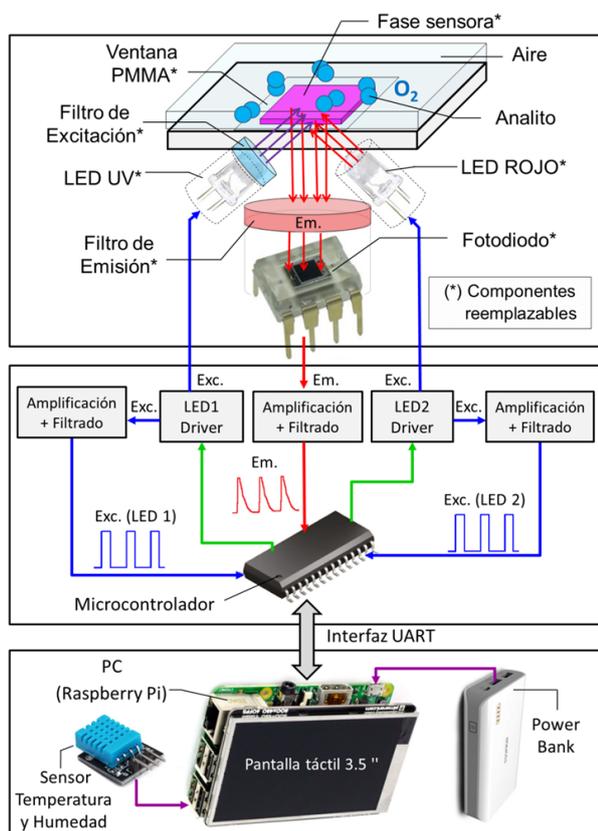


Fig. 1. Componentes principales del instrumento fosforimétrico desarrollado para la determinación de oxígeno.

medida de fosforescencia. Los últimos avances tecnológicos en el diseño y fabricación de mini-ordenadores, microcontroladores, componentes electrónicos/optoelectrónicos, etc., nos han permitido abordar el diseño de un instrumento de medida de fosforescencia portátil, modular, de bajo coste y de elevadas prestaciones para la determinación *in situ* de oxígeno gaseoso.

El equipo desarrollado presenta una arquitectura altamente modular, lo que permite reemplazar algunos de sus componentes ópticos/optoelectrónicos (en función de los requerimientos de medida y/o de la aplicación), así como configurar ciertos parámetros de la señal de excitación, la adquisición y el procesado digital de las señales luminiscentes de excitación y emisión. Esta flexibilidad de configuración del instrumento permite que pueda ser adaptado fácilmente a distintos escenarios de operación o requerimientos específicos, optimizando así la información proporcionada por la fase sensora.

En la Fig. 1 se muestra un diagrama de los elementos que conforman el instrumento fosforimétrico desarrollado. El subsistema óptico incluye dos LEDs (uno ultravioleta y otro rojo), un fotodetector (un fotodiodo preamplificado), dos filtros ópticos (uno de excitación y otro de emisión), una fase sensora óptica sensible a oxígeno y un soporte rígido transparente para la fase sensora (lámina de PMMA). El LED UV se usa para excitar la fase sensora, mientras que el LED rojo (con una longitud de onda en el mismo rango espectral que el de la emisión fosforescente de la fase sensora) se utiliza para calibrar la respuesta del fotodetector, es decir, para determinar el retardo 'hardware' introducido por el fotodetector y la electrónica analógica de acondicionamiento

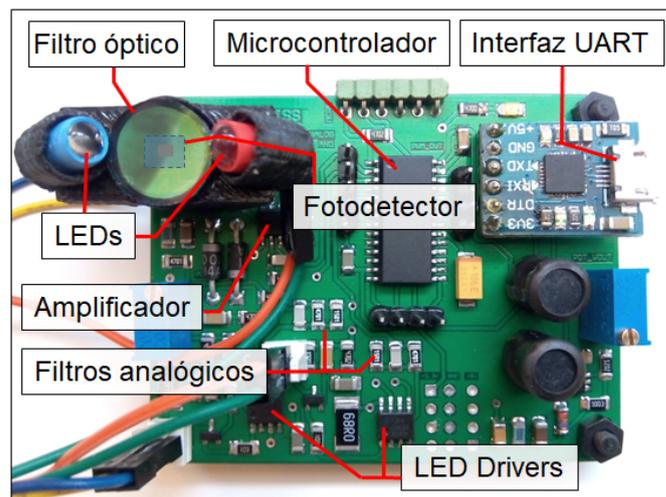


Fig. 2. Fotografía de la PCB que contiene los componentes ópticos y optoelectrónicos del instrumento de fosforescencia.

de las señales. La estimación del retardo hardware es esencial para garantizar una caracterización precisa de la fase sensora y para obtener una buena precisión de medida. Todos los componentes ópticos y optoelectrónicos del equipo son reemplazables (permite cambiar la fase sensora y acomodar el equipo a las nuevas longitudes de onda de excitación y emisión).

