

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRIGILI
SISTEMAS EXPERTOS PARA EL DESARROLLO DE MÉTODOS Y EN LA DIAGNOSIS DE LAS SEÑALES ANALÍTICAS
Itziar Riusánchez Capelastegui
ISBN:978-84-691-1872-6/DL:T.334-2008

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRIGILI
SISTEMAS EXPERTOS PARA EL DESARROLLO DE MÉTODOS Y EN LA DIAGNOSIS DE LAS SEÑALES ANALÍTICAS
Itziar Riusánchez Capelastegui
ISBN:978-84-691-1872-6/DL:T.334-2008

007-721

UNIVERSIDAD ROVIRA I VIRGILI

Departamento de Química

Área de Química Analítica

SISTEMAS EXPERTOS
PARA EL DESARROLLO DE MÉTODOS
Y EN LA DIAGNOSIS DE SEÑALES ANALÍTICAS

T 105

Memoria presentada por

ITZIARRUISÁNCHEZ CAPELASTEGUI

para aspirar al grado de Doctor en Ciencias
Químicas.

Tarragona, Julio 1994.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
BIBLIOTECA



1700089077



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI
DEPARTAMENT DE QUÍMICA

Plaça Imperial Tàrraco 1
43005 TARRAGONA
Tel. (977) 22 32 54
Fax (977) 24 33 19

El Dr. F. XAVIER RIUS FERRÚS, Profesor Catedrático de Universidad y la Dra. M^a SOLEDAD LARRECHI GARCÍA, Profesora Titular de Universidad, del Departamento de Química, Área de Química Analítica de la Universidad Rovira i Virgili de Tarragona.

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo, con el título "SISTEMAS EXPERTOS PARA EL DESARROLLO DE MÉTODOS J EN LA DIAGNOSIS DE SEÑALES ANALÍTICAS ", que presenta ICÍAR RUISÁNCHEZ CAPELASTEGUI, ha sido realizado bajo nuestra co-dirección en el Área de Química Analítica y que los resultados presentados son fruto del trabajo realizado por la citada doctoranda.

y para que conste, se expide el presente certificado en Tarragona a 26 de Mayo de 1994.

F.X. Rius

M^a. S. Larrechi

La presente Tesis ha sido realizada en el Área de Química Analítica de la Universidad Rovira i Virgili bajo la co-dirección del Dr. F.X. Rius Ferrús y de la Dra. M^a.S. Larrechi García, a quienes quiero expresar mi agradecimiento por su constante dedicación, por todos los consejos y enseñanzas recibidas, así como por el apoyo que en todo momento me han prestado.

También quiero expresar mi gratitud a todas aquellas personas que, de una forma u otra, han contribuido a la realización de esta tesis y muy especialmente a:

El Dr. Miguel Esteban Cortada, por la ayuda prestada en la adquisición de los conocimientos sobre las técnicas voltamperométricas.

La Dra. Pilar Callao Lasmarías, por sus aportaciones y colaboración en la puesta a punto y amena discusión de los resultados del sistema SIA.

Antonio Rius, Justo Lozano y a todos los miembros del grupo de investigación de Quimiometría, por su ayuda prestada y por los buenos momentos pasados que contribuyeron a hacer más agradable este trabajo de investigación.

Mariana Novic, de la Universidad de Ljubljana que tanto durante su estancia en nuestra Universidad como posteriormente, ha contribuido a la aplicación de redes neuronales, introduciéndome en este campo tan nuevo y atrayente.

A todos todos mis compañeros del Área de Química Analítica.

A mi familia y a esos amigos, que me han apoyado siempre.

a mi familia

ÍNDICE

ÍNDICE

1. Objeto de la tesis.	1
2. Introducción.	5
3. Introducción a los sistemas expertos.	
3.1 ¿Qué son los sistemas expertos?.	13
3.2 Estructura de los sistemas expertos deductivos.	14
3.3 Desarrollo de los sistemas expertos.	18
3.4 Diferencias respecto a los programas convencionales.	22
3.5 Algunas aplicaciones de los sistemas expertos en el análisis químico.	24
3.6 Perspectivas futuras en el análisis inteligente de muestras.	30
3.7 Bibliografía.	32
4. Sistemas expertos como entidades aisladas de conocimiento.	
Desarrollo de un sistema experto voltamperométrico.	
4.1 Introducción.	39
4.2 Material.	43
4.3 Desarrollo del sistema experto.	44
4.3.1 Base de conocimientos.	45
Pretratamiento de la muestra.	46
Procedimiento voltamperométrico.	48
4.3.2 Programación del sistema experto.	
Empleo de la carcasa KES	64
4.3.3 Componentes de soporte.	72
4.3.4 Validación.	74
4.3.5 Resultados.	75
4.4 Bibliografía.	112

5. Automatización de un sistema analítico.	
Sistema de inyección en flujo sinusoidal.	
5.1 Introducción.117
5.2 Parte experimental.123
5.3 Resultados.126
5.3.1 Automatización del sistema SIA.1 26
5.3.2 Aplicación a la determinación simultánea de Ca y Mg.133
5.3.2.1 Introducción.133
5.3.2.2 Parte experimental.134
5.3.2.3 Resultados142
5.4 Bibliografía.1 54
6. Diagnóstico, un objetivo de un sistema analítico inteligente.	
6.1 Introducción.159
6.2 Sistema analítico modular inteligente.162
6.3 Diagnóstico en la determinación simultánea de Ca y Mg mediante un sistema automatizado SIA.165
6.3.1 Diferenciación de las situaciones a diagnosticar.168
6.3.1.1 Introducción teórica a las redes neuronales.169
Back - Propagation of Errors.173
Kohonen.174
Counter - Propagation.175
6.3.1.2 Parte experimental.176
6.3.1.3 Resultados.178
6.4 Integración del espectrofotómetro - sistema experto - red neuronal194
6.5 Bibliografía.195
7. Conclusiones.197
8. Anexo.203

1. OBJETO DE LA TESIS

1. OBJETO DE LA TESIS

Con la presente Tesis se pretende contribuir al desarrollo y aplicación de los sistemas expertos tanto como entidades aisladas de información y conocimiento, como integrados en sistemas analíticos inteligentes. Planteada la introducción de inteligencia artificial como una etapa posterior a la automatización, los objetivos desarrollados han sido:

- 1) Estudio de los sistemas expertos y desarrollo de un sistema experto en el campo del electroanálisis.
- 2) Automatización de un sistema de flujo.
- 3) Introducción de cierto grado de inteligencia en un sistema analítico.

2. INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

Una de las tendencias actuales en el campo del análisis químico es el desarrollo de instrumentos que incorporan el mayor grado de inteligencia posible. Cabe esperar varios atributos o características de estos instrumentos, tales como su capacidad de seleccionar el método de trabajo más adecuado, de realizar un autocalibrado, detectar y corregir los posibles fallos, etc. En este sentido, los sistemas expertos son una herramienta muy útil para la introducción de inteligencia, desarrollando un papel fundamental tanto en el manejo como en el control de las distintas etapas que implica el proceso de medida químico.

Con esta finalidad, en la presente Tesis se profundiza en el estudio de los sistemas expertos, su estructura, funcionamiento, aspectos a tener en cuenta en su desarrollo, etc. Así mismo se ha realizado una revisión bibliográfica de las principales aplicaciones de los sistemas expertos en el análisis químico, tanto en el análisis cualitativo como cuantitativo.

Con objeto de profundizar en las enormes capacidades que aportan los sistemas expertos, previo a la introducción de éstos en un sistema analítico inteligente se ha estudiado su aplicación como entidad aislada de conocimiento y experiencia. Con este fin se ha desarrollado un sistema experto para la determinación de 16 cationes metálicos mediante técnicas voltamperométricas. Es un sistema experto basado en la construcción de normas que da orientaciones al usuario sobre el pretratamiento de la muestra problema, la elección de la técnica voltamperométrica más adecuada y el análisis tanto cualitativo como cuantitativo de la señal polarográfica obtenida, en este último aspecto conecta con algunos programas externos. Para su desarrollo se ha utilizado la carcasa KES, que es comercialmente accesible y compatible con PC's,

La siguiente etapa en el estudio y aplicación de los sistemas expertos, es su integración en un sistema analítico inteligente. Esta es una línea de investigación actual dentro del área de química analítica de Tarragona. En este sentido, en primer lugar se ha realizado un estudio de las características o atributos que cabe esperar de un sistema con cierto grado de inteligencia, así como de un sistema automatizado.

La automatización de los procesos analíticos es actualmente una tendencia consolidada ya que presenta por sí misma numerosas ventajas. Esta tendencia está favoreciendo el desarrollo de los sistemas de flujo que simplifican la automatización. En esta Tesis, se presenta el desarrollo y la automatización de un sistema de inyección secuencial de flujo sinusoidal (SIA) aplicado a la determinación de Ca y Mg en aguas. La determinación de Ca y Mg se lleva a cabo simultáneamente mediante calibración **multivariante** utilizando PLS como técnica de calibrado. Se ha trabajado con un espectrofotómetro de diodos en serie controlado desde un ordenador, de forma que la medida espectral se puede almacenar como un fichero de datos fácilmente manipulable. La automatización del proceso de toma de muestra y reactivo y su transporte hasta el detector en el sistema de flujo, ha implicado el control simultáneo desde un ordenador de una válvula de seis vías y una bomba peristáltica convenientemente modificada para proporcionar el flujo sinusoidal.

El paso del sistema automatizado SIA a un sistema inteligente o con elevado grado de inteligencia, se ha visualizado como un sistema modular donde en cada módulo estarían contempladas las funciones propias de un sistema con inteligencia y estando todos ellos controlados desde un módulo principal concebido como un sistema experto.

En la presente Tesis, se presenta el módulo denominado Diagnóstico, cuya función es no permitir que el sistema analítico continúe el proceso de medida sin antes haber comprobado que se ha realizado en las condiciones adecuadas. Esto supone un proceso de reconocimiento de la señal obtenida y su asociación con una determinada situación experimental, que en algunos casos se corresponden con fallos propios del sistema analítico SIA o con características propias de la muestra.

Los fallos, correspondientes a espectros no válidos para ser procesados por el modelo de calibrado y que se pretenden diagnosticar son: a) que la muestra a analizar tenga una concentración superior o inferior a los límites para los cuales son válidas las condiciones experimentales establecidas, b) la presencia de burbujas de aire en el flujo y c) problemas en el detector. Cada una de estas situaciones se ha tratado como una clase y el establecimiento de cada clase se ha realizado mediante la aplicación de redes neuronales como técnica de clasificación.

El proceso de diagnóstico no sólo consiste en poseer la capacidad de detectar las diferentes situaciones indicadas, sino que, además se asigna la causa que ha generado la situación errónea para que el sistema pueda autocorregirse en el siguiente análisis de la misma muestra. Este proceso de asociación del síntoma o situación con su causa es el que se ha llevado a cabo mediante un sistema experto. Este sistema experto también se basa en la construcción de normas y se ha desarrollado utilizando la carcasa KES.

Expuestas las conclusiones globales de la Tesis, en un anexo se incluye información sobre los programas desarrollados y las secuencias del de automatización del sistema de flujo. La versión **.BAS** de los programas de ordenador así como los sistemas expertos desarrollados a lo largo de la Tesis, se han recogido en un diskette con el fin de poder ser editados y examinados mediante los programas de edición convenientes. Dado que se ha utilizado el inglés como idioma para escribir tanto el sistema experto voltamperométrico (capítulo 4) como el de diagnóstico (capítulo 6), se ha optado por presentar en este idioma las figuras que hacen referencia a los mismos.

3. INTRODUCCIÓN A LOS SISTEMAS EXPERTOS

3.1 ¿QUÉ SON LOS SISTEMAS EXPERTOS?

Los químicos, en mayor o menor medida, han utilizado como herramienta de trabajo métodos matemáticos y estadísticos, siendo en la química analítica donde han encontrado una expansión notable con el desarrollo de la quimiometría.

Un desarrollo reciente que permite introducir en la química, métodos procedentes del campo de la lógica formal, son los sistemas expertos, útiles en la obtención y manejo de información y que forman parte de la denominada inteligencia artificial.

La consulta a un experto en una determinada materia, es un recurso habitual cuando, ante un problema concreto, no se dispone de la experiencia y del conocimiento necesarios para resolverlo. Una alternativa interesante a la consulta directa a un experto humano, no siempre disponible, sería la posibilidad de acceder a un sistema de ordenador que indique los consejos necesarios para solucionar dicho problema. Los sistemas expertos ofrecen esta posibilidad y por ello se han definido como sistemas informáticos que contienen conocimientos organizados sobre un área del saber substancial y limitada y que son capaces de desarrollar un cierto razonamiento útil para la obtención de información tal y como lo haría un experto humano. Son por lo tanto, un herramienta muy útil para en la solución de aquellos problemas que requieren el soporte de conocimiento y experiencia previa.

Una vez definidos los sistemas expertos, es necesario hacer una breve referencia a la terminología utilizada. Estos sistemas, resuelven problemas mediante la manipulación de la información que previamente se les ha incorporado. Actualmente son capaces de asimilar y reproducir la capacidad del experto humano para encontrar soluciones, pero les es difícil adquirir nuevos conocimientos o modificarlos por ellos mismos, esto es, adquirir experiencia a partir de su propia actuación. De lo que se deduce que el nombre de "experto", con el que se denomina a estos sistemas, sobrepasa su capacidad real. Por este motivo, en la bibliografía reciente se hace referencia a éstos sistemas como sistemas basados en el conocimiento ("knowledge-based systems"), sistemas de producción ("production systems"), sistemas basados en normas ("rule-based systems") o sistemas deductivos/inductivos ("deductive/inductive systems"), terminología que resulta más adecuada [1-10].

Tipos de sistemas expertos

Básicamente existen dos tipos de sistemas expertos que responden a dos formas fundamentales del razonamiento humano: razonamiento inductivo y razonamiento deductivo.

Los *sistemas expertos inductivos*, se basan en el estudio de una serie de casos particulares para los que se conoce la consecuencia o conclusión. Por lo tanto en este tipo de sistemas, el experto humano define un conjunto significativo de **ejemplos** de solución conocida. El algoritmo inductivo utiliza estos ejemplos para construir las normas adecuadas de tal forma que las conclusiones sean válidas para la mayoría (sino todos) los ejemplos proporcionados. Estas normas se utilizan posteriormente para extraer las conclusiones de otros ejemplos para los cuales se desconoce la conclusión. Por esta razón, los sistemas con algoritmos inductivos reciben también el nombre de herramientas constructoras de normas ("rule-building tools") [30,31].

Los *sistemas expertos deductivos*, se basan en la resolución e interpretación de una serie de normas que han sido previamente definidas por el constructor del sistema experto y que contienen la experiencia y el conocimiento de un especialista en la materia. El algoritmo deductivo contiene la estrategia a seguir para resolver dichas normas, con el fin de extraer información, relacionarla entre sí y alcanzar la solución al problema planteado. Este tipo de sistemas son los que recibirán especial atención en el presente capítulo por ser los utilizados en esta Tesis.

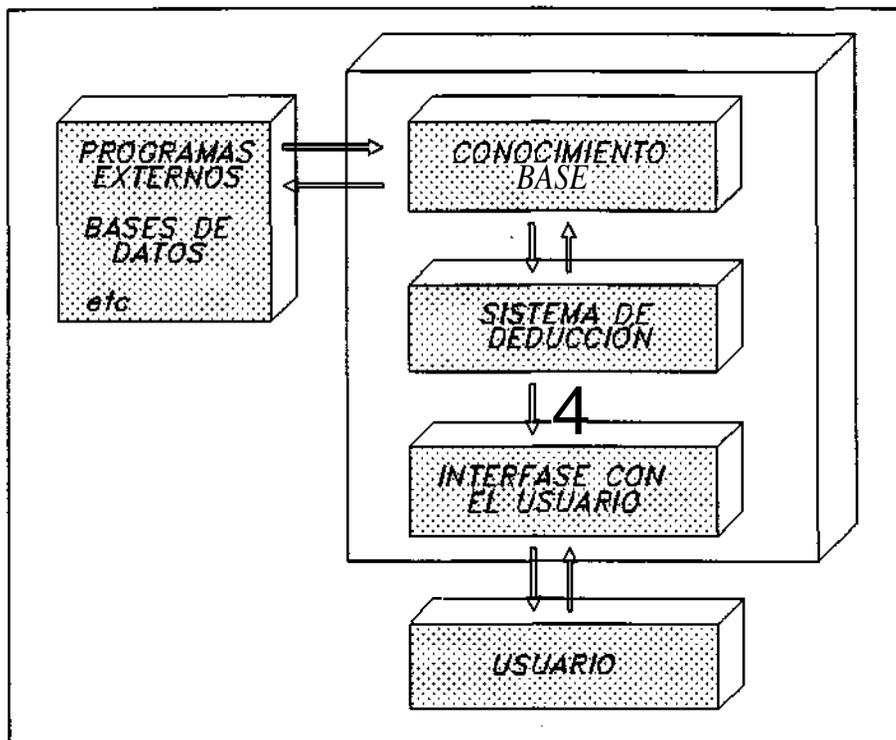
3.2 ESTRUCTURA DE LOS SISTEMAS EXPERTOS DEDUCTIVOS

Recientemente, se han estudiado en profundidad la estructura y características de los sistemas expertos [1-10]. Los sistemas expertos son básicamente programas de ordenador pero, a diferencia de los programas convencionales, en ellos existe una clara distinción entre la localización del conocimiento introducido, el modo en que se manipula y los componentes de soporte que ofrece el sistema.

Estas diferencias citadas corresponden a los tres componentes generales en los que se estructura un sistema experto, de esta forma, la información está contenida en la base de conocimientos ("**knowledge base**"); la manipulación de ésta constituye el sistema de deducción ("**inference engine**") y por último, los componentes de soporte

("support facilities") incluyen todas aquellas partes que interactúan con el usuario. Una visión esquemática de la estructura global de los sistemas expertos está representada en la Figura 1.

Figura 1, estructura general de los sistemas expertos.



Base de conocimientos

La base de conocimientos contiene toda la información, conocimiento y experiencia que uno o varios expertos han proporcionado al sistema. Además, puede contener información extraída de la bibliografía u otras fuentes (tablas de datos, estructuras químicas, programas numéricos, referencias, etc.) que pueden incluso estar conectadas con el sistema experto a través de programas externos.

Esta información, que consta fundamentalmente de datos sobre objetos y de relaciones entre éstos últimos, se introduce al sistema experto de forma codificada. Esta codificación adquiere distintas representaciones "knowledge representation", las más comunes son normas "rules", "frames" y "planning o semantic networks". De las tres, las normas son la forma más usual de representar el conocimiento. Estas siguen el siguiente modelo:

if	(antecedente o condición 1)
and	(antecedente o condición 2)
.		
.		
then	(acción o conclusión 1)
and	(acción o conclusión 2)
.		
.		
else	(acción o conclusión i)
and	(acción o conclusión j)

En dichas normas, tanto los antecedentes como las acciones o consecuencias están formadas por atributos y cada uno de ellos puede tomar uno o varios valores. Las normas están interconectadas entre sí de tal forma que el antecedente de unas es proporcionado por la acción de otras, creando de esta manera una estructura de árbol jerárquico. Dado que el sistema experto desarrollado en el capítulo 4 de la Tesis, está basado en la producción de normas, los conceptos hasta ahora desarrollados se ejemplifican con detalle en dicho capítulo.

Sistema de inferencia

El sistema de inferencia utiliza el conocimiento introducido en la base de conocimientos y la información introducida por el usuario para proporcionar la solución del problema en estudio. Una vez el usuario ha determinado el objetivo, el sistema de inferencia contiene la estrategia a seguir en la interpretación de las normas o "frames" para conseguirlo. En este sentido se **podría** decir que el sistema de inferencia es la parte del sistema experto que lleva a cabo el razonamiento.

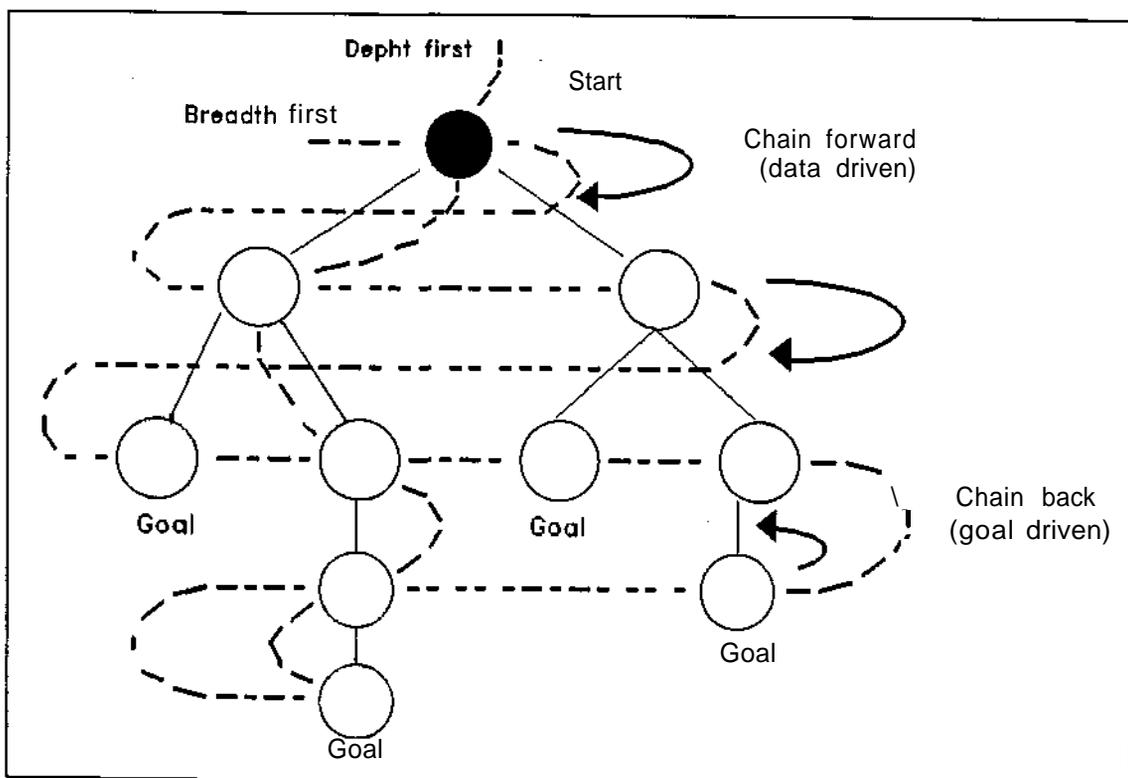
Existen dos variantes principales de estrategias para lograr la solución deseada en sistemas que utilizan normas: la estrategia dirigida por el objetivo o por los datos. En la estrategia dirigida por el objetivo, denominada "goal-driven" o "backward-chaining", el mecanismo de razonamiento funciona encadenando las normas hacia atrás. Es decir, en primer lugar se buscan las normas cuya consecuencia o acción coinciden con el objetivo marcado. A partir de ellas, se buscan las siguientes normas cuyas consecuencias coinciden con los antecedentes de las anteriores y así sucesivamente.

En la estrategia dirigida por los datos, llamada "data-driven" o "forward-chaining", el mecanismo de razonamiento funciona encadenando las normas hacia adelante. Se parte de los atributos de entrada o antecedentes y se escogen todas aquellas

normas que proporcionan consecuencias. Estas consecuencias forman, a su vez, los antecedentes de otro conjunto de normas y así sucesivamente hasta que el encadenamiento de normas conduce al objetivo buscado.

Desde el punto de vista técnico estas estrategias de razonamiento pueden combinarse con dos variantes principales de búsqueda de normas, la "depth-first" y la "breadth-first". Ambas están esquematizadas en la Figura 2.

Figura 2, estrategias de la búsqueda de normas.



En la variante de profundidad o "depth-first" se examinan primero todos los niveles de una misma rama del gráfico de estados. Este gráfico representa una forma de cómo se desarrolla el razonamiento humano; desde un estado inicial en que se plantea el problema hasta un estado final en el que se halla la solución pasando por una serie de estados intermedios conectados entre sí. Así, los sistemas expertos proporcionan un medio para describir los distintos estados, la forma en que están interconectados y la estrategia para llegar a la solución a partir del estado inicial. En la variante "breadth-first" existe un algoritmo que permite examinar todas las posibles soluciones situadas a un mismo nivel antes de pasar al siguiente nivel de profundidad. En realidad normalmente se aplican combinaciones de las dos sistemáticas.

fundamentalmente mediante el estudio y experimentación práctica llevados a cabo con anterioridad al propio planteamiento del sistema experto.

El objetivo propuesto ha de ser claro y debe especificarse al usuario. La selección de metodologías analíticas, el desarrollo concreto de procedimientos, la implementación de sistemas de validación o el aprendizaje de ciertas técnicas o métodos son ejemplos concretos de objetivos cuya solución se puede conseguir mediante sistemas expertos. En el último apartado de este capítulo se proporciona una relación detallada de aquellos sistemas cuyo objetivo se enmarca dentro del campo del análisis químico.

2. Definición del usuario.

El desarrollo de cualquier sistema experto está en función del tipo de usuario al que va dirigido. Es obvio que existen distintos niveles de usuario para un mismo dominio, desde el principiante o alumno que está aprendiendo el campo de trabajo elegido hasta el usuario más o menos experto que puede requerir una verificación de sus acciones. La cantidad y profundidad de la información contenida debe variar sustancialmente de acuerdo con el usuario al que va dirigido el sistema.

3. Elección del experto del dominio

Si se ha mencionado que los sistemas expertos son básicamente programas que incorporan la experiencia, el saber y la información que poseen los expertos humanos en el dominio elegido, es preciso disponer de dicha experiencia antes de intentar cualquier desarrollo de los primeros prototipos.

Puesto que no siempre es fácil **conceptualizar** y formalizar la experiencia que poseen los expertos humanos, en la práctica para el desarrollo de un sistema experto con la colaboración de más de un experto en el dominio elegido, es muy recomendable que formen parte de un mismo equipo bien compenetrado. Evidentemente, si el sistema se desarrolla con el soporte de un sólo experto, actuará con la filosofía y forma de pensar del experto elegido, pero dado que un mismo problema puede encontrar solución a partir de diversas estrategias y actuaciones, el contener sólo la experiencia y razonamiento validado de un único experto puede considerarse suficiente.

4. Programación del sistema. Uso de "shells".

Existen dos formas básicas para el desarrollo físico de sistemas expertos: mediante programación de todas y cada una de las partes **utilizando** lenguajes convencionales utilizados normalmente para cálculos algebraicos y algorítmicos, como FORTRAN,

En sistemas basados en la producción de normas, algunas veces se utilizan unas normas especiales denominadas **meta-normas**. Éstas no intervienen directamente en la obtención del valor de un **determinado** atributo, cuya asignación ha activado el sistema de deducción, sino en el control y selección de otras normas [2].

Componentes de soporte

Las componentes de soporte permiten la comunicación entre el usuario y el sistema. Por una parte el usuario indica, a petición del sistema, los valores para los atributos de entrada. El sistema experto, a su vez, proporciona la solución, pudiendo dar toda una serie de información suplementaria útil para el usuario. El sistema puede ofrecer indicaciones sobre la fiabilidad de la solución final, el razonamiento utilizado para obtener dicha solución ("**why?**") y explicaciones acerca de la preguntas planteadas al usuario ("**explain**").

Se ha de tener en cuenta que existen diversos tipos de usuarios, desde aquellos que no conocen, o sólo de una forma muy somera, el dominio tratado por el sistema hasta los usuarios más o menos expertos en el campo de trabajo. Para los primeros será útil que el sistema posea todo un conjunto de indicaciones que sirvan de guía e información. Para los segundos, más que invertir tiempo en leer indicaciones conocidas, estarán interesados en obtener directamente la solución final. La versatilidad en satisfacer el distinto tipo de necesidades es una característica de los sistemas expertos.

3.3 DESARROLLO DE LOS SISTEMAS EXPERTOS

El desarrollo de un sistema experto requiere la definición de una serie de conceptos bien establecidos:

*1. Definición del **campo** de trabajo y objetivo propuesto.*

El campo de trabajo o dominio elegido debe ser relevante y limitado. Los sistemas expertos no se plantean como herramientas que puedan sustituir a los programas convencionales sino como utensilios capaces de aportar soluciones en aquellos casos en los que la inferencia y el razonamiento lógico predominan sobre el cálculo. Los problemas que pueden resolverse mediante unos y otros son distintos tal como se explica más detalladamente en uno de los apartados siguientes. El dominio de trabajo en los sistemas expertos ha de ser tal que incorpore experiencia y conocimiento adquiridos fundamen-

BASIC, PASCAL, C o lenguajes especiales diseñados para la manipulación de símbolos, como LISP o PROLOG o mediante el uso de utensilios para desarrollar sistemas denominados carcasas o "shells".

El desarrollo de sistemas expertos mediante programación exige un esfuerzo extraordinario para el no iniciado en esta práctica. Cabe resaltar que para aquellos científicos que tienen experiencia en programación, el desarrollo de todas las partes que constituyen el sistema no representa una dificultad especial a la vez que permite una flexibilidad que no se obtiene con las "shells". Aunque existen los llamados "toolkits" que consisten en una colección de utensilios útiles para el desarrollo de sistemas expertos [10], las "shells" se han mostrado mucho más eficaces para el investigador que desea desarrollar sistemas.

Las "shells" son herramientas programables que contienen básicamente el sistema de inferencia y los componentes de soporte. El ingeniero que desarrolla el sistema tiene que introducir, por tanto, la base de conocimientos para que el sistema experto sea capaz de funcionar. Es necesario un conocimiento de la gramática y sintaxis propias de cada "shell" pero la dificultad de adquirir estas nociones no es comparable a la que presenta la programación con lenguajes convencionales o específicos.

Una de las primeras decisiones importantes que se deben tomar en el desarrollo de sistemas es la elección del tipo de "shell". Como siempre existe una gran variedad de características que el usuario debe considerar para realizar esta elección [3,4,10]. Quizás la característica más importante a tener en cuenta sea el tipo de representación de conocimiento. Según sea el problema químico planteado, la "shell" ha de ser capaz de representar este conocimiento en normas, "frames" u otro tipo de estructuras. El tipo de estrategia de búsqueda empleado por el sistema de inferencia, las facilidades de desarrollo (guías, manuales, ejemplos,..), el tipo de "hardware" necesario, la interfase con el usuario, la interacción con ficheros o programas externos o el precio son otras variables a tener presente para que la elección sea la adecuada.

5. *Construcción de prototipo*

Los sistemas expertos deductivos se construyen, normalmente, por modificación y ampliación de unos primeros prototipos. Es interesante obtener estos prototipos lo más pronto posible para dibujar la tendencia y adecuación del sistema experto definitivo.

El primer paso fundamental para el desarrollo de los sistemas consiste en la **articulación**, por parte del experto del dominio, de su conocimiento y experiencia. Desde

hace tiempo que se reconoce a esta etapa como uno de los principales escollos a superar. Feigembbaum [25] la definió como "el cuello de la botella en inteligencia artificial". No es extraño que esto sea así puesto que se han de superar diversos problemas que van desde la ordenación de conceptos hasta la superación de susceptibilidades (a veces se pueden tener reparos en no saber explicar el porqué de nuestro conocimiento) pasando por una cierta disciplina mental.

La segunda etapa en el desarrollo del sistema, consiste en la comunicación que se ha de establecer entre el experto del dominio y el ingeniero del conocimiento o persona encargada de la programación del sistema experto, que debe trasladar los conceptos comunicados en un lenguaje codificado (mediante programación o el uso de "shells"). Finalmente, después de la detección y corrección de errores en el sistema, éste se compila y ejecuta.

Con el fin de superar la etapa de articulación del conocimiento, en algunos casos se han aplicado técnicas automáticas de adquisición del conocimiento [26,27]. Uno de los procedimientos más conocidos son los sistemas expertos inductivos (de aprendizaje o constructores de normas). Los sistemas inductivos, intentan extraer normas a partir de ejemplos bien definidos; éstos se desarrollan en base al famoso algoritmo ID3 desarrollado por Quinlan [28,29]. De esta forma, el experto humano, suministra una serie de ejemplos con su solución correcta y a partir de estos ejemplos, el algoritmo inductivo construye sus propias normas de forma que puede predecir la solución a los nuevos problemas que se planteen.

6. *Validación*

Un aspecto muy importante en la etapa final del desarrollo de los sistemas expertos es el correspondiente a su validación. Entre las propiedades que se deben verificar está el asegurar que el sistema se ha construido de acuerdo a las especificaciones dadas, por lo que se han de revisar características tales como si satisface el objetivo inicial para el que ha sido desarrollado, si tiene el tamaño adecuado, si se han puesto a punto las facilidades requeridas o si posee el coste adecuado, etc.

También se debe comprobar la ejecución correcta del programa: asegurar que todos los posibles caminos conducen a un final, que el programa no se interrumpe en alguna de las **etapas**,... y, posteriormente, se ha de examinar que la experiencia introducida (base de conocimientos) y los distintos soportes corresponden a la idea estructurada por el experto del dominio.

Los sistemas expertos que poseen una finalidad experimental se han de

validar frente a muestras o situaciones reales. Para ello, el experto del dominio ha de ejecutar las instrucciones o recomendaciones que indica el sistema y comprobar que en la práctica el sistema llega a la solución que él considera más idónea.

Si además es un sistema experto que ha de ser útil para un conjunto de usuarios externos al laboratorio en el que se desarrolla, debe pasar otra etapa de validación. Esta consistiría en su ejecución por un usuario final externo que pueda indicar los posibles errores, fallos de comprensión o mejoras a introducir para que el sistema sea operativo y útil.

3.4 DIFERENCIAS RESPECTO A LOS PROGRAMAS CONVENCIONALES.

Conceptuales

- La diferencia clave respecto a los programas convencionales o a otros sistemas basados en ordenador, radica en que una vez la experiencia y el conocimiento humanos han sido incorporados en el programa, es el propio sistema experto el que realiza el razonamiento. El sistema experto tiene que elegir la mejor solución entre una serie de posibles caminos y respuestas. La experiencia humana incorporada se hace, por lo tanto, permanente, accesible y fácilmente manipulable.

- El tipo de conocimiento que manipulan los sistemas expertos es **fundamentalmente** simbólico, más que numérico. Dado que poseen esta propiedad, los sistemas expertos se deben desarrollar con una estrategia clara, esto es, sólo en aquellos casos en los que la experiencia o el recurso al experto es necesario, los sistemas basados en el conocimiento son realmente útiles. Por lo tanto, no son aconsejables, por ejemplo, para la solución de problemas de tipo algorítmico.

- Desde las primeras etapas de la construcción de un sistema experto, se deben tener en cuenta las características del usuario al que va dirigido.

- Los programas convencionales se ejecutan indiscriminadamente pudiendo incluso dar soluciones erróneas, mientras que los sistemas expertos son capaces de mostrar el razonamiento seguido y comunicar al usuario la existencia de un posible error. Es evidente que su capacidad de razonamiento está limitada al conocimiento que le ha sido previamente introducido [1,15].

Estructurales

- Los sistemas **expertos**, normalmente no están escritos en lenguajes convencionales como Fortran, Basic o C. Para la incorporación del conocimiento (heurístico y simbólico) en el sistema experto, se han desarrollado y utilizado lenguajes de programación típicos de la inteligencia artificial tales como LISP o PROLOG.

- La persona, llamada ingeniero del conocimiento, que físicamente desarrolla el sistema, debe tener una considerable capacidad y experiencia en programación. Una alternativa, al uso de los lenguajes de programación para la construcción de los sistemas expertos, consiste en el empleo de carcasas vacías ("empty shells") en las que el usuario únicamente debe seguir una serie de normas de sintaxis, fáciles de aprender por personas que no se pueden considerar especialistas. Estas shells, como se ha mencionado anteriormente, poseen el sistema de deducción y todas las interfases sistema-usuario, de manera que sólo se tiene que incorporar el conocimiento y son comercialmente accesibles.

- Estas carcasas llevan incorporados componentes de desarrollo y de ejecución del sistema experto. Los componentes de desarrollo se utilizan en las fases de edición y de compilación del sistema mientras que los componentes de ejecución son estrictamente necesarios para la ejecución del sistema compilado. La utilización de estas carcasas no resulta ardua y además no requiere una experiencia específica en programación, de todas formas, los módulos de ejecución no son siempre fácilmente accesibles. Dado que son indispensables para ejecutar los sistemas, en la práctica, son un inconveniente real para su fácil divulgación.

- Como se ha mencionado anteriormente, tanto la base de conocimientos como el sistema de inferencia, son partes bien diferenciadas en los sistemas expertos. La base de conocimientos, no tiene una estructura fija, como pueden ser secuencias o instrucciones preestablecidas; esta propiedad les da la flexibilidad de incrementar o modificar dicho conocimiento sin necesidad de reconstruir la totalidad del sistema y la modificación del conocimiento no interfiere ni en la estrategia de deducción ni en la interacción sistema experto-usuario. No es necesario que las normas se escriban en orden, pero se debe mantener coherente la estructura de árbol jerárquico de los atributos [24].

- El conocimiento químico suministrado por el experto humano, debe ser convenientemente estructurado y modelado en función de las distintas maneras de incorporar el conocimiento. Este es una de las principales funciones del ingeniero del conocimiento, en consecuencia, éste además de tener cierta habilidad en programación debe tener bastantes cualidades humanas tales como, el entendimiento del conocimiento suministrado, la facilidad de comunicación o muchísima paciencia. Los ingenieros del

conocimiento, al trabajar con los expertos humanos, deben tener la capacidad de extraer, formalizar y validar iterativa y coherentemente el razonamiento.

3.5 ALGUNAS APLICACIONES DE LOS SISTEMAS EXPERTOS EN EL ANÁLISIS QUÍMICO.

Las aplicaciones de los sistemas expertos en el análisis químico se pueden clasificar según distintos criterios: aquí se ha optado por revisar las aplicaciones relacionadas con el análisis cualitativo y el análisis cuantitativo. Las últimas se han ordenado según la técnica analítica utilizada.

Aplicaciones relacionadas con el análisis cualitativo:

Una gran parte de los sistemas expertos, se han orientado a la deducción de estructuras a partir de distintos tipos de espectros [102]. Puede parecer que estos sistemas son prácticamente interesantes para los químicos que sintetizan nuevos compuestos, dado que están interesados en el conocimiento de la estructura de dichos compuestos. Sin embargo, el desarrollo de sistemas expertos dedicados a la interpretación de la información espectral con fines estructurales, es también muy útil al químico analítico que trabaja en el campo del análisis cualitativo de trazas. Estos sistemas inciden directamente en la interpretación de datos obtenidos mediante técnicas espectrofotométricas, las cuales han sido utilizadas secuencialmente a técnicas de separación. Munk [32], en un trabajo reciente relativo a la simulación espectral, asegura que un ordenador convenientemente programado puede responder a la pregunta: ¿Los datos espectrales de un determinado compuesto justifican una estructura propuesta?. Los sistemas expertos juegan un papel importante frente a otros programas de ordenador y contribuyen al enorme potencial que implica la unión de técnicas, sobre todo en la parte concerniente a la interpretación de los datos.

Junto al interés general que despiertan éste tipo de sistemas, se deben tener en cuenta las distintas finalidades analíticas que han guiado su desarrollo. Dentro de las aplicaciones, que se puede decir tienen un carácter más analítico, Luinge y col. [34,35] han utilizado, para el análisis de compuestos desconocidos, IR, MS, C-NMR, H-NMR y UV así como otro tipo de información relevante, como es la extraída de los datos de retención cromatográfica. De todas formas, estas aproximaciones no han sido comprobadas en problemas prácticos y reales.

Tomellini y col. [36,38] han ideado un sistema experto para el análisis de

mezclas ambientales potencialmente peligrosas que actúa como núcleo central de un sistema analítico integrado. El objetivo principal, es la realización de un barrido preliminar de los principales compuestos de naturaleza orgánica ligados a las zonas de desecho. Esto implica que se ha de poder transportar todo el sistema para realizar el análisis "in situ". De acuerdo con estas características, han elegido el FTIR como técnica espectroscópica y esta elección tiene una influencia directa en el intervalo de concentración de los compuestos analizados. Aunque la incidencia que tiene en el análisis de trazas es limitada, los autores han desarrollado numerosas ideas para el control de distintos aspectos como son: la automatización de la adquisición del conocimiento, la auto-elección del conjunto de entrenamiento y la auto-optimización; aspectos todos ellos que pueden ser incorporados a otros sistemas expertos.

Hasenoehrl y col. [39,40,103] han desarrollado un sistema experto para la identificación de estructuras moleculares a partir de los espectros IR de la fase vapor mediante la aplicación de análisis de componentes principales (PCA). Esta ha sido una etapa previa para una caracterización rápida de los grupos funcionales mediante GC/transformada de Fourier del espectro obtenido en IR. Este sistema es relevante en el campo del análisis de trazas porque actúa como detector selectivo de grupos funcionales como son los alcoholes, ácidos carboxílicos, cetonas y aldehidos de mezclas complejas. Este sistema no necesita utilizar muestras de referencia ya que realiza una comparación entre la transformación mediante PCA de los espectros de los compuestos eluidos y la transformación de un conjunto de espectros de librería. De todas formas, el utilizar un tipo de función discriminante sigmoïdal para clasificar los resultados del PCA, dificulta el aumentar el estudio del limitado número de grupos funcionales.

Janssens y Van Espen, han desarrollado un sistema experto para la interpretación cualitativa de los espectros de fluorescencia de rayos X [41]. Se ha comprobado que este sistema experto desarrollado para un sistema operativo VMS y escrito en lenguaje PASCAL, da resultados satisfactorios en el análisis de trazas inorgánicas provenientes de partículas de aerosol industrial mediante el empleo de microsonda electrónica. Para contemplar la mayoría de las situaciones, necesita alrededor de unas 2000 normas, aún así algunos casos de absorción pueden provocar una interpretación errónea. Al igual que otros sistemas expertos, ante situaciones complejas, no sustituye al experto humano pero cabe resaltar que es útil como asistencia en análisis de rutina.

Holtzer y col. [42], han desarrollado un sistema experto para la detección de compuestos volátiles del petróleo en restos de incendios mediante el análisis por GC-MS. Este sistema puede ser muy útil en el campo de del análisis de trazas, pero al haber sido desarrollado para un sistema operativo específico, requiere una serie de adaptaciones antes

de ser utilizado en distintos equipos y ordenadores de uso habitual.

Desde hace tiempo, Scott ha estado interesado en la identificación de compuestos calificados como **potencialmente** peligrosos para el medio ambiente, a partir de sus espectros de masas [43]; recientemente, ha retomado una versión de un sistema experto inductivo [44,45] desarrollado mediante una carcasa que utiliza el algoritmo ID3. El sistema es capaz de identificar y clasificar todo tipo de compuestos orgánicos volátiles (tóxicos etc.) en función de su espectro de masas de baja concentración. Tanto la precisión en la identificación como en la clasificación han sido comprobada mediante comparaciones con espectros reales o almacenados en librerías. Las ventajas que ofrece en rapidez así como en la identificación de información respecto a las técnicas de búsqueda en librerías, son obvias. Este mismo autor, también ha desarrollado un sistema experto basado en la producción de normas, para la estimación de los pesos moleculares de compuestos orgánicos volátiles a partir de los espectros de masas de baja resolución [46,47]; actualmente, dicho sistema se ha ampliado a unos 400 compuestos tanto volátiles como no volátiles [105]. La importancia de estos sistemas específicos reside en su capacidad de excluir algunas estructuras en la interpretación del espectro de masas, tanto en la búsqueda automática como en la interpretación manual. En la interpretación de espectros de masa, también se ha desarrollado un sistema experto HEPHESTUS [109] basado en la construcción de normas y escrito en PROLOG. Actualmente, ha sido aplicado con éxito a la deducción de estructuras en tres tipos de polímeros.

