



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 156 073**

⑫ Número de solicitud: 009900675

⑤① Int. Cl.⁷: C09B 47/04

G01N 27/12

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫② Fecha de presentación: **26.03.1999**

⑫③ Fecha de publicación de la solicitud: **01.06.2001**

Fecha de concesión: **09.01.2002**

⑫⑤ Fecha de anuncio de la concesión: **01.03.2002**

⑫⑤ Fecha de publicación del folleto de patente:
01.03.2002

⑦③ Titular/es:
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
Plaza de Sta. Cruz, 8
47002 Valladolid, ES

⑦② Inventor/es: **Saja González, Raúl de;**
Saja Sáez, José Antonio de y
Rodríguez Menéndez, María Luz

⑦④ Agente: **No consta**

⑤④ Título: **Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas depositadas sobre microelectrodos.**

⑤⑦ Resumen:

Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas depositadas sobre microelectrodos. Red de sensores electrónicos basados en el uso de películas delgadas de espesor controlado, de ciertos semiconductores orgánicos (ftalocianinas y derivados), cuya resistividad varía al ser expuestos a los vapores procedentes de la descomposición del pescado o marisco. Las señales obtenidas son directamente proporcionales a la cantidad de aminas volátiles emitidas por el pescado, por lo que la red de sensores permite evaluar su estado de conservación.

ES 2 156 073 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. C/Panamá, 1 - 28036 Madrid

DESCRIPCION

Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas depositadas sobre microelectrodos.

Campo técnico de la invención

La patente se desarrolla en el campo del análisis sensorial aplicado al control de calidad de alimentos, y por tanto está en estrecha vinculación con la industria de la alimentación. Los sensores se han desarrollado utilizando tecnología de nuevos materiales con ayuda de la tecnología microelectrónica.

Estado de la técnica

Durante el proceso post-mortem de los pescados y mariscos, la actividad microbiológica da lugar a la producción de bases volátiles (amoníaco, dimetilamina y trimetilamina). La concentración de estas bases aumenta con el tiempo, por lo que su cuantificación constituye un método indirecto para determinar la frescura del pescado o del marisco (J.R. BOTTA. "Evaluation of Seafood Freshness Quality". VCH Eds. (1995); J.J. CONNELL, P.F. HOWGATE, "Fish and Fish Products. In: Herschdoerfer S.M., ed. "Quality Control in the food Industry". Vol. 2. London: Academic Press (1986) pp. 347-405).

En particular, diversos autores coinciden en la posibilidad de utilizar una determinación química, basada en la cuantificación de la trimetilamina (TMA), como parámetro indicador de la frescura del pescado (C.E. HERBARD, G.J. FLICK, R.E. MARTIN, "Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products", in R.E. MARTIN, G.J. FLICK and D.R. WARD, eds. Westport C.T. AVI (1982) PP. 149-304; J.OERLENSHLAGER. "Evaluation of some well established and some underrated indexes for the determination of freshness and/or spoilage of ice stored wet fish "in Quality assurance in the fish industry (Huss, H.H. Jakobsen, M. And Liston J. Eds) pp339-350, Elsevier (1995)). El principal problema que presentan estos ensayos de tipo químico es que habitualmente requieren procesos largos, costosos y complicados, lo que impide conocer "in situ" el estado de frescura del pescado. Es necesario pues, desarrollar nuevos métodos rápidos, no destructivos y fiables para la detección de las aminas del pescado.

Entre los posibles detectores para la determinación de los niveles de aminas de manera rápida, barata y no destructiva, se encuentran los sensores de gases. Este tipo de sensores, ha sido objeto de numerosos estudios durante los últimos años (K. IHOKURA AND J. WATSON. *The stannic oxide gas sensor: Principles and Applications*. CRC Press. London (1994) pp 78-89; W. SNOW AND J. BARGER *Phthalocyanines as gas sensors. In Phthalocyanines: Properties and Applications. Vol 1 (1989). VCH Publishers*) y en ellos se ha analizado la posibilidad de utilizar diversos sistemas químicos para la detección de gases tóxicos como NOx o NH₃, moléculas fuertemente dadoras o fuertemente aceptoras de electrones. En la fabricación de estos sensores se han utilizado como materiales activos sustancias como óxidos de metales de transición, polímeros conductores así como algunas sustancias orgánicas.