Cada LED es alimentado por su correspondiente circuito (*driver*), el cual recibe como entrada la señal de excitación (señal cuadrada) generada por un microcontrolador; este circuito proporciona la corriente suficiente para modular el LED con una intensidad adecuada. El LED driver también incluye un circuito para proporcionar una referencia analógica de la señal de excitación. El fotodiodo transforma la respuesta fosforescente de la fase sensora en una señal de naturaleza eléctrica (señal de emisión). La señal analógica proporcionada por el fotodiodo también es amplificada y filtrada por un circuito de acondicionamiento. Tanto la señal de excitación como la de emisión son digitalizadas (conversión AD) y registradas por el microcontrolador. El microcontrolador, los circuitos de acondicionamiento de señal y los elementos ópticos y optoelectrónicos del equipo han sido integrados en una placa de circuito impreso (PCB). Esta placa también incluye una interfaz UART (*universal asynchronous receiver/transmitter*) implementada a través de un conector micro-USB estándar, que permite el intercambio de datos entre el ordenador y la placa y también proporciona la alimentación para la PCB. En la Fig. 2 se muestra una fotografía de la PCB diseñada, que contiene el microcontrolador, el módulo de comunicación UART, todos los circuitos electrónicos (LED drivers, filtros y amplificadores) y los componentes ópticos y optoelectrónicos (LEDs, filtros ópticos y fotodiodo).

El ordenador del equipo (que podría ser cualquier PC de sobremesa, un portátil o una tablet) es un mini-PC (Raspberry Pi), al que hemos acoplado una pantalla táctil de 3.5 pulgadas y un sensor de temperatura y humedad para compensar el efecto de las condiciones ambientales durante el proceso de medida (véase la Fig. 1). Este ordenador configura el microcontrolador para realizar las medidas, recibe las muestras de las señales digitales de excitación y emisión almacenadas en el microcontrolador y realiza todo el procesamiento

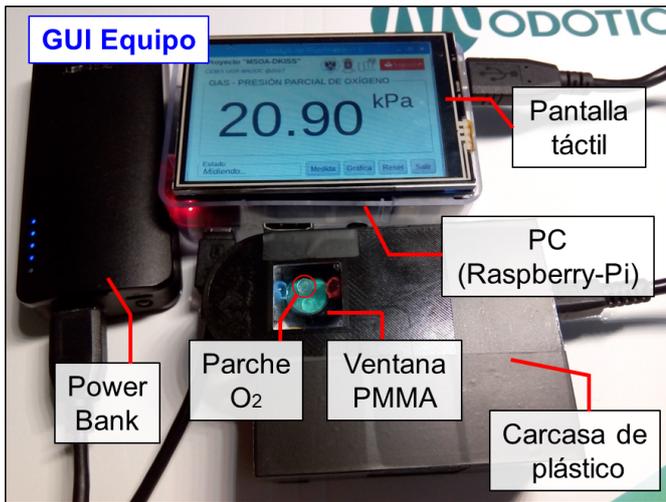


Fig. 3. Fotografía del instrumento de fosforescencia completo, incluyendo la unidad central de procesamiento (mini-ordenador Raspberry Pi con pantalla táctil), la PCB y la power bank.