Se han desarrollado algunos sistemas expertos para la interpretación de espectros en los cuales se combinan otras técnicas procedentes de la inteligencia artificial. Un ejemplo es el sistema experto denominado HIPS [110] que combinado con algoritmo genético es útil en la interpretación de espectros NMR, aplicados a proteínas.

En el campo del microanálisis inorgánico clásico, se han desarrollado dos sistemas expertos con una finalidad didáctica. En uno de ellos, Settle [48] proporciona dos aplicaciones para el laboratorio de Química general y Larrechi y col. [49] desarrollan un sistema experto para la separación e identificación de 24 iones metálicos en solución. Ambos sistemas han sido escritos utilizando carcasas comercialmente accesibles, son fáciles de manejar y pueden ser ejecutados en un PC. Estos sistemas, basados en la producción de normas, han sido ideados como soporte a los procesos de razonamiento de los estudiantes, con el fin de llegar a la solución correcta de los problemas planteados.

Aplicaciones relacionadas con el análisis cuantitativo:

Una de las actividades que requiere gran cantidad de experiencia, es el

desarrollo de nuevos métodos analíticos. En este sentido, se han desarrollado varios sistemas expertos útiles en el análisis cuantitativo de trazas metálicas. Estos han sido desarrollados con el fin de orientar al usuario en las distintas etapas del proceso analítico.

Se han construido diversos sistemas relacionados con las etapas previas a la determinación analítica. Settle y col. [50,51] han descrito un sistema para la preparación de la disolución de muestras mediante el empleo de microondas. Los autores muestran cómo los métodos estándar, pueden ser introducidos en programas de ordenador y ser utilizados en el laboratorio. Moors y Massart, han desarrollado un sistema experto que proporciona **orientaciones** para la extracción en fase sólida de drogas en muestras acuosas o en plasma [52]. Este trabajo es **también** útil para todos aquellos que **estén** interesados en el desarrollo de sistemas expertos mediante el uso de la carcasa KES, ya que muestra los gráficos jerárquicos de los atributos así como el árbol de decisión junto con un listado completo del sistema experto. Xu y col. [53], presentan un sistema experto para la extracción, mediante distintos solventes, de los elementos pertenecientes a la familia de las tierras raras. Este sistema escrito en lenguaje LISP puede ejecutarse en PC y ofrece información sobre los eluyentes utilizados más frecuentemente así como de la separación de los elementos de las tierras raras, incluye también recomendaciones en los procedimientos para la separación de mezclas o de procesos económicos.

Cabe destacar el hecho de que existen muy pocos sistemas expertos que guían al usuario en la etapa de la toma de muestra, aspecto en el que existen pocos especialistas y en el que se necesita un buen soporte. Olivero y Bottrell han desarrollado algunos sistemas utilizados por la EPA donde analizan el diseño, modo de operar y las posibles aplicaciones medioambientales [54]. El trabajo, más que describir las características de los sistemas expertos individuales, guía al lector sobre los requisitos para desarrollar un sistema experto como soporte para la toma de muestras ambientales, el análisis y la validación de los datos. Así mismo, Vanderbogaert y col. [104], han desarrollado un sistema experto para la determinación de la técnica analítica más adecuada así como del procedimiento a seguir en un laboratorio de análisis elemental. Dicho sistema experto consta de subsistemas, hasta el momento está desarrollado el subsistema que orienta cuando se trabaja con fluorescencia de rayos X, cabe resaltar que éste sistema se centra sobretodo en lo que respecta a la preparación de la muestra.

Respecto a las técnicas de separación, la que ha recibido mayor atención es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), aunque también se ha desarrollado un sistema experto para la separación de drogas mediante cromatografía de capa fina [21]. Moll y Clerc han desarrollado un sistema experto en el que incluyen explicaciones detalladas, sugerencias prácticas y ejemplos sobre el desarrollo de sistemas utilizando el lenguaje de programación PROLOG.

Varios grupos de investigación, han desarrollado sistemas expertos que guían al usuario en el desarrollo de métodos mediante HPLC. La cromatografía líquida de alta resolución es una técnica muy adecuada para el desarrollo o la aplicación de sistemas expertos debido al distinto tipo de muestras y matrices, al elevado número de analitos que llevan incorporados una gran variedad de grupos funcionales y a la diversidad de condiciones experimentales. Estas últimas están relacionadas, a su vez, con el tipo y la composición de la fase móvil y la fase estacionaria, el pH, el modo de trabajo en gradiente o isocrático, los modos de detección, etc. Bajo el nombre de ESCA, se ha desarrollado un macro proyecto que ha generado una gran cantidad de publicaciones relacionadas con el conocimiento químico tal como la elección de la fase móvil y el modo de detección, así como con el conocimiento quimiométrico, como los test de precisión y robustez [8, 55-57]. La serie de sistemas expertos basados en la producción de normas incluidos en este proyecto que se han desarrollado con una clara finalidad práctica y se puede decir que se ha cubierto ampliamente dicho objetivo dado que se están utilizando en varias compañías e instituciones.

Otros autores han desarrollado sistemas expertos basados en la producción de normas para la elección del modo de separación, fases móvil y estacionaria, incluyendo la identificación del pico [58], la pureza del pico [59], la elección de la fase móvil y de la estacionaria [60,61], un planteamiento de una separación por HPLC pero utilizando metaconocimiento o lo que es lo mismo un control del conocimiento [11], el desarrollo de métodos por HPLC [62-65] o la separación de esteroides [66] y drogas [67]. Recientemente, se ha integrado un sistema experto en un software para HPLC-UV, que lleva a cabo una calibración multivariante de los datos [113].

Recientemente se han desarrollado algunos sistemas expertos para la optimización de la separación mediante HPLC en fase reversa, en este sentido Schoenmakers y col. [106] realizan un estudio de la influencia del pH y de la composición de la fase móvil mediante un diseño experimental, aplicado a mezclas sintéticas de fármacos. Así mismo, Hamoir y col. [107] han desarrollado un sistema experto que lleva a cabo una predicción de las condiciones iniciales de trabajo.

Por lo que respecta a la cromatografía de gases, bajo el nombre de WANDA [108] se ha desarrollado un sistema experto para la interpretación de los datos cromatográficos. Este sistema es muy útil en el análisis de trazas de compuestos orgánicos y preferiblemente en muestras acuosas.

Stillman y col., han diseñado una serie de sistemas expertos modulares que proporcionan al usuario una asistencia a tiempo real en el análisis de trazas metálicas, en la introducción automática de la muestra y el uso de **espectrofotometría** de absorción

atómica [68-69]. Este conjunto de sistemas, que tanto pueden actuar independientemente como interconectados, guía al usuario tanto en la elección del método, control de la puesta a punto del instrumental y adquisición de datos, como en problemas de diagnóstico [70] y de asistencia en la ejecución de programas de garantías de calidad en el laboratorio. Otros sistemas expertos englobados dentro de estas técnicas ofrecen una guía práctica en el desarrollo de métodos por AAS con cámara de grafito, incluyendo algún tipo de conocimiento quimiométrico enfocado principalmente a la etapa de calibración, a métodos de validación [13,14] y a la elección adecuada de la línea de referencia [71].

Las técnicas voltamperométricas no son fáciles de sistematizar debido a la diversidad de tipos que existen, su complejidad, el número de analitos que pueden determinarse y la presencia de errores sistemáticos debido a las posibles interferencias. A pesar de estas propiedades que hacen que estas técnicas reúnan las condiciones para ser introducidas en sistemas expertos, el primer sistema para el análisis electroquímico de trazas es el desarrollado en el capítulo 3 de la presente Tesis [72]. Es un sistema experto basado en la producción de normas que da orientaciones al usuario en lo que respecta al pretratamiento de la muestra problema y en la elección de la técnica voltamperométrica óptima para llevar a cabo la determinación de varios iones metálicos [73-75].

Dentro del campo del análisis químico se han desarrollado sistemas expertos para aplicaciones específicas. Este es el caso de un sistema basado en la producción de normas para el análisis de contaminantes ambientales [54,76,77], y de un sistema desarrollado para la evaluación de datos publicados sobre selenio en alimentos [78]. También, hay otros sistemas expertos de carácter más general, que pueden ser aplicados en algunas etapas del proceso analítico. Marsili, ofrece un sistema que contiene conocimiento quimiométrico específico, como es la elección de métodos apropiados para el análisis de datos y para realizar diseño experimental [79], Wolters desarrolla un sistema experto para la validación cuantitativa de los resultados de la aplicación métodos analíticos [80] y Danzer realiza un sistema para la evaluación e interpretación de la comparación de datos interlaboratorio [81].

Finalmente, se han desarrollado algunos sistemas expertos integrados en procesos de control, estos sistemas están siendo de gran interés analítico cuando se aplican a sistemas automáticos en flujo. En este sentido, Peris y col. [111] han desarrollado un sistema experto basado en la producción de normas para el control del proceso de fermentación a tiempo real en un sistema FIA. Este sistema tiene la capacidad de decidir cuando y cómo se ha de llevar a cabo la medida, mediante la evaluación de algunos parámetros característicos como son la acidez total, pH, etc.

3.6 PERSPECTIVAS FUTURAS EN EL ANÁLISIS INTELIGENTE DE MUESTRAS.

El desarrollo de sistemas expertos, ha experimentado un crecimiento extraordinario en los últimos años. Dentro de las perspectivas futuras siempre está el intentar paliar las dificultades encontradas hasta el momento, lo que conlleva la incorporación de nuevas facilidades.

En este sentido el empleo de herramientas hipermedia puede simplificar la construcción de prototipos así como su mantenimiento. Hipermedia es una nueva tecnología de almacenamiento de información que incluye toda una serie de facilidades como son, la posibilidad de producir textos, gráficos, sonidos y otro tipo de animación que hacen posible la construcción de **interfases** que son mucho más atractivas al usuario [82]. La información se estructura en fracciones y combinando estas nuevas propiedades, el usuario puede maniobrar a través de las diferentes fracciones de información de acuerdo con sus necesidades. Las partes en las que la información ha sido estructurada están unidas entre sí como mínimo por una conexión. El usuario puede seguir varios caminos, ya que las fracciones están conectadas entre sí por distintas uniones, teniendo además acceso a la información sin un orden preestablecido. Por el momento, se han desarrollado pocas aplicaciones de estas herramientas en química analítica [83,84], aunque se están llevando a cabo nuevos estudios [85,86].

Por lo que respecta al problema de la adquisición del conocimiento, se ha hecho referencia a los sistemas expertos inductivos como herramientas a utilizar cuando existe un número suficiente de ejemplos. Sin embargo, cabe resaltar, que a veces resulta difícil disponer de una serie de ejemplos de solución perfectamente conocida. Recientemente, Eriksson [87] ha propuesto un ingenioso mecanismo cuya ejecución ha de ser comprobada en distintas situaciones de heurística y conocimientos futuros. Propone una herramienta de adquisición de conocimiento, especializada en el campo de la purificación de proteínas, que permite al experto humano desarrollar un sistema experto sin necesidad del soporte del ingeniero del conocimiento. Mediante el uso de una interfase gráfica, el experto ha de rellenar la estructuras vacías y ha de introducir los esquemas de forma que se transforman automáticamente en el conocimiento base, esto es, el conocimiento se codifica de manera que pueda interpretarse por el sistema experto. El generador del conocimiento base, transforma el modelo conceptual del propio experto en dicha materia, en el conocimiento base que puede ser inmediatamente utilizado como control. Esta estrategia es interesante ya que reduce al mínimo la participación del ingeniero del conocimiento. De esta manera, la tarea del analista experto en una determinada materia y que quiere desarrollar un sistema experto puede considerarse relativamente fácil si la eficacia de estas herramientas de trabajo propuestas por Eriksson se verifican en el futuro.

Una tendencia clara de los sistemas expertos en el campo del análisis químico apunta hacia el desarrollo de analizadores inteligentes. Una vez conseguida la automatización de las diversas partes que implica un proceso analítico [88], y dado que se ha hecho común el uso de los ordenadores como herramientas para el control, la adquisición de datos [89] y el análisis de datos [90], la siguiente etapa lógica consiste en la introducción de inteligencia a dichos instrumentos [27]. Crouch [91], recientemente ha revisado los atributos de un instrumento inteligente. Entre otros, se encuentran propiedades como la selección del método más apropiado, el desarrollo automático de dichos métodos, la **auto-calibración** y la **auto-optimización**. Los sistemas expertos, actuando como parte principal de estos instrumentos, jugarán un papel importante tanto en el manejo como en el control de estas etapas de un proceso químico. Una gran variedad de herramientas como el aprendizaje inductivo o las redes neuronales [92,93] podrán activarse para la automatización de la adquisición del conocimiento por aquellos sistemas expertos que puedan acceder a una técnica de inteligencia artificial para cada circunstancia. Isenhour [94], ha publicado una serie de aplicaciones que le hacen ser pionero en el trabajo con robots inteligentes [95-98]. Otros sistemas inteligentes se están desarrollando para absorción atómica [71], medidas de cinéticas [91], sistemas en flujo espectrofotométricos [99] o espectroscopia de emisión atómica-ICP [112].

Los sistemas expertos engloban desde sistemas de soporte aislado como complemento a la inteligencia humana [100] a las partes principales que implica un analizador inteligente. Sus funciones van desde actuar como consejeros tomando decisiones sobre el desarrollo, hasta actuar como control en procesos de análisis sofisticados en sistemas automatizados en el laboratorio. Pero hay que decir, que se necesitará tiempo hasta que estos instrumentos posean una de las cualidades humanas más apreciadas, esto es, el sentido común, junto con otras propiedades de la inteligencia humana tales como "la capacidad de realizar acciones apropiadas bajo condiciones impredecibles" [101].

3.7 BIBLIOGRAFÍA.

- 1 *ff.E. Dessy*; Anal. Chem.; 56 (1984) 1200 A.
- 2 *J.W.A. Klaessens, G. Kateman and B.G.M. Vandeginste*; Trends Anal. Chem.; 4 (1985) 114.
- 3 *P. Jackson*; Introduction to Expert Systems; Addison-Wesley, New York, 1986.
- 4 *D.A. Waterman*; A Guide to Expert Systems; Addison-Wesley, Reading, 1986.
- 5 *A.R. De Monchy, A.R. Foster, J.R. Arretteig, L. Lan and S.N. Deming*; Anal. Chem.; 60 (1988) 1355 A.
- 6 *A.P. Wade, S.R. Crouch and D. Betteridge*; Trends Anal. Chem.; 7 (1988) 358.
- 7 *B.A. Hohne and T.A. Pierce*; in *B.A. Hohne and T.A. Pierce (Ed.)*; Expert System Applications in Chemistry, (ACS Symposium Series, Vol. 408), American Chemical Society, Washington, DC, 1989, pp. 2-9.
- 8 *J.A. van Leeuwen, L.M.C. Buydens, B.G.M. Vandeginste and G. Kateman*; Trends Anal. Chem.; 9 (1990) 49.
- 9 *D. Yurman*; in *J.M. Hushon (Ed.)*, Expert Systems for Environmental Applications, (ACS Symposium Series, Vol. 431), American Chemical Society, Washington, DC, 1990, pp. 25-38.
- 10 *F.A. Settle and M.A. Pleva*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 11 (1991) 13.
- 11 *A.L. Ananda, S.M. Foo and H. Gunasingham*; J. Chem. Inf. Comput. Sci.; 28 (1988) 82.
- 12 *L. Buydens, A. Peeters and D.L. Massart*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 5 (1989) 73.
- 13 *J. Smeyers-Verbeke, F.X. Rius, P. Vankeerberghen and D.L. Massart*; Unpublished work.
- 14 *D.L. Massart and F.X.Rius*; in *S. Alegret et al (Ed.) Miscel.lània Enric Casassas*, Universitat Autònoma de Bellaterra, Barcelona, 1991, pp. 237-240.
- 15 *M. Stunder*, in *J.M. Hushon (Ed.)*; Expert Systems for Environmental Applications, (ACS Symposium Series, Vol. 431), American Chemical Society, Washington, DC, 1990, pp. 39-51.
- 16 *R. Wehrens, L. Buydens and G. Kateman*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 12 (1991) 57.
- 17 *B.J. MacLennan*; Principles of Programming Languages, Holt, Rinehart and Winston, New York, 1983.
- 18 *G.J. Postma, B.G.M. Vandeginste, C.J.G. van Halen and G. Kateman*; Trends Anal. Chem.; 6 (1987) 2. And references therein.
- 19 *G.J. Kleywegt, H. Luinge and B.P. Schuman*; Chemom. Intell. Lab. Syst., 4 (1988) 273.
- 20 *G.J. Kleywegt, H. Luinge and B.P. Schuman*; Chemom. Intell. Lab. Syst., 5 (1989) 117.
- 21 *H. Moll and J. Clerc*; in *J. Zupan (Ed.)*; PC's for Chemists. Elsevier, Amsterdam, 1990, pp. 105-133.

- 22 *M.H. Richer*; Expert Systems; 3 (1986) 166.
- 23 *G. Wünsch and M. Gansen*; Fresenius Z. Anal. Chem.; 333 (1989) 607.
- 24 *M. De Smet and D.L. Massart*; Trends Anal. Chem.; 6 (1987) 266.
- 25 *E.A. Feigenbaum*; in The Art of Artificial Intelligence 1: Themes and Case Studies of Knowledge Engineering. Pub. n° STAN-CS-77-621. Department of Computer Science, Standford University, Standford, California, 1977.
- 26 *D. Michie and I. Bratko*; Expert Systems. Automatic Knowledge Acquisition, Addison-Wesley, Wokingham, 1986.
- 27 *E.D. Salin and P.H. Winston*; Anal. Chem.; 64 (1992) 49 A.
- 28 *J.R. Quinlan*; Machine Learning; 1 (1986) 81.
- 29 *P. Vankeerberghen and D.L. Massart*; Trends Anal. Chem.; 10 (1991) 110.
- 30 *L. Buydens, D.L. Massart and P.K. Hopke*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 3 (1988) 199.
- 31 *fi.L. Erskine*; in Course Notes of the European Spring School in Chemometrics, R. Brereton (Ed.), University of Bristol, 10-15 April 1988.
- 32 *M.E. Munk*; J. Chem. Inf. Comput. Sci.; 32 (1992) 263.
- 33 *C.F. Poole and S.K. Poole*; Chromatography Today, Elsevier, 1991, pp 947-1003.
- 34 *H.J. Luinge, G.J. Kleywegt, H.A. Van't Klooster and J.H. Van der Maas*; J. Chem. Inf. Comput. Sci.; 27 (1987) 95.
- 35 *H.J. Luinge*; Trends Anal. Chem.; 9 (1990) 66.
- 36 *L. Ying, S.P. Levine, S.A. Tomellini and S.R. Lowry*; Anal. Chim. Acta; 210 (1988) 51. And references therein.
- 37 *B.J. Wythoff and S.A. Tomellini*; Anal. Chim. Acta; 227 (1989) 359.
- 38 *L. Ying, S.P. Levine, S.A. Tomellini and S.R. Lowry*; Anal. Chem.; 59 (1987) 2197.
- 39 *E.J. Hasenoehrl, J.H. Perkins and P.R. Griffiths*; Anal. Chem.; 64 (1992) 656.
- 40 *E.J. Hasenoehrl, J.H. Perkins and P.R. Griffiths*; Anal. Chem.; 64 (1992) 705.
- 41 *K. Janssens and P. Van Espen*; Anal. Chim. Acta; 184 (1986) 117.
- 42 *G. Holzer, W. Bertsch and Q.W. Zhang*; Anal. Chim. Acta; 259 (1992) 225.
- 43 *M. Sarker, W. G. Glen, L. Yin, W.J. Dunn III, D.R. Scott and S. Swanson*; Anal. Chim. Acta; 257 (1992) 229. And references therein.
- 44 *D.R. Scott*; Anal. Chim. Acta; 265 (1992) 43.
- 45 *D.R. Scott*; Anal. Chim. Acta; 223 (1989) 105.
- 46 *D.R. Scott*; Anal. Chim. Acta; 246 (1991) 391.
- 47 *D.R. Scott*; Chemom. Intell. Lab. Sys.; 16 (1992) 193.
- 48 *F.A. Settle, Jr.*; J. Chem. Educ.; 64 (1987) 340.
- 49 *M.S. Larrechi and F.X. Rius*; J. Chem. Educ.; 68 (1991) 659.
- 50 *F.A. Settle, Jr., B.I. Diamondstone, H.M. Kingston and M.A. Pleva*; J. Chem. Inf. Comput. Sci.; 29 (1989) 11.
- 51 *F.A. Settle, Jr., P.J. Walter, H.M. Kingston, M.A. Pleva, T. Snider and W. Boute*; J. Chem. Inf. Comput. Sci.; 32 (1992) 349.
- 52 *M. Moors and D.L. Massart*; Trends Anal. Chem.; 9 (1990) 164.

- 53 *L. Xu, Y. Xiao and D. U*; *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*; **32** (1992) 437.
- 54 *R.A. Olivero and D. W. Bottrell*; in *J.M. Hushon (Ed.)*, *Expert Systems for Environmental Applications*, (ACS Symposium Series, Vol. 431), American Chemical Society, Washington, DC, 1990, pp. 69-81.
- 55 *J.A. van Leeuwen, B.G.M. Vandeginste, G.J. Postma and G. Kateman*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; **6** (1989) 239.
- 56 *P. Conti, T. Hamoir, M. De Smet, H. Piryns, N. Vanden Driessche, F. Marais, H. Hindriks, P.J. Schoenmakers and D.L. Massart*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; **11** (1991) 27. And references therein.
- 57 *J.A. van Leeuwen, L.M.C. Buydens, B.G.M. Vandeginste, G. Kateman, A. Cleland, M. Mulholland, C. Jansen, F.A. Marais, P.H. Hoogkamer and J.H.M. van den Berg*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; **11** (1991) 161. And references therein.
- 58 *Y. Zhang, H. Zou and P. Lu*; *J. Chromatogr.*; **515** (1990) 13.
- 59 *T.P. Bridge, M.H. Williams and A.F. Fell*; *J. Chromatog.*; **465** (1989) 59.
- 60 *M.A. Tischler and E.A. Fox*; *Computers and Chemistry*; **11** (1987) 125.
- 61 *T.P. Bridge*; *Chromatogr. Anal.*; **11** (1990) 13.
- 62 *S.S. Williams*; *Trends Anal. Chem.*; **9** (1990) 63.
- 63 *S.A. Borman*; *Anal. Chem.*; **58** (1986) 1192 A.
- 64 *T.P. Bridge, M.H. Williams and A.F. Fell*; *Anal. Proc. (London)*, **25** (1988) 43.
- 65 *J.C. Pearce, A. Churchill and A. C. Terry*; *Chemom. Intell. Lab. Systems*; **17** (1992) 213.
- 66 *H. Gunasingham, B. Srinivasan and A.L. Ananda*; *Anal. Chim. Acta*; **182** (1986) 193.
- 67 *B.J. Clark, A.F. Fell, K.T. Milne and M.H. Williams*; *J. Pharm. Pharmacology*; **37** (1985) 1298.
- 68 *W.R. Browett, T.A. Cox and M.J. Stillman*; in *B.A. Hohne and T.A. Pierce (Ed.)*, *Expert System Applications in Chemistry* (ACS Symposium Series, Vol. 408), American Chemical Society, Washington, DC, 1989, pp. 210-235.
- 69 *W.R. Browett and M.J. Stillman*; *Prog. Anal. Spectrosc.*; **12** (1989) 73.
- 70 *S. Lahiri and M.J. Stillman*; *Anal. Chem.*; **64** (1992) 283 A.
- 71 *D.P. Webb and E.D. Salin*; *J. Anal. At. Spectrom.*; **4** (1990) 793.
- 72 *I. Ruisánchez, M.S. Larrechi, F.X. Rius and M. Esteban*; *Trends Anal. Chem.*; **11** (1992) 135.
- 73 *M. Esteban, I. Ruisánchez, M.S. Larrechi and F.X. Rius*; *Anal. Chim. Acta*; **268** (1992) 95.
- 74 *M. Esteban, I. Ruisánchez, M.S. Larrechi and F.X. Rius*; *Anal. Chim. Acta*; **268** (1992) 107.
- 75 *M. Esteban, C. Ariño, I. Ruisánchez, M.S. Larrechi and F.X. Rius*; *Anal. Chim. Acta*; **284** (1993) 435. *Ibid*; *Anal. Chim. Acta*; **285** (1994) 193. *Ibid*; *Anal. Chim. Acta*; **285** (1994) 377.
- 76 *H. Hirayama, R. Wohlsen and C. Bred*; in *B.A. Hohne and T.A. Pierce (Ed.)*; *Expert*

- System Applications in Chemistry (ACS Symposium Series, Vol. 408), American Chemical Society, Washington, DC, 1989, pp. 200-209.
- 77 *J.M. Hushon (Ed.)*; Expert Systems for Environmental Applications, (ACS Symposium Series, Vol. 431), American Chemical Society, Washington, DC, 1990.
- 78 *D.W. Bigwood, S.R. Heller, W.R. Wolf, A. Schubert and J.M. Holden*; *Anal. Chim. Acta*; 200 (1987) 411.
- 79 *M. Marsili, E. Marengo and H. Sailer*; *Anal. Chim. Acta*; 210 (1988) 33.
- 80 *R. Wo/ters, A.C.M. Van Den Broek and G. Kateman*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 9 (1990) 143.
- 81 *K. Danzer, U. Wank and D. Wienke*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 12 (1991) 69.
- 82 *N. Woodhead*; *Hypertext and Hypermedia: Theory and Applications*, Addison Wesley, Reading, MA, 1991.
- 83 *M. Farkas, M. Cadish and E. Pretsch*; *Scientific Computing and Automation*, Elsevier, Amsterdam, 1990.
- 84 *B. Bourguignon, P. Vankeerberghen and D.L. Massart*; *J. Chromatogr.*; 592 (1992) 51.
- 85 *W. Penninckx, J. Smeyers-Verbeke, D.L. Massart, L.G.C.W. Spanjers and F. Maris*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 17 (1992) 193.
- 86 *W. Penninckx, J. Smeyers-Verbeke, D.L. Massart, L.G.C.W. Spanjers and F. Man's*. In preparation.
- 87 *H. Eriksson*; *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*; 32 (1992) 90.
- 88 *M. Valcárcel and M.D. Luque de Castro*; *Automatic Methods of Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 1988.
- 89 *V. Cerda and G. Ramis*; *An Introduction to Laboratory Automation*, Wiley, Chichester, 1990.
- 90 *S.D. Brown, R.S. Bear, Jr. and T.B. Blank*; *Anal. Chem.*; 64 (1992) 22R.
- 91 *S.f. Crouch*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 8 (1990) 259.
- 92 *J. Zupan*; *Anal. Chim. Acta*; 235 (1990) 53.
- 93 *J. Zupan and J. Gasteiger*; *Anal. Chim. Acta*; 248 (1991) 1.
- 94 *T.L. Isenhour and J.C. Marshall*; *J. Res. Nat. Bur. Standards*; 93 (1988) 209.
- 95 *T.L. Isenhour, S.E. Eckert and J.C. Marshall*; *Anal. Chem.*; 61 (1989) 805 A.
- 96 *T.L. Isenhour and P.B. Harrington*; *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*; 28 (1988) 215.
- 97 *J.R. Lee, T.L. Isenhour and J.C. Marshall*; *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*; 31 (1991) 546.
- 98 *S.E. Eckert-Tilotta, T.L. Isenhour and J.C. Marshall*; *Anal. Chim. Acta*; 254 (1991) 215.
- 99 *I. Ruisánchez, A. Rius, M.P. Callao, M.S. Larrechi and F.X. Rius*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; in press.
- 100 *G. Kateman*; *Trends Anal. Chem.*; 3 (1984) VII.
- 101 *N. Wink/ess and I. Browning*; *Robots on Your Doorstep*, Robotics Press, Portland,

- OR, 1978.
- 102 W.A. Warr; *Anal. Chem.*; 65 (1993) 1087A.
- 103 E.J. Hasenoehrl, J.H. Perkins and P.R. Griffiths; *Appl. Spect.*; 47 (1993) 643.
- 104 B. Vandebogaert, J.B.W Morksins and H.C. Smit; *Anal. Chim. Acta*; part I 270 (1992) 107; part II 270 (1992) 115.
- 105 D.R. Scott and A. Levitsky; *Anal. Chim. Acta*; 278 (1993) 137.
- 106 P.J. Schoenmakers, N. Mackie and R.M.L. Marques; *J. Chromatogr.*; 35 (1993) 18.
- 107 T. Hamoir, B. Bourguignon, D.L. Massart and H. Hidrinks; *J. Chromatogr.*; 633 (1993) 43.
- 108 K. Scheuer; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 19 (1993) 201.
- 109 C.G. Georgakopoulos, M. Statheropoulos, J. Kontoyannakos and G. Parissakis; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 19 (1993) 75.
- 110 R. Wehrens, C. Lucasius, L. Buydens and G. Kateman; *Anal. Chim. Acta*; 277 (1993) 313.
- 111 M. Peris, A. Maquieira, Ft. Puchades, V. Chirivella, R. Ors, J. Serrano and A. Bonastre; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 21 (1993) 243.
- 112 D.P. Webb, J.H. Hamier and E.D. Salin; *Trends Anal. Chem.*; 13 (1994) 44.
- 113 M. Gecritsen, J.A. van Leeuwen, B.G.M. Vandeginste, L Buydens and G. Kateman; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 15 (1992) 171.

4. SISTEMAS EXPERTOS COMO ENTIDADES AISLADAS DE CONOCIMIENTO.

DESARROLLO DE UN SISTEMA EXPERTO VOLTAMPEROMÉTRICO.

4.1 INTRODUCCIÓN

Cuando se va a llevar a cabo una determinación analítica, además de la selección de la técnica con la que se va a trabajar, uno de los primeros aspectos a considerar es la elección adecuada del método de trabajo y de las condiciones en que se debe de operar. Para realizar con éxito la elección sería conveniente disponer, no sólo del conocimiento teórico de la técnica de trabajo, sino también, tener cierta experiencia en la práctica del análisis que se va a efectuar.

En un laboratorio dedicado al análisis de rutina, la situación real es que el operario no sea un experto y los análisis los lleve a cabo siguiendo un "protocolo" más o menos bien establecido de forma que, cuando se encuentra con un problema que se sale de lo habitual, puede encontrar ciertas dificultades para resolver por sí mismo la nueva situación planteada.

El problema se agudiza cuando se trabaja en el desarrollo y la aplicación de nuevas metodologías, una de las tareas más creativas del analista. A pesar de que las técnicas instrumentales utilizadas en análisis están generalmente bien descritas y documentadas, el aprendizaje de las distintas etapas que conlleva un proceso analítico y la interdependencia entre las mismas, requiere mucha dedicación y por lo tanto mucho tiempo. Es más, podemos decir que se llegan a obtener resultados satisfactorios después de una larga experiencia en la aplicación de una determinada técnica.

En este sentido, los sistemas expertos, se presentan como una herramienta muy útil capaz de aportar al usuario todo el conocimiento y la experiencia de un experto en el campo para el cual ha sido diseñado el sistema. Además, los sistemas expertos, como productos de la inteligencia artificial, son capaces de almacenar gran cantidad de conocimiento, relacionarlo entre sí e incluso conectar con otros programas convencionales como por ejemplo programas de tratamiento de datos, etc. [1-3].

Cabe mencionar que, así como los sistemas expertos son sistemas contruidos a partir de la experiencia de un experto humano, actualmente se están haciendo esfuerzos en el diseño y desarrollo de sistemas que incorporan el conocimiento generado por su propia experiencia.

Como se ha expuesto ampliamente en el capítulo 3 de la Tesis, en los últimos años se han aplicado un gran número de sistemas expertos al desarrollo de métodos por HPLC, AAS, etc; sin embargo, las técnicas electroquímicas han recibido poca atención. Sólo Van der Linden y colaboradores, han desarrollado un sistema experto para la deducción de los mecanismos de reacción en el electrodo utilizando como técnicas experimentales, cronopotenciometría [4], polarografía d.c [5], voltametría paso a paso ("staircase") y cronocoulombimetría [6].

Las técnicas electroanalíticas, a pesar de que son mucho más baratas que otras técnicas con similares límites de detección, no son muy populares. Esto puede ser debido a que en la mayoría de los casos requieren un conocimiento físico-químico tanto de la técnica como del proceso electroquímico que tiene lugar. Sin embargo, diversos métodos voltamperométricos se han revelado como los más adecuados para la determinación de trazas metálicas en determinados tipos de matrices, de forma que se han constituido como verdaderos métodos de rutina [7,8]. Por ello podríamos decir que el desarrollo de sistemas expertos, como guía para la aplicación de métodos voltamperométricos, es cada vez de mayor interés debido a:

1. La existencia de instrumental electroquímico versátil, comercialmente accesible y con los que se pueden desarrollar métodos muy sencillos. Recientemente se han realizado algunos trabajos que describen las modificaciones introducidas en los instrumentos de polarografía clásica para unirlos con mini o microordenadores, también comercialmente accesibles [9].
2. La introducción, en los últimos años, de estos métodos polarográficos como análisis de rutina de metales tóxicos ambientales, en control de alimentación y en el campo médico, toxicológico y de higiene [1].
3. El elevado número y diversidad de posibles técnicas electroquímicas.
4. Un amplio número de usuarios potenciales con insuficientes fundamentos electroquímicos. Las determinaciones voltamperométricas requieren un control cuidadoso de diversos aspectos que intervienen en la medida.
5. La complejidad de las técnicas, relacionada con los parámetros operacionales.
6. El elevado número de analitos que se pueden determinar.
7. La existencia de posibles errores sistemáticos debidos a la presencia de interferencias, etc.

De todo lo expuesto se puede resumir que la correcta aplicación de las técnicas voltamperométricas requiere gran cantidad de conocimiento, así como de experiencia, aspectos que hacen que los sistemas expertos en el campo voltamperométrico puedan ser muy útiles [2,3].

Por ello, se ha creído interesante construir un sistema experto que sea de utilidad para la determinación de metales mediante técnicas voltamperométricas y en concreto se ha escogido como campo de aplicación la determinación de metales en todo tipo de aguas naturales por considerarlo un campo representativo de los análisis más frecuentes.

El sistema experto está dirigido a un tipo de usuario que aunque esté familiarizado con el empleo básico de las técnicas voltamperométricas (manejo de los electrodos y parámetros operacionales), no sea un experto en este campo; situación que suele ser la más habitual en un laboratorio de análisis de rutina o cuando alguien se enfrenta por primera vez a este tipo de técnica.

El conocimiento incorporado corresponde a la forma correcta de llevar a cabo la determinación de 17 metales que se encuentran presentes en el agua en distintos niveles de concentración traza. Para la selección de los iones metálicos, se han tenido presentes diversas consideraciones:

Se han incluido el Cu, Zn, Cd y Pb, puesto que su determinación voltamperométrica se puede realizar simultáneamente y, es útil en muchos tipos de muestras si se efectúa un adecuado tratamiento de las mismas. Se ha incluido el In ya que, aunque no es un catión metálico muy frecuente, suele dar una señal solapada con el Cd.

Se han incluido otros cationes metálicos como el Ni, Co, Tl, Hg, Se, V, Cr, As, Al y Ti, ya que en general presentan un gran interés desde el punto de vista medioambiental, de control de calidad de los alimentos, toxicológico, etc. Su concentración en las aguas es distinta dependiendo de que se trate de aguas polucionadas o no, de forma que cuando su concentración es muy baja su determinación no suele ser muy sencilla y se requiere gran experiencia para llevarla a cabo con éxito. En el caso de Cr y el As, la determinación está en función de la especie que se desee determinar.

También se han considerado el Fe y el Mn; el Fe es un elemento natural muy abundante, presente en todo tipo de aguas, sin embargo su determinación electroquímica es generalmente muy complicada; depende del valor del pH del medio y de la posible presencia de interferencias. En la determinación de Mn, aunque tiene tres estados de oxidación, sólo se ha considerado la determinación del Mn(II) ya que es soluble en

soluciones acuosas.

Las técnicas incorporadas para realizar estas determinaciones, son todas ellas polarográficas: **polarografía de impulsos diferencial (DPP)** y **voltametría de redisolución** en sus diversas variantes (**DPASV, DPCSV, DPAdSV**). Como electrodo de trabajo, se ha considerado el de mercurio, ya sea de gotas (**DME**), el estático (**SMDE**) o el de gota colgante (**HMDE**) por considerarlo el más habitual en un laboratorio de rutina. No se ha planteado incluir el electrodo de película de mercurio dada la gran experiencia que requiere su utilización, situación en la cual se requeriría otro sistema experto enfocado a un tipo de usuarios más especialistas. Sólo en algunas situaciones particulares como son la determinación de Hg o de As por DPASV, se introduce el uso opcional del electrodo rotatorio de oro.

Los métodos de trabajo aconsejados son todos ellos métodos normalizados incluidos en las normas DIN [10], de forma que se tiene constancia de su validez.

Para el desarrollo del sistema experto, se ha escogido un soporte lógico ("software") correspondiente a una carcasa de tipo medio [11] denominada KES [12] que no requiere disponer de un soporte físico ("hardware") muy potente para su utilización (PC, con 2MB) y que sin embargo proporciona las facilidades básicas de comunicación con el usuario y con otros programas de ordenador.

El sistema experto desarrollado ayuda al usuario tanto en el aspecto cualitativo del análisis como en el aspecto cuantitativo. A modo de ejemplo y como resultado del estudio cualitativo, en el caso de obtener picos que no están bien resueltos (como puede ser el caso del In y Cd), éste ofrece la posibilidad de conectar con el programa externo DECON que permite resolver dichos picos; así mismo, en la etapa de calibración se aconseja al usuario su conexión con otro programa externo COOK'S2 [13] que le permite evaluar la posible presencia de algún punto discrepante.

En el desarrollo de un sistema experto, además de tener bien definido y delimitado cual es el área de trabajo o dominio de conocimiento en el que se va a aplicar, así como el **usuario al** que va dirigido el sistema, es igualmente importante la elección del **experto del dominio**, ya que el conocimiento y experiencia de éste es de gran utilidad en el establecimiento del conocimiento base que se debe introducir en el sistema experto. En el sistema que se presenta, y que ha continuación se va a estudiar detalladamente, se ha contado con la colaboración del Dr. Miguel Esteban Cortada, del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Barcelona.

4.2 MATERIAL

El material utilizado para el desarrollo del sistema experto se puede dividir en tres grandes bloques, el primero de ellos corresponde al instrumental utilizado para llevar a cabo la medida polarográfica, el segundo recoge los programas de ordenador comúnmente denominado soporte lógico ó "software", y el tercero lo que se viene denominando como soporte físico ó "hardware" .

INSTRUMENTOS ANALÍTICOS

Las determinaciones voltamperométricas se llevan a cabo en un Polarógrafo Metrohm Polarecord 506 ó 526. Así mismo, los electrodos de trabajo utilizados para llevar a cabo las determinaciones voltamperométricas de los distintos cationes, se han escogido teniendo en cuenta su reproducibilidad y la experiencia del usuario.

Electrodos de mercurio: El sistema experto según el catión a determinar y el método de trabajo, recomienda el uso del electrodo de gotas de mercurio (DME), estático de gotas de mercurio (SMDE) y de mercurio de gota colgante (HMDE). La utilización del electrodo de película de mercurio no se incluye en el sistema experto ya que presupone una gran práctica tanto en su preparación como en su uso.

Electrodo de oro: éste electrodo se recomienda para aquellos usuarios con experiencia en el empleo de electrodos sólidos y únicamente para la determinación de mercurio, cromo y arsénico, aunque para los dos últimos, se ofrece un método alternativo utilizando un electrodo de Hg. Cuando se utiliza el electrodo de oro, el sistema experto indica los pasos a seguir para su correcta preparación [14].

Como electrodo de referencia se recomienda el electrodo de Ag/AgCl o el de calomelanos saturado (SCE), ambos electrodos tienen un potencial estable y prácticamente independiente de la temperatura. El electrodo SCE es el más utilizado en polarografía en soluciones acuosas. Como electrodo auxiliar se recomienda el de platino o de carbón (glassy carbon).

SOPORTE LÓGICO

Como se ha citado en el capítulo 3, para el desarrollo de un sistema experto, el ingeniero del conocimiento utiliza un sistema de programación. En este caso se ha utilizado la Versión 1.4 de la carcasa de tipo medio KES ("Knowledge Expert System")

[12]. KES es un paquete comercialmente asequible que permite introducir y almacenar el 'conocimiento base' y dispone del 'sistema de inferencia o de deducción' y de una serie de 'facilidades de soporte' al usuario; KES es compatible con PC's.

El sistema experto, durante su ejecución, accede a programas de ordenador para el tratamiento de los datos voltamperométricos, éstos han sido desarrollados en nuestro laboratorio en lenguaje Turbo Basic. Los tres programas con los que conecta son:

1) ADDA.Bas, este programa adquiere y registra los datos analógicos provenientes del polarógrafo y los convierte a forma digital almacenándolos en un fichero de comunicación.

2) DECON.Bas, programa que permite resolver, mediante métodos de acoplamiento de curvas, la señal que proviene de dos o más especies químicas en la contribución correspondiente a cada especie individual.

3) COOK'S2.Bas [13], que obtiene la recta de calibrado mediante el cálculo de los parámetros de regresión y la valida mediante el análisis de los residuales así como la detección de puntos discrepantes. Los parámetros de la recta de calibrado se almacenan en un fichero de comunicación al cual accede el sistema experto cuando necesita dichos datos para posteriores cálculos.

SOPORTE FÍSICO

Todos los programas citados, se han desarrollado utilizando un PC IBM PS/80 con coprocesador matemático 80286 (el coprocesador no es estrictamente necesario). Dicho ordenador está unido al Polarógrafo mediante una interfase con un conversor analógico-digital (A/D) de 12 bits, 16 canales y de ± 1 V/ ± 5 V).

4.3 DESARROLLO DEL SISTEMA EXPERTO

Dadas las características expuestas en el capítulo 3, una vez seleccionado el tipo de usuario, varios son los aspectos que se han de tener en cuenta al desarrollar un sistema experto. Dichos aspectos quedan recogidos en las distintas etapas que se han diferenciado a la hora de desarrollarlo y que a continuación se van a analizar.

La primera corresponde a la adquisición de toda la información, datos y experiencia necesarios para llevar a cabo las determinaciones voltamperométricas y contenida

en el sistema experto, se especifica detalladamente en el apartado 'Base de Conocimientos'.

La segunda etapa responde a la pregunta de como se ha incorporado o se representa de forma lógica y ordenada el conocimiento adquirido, etapa descrita en profundidad en el apartado 'Construcción del sistema experto'.

La tercera incluye todas aquellas partes que interactúan con el usuario, recibiendo el nombre de facilidades de soporte.

Por último, dentro de éste capítulo en el apartado 'Resultados', se muestra a modo de ejemplo una sesión interactiva del programa con un usuario.

4.3.1 BASE DE CONOCIMIENTOS

La base de conocimientos ("Knowledge Base") incluye todo lo relacionado con el campo de saber del experto, en nuestro caso, es por lo tanto el conjunto de conocimientos y experiencia aportados por el experto humano en voltamperometría y que sirven de base al sistema experto.

Esta información depende del usuario al que está dirigido el sistema, ya se ha indicado que se ha pensando en un usuario que no es un especialista en la materia, aunque ello no significa que carezca de todo conocimiento en este ámbito, así es imprescindible que esté familiarizado con los aspectos más básicos de las técnicas que se van a emplear, en nuestro caso aspectos tales como, los principios más elementales del análisis voltamperométrico, conocimiento de las curvas intensidad potencial, el empleo de tres electrodos, o el manejo del electrodo de mercurio.

La información podría desglosarse en dos aspectos; el primero de ellos está relacionado con el conocimiento teórico del proceso de medida que se va a realizar, y en este sentido aporta todo lo relacionado con el conocimiento acerca de:

* La influencia que tiene la matriz de la muestra que se va a analizar en la determinación que se piensa llevar a cabo y en consecuencia cómo realizar un correcto pretratamiento de la muestra original.

* Cual es el criterio o criterios que se deben de tener en cuenta para escoger la técnica de análisis más adecuada.