Sin embargo, la detección de compuestos volátiles orgánicos resulta de mayor dificultad debido a que la reactividad de este tipo de compuestos es bastante menor que la de los gases inorgánicos. A pesar de estas dificultades, se han realizado numerosos esfuerzos para detectar la existencia de compuestos volátiles orgánicos (CVO) y para su cuantificación. Esta valoración permitiría la detección de componentes aromáticos de interés en la industria de la alimentación o perfumería, por citar dos ejemplos.

Entre los materiales sensibles que se han utilizado para la detección de CVOs, podemos citar sensores fabricados a partir de compuestos orgánicos, como polímeros conductores (N. Lewis, M. Fraund US Patent 5.571.401 (1996)), o ftalocianinas (M.L. Rodríguez-Méndez, J. Souto, J. Martínez, R. De Saja, J.A. de Saja. *This films of Lutetium bisphthalocyanine as VOCs sensor. Sensors and actuators (submitted)*). En el campo de los materiales inorgánicos, citar los sensores basados en óxidos de metales de transición (M.C. Horrillo, I. Sayago, L. Ares, J. Rodigo, J. Gutierrez. *Detection of low Nox concentrations with low power micromachined tin oxide sensors. Proceedings of Eurosensors XII. Vol 1. Pg 645*).

A pesar de los esfuerzos realizados, los sensores actuales de CVO, carecen de especificidad, su reproducibilidad es escasa y son sensibles a la humedad, problema éste de gran repercusión a la hora de utilizar los sensores en diversos sectores industriales.

Estos problemas se intentan solucionar por una parte mediante el desarrollo de nuevos sensores con mejores especificaciones, y por otra parte, mediante la utilización de redes de sensores así como el tratamiento computarizado de los datos obtenidos (redes neuronales). Esta idea ha dado lugar al concepto de "nariz electrónica", entendiendo como tal un instrumento capaz de detectar y distinguir diferentes aromas (J.W. Bartlett, P.N. Bartlett. *A brief history of electronic noses. Sensors and Actuators B. 18-19 (1994) 211-220*).

Todos estos avances en el mundo de los sensores se han aplicado a diversos campos como la detección de aromas de café o de aceite, por citar dos ejemplos. Sin embargo, el número de trabajos relativos al desarrollo de nuevos sensores específicos para la detección de aromas de pescado no es muy grande. Citaremos algunos estudios en los que se han diseñado sensores basados en óxidos metálicos para la detección de las aminas procedentes del pescado (M. Egashira, Y. Shimizu, Y. Takao. *Semiconductor TMA sensor to detect Fish freshness. Chem. Sensor Tech. Vol 5, (1994) 237-253*; M. Egashira, Y. Shimizu, Y. Takao, M.H. Han. *Effect of TMA sensitivity of In₂O₃-MgO sensor loaded with noble metals. Denki Kagaku 12 (1996) 1280-1284*). Los sensores inorgánicos presentan la desventaja de funcionar óptimamente a temperaturas próximas a los 400°C, además de presentar tiempos de respuesta del orden de veinte minutos. También se ha publicado una investigación sobre la aplicación de sensores basados en monoftalocianinas (S. Gupta, T. N. Misra. *Manganese phthalopyrene for the detection of fish freshness by trimethylamine emission. Sensors and Actuators B 41*

(1997) 199-202), aunque los datos proporcionados en este trabajo han sido obtenidos a partir de disoluciones acuosas de TMA, y no aminas procedentes de pescado. Además, no se soluciona el problema de la humedad, y no se proporcionan datos sobre la reproducibilidad de las medidas.

Partiendo de estas premisas, nuestro grupo ha diseñado una serie de sensores capaces de detectar las aminas procedentes del pescado, utilizando como materiales sensibles diversas moléculas de la familia de las ftalocianinas dispuestas en forma de películas delgadas.