digital de señal y las operaciones matemáticas necesarias para proporcionar una medida precisa de la concentración de oxígeno. También puede proporcionar una caracterización del sistema fosforescente si se configura para este propósito. Las medidas pueden ser representadas, transferidas o almacenadas en un archivo de registro según la configuración del sistema. Además, el equipo puede ser controlado y configurado de forma local o remota a través de una interfaz gráfica de usuario (GUI) sencilla e intuitiva. Todo el instrumento (incluyendo el mini-PC y la PCB) es alimentado con una *power bank* (o batería externa) convencional de 10000 mAh y una salida de 5V/2A. Por último, cabe destacar que el equipo tiene un diseño portátil y compacto (60 x 85 x 30 mm; 180 gr) que facilita su transporte. En la Fig. 3 se muestra una fotografía del instrumento de fosforescencia completo, incluyendo el circuito (dentro de una carcasa de plástico), el mini-ordenador Raspberry Pi y la power bank. Este equipo es un claro ejemplo de cómo los avances tecnológicos (en optoelectrónica, electrónica, microcontroladores y mini-ordenadores) permiten el diseño de instrumentos de fosforescencia flexibles, modulares y de bajo coste, incorporando algoritmos y técnicas de procesamiento avanzado de señales para optimizar la adquisición de información analítica.

III. PROCEDIMIENTO DE MEDIDA Y CALIBRACIÓN

El fosforímetro diseñado implementa un novedoso método de espectroscopia de luminiscencia de fase resuelta multifrecuencia, que utiliza señales de excitación rectangulares con un ciclo de trabajo corto (típicamente del 10%) para modular la fuente de iluminación LED (véase la Fig. 1). Estas señales de excitación rectangulares, a diferencia de las típicas señales sinusoidales utilizadas convencionalmente en la instrumentación de fosforescencia de fase resuelta, presentan la ventaja de poseer un elevado número de armónicos en el dominio de la frecuencia [3]. Esta característica permite realizar un análisis multifrecuencia de las señales luminiscentes registradas de excitación $S_{exc}[k]$ y emisión $S_{em}[k]$. Dicho análisis, basado en la FFT, puede realizarse digitalmente en un ordenador (o microcontrolador) de manera eficiente, y permite obtener simultáneamente medidas de la amplitud $A(f_i)$ y/o la fase

$\phi(f_i)$ de ambas señales en diferentes armónicos (f_i). Estas medidas permiten estimar los valores del factor de modulación y del desfase, $m(f_i)$ y $\varphi(f_i)$, o bien los tiempos de vida aparentes estimados a partir de éstos, $\tau_m(f_i)$ y $\tau_\varphi(f_i)$ [7]. A partir de los valores de $\tau_m(f_i)$ y $\tau_\varphi(f_i)$, y tras un proceso de calibración previo, el instrumento es capaz de proporcionar un conjunto de medidas independientes de la concentración de oxígeno (una para cada parámetro y frecuencia), junto con su correspondiente error estándar (estimado a partir del análisis espectral del ruido de la señal de emisión $S_{em}[k]$). Toda esta información puede ser combinada de forma óptima por el instrumento para proporcionar una única determinación de oxígeno más precisa y fiable. En la referencia [7] se describe de forma detallada el proceso de calibración del equipo y el procedimiento de medida para obtener una determinación precisa de la concentración de oxígeno en condiciones reales de operación usando el método multifrecuencia propuesto.

IV. RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSIÓN

El instrumento de fosforescencia diseñado ha sido evaluado con éxito en un entorno de laboratorio para la determinación precisa de oxígeno gaseoso. Para ello se ha utilizado una estación de gases (mezcla balanceada de gases de O_2/N_2) y una celda de flujo específica (que contiene al instrumento) para generar atmósferas controladas de oxígeno (pO_2) en el intervalo de 0 a 20 kPa. Para la detección de oxígeno se ha utilizado una fase sensora óptica sensible a oxígeno (compuesta por un indicador luminiscente de platino (II) inmovilizado dentro una matriz porosa de poliestireno [2]). La fase sensora es excitada con un LED UV modulado, usándose señales de excitación rectangulares con un ciclo de trabajo del 10%, una frecuencia fundamental de 1715 Hz y una duración de 200 ms (343 ciclos de señal). El registro de las señales se realiza a una tasa de muestreo de 100 kHz.

En el proceso de calibración del instrumento, se analizaron 625 señales de excitación/emisión considerando 17 valores de pO_2 en el rango de 0 a 20 kPa. Aplicando el método propuesto, se calcularon los valores del factor de modulación $m(f_i)$ y del desfase $\varphi(f_i)$ para los 5 primeros armónicos de la señal rectangular (esto es, para 1715, 3430, 5145, 6860 y 8575 Hz) en las distintas concentraciones de oxígeno evaluadas. A partir de estos valores, se estimaron los tiempos de vida aparentes promedio ($\tau_m(f_i)$ y $\tau_\varphi(f_i)$) para las distintas concentraciones y frecuencias, los cuales se utilizaron finalmente para obtener las curvas de calibración del equipo (ajustándolas a un modelo de Demas) [5]. En este caso, 10 curvas de calibración diferentes fueron obtenidas (5 para pO_2 [$\tau_m(f_i)$] y 5 para pO_2 [$\tau_\varphi(f_i)$]), las cuales se usaron de forma independiente para la determinación de pO_2 .