- * La importancia que tienen las condiciones del medio, pH, naturaleza del electrolito soporte, temperatura,..etc.
- * La influencia que tienen los distintos parámetros instrumentales en la medida.
- * ¿Qué parámetro es el que nos permite asignar una señal con el analito que se pretende determinar?.
- * ¿Cómo evaluar si una señal es debida a más de un analito?.
- * Sobre la forma correcta de llevar a cabo una determinación cuantitativa.

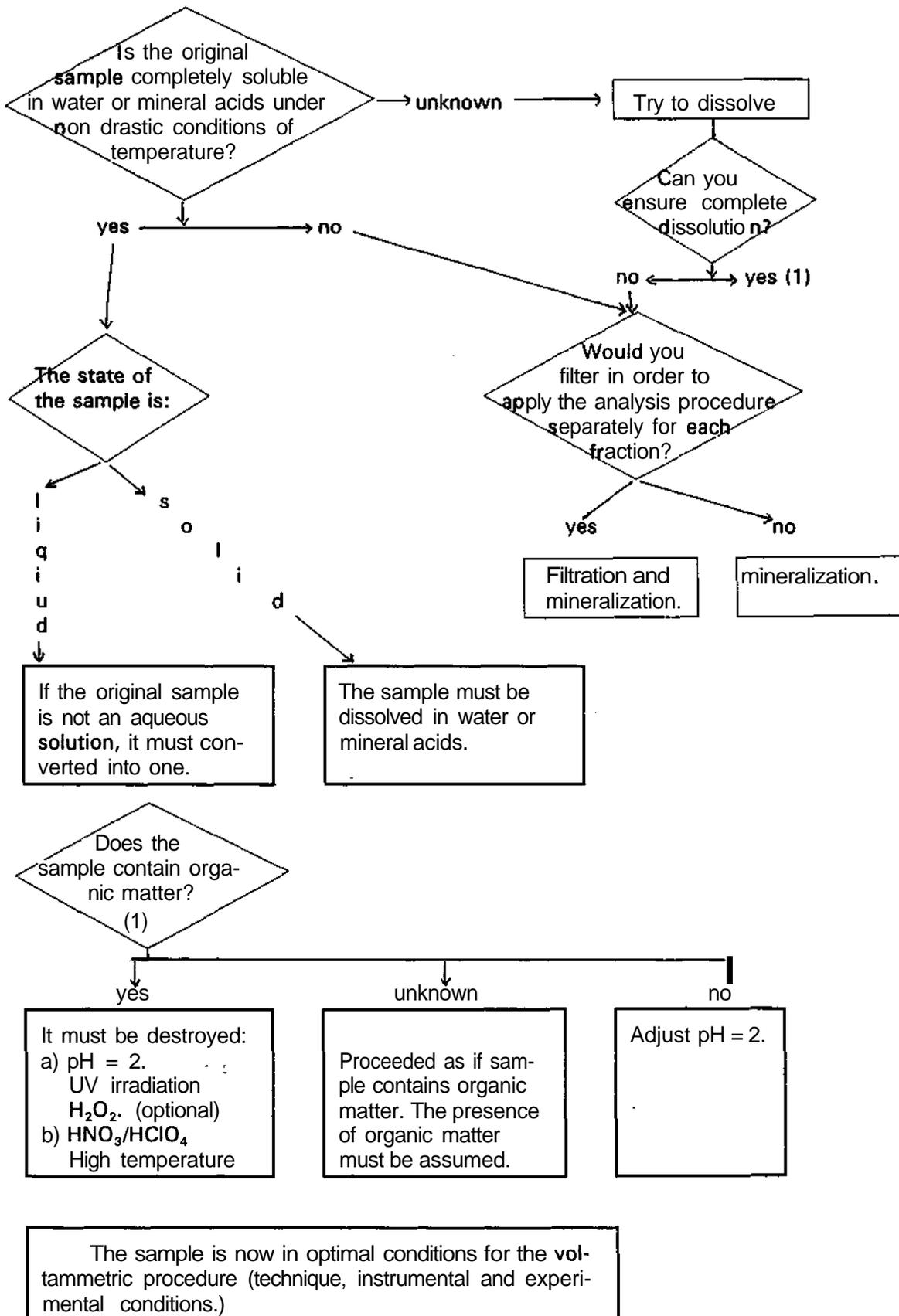
El segundo aspecto básico, está relacionado con la experiencia de un experto en este campo, aspecto que aunque es difícil de precisar, muchas veces es más importante a la hora de llevar a cabo eficazmente una determinación que el propio conocimiento teórico.

La información aportada y que recoge los dos aspectos citados constituye lo que se denomina la *fase de Conocimientos* del sistema experto. Este sistema se ha construido pensando en que sirva de guía al usuario a lo largo de las distintas etapas que implica una determinación voltamperométrica de trazas metálicas, esto es, en lo relativo a: 1) pretratamiento de la muestra, 2) elección de la técnica más adecuada (procedimiento voltamperométrico), 3) análisis cualitativo y 4) análisis cuantitativo. A continuación se procede a comentar la base de conocimiento relativo a los cuatro apartados citados que están incluidos en el sistema Experto.

Pretratamiento de la muestra.

De los conocimientos básicos en **polarografía**, se puede deducir que cuatro son los aspectos a tener en cuenta a la hora de proceder a la determinación voltamperométrica: a) la necesidad de trabajar en medio acuoso, b) con pH ácido, c) en presencia de un electrolito inerte y d) en ausencia de materia orgánica. La forma más adecuada de conseguir cada una de estas condiciones, así como todos los aspectos de tipo práctico que se deben de tener en cuenta a la hora de realizarlo, constituye la información contenida en la primera parte del sistema experto y que se ha englobado como pretratamiento de la muestra. Un esquema detallado de la información aportada por el sistema se encuentra en el diagrama de flujo 1 (Figura 1).

Figura 1, diagrama de flujo del conocimiento base relativo al pretratamiento.



Como puede observarse en dicha Figura, el análisis que realiza el sistema experto se basa en la solubilidad de la disolución problema en agua o ácidos minerales en condiciones no extremas de temperatura (para minimizar las pérdidas de analito) y de tiempo. Para ello las muestra originales se dividen en dos grandes grupos, las muestra que son fácilmente solubles y las que no lo son.

Si la muestra es fácilmente soluble debe solubilizarse, en caso contrario "debe mineralizarse y el sistema experto indica las condiciones para llevar a cabo dicha mineralización. Dentro del segundo grupo de muestras se contempla la posibilidad de que sean insolubles por la presencia de partículas en suspensión y de que previo a la mineralización interese filtrar la muestra y proceder a analizar cada fracción por separado.

Una vez solubilizada la muestra, se analiza la presencia o no de materia orgánica; en caso afirmativo o que se desconozca su presencia se procede a la eliminación de la misma según el tratamiento indicado por el sistema experto y detallado en la Figura 1.

Procedimiento voltamperométrico.

El procedimiento voltamperométrico implica la elección de la técnica de trabajo, así como del electrodo, de los parámetros instrumentales, condiciones de medida, etc, aspectos que están relacionados con el tipo y la concentración del analito en estudio. En la Figura 2 (página 62), se muestra el diagrama de flujo seguido por el sistema experto.

Así, de la gran variedad de técnicas **electroanalíticas**, se han incorporado las denominadas técnicas polarográficas, esto es, aquellas en las que el electrodo de trabajo es un electrodo de mercurio. En la Tabla 1 (página 57), se muestra un esquema de las técnicas incorporadas en función del analito y de su concentración, siendo dichas técnicas: polarografía de impulsos diferencial ("**differential pulse polarography**", **DPP**), voltamperometría de redisolución anódica ("**differential pulse anodic stripping voltammetry**", **DPASV**), voltametría adsortiva de redisolución ("**adsortive stripping voltammetry**" (**AdSV**), **voltamperometría** de redisolución catódica ("**differential pulse catòdic stripping voltammetry**", **DPCSV**) y voltametría adsorptiva de redisolución anódica ("**differential pulse adsortive stripping voltammetry**", **DPAdSV**).

La elección del electrodo está también relacionado con la concentración de los analitos en la muestra y teniendo en cuenta la sensibilidad y reproducibilidad de la medida. Debido a las dificultades asociadas al uso de electrodos sólidos, en los que se requiere mucha experiencia en la preparación de la superficie del electrodo para que sea

reproducibles [15], principalmente se recomiendan electrodos de mercurio (anteriormente citados) y el electrodo de oro [14] pero en este caso, indicando al usuario la posibilidad de llevar a cabo el análisis con un electrodo de Hg si no tiene experiencia en el uso del mismo.

Junto a la elección de un buen método de trabajo para una aplicación en particular, es igualmente importante una buena elección de los parámetros operacionales, por ello el sistema experto incluye información sobre parámetros instrumentales entre los que cabe resaltar:

- * los electrodos: de referencia, auxiliar y de trabajo,
- * el tiempo de vida de la gota (en DPP),
- * la magnitud del pulso (en las técnicas con pulso),
- * la velocidad y el tiempo del pulso,
- * los tiempos de **pre-electrolisis** y de reposo,
- * los potenciales de pre-electrolisis (para las voltamperometrías de redisolución),
- * los potenciales inicial y final en los que se realiza la medida.

El sistema experto especifica también las condiciones del medio para llevar a cabo la determinación como son:

- * valor del pH,
- * naturaleza y concentración del electrolito soporte, etc.

En función del tipo de analito, la información que suministra el sistema se puede dividir en dos grandes grupos; el primero de ellos incluye a todos aquellos cationes cuyo análisis se realiza mediante métodos considerados estándar para el análisis de trazas y ultratrazas en un numeroso tipo de matrices (aguas) [7,8]. El segundo grupo recoge determinaciones específicas de algunos cationes. A continuación detallaremos los cationes incluidos en cada grupo así como los métodos recomendados para su determinación. Como ya se ha indicado, un esquema detallado en función del tipo y la concentración de analito se especifica en la Tabla 1 (página 57).

Primer grupo:

Determinación simultánea de Cu, Zn, Cd y Pb; se determinan simultáneamente, ya que poseen unos potenciales de reducción suficientemente separados. Es una de las aplicaciones voltamperométricas mejor desarrolladas y actualmente se considera

un análisis de rutina en los laboratorios, siendo útil en el análisis de muchos tipos de material [11] con particular atención a muestras ambientales [7,8]. Generalmente estos cationes se encuentran en las muestras naturales a nivel de trazas.

Aunque la presencia del indio no es tan común como la de los cationes citados, su pico polarográfico aparece a un valor de potencial muy próximo al del Cd y por lo tanto el sistema experto incluye la posibilidad de determinarlo como interferencia del Cd. Dicha determinación se realiza mediante la aplicación de un programa de resolución de señales, un ejemplo del mismo puede verse en el ejemplo n° 1 de la página 77.

Entre los márgenes de concentración considerados, existen dos técnicas voltamperométricas que debido a su gran reproducibilidad pueden ser consideradas como técnicas de rutina en un laboratorio, así si la concentración de los cationes metálicos se encuentra comprendida entre 10^{-4} y 10^{-7} M, se recomienda trabajar con la técnica polarografía de impulsos diferencial (DPP) según el método oficial desarrollado en las normas DIN [10], que incluye la posibilidad de aplicar dicha técnica en dos condiciones distintas del medio, esto es, a $\text{pH} = 2$ o $\text{pH} = 4.6$. Cuando la concentración está comprendida entre 10^{-7} y 10^{-9} M, la técnica recomendada es la voltamperometría de redisolución anódica (DPASV) y se incluyen una serie de precauciones que hay que tener en cuenta en este tipo de análisis.

También se cita la posibilidad de que la concentración de los cationes en estudio sea inferior a 10^{-9} M, en dicho caso se recomienda trabajar con DPASV pero utilizando el electrodo de película de mercurio. Dada la complejidad del uso de electrodos sólidos, por lo que no son considerados como métodos de rutina, la aplicación de éste método no se incluye en éste sistema experto. La información correspondiente a dichos métodos se encuentra especificada en el ejemplo n° 1 del epígrafe resultados, página 77.

Determinación simultánea de Ni y Co, metales tóxicos cuya determinación es de especial interés en muestras ambientales, para el control de calidad de alimentos, toxicidad, higiene, etc.

Los métodos para la determinación de Ni(II) y Co(II), se recomiendan en función de la concentración a la que se encuentran presentes en la muestra y en función de la presencia de excesos de Ni y/o Zn. Estos métodos tienen algunas limitaciones para la determinación del Co y son recomendados por el sistema experto teniendo en cuenta la relación de concentraciones de Ni/Co y la de Ni/Zn [16,17].

Debido a la irreversibilidad del proceso electrodo del Ni y del Co, los

métodos para su determinación se basan en la acumulación de ambos cationes en el electrodo de mercurio de gota colgante (HMDE) mediante el empleo de un agente complejante y son considerados métodos estándar en el análisis de diferentes tipos de material [18].

Básicamente las técnicas recomendadas son **voltamperometría** de adsorción (DPA_{AdSV}) y **polarografía** de impulsos diferencial (DPP), con el electrodo de Hg. En la primera de ellas se utiliza como agente complejante la dimetilgloxima (DMG) en las condiciones propuestas por el método descrito en las normas DIN [4] o en el método de Valenta [19,20] o la nioxima, siguiendo el método de Donat-Bruland [16].

La segunda técnica recomendada (DPP) utiliza como agente complejante la nioxima en las condiciones propuestas por el método de Brobrowski [17]. Las condiciones, tanto instrumentales como de medio, en las distintas situaciones pueden confrontarse en el ejemplo 2 y 3 del epígrafe resultados páginas 82 y 83.

Determinación de Tl, metal de las mismas características que los dos anteriores pero que su presencia en muestras naturales es menos frecuente. Se determina de modo similar al Ni y Co pero mediante la complejación con EDTA en tampon de acetato [21,22]. Los métodos recomendados están recogidos en el ejemplo 4 del epígrafe resultados (página 85) y son en función de la concentración: polarografía de impulsos diferencial (DPP) o voltamperometría de redisolución anódica (DPASV), ambas con electrodo de Hg.

Determinación de Hg, Se, y V, metales traza tóxicos que requieren especial atención. **La determinación de Hg** según el método propuesto por Valenta y Nürnberg [23,24], se basa en la utilización de voltamperometría de redisolución anódica (DPASV) con un electrodo rotatorio de oro y se lleva a cabo después de una etapa previa de acumulación catódica en medio ácido ($\text{HClO}_4 + \text{HCl}$). Esta determinación se ha comprobado que es satisfactoria en el análisis de aguas naturales, vino [23] y biomatrices [24] y que permite la determinación simultánea del Cu cuando se encuentra a niveles inferiores a los ng/l.

Debido a las dificultades asociadas a los electrodos sólidos, el sistema experto incluye la información necesaria para la correcta preparación del electrodo de oro [14]. Un ejemplo de la información que suministra el sistema experto puede observarse en el ejemplo número 5 del epígrafe resultados (página 86).

En la determinación de Se, el sistema experto considera tres situaciones distintas; la posibilidad de que interese determinar el **selenio** después de la determinación simultánea de Cu, Zn, Cd y Pb, juntamente al telurio o únicamente el Se.

En el primero de los casos, Valenta y Nürnberg [25] recomiendan que posteriormente a la determinación de Cu, Zn, Cd y Pb mediante DPASV (método descrito anteriormente), se realice la determinación del Se en la misma disolución mediante una voltamperometría de redisolución catódica (DPCSV) con un electrodo de mercurio de gota colgante (HMDE). Para ello se debe realizar una preconcentración electroquímica mediante la formación de una película de HgSe en el electrodo debido a la oxidación **anódica** del Hg. Seguidamente, el Hg(II) de la película HgSe se reduce catódicamente volviendo el **Se²⁻** a la disolución; éste método se ha aplicado satisfactoriamente a contaminantes atmosféricos [7,25].

En el caso de que interese determinar Se y/o Te, el método propuesto por Henze [26] utilizando también DPCSV, se basa en la formación de una película de **Cu₂Se**, así como de **Cu₄Te** si el Te está presente; éste método no presenta interferencias.

Para niveles de concentración de Se mucho mayores, se recomienda el método desarrollado por Taijun [27] el cual se basa en el uso de la onda catalítica mediante **polarografía** de impulsos diferencial (DPP) con un electrodo DME o SMDE. La información correspondiente a las posibilidades mencionadas puede confrontar el ejemplo número 6 expuesto en el epígrafe resultados (página 87).

Para la determinación de V, varias son las posibilidades recomendadas en función de la concentración. En la primera de ellas se trabaja con polarografía de impulsos diferencial (DPP) con electrodo de Hg (DME o SMDE), este método permite la determinación simultánea de Ni y V y ha sido satisfactoriamente aplicado por Gilbert [28] y Chaumery [29] en el análisis de muestras de petróleos. Para el análisis de este tipo de muestras, el sistema experto incluye la información adicional necesaria para llevar a cabo un correcto pretratamiento de la muestra.

Otro de los métodos se lleva a cabo con una disolución tampon **NH₄OH** - Pipes (pH = 7.8) que contiene catecol [30] y trabaja con voltametría adsorptiva de redisolución anódica (DPAdSV) con electrodos de Hg.

Por último, Wang [31] propone un método para el análisis de ultratrazas basado en la acumulación del complejo vanadio-cupferron en el electrodo de mercurio de gota colgante (HMDE) seguida de una reducción catalítica del complejo en presencia de

bromuro, la técnica empleada en este caso es también **voltametría** adsorptiva de redisolución anódica (DPAdSV). Un ejemplo de las distintas técnicas y métodos se especifica el ejemplo 7 de resultados (página 89).

Dentro de este grupo podríamos diferenciar un subgrupo correspondiente a la **determinación de Fe (total), Mn (II), Al y Ti**. Para estas determinaciones los métodos que se recomiendan son todos ellos métodos bien definidos y técnicas voltamperométricas de uso común.

Determinación de hierro total: Las reacciones redox de las especies catiónicas Fe(II) y Fe(III), permiten su determinación polarográfica; debido a la complejidad electroquímica de Fe (muy dependiente del pH y de la presencia de agentes complejantes) [32] y a la diversidad de muestras en las que está presente, el uso de técnicas voltamperométricas recomendadas por este sistema experto se han restringido a aquellos métodos que están actualmente muy bien establecidos, esto es, se recomienda el uso de **polarografía** de impulsos diferencial (DPP) y de voltametría adsorptiva (DPAdSV). Este último está basado en la adsorción de complejos de Fe en el electrodo de mercurio (HMDE) y la subsiguiente reducción del complejo [35]. El uso de voltametría de redisolución anódica (ASV) con electrodo de mercurio, no se incluye en éste sistema ya que es poco aplicable debido a la baja solubilidad del hierro en mercurio, a las interferencias de la reacción del hidrógeno y a la formación de varios compuestos intermetálicos [4]. Por todo lo expuesto, se ha considerado que por el momento, las especificaciones del Fe están fuera del alcance de éste sistema experto.

Cuando la concentración de Fe es relativamente elevada, se recomienda trabajar con DPP [33], para menores concentraciones se recomienda el uso de DPAdSV con HMDE utilizando como complejante el **1-nitroso-2-naftol** [30] y para concentraciones todavía más bajas se debe trabajar también con DPAdSV con HMDE pero en este caso según el método propuesto por Van der Berg y col. [34] basado en la formación y posterior reducción del complejo con catecol. Las distintas posibilidades quedan recogidas en el ejemplo 8, página 91.

Determinación de manganeso (II): El manganeso se encuentra normalmente presente en tres estados de oxidación pero sólo consideramos la determinación de Mn(II) ya que es el único soluble en disolución acuosa.

La reducción electroquímica del Mn(II), es fácilmente medible mediante DPP por lo que ésta técnica se recomienda para concentraciones superiores a 10^{-7} M [32], ésta opción incluye información adicional en la que se indica que cuando la concentración sea

superior a $2 \cdot 10^{-6}$ M se utilice "Sampled Direct Current Polarography" [32]. Para concentraciones comprendidas entre $2 \cdot 10^{-8}$ y 10^{-7} M, se recomienda trabajar con DPASV con HMDE [36]. La información está ampliamente especificada en el ejemplo 9, página 95.

La determinación de aluminio tiene especial interés en aguas naturales y en muestras ambientales y biológicas en las que se encuentra presente a unos niveles de concentraciones bastante bajos [37,38], por ejemplo en agua de mar el Al disuelto se encuentra a unos niveles de concentración comprendidos entre 5 y 40 nM.

La determinación electroquímica directa del Al es muy difícil ya que presenta un potencial de reducción muy negativo (-1.75 V vs. SCE) encontrando que su onda se distorsiona por la evolución del hidrógeno [37]. Por ello, para su determinación Willard [39] propone su complejación con violeta de eriocromo B o el rojo de alizarina S (en función de la concentración a la que se encuentre presente) y posterior aplicación de la voltamperometría de adsorción (AdSV). Una descripción detallada puede observarse en el ejemplo 10, página 97.

Determinación de titanio: El Ti es un elemento que se encuentra presente en muestras naturales a unos niveles de concentración muy bajos, entre 2 y 300 pM [40]. El Ti se ha determinado mediante espectrofotometría de absorción atómica acoplada con plasma, espectrofotometría UV-Visible y espectrofotometría de intercambio iónico encontrando que ninguna de ellas es suficientemente sensible para detectar niveles de concentración picomolar [41].

Como puede observarse en el ejemplo nº 11 (página 99), este sistema experto recomienda dos métodos en función de la concentración: el primero de ellos propuesto por Van der Berg [38] implica la formación de un quelato de Ti de superficie activa con eriocromo B y su posterior acumulación en el electrodo de Hg (HMDE); para concentraciones inferiores, Wang [42] desarrolla un método mediante el uso de AdSV a través del efecto catalítico del clorato en la reducción en presencia de ácido mandélico. Para concentraciones altas de Ti también se puede utilizar éste método pero sin la adición del clorato [43].

Segundo grupo (especificaciones); en este grupo se contemplan los procedimientos voltamperométricos para la determinación de cromo y arsénico, metales traza ecotóxicos importantes que se encuentran presentes en aguas naturales y en agua de mar en dos estados de oxidación: Cr(III), Cr(VI) y As(III), As(V), respectivamente [44,45].

Determinación de Cr: El cromo se encuentra presente en dos estados de oxidación; como Cr (VI) (especie reactiva) y Cr(III) (especie electroquímicamente inerte), ésta última se determina indirectamente por diferencia entre el cromo total y Cr (VI).

Para la determinación de cromo total (confrontar ejemplo nº 12, página 101) Van der Berg y col. [46] y Valenta y col. [47] proponen trabajar con **voltametría** adsorptiva de redisolución anódica (DPAdSV) con un electrodo de mercurio de gota colgante (HMDE). Previo a la aplicación de la técnica, todo el Cr(III) debe estar como Cr(VI), oxidación que se lleva a cabo mediante la aplicación de radiación UV a la muestra y si es posible en presencia de pequeñas cantidades de H_2O_2 a pH neutro. Seguidamente tiene lugar la reducción a Cr(III) y formación del complejo Cr(III) - ácido dietilnetriaminepenta-acético (DTPA) por adsorción en el electrodo HMDE [46].

Cuando se está interesado únicamente en la determinación de **Cr(VI)** (ver ejemplo nº 13, página 103) dos son los métodos recomendados por el sistema experto como siempre en función de la concentración.

Una de las técnicas recomendadas, al igual que en la determinación del cromo total previamente descrito, es la voltametría adsorptiva de redisolución anódica (DPAdSV) con electrodo de mercurio de gota colgante (HMDE) [46,47], pero en este caso sin realizar el tratamiento previo con H_2O_2 ya que no interesa la oxidación del Cr(III) a Cr(VI), únicamente se requiere esperar unos **15 minutos** después de la adición de DTPA antes de la etapa de acumulación. El otro método desarrollado por Crosmun y Mueller [48] se basa en la reducción del Cr(VI) en tampón de acetato que contiene etilendiamina por **polarografía** de impulsos diferencial (DPP) .

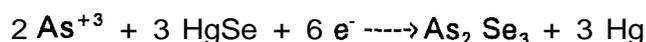
Cuando interesa determinar el Cr(III), el sistema experto indica al usuario que primero debe determinar el cromo total y posteriormente el Cr(VI), es el propio sistema el que obtiene la concentración de Cr(III) por diferencia de la de Cr(total) y Cr(VI).

Determinación de As; el arsénico es un elemento que se encuentra presente en las aguas naturales y aguas de mar como **As(III)**, As(V) (especie electroquímicamente inerte) y como compuestos organoarsénicos. El sistema experto incluye 3 opciones , en función de que interese determinar la concentración de As(III), la de arsénico total y por último la de As(III) y As(V).

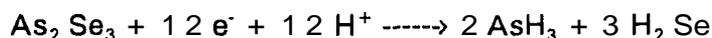
Para la determinación tanto de As(V) como de As(total), las técnicas polarográficas recomendadas son DPCSV con electrodo de Hg y DPASV con electrodo de

Au, siendo la principal diferencia el tipo de electrodo utilizado, el de Au sólo se recomienda a aquellos usuarios que están familiarizados con el uso de electrodos sólidos.

Para el caso de que interese determinar únicamente As(III) (ver ejemplo n° 14, página 105) se recomienda el método desarrollado por Holack [49] en el cual se trabaja con CSV con HMDE. Este método implica una etapa previa de preconcentración del As(III) en el electrodo para la cual se requiere la presencia de Se(IV), ya que a potenciales comprendidos entre -0.25 y -0.5 V, el As(III) reacciona con el seleniuro de Hg depositado formando seleniuro de arsénico y mercurio:



Esto explicaría el aparente desplazamiento hacia potenciales positivos de la onda del arsénico. A un potencial de -0.72 V, el seleniuro de arsénico se reduce dando los hidruros de arsénico y selenio:



este procedimiento implica el solapamiento de los picos correspondientes al seleniuro de mercurio y al arsenide por lo que se propone un método alternativo desarrollado por Henze [50]. Este se basa en el empleo de DPCSV con HMDE y requiere la presencia de Cu(II). En la pre-electrólisis del As(III) en presencia de Cu(II) se forma Cu_3As en la superficie del electrodo [50].

Cuando interesa la determinación de As total (bastante usual en aguas naturales y de consumo) se recomiendan dos métodos (ver ejemplo n° 15, página 107), en ambos se realiza una reducción previa del As(V) a As(III). El primero de ellos propuesto por Sadana [51] se basa en la determinación de As(III) en presencia de Cu(II) por DPCSV con HMDE y el segundo se basa en la deposición de As(III) en disolución acida en un electrodo rotatorio de oro seguido de una redisolución anódica mediante modo DP. Este segundo método ha sido ampliamente utilizado tanto para la determinación de As(III) como As total (previa reducción del As(V)).

Cuando únicamente interesa la determinación de As(V) y/o As(III) (ver ejemplo n° 16, página 110), ésta se obtiene por diferencia de la de As(total) y As(III) y el sistema experto actúa de modo similar al descrito para el caso del Cr(III). Toda la información relativa a dichas determinaciones puede confrontarse en los ejemplos del capítulo resultados.

Tabla 1, técnicas incorporadas en función del analito y de su concentración.

Ión metálico	Técnica Polarográfica.	
Cu, Zn, Cd, Pb	$10^{-4}M > [M] > 10^{-7}M$ $10^{-7}M > [M] > 10^{-9}M$ $[M] < 10^{-9}M$	DPP con DME/SMDE DPASV con HMDE DPASV con MTFE (no contemplada)
Ni, Co	$[Ni]/[Co] 1E-11M$ y $[Ni]/[Co]$ y/o $[Zn]/[Co]$ pequeña $[Ni]/[Co] 1E-11M$ y $[Ni]/[Co]$ y/o $[Zn]/[Co]$ alta Co y $[Co] > 3 E-10 M$	DPAdSV con HMDE DPAdSV con HMDE. DPP con DME/SMDE.
Ti	$[Ti] > 0.1$ ppm $[Ti] < 0.1$ ppm	DPP con DME/SMDE. DPASV con HMDE.
Se	$[Se] > 0.2$ ppb 0.08 ppb $< [Se] < 8$ ppb	DPCSV con HMDE. DPP con DME/SMDE.
Hg	$[Hg] > 0.1$ ppb $[Hg] < 0.1$ ppb	DPASV con electrodo de Oro. no contemplado en el sistema experto.
V	0.5 ppm $< [V] < 50$ ppm 50 ppb $< [V] < 0.5$ ppm 15 ppt $< [V] < 50$ ppb 5 ppt $< [V] < 100$ ppb	DPP con DME/SMDE. diluir ↓ DPASV con HMDE. DPASV con HMDE.
As	$[As(III)] < 2$ ppb > 0.2 ppb y < 20 ppb As (total) $[As(V)]$	CSV con HMDE. DPCSV con HMDE. DPCSV con HMDE o Au. por diferencia entre As total y As(III).
Cr	Cr(total) $[Cr(III)] > 2 \mu g/l$ $[Cr(III)] < 2 \mu g/l$ $2 \mu g/l > [Cr]$ $[Cr(VI)] 35 \mu g/l > [Cr] > 2 \mu g/l$ $2 mg/l > [Cr] > 35 \mu g/l$ $2 mg/l < [Cr]$ $[Cr(III)]$	diluir ↓ DPAdSV con HMDE. DPASV con HMDE. diluir ↑ DPP con DME. diluir f por diferencia entre Cr total y Cr(VI)
Fe (total)	$5 \mu g/l (5.10^{-8} M) < [Fe]_T$ $58 ng/l (1.10^{-9} M) < [Fe]_T < 2.3 \mu g/l (4.10^{-8} M)$ $34 ng/l (6.10^{-10} M) < [Fe]_T < 2.8 \mu g/l (5.10^{-8} M)$	DPP DME/SMDE AdSV HMDE AdSV HMDE
Mn	$[Mn(II)] > 1.10^{-5} M$ $2. 10^{-8} M < [Mn(II)] < 1.10^{-5} M$	DPP DME/SMDE DPASV HMDE
Al	$5 \mu g/l < [Al] < 100 \mu g/l$ $[Al] < 16 \mu g/l$	DCAdSV HMDE DPAdSV HMDE
Ti	$1 \mu g/l < [Ti] < 20 \mu g/l$ $[Ti] < 1 \mu g/l$	AdSV HMDE AdSV HMDE

Análisis Cualitativo.

Una vez realizado el polarograma, la siguiente etapa consiste en el estudio del mismo, estudio cualitativo en primer lugar para poder posteriormente cuantificar y obtener la concentración desconocida. El proceso seguido por el sistema puede verse con detalle en la segunda parte del diagrama de flujo 2 (Figura 2, página 62).

Como se ha indicado anteriormente, previo al estudio cualitativo, el sistema experto conecta con un programa externo desarrollado en nuestro laboratorio y denominado **ADDA.BAS**. Este programa permite:

- * la adquisición de los datos desde el polarógrafo y digitalización de los mismos.
- * el almacenamiento de los datos en un fichero y
- * la representación del polarograma.

La conexión con este programa es necesaria ya que el instrumental considerado (polarógrafo Metrohm Polarecord 506 o 526), no incorpora dichas facilidades, en caso de disponer de instrumental más moderno dicha conexión no es necesaria.

El análisis cualitativo se basa fundamentalmente en el estudio de tres propiedades del polarograma obtenido, éstas son:

- * la presencia o ausencia de picos polarográficos.
- * los valores de potencial característicos.
- * el estudio de la forma (anchura y altura) de los picos .

Cuando al realizar el polarograma no se obtienen picos **polarográficos**, cabe plantearse que esta situación puede ser debida a que los iones en estudio no están presentes en la muestra problema o a que se encuentran a una concentración menor de la supuestamente esperada y que por lo tanto la técnica de trabajo ejecutada no es la adecuada y se debe aplicar otra técnica voltamperométrica.

Si al realizar el polarograma se han obtenido picos, una etapa importante es la identificación de éstos o lo que es lo mismo, la asignación de los distintos picos a los posibles cationes metálicos presentes. Esta identificación se basa en el estudio de los valores de potencial característicos de cada catión. En este sentido se puede decir, que las situaciones más usuales que se obtienen en un polarograma son:

- * que todos los picos se obtengan a los valores de potencial esperados para los iones en estudio,
- * que todos los picos se obtengan a valores de potencial distintos de los esperados y correlativamente desplazados y
- * que además de a los valores esperados, aparezcan picos **polarográficos** a otros valores de potencial.

La segunda y tercera situación son las que harían reflexionar sobre posibles fallos que tienen lugar al realizar el trabajo experimental, ya que un desplazamiento correlativo respecto a los potenciales esperados estaría indicando un posible mal estado del electrodo de referencia, lo cual requiere una acción correctora (revisión, cambio si es necesario etc.) antes de proseguir el análisis. Así mismo la aparición de picos a otros valores de potencial además de a los valores esperados, indica que se ha de asegurar si se ha realizado correctamente el pretratamiento de la muestra problema con el fin de poder despreciar dichos picos por considerar que no están originados por complejos de los cationes en estudio.

Al comparar los valores de potencial a los que aparecen experimentalmente los picos, con los valores característicos de cada catión introducidos en el sistema experto, hay que tener en cuenta que éstos últimos son sólo orientativos ya que el potencial asociado a cada metal dependerá del medio, es decir, de la matriz. La confirmación inequívoca de la naturaleza del metal vendrá dada por el aumento de dicha señal durante el proceso de cuantificación por el método de adiciones estándar.

Por último, el análisis cualitativo implica el estudio de la forma de los picos ya que la posibilidad de obtener señales mal resueltas es uno de los problemas más habituales cuando se trabaja en determinaciones voltamperométricas.

Aún cuando, este sistema experto se ha diseñado incluyendo aquellos métodos de análisis que están bien establecidos e incluso algunos son ya considerados métodos estándar y que por lo tanto no cabría esperar grandes dificultades en la resolución de las señales, en el análisis cualitativo de los picos se plantean las siguientes posibilidades:

- * sí la señal obtenida corresponde a la de un único elemento,
- * sí se puede realizar una buena medida de la altura del pico que posteriormente permita cuantificar.

Para proceder al análisis cuantitativo, es importante que la señal obtenida corresponda a la señal de un único elemento sin interferencias de la matriz ni de otros elementos y en caso negativo hay que desdoblar la señal en sus posibles contribuciones.

En la evaluación de la forma de los picos se asume que son picos gaussianos por lo que la aparición de hombros, etc, es un indicio de que la señal no corresponde a un único elemento o bien que hay algún tipo de fenómenos de adsorción, efecto de la matriz, etc.

El poder detectar visualmente si la señal obtenida corresponde a un único elemento dependerá de la concentración de las analitos en la muestra, ahora bien, un parámetro que permite evaluar (cuando se trabaja con DPP o DPASV) el posible solapamiento de dos picos es la anchura del pico a media altura ($W_{1/2}$) [52,53].

El sistema experto indica cuales son los valores de $W_{1/2}$ cuando se trabaja con $E = 50$ mV y los electrones intercambiados son dos; en el caso de que $E \neq 50$ mV, se muestra una tabla $E / W_{1/2}$ para proceder a su cálculo.

En el caso de que el usuario detecte la presencia de picos solapados, como por ejemplo puede suceder en el análisis de Cd debido a la presencia del In, el sistema experto recoge la posibilidad de recurrir a técnicas de deconvolución para la correcta interpretación de la señal polarográfica. Para la resolución de la señal obtenida, el sistema experto conecta con el programa externo **DECON.BAS**, éste mediante métodos de acoplamiento de curvas trata de calcular, mediante aproximaciones matemáticas, la señal correspondiente a cada uno de los analitos que contribuyen a la obtención de una única señal global, este proceso se lleva a cabo asumiendo que los picos son gaussianos. Un ejemplo del modo de proceder en la deconvolución de la señal Cd/In puede verse en detalle en el ejemplo nº1 (página 77) del epígrafe resultados.

Hay que resaltar que a lo largo de todo el estudio cualitativo, la opinión o parecer del usuario es decisiva para proceder o no al estudio cuantitativo, opinión que deberá reflejar en una serie de preguntas que le formula el sistema experto y que quedan recogidas en el diagrama de flujo 2 de la Figura 2 (página 62).

Análisis Cuantitativo.

Una vez realizado el análisis cualitativo y por lo tanto, comprobados todos los parámetros indicados (valores de potencial, altura del pico etc.), se está en condiciones

de proceder al análisis cuantitativo de la señal obtenida. La secuencia seguida por el sistema experto puede confrontarse en la tercera parte del diagrama de flujo 2, Figura 2 (página 64).

En el caso de las medidas voltamperométricas, la **cuantificación** de la señal obtenida habitualmente se lleva a cabo mediante la obtención de una recta de calibrado $i = f(c)$, por el método de adiciones estándar.

En el cálculo de dicha recta, un paso previo muy importante es la correcta selección de los puntos experimentales y por lo tanto de los valores de concentración más adecuados para llevar a cabo este proceso; por lo que, el sistema experto indica al usuario que los valores de concentración deben estar comprendidos entre:

- el 50% del valor mínimo al que se prevé está presente el ión en estudio, encontrado en la bibliografía.
- el 150% del valor máximo, también encontrado en la bibliografía.

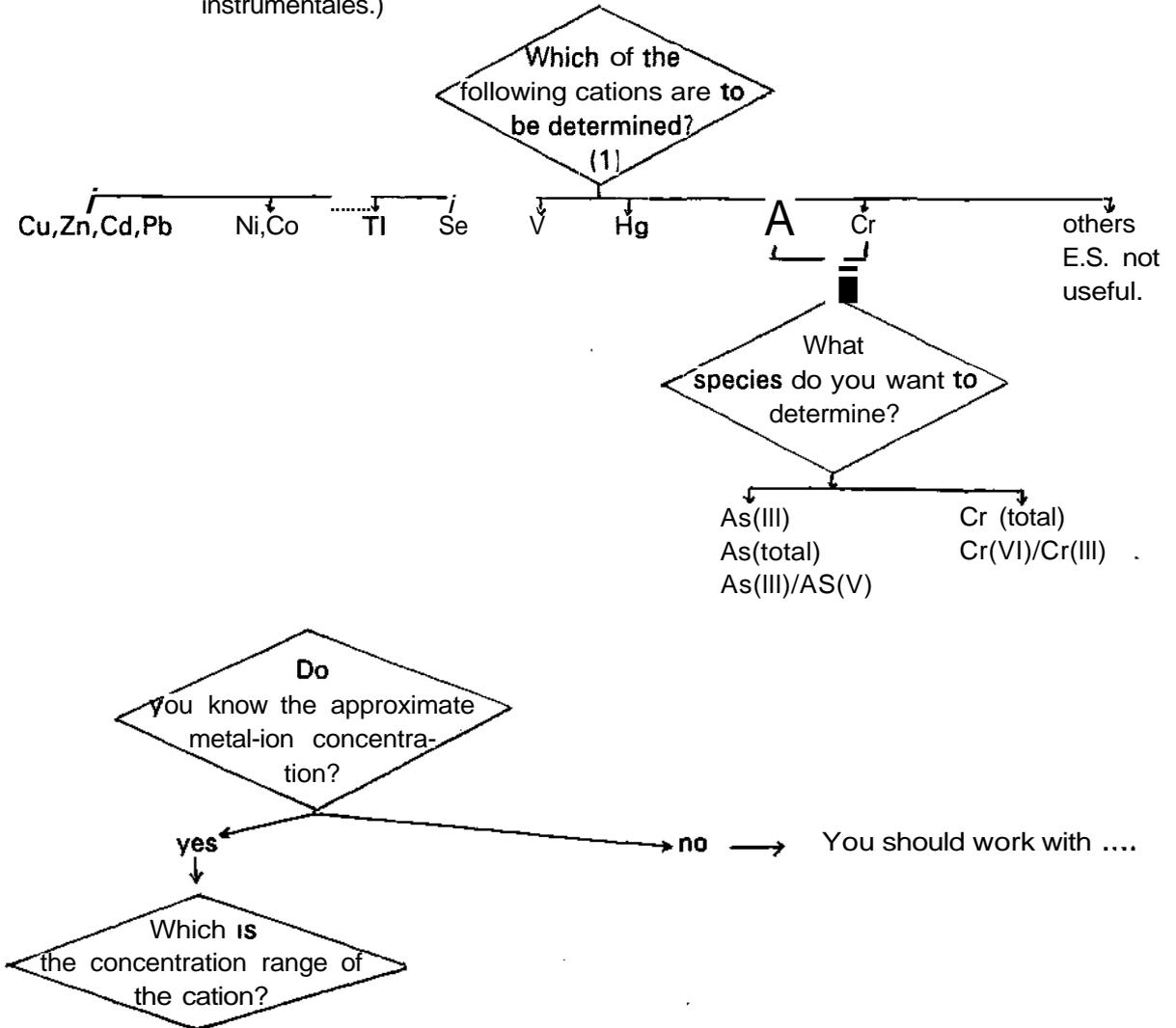
Una vez los polarogramas han sido registrados, para calcular la recta de calibrado, se mide la altura de pico para cada catión individual. En éste sistema experto, el cálculo de la recta se realiza mediante la conexión con el programa externo COOK'S2. Un ejemplo del modo de conexión así como del funcionamiento del mismo, se explica en detalle en el próximo apartado 4.3.2 (programación del sistema), página 64.

Además del cálculo de la recta, desde el programa externo también se puede llevar a cabo una validación de la recta obtenida mediante una serie de tests estadísticos que calculan los parámetros más comunes en procesos de calibración y que evalúan la presencia de posibles puntos discrepantes y el estudio de los residuales.

Para finalizar, una vez tenemos la recta de calibrado y ya desde el sistema experto, éste calcula el valor de la concentración analítica desconocida mediante el cálculo simple de interpolación inversa.

Figura 2, diagrama de flujo correspondiente a la elección de la técnica y el análisis cualitativo y cuantitativo de la señal obtenida.

Primera parte: (corresponde a la elección de la técnica voltamperométrica y de las condiciones instrumentales.)



En función de cada catión y de la concentración a la que éste se encuentra presente en la muestra, el sistema comunica las condiciones de trabajo. Dado que éstas se especifican en la Tabla 1 (página 57), obviamos el repetirlas aquí.

Segunda parte: (correspondiente al estudio cualitativo del polarograma obtenido)

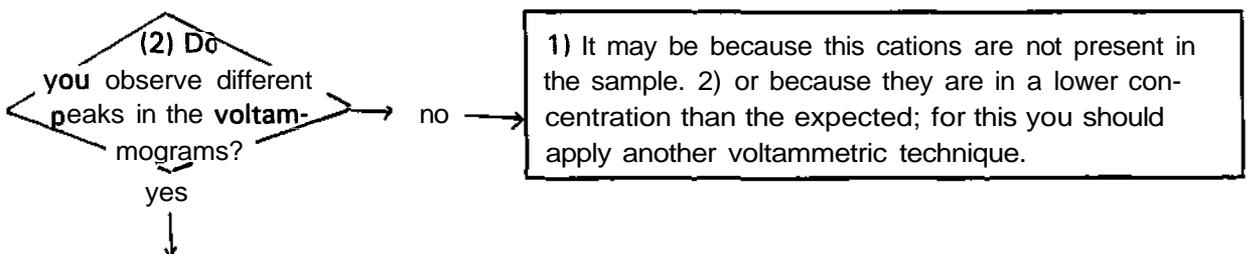


Figura 2, continuación.