Explicación de la invención

Consiste en un conjunto de sensores constituidos por la siguiente asociación:

1. Sustrato que consta de un soporte recubierto con electrodos interdigitados de óxido de indio y estaño (ITO) o de oro, con una distancia interdigital del orden de 10-50 micras.
2. Compuesto sensible con base ftalocianina, ya sea monoftalocianina (Mpc), bisftalocianina (LnPC_2) o bien derivados de las anteriores (MPC^R o LnPC_2^R). La asociación ftalocianina depositada en forma de película delgada (película de Langmuir-Blodgett o evaporación en ultra alto vacío) sobre unos electrodos interdigitados con base de ITO o oro, constituye los sensores, que al ser expuestos al amoníaco o a las aminas procedentes del pescado, sufren cambios en su resistividad eléctrica. Los sensores actúan por tanto como quimiorresistencias.

El método de medida consta de las siguientes partes:

1. Preparación de las muestras de pescado. El tratamiento preliminar y la preparación de las muestras dependen de la forma en que se reciba el pescado. Si se trata de pescado fresco, debe mantenerse refrigerado constantemente. En caso de tratarse de pescado congelado, se coloca éste en una bolsa de plástico y se descongela por inmersión en un baño de agua a 20°C agitándolo.

Se toman tres muestras de las partes representativas del pescado (100 gramos en total) y se homogeneiza con una trituradora, manteniendo la muestra en frío constantemente. La mezcla homogeneizada se almacena en frío y se mide en el plazo máximo de una hora. En caso contrario debe congelarse inmediatamente para evitar la pérdida de aminas.

2. Sistema de medida de la resistencia: Los sensores se conectan en un zócalo que permite hacer pasar a través de los sensores una corriente eléctrica proporcionada por una fuente. Las variaciones de resistencia (o de voltaje) sufridas por los sensores al ser expuestos a los aromas procedentes del pescado, son medidas y procesadas mediante un sistema constituido por un multímetro conectado a un ordenador (o a un microprocesador) que recoge los datos y los procesa.

3. Cámara de captación y acondicionamiento de los volátiles que contiene la agrupación de sensores. El sistema por el que los sensores son expuestos a los vapores procedentes del pescado puede ser estático o dinámico.

3.1. Sistema estático o de inyección: Los vapores procedentes del pescado se inyectan en la cámara de reacción (previa eliminación del agua), y se mantienen en contacto con el sensor durante algunos segundos.

3.2. Sistema dinámico o de flujo continuo: Un caudal medido de aire seco se hace pasar por la cámara de reacción en la que se encuentran los sensores. Se establece un flujo continuo que estabiliza la temperatura de los sensores y elimina la posible humedad en la cámara. Posteriormente el gas de arrastre se conduce a la cámara de muestra de forma que los vapores procedentes del pescado son arrastrados por el aire. Seguidamente se hacen pasar por una trampa de agua que elimina la humedad que acompaña al aroma. Finalmente, el gas se inyecta en la cámara de reacción, en la que se establece un flujo continuo.

4. Software para el tratamiento de los datos: La señal proveniente de los sensores es acondicionada y procesada mediante técnicas de análisis capaces de comparar la señal medida con la señal obtenida a partir de cantidades crecientes de TMA, utilizado como patrón. De este modo, es posible cuantificar la cantidad de bases volátiles emanadas por el pescado, como equivalente de concentraciones en TMA

Ventajas de la invención

1. Los sensores con base películas delgadas de ftalocianinas tienen una gran sensibilidad frente a las bases volátiles, llegando a detectarse cantidades del orden de ppb, que coinciden con los niveles de bases volátiles emitidos por el pescado después de su muerte.
2. A diferencia de otros sensores propuestos para el seguimiento de la frescura del pescado (como los óxidos inorgánicos), los sensores presentados en este trabajo funcionan a temperatura ambiente.
3. Las películas delgadas de ftalocianinas permiten obtener sensores con una rapidez de respuesta del orden de milisegundos, lo que representa una gran ventaja frente a otros sensores descritos hasta la fecha en los que la respuesta se produce tras varios minutos de espera. La reversibilidad de la respuesta es inmediata.
4. Los sensores aquí presentados, basados en ftalocianinas y sus derivados, preparados mediante evaporación, mediante la técnica

de Langmuir-Blodgett u otras técnicas, tienen una gran estabilidad, que mejora en mucho a la estabilidad de otro tipo de sensores como los basados en polímeros conductores.

5. La utilización conjunta de una serie de sensores con diferente composición, estructura o espesor, y por tanto, diferente sensibilidad hacia las aminas volátiles, permite la formación de una red de sensores, lo que proporciona un método de mayor fiabilidad para la cuantificación del estado de frescura del pescado.
6. El pequeño tamaño de estos sensores permitiría su uso en instrumentos portátiles.