Para la evaluación del instrumento (modo de operación), se registraron 625 señales de excitación/emisión (idénticas a las de calibración, pero distintas de éstas) a diferentes concentraciones de pO_2 en el rango de 0.5 a 20 kPa, considerando también los 5 primeros armónicos de las señales. Por lo tanto, a partir de los tiempos de vida estimados ($\tau_m(f_i)$ y $\tau_\varphi(f_i)$), y aplicando las curvas de calibración correspondientes, se obtuvieron 10 estimaciones independientes de la concentración de oxígeno (5 para pO_2 [$\tau_m(f_i)$] y 5 para pO_2 [$\tau_\varphi(f_i)$]). Asimismo, a partir del análisis espectral del ruido de la señal de emisión (en una banda de frecuencias alrededor de cada

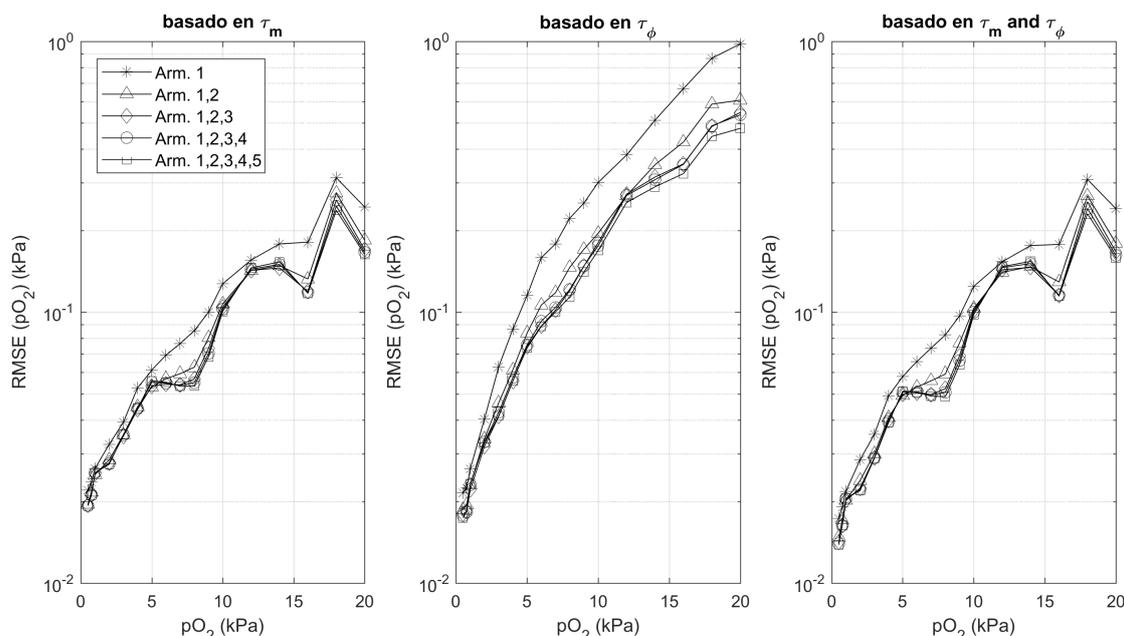


Fig. 4. Evaluación del RMSE en la determinación de oxígeno (pO_2) usando la técnica de modulación multifrecuencia con señales rectangulares y combinando la información de diferentes armónicos (de uno a cinco armónicos). Determinaciones de oxígeno a partir del tiempo de vida aparente basado en el factor de modulación, $\tau_m(f_i)$ (izquierda), el desfase, $\tau_\phi(f_i)$ (centro) o la combinación de ambos, $\tau_m(f_i)$ y $\tau_\phi(f_i)$ (derecha). El procedimiento utilizado para combinar las determinaciones independientes de pO_2 se basa en el análisis del ruido de la FFT de la señal de emisión registrada [7].