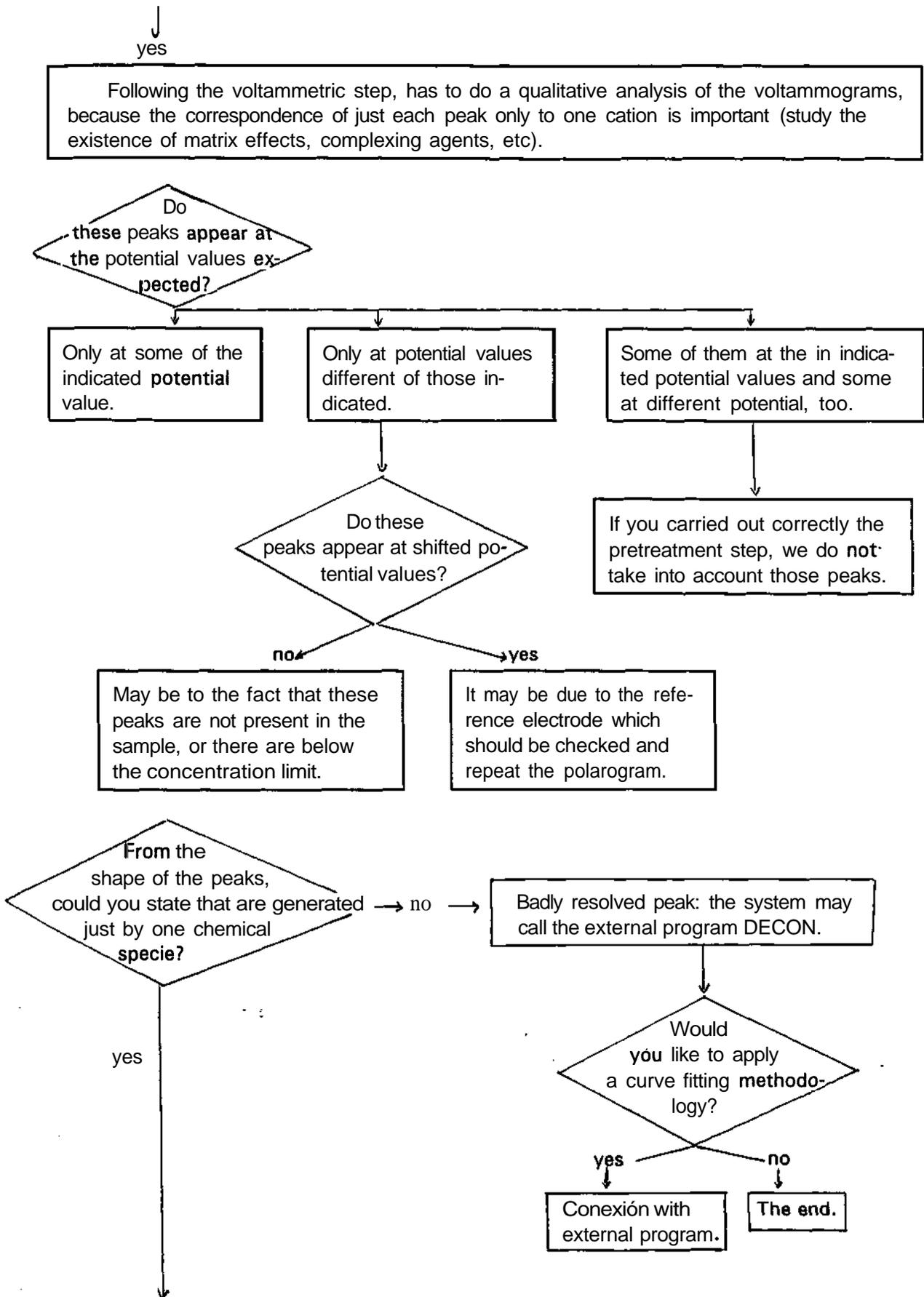
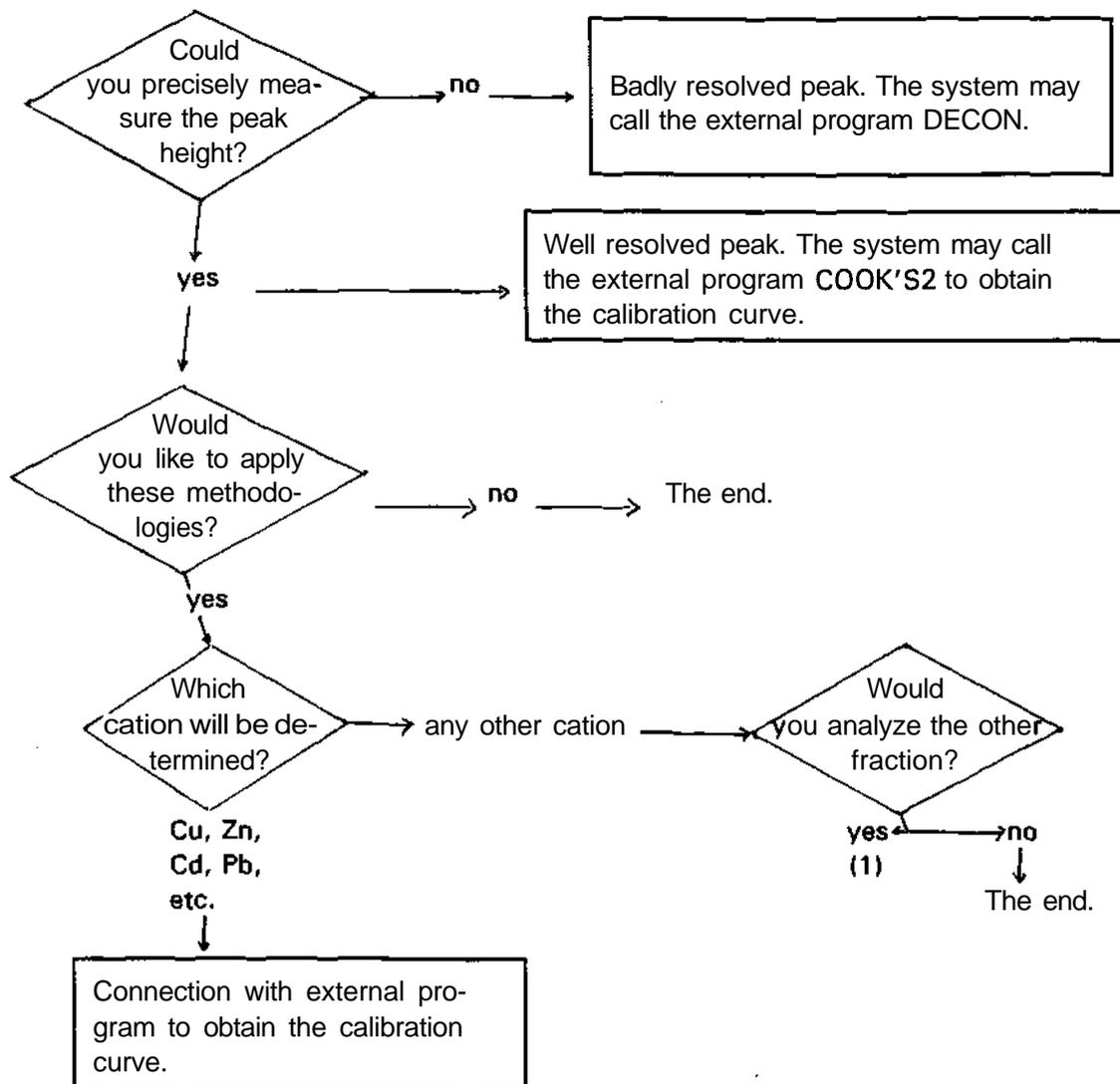


Figura 2, continuación.

Tercera parte: (corresponde al estudio cuantitativo.)



4.3.2 PROGRAMACIÓN DEL SISTEMA EXPERTO. EMPLEO DE LA CARCASA KES.

Una vez definido el campo de trabajo, el objetivo del sistema experto, el tipo de usuario y elegido el experto del dominio que proporciona el conocimiento, el siguiente paso consiste en la programación del sistema experto, entendiendo por programación el modo en el que se incorpora el conocimiento base [54,55], ya que el desarrollo del presente sistema experto se ha realizado mediante el uso de una carcasa ("shell").

Para la incorporación del conocimiento se ha seleccionado la carcasa KES [12], por lo tanto el conocimiento se ha incorporado en sintaxis KES. Para la selección de KES se han tenido en cuenta, entre otros, los siguientes criterios:

- * la forma de representar el conocimiento es mediante la producción de normas ("rules") del tipo IF THEN., éstas se adecúan al tipo de conocimiento y al objetivo de éste sistema experto [56,57].
- * KES desarrolla el conocimiento de una forma relativamente amigable proporcionando las facilidades básicas de comunicación entre el sistema y el usuario, denominadas facilidades de soporte ("support facilities").
- * no requiere un hardware excesivamente potente, es compatible con PC's.
- * ofrece la posibilidad de acceder a otros programas desde dentro del sistema experto, tales como bases de datos, ficheros, algoritmos matemáticos y otros programas de ordenador.

Según la sintaxis de KES, el conocimiento se representa básicamente mediante tres secciones, la sección de constantes, la de atributos y la de normas; las tres se manipulan a través de la sección de acciones, por lo que ésta última constituye el sistema de inferencia o de deducción propiamente dicho. La carcasa KES dispone además de la posibilidad de utilizar otras secciones complementarias que facilitan o hacen más comprensible el procedimiento desarrollado por el sistema experto, para el desarrollo de éste sistema se han utilizado la sección de "text", "demons" y "external" y también cláusulas de cálculo ("calculation clauses") asociadas a determinados atributos.

A continuación procedemos a reflejar la estructura y función de cada una de las cuatro secciones básicas de un sistema experto mediante la ilustración con algunos ejemplos del sistema desarrollado y posteriormente se describen los aspectos más relevantes de las restantes secciones que se han denominado adicionales.

Como se ha indicado anteriormente, uno de los aspectos importantes en el pretratamiento es guiar al usuario con el fin de obtener la muestra en medio acuoso. Los pasos a seguir sugeridos por el sistema experto, son deducidos por éste en función de la información que le suministra el usuario acerca de algunas propiedades o características de la muestra problema, como son entre otras:

- * si la muestra es soluble en agua o ácidos minerales en condiciones no drásticas de temperatura y tiempo.

- * si la muestra es líquida o sólida, etc.
- * si presenta partículas en suspensión y en caso afirmativo si interesa filtrar para analizar cada fracción por separado.
- * si contiene materia orgánica, etc.

Esta información que recibe el sistema a través del usuario, se codifica mediante los atributos denominados de entrada; a modo de ejemplo se muestra en la Figura 3, la estructura del atributo de entrada "sample".

Como puede observarse el atributo de entrada "sample", tiene tres posibles valores (yes, no y we can not assure), uno de ellos ha de ser seleccionado por el usuario como respuesta a la pregunta asociada al atributo mediante la cláusula "question" (Is the original sample.). Dicho atributo lleva también asociada la cláusula opcional "explain", ésta provee al usuario de información complementaria. Así, en el caso de que el usuario esté interesado en saber porqué es necesario que la muestra sea soluble en agua (pregunta que le ha sido formulada por el sistema), introduciendo como respuesta el comando "explain", el sistema le comunica que en las determinaciones voltamperométricas es necesario que la muestra esté en medio acuoso (The voltammetric techniques.).

Figura 3, estructura de un atributo de entrada.

```

sample: sgl

(yes,
no,
we can not assure {explain:"Try to dissolve in water or mineral acids."})

{question:
"Is the original sample completely soluble in water or mineral under non drastic "
"conditions of temperature?"}
{explain:"The Voltammetric techniques must be applied to aqueous solutions."}.

```

En función del valor que el usuario escoja para los atributos de entrada, el sistema deduce el valor asociado a un determinado atributo denominado de salida, a través del cual se codifica la información que el sistema suministra al usuario. El atributo de salida en este ejemplo se denomina "ptreat" y la estructura del mismo se muestra en la Figura 4, en la cual se observa que puede adquirir cinco posibles valores y que cada uno de ellos lleva asociada una cláusula opcional "explain".

Figura 4, estructura de un atributo de salida.

ptreat: sgl

(yes {explain:" "

"Prior to begin the analysis, the sample should be filtered and mineralized. To carry out the",
 "filtering step, pass the sample through a 0.45 μm cellulose membrane (for reference enter:
 "display attach filter of kb). To carry out the **mineralization** treat the filtered sample (solid",
 "part) with $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ (ultrapure) and subject it under high temperature. Water **sample**",
 "(liquid part) should be treated as the same way or should be subjected to U.V. **irradiation.**",
 " After these steps, acidify to $\text{pH} = 2$ and then the analytical procedure can be applied to",
 "the sample; now it can begin the analysis of one portion **sample.**"},

no {explain:" "

" The sample should be mineralized, to do this treat the filtered sample (solid part) with",
 " $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ (ultrapure) and high temperature (for reference enter: display attach filter of",
 "kb); to apply the analytical procedure you should work with known volume of **sample.**"},

absurd {explain:" "},

dissolve {explain:" "

" The sample must be dissolved in water or mineral acids, diluted nitric acid, diluted per",
 "chloric acid, concentrate nitric acid and concentrated perchloric acid in this **order.**"},

aqueous {explain:" "

" If the original sample is not an aqueous solution, it must converted into **one.**"}).

Los atributos de entrada y de salida están interconectados en la sección de "rules" mediante **normas**. Las normas permiten representar el conocimiento mediante relaciones condicionales entre los atributos, de manera que en función del valor de los atributos de entrada (antecedentes de la condición), el atributo de salida adquiere un determinado valor (consecuente de la condición). A modo de ejemplo se muestra la estructura de una norma en la que el consecuente de la condición es el atributo de salida ptreat (Figura 5):

Figura 5, estructura de una norma.

```

if sample = yes and
  state = sòlid
then
  ptreat = dissolve.
endif.

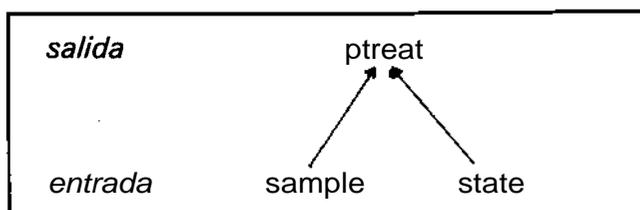
```

Como puede observarse en este ejemplo el valor del atributo "ptreat", depende del valor asignado a los atributos de entrada "sample" y "state". Así cuando la muestra es soluble en agua y es sólida, el sistema experto indica al usuario que debe

disolverla y el modo más adecuado para realizarlo, información que está asociada al valor "dissolve" del atributo "ptreat" mediante la cláusula "explain".

Así mismo cabe resaltar que la estructura que indica la dependencia entre los atributos, es una estructura de 'Árbol jerárquico' ("attribute hierarchy"). Esta estructura puede tener una gran influencia sobre la eficacia y facilidad de mantenimiento del sistema experto. Para el caso de la obtención del ya mencionado atributo "ptreat" tenemos que su estructura jerárquica es la siguiente:

Figura 6, Árbol jerárquico de los atributos.



La asignación de un valor a un determinado atributo, en la carcasa KES viene controlada por los comandos de la sección de "actions". Siguiendo con el ejemplo que estamos analizando la obtención del atributo "ptreat" se activa mediante el comando "**obtain ptreat**".

El formato de la parte de la sección de "actions" correspondiente al pretratamiento de la muestra se indica en la Figura 7 y es la siguiente:

Figura 7, Sección de acciones correspondiente al pretratamiento.

```

.....
obtain ptreat.
  display attach explain of value of ptreat.

  if ptreat # no then
    obtain mat_org.
    display attach explain of value of mat_org.
  endif.
  
```

Cuando se activa el comando "obtain ptreat", el sistema de deducción busca y selecciona en la sección de "rules", todas aquellas normas en las que el atributo de salida es "ptreat" encontrando un total de 7 normas (confrontar diskette Anexo, sección de "rules"), de estructura similar a la ya descrita con anterioridad en la Figura 5.

Como ya se ha **visto**, para asignar un valor al atributo de salida, el sistema necesita resolver una de las normas seleccionadas, por lo que busca asignar un valor para cada uno de los atributos de entrada especificados en el antecedente de las normas, (ver asignación del valor a un atributo de entrada, Figura 3).

Una vez determinado el valor del atributo de salida, el sistema de deducción activa el siguiente comando de la sección de acciones, que como puede verse en la Figura 7 es "display attach **explain**....". Este comando causa la aparición por pantalla de la información ligada al valor asignado al atributo "ptreat" (mediante la cláusula **explain**). Este proceso interactivo (sistema-usuario) continúa, de manera que se van ejecutando por orden de aparición los distintos comandos de la sección de "actions".

Como puede verse en la Figura 7, otros comandos que se pueden ejecutar desde la sección de acciones son de tipo condicional, bucles, etc. Así, y a modo de ejemplo de un comando condicional, en el caso de que el valor del atributo "ptreat" sea distinto de "no" (if ptreat # no then), se ejecuta la obtención del valor del atributo "mat_org" que pregunta al usuario acerca de la presencia de materia orgánica en la muestra problema. Una vez determinado dicho atributo, se muestra por pantalla la información asociada al mismo (display attach....).

A continuación se procede a la descripción de la función y estructura de la sección de "external" y de alguna cláusula de cálculo utilizadas en este sistema experto y que se han incluido en las denominadas secciones adicionales.

SECCIONES ADICIONALES

La sección de external permite a KES llamar y acceder a otros programas o subrutinas (otro sistema experto, programas convencionales, bases de datos, etc.) fuera del sistema experto y volver al mismo punto del sistema una vez finalizada la aplicación.

El sistema experto puede pasar información al programa externo y puede recibir **información** de dicho programa externo, por lo tanto se puede decir que un "external" actúa como una fuente de conocimiento del sistema ya que éste lo utiliza para calcular el valor de los atributos especificados en el mismo. Para la conexión sistema experto-programa externo, se ha de definir el programa externo en la sección "external" así como los atributos relacionados con el mismo y se ha de especificar en la sección de "actions" el modo de acceder al programa.

El sistema experto que se ha desarrollado conecta con un total de tres

programas externos, programas especificados en el apartado 4.2 cuando se detallaba el soporte lógico utilizado para el desarrollo del sistema. A modo de ejemplo se expone detalladamente la conexión con el programa **COOK'S2.Bas** [13]. COOK'S2 es un programa escrito en BASIC que permite calcular la recta de calibrado y los parámetros estadísticos más comunes en calibración.

Durante el desarrollo del sistema experto, se ha visto la necesidad de acceder a dicho programa en la etapa de cuantificación de la señal obtenida ya que como se ha indicado, ésta se realiza mediante la obtención de la recta de calibrado por adiciones estándar. Es precisamente para el cálculo de la recta de calibrado cuando se conecta con el programa COOK'S2 y también para la validación de la misma mediante el estudio de los residuales y posterior cálculo (a partir de los parámetros de la recta de calibrado calculada) de la concentración analítica desconocida.

El formato de definición de la sección de "external", así como los atributos y los comandos de la sección de "actions" relacionados con la ejecución del programa externo, se muestran en la Figura 8 (confrontar sección de external, atributos y acciones del diskette Anexo):

Figura 8, Secciones relacionadas con la ejecución de un external.

```

attributes:
  \Parámetros de la recta de calibrado.
  INTER A: real.
  SLOPE B: real.

  \Valor de la concentración.
  conc_sample: real
  [calculation: - (INTER A/ SLOPE B)].

%
external:
  \ Obtención y validación de la curva de calibrado.
  curva residuales:
  [program: "hbasic cook's2"]
  [parameters: "INTER A", "SLOPE B", "PARAOUT"]
  [outputs: INTER A, SLOPE B]
  [outputfile: "PARAOUT"]

%
actions:
  .....
  obtainconc_sample.
  .....
  message "Parameters of the regression curve:",
  "*****",
  "slope =", SLOPE B,
  "intercept (at y = 0) =", INTER A".
  message "The concentration of the cation", ion_r,
  "given in mol/l, is: ", conc_sample.
  .....

%
```

La conexión tiene lugar a través de un fichero de comunicación definido tanto en el sistema experto (cláusula 'outputfile' del external) como en el programa externo, en este último el fichero ha de estar definido de forma que pueda ser leído por KES (en sintaxis KES). La estructura o formato del fichero de comunicación PARAOUT definido en el programa COOK'S2 es el siguiente:

Figura 9, Sección del programa externo COOK'S2.

```

7550 OPEN "PARAOUT" FOR OUTPUT AS#3
7600 IF A<0 AND ABS(A)<1 THEN A$ = "INTER A = -O" + MIND$(STR$(ABS(A)), 2,10):
      GOTO 7610
7601 IF A<1 THEN A$ = "INTER A = O" + MIND$(STR$(ABS(A)),2,10): GOTO 7610
7602 A$ = "INTER A = " + STR$(A)
7603 PRINT #3, A$, "."
7651 IF B<0 AND ABS(B)<1 THEN B$ = "SLOPE B = -O" + MIND$(STR$(ABS(B)), 2,10):
      GOTO 7654
7652 IF B<1 THEN B$ = "SLOPE B = O" + MIND$(STR$(ABS(B)),2,10):GOTO 7654
7653 B$ = "SLOPE B = " + STR$(B)
7603 PRINT #3, B$, "."
7740 PRINT #3, "%

```

Este fichero se abre desde COOK'S2 en el disco de ejecución del sistema experto y queda escrito de la siguiente forma legible por KES.

Figura 10, Fichero PARAOUT.

```

INTER A = número real.
SLOPE B = número real.
%
```

El programa externo COOK'S2 se ejecuta indirectamente desde la sección de acciones mediante el comando 'obtain conc_sample'. El atributo 'conc_sample' está definido según la siguiente cláusula de cálculo:

[calculation: - (INTER A / SLOPE B)].

Las cláusulas de cálculo están asociadas a un atributo (Figura 8) y permiten hacer pequeñas operaciones matemáticas entre atributos de tipo numérico. En este ejemplo, para el cálculo de la misma, KES encuentra que depende del valor de dos atributos numéricos (INTER A y SLOPE B). Ambos atributos están definidos como "outputs" en el external por lo que se activa el programa "hbasic cook's2" para obtener el valor de los mismos.

Una vez ejecutado el programa externo, vuelve al mismo punto del sistema experto donde se encontraba antes de conectar con el external y por lo tanto procede al

cálculo de la cláusula del atributo 'conc_sample' cuantificando así la concentración del analito desconocida y presentándola por pantalla al usuario.

4.3.3 COMPONENTES DE SOPORTE.

Es cada vez más frecuente que el científico (en este caso el usuario del sistema experto), no esté interesado únicamente en obtener un resultado, una disolución más o menos simple a "su problema", sino que está también interesado por los motivos o las causas que le han llevado a esa solución concreta. Esta información se traduce en el caso de un sistema experto, en que el usuario está interesado en conocer aspectos como:

- porqué el sistema necesita disponer de una determinada información,
- cual es la estrategia que sigue para llegar a una conclusión [54].

Como se ha indicado en el apartado precedente, KES dispone de una serie de posibilidades que hacen más amigable el diálogo sistema experto-usuario (secciones, comandos, etc.) y que permiten acceder a la información deseada. Además cabe resaltar que con la posibilidad de dar respuesta a estas cuestiones no se facilita únicamente la obtención de más cantidad de información sino que también se crea un cierto sentido de confianza, gracias a la posibilidad de establecer un diálogo usuario-sistema experto.

Los comandos o cláusulas adicionales que permiten acceder a este tipo de información son: explain y why.

El usuario puede introducir dichos comandos a modo de respuesta a las preguntas planteadas durante la ejecución del sistema [52]. Presentamos a modo de ejemplo la información adicional a la que puede acceder para cada uno de los comandos indicados.

Comando explain:

Este comando permite al usuario obtener una explicación más detallada sobre la pregunta que se le está planteando, la información asociada al explain ha sido introducida previamente por el 'constructor' del sistema y su extensión y profundidad dependerán del tipo de usuario para el que se ha desarrollado el sistema experto.

A modo de ejemplo podemos ver la información asociada a la pregunta sobre el contenido de materia orgánica (atributo mat_org). La pregunta a la que debe contestar

el usuario es la siguiente:

```

Does the sample contain organic matter?
  1. yes
  2. no
  3. we can not assure
= ? explain

```

y cuando se introduce como respuesta el comando 'explain' la información que se le suministra al usuario en la pantalla del ordenador es:

```

Organic substances have large complex formation constants and may shift the characteristics
potential of the cations. Moreover, many of them are heavily adsorbed on the electrode which may
affect subsequent measurements. So they must be eliminated.

```

Comando why:

Mediante el uso de este comando, el usuario puede consultar acerca de la estrategia seguida por el sistema, esto es, sobre cual es norma que está analizando y por lo tanto cuales los atributos y el comando de la sección de acciones relacionados con la pregunta planteada. Así a modo de ejemplo, se puede observar que cuando se introduce el comando "why" como respuesta a la primera pregunta planteada por el sistema experto (pregunta que como se ha visto con anterioridad estaba asociada al atributo "sample"), la información suministrada es la siguiente:

```

Is the original sample completely soluble in water or mineral acids, under non drastic conditions of
temperature?

```

1. yes
2. no
3. we can not assure

```
= ? why
```

KES is asking for a value for 'sample' because:

- * The value of 'sample' is required by the rule 'dissolve ptreat' to determine a value for 'ptreat'.
- * A command in the knowledge base's actions section or an interactively specified command is assigning a value to 'ptreat'.

Do you want to see more information? (Enter V <RETURN> if yes) y

```
Name: dissolve ptreat
```

```
Is: Production Rule
```

```
if sample = yes and
state = solid
```

```
then
```

```
ptreat = dissolve.
```

```
endif.
```

4.3.4 VALIDACIÓN.

Una vez analizada la estructura del sistema experto que se presenta en ésta Tesis, en la que resumiendo se han diferenciado tres grandes bloques (base de conocimientos, mecanismo de deducción y facilidades de soporte), el siguiente paso obligado (antes de mostrar los resultados) es la validación del sistema experto desarrollado.

La utilidad, **fiabilidad** y en general, las características de actuación de los sistemas expertos han de evaluarse de la misma forma que cualquier otra **técnica analítica**. Esta etapa de validación no es una etapa final sino que debe iniciarse y prolongarse a lo largo de todo el desarrollo del sistema experto.

Dos son los aspectos a validar por el experto del área problema, el primero de ellos es el correcto desarrollo y ejecución del sistema en sí y en una segunda etapa la validación del sistema en presencia de situaciones reales para el usuario final.

En este caso han sido dos los "expertos" que han llevado a cabo la etapa de validación, por un lado estaría el *experto del dominio* que es el que ha suministrado la información correspondiente a las técnicas voltamperométricas y que como se ha indicado, para el desarrollo del sistema experto se ha contado con la colaboración del Dr. Miguel Esteban Cortada, del departamento de Química Analítica de la Universidad de Barcelona. Por otro lado estaría el *experto en quimiometría* que es el que ha construido el sistema experto y que a su vez ha suministrado información en algunos aspectos de la base de conocimientos (como es el análisis cuantitativo, etc.), dentro de este campo están los miembros del grupo de trabajo en el que se ha desarrollado la presente Tesis.

En la primera etapa del proceso de validación se han considerado y constatado los siguientes aspectos:

- Los problemas que resuelve el sistema experto son realmente aquellos para los que se ha ideado. Teniendo en cuenta que el sistema que presentamos no se limita únicamente a aconsejar la técnica polarográfica de trabajo, sino que recoge todos los aspectos de un proceso analítico.
- En el análisis de los 16 cationes metálicos, las decisiones que toma o las conclusiones a las que llega el sistema experto, son las correctas y las mismas que decidiría el experto.
- Las preguntas que plantea el sistema experto **así** como la secuencia de las mismas, son las necesarias y las que el usuario se plantearía de una forma natural y

ordenada.

- El sistema experto muestra de forma clara y comprensible sus resultados y recomendaciones.
- El sistema experto está provisto de las explicaciones y aclaraciones suficientes, para el usuario final y además, en caso de interés, indica cual es la bibliografía más relevante que se debería consultar.
- Cuando el problema cae fuera del campo de aplicación del sistema experto (por no estar incluido en el objetivo del mismo), éste reconoce la situación y no da una respuesta impredecible o errónea, sino que se lo indica al usuario y da por finalizada la sesión interactiva.

4.3.5 RESULTADOS.

En este apartado se exponen a modo de ejemplo, la ejecución del sistema experto para llevar a cabo el análisis de los iones metálicos para los que se ha diseñado. En dicha ejecución se pueden observar los avisos y recomendaciones que le son indicados al usuario.

En primer lugar se muestra un ejemplo de una sesión interactiva sistema experto-usuario, para el tratamiento de la muestra problema a fin de obtener las condiciones voltamperométricas óptimas. Sólo se incluye un ejemplo del pretratamiento ya que ésta etapa es común para el análisis de todos los cationes metálicos en estudio, esto es, sólo depende del tipo de muestra. Posteriormente se muestran distintos ejemplos para la elección de la técnica voltamperométrica, estudio cualitativo, etc, para cada uno de los 17 cationes en estudio.

1) *Ejecución del sistema experto: etapa correspondiente al pretratamiento de la muestra.*

Welcome to an Expert System for the voltammetric determination of trace metals of Cu, Zn, Cd, Pb, In, Ni, Co, Ti, Se, Hg, V, Cr, As, Fe, Mn, Al and Ti. The system guides the user in the choice of sample pretreatment, the most appropriate voltammetric procedure and the identification and quantification of trace metals. The techniques implemented are differential pulse polarography, anodic stripping voltammetry and adsorptive stripping voltammetry, using mercury drop electrodes and Au electrodes (for Hg determination).

If **you** want information about the bibliographical references, you can enter the command: display attach '**names**' of kb, then the system tells you the name of all references and you can enter the same command with the specific name. Enter the command like an answer.

If you want a reason why an answer is needed enter the '**why**' command, and if you want an explanation for a question enter the '**explain**' command.

Answer the followings questions:

The first part of the system contains information about the steps to be followed for obtaining the sample in the best conditions for the voltammetric measurements.

Is the original sample completely soluble in water or mineral acids, under non drastic conditions of temperature?

1. yes
2. no
3. we can not assure

=? 2

In some cases, among which natural water samples should be mentioned, it is important to differentiate between the filterable and the non-filterable part so as to analyze the fractions **separately**.

Would you filter in order to apply the analysis procedure separately for each fraction?

1. yes
2. no

=? 1

Prior to begin the analysis, the sample should be filtered and mineralized. To carry out the filtering step, pass the sample through a 0.45 μm cellulose **membrane**. (for reference enter: display attach pretreatment of kb). To carry out the mineralization step, treat the filtered sample (solid part) with **HNO₃/HClO₄** (ultrapure) and subject it under high temperature. Water sample (liquid part) should be treated as the same way or **should** be subjected to U.V. irradiation.

After these steps, acidify to pH = 2 and then the analytical procedure can be applied to the sample; now it can begin the analysis of one portion sample.

Does the sample contain organic matter?

1. yes
2. no
3. we can not assure

=? 3

Proceeded as if sample contains organic matter. The presence of it must be assumed. Acidify to pH = 2, subjected to UV irradiation. You may use mercury arc lamp 238-265 nm, 150 or 1300 W for one hour, optionally treat with **H₂O₂** ultrapure or with **HNO₃/HClO₄** at high temperature.

We have now the sample in the right conditions to begin the analysis. The following steps, will give you the analytical procedure (technique, instrumental and optimum experimental conditions). You should work with a known volume of sample (25 ml).

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|---------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Tl | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

=?

2) *Ejecución del sistema experto: etapas correspondientes a la elección de la técnica voltamperométrica, condiciones de medida, etc.*

- ejemplo nº 1: cobre, zinc, cadmio y plomo (página 77)
- ejemplos 2 y 3: **níquel** y/o cobalto (página 82 y 83)
- ejemplo nº 4: **talio** (página 85)
- ejemplo nº 5: mercurio (página 85)
- ejemplo nº 6: selenio (página 87)
- ejemplo nº 7: vanadio (página 89)
- ejemplo nº 8: hierro total (página **91**)
- ejemplo nº 9: manganeso (II) (página 95)
- ejemplo nº 10: aluminio (página 97)
- ejemplo nº 11: **titanio** (página 99)
- ejemplo nº 12: cromo total (página 101)
- ejemplo nº 13: cromo (VI) (página 103)
- ejemplo nº 14: arsénico (III) (página 105)
- ejemplo nº 15: **arsénico total** (página **107**)
- ejemplo nº 16: arsénico (III) y/o arsénico (V) (página 110)

Ejemplo 1, determinación de cobre, **zinc**, cadmio y plomo.

We have now the sample in the right conditions to begin the analysis. The following steps, will give you the analytical procedure (technique, instrumental and optimum experimental conditions). You should work with a known volume of sample (25 ml).

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Ti | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

=? 1

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
 2. no
- =? 1

Which is the concentration range of the cations?

- choice: 1. if $1.0E-4 > [M] > 1.0E-6$ M
2. if $1.0E-6 > [M] > 1.0E-9$ M
 3. if $[M] < 1.0E-9$ M.

(The choice of the technique is mainly determined by the concentration of the analytes; if they are not in the concentration range shown, and if you have a classic instrument with paper register, you must **obtain** different voltammograms for each determination.) For more information enter the explain command.

(Enter a number)

=? 1

You should work with Differential Pulse Polarography (DPP) using the Dropping Mercury Electrode (DME) or the Static Mercury Drop Electrode (SMDE).

The optimal instrumental conditions are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or standard calomel electrode (SCE). $E_w = \text{Hg}$.

$E_{aux} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

pulse = 50 mV. (in general, between 10 and 100 mV.)

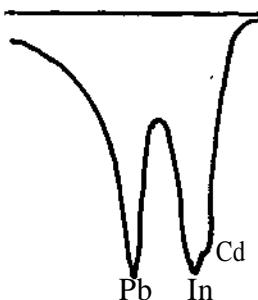
$t_{drop} = 1$ s, $v = 10$ mV/s. $t_{pulse} = 30 - 100$ ms.

$E_i = 0.1$ V, $E_f = -1.2$ V.

The determination should be carried out according to the Deutsche Norm (DIN). It can be performed at pH = 2 or pH = 4,6.

- a) pH = 2 (0.5 ml of KCl 1M in 10 ml sample,
supporting electrolyte: HClO_4 or HNO_3 0.01 mol/l)
- b) pH = 4.6 (0.5 ml buffer KCl (1.5 M) - NaAc (0.5 M) in 10 ml of sample)

Set up the polarograph in the above mentioned conditions; the voltammogram is:



Did you observe (the presence of) different peaks in the voltammograms?

1. yes
 2. no
- =? 1

Following voltammetric step, the voltammograms can be analyzed qualitatively, since each peak corresponds to just one cation.

Do these peaks appear at the potential values expected? (potential values:

E Cd(II): DPP: -0.543 V, DPASV: -0.557V.

E Cu(II): DPP: 0.06 V, DPASV: 0.05V.

E Pb(II): DPP: 0.31 V, DPASV: 0.325V.

E Zn(II): DPP: -1. V, DPASV: -1. V.)

peaks appear:

1. only at the potential indicated.
2. only at potential values different of those indicated.
3. some at the indicate potential values and some at different potentials too.

(Enter a number) =? 3

When signals at potential values different from those expected are found, and the pretreatment step has been carried out correctly, those signals are not caused by complexes of other elements present in the sample or by complexes of the cations in study. For this reason, they are not taken into account.

Which of the peaks considered are observed (in the order mentioned above)?

1. first
2. second
3. third
4. fourth

(multiple answers allowed) =? 1&3

If E (DPP) - - 0.31 V. or E (DPASV) \approx - 0.32 V, will be Pb^{2+} .
If E (DPP) - - 0.54 V. or E (DPASV) \approx - 0.55 V, will be Cd^{2+} .

From the shape of the peaks, could you say if each peak is generated by only one chemical species?

(The expert system includes the width at half-peak corresponding to the reversible reduction of a divalent cation: for DPP, $W_{1/2} \approx 58$ mV, and for DPASV, $W_{1/2} \approx 44$ mV.)

1. yes
2. no

=? 2

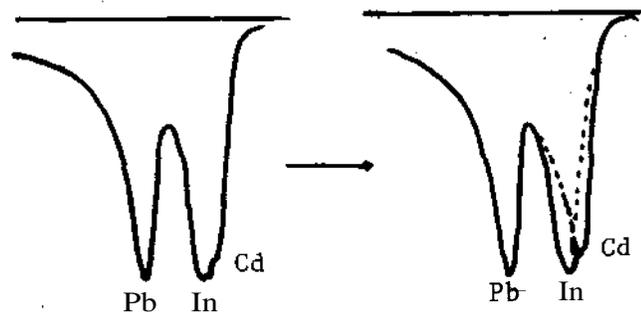
In the case of overlapping peaks, would you like to apply a curve fitting methodology?

1. yes
2. no

=? 1

For each experimental point used to plot the calibration curve, should be obtained the polarogram in the same instrumental conditions, apply a curve fitting methodology and measure the peak height.

Connexion to the external program OECON, which applies a curve fitting methodology.



Would you like to obtain another voltammogram in which curve fitting methodology should be applied?

1. yes
2. no

= ? 2

Connexion to COOKS'2. Validation of the calibration plot.

In order to carry out the quantification, the calibration curve should be obtained. The quantitative procedure is based on the multiple standard addition method, and the response signal considered is the peak height of the voltammogram. The more appropriate concentration for the calibration plot is:

- * at 50% lower value given from references and
- * at **150%** highest value given from references.

After the calibration curve, its validation can be done by means of the analysis of residuals. For this purpose, the system calls the external program COOKS'2.

Would you like to apply these calibration and validation methodologies?

1. yes
2. no

= ? 1

Which cation will be determined?

- | | |
|--------------|----------------------|
| 1. Cu | 10. V |
| 2. Zn | 11. Cr |
| 3. Cd | 12. As |
| 4. Pb | 13. Fe |
| 5. Ni | 14. Mn |
| 6. Co | 15. Al |
| 7. Tl | 16. Ti |
| 8. Se | 17. any other cation |
| 9. Hg | |

= ? 3

COMPUTER PROGRAM TO PLOT CALIBRATION LINES, THEIR RESPONSE RESIDUALS AND TO TEST THE PRESENCE OF OUTLIERS ACCORDING TO COOK'S DISTANCE.

Number of points of the regression line ?? 6

(Concentrations and peak current (response) must be given in 10^{-7} M and nA, respectively.)

Point 1: Give value of concentration? 0.00

Give value of **response?** 11.51

Point 2: Give value of **concentration?** 1

Give value of response? 36.52

Point 3: Give value of concentration? 2

Give value of response? 60.77

Point 4: Give value of concentration? 3

Give value of response? 86.36

Point 5: Give value of **concentration?** 4

Give value of response? 111.44

Point 6: Give value of concentration? 5

Give value of response? 126.38

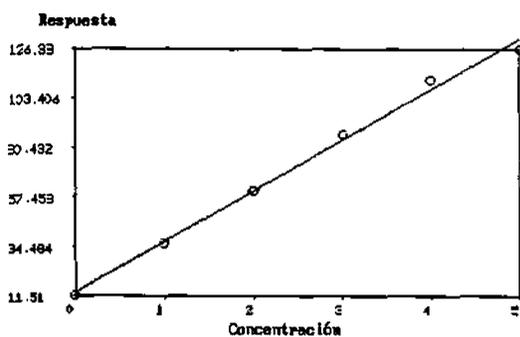
Parameters of the regression line

Intercept A = 13.26

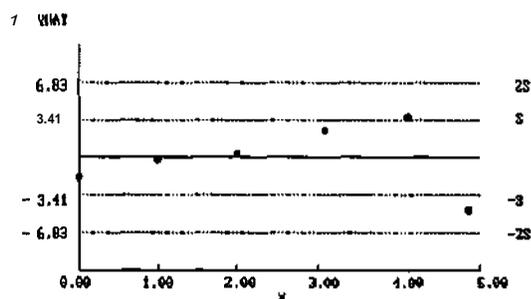
Slope B = 23.56

point nº	X values	Y values	YHAT values	Residuals
1	0	11.51	13.26	-1.75
2	1	36.52	36.82	-0.30
3	2	60.77	60.38	0.39
4	3	86.36	83.94	2.42
5	4	111.44	107.50	3.90
6	5	126.38	131.10	-4.68

Sum of squared residuals = 46.27



Recta de calibrado



Residuales

Parameters of the regression line, after rejecting point nº6

Intercept A = 24.97

Slope B = 11.38

The concentration of the cation Pb < 1.00 > given in mol/l, is 0.46 10^{-7} .

Which cation will be determined?

1. Cu 10. V
 2. Zn 11. Cr
 3. Cd 12. As
 4. Pb 13. Fe²⁺
 5. Ni 14. Mn
 6. Co 15. Al
 7. Tl 16. Ti
 8. Se 17. any other cation
 9. Hg
- =? 17

End of the expert system.

Ejemplo 2, determinación de níquel y cobalto.

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
 2. no
- =? 1

Do you know both the approximate concentration of Ni and/or Co and the concentration ratios [Ni]/[Co] and/or [Zn]/[Co] in the sample? Choice:

1. If [Ni],[Co] > 1.0E-11 M and [Ni]/[Co] and/or [Zn]/[Co] is low.
2. If [Ni],[Co] > 1.0E-11 M and [Ni]/[Co] and/or [Zn]/[Co] is high.
3. If you are interested only in the determination of Co, and [Co] is > 3.0 E-10 M.

Note: The choice of the method depends on the concentration levels. The methods corresponding to options 1 and 2 are based on the formation of complexes with **DMG** or Nioxime, respectively, and their adsorption at the hanging mercury drop electrode. For more information enter the command "explain".

(Enter a number)
=? 1

The procedures indicated in option a (reference 13) or in option b (reference 4) can be followed.

Option a:

The medium conditions, in the absence of great excesses of Ni and/or Co, are the following:

An aqueous solution containing 1×10^{-4} M of DMG and at pH 9.3, obtained by means of the addition of ammonia buffer $\text{NH}_3/\text{NH}_4\text{Cl}$ 0.1-1 M (0.1 M is recommended at the lowest Ni and/or Co concentrations).

Option b:

The medium conditions are as follows:

An aqueous solution containing 1×10^{-4} M of DMG and at pH 8.3, obtained by means of the addition of boric acid/sodium hydroxide buffer 1M.

The instrumental parameters of both options (a and b) are:

$E_{\text{preelectrolysis}} = -0.7 \text{ V (vs SCE)}$.

$t_{\text{preelectrolysis}} = 2 - 10 \text{ min.}$

(Recommendation: For relatively high concentrations, $[\text{Ni}], [\text{Co}] > 50 \mu\text{g/l}$ (50ppb), dilute the sample in order to achieve the optimal conditions. Then,

$t_{\text{pe}} \approx 2 \text{ min.}$, if $1 \mu\text{g/l}$ (1ppb) < [Ni], [Co] < $50 \mu\text{g/l}$ (50ppb)

$t_{\text{pe}} = 5 \text{ min.}$, if [Ni], [Co] $\approx 1 \mu\text{g/l}$ (1ppb)

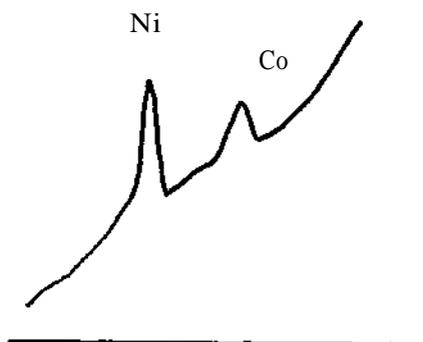
$t_{\text{pe}} \approx 10 \text{ min.}$, if $5 \text{ ng/l} < [\text{Ni}], [\text{Co}] < 1 \mu\text{g/l}$

$t_{\text{rest}} = 20 \text{ s}$, $v_{\text{scan rate}} = 10-20 \text{ mV/s}$, $E = 50 \text{ mV}$ (in general inside the range 10-100 mV.)

$t_{\text{p}} = 30 - 100 \text{ ms.}$

If you are interested in references, enter: display attach Valenta of kb; the same applies to norm DIN and Liverpool.

Set up the polarograph according to the conditions mentioned, the voltammogram is:



Ejemplo 3, determinación de níquel y cobalto.

Do you know both the approximate concentration of Ni and/or Co and the concentration ratios [Ni]/[Co] and/or [Zn]/[Co] in the sample? Choice:

1. If [Ni],[Co] > 1.0E-11 M and [Ni]/[Co] and/or [Zn]/[Co] is low.
2. If [Ni],[Co] > 1.0E-11 M and [Ni]/[Co] and/or [Zn]/[Co] is high.
3. If you are interested only in the determination of Co, and [Co] is > 3.0 E-10 M.