Posibles aplicaciones

La utilización de las diversas técnicas de preparación de películas delgadas de ftalocianinas, abre un interesante campo aplicativo en el diseño y construcción de sensores.

Una aplicación concreta es la construcción de una red de sensores capaz de discriminar gracias las herramientas de software de redes neuronales las bases volátiles, así como de evaluar sus niveles, lo que permitirá su utilización en el análisis de la frescura de pescados y mariscos.

Ejemplo de realización de la invención

En la Figura 2 se representa la respuesta típica de un sensor frente a cantidades crecientes de TMA. En este ejemplo, el sensor se ha formado con la técnica de Langmuir-Blodgett utilizando como material sensible la Bisftalocianina de Lutecio (LuPc_2).

Cuando el sensor se expone al gas, se observa un aumento del voltaje (o disminución de la resistencia) que es proporcional a la cantidad de TMA. La respuesta se produce en milisegundos y es estable y reproducible.

El comportamiento de diferentes ftalocianinas es semejante al presentado ya que la reactividad redox de esta familia de sustancias se debe principalmente al anillo aromático de ftalocianina y no a la naturaleza del metal central o de los ligandos unidos al anillo aromático.

En la Figura 3 se observa la respuesta de una serie de diferentes sensores frente a cantidades crecientes de aminas volátiles procedentes de pasta de pescado. En este caso, la respuesta se representa como variación de la sensibilidad

que se define como cociente entre el valor máximo del voltaje (o la resistencia) y el valor de voltaje (o la resistencia) en el onset. Se trata de sensores preparados a partir de la misma sustancia sensible GdPc_2^t (2,8,14,20 tetratercbutil-bisftalocianinato de gadolinio), pero fabricados mediante diferentes técnicas (películas de Langmuir-Blodgett o ultra alto vacío), además se observa la respuesta de sensores de diferentes espesores.

Puede apreciarse que, si bien todos los sensores producen respuestas crecientes al aumentar la cantidad de vapor de pescado que incide sobre ellos, la intensidad de la respuesta depende de la estructura y del espesor del sensor.

La Figura 4 muestra la respuesta de sensores de diferente composición, es decir, preparados a partir de diferentes ftalocianinas, frente a cantidades crecientes de aroma de pescado. Las ftalocianinas utilizadas como material base de los sensores han sido: LuPc_2^{CR} (bisftalocianinato de lutecio sustituido con éter corona); LuPc_2^{Ph} (2,8,14,20 tetrafenilbisftalocianinato de lutecio); LuPc_2^t (2,8,14,20 tetratercbutilbisftalocianinato de lutecio); LuPc_2 (bisftalocianinato de lutecio); PrPc_2 bisftalocianinato de praseodimio, frente a 50, 100, 150 y 200 ppm de aroma de pescado.

Se puede observar que también en este caso, las respuestas siguen el mismo patrón, es decir se obtienen valores repetitivos que incrementan al aumentar la cantidad de aroma que incide sobre el sensor. Si bien, la diferente naturaleza química de los sensores da lugar a que los valores absolutos de las respuestas sean diferentes.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1. Moléculas de la familia de las ftalocianinas (a) monoftalocianina y (b) bisftalocianina. Figura 2. Variación de la resistencia frente al tiempo de una película LB (7 monocapas) frente a concentraciones crecientes de 50, 100, 150 y 200 ppm de TMA.

Figura 3. Variación de la sensibilidad, frente a concentraciones crecientes de bases volátiles procedentes de pasta de pescado, de sensores basados en GdPc_2^t (Δ) película evaporada; ($\blacktriangle$) película LB 10 monocapas; ($\circ$) película LB 7 monocapas; ($\bullet$) película LB 2 monocapas.

Figura 4. Sensibilidad de la red de sensores ($\text{S54}=\text{LuPc}_2^{CR}$ $\text{S59}=\text{LuPc}_2^{Ph}$; $\text{S57}=\text{LuPc}_2^t$; $\text{S60}=\text{LuPc}_2$; $\text{S53}=\text{PrPc}_2$; frente a 50, 100, 150 y 200 ppm de aroma de pescado.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas depositadas sobre microelectrodos que debe su reactividad al anillo ftalocianínico que es capaz de reaccionar frente a reactivos dadores y aceptores de electrones.

2. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas depositadas sobre microelectrodos que debe su reactividad al anillo ftalocianínico, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque las películas delgadas son películas de Langmuir-Blodgett.

3. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas depositadas sobre microelectrodos que debe su reactividad al anillo ftalocianínico, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque las películas delgadas son películas evaporadas.

4. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas que debe su reactividad al anillo ftalocianínico, según la reivindicación 1, porque el material sensible puede ser una monofthalocianina o una bisftalocianina.

5. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas que debe su reactividad al anillo ftalocianínico, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el material sensible puede ser una monofthalocianina en la que el metal central unido al anillo es un metal de transición.

6. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas que debe su reactividad al anillo ftalocianínico, según la reivindicación 1,

caracterizado porque el material sensible puede ser una bisftalocianina en la que el metal unido a los anillos de ftalocianina es un lantánido ($Ln = La, Cr, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Tm, Yb, y Lu$).

7. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas que debe su reactividad al anillo ftalocianínico, según la reivindicación 1, **caracterizado** por ser el anillo de ftalocianina el responsable de la reactividad como sensor y por tanto, puede poseer o carecer de cadenas laterales.

8. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas utilizable para la construcción de sensores de amoniaco.

9. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas utilizable, para la construcción de sensores de dimetilamina.

10. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas utilizable, para la construcción de sensores de trimetilamina.

11. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas utilizable, para la construcción de sensores de bases orgánicas volátiles.

12. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas utilizable, para la construcción de sensores de gases volátiles procedentes de la degradación del pescado y marisco.

13. Dispositivo sensor con base películas delgadas de ftalocianinas utilizable, para la construcción de detectores del estado de frescura del pescado y marisco.