armónico f_i), y aplicando teoría de propagación de errores, se obtuvieron también los correspondientes errores estándar para las estimaciones de $\overline{pO_2}$ [7]. Dichos errores fueron usados por el método propuesto para combinar de forma óptima las estimaciones independientes de $\overline{pO_2}$ (promedio pesado), proporcionando así una determinación final de $\overline{pO_2}$ más precisa y exacta. En la Fig. 4 se muestra una evaluación de la respuesta del instrumento de fosforescencia propuesto (en términos del error cuadrático medio (RMSE) en la determinación de pO_2) cuando se combinan diferentes determinaciones independientes de $\overline{pO_2}$. Como puede apreciarse en las gráficas, los resultados experimentales muestran claramente que la combinación de determinaciones independientes de $\overline{pO_2}$ reduce el RMSE en la determinación de pO_2 (menor a medida que se combinan un mayor número de armónicos o cuando se combina la información de $\tau_m(f_i)$ y $\tau_\phi(f_i)$).

V. CONCLUSIONES

En este trabajo abordamos un sistema fosforescente como un sistema lineal con una entrada (excitación) y una salida (respuesta fosforescente), donde la teoría de señal es aplicada para optimizar la respuesta de los instrumentos de fosforescencia. Basándonos en este concepto y teniendo en cuenta los avances tecnológicos, en este trabajo describimos la arquitectura de un instrumento de fosforescencia modular, portátil y de bajo coste que permite la determinación *in situ* y en tiempo real de la concentración de oxígeno gaseoso. Dicho instrumento se basa un novedoso método de medida multifrecuencia (basado en la FFT) que utiliza señales de excitación rectangulares con un ciclo de trabajo corto. La información analítica es obtenida realizando un procesamiento digital de las señales de excitación y emisión en un mini-ordenador. Una de las principales ventajas del método propuesto es que permite estimar en tiempo real la incertidumbre asociada a las medidas, lo que permite combinar de forma óptima determina-

ciones independientes de oxígeno para proporcionar una única determinación de oxígeno más precisa y fiable (comparable a la de los más avanzados equipos de laboratorio).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de investigación ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (Ayuda Torres Quevedo PTQ-15-07912) y el CEMIX UGR-MADOC (Proyecto MSOA-DKISS-10-2016).

REFERENCIAS

- [1] J.R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, Kluwer Academic, New York, 2nd edn, 1999.
- [2] S. Medina-Rodríguez, A. de la Torre-Vega, J.F. Fernández-Sánchez and A. Fernández-Gutiérrez, "An open and low-cost optical-fiber measurement system for the optical detection of oxygen using a multifrequency phase-resolved method," *Sens. Actuators B*, vol.176, pp. 1110-1120, Jan. 2013.
- [3] S. Medina-Rodríguez, A. de la Torre-Vega, F.J. Sainz-Gonzalo, M. Marín-Suárez, C. Elosúa, F.J. Arregui, I.R. Matías, J.F. Fernández-Sánchez and A. Fernández-Gutiérrez, "Improved multifrequency phase-modulation method that uses rectangular-wave signals to increase accuracy in luminescence spectroscopy," *Anal. Chem.*, vol. 86, pp. 5245-5256, May 2014.
- [4] D.B. Papkovsky and R.I. Dmitriev, *Quenched-phosphorescence Detection of Molecular Oxygen: Applications in Life Sciences*, The Royal Society of Chemistry, Detection Science Series No. 11, pp.117-144, Apr. 2018.
- [5] S. Medina-Rodríguez, A. de la Torre-Vega, C. Medina-Rodríguez, A. Fernández-Gutiérrez and J.F. Fernández-Sánchez, "On the calibration of chemical sensors based on photoluminescence: Selecting the appropriate optimization criterion," *Sens. Actuators B*, vol. 212, pp. 278-286, Feb. 2015.
- [6] M. Cajlakovic, A. Bizzarri, C. Konrad and H. Voraberger, *Optochemical sensors based on luminescence: Encyclopedia of Sensors*, American Scientific Publishers, 1st edn, 2006, vol. 7.
- [7] C. Medina-Rodríguez, S. Medina-Rodríguez, A. de la Torre-Vega, J.F. Fernández-Sánchez and A. Fernández-Gutiérrez, "Real-time optimal combination of multifrequency information in phase-resolved luminescence spectroscopy based on rectangular-wave signals," *Sens. Actuators B*, vol. 238, pp. 221-225, Jan. 2017.