(Enter a number)

=? 2

You should use Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry (DPAdSV), using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE). (Method of Donat-Bruland.)

The medium conditions are:

Buffer HEPES [N- (2-hydroxyethyl)- piperazine- N'- 2- ethanesulphonic acid], at a concentration of 0.03 M, (pH \approx 7.6) containing 1.E-4 M Nioxime [Cyclohexane-1,2-dione dioxime].

The instrumental parameters are:

$E_{\text{preelectrolysis}} = -0.6\text{V}$, $t_{\text{preelectrolysis}} = 5 - 30 \text{ min.}$

$t_{\text{rest}} = 30 \text{ S}$, $V_{\text{scan rate}} = 10 - 20 \text{ mV/s.}$

$E = 50 \text{ mV}$ (10 - 100 mV.), $t_p = 30 - 100 \text{ ms.}$

If you are interested in references, enter: display attach Donat of kb.

(Enter a number)

=? 3

You must work with Differential Pulse Polarography (DPP), using the Dropping Mercury Electrode (DME) or the Static Mercury Drop Electrode (SMDE). (Method of Bobrowski.)

The medium conditions are:

An aqueous solution at pH \approx 8, by using ammonium buffer $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ 0.1 M, containing 1.E-4 M nioxime [cyclohexane-1,2-dione dioxime], and 0.5 M NaNO_2 .

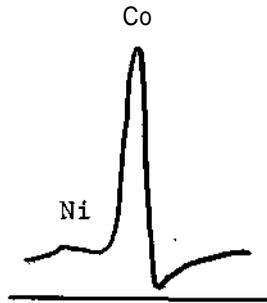
The instrumental parameters are:

$t_{\text{drop}} = 1 - 2 \text{ S}$, $E = 10 - 100 \text{ mV}$, $V_{\text{scan rate}} = 10 - 20 \text{ mV/s.}$

$E_{\text{inicial}} = -1 \text{ V}$, $E_{\text{end}} = -1.3 \text{ V}$ VS. SCE.
 (vs. Ag/AgCl shifted 0.042 V.)
 $t_p = 30 - 100 \text{ ms}$.

If you are interested in references, enter: display attach Bobrowski of kb.

Set up the polarograph according to the mentioned conditions; the voltammogram is:



Did you observe different peaks in the voltammogram?

1. yes
 2. no
- =? 1

At what potential values do the peaks appear? (Potential value (vs. Ag/AgCl) working with):

DPAAdSV

Option a (pH=9.3): 1) $\approx -0.95\text{V}$ 2) $\approx -1.1\text{V}$

Option b (pH=8.3): 1) $\approx -0.95\text{V}$ 2) $\approx -1.1\text{V}$

Option c (Donat-Bruland): 1) $\approx -0.87\text{V}$ 2) $\approx -0.98\text{V}$

DPP Option d (Bobrowski): 2) $\approx -1.18\text{V}$

1. first
 2. second
- (multiple answers allowed)
 =? 1&2

If $E(\text{DPAAdSV}) \approx -1.1\text{V}$ or $E(\text{DPAAdSV}) \approx -0.98\text{V}$ or $E(\text{DPP}) \approx -1.18\text{V}$, the peak will correspond to Co(II).
 If $E(\text{DPAAdSV}) \approx -0.95\text{V}$ or $E(\text{DPAAdSV}) \approx -0.87\text{V}$, the peak will correspond to Ni(II).

From the shape of the peaks, can you state that each peak corresponds to only one chemical species?
 (The expert system includes the width at half-peak corresponding to the reversible reduction of a divalent cation. For DPP, $W_{1/2} \approx 58 \text{ mV}$ and for DPASV, $W_{1/2} \approx 44 \text{ mV}$)

1. yes
 2. no
- =?

Ejemplo 4, determinación de talio.

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Tl | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

=? 3

We are now in the field of trace analysis; in this type of analysis the detection and quantification limits should be determined for the working conditions of each laboratory. The values recommended in this expert system are only a guide (and correspond to values given in the references). As a consequence, in each particular case, the detection limit should be obtained from the blank under the particular working conditions.

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
2. no

=? 2

You should use Differential Pulse Polarography (DPP), using the Dropping Mercury Electrode (DME) or the Static Mercury Drop Electrode (SMDE). (Method of Bobrowski.)

The medium conditions are:

An aqueous sample free of organic matter, at pH = 4.6 (by addition of 0.5 ml buffer solution KCl (1.5 M) - NaAcO (0.5 M) and containing 1 ml of EDTA 0.2 M (in order to complex the Pb^{2+}).

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or Standard Calomel Electrode. E_w = Hg.

E_{aux} = Pt or glassy carbon .

pulse = 20 - 50 mV, v = 2 - 10 mV/s.

$E_{initial}$ = -0.1 V, E_{end} = -0.8 V.

If you are interested in references, enter: display attach thallium of kb.

Ejemplo 5, determinación de mercurio.**a) using differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) onto the rotating gold electrode.**

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Tl | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

= ? 5

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
2. no

= ? 1

Which is the concentration range of Hg in the sample?

1. if [Hg] > 100 ng/l (0.1 ppb.)
2. if [Hg] < 100 ng/l (0.1 ppb.)

Note: The choice of the method depends on the concentration levels. The method corresponding to option 1 allows us the determination of Hg and Cu in the same run by common DPASV. The method has been successfully applied to natural waters, wines and bio-matrix. In the last case a previous digestion of the sample with $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$, followed by UV irradiation, is recommended.

(Enter a number)

= ? 1

You should use Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (DPASV) onto the rotating gold electrode.

Preparation of the gold electrode:

The surface of the gold electrode is first brushed with emery paper and subsequently polished with diamond paste of gradually decreasing grain size (7, 3, 0.7 μm) until a mirror like surface was attained. Fresh electrodes are activated electrochemically in 0.1 M HClO_4 containing 2.5 E-3 M HCl by successive polarization to -0.25 V and +1.7 V vs an Ag/AgCl electrode several times for 20 s.

The medium conditions are:

Before the stripping step and subsequent to the cathodic accumulation stage, the application of the method always requires a change of the medium composition to 0.1 M HClO_4 containing 2.5 E-3M HCl. This method allows us the simultaneous detection and/or determination of Hg and Cu. The surface of the gold electrode must be previously prepared.

The optimal instrumental conditions are:

E_r = Ag/AgCl or Standard Calomel Electrode (SCE). E_w = Au.
 E_{aux} = Pt or glassy carbon.

Epe = -0.2 V, tpe = 5 - 10 min, w = 3000 rpm.
pulse = 50 mV. (in general, between 10 and 100 mV.)
v = 10 mV/s, tpulse = 30 - 100 ms, E_i = -0.2 V, E_f = +0.8 V.

If you are interested in references, enter: display attach mercury of kb.

b) determinación de Hg a una concentración no contemplada en este sistema experto.

Which is the concentration range of Hg in the sample?

1. if [Hg] > 100 ng/l (0.1 ppb.)
2. if [Hg] < 100 ng/l (0.1 ppb.)

(Enter a number)

=? 2

This expert system addresses the user to the original references quoted in the literature and/or to a human expert since the required methods are beyond the scope of the expert system. For more information enter the command: display attach Mercury of kb.

Ejemplo 6, determinación de selenio.

a) using differential pulse cathodic stripping voltammetry onto the hanging mercury drop electrode (HMDE).

Which is the concentration range of the cation Se ?

1. if [Se] > 0.2 ppb.
2. if 0.08 ppb < [Se] < 8 ppb.

(Enter a number)

=? 1

You should use Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetry (DPCSV) onto the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

Note: Two methods are available, both with 0.2 ppb determination limits and the instrumental conditions are the same. The first method is recommended if you are interested in determining also Cu, Pb, Cd and Zn. The second method is especially recommended if you are interested in simultaneous determination of Se and Te, in the concentration ranges 0.2 - 20 ppb and 0.2 - 50 ppb respectively.

First method:

The medium conditions are: A solution, free of organic compounds and surfactant, at pH = 2. This determination can be done after the anodic stripping of Cu, Zn, Cd and Pb.

The optimal instrumental conditions are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode (SCE). E_w = HMDE.

E_{aux} = Pt or glassy carbon.

pulse = 50 mV, $v = 10$ mV/s, $t_{\text{pulse}} = 30 - 100$ ms.
 $E_{\text{pe}} = -0.2$ V, $t_{\text{pe}} = 1-5$ min, $E_f = -0.7$ V

Second method:

The medium conditions are: A solution, 0.5 M $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ + 4 E-3 M EDTA + 1 ppm CuCl_2 + 0.1 M $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_8$, at pH = 4.5.

The optimal instrumental conditions are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or standard calomel electrode (SCE). $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{\text{aux}} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

pulse = 50 mV, $v = 10$ mV/s, $t_{\text{pulse}} = 30 - 100$ ms.

$E_{\text{pe}} = -0.4$ V, $t_{\text{pe}} = 1$ min, $E_f = -1.2$ V

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Selenium of kb.

b) using differential pulse polarography (DPP) onto the dropping mercury electrode or the static mercury drop electrode.

Which is the concentration range of the cation Se ?

1. if $[\text{Se}] > 0.2$ ppb.

2. if 0.08 ppb $< [\text{Se}] < 8$ ppb.

(Enter a number)

= ? 2

You should use Differential Pulse Polarography (DPP) onto the Dropping Mercury Electrode (DME) or the Static Mercury Drop Electrode (SMDE).

The medium conditions are:

10 ml of the sample (previously treated), 2 ml Na_2SO_3 1.3 M, 2ml KIO_3 0.2 M, 5 ml $\text{NH}_3\text{-NH}_4\text{Cl}$ buffer (pH = 9), 2 ml EDTA 5% and 2 ml gelatin sol (0.1%)

The optimal instrumental conditions are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or Standard Calomel Electrode (SCE). $E_w = \text{DME}$ or SMDE.

$E_{\text{aux}} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

pulse = 50 mV. (in general between 10 and 100 mV.)

$v = 10$ mV/s, $t_{\text{pulse}} = 30 - 100$ ms.

$E_j = -0.5$ V, $E_f = -0.9$ V

Notes: The choice of the method depends on the concentration levels. If $[\text{Se}] > 0.2$ ppb, the expert system will recommend the application of the "first method" described in that section.

If you are interested in determining also Cu, Pb, Cd and Zn by means of DPASV, you can determine Se, in the same sample solution, after determining the above mentioned heavy metals. This possibility is also described in the first method of the choice 1. If you are interested in the simultaneous determination of Se and Te, in the concentration ranges 0.2-20 ppb and 0.2-50 ppb, respectively, the expert system will recommend the second method of the choice 1.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Selenium of kb.

Ejemplo 7, determinación de vanadio.**a) using differential pulse polarography (DPP) onto the dropping mercury electrode or the static mercury drop electrode (SMDE).**

Which is the concentration range of V(V) in the sample?

1. if $1.0E-5$ M (0.5 ppm) < [V] < $1.0E-3$ M (50 ppm)
2. if $1.0E-6$ M (50 ppb) < [V] < $1.0E-5$ M (0.5 ppm)
3. if $3.0E-10$ M (15 ppt) < [V] < $1.0E-6$ M (50 ppb)
4. if $1.0E-10$ M (5 ppt) < [V] < $2.0E-9$ M (100 ppt)

(The choice of the technique is mainly determined by the concentration of the analyte; the method corresponding to the option 1 allows the determination of Vanadium and Nickel in the same sample).

(Enter a number)

= ? 1

You should use Differential Pulse Polarography (DPP) onto the Dropping Mercury Electrode (DME) or the Static Mercury Drop Electrode (SMDE).

The medium conditions are:

The determination should be carried out in 0.01 M NH₃ - 0.01 M NH₄Cl medium (pH = 8-9.). This method allows us the determination of Ni and V simultaneously. For such a case two possibilities have been described (Reference Vanadium). In the first one, Ni and V are measured in the same run, while in the second one, Ni is measured in the first run, subsequently EDTA is added to the solution, and finally V is measured.

Note: These methods have been successfully applied to petroleum containing 0.5 to 50 ppm of Vanadium and Nickel. In such a case the sample treatment should be as follows. Petroleum is first evaporated on a hot plate and then decarbonized in a muffle furnace at 600°C. Residues are treated with H₂SO₄ suprapur, taken to dryness, and redissolved in 10 ml 0.1 M HCl. After quantitative transfer to a glass-stoppered cylinder, water and ammonium buffer was added, as described above. Chaumary recommends a first extraction with CCl₄ before the evaporation, followed by a filtration, treatment with anhydrous Na₂SO₄ and solvent evaporation in a rotavapor.

The instrumental parameters are:

Er = Ag/AgCl or Standard Calomel Electrode. Ew = DME or SMDE.
 Eaux = Pt or glassy carbon.
 pulse = 50 mV (in general between 10 and 100 mV)
 t_{drop} = 1 s, v = 10 mV/s, t_{pulse} = 30 - 100 ms.
 Ei = -0.1 V, Ef = -0.8 V.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Vanadium kb.

b) using adsorptive stripping voltammetry.

Which is the concentration range of V(V) in the sample?

1. if $1.0E-5$ M (0.5 ppm) < [V] < $1.0E-3$ M (50 ppm)
2. if $1.0E-6$ M (50 ppb) < [V] < $1.0E-5$ M (0.5 ppm)
3. if $3.0E-10$ M (15 ppt) < [V] < $1.0E-6$ M (50 ppb)
4. if $1.0E-10$ M (5 ppt) < [V] < $2.0E-9$ M (100 ppt)

= ? 2

You should dilute properly in order to apply option 3 or 4.

c) using differential pulse adsorptive stripping voltammetry onto the hanging mercury drop electrode (HMDE).

Which is the concentration range of V(V) in the sample?

1. if $1.0E-5$ M (0.5 ppm) < [V] < $1.0E-3$ M (50 ppm)
2. if $1.0E-6$ M (50 ppb) < [V] < $1.0E-5$ M (0.5 ppm)
3. if $3.0E-10$ M (15 ppt) < [V] < $1.0E-6$ M (50 ppb)
4. if $1.0E-10$ M (5 ppt) < [V] < $2.0E-9$ M (100 ppt)

= ? 3

You should use Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry (DPAdSV) onto the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

The determination should be carried out as follows: the sample, free of organic matter and surfactants, is adjusted to $\text{pH} = 7.8 \pm 0.4$ by addition of NH_4OH . $100\mu\text{l}$ of 1M . PIPES buffer (PIPES = piperazine-N,N'-bis-2-ethane sulphonic acid monosodium salt) are added to 10 ml of the sample solution ($\text{pH} = 7.8$) and after passing N_2 for 6 min, $20\mu\text{l}$ of 0.1 M catechol is added. According to the original reference Al(III), Si(IV), Mo(VI), As(V), all at $1.0E-7\text{ M}$ level, and Se(VI), Cr(VI), Cd(II), Ga(III), Te(VI) and Co(II) at $1.0E-8\text{ M}$ do not interfere.

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or Standard Calomel Electrode. $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{aux} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

pulse = 50 mV , $v = 10\text{ mV/s}$, $t_{pulse} = 30 - 100\text{ ms}$.

$E_{pe} = -0.1\text{ V}$, $E_f = -1.0\text{ V}$.

$t_{pe} = 1 - 15\text{ min}$, $t_r = 30\text{ s}$.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Vanadium kb.

d) using differential pulse adsorptive stripping voltammetry onto the hanging mercury drop electrode.

Which is the concentration range of V(V) in the sample?

1. if $1.0E-5$ M (0.5 ppm) < [V] < $1.0E-3$ M (50 ppm)
2. if $1.0E-6$ M (50 ppb) < [V] < $1.0E-5$ M (0.5 ppm)
3. if $3.0E-10$ M (15 ppt) < [V] < $1.0E-6$ M (50 ppb)
4. if $1.0E-10$ M (5 ppt) < [V] < $2.0E-9$ M (100 ppt)

(Enter a number)

= ? 4

You should use Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry (DPAdSV) onto the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

The determination should be carried out in 2.0 E-5M . cupferron and $6.0E-3\text{M}$. sodium bromate.

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or Standard Calomel Electrode. $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{aux} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

pulse = 50 mV, $v = 10 \text{ mV/s}$, $t_{pulse} = 30 - 100 \text{ ms}$.

$E_{pe} = +0.1 \text{ V}$, $E_f = -0.5 \text{ V}$.

$t_{pe} = 90 \text{ S}$, $t_r = 15 \text{ S}$.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Vanadium kb.

Ejemplo 8, determinación de hierro total.**a) by using differential pulse polarography (DPP) onto the dropping mercury electrode (HMDE) or the Static mercury drop electrode (SMDE).**

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Tl | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

= ? 9

The methods recommended here are developed to analyze natural waters whether polluted or otherwise. These methods have been selected because of the relevance of their performance characteristics published in the literature.

Do you know the approximate concentration of total iron $[\text{Fe}]_T$?

1. yes
2. no

= ? 1

What is the concentration range of total iron in the sample?

1. $5 \mu\text{g/l}$ ($5 \cdot 10^{-8} \text{ M}$) $< [\text{Fe}]_T$
2. 58 ng/l ($1 \cdot 10^{-9} \text{ M}$) $< [\text{Fe}]_T < 2.3 \mu\text{g/l}$ ($4 \cdot 10^{-8} \text{ M}$)
3. 34 ng/l ($6 \cdot 10^{-10} \text{ M}$) $< [\text{Fe}]_T < 2.8 \mu\text{g/l}$ ($5 \cdot 10^{-8} \text{ M}$)

Note: The methods indicated in options 2 and 3 are very similar. The main difference between them is the reagent used. In both cases (options 2 and 3) concentration ranges given are orientative, because they depend on the preconcentration time.

= ? 1

You should use Differential Pulse Polarography using a Dropping Electrode (DME) or a Static Mercury Drop Electrode (SMDE).

The medium conditions are:

The determination of total Fe in natural waters requires the removal of natural organic matter in the sample by either UV-irradiation or H_2O_2 -oxidation. The conditions of the cell-medium are: 0.02 M catechol and 0.02 M PIPES (piperazine-N-N'-bis-2-ethane sulphonic acid) buffer (pH = 8). After 15 minutes of purging with a N_2 stream, measurement can be performed.

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode E_w = DME or SMDE.

E_{aux} = Pt or glassy carbon.

scan mode DP.

pulse = 25 mV (in general, between 10 and 100 mV) , v = 20 mV/s.

$t(\text{pulse})$ = 100 ms (in general, between 30 and 100 ms).

E_i = -0.250 V, E_f = -0.550 V, (both vs. Ag/AgCl).

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach iron of kb.

Set up the polarograph according to the conditions mentioned; connection is established with external program which plots the voltammogram. The voltammogram is:

.....(The voltammogram corresponding to the experimental conditions is shown here).....

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes

2. no

= ? 1

If the potential value is : $E_p = -0.41$ vs Ag/AgCl, the peak will be due to the presence of Fe in the original solution.

Could you measure the peak height precisely?

1. yes

2. no

= 7 1

The quantitative procedure is based on the multiple standard addition method and the standard Iron solution used is prepared by dissolving metallic iron in 6 M hydrochloric acid (1 mg Fe/ml).

Parameters of the calibration curve:

slope = (value according to input experimental data)

intercept (at $y=0$) = (value according to input experimental data)

The concentration of the cation Fe given in mol/l, is the absolute value of (value according to input experimental data).

b) using adsorptive stripping voltammetry (AdSV) onto the hanging mercury drop electrode

Do you know the approximate concentration of total iron $[\text{Fe}]_T$?

1. yes

2. no

= ? 1

What is the concentration range of total iron in the sample?

1. $5 \mu\text{g/l}$ ($5 \cdot 10^{-8} \text{ M}$) < $[\text{Fe}]_T$

2. 58 ng/l ($1 \cdot 10^{-9} \text{ M}$) < $[\text{Fe}]_T$ < $2.3 \mu\text{g/l}$ ($4 \cdot 10^{-8} \text{ M}$)

3. 34 ng/l ($6 \cdot 10^{-10} \text{ M}$) < $[\text{Fe}]_T$ < $2.8 \mu\text{g/l}$ ($5 \cdot 10^{-8} \text{ M}$)

Note: The methods indicated in options 2 and 3 are very similar. The main difference between them is the reagent used. In both cases (options 2 and 3) concentration ranges given are orientative, because they depend on the preconcentration time.

= ? 2

You should use Adsorptive Stripping Voltammetry (AdSV) using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

The application of the methods recommended requires a sample free of organic matter at the moment of the accumulation step. The conditions of the cell-medium are: 0.01 M of PIPES buffer (pH = 6.9) and 10^{-4} M of 1-nitroso-2-naphthol.

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or Standard Calomel Electrode, $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{aux} = \text{R}$ or glassy carbon, $E_{ads} = -0.15$ V vs Ag/AgCl.

$t_{ads} = 60 - 600$ s, $t_r = 30$ s.

$E_i = -0.15$ V, $E_f = -0.7$ V (both vs Ag/AgCl).

scan mode DC, $v = 20$ mV/s.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach iron of kb.

Do you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

=? 1

If the potential value is : $E_p = -0.5$ vs Ag/AgCl, the peak will be due to the presence of Fe in the original solution.

Could you measure the peak height precisely?

1. yes
2. no

=? 1

The quantitative procedure is based on the multiple standard addition method and the standard Iron solution used is prepared by dissolving metallic iron in 50% (v/v) hydrochloric acid (1 mg Fe/ml).

Parameters of the calibration curve:

slope = ... (value according to input experimental data)

intercept (at $y=0$) = (value according to input experimental data)

The concentration of the cation Fe given in mol/l, is the absolute value of. . . . (value according to input experimental data).

c) by using adsorptive stripping voltammetry (AdSV) onto the hanging mercury drop electrode (HMDE).

What is the concentration range of total iron in the sample?

1. $5 \mu\text{g/l} (5 \cdot 10^{-8} \text{ M}) < [\text{Fe}]_{\text{T}}$
2. $58 \text{ ng/l} (1 \cdot 10^{-9} \text{ M}) < [\text{Fe}]_{\text{T}} < 2.3 \mu\text{g/l} (4 \cdot 10^{-8} \text{ M})$
3. $34 \text{ ng/l} (6 \cdot 10^{-10} \text{ M}) < [\text{Fe}]_{\text{T}} < 2.8 \mu\text{g/l} (5 \cdot 10^{-8} \text{ M})$

= ? 3

You should use Adsorptive Stripping Voltammetry (AdSV) using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE)

The medium conditions are:

The application of the method to water samples requires the removal of natural organic matter in the sample. The conditions of the cell-medium are: 0.008 M of PIPES buffer (pH = 6.9) and $4 \cdot 10^{-4}$ M of catechol and $2 \cdot 10^{-4}$ M EDTA (for masking Cu and Pb if their concentrations are above 10^{-7} M).

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or standard calomel electrode $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{aux} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

scan mode DC, $v = 20 \text{ mV/s}$.

$E_{ads} = -0.1 \text{ V}$, $t_{ads} = 1 - 5 \text{ min}$, $t_r = 30 \text{ S}$.

$E_i = -0.1 \text{ V}$, $E_f = -0.5 \text{ V}$, (both vs. Ag/AgCl).

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach iron of kb.

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

= ? 1

If $E_p = -0.35 \text{ V}$ vs (Ag/AgCl) the peak will be due to the presence of Fe in the original solution.

Ejemplo 9, determinación de manganeso (II).

a) by using differential pulse polarography (DPP) onto the dropping mercury electrode (DME) or the static mercury drop electrode (SMDE).

Which of the following cations are to be determined?

- | | | | | |
|-------|----|----|----|------------|
| 1. Cu | Zn | Cd | Pb | 8. As |
| 2. Ni | Co | | | 9. Fe |
| 3. Tl | | | | 10. Mn |
| 4. Se | | | | 11. Al |
| 5. Hg | | | | 12. Ti |
| 6. V | | | | 13. others |
| 7. Cr | | | | |

= ? 10

Do you know the approximate metal-ion concentration ?

1. yes
2. no

= ? 1

What is the concentration of Mn (II) in the sample?

1. if $[\text{Mn(II)}] > 5.5 \mu\text{g/l}$ ($1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$)
2. if $1.1 \mu\text{g/l}$ ($2 \cdot 10^{-8} \text{ M}$) $< [\text{Mn(II)}] < 5.5 \mu\text{g/l}$ ($1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$)

Note: Manganese has been measured in natural waters at levels of 10^{-9} - 10^{-10} M , but using a mercury film electrode, which is out of the scope of this expert system. For additional details see, R. O'Halloran, *Anal.Chim.Acta*, 140 (1982) 51.

= ? 1

You should use Differential Pulse Polarography (DPP) onto the Dropping Mercury Electrode (DME) or the Static Mercury Drop Electrode (SMDE).

Note: According to the literature (W.Davison, J.Buffle and R. de Vitre, *Pure Appl. Chem*, 60 (1988) 1535) DPP should be used in the concentration range from $1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$ to $2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$, although calibration curves tend to be slightly convex at the high concentration end. Thus, for concentrations above $2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ Sampled Direct Current Polarography should be the preferred technique. In such a case, medium conditions, electrodes and initial and final potentials are as in DPP.

The medium conditions are:

0.1 M NaCl. Several supporting electrolytes have been used such as 0.02 M NaHCO₃ or 0.1 M KCl + 5 10^{-3} M NaHCO₃ or 0.1 M Na₂B₄O₇ · 10 H₂O. In all cases the pH range 5 - 8 is recommended.

The instrumental parameters are:

Er = Ag/AgCl or standard calomel electrode, Ew = SMDE or DME.

Eaux = Pt or glassy carbon.

DP mode, pulse = 25 mV, v = 10 mV/s.

E = -0.9 V, Ef = -1.6 V, (both vs. Ag/AgCl)

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

= ? 1

If $E_p = -1.3 \text{ V}$ vs (Ag/AgCl) the peak will be due to the presence of Mn(II).

b) by using differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) onto the hanging mercury drop electrode (HMDE).

What is the concentration range of Mn (II) in the sample?

1. if $[\text{Mn(II)}] > 5.5 \mu\text{g/l}$ ($1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$)
2. if $1.1 \mu\text{g/l}$ ($2 \cdot 10^{-8} \text{ M}$) $< [\text{Mn(II)}] < 5.5 \mu\text{g/l}$ ($1 \cdot 10^{-7} \text{ M}$)

Note: Manganese has also been measured in natural waters at levels of 10^{-9} - 10^{-10} M , but using a mercury film electrode, which is out of the scope of this expert system. For additional details see, R. O'Halloran, *Anal.Chim.Acta*, 140 (1982) 51.

=? 2

You should use Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (DPASV) onto the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

0.1 M NaCl. Several supporting electrolytes have been used such as 0.02 M NaHCO₃, 0.1 M KCl + $5 \cdot 10^{-3} \text{ M NaHCO}_3$ or 0.1 M Na₂B₄O₇ · 10 H₂O. In all cases the pH range 5 - 8 is recommended.

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or standard calomel electrode, $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{aux} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

$E_{pe} = -1.7 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl during $t_{pe} = 1 - 5 \text{ min}$, $t_r = 30 \text{ s}$.

DP mode, pulse = 50 mV, $v = 2 \text{ mV/s}$.

$E_f = -1.0 \text{ V}$.

Note:

Because of the quasi-reversible charge-transfer mechanism of Mn(II)/Mn(Hg), slow scan rates are recommended for the satisfactory determination of Mn(II). For additional information, see R.J. O'Halloran and H. Blustein, *J. Electroanal. Chem*, 125 (1981) 261.

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

=? 1

If you observe a peak at $E_p = -1.5 \text{ V}$ (vs Ag/AgCl), the peak will be due to the presence of Mn(II).

Ejemplo 10, determinación de aluminio.

a) by using Direct Current Adsorptive Stripping Voltammetry (DCAdSV), using a Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Tl | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

=? 11

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
2. no

=? 1

Which is the concentration range of Al in the sample?

1. if $5 \mu\text{g/l} < [\text{Al}] < 100 \mu\text{g/l}$.
2. if $[\text{Al}] < 16 \mu\text{g/l}$.

Note: The choice of the methods depends on the concentration level. The methods recommended in all cases use dyes to complex Al and to enhance the Al voltammetric signal. The second one correspond to the official method of HMSO (option 2). (Enter a number)

=? 1

You should use Direct Current Adsorptive Stripping Voltammetry (DCAdSV), using a Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

The application of the method requires the presence on the cell of $1 \cdot 10^{-6}$ mol/l of Eriochrome Violet B and a 0.2 mol/l buffer medium of acetate at pH = 4.5.

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$, $E_{aux} = \text{Pt}$ or glassy carbon, $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{ao} = -0.45 \text{ V}$ (vs. Ag/AgCl), $t_{ac} = 2 \text{ min}$, $t_r = 15 \text{ s}$.

scan mode DC or DP, $v(\text{scan rate}) = 50 \text{ mV/s}$.

$E_i = -0.45 \text{ V}$, $E_f = -1 \text{ V}$. (both vs. Ag/AgCl)

Note: The procedure to prepare the cell, with the problem solution or standards, must be the following: A suitable volum of solution containing the problem or standards, the 0.2 mol/l acetate buffer and $1 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ of SVRS is heating for 10 min. at 90°C in a block heater. After heating the solution is allowed to cool at room temperature for 15 min. Then it is transferred to the electrochemical cell and degassed with nitrogen.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach aluminium of kb.

Do you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

=? 1

If you observe a peak at $E_p = -0.61$ V, the peak will be due to the presence of Al(III).

b) by using differential pulse adsorptive stripping voltammetry onto the hanging mercury electrode.

Which is the concentration range of Al in the sample?

1. if $5 \mu\text{g/l} < [\text{Al}] < 100 \mu\text{g/l}$.
2. if $[\text{Al}] < 16 \mu\text{g/l}$.

Note: The choice of the methods depends on the concentration level. The methods recommended in all cases use dyes to complex Al and to enhance the Al voltammetric signal. The second one correspond to the official method of HMSO (option 2). (Enter a number)

=? 2

You should use Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry (DPAdSV), using a Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

The application of the method requires a neutral pH allowed with the 0.01 mol/l buffer obtained with BES (M-M'-bis-(2-hydroxyethyl)-2-amino-ethane sulphonic acid) in NaOH, and the dye Alizarine Red S (1,2-dihydroxyanthraquinone-3-sulphonic acid, DASA).

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$, $E_{\text{aux}} = \text{Pt or glassy carbon}$, $E_w = \text{HMDE}$.
 $E_{\text{sc}} = -0.9$ V, $t_{\text{sc}} = 1$ min, $t_r = 10$ s.

scan mode DP, pulse = 25 mV, $t_p = 100$ ms, $v_{(\text{scan rate})} = 20$ mV/s.
 $E_i = -0.9$ V, $E_f = -1.3$ V.

Note: Only Zn interfere on the Al determination by this method as it may be present at enhanced levels because of sample contamination. Interfering levels (> 50 mmol/l) of Zn(II) can be masked by adsorbing at -1 V and initiating the scan from -0.9 V, or by addition of 10^{-4} mol/l of EDTA (ref 2, of AL).

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach aluminium of kb.

Do you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

=? 1

If you observe a peak at $E_p = -1.1$ V, the peak will be due to the presence of Al(III).

Ejemplo 11, determinación de titanio.

a) by using adsorptive stripping voltammetry, onto the hanging mercury drop electrode.

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Ti | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

=? 12

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
2. no

=? 1

Which is the concentration range of Ti in the sample?

1. if $1 \mu\text{g/l} < [\text{Ti}] < 20 \mu\text{g/l}$.
2. if $[\text{Ti}] < 1 \mu\text{g/l}$.

Note: The choice of the methods depends on the concentration level. The two methods recommended use the AdSV technique after a process of complex formation, in the first choice with Eriochrome Violet B (ref. 1 Ti) and the second with mandelic acid (ref.2 Ti). Note that the concentrations levels in the two options are very low and, as a consequence, in each particular case, the detection limit should be obtained from the blank under the particular working conditions. The values recommended by the expert system are only a guide (and correspond to values given the references).

(Enter a number)

=? 1

You should use Adsorptive Stripping Voltammetry (AdSV), using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

The application of the method requires as optimal conditions a 5.1 buffer solution of acetic/acetate and a $1.5 \cdot 10^{-6}$ M concentration of Eriochrome Violet B, as complexing agent. The chelate formation is allowed during the time that the solution is deaerated.

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode (SCE). E_w = HMDE.

E_{aux} = Pt or glassy carbon.

E_{ac} = -0.42 V, τ_{ao} = 5 min, τ_r = 15 s.

scan mode DC or DP, v = 50 mV / s.

E_i = -0.42 V, E_f = -1.0 V.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach titanium of kb.

Set up the polarograph according to the conditions mentioned; connection with external program which plots the voltammogram, the voltammogram is:.....

Do you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

=? 1

If you observe a peak at $E_p = -0.54$ V, the peak will be due to the presence of Ti in the original solution.

b) by using adsorptive stripping voltammetry onto the hanging mercury drop electrode.

Which is the concentration range of Ti in the sample?

1. if $1 \mu\text{g/l} < [\text{Ti}] < 20 \mu\text{g/l}$.
2. if $[\text{Ti}] < 1 \mu\text{g/l}$.

Note: The choice of the methods depends on the concentration level. The two methods recommended use the AdSV technique after a process of complex formation, in the first choice with Eriochrome Violet B (ref. 1 Ti) and the second with mandelic acid (ref. 2 Ti). Note that the concentrations levels in the two options are very low and, as a consequence, in each particular case, the detection limit should be obtained from the blank under the particular working conditions. The values recommended by the expert system are only a guide (and correspond to values given the references). (Enter a number)

=? 2

You should use Adsorptive Stripping Voltammetry (AdSV), using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

The application of the method requires the presence on the cell of 45 mM potassium chlorate and 4 mM mandelic acid. The pH of the solution should be adjusted between 3 and 3.3 with ammonia.

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$, $E_{\text{aux}} = \text{Pt}$ or glassy carbon, $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{\text{ac}} = -0.1$ V, $t_{\text{ac}} = 3$ min, $t_r = 20$ s.

scan mode DP, pulse = 25 mV, scan rate = 20 mV / s.

$E_i = -0.75$ V, $E_f = -1.2$ V.

Note1: The procedure to obtain the voltammogram must be the next: After deaeration of the cell solution, the cell potential was set to the deposition potential of -0.1 V, during a deposition time of 3 min. Then the stirrer was switched off, a quiescence period of 5 s is allowed, then the potential is switched to -0.75 V for 15 s, whereafter the Mo(VI) is present at a background concentration of 110 nM in sea waters, and the catalytic effect of chlorate on the reduction of molybdenum is greater than on that of titanium. To avoid the molybdenum interference, after preconcentration on the electrode surface, the potential is switched to -0.75 V, that is more negative than the reduction peak of molybdenum.

Note2: The catalytic effect of chlorate on the reduction of Ti(IV) is used in this method to enhance the reusability of the AdSV of titanium. If the concentration levels of titanium on the sample are not as low as choice 2 recommended, you can use this same method without the addition of chlorate (ref 3. Ti).

Do you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
 2. no
- = ? 1

If you observe a peak at $E_p = -0.9$ V, the peak will be due to the presence of Ti(IV) in the original solution.

Ejemplo 12, determinación de cromo total.

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Tl | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |
- = ? 7

The methods recommended here are developed to analyse natural waters whether polluted or otherwise. These methods have been selected because of the relevance of their performance characteristics published in the literature.

Which chromium species do you want to determine?

1. Total Cr
2. Cr(VI) and/or Cr(III)

Note: If you are interested in determining Cr(III) is necessary to determine first the total chromium according to the methodology described in option 1.

(Enter a number)

= ? 1

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
 2. no
- = ? 1

What is the concentration range of Cr in the sample?

1. if $[Cr] < 2 \mu g/l$
2. if $[Cr] > 2 \mu g/l$

Note: The method indicated in option 2 is the same as the method in option 1. Due to the sensitivity of the method, concentration levels below $2 \mu l/l$ are recommended. It should be noted that the relatively inert Cr(III) species and the more toxic reactive Cr(VI) species are present in natural waters at various concentrations ranging from $0.1-0.5 \mu g/l$ in ocean waters up to $200 \mu g/l$ in polluted ground waters.

(Enter a number)

= ? 1

You should use Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry (DPAdSV) using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

Note: The stripping voltammetric scan produces a peak at -1.22 V, at the bottom of the hydrogen wave. The peak is due to the reduction of Cr(III) to Cr(II). The scan is preceded by the adsorptive accumulation of Cr(III) complexes of diethylenetriaminepentacetic acid (DTPA). The Cr(III) is produced **freshly** during the adsorption step due to the reduction of the dissolved Cr(VI) at the electrode surface during the deposition at -1.0 V. This Cr(III) subsequently forms a complex with DTPA, which is adsorbed onto the mercury drop.

The medium conditions are:

The application of the methods recommended requires that all the chromium should always be in the form of Cr(VI) at the moment of the accumulation step. The Cr(III) is converted into Cr(VI) by UV-irradiation of the sample for 3 or 4 hours, if possible, in the presence of a small amount of H₂O₂ at neutral pH (pH = 7 - 8.5, as for instance the natural pH of the sea waters). The conditions of the cell-medium are: 0.5 mol/l of KNO₃, 0.02 mol/l of acetate buffer (pH = 5.2) and 2.5 E-3 M of DTPA (diethylenetriaminepentacetic acid).

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode. E_w = HMDE.
 E_{aux} = Pt or glassy carbon, E_{ads} = -1.0 V vs. Ag/AgCl
 t_{ads} = 60 - 120 S, t_r = 10 S
 scan mode DP
 pulse = 25 mV (in general, between 10 and 100 mV), v = 20 mV/s.
 t(pulse) = 100 ms (in general, between 30 and 100 ms).
 E_i = -1.0 V, E_f = -1.4 V. (both vs. Ag/AgCl)

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach chromium of kb.

Do you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
 2. no
- = ? 1

If the potential value is: E_p = -1.22 V vs. Ag/AgCl, the peak will be due to the total Cr(VI) in the solution after the oxidation step by chemical means.

Could you measure the peak height precisely?

1. yes
 2. no
- = ? 1

The quantitative procedure is based on the multiple standard addition method and the standard solution used is a Cr(VI) solution.

Parameters of the calibration curve:

slope = (value according to input experimental data)
 intercept (at y = 0) = (value according to input experimental data)

The concentration of the cation Cr <1.00> given in mol/l, is the absolute value of (value according to experimental data)

Ejemplo 13, determinación de cromo (VI).

a) by using differential pulse adsorptive stripping voltammetry onto the hanging mercury drop electrode.

What chromium species do you want to determine?

1. Total Cr
2. Cr(VI) and/or Cr(III)

Note: If you are interested in determining Cr(III) is necessary to determine first the total chromium according to the methodology described in option 1.

(Enter a number)

=? 2

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
2. no

=? 1

What is the concentration range of Cr(VI) in the sample?

1. if $[\text{Cr(VI)}] < 2 \mu\text{g/l}$
2. if $35 \mu\text{g/l} < [\text{Cr(VI)}] < 2 \text{ mg/l}$
3. if $2 \mu\text{g/l} < [\text{Cr(VI)}] < 35 \mu\text{g/l}$
4. if $2 \text{ mg/l} < [\text{Cr(VI)}]$

(Enter a number)

=? 1

You should use Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry (DPAdSV) using a Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

Note: The stripping voltammetric scan produces a peak at -1.22 V , at the bottom of the hydrogen wave. The peak is due to the reduction of Cr(III) to Cr(II). The scan is preceded by the adsorptive accumulation of Cr(III) complexes of diethylenetriaminepentacetic acid (DTPA). The Cr(III) is produced freshly during the adsorption step due to the reduction of the dissolved Cr(VI) at the electrode surface during the deposition at -1.0 V . This Cr(III) subsequently forms a complex with DTPA, which is adsorbed onto the mercury drop.

The medium conditions are:

The determination of Cr(VI) in natural waters, in presence of Cr(III), requires that you do not apply any sample treatment (neither UV-irradiation nor H_2O_2 -oxidation) which could involve the oxidation of Cr(III) to Cr(VI). Furthermore, you must wait for at least 15 minutes after the addition of diethylenetriaminepentacetic acid (DTPA), before the accumulation step.

The conditions of the cell-medium are: 2.5 E-3 M of DTPA, 0.02 mol/l of acetate buffer and NH_3 up to $\text{pH} = 6.8$. After 15 minutes of purging with a N_2 stream, so as to eliminate the interference of Cr(III), the pH must be adjusted to 5.2 by addition of HCl.

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode. E_w = HMDE.

E_{aux} = Pt or glassy carbon, E_{ads} = -1.0 V vs. Ag/AgCl

t_{ads} = 60 - 120 S, t_r = 10 S

scan mode DP

pulse = 25 mV (in general, between 10 and 100 mV), v = 20 mV/s.

$t(pulse)$ = 100 ms (in general, between 30 and 100 ms).

E_i = -1.0 V, E_f = -1.4 V. (both vs. Ag/AgCl)

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach chromium of kb.

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes

2. no

= ? 1

If the potential value is: E_p = -1.22 V vs. Ag/AgCl, the peak will be due to the presence of Cr(VI) in the original solution.

b) by using differential pulse polarography onto the dropping mercury electrode or the static mercury drop electrode.

What is the concentration range of Cr(VI) in the sample?

1. if $[Cr(VI)] < 2 \mu g/l$

2. if $35 \mu g/l < [Cr(VI)] < 2 mg/l$

3. if $2 \mu g/l < [Cr(VI)] < 35 \mu g/l$

4. if $2 mg/l < [Cr(VI)]$

(Enter a number)

= ? 2

You should use Differential Pulse Polarography (DPP), using the Dropping Mercury Electrode (DME) or the Static Mercury Drop Electrode (SMDE).

Note: The differential pulse polarographic scan of a sample containing Cr(VI) produces a peak at -0.05 V (vs. SCE) in an acetate buffer medium containing ethylenediamine. The determination must be carried out without UV-irradiation treatment. Cr(III) does not interfere.

The medium conditions are:

The application of the method to water samples only requires the filtration of the sample. The conditions of the cell-medium must be: 0.1 M of acetate buffer and 5.0×10^{-3} M of ethylenediamine.

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode (SCE). E_w = DME or SMDE.

E_{aux} = R or glassy carbon,

scan mode DP

pulse = 25 mV (in general, between 10 and 100 mV), v = 20 mV/s.

$t(pulse)$ = 50 ms (in general, between 30 and 100 ms). $t(drop)$ = 0.5 - 1 s.

E_i = 0.1 V, E_f = -0.3 V. (both vs. SCE)

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
 2. no
- =? 1

If $E_p = -0.05$ V vs. SCE, the peak will be due to the presence of Cr(VI) in the original solution.

From the shape of the peaks, does it appear that these peaks are generated by only one chemical species?

1. yes
 2. no
- =? 1

Can you measure the peak height precisely?

1. yes
 2. no
- =? 1

Connection with external program COOK'S2

The concentration of total chromium is ... (value according to input experimental data)

The concentration of Cr(VI) is (value according to input experimental data)

Ejemplo 14, determinación de arsénico (III).

a) by using cathodic stripping voltammetry onto the hanging mercury drop electrode.

Which of the following cations are to be determined?

- | | |
|----------------|------------|
| 1. Cu Zn Cd Pb | 8. As |
| 2. Ni Co | 9. Fe |
| 3. Tl | 10. Mn |
| 4. Se | 11. Al |
| 5. Hg | 12. Ti |
| 6. V | 13. others |
| 7. Cr | |

=? 8

What As species do you want to determine?

1. As (III)
2. Total arsenic
3. Both As(III) and As (V) individually

(Enter a number)

=? 1

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
 2. no
- =? 1

What is the concentration range of As(III) in the sample?