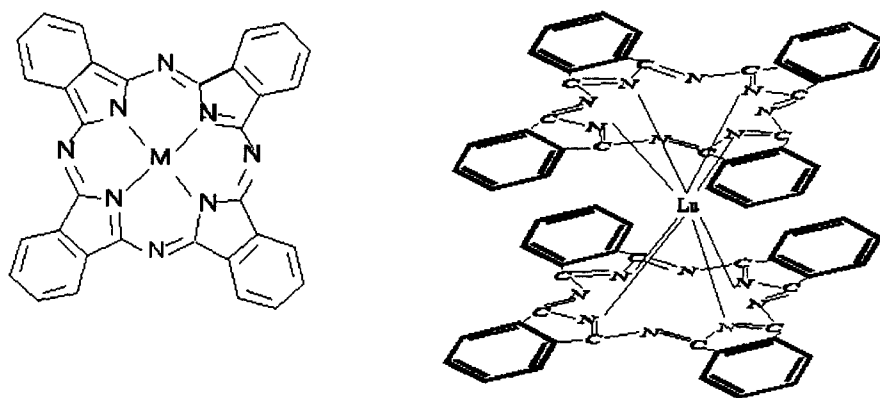


FIGURA 1

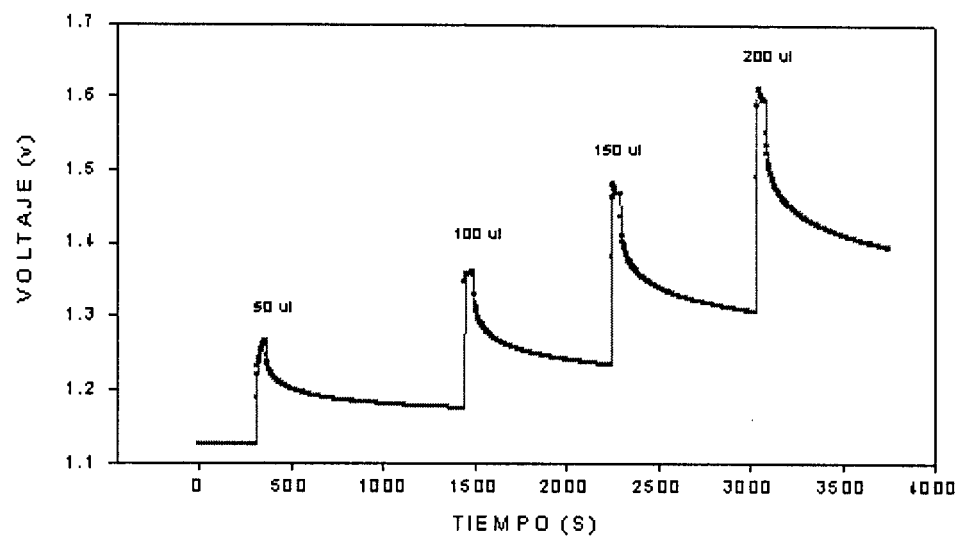


FIGURA 2

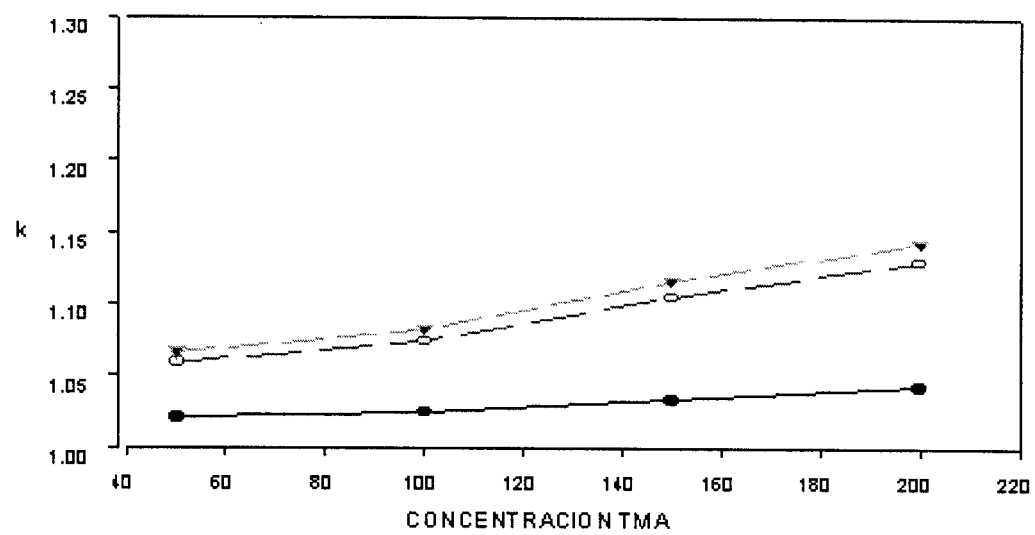


FIGURA 3

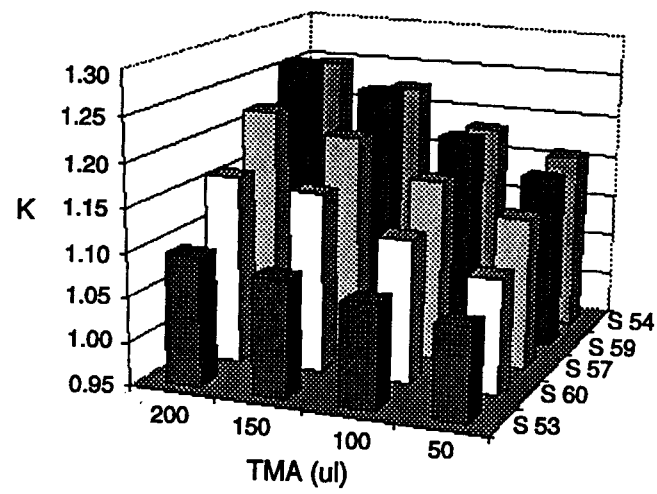


FIGURA 4



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA

- ⑪ ES 2 156 073
⑫ N.º solicitud: 009900675
⑬ Fecha de presentación de la solicitud: 26.03.1999
⑭ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑮ Int. Cl.⁷: C09B 47/04, G01N 27/12

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2048644 A2 (UNIVERSIDAD DE VALLADOLID) (16.03.1994), resumen; ejemplos.	1-7
X	ES 2070094 A1 (UNIVERSIDAD DE VALLADOLID) (16.05.1995), resumen; ejemplo 1; columna 1.	1-7
A	ES 2033123 T3 (MAAN) (27.09.1989), todo el documento.	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe

30.04.2001

Examinador

M. Ojanguren Fernández

Página

1/1