1. if $[\text{As(III)}] > 2 \text{ ppb}$
2. if $0.2 \text{ ppb} < [\text{As(III)}] < 20 \text{ ppb}$

Note: In order to apply the method described under option 1 for the analysis of samples such as foods, several factors have to be considered. According to Holak (Anal.Chem. 52 (1980) 2189) digestion of the sample in a closed system ensures that no arsenic is lost through evaporation. Heating with magnesium nitrate ensures the destruction of all traces of organic matter. Reduction with sodium bromide in the presence of hydrazine sulphate is effective and does not introduce interfering ions into the solution.

Interference due to copper and other cations is easily eliminated by removing them from solution by extraction with dithizone in carbon tetrachloride.

According to Henze (Mikrochim. Acta II, (1981) 343), reduction of As(V) (which is the usual state in natural samples) to As(III) is readily achieved using sodium sulphite.

(Enter a number)

= 7 1

You should use Cathodic Stripping Voltammetry (CSV), using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are: 0.72 M H_2SO_4 containing 50 ppm of Se(IV).

The instrumental parameters are:

$E_r = \text{Ag/AgCl}$ or standard calomel electrode. $E_w = \text{HMDE}$.

$E_{aux} = \text{Pt}$ or glassy carbon.

$E_{pe} = -0.5 \text{ V}$ during $t_p = 1.5 \text{ min}$.

Potential scan from $E_r = -0.6 \text{ V}$ to $E_f = -1. \text{ V}$ at $v = 50 \text{ mV/s}$.

$E_r = -0.6 \text{ V}$ during $t_r = 15 \text{ s}$. (see note)

(Note: After preelectrolysis at $E_{pe} = -0.5 \text{ V}$, the potential is switched to -0.6 V (during the rest period), and afterwards, the negative scan is started).

Interferences: Cu(II) at tenfold excess respect to As(III) can interfere. Therefore, a previous extraction with dithizone is recommended. If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Arsenium of kb.

Set up the polarograph according to the conditions mentioned; connection is established with external program which plots the voltammogram. The voltammogram is:

..... (the voltammogram corresponding to the experimental conditions is shown here)

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

= ? 1

If you observe a peak at $E_p = -0.75 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl , the peak will be due to the presence of As(III).

b) by differential pulse cathodic stripping voltammetry (DPCSV) onto the hanging mercury drop electrode (HMDE).

What As species do you want to determine?

1. As (III)
2. Total arsenic
3. Both As(III) and As (V) individually

(Enter a number)

= ? 1

Do you know the approximate metal-ion concentration?

1. yes
 2. no
- = ? 1

Which is the concentration range of As in the sample?

1. if $[\text{As(III)}] > 2$ ppb
2. if $0.2 \text{ ppb} < [\text{As(III)}] < 20$ ppb

(Enter a number)

= ? 2

You should use Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetry (DPCSV), using the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are: 1 M HCl containing 2.0×10^{-3} M CuCl_2 .

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode. E_w = HMDE.

E_{aux} = Pt or glassy carbon,

E_{pe} = -0.55 V vs. Ag/AgCl during t_p = 1 - 2 min. t_r = 10 - 20 s.

E_f = -1. V, pulse = 50 mV, v = 10 mV/s.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Arsenium of kb.

Set up the polarograph according to the conditions mentioned; connection is established with external program which plots the voltammogram. The voltammogram is:

..... (the voltammogram corresponding to the experimental conditions is shown here)

Do you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
 2. no
- = ? 1

If you observe a peak at $E_p = -0.78$ V vs. Ag/AgCl, the peak will be due to the presence of As(III).

Ejemplo 15, determinación de arsénico total.

a) by using differential pulse cathodic stripping voltammetry (DPCSV) onto the hanging mercury drop electrode (HMDE).

What As species do you want to determine?

1. As (III)
2. Total arsenic
3. Both As(III) and As (V) individually

(Enter a number)

= ? 2

For the determination of both As(V) and total As in natural waters, two methods are recommended, the main difference being the type of electrode used. For users without experience in solid electrodes, the method described in option 1 is recommended. Both methods have similar performance characteristics.

Which method have you selected?

1. DPCSV onto an HMDE
2. DPASV onto an Au electrode.

(Enter a number)

= ? 1

Electroinactive As(V) must be reduced first to As (III); for this purpose, an aliquot of 10 ml of sample is transferred to a 50 ml beaker containing 1.46 g of sodium chloride and 0.25 g of hydrazinium chloride. **Arsenic(V)** is reduced to As(III) by adding 3.15 ml of concentrated hydrochloric acid and 1 ml of 48% hydrobromic acid, covering the beaker with a watch glass, and heating the mixture for 45 min on a steam bath set at **95-100°C**. The solution is allowed to cool to room temperature and the contents are transferred quantitatively to a 50 ml volumetric flask and diluted to volume with a 0.25 % (w/v) hydrazinium chloride solution.

You should use Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetry (DPCSV) onto the Hanging Mercury Drop Electrode (HMDE).

The medium conditions are:

A 10 ml aliquot of the sample is transferred to the cell and acidified to 0.75 M with HCl. The sample is then spiked with 50 μ l of stock Cu(II) solution (1000 ppm).

The instrumental parameters are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode. E_w = HMDE.

E_{aux} = Pt or glassy carbon,

E_{pe} = -0.6 V, t_{pe} = 2 min, t_r = 30 s.

E_f = -0.9 V, pulse = 75 mV, v = 10 mV/s.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Arsenium of kb.

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes

2. no

= ? 1

If you observe a peak at E_p = -0.72 V vs. Ag/AgCl, the peak will be due to the presence of As(III).

b) by using differential pulse anodic stripping voltammetry onto the rotating gold electrode.

What As species do you want to determine?

1. As (III)

2. Total arsenic

3. Both As(III) and As (V) individually

(Enter a number)

= ? 2

Which method have you selected?

1. DPCSV onto an HMDE.

2. DPASV onto an Au electrode.

(Enter a number)

= ? 2

Electroinactive As(V) must be reduced first to As(III); for this purpose, an aliquot of the sample is transferred to the cell which is then closed off with a Teflon stoppered having inlet and outlet holes for nitrogen. The solution is heated in a water bath to about 80°C. Sulphur dioxide is passed through the solution for 2 min leaving the cell closed off for 5 min. After this period, SO₂ is again bubbled through the solution for about 30 s to ensure complete saturation of the solution with SO₂. After 5 min N₂ is passed through the solution for 10 min. The sample is then cooled somewhat and 1 ml of conc H₂SO₄ is added. The solution is heated to 95°C and N₂ is bubbled through for 15 min and the solution is cooled to room temperature and ascorbic acid and, if necessary, HCl is added for the As(III) determination. Evaporation losses are made up with H₂O. The final volume of the solution was 20 ml. The determination of As(III) is then carried out as follows.

You should use Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry (DPASV), using the rotating gold Electrode.

Preparation of the gold Electrode:

The gold electrode which is stored in air when not used, should be cleaned once a day prior to a set of determinations by polishing it lightly with 0.25 μm Al₂O₃ and immersing it in chromic-sulphuric acid for 10 min. After rinsing the electrode with H₂O the conditioning is carried out in a 1 M H₂SO₄ solution (deaerated with N₂) by applying a potential of 2.5 V vs. SCE for 20 s, followed by a potential of 0 V for 7 s. The electrode is rotated and N₂ is passed through the solution during this step. When not in use the cell with sulphuric acid solution should simply be left stoppered. Contamination of the 1 M H₂SO₄ solution with chloride ions should be kept to a minimum. Therefore, the electrodes should be rinsed thoroughly with H₂O after they have been used in solutions with high chloride contents (e.g. sea water). After conditioning, the cell with the H₂SO₄ solution is exchanged for the one containing the sample solution without rinsing the electrodes.

The medium conditions are:

An aliquot of the sample solution is transferred to the cell which is then closed off with a Teflon stopper with inlet and outlet holes for nitrogen. After deaerating the solution with N₂ for 10 min about 20 mg of ascorbic acid, 1 ml of conc. H₂SO₄ and 0.1 ml of conc. HCl are added. If the sample already has a high chloride content (e.g. sea waters) addition of HCl can be omitted. The final volume was 20 ml. The solution is cooled to room temperature under N₂ purging. After the gold electrode has been conditioned as described above, the sample cell is

The optimal instrumental conditions are:

E_r = Ag/AgCl or standard calomel electrode (SCE). E_w = rotating Au.

E_{aux} = Pt or glassy carbon.

pulse = 50 mV (in general, between 10 and 100 mV.)

v = 10 mV/s, t_{pulse} = 30 - 100 ms.

E_{pe} = -0.25 V, E_f = +0.1 V. t_{pe} = 2 - 4 min, t_r = 30 s.

rotating speed = 3000 rpm. put into place for the determination.

If you are interested in examining bibliographical references, enter: display attach Arsenium of kb.

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes

2. no

=? 1

If you observe a peak at E_p = -0.05 V vs. Ag/AgCl, the peak will be due to the presence of As(III). The peak will correspond to the total arsenic in solution due to the previous reduction of As(V) to As(III).

Ejemplo 16, determinación de arsénico (III) y arsénico (V).

a) by using differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) onto the rotating gold electrode.

What As species do you want to determine?

1. As (III)
 2. Total arsenic
 3. Both As(III) and As (V) individually
- (Enter a number)
= ? 3

For the determination of As(V) and/or total As in natural waters, two methods are recommended, the main difference being in the type of electrode used. For users without experience in solid electrodes, the method described in option 1 is recommended. Both methods have similar performance characteristics.

Which method have you selected?

1. DPASV onto an HMDE.
 2. DPASV onto an Au electrode.
- (Enter a number)
= ? 2

The concentration of As(V) is determined by calculating the difference between the total Arsenic and the As(III) concentrations; you should begin with the determination of As(III); for this purpose. The conditions are as described in Figure 7 but avoiding the previous reduction of As(V) to As(III).

In order to carry out the quantification, the calibration curve should be obtained. The quantitative procedure is based on the multiple standard addition method, and the response signal considered is the peak height in the voltammogram. The most appropriate concentration range for the calibration plot is:

- lowest value: 50% lower than the minimum value found in references and
- highest value: 150% higher than the maximum value found in references.

After the calibration curve has been plotted, it can be validate by several statistical tests; for this purpose, the system calls the external program COOK'S2.

Parameters of the calibration curve:

- slope = ... (value according to experimental data)
intercept (at $y \approx 0$) = (value according to experimental data)

The concentration of the cation As(III) < 1.00 > given in mol/l, is the absolute value of (value according to experimental data).

The conditions are as described in full procedure.

The concentration of total As is: (value according to experimental data)

The concentration of As(V) is (Difference between total As and As(III)): (value according to experimental data)

b) by using differential pulse cathodic stripping voltammetry onto the hanging mercury drop electrode.

What As species do you want to determine?

1. As (III)
2. Total arsenic
3. Both As(III) and As (V) individually

(Enter a number) = ? 3

Which method have you selected?

1. DPCSV onto an HMDE
2. DPASV onto an Au electrode.

(Enter a number) = ? 1

The concentration of As(V) is determined by calculating the difference between the total Arsenic and the As(III) concentrations; you should begin with the determination of As(III); for this purpose. The conditions are as described in Figure 7 but avoiding the previous reduction of As(V) to As(III).

Set up the polarograph according to the conditions mentioned; Connection is established with external program which plots the voltammogram. The voltammogram is:

Did you observe different peaks in the voltammograms?

1. yes
2. no

= ? 1

If you observe a peak at $E_p = -0.72 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, the peak will be due to the presence of As(III).

From the shape of the peaks, does it appear that these peaks are generated by only one chemical species?

1. yes
2. no

= ? 1

Can you measure the peak height precisely?

1. yes
2. no

= ? 1

In order to carry out the quantification, the calibration curve should be obtained. The quantitative procedure is based on the multiple standard addition method, and the response signal considered is the peak height in the voltammogram. The most appropriate concentration range for the calibration plot is:

- lowest value: 50% lower than the minimum value found in references and
- highest value: 150% higher than the maximum value found in references.

After the calibration curve has been plotted, it can be validate by means of several statistical tests; for this purpose, the system calls the external program COOK'S2.

Parameters of the calibration curve:

slope = (value according to experimental data)

intercept (at $y = 0$) = (value according to experimental data)

The concentration of the cation As $<1.00>$ given in mol/l, is the absolute value of (value according to experimental data)

Now, you should carry out the determination of total As in order to determine As(V) by finding the difference between the total Arsenic and the As(III) concentrations. The conditions are as described in full procedure including the previous reduction of As(V) to As(III).

4.5 BIBLIOGRAFÍA

- 1 *R.E. Dessy*; Anal. Chem.; 56 (1984) 1200A.
- 2 *J.W.A. Klaessens, G. Kateman and D.G. Vandeginste*; Trends Anal. Chem.; 4 (1.985) 14.
- 3 *B.A. Hohne and T.M Pierce*, en *B.A. Hohne and T.M Pierce* (Editors); "Expert System Applications in Chemistry (ACS Symposium Series, Vol 408), American Chemical Society, Washinton, DC, 1989, pp 2-9.
- 4 *M. Bos, E. Hoogendam and W.E. Van der Linden*; Anal. Chim. Acta; 211 (1988) 61.
- 5 *M. Palys, M. Bos and W.E. Van der Linden*; Anal. Chim. Acta; 231 (1990) 61.
- 6 *M. Palys, M. Bos and W.E. Van der Linden*; Anal. Chim. Acta; 248 (1991) 429. Anal. Chim. Acta; 283 (1993) 811.
- 7 *H. W. Nürnberg*; Sci. To. Environm., 37 (1984) 9; Pure Appl. Chem.; 54 (1982) 253; Anal. Chim. Acta; 164 (1984) 1.
- 8 *T.M. Florence*; Analyst; 111 (1986) 489.
- 9 *M. Wasberg and P. Sarkany*; Talanta; 34 (1987) 757.
- 10 Deutsche Norm; DIN 38 406, Teil 16, March 1988.
- 11 *L. Buydens, P. Schoenmakers, F. Maris and H. Hindriks*; Anal. Chim. Acta; 272 (1993) 41.
- 12 Knowledge Base Author 's Manual. KES PS. SOFTWARE ARCHITECTURE AND ENGINEERING, INC. 1600 Wilson Boulevard, Suite 500.
- 13 *F.X. Rius, J. Smeyers-Verbeke and D.L. Massart*; Trends Anal. Chem.; 1 (1989) 8.
- 14 *R.S.Sadana*; Anal. Chem.; 55 (1983) 304.
- 15 *G.E. Batley and T.M. Florence*; J.Electroanal. Chem.; 55 (1974) 23.
- 16 *J.R. Donat and K. W. Bruland*; Anal. Chem.; 60 (1988) 240.
- 17 *A. Brobrowski*; Anal. Chem.; 61 (1989) 2178.
- 18 *I.M. Koltoff, E.J. Meehan, E.B. Sandell and S.Bruckenstein*; "Análisis químico cuantitativo."; Ed. Nigar. Buenos Aires, 1979
- 19 *B. Pihlar, P. Valenta, H. Rützel and H. W. Nürnberg*; Sci. Tot. Environm.; 60 (1987) 1.
- 20 *C. Lcatelli, F.Fagioli and T. Garai*; Anal. Chem.; 60 (1991) 1409.
- 21 *J.E. Bonelli, H.E. Taylor and R.K. Skogerboe*; Anal. Chim. Acta; 118 (1980) 243.
- 22 *V. Gemmer-Colos, I. Kiehnast, J. Trenner and R. Neeb*; Fresenius Z. Anal. Chem.; 306 (1981) 144.
- 23 *L.Sipos, J. Golimowski, P. Valenta and H. W. Nürnberg*; Fresenius Z. Anal. Chem.; 298 (1979) 1.
- 24 *R. Ahmed, P. Valenta and H.W. Nürnberg*; Mikrochim. Acta I; (1981) 171.
- 25 *V.D. Nguyen, P. Valenta and H.W. Nürnberg*; Sci. Tot. Environm.; 12 (1979) 151.
- 26 *G. Henze, P. Monks, G. Tölg, F. Umland and E. Weissling*; Fresenius'Z. Anal. Chem.; 295 (1979) 1.

- 27 *H. Tajjun, Z. Zhengxing, D. Shanshi and Z. Yu*; *Talanta*; 39 (1992) 1277.
- 28 *D.D. Gilbert*; *Anal. Chem.*; 37 (1965) 1102.
- 29 *Ch. Chaumery*; *Ann. Fals. Exp. Chim.*; 78 (1985) 161.
- 30 The determination of Trace Metals in Marine and Other Waters by Voltammetry or AAS; HMSO, London, 1988.
- 31 *J. Wang, B. Tian y J. Lu*; *Talanta*; 39 (1992) 1273.
- 32 *W. Davison, J. Buffle and R. Devitre*; *Pure App. Chem.*; 60 (1988) 1535.
- 33 Metrohm, Application Bulletin nr 123.
- 34 *C.M.G. Van den Berg and Z. Qiang Huang*; *J. Electroanal. Chem.*; 177 (1984) 269.
- 35 *J. Wang and J. Mahmoud*; *Fresenius Z. Anal. Chem. Acta*; 173 (1987) 789.
- 36 *fi. J. O'Halloran and H. Blutstein*; *J. Electroanal. Chem.*; 125 (1981) 261.
- 37 *J. Wang, P.A.M. Farias and J.S. Mahmoud*; *Anal. Chim. Acta*; 173 (1985) 57.
- 38 *C.M.G. Van den Berg, K. Murphy and J.P. Riley*; *Anal. Chim. Acta*; 188 (1986) 177.
- 39 *H.H. Willard and J.A. Dean*; *Anal. Chem.*; 22 (1950) 1264.
- 40 *K.J. Oriaus, E.A. Boyle and K. W. Bruland*; *EOS*; 71 (1990) 90.
- 41 *K. Yokoi and C.M.G. Van den Berg*; *Anal. Chim. Acta*; 245 (1991) 167.
- 42 *J. Wang and J. Mahmoud*; *J. Electroanal. Chem.*; 208 (1986) 383.
- 43 *H. Li and C.M.G. Van den Berg*; *Anal. Chim. Acta*; 221 (1989) 269.
- 44 *K. W. Bruland en J.P. Riley and fi. Chester (eds)*; "Chemical Oceanography", 2^a ed. pp 157-220. Academic Press, London, 1983.
- 45 *E.E Carry en S. Langard (ED)*; "Biological and Environmental aspects of chromium"; Ch.3, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1982.
- 46 *M. Boussemant, C.M.G. Van den Berg and M. Ghaddaf*; *Anal. Chim. Acta*; 262 (1992) 103.
- 47 *J. Golimowski, P. Valenta and H. W. Nürnberg*; *Fresenius Z. Anal. Chem.*; 322 (1985).
- 48 *S.T. Crosman and T.R. Mueller*; *Anal. Chim. Acta*; 75 (1975) 199.
- 49 *W. Holak*; *Anal. Chem.*; 52 (1983) 304.
- 50 *G. Henze, A.P. Joshi and R. Neeb*; *Fresenius Z. Anal. Chem.*; 300 (1980) 267.
- 51 *R.S. Sadana*; *Anal. Chem.*; 55 (1983) 404.
- 52 *E.P. Parry and R.A. Osteryoung*; *Anal. Chem.*; 37 (1965) 1634.
- 53 *G.E. Batley and T.M. Florence*; *J. Electroanal. Chem.*; 55 (1974) 23.
- 54 *P. Jackson*; "Introduction to Expert System", Addison-Wesley, New York (1986).
- 55 *D.A. Waterman*; "A guide to Expert Systems", Addison-Wesley; Reading (1986).
- 56 *R. Pardo, E. Barrado, M.L. Tascón and M.D. Vazquez*; "Química Analítica", 1 (1989) 9.
- 57 *A. Frank and J.R. Settle*; *J. Chem. Educ.*; 4 (1987) 64.

**5. AUTOMATIZACIÓN DE UN SISTEMA ANALÍTICO.
SISTEMA DE INYECCIÓN EN FLUJO SINUSOIDAL.**

5.1 INTRODUCCIÓN

Desde los años 60, la automatización de los procesos analíticos es una tendencia en alza, ya que presenta toda una serie de ventajas por sí misma y también como paso previo a la introducción de inteligencia en los sistemas de análisis. Es precisamente en éste segundo aspecto en el que se ha centrado la presente investigación, esto es, en el desarrollo de un sistema analítico automatizado como paso previo a la introducción de cierta inteligencia en el mismo. Ante este objetivo, una de las primeras cuestiones que debemos plantearnos es: ¿Qué es la *automatización* y qué es lo que hace que un sistema sea *inteligente*? [1], preguntas cuya respuesta no está aceptada universalmente.

Tanto la "automatización" como el desarrollo de "sistemas inteligentes" se pueden considerar como dos etapas dentro del desarrollo tecnológico [2], desarrollo que lleva implícito el empleo del ordenador. Siendo la introducción de inteligencia una etapa posterior a la automatización, la dificultad estriba en distinguir donde empieza una y donde acaba la otra, entre otras cosas porque existen distintos niveles tanto de automatización como de sistemas inteligentes.

Una de las confusiones más habituales es considerar que un sistema está automatizado cuando "se sustituye la labor que realiza un humano por una *máquina*". Tal y como ha sido señalado, esto no es automatización sino '*mecanización*', ya que hablamos de automatización cuando existe algún tipo de control de la máquina o en nuestro caso, del aparato o instrumento [1].

Más concretamente, la *automatización* se refiere al uso de sistemas (instrumentos) en los que se incorpora un elemento de decisión no humano. Según la IUPAC [47] la **automatización** es "El uso combinado de dispositivos mecánicos e instrumentales para sustituir, mejorar, ampliar o suplementar el esfuerzo y la inteligencia humana en el desarrollo de un proceso, en el cual al menos una de las operaciones más importantes es controlada sin intervención humana mediante un sistema de realimentación" [3].

Cuando además de las características mencionadas, el sistema tiene la capacidad de reaccionar de forma adecuada en condiciones impredecibles o de llevar a

cabo por él mismo tareas que requieren la intervención de la inteligencia humana, se puede decir que son sistemas con un elevado grado de inteligencia o simplificando sistemas inteligentes [1,4]. Existen definiciones alternativas tanto para automatización como para los sistemas inteligentes [1,2,5-7], pudiéndose observar que muchas de las características de los sistemas inteligentes forman parte de los sistemas automatizados.

Situados dentro de un proceso analítico, la etapa de la medida en sí es a menudo la más **fácilmente** automatizable. Actualmente los métodos automáticos de análisis pueden considerarse divididos en dos grupos genéricos:

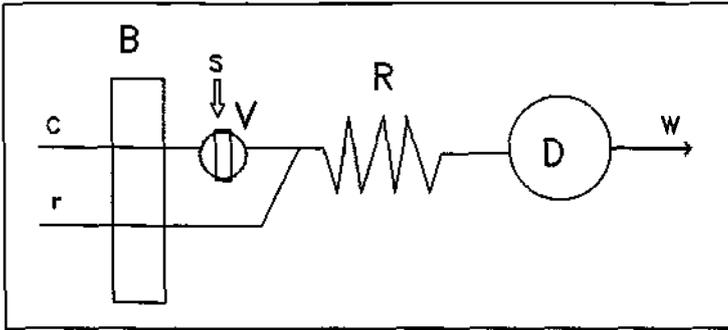
- a) los denominados *métodos de flujo*, en los que la muestra líquida o gaseosa se incorpora a un sistema cuya dinámica viene impuesta por el flujo de un líquido que puede estar segmentado [8] o no [9] por burbujas de aire.
- b) los denominados *métodos discontinuos* en los que cada muestra mantiene su identidad en un receptáculo adecuado. Su dinámica es fundamentalmente de tipo mecánico [3].

La tendencia a la automatización y miniaturización de la instrumentación en muchos procedimientos analíticos está favoreciendo el desarrollo de metodologías basadas en la utilización de flujos, ya que éstos sistemas simplifican la automatización [10].

Los sistemas de inyección **en flujo** no segmentado ("Flow Injection Analysis", FIA), aparecidos en los años 70, se basan en la inyección de la muestra en un sistema en flujo el cual conduce al analito a través de un reactor hasta el detector. Las ventajas que ofrecen los sistemas FIA respecto a los métodos convencionales son entre otras [2]:

- alta velocidad de muestreo.
- bajo consumo de muestra y reactivo por experimento.
- compatibilidad con el uso de ordenador, simplicidad, versatilidad y bajo coste.

En la siguiente figura se puede observar la configuración más sencilla de un sistema FIA.

Figura 1, configuración de un sistema FIA.

r: reactivo, c: disolución arrastre, B: bomba,
s: muestra, R: reactor, D: detector, w: desecho.

Dos son los procesos clave que caracterizan a los sistemas FIA; la dispersión física de la muestra dentro del reactivo y la reacción química entre el analito y el reactivo (cinética de la reacción química).

Existen numerosos trabajos que describen y discuten la aplicación de sistemas FIA; en el campo de la industria, medicina, medioambiente [12], biotecnología [13] y control de calidad en aguas [14]; estas aplicaciones se combinan con diversos métodos de detección tales como espectroscopia ultravioleta visible, espectroscopia de absorción atómica, espectroscopia de emisión de plasma acoplado por inducción, espectroscopia de emisión óptica, espectrometría de masas y espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier [9,15-18].

Más del 95% de los primeros métodos desarrollados de inyección en flujo se basan en el empleo de un flujo lineal continuo. En muchas aplicaciones, este tipo de operación simple se ha demostrado insuficiente y con algunas desventajas entre las que cabe destacar [10]:

1. alto consumo de reactivo/s, ya que éstos se bombean continuamente.
2. la necesidad, muchas veces, de aumentar el tiempo de reacción lo que implica el uso de tubos muy largos.
3. la cinética química queda oculta por el proceso físico de la dispersión.
4. la dificultad de generar un flujo que siga un modelo perfectamente lineal (por ejemplo libre de pulsos) y de mantenerlo durante largos períodos de tiempo [19].
5. la elevada complejidad de los sistemas (número de canales cada vez mayor, número de válvulas etc.).
6. consecuencia de la complejidad es la reconfiguración de los canales y la frecuente recalibración del sistema.

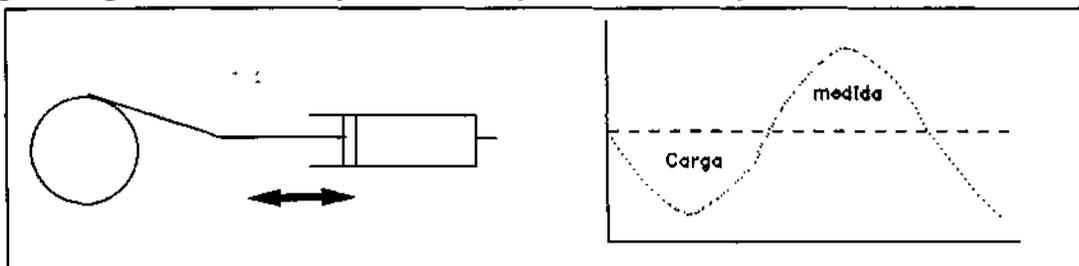
Con el fin de evitar las desventajas o inconvenientes citados, numerosos estudios se centraron en la programación de distintos modelos de flujo (flujo parado, inverso, etc.) pero siempre asumiendo la necesidad de trabajar con un flujo lineal. Posteriormente se estudió la adaptación de los modelos de flujo lineal a un tipo de flujo sinusoidal (SIA) [10,20], encontrando que tiene una amplia aplicación en control de procesos. Como siempre, el único requisito es encontrar que tanto la inyección como el modelo de flujo sea reproducible y de fácil mantenimiento.

Por otro lado, nos encontramos que a nivel de control de procesos, se hace cada vez más necesario el desarrollo de metodologías de inyección en flujo que sean "mecánicamente simples y robustas", características que como se ha indicado son más difíciles de conseguir con los sistemas FIA más frecuentemente utilizados, los cuales utilizan bombas peristálticas. Este ha sido un factor importante que ha impulsado el desarrollo de técnicas de inyección secuencial [11].

Las técnicas de *inyección secuencial* se basan en el empleo de un selector o válvula de varias posiciones de manera que el/los reactivo/s, la muestra y la disolución de arrastre, se aspiran e introducen secuencialmente en el camino que va al detector, obteniéndose de esta manera zonas de penetración bien definidas; mientras que las técnicas de inyección convencionales, se basan en la total mezcla del reactivo y la muestra mediante la inyección en el reactor (Figura 1).

La combinación de un modelo de flujo sinusoidal, con la técnica de inyección secuencial, se ha demostrado que ayuda a superar algunos de los inconvenientes hasta ahora citados [11]. Desde el punto de vista de la configuración física, la forma de generar un modelo de flujo sinusoidal es mucho más fácil que el de flujo lineal. Fueron Ruzicka y col. [10] los primeros en modificar una bomba peristáltica para transformarla en una de pistón que genera un flujo sinusoidal libre de pulsos. Un esquema de dicha configuración así como del modelo de flujo generado puede verse en la Figura 2.

Figura 2, generación de flujo sinusoidal por una bomba peristáltica modificada.



Como indica Ruzicka [10], su simple y robusta construcción presenta toda una serie de ventajas frente a las bombas habitualmente utilizadas para generar un flujo lineal (Tabla 1).

Tabla 1. Características de las bombas que generan un flujo Sinusoidal.

<u>ventajas</u>	<u>desventajas</u>
no necesita tubos de bomba no comprobar las válvulas componentes inertes libre de pulsos modelo de flujo reproducible construcción simple bajo coste tiempo de vida largo mantenimiento barato controlable por ordenador velocidad de flujo ajustable velocidad de flujo estable manejo sencillo	requiere un tiempo para rellenar los conductos y por lo tanto se reduce la frecuencia de muestreo. no es tan flexible como una bomba peristáltica.

Llegados a este punto cabría preguntarse porqué siendo el modelo de flujo sinusoidal, así de simple y de ventajoso frente al modelo lineal, no ha sido tan ampliamente desarrollado. La respuesta la encontramos no sólo en la práctica diaria, sino también en la teoría del FIA ya que ésta se basaba en la necesidad de seguir un flujo lineal y preferiblemente constante, para poder aplicar dicha técnica satisfactoriamente. La necesidad de asumir ésta propiedad se ha demostrado que no es imprescindible lo que está llevando recientemente al desarrollo de sistemas de inyección en flujo sinusoidal ("Sinusoidal Flow Injection Analysis", SIA) [20,21].

Un sistema SIA únicamente requiere una bomba de pistón, una jeringa, una única válvula y un único canal. Por todo lo anteriormente expuesto podemos concluir que los sistemas SIA son, en algunos casos, una buena alternativa frente a los sistemas FIA convencionales, en el control de procesos, por lo cual en el trabajo que se presenta, se ha optado por este tipo de sistema.

En general se puede decir que para que en los sistemas de flujo sea efectiva la posterior introducción de cierta inteligencia, deben reunir una serie de características importantes como son [7]:

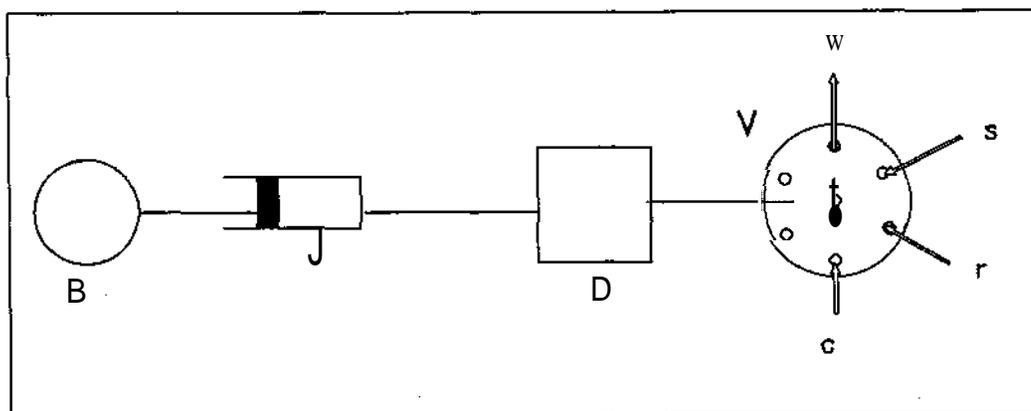
1. control de la bomba, válvula ... y en general de los aparatos e instrumentos automatizables, con la máxima flexibilidad.

2. incorporar distintos tipos de detectores.
3. que sea adaptable a un amplio margen de configuraciones.
4. que esté provisto de una interfase amigable con el usuario.
5. que se realicen tanto análisis de rutina como análisis específicos.

De entre las **características** generales señaladas, para la puesta a punto del sistema SIA se han elegido las siguientes:

1. control automático de la bomba y la válvula.
2. detector espectrofotométrico UV-VIS de diodos en serie.
3. trabajar con muestras líquidas y evitar el tener que realizar un pretratamiento previo de la muestra.
4. tipo de reacción simple, esto es, que implique un solo reactivo.
5. trabajar con la configuración física descrita en la Figura 3.

Figura 3, configuración del sistema SIA.



B: bomba, J: jeringa, D: detector, V: válvula, c: disolución arrastre, r: reactivo, s: muestra, w: desecho.

En una primera aplicación, se ha desarrollado el sistema automatizado de flujo sinusoidal (SIA) con inyección secuencial, para la determinación espectrofotométrica simultánea de Ca y Mg utilizando como reactivo analítico el Arsenazo III.

El Arsenazo III es un reactivo cromógeno que absorbe en la zona UV-VIS y forma complejos coloreados estables con varios cationes, entre estos están el Ca y el Mg cuyos complejos absorben a unas longitudes de onda comprendidas entre 450 y 650 nm.

Tanto el reactivo como los complejos formados con el Arsenazo por el Ca y el Mg, absorben en la misma zona, la detección mediante un espectrofotómetro de

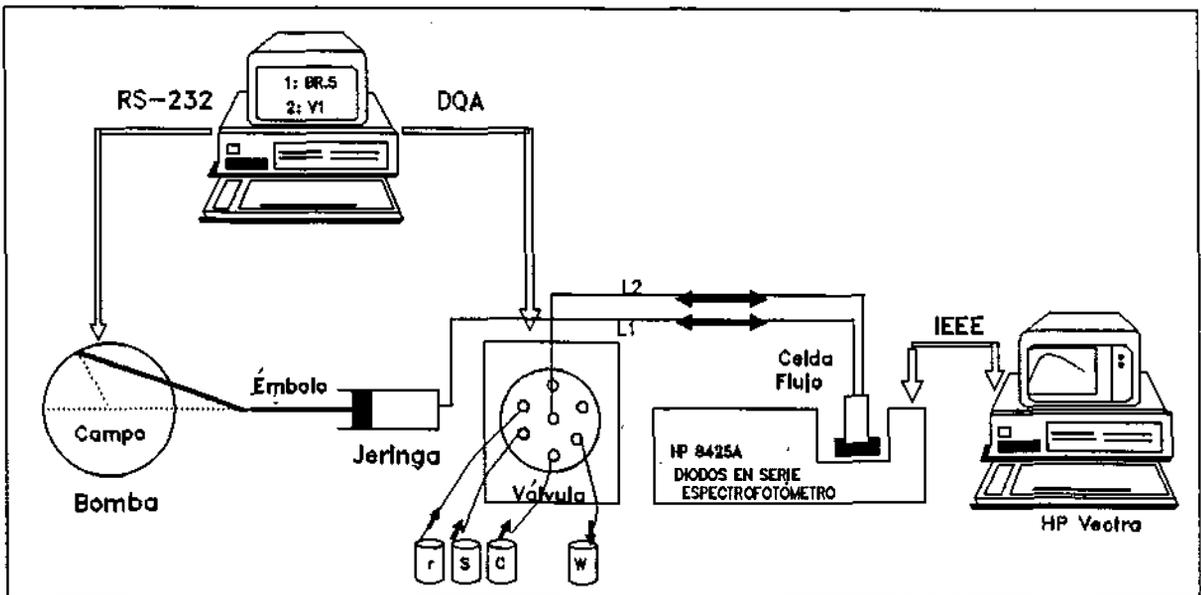
diodos en serie permite la determinación simultánea del Ca y el Mg sin separación previa de interferencias dado que el efecto de éstas forma parte del modelo de calibración multivariante PLS desarrollado.

La determinación de Ca y Mg se ha realizado en aguas de consumo ya que es un análisis de rutina en un laboratorio dedicado al control de las aguas y en este tipo de análisis es donde puede resultar interesante la incorporación de inteligencia. La exactitud de los resultados obtenidos por este método se han evaluado por comparación con los obtenidos mediante la método estándar de absorción atómica (AAS).

5.2 PARTE EXPERIMENTAL.

A continuación se describe el sistema analítico SIA desarrollado (Figura 4), así como todo el material necesario para su construcción y puesta a punto en la aplicación a la determinación simultánea de Ca y Mg en aguas de consumo. Aunque en este capítulo se ha diferenciado el proceso de automatización de la aplicación práctica a la determinación de Ca y Mg, en este subapartado se describe todo el material que es común en ambos casos. Lo que es propio de cada uno de ellos se describe respectivamente en cada subapartado.

Figura 4, sistema analítico SIA.



Aparatos e Instrumentos:

En un sistema secuencial de flujo sinusoidal, como elementos básicos son necesarios una bomba peristáltica de velocidad variable que, modificada convenientemente se une a una jeringa proporcionando el modelo de flujo sinusoidal a las soluciones que integran el sistema. La jeringa, a su vez, está unida a una válvula de varias vías para la aspiración secuencial de la disolución de arrastre, la muestra y el/los reactivo/s respectivamente (Figura 4). Los parámetros operacionales tanto de la bomba como de la válvula son variables y por lo tanto optimizables en función de la aplicación concreta que se realice.

La bomba peristáltica modificada ha sido una Gilson Minupuls 2; la jeringa es una Hamilton 1005 TLL de 5ml de volumen y un radio interno $r = 0.52$ cm y la válvula de seis vías utilizada es una EPS 1306 PBP.

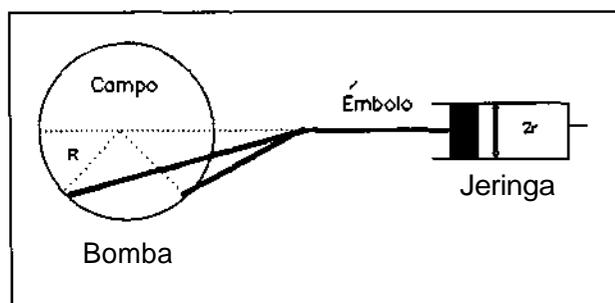
La modificación que se ha realizado en la bomba peristáltica con el fin de trasformarla en una de pistón que genere un flujo sinusoidal, ha consistido en la adaptación a la bomba de un campo circular y en la unión de éste a la jeringa mediante un émbolo, (Figura 5).

Como consecuencia de ésta modificación, cada ciclo de movimientos que implica una medida en SIA, está limitado por el recorrido del campo asociado a la bomba, esto es entre 0° y 180° .

Como se aprecia en la Figura 4, ha sido necesaria la unión de los distintos elementos del sistema (bomba - celda de flujo - válvula), unión que se ha realizado mediante tubos de conexión, estos normalmente son de teflón. En este caso se han utilizado tubos OMNIFIT PIFE; siendo los correspondientes a la celda de 1mm, y los del resto del sistema de 0.8 mm de diámetro interno.

Es necesario un detector que dependerá del tipo de medida que interese realizar, una cubeta de volumen variable en la que se realiza propiamente la medida, ésta al encontrarse en un sistema en flujo se denomina celda de flujo.

Figura 5, adaptación de la bomba que proporciona un flujo sinusoidal.



En la aplicación concreta desarrollada se ha utilizado un espectrofotómetro de diodos en serie Hewlet-Packard 8452A que está provisto de un HP Vectra 286/12 PC y de una impresora HP Desk Jet 500, así mismo se ha utilizado el soporte lógico de operación del UV/VIS HP 8452A Diode Array, para la detección y almacenamiento de los datos. La celda de flujo es una Hellma 178.711-QS de 30 μ l de volumen interno y 10 mm de longitud del camino óptico.

Soperte físico:

Para el control automático tanto de la válvula como de la bomba, como soporte físico se necesita un ordenador y un cable de unión de éstos elementos con el ordenador así como instalar una tarjeta de conversión analógico digital (A/D) para convertir la señal digital que proviene del ordenador en una señal analógica que es la que recibe e interpreta la válvula. Así mismo, para el control del espectrofotómetro se ha utilizado un HP Vectra 286/12 PC.

Soporte lógico:

Uno de los programas de ordenador utilizados ha sido el "HP 89532A UV-Vis Operating Software for the HP 8452A Diode Array Spectrophotometer", este software instalado en un ordenador ha sido proporcionado por la casa comercial del instrumento para llevar a cabo el control del espectrofotómetro UV-Visible permitiendo la modificación de los parámetros de la medida en sí como pueden ser el intervalo de longitudes de onda en el que se va a trabajar, los tiempo, etc; proporciona un fichero de datos correspondiente a los valores de absorbancia a las distintas longitudes de onda en código ASCII.

Para el control simultáneo de la bomba y la válvula se ha desarrollado en nuestro laboratorio un programa de ordenador denominado TMI2007, que entre otras operaciones permite modificar la posición de las vías en la válvula, la velocidad de la bomba, dirección etc, parámetros que dependen de la aplicación en concreto y que se especifica extensamente en el siguiente apartado del desarrollo del sistema automatizado.

En el tratamiento de los datos obtenidos se han utilizado los siguientes programas: STATGRAPHICS (23) en el pretratamiento, UNSCRAMBLER (22) para el establecimiento del modelo de calibración multivariante (PLS) y ULC (24) para la validación estadística del método.

5.3 RESULTADOS.

5.3.1 AUTOMATIZACIÓN DEL SISTEMA SIA.

"El análisis de una muestra implica una serie de etapas, la automatización de las cuales puede ser relativamente simple o muy complicada en función del objetivo que se quiera alcanzar y de las dificultades que implique dicho análisis" [2].

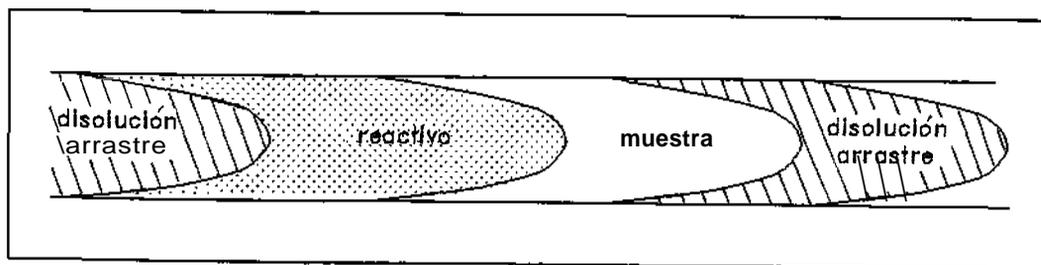
En el sistema SIA desarrollado son varias las etapas que se pretenden automatizar, como son la medida en sí, el almacenamiento de los datos así como su posterior tratamiento, etc. En una primera etapa se ha desarrollado la automatización de la inyección y transporte de la muestra y el reactivo hasta el detector, para lo cual es necesario un control automático de la bomba y la válvula, por lo que en este apartado se describen los pasos a seguir para la automatización de ambos elementos del sistema SIA.

Estos dos aparatos interesa controlarlos ya que la obtención de un modelo de flujo sinusoidal con inyección secuencial implica una combinación de los movimientos de ambos. Por ello, y como paso previo a su automatización se ha considerado necesario un estudio de algunas características de los sistemas SIA.

Un sistema SIA es como se ha dicho de sencilla construcción ya que requiere el uso de: 1) una bomba de pistón o peristáltica modificada, 2) una jeringa, 3) un detector 4) una **válvula** y 5) los conductos de unión de los distintos elementos de sistema. La configuración del sistema puede ser muy variada, en nuestro caso vamos a trabajar con la disposición de los elementos descrita en la Figura 3 de la introducción a este capítulo (página 122).

En general, en un sistema SIA, mediante el uso de una válvula de varias posiciones la disolución de arrastre, el/los reactivo/s y la muestra se inyectan secuencialmente en el canal que va al detector. Como puede verse en la Figura 6, en este canal se distingue una zona de penetración bien definida entre la muestra y el reactivo, debida a la combinación de la dispersión axial y radial. Esta sección de mutua interdispersión, se introduce en la celda de flujo del detector, donde se realiza la medida manteniendo el flujo parado.

Figura 6, zonas de penetración a lo largo del reactor.



Los beneficios de la técnica de flujo parado, es que se reduce considerablemente la dispersión física mientras que aumenta el tiempo de reacción, por lo que permite realizar estudios de la cinética [25], supone un ahorro de reactivo y la eliminación de las interferencias debido al ruido de fondo, entre otros [10, 26].

De todo lo expuesto, se puede decir que, el parámetro clave en un sistema SIA es la zona de solapamiento o de mutua interdispersión de la muestra y el reactivo, la identificación y el control de la cual es esencial para la ejecución satisfactoria de dicha técnica de inyección secuencial.

El control de la zona de solapamiento y, por lo tanto, de cada una de las operaciones que supone el uso de un modelo SIA, implica el control de la bomba y la válvula mediante el ordenador y es precisamente este aspecto el que a continuación vamos a desarrollar.

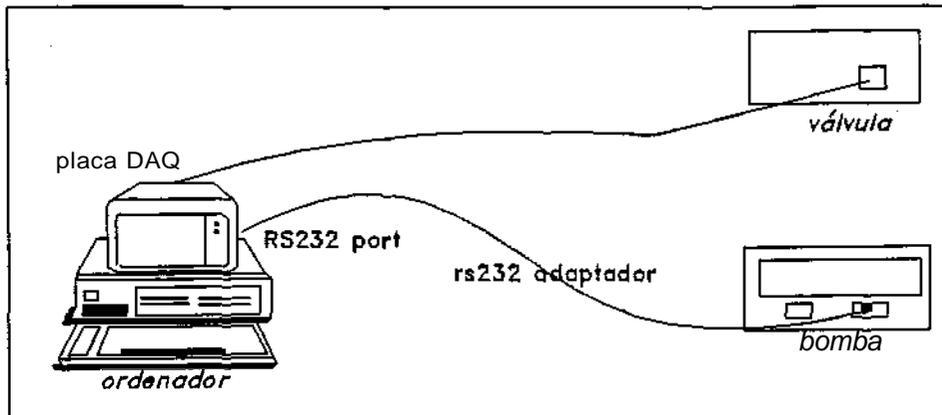
Control mediante ordenador. Requerimientos de comunicación.

En el caso que se está discutiendo, el control mediante ordenador (Figura 7), implica la posibilidad de mandar y/o recibir información, órdenes, datos, etc... de la bomba y la válvula.

En general, podemos decir que la comunicación entre dos elementos de un sistema, lleva implícitas las siguientes etapas.

1. conexión (física) aparato-ordenador.
2. desarrollo de programas de control que nos permitirán transmitir la información.
3. ejecución del programa (que es la comunicación propiamente dicha).

Figura 7, elementos a controlar por el ordenador.

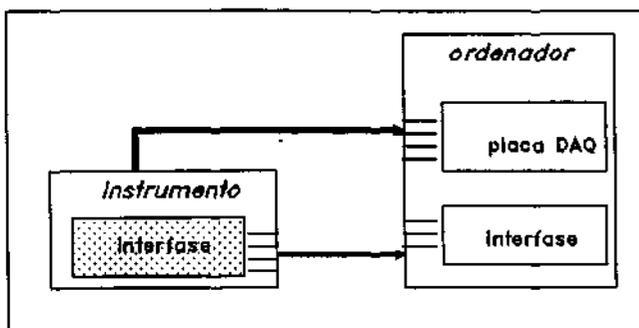


Los modos de conexión estándar instrumento-ordenador, que han sido ampliamente utilizados para el control de numerosos aparatos e instrumentos de laboratorio, están esquematizados en la Figura 8 y son [2,27,28]:

- * mediante una interfase en serie denominada RS-232.
- * mediante una interfase en paralelo denominada IEEE-488.
- * directamente, a través de una tarjeta o placa de adquisición de datos (DAQ).

Cuando la conexión se realiza mediante una interfase es necesario que tanto el ordenador como el instrumento o aparato, estén configurados para el mismo tipo de conexión, o lo que es lo mismo, que ambos dispongan del "puerto de comunicación" en serie RS-232 o en paralelo IEEE-488, según sea el caso. Así mismo el cable que une ambos elementos debe de estar igualmente configurado.

Figura 8, métodos de conexión instrumento-ordenador.



La elección del modo de conexión dependerá de las características de configuración del aparato que se desea controlar y de la aplicación concreta. Normalmente los instrumentos comerciales están configurados o provistos de las interfases de comunicación apropiadas para poder ser controlados externamente.

Estas interfases de comunicación son necesarias ya que para que la transferencia de información sea efectiva, tanto el trasmisor como el receptor deben utilizar el mismo lenguaje de comunicación y mientras que el PC recibe y emite señales de tipo digital, la mayoría de los instrumentos o aparatos dan una señal de tipo analógico.

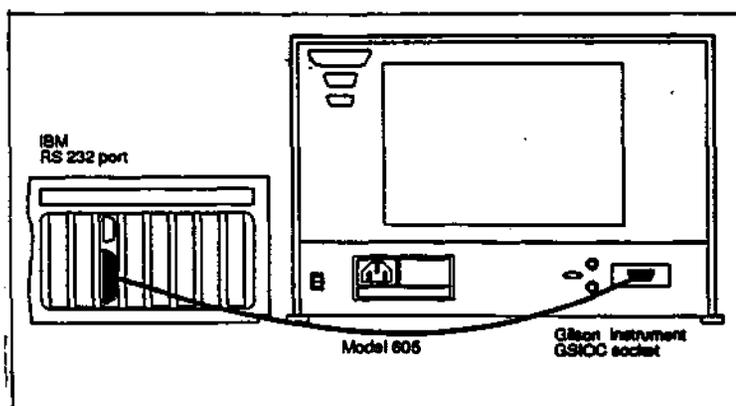
Por lo tanto, si interesa controlar un instrumento o un aparato a través de un ordenador, frecuentemente se ha de pasar por una etapa previa de conversión de la señal digital a analógica y viceversa. Los tres modos de conexión citados, permiten la conversión de la señal analógica y digital de forma que pueda ser interpretada por el ordenador. Normalmente los aparatos o instrumentos, disponen del soporte lógico necesario para poder desarrollar los programas de comunicación en lenguajes de programación habituales como son Basic, C etc., pudiendo de esta forma controlar los comandos propios del ordenador sin necesidad de un conocimiento profundo y exhaustivo de la arquitectura del ordenador.

Por lo que respecta al ordenador éste debe de reunir una serie de características mínimas como son [48]:

- deben ser del tipo: * PC/XT/AT o compatibles.
 deben disponer de: * disco duro y disco flexible.
 * mínimo 640 K de memoria.
 * sistema operativo MS DOS 3.2 o posteriores.
 * rendija o "slot" de expansión .
 * interfase de entrada/salida (I/O, input/output).

En nuestro sistema, la bomba utilizada (Gilson Minipuls) dispone de un canal de comunicación bidireccional en serie (GSIOC, Gilson Serial Input/Output Channel) que permite la comunicación con la entrada RS-232 del PC. Para la conexión de la bomba se ha utilizado un adaptador o cable de unión 605 RS232 proporcionado por la casa Gilson (Figura 9).

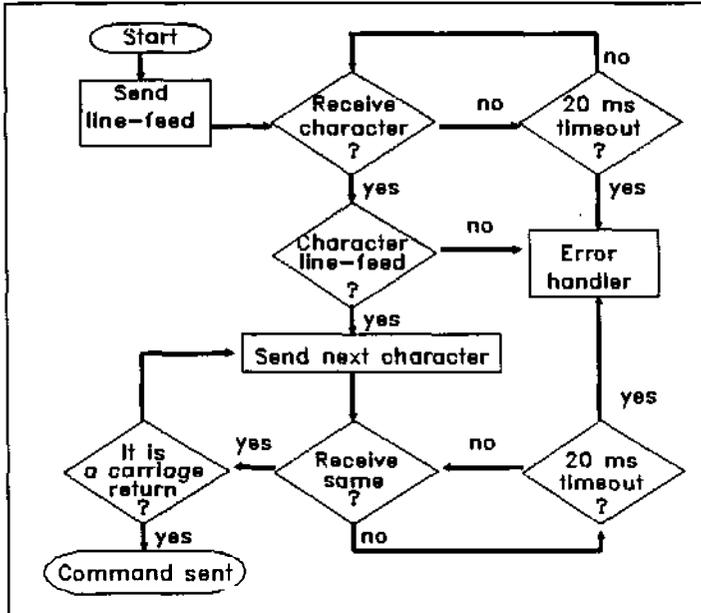
Figura 9, conexión de la bomba vía RS-232.



El adaptador está provisto de la interfase entre la salida RS232 del ordenador y el canal de entrada y salida GSIOC, de manera que la información necesaria va apareciendo con unas especificaciones de velocidad y formato predeterminados que son interpretables por el PC.

El significado de cada carácter enviado o recibido, así como el orden de envío y la respuesta a esperar del instrumento es lo que se denomina el *protocolo*. Este es característico de cada aparato y viene especificado en la información técnica suministrada por la casa comercial. El empleo del protocolo facilita el desarrollo de los programas de control con lenguajes de programación conocidos.

Figura 10, protocolo de comunicación de la bomba.



Los comandos del protocolo consiste en una combinación de códigos ASCII que se programan mediante caracteres hexadecimales. La secuencia de ejecución de dicho protocolo se especifica en la Figura 10. Se puede observar que la dinámica del protocolo consiste en enviar de forma sucesiva órdenes que son comprobadas antes de proceder a su ejecución, estas órdenes son del tipo:

- * reconocimiento de la bomba.
- * puesta en marcha de la bomba y dirección de la misma.
- * revoluciones.
- * tiempo de funcionamiento.
- * parada de la bomba.

El proceso de comunicación o control de la válvula EPS-130, se ha realizado mediante una tarjeta o placa de adquisición de datos (DAQ) ya que la válvula no dispone de la interfase de comunicación RS-232. Estas tarjetas no están incluidas en el PC sino que se han de incorporar posteriormente en las rendijas o "slots" libres de que disponga. Son tarjetas **comercializadas**, existen distintas marcas y un gran abanico de modelos y precios según las prestaciones.

Las tarjetas permiten la adquisición, para el posterior control y estudio de la señal analógica que proviene de la válvula. Una vez adquirida la señal, ésta es convertida por la tarjeta en una señal digital que es interpretable por el PC, de manera que en este caso la conversión de la señal se realiza en el PC.

De modo similar al protocolo que llevan incorporado las interfases, las tarjetas disponen de un soporte lógico denominado "driver", éste soporte consiste en la especificación de una serie de funciones que permiten desarrollar programas para el control en lenguajes de programación conocidos (Basic , C, etc.) evitando así tener que conocer la programación interna del ordenador, esto es, los comandos característicos del soporte físico ("hardware").

La tarjeta utilizada para el control de la válvula ha sido una PC-711s cuyas características son:

Entrada analógica (realiza una conversión de la señal analógica a digital).

Número de canales: 8

Resolución: 12 bits.

Rango de entrada: Bipolar +/- 5 V.

Tipo de conversión: aproximaciones sucesivas.

Tiempo de conversión: 25 μ s.

Linealidad +/- 1 bit.

Precisión: 0.015 % de lecturas +/- 1 bit.

Modo trigger: Software.

Transferencia de datos: programa de control.

Salida analógica (conversión de la señal digital en analógica):

Número de canales: 1.

Resolución : 12 bits.

Rango de salida: de 0 a +5 V ó de 0 a 10 V.

Linealidad: +/- 1/2.

Este control consiste en indicar las direcciones asociadas a la tarjeta, para ejecutar órdenes del tipo:

- * reconocimiento de la válvula.
- * cambio de posición del canal de la válvula (1 ...6).

Desde el punto de vista práctico, en nuestro laboratorio se ha desarrollado un programa que controla simultáneamente la bomba y la válvula, este programa es un ejecutable escrito en Turbo Basic denominado TMI2007.EXE, la versión .BAS se incluye en el diskette anexo. Este programa permite un control manual de los dos elementos así como la creación y ejecución de procesos automáticos. Estas operaciones quedan reflejadas en la Figura 11, figura correspondiente a la pantalla de entrada al programa.

Figura 11, operaciones del TMI2007.

<p>Software de aplicación de control TMI2007 Rev: 1.01</p> <p>Generalidades:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aplicación para el control automático. - Controla 1 válvula múltiple EPS 130 y 1 bomba Gilson <p>Opciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Programación y visualización de programas. - Control manual de los diferentes elementos. - Ejecución de procesos automáticos. <p>Utilización:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Cree los procesos automáticos desde el menú. - Ejecútelos desde el menú correspondiente.
<p>Menú principal:</p> <ul style="list-style-type: none"> <P> Programar. <V> Visualizar. <C> Control manual. <E> Ejecutar.

Como puede verse en la Figura 11, una opción del menú principal es la creación de un proceso automático mediante la opción "<P> Programar", proceso automático que consiste en la especificación de una secuencia combinada de movimientos de la bomba y de la válvula. Cabe destacar que en esta opción un parámetro importante que se puede controlar es el tiempo de duración de cada movimiento seleccionado. A modo de ejemplo, cuando escogemos esta opción (<P>) del menú principal, nos encontramos con la siguiente carátula o pantalla (Figura 12) :

Figura 12, pantalla de programación del TMI2007.

status 1.1.	
<V> Válvula: <1 .. 6>	
 Bomba: <M> <P> <I> <D> <Rx.x>	
<T> Tiempo: <xxx> (segundos)	
Programar	
Programa (1 ... 99): ___	
<INS>	Inserta línea.
	Borra línea.
<DOWN>	Incrementa línea.
<UP>	Disminuye de línea.
<LEFT>	Cambia columna.
<RIGHT>	Cambia columna.
<HOME>	Línea 1.
<END>	Línea 30.
	1: 16:
	2: 17:
	3: 18:
	4: 19:
	5: 20:
	6: 21:
	7: 22:
	8: 23:
	9: 24:
	10: 25:
	11: 26:
	12: 27:
	13: 28:
	14: 29:
	15: 30:

Como puede verse en la Figura 12, en esta opción el usuario debe crear la secuencia de los movimientos de la bomba y de la válvula a través de los comandos que se le indican en la pantalla, para ello puede seleccionar:

- * las revoluciones de la bomba <BRxx.xx> .
- * puesta en marcha <BM> y sentido, <BI> izquierda o <BD> derecha.
- * tiempo de funcionamiento <Txx> (en segundos).
- * parada de la bomba <BP>
- * cambio de posición en los canales de la válvula. <V1 > <V...6>

Una vez creada la secuencia, sin más que asignarle un número ésta se almacena en el programa principal y a la hora de ejecutarla el usuario deberá seleccionar la opción "<E> Ejecutar" del menú principal (Figura 11) e indicar el número de la secuencia que se desea activar.

El número y la secuencia del programa TMI2007 que el usuario deberá utilizar para el control automático de la bomba y la válvula en la aplicación concreta de la determinación del Ca y Mg por SIA, se describen en el próximo apartado 5.3.2.

Otra opción que permite el programa, es el control manual de la bomba y la válvula, para ello el usuario debe seleccionar la opción "<C> control manual" del menú principal e indicar con los comandos descritos precedentemente la acción que se desea realizar. Esta opción equivale a la manipulación directa de los elementos y es útil cuando interesa realizar un cambio aislado, no una secuencia. Finalmente sólo queda comentar la opción "<V> Visualizar" con la que se muestran las secuencias creadas y almacenadas mediante la asignación de un número en el programa principal.

5.3.2 APLICACIÓN A LA DETERMINACIÓN SIMULTÁNEA DE Ca Y Mg EN AGUAS NATURALES.

5.3.2.1. INTRODUCCIÓN

La determinación de Ca y Mg es un tipo de análisis rutinario en los laboratorios dedicados al control de las aguas. Los métodos clásicos de análisis, básicamente las **volumetrías** con EDTA, han demostrado su utilidad desde hace años, sin embargo, éstos métodos no son aplicables cuando existen concentraciones bajas de

analitos en las muestras. Además resultan difícilmente automatizables. Entre las técnicas instrumentales, la AAS [29,30] permite alcanzar límites de detección mucho menores que los anteriores y aunque se ha propuesto su automatización mediante un sistema FIA, la instrumentación es cara y su mantenimiento costoso.

En los últimos años, la tendencia hacia la automatización está favoreciendo el desarrollo de metodologías en flujo (FIA) para la determinación de éstos cationes en diversas matrices. Estos métodos incluyen detección potenciométrica con electrodos selectivos [31,32], combinaciones de fotometría de llama y AAS [33,34], determinaciones de la alcalinidad total en base a reacciones ácido-base [35], determinaciones espectrofotométricas utilizando diversos reactivos cromógenos [36-40] y recientemente se describe la determinación simultánea de estos cationes basada en el uso de gradientes de flujo y detección espectrofotométrica en sistemas no segmentados [41-43]. En algunos de estos trabajos, la determinación del Ca y Mg se lleva a cabo simultáneamente.

La determinación simultánea de Ca y Mg que proponemos, se lleva a cabo mediante un sistema basado el empleo de un modelo de flujo sinusoidal (SIA) [20,21] acoplado a un espectrofotómetro de diodos en serie y utilizando como reactivo el Arsenazo III. El Arsenazo forma en medio ligeramente **básico**, un complejo 1:1 de color azul tanto con el Ca como con el Mg [34]. Tanto el complejo formado con los dos cationes como el reactivo absorben en la misma región del espectro, pero la conjunción del sistema SIA con detección mediante un sistema de diodos en serie permite la determinación simultánea del Ca y el Mg sin separación previa de interferencias, ya que éstas forman parte del modelo de calibración **multivariante** PLS desarrollado.

5.3.2.2 PARTE EXPERIMENTAL

Muestras:

La determinación de Ca y Mg se ha realizado en 29 muestras de agua aptas para el consumo; 7 se han obtenido directamente del comercio y las 22 restantes mediante mezclas de la anteriores. En el diseño experimental para la obtención de las mezclas, se ha tenido en cuenta que las muestras presenten una distribución homogénea de forma que sean representativas del intervalo de concentraciones habitual de ambos cationes en las aguas de consumo.

Para el establecimiento del modelo PLS, es necesario conocer el contenido

en Ca y Mg en las muestras estudiadas ya que éstas, realizan el papel de patrones de calibración, lo cual se ha llevado a cabo por **Espectrofotometría de Absorción Atómica (AAS)**. En la determinación del contenido en Ca y Mg en las muestras y con el fin de comprobar la exactitud de los resultados, se utilizó una muestra de referencia, SLRS-2 [44].

AAS como técnica de referencia.

Instrumento:

Para la determinación del Ca y del Mg, se ha utilizado el espectrofotómetro "Instrumentation Laboratory AA/AE Spectrophotometer 551".

Reactivos:

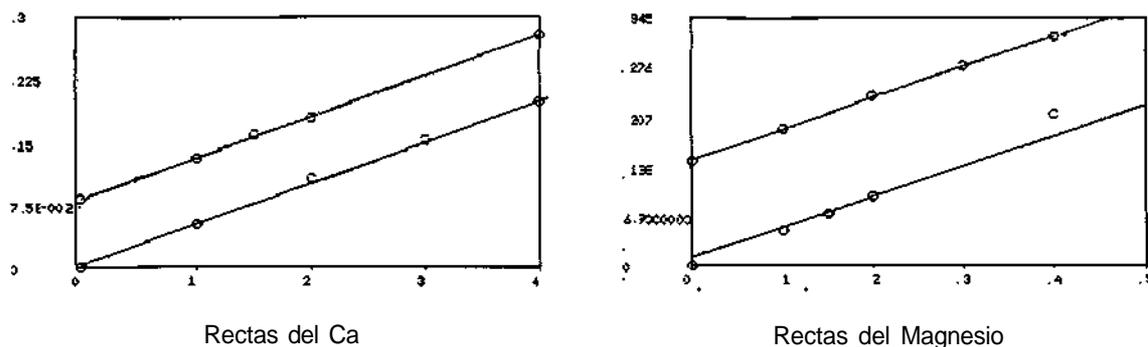
Se han preparado disoluciones patrones de Ca y Mg (al 0.1 % en Lantano) a partir de disoluciones tritol Merck de 1000 ppm, tanto para el Ca como para el Mg, dentro del intervalo de linealidad de ambos, esto es, soluciones de 1, 2, 3, 4 y 5 ppm de Ca y de 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 ppm de Mg. Se preparó 100 ml de disolución de lantano de 5000 ppm a partir de La_2O_3 (reactivo Merck) en 5 ml de HCl y agua bidestilada.

Exactitud del método:

En primer lugar se ha realizado un estudio del posible efecto de la matriz mediante la comparación de la recta de calibrado obtenida por patrones acuosos y las rectas obtenidas por adiciones estándar a dos muestras reales y a la muestra de referencia, tanto para el Ca como para el Mg. Dicho estudio se ha realizado con el programa de calibración lineal univariante ULC [24], que realiza un test conjunto de la ordenada y la pendiente.

En la **Figura 13**, se muestran las rectas de calibrado obtenidas mediante patrones acuosos juntamente con la recta de calibrado obtenida por adiciones a la muestra de referencia, tanto para el Ca como para el Mg. En la comparación de las rectas se obtiene que no existe diferencia significativa entre las varianzas (test F) ni entre las pendientes (test t) para un nivel de significancia del 0.05; por lo que se puede deducir que el efecto de la matriz no es significativo y, por lo tanto, se calcularon las concentraciones de Ca y Mg en las 29 aguas minerales a partir de las rectas de calibrado de patrones acuosos de Ca y el Mg.

Figura 13, comparación de las rectas de patrones y de adiciones a la muestra de referencia.



Comparación rectas de calibrado

Ca	$F(\text{cal}) = 5.84$, $F(\text{tab}) = 9.12$	$t(\text{cal}) = 0.3$, $t(\text{tab}) = 2.79$
Mg	$F(\text{cal}) = 4.13$, $F(\text{tab}) = 9.55$	$t(\text{cal}) = 0.17$, $t(\text{tab}) = 2.79$

Reactivos:

En el sistema SIA, la determinación espectrofotométrica se lleva a cabo mediante la formación de un complejo del Ca y Mg con el Arsenazo III. La disolución de reactivo utilizada es de 0.98 g/l Arsenazo a pH = 8.5. Para ello se prepara una disolución de tampón TRIS 0.5 M (tris-hidroximetil amino metano) y se ajusta a pH = 8.5 con HCl (reactivo analítico de calidad Merck). Ambas disoluciones se preparan con agua Millipore.

Metodología: Condiciones de medida; parámetros operacionales.

Una vez escogida la configuración física del sistema lo que implica una disposición física de los aparatos e instrumentos, un tamaño de celda, volumen de la jeringa, etc., la siguiente etapa consiste en el establecimiento del método, esto es, se han de establecer las condiciones en las que se va a realizar la medida, lo que implica establecer los parámetros que están relacionados con la zona de solapamiento (muestra - reactivo). Desde el punto de vista operacional estos parámetros son el volumen de muestra, el del reactivo y el tiempo que transcurre hasta parar el flujo.

Ruzcika y Gubelli [20], han realizado diversos estudios sobre el proceso de dispersión que experimenta una muestra en este tipo de sistemas en flujo, así establecen que con el fin de asegurar un eficaz proceso de mezclado y cuando la detección es espectrofotométrica, el coeficiente de dispersión $D = C^0/C$, siendo C^0 la concentración inicial y C la concentración en el punto de medida, debe ser superior a 2 .

La relación entre el coeficiente de dispersión y el volumen de muestra inyectado viene dada por la expresión:

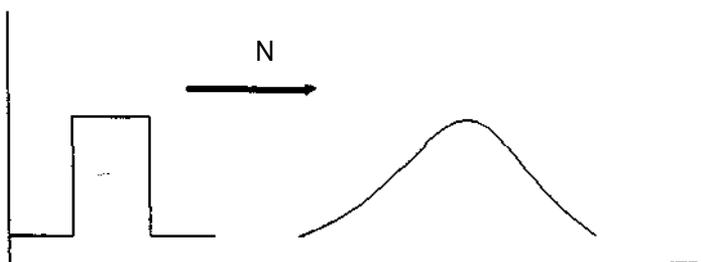
$$1/D = 1 - \exp(-0.693 V_s/V_{1/2}) \quad (1)$$

siendo V_s el volumen de muestra inyectado y $V_{1/2}$ el volumen necesario para alcanzar un valor de $D = 2$. El valor de $V_{1/2}$ está relacionado con el volumen del reactor, V_R , mediante la expresión:

$$V_{1/2} = (V_R/2) (N/2)^{1/2} \quad (2)$$

siendo N el número de etapas de mezclado necesarias para transformar la función cuadrática inicial del volumen inyectado en una función gaussiana, Figura 13.

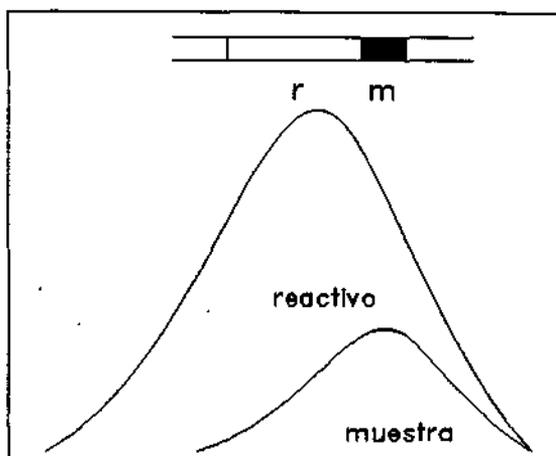
Figura 13, transformación de la función cuadrática inicial en una gaussiana.



En nuestro caso, para un volumen de reactor, $V_R = 375 \mu\text{l}$ (fijado por la configuración) y con un volumen de muestra $V_s = 52 \mu\text{l}$, se obtiene una relación $V_s / V_{1/2} = 0.14$ por lo que independientemente de N , D es superior a 2.

Una vez fijado el volumen de muestra inyectado se determina el volumen de reactivo que según los mencionados estudios de Ruzcika y Gubelli, en el punto de medida debe estar en exceso frente a la muestra. Con el fin de asegurar que el exceso de reactivo se cumple, se trabaja con un modelo de solapamiento total muestra-reactivo, tal y como queda reflejado en la Figura 14.

Figura 14, solapamiento muestra-reactivo.

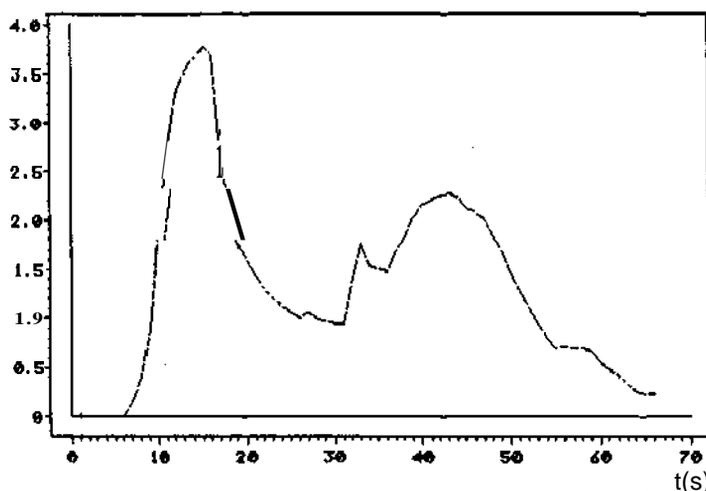


Para ello Ruzcika y Gubelli recomiendan que la relación entre

el volumen de reactivo y de muestra sea superior a cuatro, en este caso se ha seleccionado experimentalmente un volumen de reactivo aproximadamente seis veces superior al de la muestra, esto es $V_r = 310 \mu\text{l}$, dado que se está trabajando en un amplio intervalo de concentraciones.

Dentro de la zona de solapamiento muestra-reactivo, se ha de seleccionar el punto en el que se va a realizar la medida, esto es, el punto en el que se detiene el flujo. Para ello, en primer lugar se realizó un siagrama (Figura 15) con el fin de encontrar el máximo de absorbancia. El primer máximo está asociado al recorrido de la muestra y reactivo cuando son transportados hasta la celda y el segundo se corresponde con el proceso de expulsión, que como puede observarse la absorbancia es menor debido a que en dicho punto la difusión ha sido mayor. Dado que la secuencia de aspiración y transporte es primero muestra y después reactivo, a partir del tiempo correspondiente al primer máximo ($t = 15 \text{ s}$) es cuando con seguridad hay un exceso de reactivo y por lo tanto se puede realizar la medida.

Figura 15, siagrama, para $\lambda = 650\text{nm}$.



En el siagrama de la Figura 15, se observa una discontinuidad en los valores de absorbancia entre los 30 y 40 s aproximadamente, dicho cambio es debido a la parada de flujo y posterior arranque del sistema para la expulsión de la muestra y del reactivo aspirados.

El tiempo más adecuado siempre a partir de 15s, se buscó experimentalmente aspirando como muestra, patrones de Ca de 10, 80 y 100 ppm y patrones de Mg de 4, 10 y 50 ppm y se tomó como criterio obtener la máxima diferenciación entre el espectro del reactivo y el de los complejos formados con el Ca y con el Mg respectivamente. De esta manera se encontró que la máxima diferenciación se obtiene cuando se para el flujo a los 29s de la aspiración e inyección en el reactor, diferenciación que se muestra en las Figuras 16 y 17 respectivamente.

Figura 16, espectros del reactivo y del complejo con Ca.

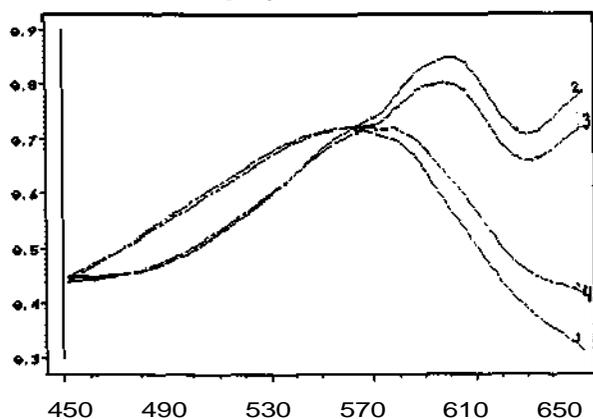
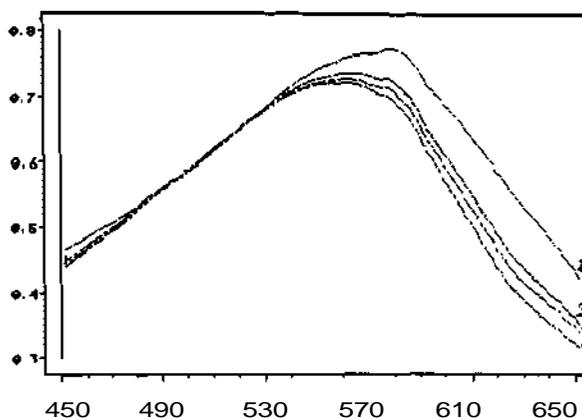


Figura 17, espectros del reactivo y del complejo con Mg.



1: Arsenazo; 2,3 y 4: Complejo Ca 100, 80 y 10 ppm. 1: Arsenazo; 2,3 y 4: Complejo Mg de 50, 10 y 4 ppm.

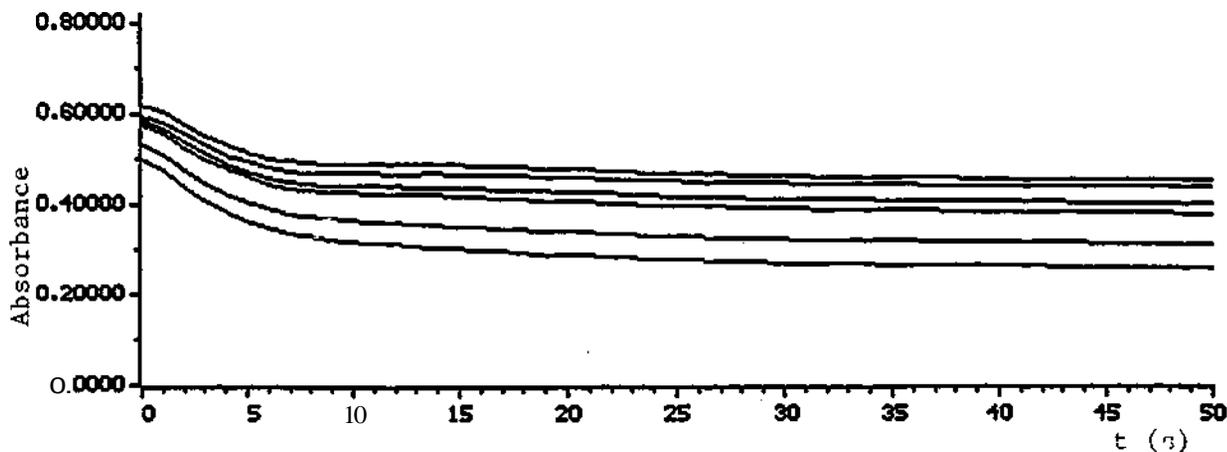
Cuando se aspiran los patrones de Ca de distinta concentración (Figura 16), se observan claramente dos zonas de variación de la absorbancia en función de la longitud de onda. Así, de 450 a 560 nm, al aumentar la concentración de Ca disminuye la absorbancia; mientras que de 560 a 650 nm, al aumentar la concentración aumenta la absorbancia, siendo la variación en esta segunda zona mucho más pronunciada. Por otro lado, en dicha figura se puede observar que existe diferencia entre el espectro del reactivo y del estándar de 10 ppm y entre éste último y el estándar de 100 ppm.

Cuando se compara el espectro del reactivo frente a los patrones de Mg de distinta concentración (Figura 17), también se distinguen dos zonas bien diferenciadas de variación de la absorbancia frente a la longitud de onda aunque en este caso se puede concluir que las variaciones debido a la concentración de Mg son mucho menores comparadas con las de los patrones de Ca. Así, se diferenciaría una primera zona de 450 a 540 nm en la que prácticamente no varía la absorbancia al aumentar la concentración de Mg y una segunda zona de 540 a 650 nm, en la que al aumentar la concentración de Mg aumenta la absorbancia. Además, se observa una ligera diferencia respecto al reactivo a partir de 4 ppm de Mg aproximadamente y hasta 50 ppm. Dado que las concentraciones de ambos cationes para las muestras consideradas quedan incluidas en este intervalo, consideramos adecuado este punto de la zona de solapamiento para llevar a cabo la determinación.

El último parámetro a determinar y que se realizó simultáneamente al estudio descrito precedentemente, es el tiempo que permanece el flujo parado antes de realizar la medida, este tiempo está condicionado porque en dicho punto no hay variación de la concentración debido a la dispersión o difusión del complejo que estamos midiendo. Para ello se registró a flujo parado, la variación de la absorbancia frente al tiempo, encontrando

que el proceso de difusión disminuye considerablemente a partir de los 20s como se deduce de la Figura 18.

Figura 18, estudio del proceso de difusión a flujo parado.



De modo esquemático en la Tabla 2, se indican los parámetros operacionales y de configuración que se han encontrado más adecuados para la aplicación de este método.

Tabla 2, parámetros operacionales.

Dimensiones y configuración: : L2 75 cm (375 μ l) de la válvula al detector. L1 170 cm (855 μ l) del detector a la jeringa. Celda de flujo: volumen 30 μ l y diámetro interno 10 mm.
Parámetros del flujo sinusoidal: frecuencia de la bomba: 4.166 10^{-3} Hz. volumen de la jeringa : 5 ml. ángulos de recorrido : inicial = 0°, final = 141° radio del cam : 2.35 cm. radio de la jeringa : 0.52 cm. Volumen total inyectado: 3.56 ml. máxima razón de flujo : 3.1 ml/min.
Volúmenes inyectados e intervalos de tiempo: V _{e1} (disolución de arrastre) : 1.9 ml (58 s) V _s (muestra) : 52 μ l (1 s) V _r (reactivo) : 310 μ l (6 s) V _{e2} (disolución de arrastre) : 1.3 ml (29 s)

Con todos los resultados obtenidos de relación de volúmenes, tiempos, etc., se procedió al diseño y creación de la secuencia de movimientos de la bomba y la válvula necesario para el análisis de una muestra. Así tenemos la siguiente secuencia de ejecución:

- 1) aspiración de la disolución de arrastre, agua bidestilada durante 58s con la válvula en la posición 6,
- 2) aspiración de muestra durante 1s. con la válvula en la posición 1,
- 3) aspiración de reactivo (Arsenazo III) durante 6s. con la válvula en la posición 2,
- 4) movimiento de la bomba en el mismo sentido que en las tres etapas precedentes, durante 29s. con la válvula en la posición 6 (aspiración de la disolución de arrastre) con el fin de introducir la zona de medida seleccionada en el camino óptico del detector,
- 5) parada de la bomba durante 35s antes de que se realice la medida de la absorbancia,
- 6) movimiento de la bomba en dirección contraria con la válvula en la posición 5, con el fin de expulsar todo lo anteriormente aspirado (tanto reactivo como muestra) y además dejar el conducto limpio para realizar la siguiente medida, esto es, volver a realizar otra secuencia de etapas. Esta etapa se realiza durante un tiempo que es igual a la suma de los tiempos de las etapas precedentes.

Esta secuencia de tiempos, cambios de posición de las vías de la válvula así como de cambio de dirección de la bomba se ha introducido en el programa número 22 del software de control de la bomba y la válvula del TMI2007 (anexo).

Previa a la realización de la medida, hay una etapa de puesta a punto del sistema; esta etapa consiste en el llenado de todo el sistema (jeringa, reactor y los conductos de la válvula), con la disolución de arrastre que en nuestro caso es agua **Millipore**. Primero se llenan la jeringa y el reactor manualmente, evitando la presencia de burbujas de aire a lo largo del sistema ya que su presencia provocaría una dispersión defectuosa al analizar la muestra.

Seguidamente, se llenan los conductos que van de la válvula a los depósitos de reactivo y de muestra. Estos se llenan con el programa. 96 del software TMI2007 (anexo) que consiste en aspirar 65 s de disolución de arrastre con la válvula en la posición 6 y 12 s de reactivo o muestra con la válvula en la posición correspondiente (2 ó 1 respectivamente) y posterior expulsión de lo aspirado por la vía 5 durante 77 s.

Una vez realizado el análisis de una muestra, para analizar otra, primero se procede a vaciar el conducto de la muestra para lo que se utiliza el programa 95 (anexo)

que aspira 60 s de disolución de arrastre y los expulsa por el conducto de la muestra. Seguidamente se vuelve a llenar el conducto con la nueva muestra del mismo modo descrito precedentemente (programa 96).

Condiciones del detector:

El espectro se registra entre 450 y 650 nm, con un tiempo de integración de 0.1 s y los datos considerados corresponden a las medidas de absorbancia tomadas cada 2 nm. Los espectros se almacenan en el ordenador como ficheros "nombre.TIM" que posteriormente se modificarán para ser utilizados en el programa de regresión multivariante.

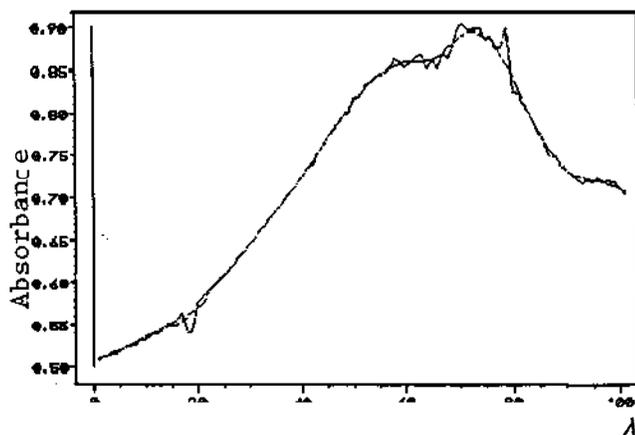
5.3.2.3 RESULTADOS.

La aplicación del procedimiento analítico descrito a las 29 muestras de agua analizadas lleva a la obtención de una matriz de datos 29 x 101 en la que cada vector fila, representa un espectro de absorción del complejo formado por los iones presentes en el agua que reaccionan con el Arsenazo III.

En los espectros de las muestras analizadas, se observa la presencia de picos espúreos que pueden ser debidos a posibles deficiencias en el sistema de detección; esta presencia es más acentuada a longitudes de onda más elevadas. Por lo que, previamente al establecimiento del modelo de calibración multivariante, se ha considerado adecuado realizar un suavizado de los espectros, utilizando el procedimiento de "moving average" con 3 puntos mediante el módulo "SMOOTHING" del paquete estadístico - STATGRAPHICS

[22]. A modo de ejemplo, en la Figura 19 puede verse el proceso experimentado por el espectro de una muestra analizada, antes y después de aplicarle el suavizado.

Figura 19, espectros superpuestos antes y después de aplicar el suavizado.



Como método de calibrado, se ha seleccionado la técnica de regresión lineal multivariante PLS ("Partial Least Square"). Dicha técnica establece una relación lineal entre la matriz Y de las respuestas o variables independientes, en este caso, el contenido en calcio y magnesio en las muestras analizadas y la matriz X de las variables dependientes

o predictivas, en este caso los datos espectrales registrados. Desde un punto de vista geométrico [46], las matrices X e Y pueden ser interpretadas como N puntos en dos espacios k y m dimensionales, respectivamente.

El modelo PLS consiste en la proyección simultánea de los espacios X e Y en un hiperplano de menor dimensionalidad, las coordenadas de los puntos en este hiperplano constituyen los elementos de la matriz T. Este análisis se realiza con el objetivo de conseguir una buena aproximación de los espacios X e Y, a la vez que se maximiza la correlación entre X e Y. Esquemáticamente el modelo PLS se puede expresar en las siguientes etapas [45]:

i centrado de las variables obteniendo X_0 e Y_0 .

ii cálculo de las variables latentes:

$$X = Y W + E$$

$$T = X W$$

iii selección del n° de variables latentes mediante un análisis de E y F.

$$X = Y P' + E$$

$$Y = T Q' + F$$

iv modelo de predicción

$$Y = b_0 + X b, \text{ donde } b = W (P'W')^{-1} Q \text{ y } b_0 = Y - X'b$$

Por lo tanto, el algoritmo PLS, lleva a cabo una decomposición simultánea e interdependiente tanto de la matriz X como de la Y, en las denominadas variables latentes (factores o componentes), de tal manera que la información de la matriz de las Y se utiliza como guía para la óptima decomposición de la matriz de las X; y después se lleva a cabo la regresión de las Y. Este proceso puede llevarse a cabo independientemente para cada una de las variables que forman el bloque de las Y utilizando el algoritmo PLS1 o conjuntamente para todo el bloque de la Y mediante el algoritmo PLS2. Debido a la colinealidad en la matriz de las X, valores de absorbancia, y a la prácticamente ausencia de correlación entre la concentración de los iones metálicos determinados, se ha escogido la técnica de regresión multivariante PLS1 del paquete estadístico UNSCRAMBLER [22].

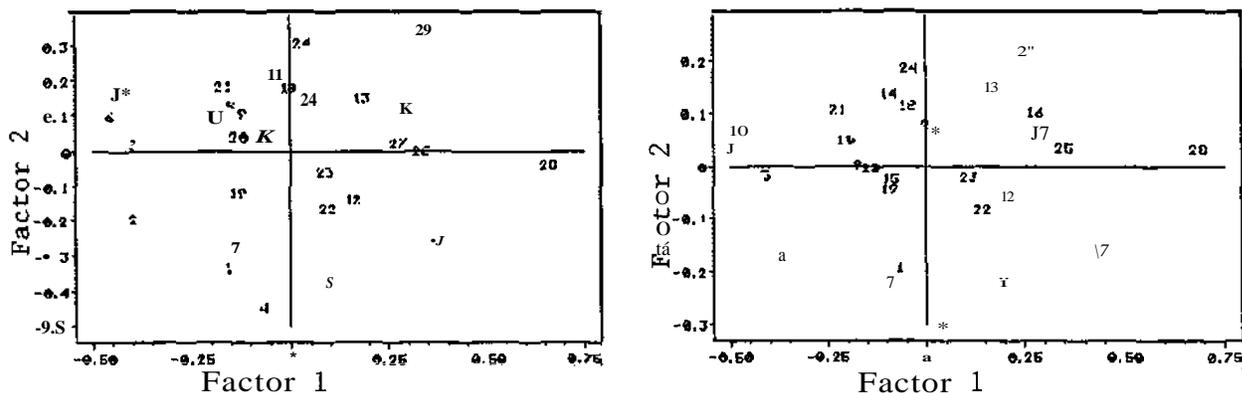
Normalmente, previo al establecimiento del modelo de calibrado, los datos sufren algún tipo de pretratamiento con el fin de que el modelo obtenido, sea más fácilmente interpretable. En nuestro caso se centraron las variables pero no se estandarizaron ya que al ser todas ellas datos espectroscópicos, se expresan en las mismas unidades y no existen variables que incorporen especiales condiciones de ruido. Por otra parte, la estandarización en nuestro caso significaría dar la misma importancia a las longitudes de onda cuya absorbancia varía ostensiblemente con la concentración y a aquellas otras en

las que el espectro sufre menos alteración.

Otro aspecto a mencionar, es que dado que estamos trabajando en la zona de UV-Vis, no se ha considerado oportuno realizar una selección previa de las zonas espectrales (selección de las variables) de trabajo puesto que tanto el complejo del Ca(II) como el del Mg(II) absorben con mayor o menor intensidad en toda la zona elegida.

Antes de entrar en la discusión de los resultados del modelo de calibración obtenido, se ha realizado un estudio de la distribución de los objetos con el fin de observar si existen agrupaciones o subgrupos en la matriz de las X, ya que su existencia nos estaría indicando la presencia de más de un modelo de calibración. Para ello se han analizado las representaciones de las muestras de agua (scores) en el espacio reducido de los dos primeros factores calculados en el proceso de modelización tanto de la variable Ca como de la variable Mg (Figura 20); de ambas representaciones podemos deducir que no se observan tendencias que puedan hacer pensar en la presencia de varios modelos, esto es, no se distinguen grupos de objetos aislados o diferenciados.

Figura 20, representación de los "scores" para el Ca (izquierda) y para el Mg (derecha).

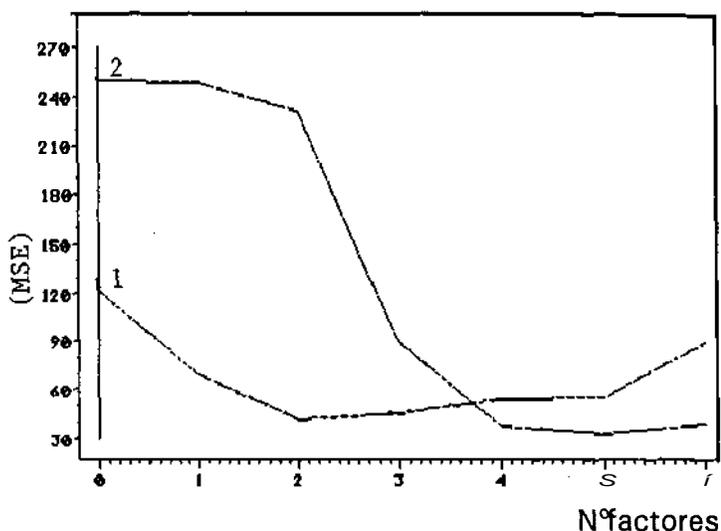


El número de factores significativos que intervienen en el modelo de calibración multivariante se ha evaluado mediante validación cruzada interna "crossvalidation". En dicha técnica el conjunto de datos inicial, en nuestro caso está constituido por 29 objetos y 101 variables, se divide en tantos subgrupos como objetos tengamos, de manera que en el proceso de cálculo del modelo de calibración se excluye siempre un grupo que posteriormente es utilizado para evaluar el error de predicción del modelo que se ha desarrollado sin tenerlo en cuenta, método denominado dejar uno fuera o "leave-one-out".

En la Figura 21 se representa el error cuadrático promedio ("mean square error") en predicción para el Ca y Mg, calculados mediante la técnica descrita, frente al

número de factores que se evalúan sucesivamente; puede observarse que para el Ca (línea 1) el primer mínimo local se encuentra con dos factores mientras que para el magnesio (línea 2) el número de factores óptimos es cuatro. La capacidad de predicción que muestra el modelo desarrollado para el Mg con 4 factores, $MSE = 37.5$ (85.0% de la varianza total en las Y, Tabla 3) es superior a la que muestra el modelo del Ca que con un máximo de 2 factores consigue un error de predicción $MSE = 41.5$ (66.3 % varianza en la Y, Tabla 3). Estos valores indican que mientras la concentración de Mg en aguas de composición desconocida podrá determinarse con cierta precisión, ésta disminuirá al determinar la concentración de Ca.

Figura 21, "mean square error" del Ca y Mg frente al n° de factores calculados.



La varianza explicada por cada uno de los factores utilizados en cada modelo de calibración, tanto para el Ca como para el Mg, queda reflejada en la Tabla 3:

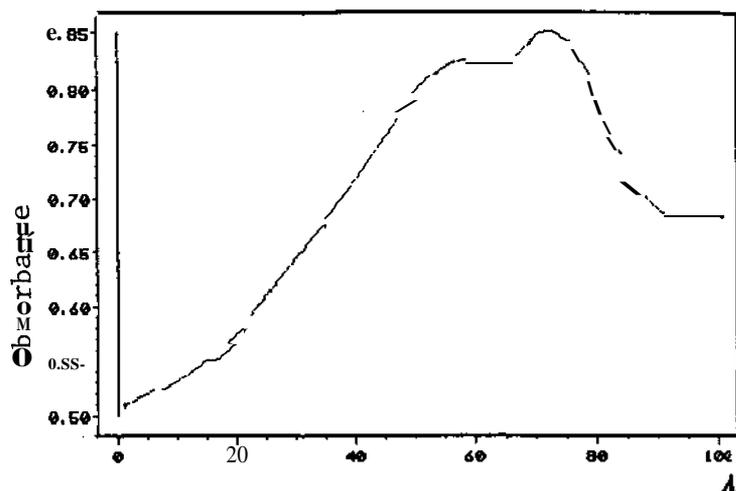
Tabla 3, % varianza explicada en función del N° de factores.

PC	Ca		Mg	
	% Varianza X	% Varianza Y	% Varianza X	% Varianza Y
1	64.8	47.7	71.0	4.8
2	98.0	66.3	97.1	9.2
3			98.9	72.8
4			100.0	85.0

La interpretación de los resultados encontrados, se puede llevar a cabo analizando las propiedades espectrales asociadas a los valores de los "loadings weights", w_i , y "loading vector", p_i , evaluados en el proceso de cálculo de los diferentes factores mediante PLS1.

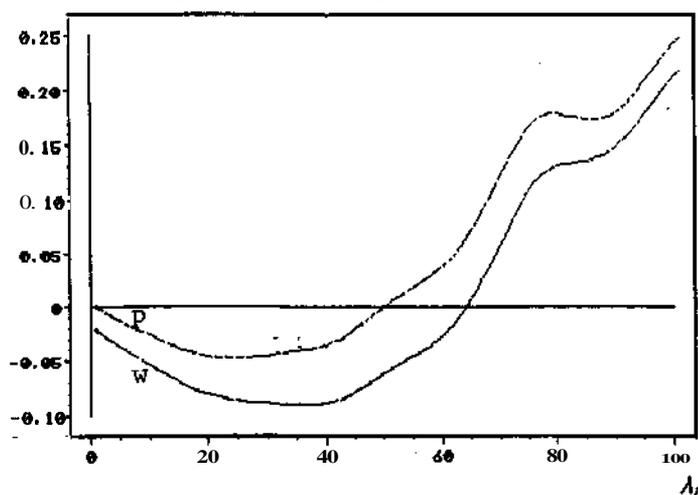
La Figura 22, corresponde a la representación del espectro promedio X_0 , asociado a la matriz de las X (variables). Las Figuras 23 y 24 corresponden respectivamente a las representaciones de $(w_i, p_i \text{ vs } \lambda_i)_{PC=1}$ y $(w_i, p_i \text{ vs } \lambda_i)_{PC=2}$ para el modelo desarrollado con la variable Ca. Un análisis de dichas Figuras permite extraer entre otras las siguientes conclusiones:

Figura 22, representación del espectro promedio X_0 .



La representación de w_1 y p_1 (Figura 23), difiere significativamente de la asociada al espectro promedio X_0 (Figura 22), esta diferencia se explica ya que el primer componente principal (Tabla 3) sólo explica un 64.8 % de la información contenida en la matriz de las X y un 47.7 % de la matriz de la Y. Este hecho, que pone de manifiesto las diferencias que existen en el modelo de un componente calculado entre la matriz X-X y X-Y [45], se corrobora por la no coincidencia de las representaciones correspondientes a w_1 y p_1 .

Figura 23, representaciones de w_1 y p_1 ("loadings weights" y "loadings vector").

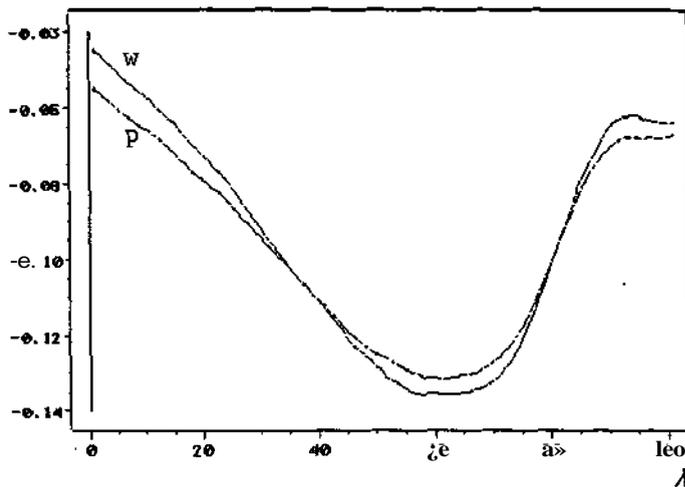


Desde consideraciones puramente químicas, a medida que aumenta la concentración de calcio en las muestras se observa una disminución de los valores de absorbancia a longitudes de onda bajas y un aumento a longitudes de onda altas, respecto al espectro promedio. Dicha tendencia es precisamente la que queda recogida al analizar las representaciones de la Figura 23 en la que se observan valores negativos para longitudes de onda bajas y positivos para las altas, por lo que se

puede decir que el primer componente recoge la máxima variabilidad asociada a la variable que se pretende predecir, el calcio.

Por lo que respecta al segundo factor evaluado (Figura 24) se observa que las diferencias entre w_i y p_j vs λ_i para PC = 2, son menores que entre las anteriores para PC = 1, esto indica que la contribución de dicho factor para modelar la matriz de las X (98.0 - 64.8 = 23.2 % de varianza) difiere poco de la contribución del mismo a la hora de probar su acoplamiento a la matriz de las Y (66.3 -

Figura 24, representaciones de w_2 y p_2 ("loadings weights" y "loading vector").



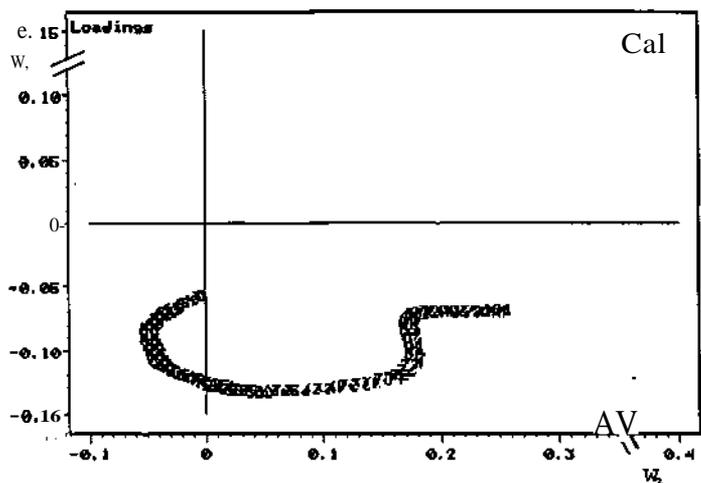
47.7 = 18.6 % de varianza, Tabla 3). El atribuir un significado químico al segundo factor evaluado para el Ca, no es tan sencillo como el del primer factor descrito. Un análisis de las propiedades espectrales de la Figura 24, nos indica la presencia de una propiedad que contribuye siempre de forma negativa en todo el intervalo de longitudes de onda respecto al modelo previamente calculado. Teniendo en cuenta las consideraciones químicas implícitas en los datos originales, podíamos pensar en la existencia de cuatro posibles contribuciones a las variaciones de las absorbancias respecto al espectro promedio X_0 (Figura 22), estas son:

- la propia del Ca (ya atribuida en el primer factor).
- el contenido en Mg.
- el reactivo.
- otras especies absorbentes.

La variabilidad debida a la contribución del Mg es del mismo tipo que la del Ca pero en este caso la sensibilidad es mucho menor (Figuras 16 y 17), por lo que respecta a otras especies **absorbentes** en el mismo intervalo de λ_i , se desconoce su presencia y por lo tanto su comportamiento y además por la forma de la representación w_2 y p_2 podemos deducir que de existir su importancia es muy pequeña o que son poco importantes. El comportamiento observado en la Figura 24 sería lógico atribuirlo a la contribución debida al reactivo (Arsenazo) sobretodo si nos fijamos en el valor del mínimo en la zona media del espectro (zona espectral que no varía por la presencia de Ca o/y Mg).

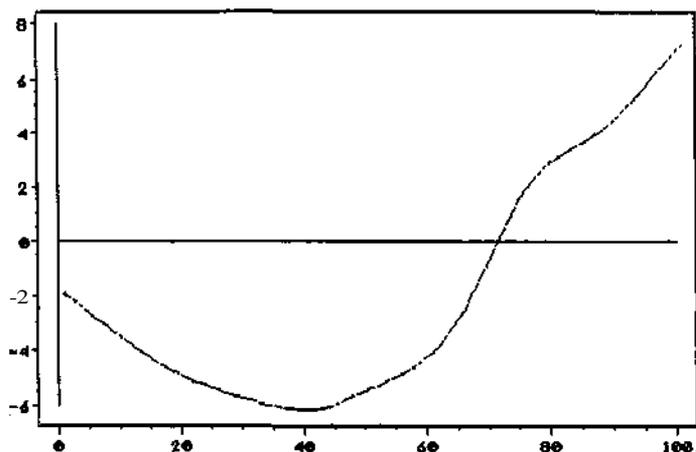
En la Figura 26, se representan de forma conjunta las dos figuras que se acababan de comentar y permite hacer algún comentario sobre la importancia de las variables químicas consideradas, valores de absorbancia, así se observa por un lado, la correlación existente entre todas las variables vecinas entre sí, comportamiento propio de datos espectrales. Por otro lado, se ponen en evidencia las relaciones comentadas hasta el momento, entre las diversas zonas de espectro y la variable en estudio, Ca, lo cual nos permite deducir que todas las variables espectrales consideradas contienen información para el modelo del ión considerado. En cualquier caso la máxima información a la hora de predecir el contenido de Ca queda recogido por el primer PC (47.7 %).

Figura 26, "loadings" de los dos primeros factores (w_1 vs w_2) para el Ca.



Esta conclusión se refuerza al analizar la representación de los coeficientes B_1 frente a las variables originales que se muestra en la Figura 27. Los coeficientes de regresión B_1 intervienen en el modelo de predicción lineal multivariante: $Y = B_0 + B_1 X$, y revelan la importancia de las variables espectrales originales en la predicción de las concentraciones de los iones metálicos. La representación de estos coeficientes para el modelo establecido con dos factores para el Ca, muestra claramente que los "loadings" calculados en el proceso de modelado para el primer factor coinciden prácticamente con los valores del modelo de predicción, reforzando el peso muy importante de este primer factor para la construcción del modelo del Ca.

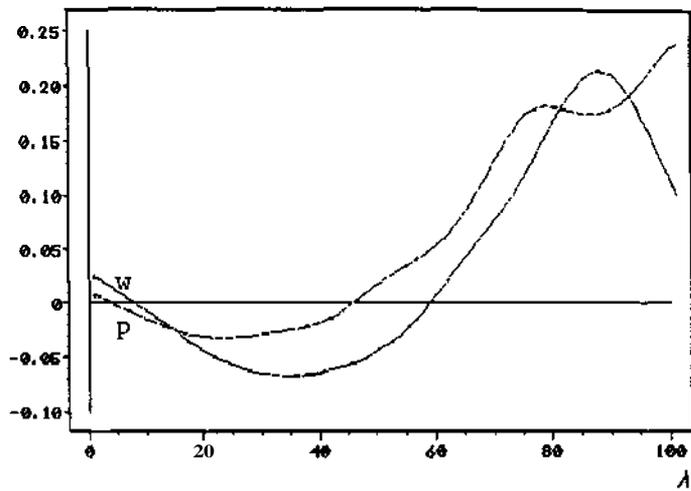
Figura 27, coeficientes de regresión en el modelo del Ca.



Una discusión similar a la desarrollada para el modelo evaluado para el Ca se puede realizar para el modelo del Mg analizando las propiedades espectrales asociadas a las representaciones de $(w_i, p_i$ vs $\lambda_i)$ para los cuatro factores encontrados como óptimos (Figuras 28, 29, 30 y 31 respectivamente). Como ya se ha indicado precedentemente, desde un punto de vista químico, la variabilidad debida a la contribución del Mg, es similar a la descrita para el Ca pero con una sensibilidad mucho menor y son también cuatro las posibles contribuciones a la variación de las absorbancias: el Ca, Mg, reactivo y otras sustancias absorbentes.

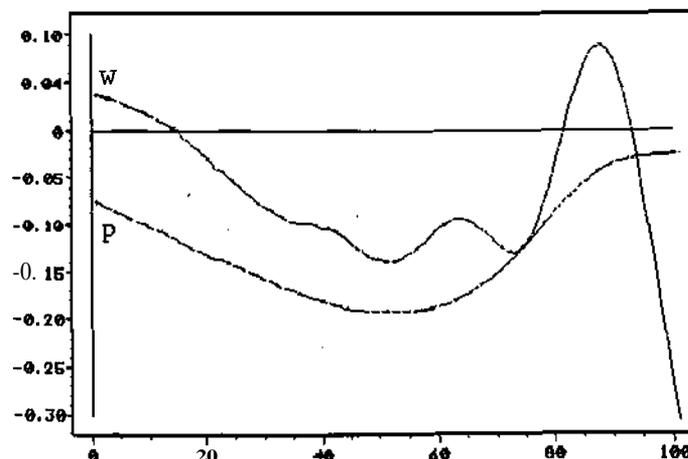
En el estudio del primer factor (Figura 28), se observa que w_1 y p_1 no sólo difieren respecto al espectro promedio (Figura 22), sino que además presentan una forma distinta, esta gran diferencia se explica ya que el primer componente principal explica un 71.0% de la información contenida en la matriz de las X pero únicamente un 4.8% del de las Y.

Figura 28, representaciones de w_1 y p_1 vs λ_i para la variable Mg.



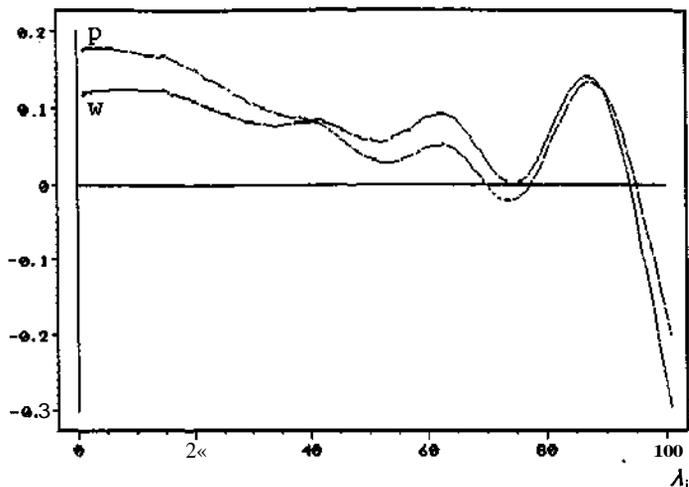
En este caso se puede deducir que el primer componente no recoge la variabilidad debida a la contribución del Mg y por lo tanto se le puede atribuir a la del Ca, atribución que queda corroborada por la forma de p_1 que es igual a la que teníamos para el Ca (Figura 23) y por los conocimientos químicos descritos. De modo similar al descrito para el modelo del Ca, la contribución al segundo componente principal se puede atribuir al Arsenazo III. La Figura 29 muestra que w_2 y p_2 siguen presentando distinta forma y en la Tabla 3, se observa que el % de varianza explicada de la matriz de las Y es únicamente un 9.2 %.

Figura 29, representaciones de w_2 y p_2 vs λ_i para la variable Mg.



Es en el tercer componente (Figura 30), cuando se observa que w_3 y p_3 tienen la misma forma y que la varianza explicada en la matriz de las X (98.9%, Tabla 3) es semejante a la explicada en la matriz de las Y que es en este caso un 72.8 %. Por lo tanto, podemos deducir que es éste componente principal el que recoge la variabilidad debida a la contribución del Mg. La representación para el cuarto componente (Figura 31) muestra la total coincidencia de w_4 y p_4 .

Figura 30, representaciones de w_3 y p_3 vs λ_i para la variable Mg.



La interpretación de los resultados realizada se refuerza al analizar la representación de los coeficientes B_i (Figura 32) frente a las variables originales, λ_i , para el modelo evaluado para el Mg con cuatro componentes; en ella puede observarse que su forma es similar a la desarrollada para $(p_i \text{ vs } \lambda_i)_{PC = 3}$ y que si bien todas las variables contribuyen al modelo presentado, tienen mayor importancia las variables del extremo final del espectro, aspecto que se corrobora con el encontrado desde un punto de vista químico ya que el Mg a longitudes de onda bajas varía poco y presenta la máxima variabilidad a longitudes de onda altas.

Figura 31, representaciones de w_4 y p_4 vs λ_i para la variable Mg.

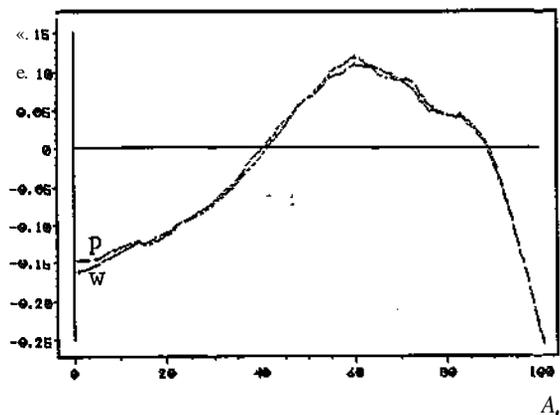
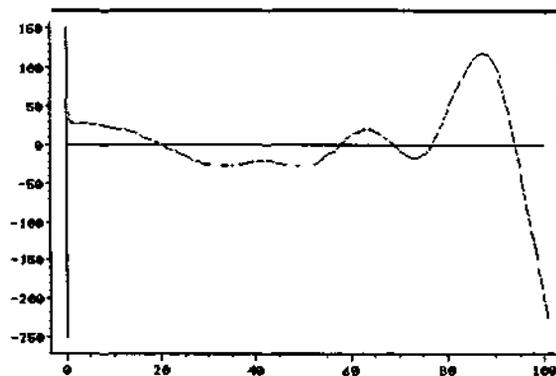


Figura 32, coeficientes de regresión en el modelo del Mg.



La ausencia de "outliers", tanto de objetos como de variables, en el proceso

de calibración se ha corroborado mediante el estudio de las representaciones de la influencia "influence plot" (Figuras 33 para el Ca y 34 para el Mg) en los que la varianza residual en calibración de los objetos y las variables se representan frente a sus respectivos valores de "leverage" [45].

El "leverage" es una medida de la influencia o efecto que un objeto o variable ejerce sobre el modelo, de manera que cuando tiene un valor próximo a 0 indica que no influye en el modelo mientras que si su valor es próximo a 1 ejerce una fuerte influencia. De modo similar cuando la varianza residual es próxima a 0, está indicando que el objeto o variable se acopla bien al modelo mientras que si presenta valores elevados indica un mal acoplamiento.

Figura 33, estudio de la influencia de objetos en el modelo del Ca.

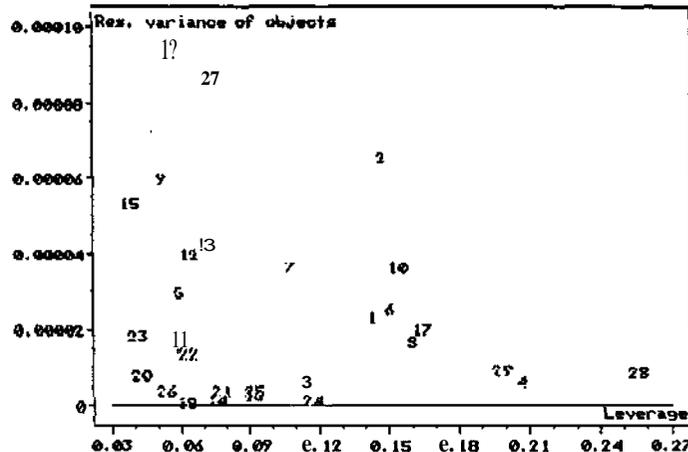
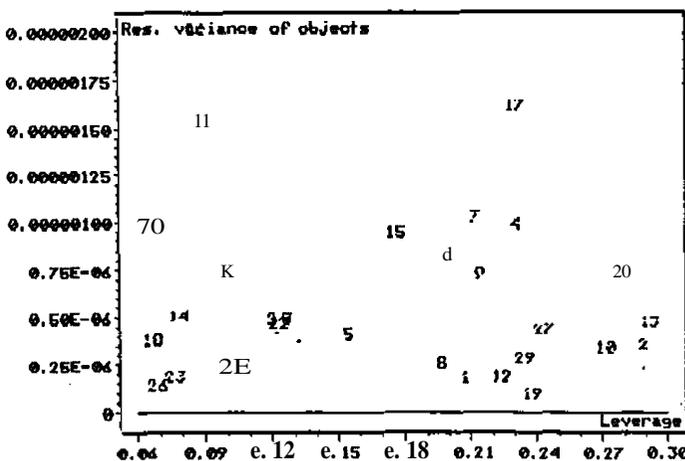


Figura 34, estudio de la influencia de objetos en el modelo del Mg.



En la Figura 33, puede observarse que el objeto 28 posee una influencia considerable en el modelo establecido con dos factores para el Ca si bien no se sitúa alejado de su valor teórico predicho. Por otra parte, los objetos 19 y 27 poseen una varianza residual bastante más elevada pero, en estos casos, su influencia en el modelo no es remarcable. Estos resultados son muy semejantes a los obtenidos con el modelo establecido con 4

factores para el Mg, en el que se puede observar que no existe ningún objeto que presente simultáneamente valores de leverage y varianza residual elevados (Figura 34), ya que todos presentan una varianza residual muy pequeña del orden de 10^{-6} .

Finalmente, en las Figuras 35 y 36 se representan, para cada una de las muestras, los valores de concentración predichos de Ca y de Mg según el método SIA desarrollado en función de los valores medidos experimentalmente mediante el método estándar de AAS. La exactitud de los valores de las abscisas ha sido corroborado mediante un test-t realizado con el material de referencia analizado.

Figura 35, valores de concentración predichos para el Ca.

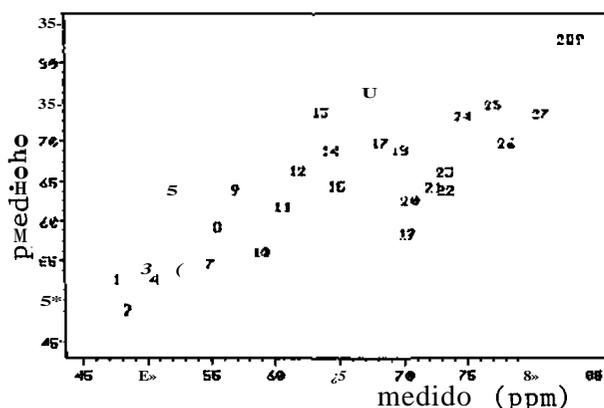
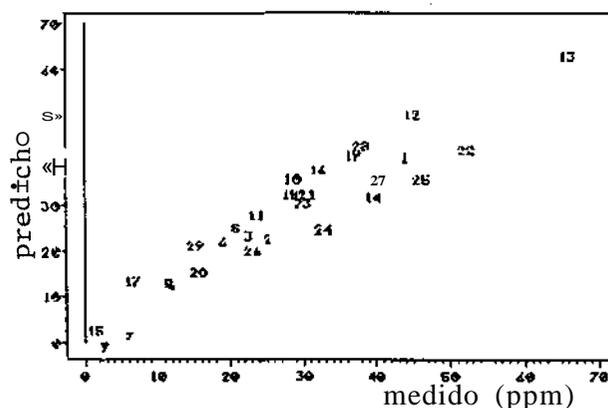


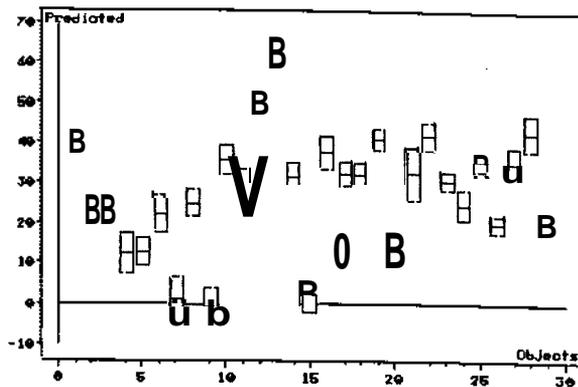
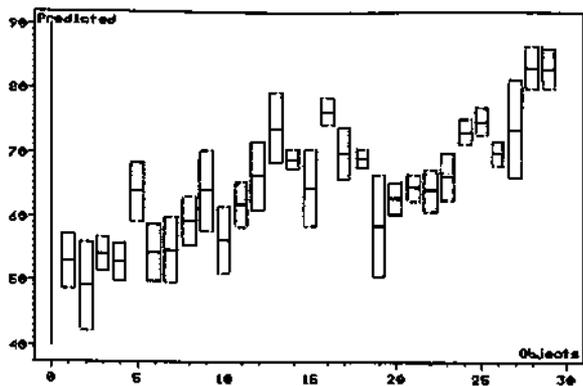
Figura 36, valores de concentración predichos para el Mg.



En el estudio de la incertidumbre de la incerteza asignada a cada valor predicho según el modelo desarrollado (Figuras 37 y 38), se observa claramente que tanto la precisión de los resultados, visualizada en las desviaciones respecto al valor medio predicho, como la exactitud del método evaluada en función de los parámetros de la recta de regresión es mejor para el magnesio que para el calcio. Aún conociendo las limitaciones del test conjunto de la pendiente y la intersección en el origen para estos casos (realizado con el programa ULC) [24], ambas rectas de regresión lo superan a un nivel de significancia del 0.05, mostrando que el método desarrollado es comparable en exactitud al método AAS estándar.

Figura 37, estimación de la incerteza asignada a cada valor predicho para el Ca.

Figura 38, estimación de la incerteza asignada a cada valor predicho para el Mg.



5.4 BIBLIOGRAFÍA

- 1 **S.R. Crouch**; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 8 (1990) 259.
- 2 **V. Cerda and G. Ramis**; "An introduction to Laboratory Automation."; J. Wiley and Sons, 1990.
- 3 **M. Valcárcel and M.D. Luque de Castro**; "Automatic Methods of Analysis."; Elsevier, Amsterdam 1988.
- 4 **N. Winkless and I. Browning**; "Robots on your door step"; Robotics Press, Portland O.R.; 1978.
- 5 **E.D. Salin and P.H. Winston**; *Anal. Chem.*; 64 (1992) 49 A.
- 6 **C. Filippini, B. Sonnleitner and A. Fiechter**; *Anal. Chim. Acta*; 265 (1992) 63.
- 7 **P.D. Wentzell**; *Chemom. Intell. Labo. Syst.*; 8 (1990) 283.
- 8 **W.B. Furman**, editor, "Continuous Flow Analysis: Theory and Practice."; Marcel Dekker, New York, 1976.
- 9 **M. Valcárcel and M.D. Luque de Castro**, "Flow Injection Analysis: Principles and Applications."; Ellis Horwood, Chichester, 1987.
- 10 **J. Ruzicka, G.D. Marshall and G.D. Chistian**; *Anal. Chem.*, 62 (1990) 1861.
- 11 **J. Ruzicka**; *Anal. Chim. Acta*; 261 (1992) 3.
- 12 **M. Gisin and C. Thommen**; *Anal. Chim. Acta*; 190 (1986) 165.
- 13 **H. Ludi, M.B. Garn, P. Bataillard and H.M. Widmer**; *J. Biotechnol.*; 14 (1990) 71.
- 14 **M. Trojanowicz, R.L. Benson and P. Worsfold**; *Trac*; 10 (1991) 11.
- 15 **J. Ruzicka and E.H. Hansen**; *Flow Injection Analysis*, 2^a ed.: Wiley & Sons: New York, 1988.
- 16 **J. Moller**; *Flow Injection Analysis*; Springer Verlag: Berlin/Heidelberg, 1988.
- 17 **J.L. Burgnera**; *Flow Injection Atomic Spectroscopy*; Marcel Dekker; New York, 1989.
- 18 **M. Valcárcel and M.D. Luque de Castro**; *Anal. Chim. Acta*; 250 (1991) 157.
- 19 **G.D. Clark, J. Zable, J. Ruzicka and D.G. Christian**; *Talanta*; in press.
- 20 **T. Gübeli, G.D. Christian and J. Ruzicka**; *Anal. Chem.*; 63 (1991) 2407.
- 21 **J. Ruzicka and E.H. Hansen**; *Anal. Chim. Acta*; 99 (1978) 37.
- 22 UNSCRAMBLER II Versión 4.0 " Software for Multivariate data analysis applying PCA, PCR and PLS". CAMO A/S, Norway.
- 23 STATGRAPHICS, Statistical graphics system by statistical graphics corporation, STSC, Inc. USA, (1986) 22-2.
- 24 **R. Boque, F.X. Rius and D.L. Massart**; Straight Line Calibration. Something more than slopes, intercepts and correlation coefficients, *J. Chem. Educ.* En prensa.
- 25 **J. Yang, C. Ma, S. Zhang and Z. Shen**; *Anal. Chim. Acta*; 235 (1990) 323.
- 26 **G.D. Christian and J. Ruzicka**; *Anal. Chim. Acta*; 261 (1992) 11.
- 27 **T. Dehne**; *Anal. Chem.*; 62 (1990) 565.

- 28 S.C. *Gates and J. Becker*, "Laboratory Automation Using The IBM PC."; Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1989.
- 29 APHA, AWWA and WPCF; "Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales"; Ed. Diaz Santos SA, Madrid 1992.
- 30 *P.B. Swwetstr and C.E. Bricker*; Anal. Chem.; 26 (1954) 195.
- 31 *fi.J. Foster and D. Diamond*; Anal. Chem.; 64 (1992) 1721.
- 32 *H. Wada, T. Ozawa, G. Nakagawa, Y. Asano and S. Ito*; Anal. Chim. Acta; 211 (1988) 370.
- 33 *W.D. Basson and J.F. van Staden*; Fresenius Z. Anal. chem.; 302 (1980) 370.
- 34 *Z. Fang, J.M. Harris, J. Ruzicka and E.H. Hansen*; Anal. Chem.; 7 (1985) 1457.

- 35 *F. Cañete, A. Ríos, M.D. Luque de Castro and M. Valcárcel*;Analyst; 112 (1987) 263.
- 36 *Y. Yuan, Y. Wang and K. Qu*; Fenxi, Huaxue; 16 (1988) 546.
- 37 *Y. Yuan*; Anal. Chim. Acta; 212 (1988) 291.
- 38 *M. Blanco, J. Coello, J. Gené, H. Iturriaga and S. MasPOCH*; Anal. Chim. Acta; 224 (1989) 23.
- 39 *F. Cañete, A. Ríos, M.D. Luque de Castro and M. Valcárcel*;Analyst; 112 (1987) 267.
- 40 *E. Gómez, J.M. Estela and V. Cerdà*; Anal. Chim. Acta; 249 (1991) 513.
- 41 *J. Marcos, A. Ríos and M. Valcárcel*;Analyst, 117 (1992) 1629.
- 42 *J. Marcos, A. Ríos and M. Valcárcel*;Anal. Chim. Acta; 261 (1992) 495.
- 43 *P. MacCarthy, R.W. Klusman, S.W. Cowling and J.A. Rice*; Anal. Chem.; 65 (1993) 244.
- 44 National Researsch Council, Canada. Division of Chemistry Marine Analytical Chemistry. Standards Program. Otawwa, Canada. K1A OR6.
- 45 *H. Martens and T. Naes*; Multivariate Calibration; Wiley & Sons, 1989.
- 46 *N. Kettaneh-Wold*; Chemom. Intel. Lab. Sys.; 14 (1992) 57.
- 47 IUPAC Compedium of Analytical Literature ('Orange Book'). Pergamon Perss, Oxford, 1978, pp 22-23.
- 48 S.C. *Gaies and J. Becker*; "Laboratory Automation using the IMB PC"; Englewood Cliffs, New Jersey, 1989.

**6. DIAGNOSIS,
UN OBJETIVO DE UN SISTEMA ANALÍTICO INTELIGENTE.**

6.1 INTRODUCCIÓN.

Durante años se han orientado grandes esfuerzos al desarrollo de instrumentos automáticos con **elevada** capacidad de adquirir, almacenar y procesar datos en un tiempo relativamente corto, lo que ha permitido disponer de grandes cantidades de resultados. Esto ha llevado al desarrollo de diversos métodos quimiométricos para extraer la máxima información útil. Siguiendo en esta línea, la tendencia actual, que resulta cada vez más atractiva, es "conseguir instrumentos que tengan la capacidad, de realizar por ellos mismos, el reconocimiento de un fallo a tiempo real, comunicar la causa, avisar al operador y sugerir remedios a los problemas, detectar interferencias y substraer su contribución, efectuar un control de calidad de la medida, indicar la metodología a seguir, y un largo etc." [1]

Se considera que los instrumentos provistos de algunas de estas posibilidades, son instrumentos con cierto grado de inteligencia, ya que implica que serían capaces de llevar a cabo por ellos mismos las diferentes etapas del proceso analítico, que van desde la selección del método más apropiado hasta la interpretación de los resultados. De modo esquemático, los atributos o características que cabe esperar de un instrumento inteligente son, entre otros [2]:

1. Selección apropiada del método.
2. Disposición de menús de programas de trabajo.
3. Desarrollo automático de métodos.
4. Autocalibración y **auto-optimización**.
5. No ejecutar comandos que no proceden.
6. Ayuda al usuario en el manejo del instrumento.
7. Ayuda al usuario en la interpretación de los resultados.
8. Autocontrol y diagnóstico de los posibles errores instrumentales.
9. Corrección de los errores detectados.

Algunos de los aspectos citados, pueden ser abordados de forma aislada por métodos quimiométricos desarrollados en las dos últimas décadas [3], que aportan

herramientas adecuadas para el diseño de experiencias, tratamiento de señales, técnicas de regresión, análisis multivariante, etc. Sin embargo, la obtención de un sistema inteligente implica entre otras funciones, coordinar e interpretar la información procedente de la aplicación de métodos bien establecidos en cada una de las etapas que conlleva un proceso de medida químico. En este sentido, los sistemas expertos han abierto el camino para la incorporación de cierta inteligencia en el análisis químico [1,4]. Como se ha comentado ampliamente en el capítulo 3, hasta la fecha se ha progresado enormemente en la construcción de sistemas expertos como entidades aisladas de experiencia y conocimiento (ejemplo el capítulo 4), sin embargo no se ha recorrido el mismo camino en su integración como partes fundamentales del proceso analítico. Sólo se ha encontrado un sistema experto para el control inteligente de un proceso de fermentación por FIA [5].

En este capítulo se investiga la posibilidad de incorporar cierta inteligencia en el sistema analítico automatizado SIA anteriormente descrito en el capítulo 5. El desarrollo del sistema analítico inteligente, se ha diseñado como un sistema modular ya que esta estructura aporta mayor flexibilidad para futuras expansiones y mejoras. El módulo principal será un sistema experto deductivo que controle y dirija los distintos módulos a él subordinados, que a su vez también pueden ser sistemas expertos. Los módulos subordinados se han diseñado de forma que contengan la información relativa a la configuración física más *idónea*, selección adecuada de las condiciones de medida, detección de fallos y diagnosis, calibración, optimización, etc. Evidentemente el desarrollo de un sistema analítico inteligente, es un proyecto ambicioso del cual presentamos la parte hasta ahora desarrollada que concierne a la *detección de fallos y diagnosis* a partir de las señales analíticas obtenidas durante la ejecución del sistema de medida.

El problema de *diagnosticar*, puede ser visto como un proceso de asociación de síntomas con sus causas, por lo que una herramienta adecuada para éste objetivo son los sistemas expertos basados en la construcción de normas del tipo: "if (**síntoma**).... then (**causa**)", siendo éstos los utilizados en el trabajo que se presenta. En el campo de la diagnosis se han descrito varios sistemas expertos, la mayoría de los cuales son de interés en el control de procesos industriales [6] y alguno en el campo de la medicina [7]. Sólo se ha encontrado un sistema experto dedicado al estudio de fallos propios de la técnica analítica utilizada, desarrollado por Larrhi y Stillman [8] para diagnosticar posibles causas de error cuando se trabaja con espectroscopia de absorción atómica y actualmente se está desarrollando uno para ICP-AES [9].

En el proceso de diagnosis, previo a la asociación de un determinado síntoma con la causa que lo genera, es necesario que el sistema sea capaz de reconocer un síntoma a partir de la señal experimental que le llega. El reconocimiento de la señal puede ser

concebido como un problema de clasificación, donde cada una de las "clases" se corresponden con cada una de las "situaciones" que se pretende reconocer.

Aunque existen muchas técnicas quimiométricas y dentro de las técnicas numerosos algoritmos útiles para llevar a cabo el proceso de definición de clases y posterior asignación de un objeto desconocido a las clases previamente descritas [10-12], en el presente trabajo se ha escogido la técnica de "redes neuronales" ya que como indican algunos autores [13-15], éstas presentan una serie de características que favorecen su aplicación. Entre ellas cabe destacar [16]:

- la habilidad de las redes neuronales de aprender a partir de los datos que se le introducen [17].
- establecen relaciones no lineales entre los datos de entrada y la respuesta.
- presentan la posibilidad de seguir un comportamiento similar al de los sistemas expertos en cuanto al establecimiento de normas cualitativas [16].
- útiles cuando la representación de las variables aporta una imagen (espectro).

De hecho, las redes neuronales han sido utilizadas con éxito en el reconocimiento de la estructura de compuestos a partir del espectro infrarrojo [18,19], resonancia magnética nuclear de H^+ y de ^{13}C y espectrofotometría de masas [18]; en el reconocimiento e identificación de algunos cationes metálicos de una muestra mediante FIA [20] y en problemas de calibración multivariante no lineal aplicados a datos de infrarrojo cercano, ultravioleta visible, potenciometría con electrodos selectivos y fluorescencia de rayos X [21]. También han sido ampliamente aplicadas para resolver problemas de diagnóstico de fallos en procesos industriales [16,17,22-24] y en el campo de la medicina y biología [25].

Existen distintos modelos de redes neuronales, siendo las más ampliamente utilizadas en problemas de clasificación las del tipo Kohonen, Back-Propagation y Counter-Propagation [26], todas ellas utilizadas en este trabajo.

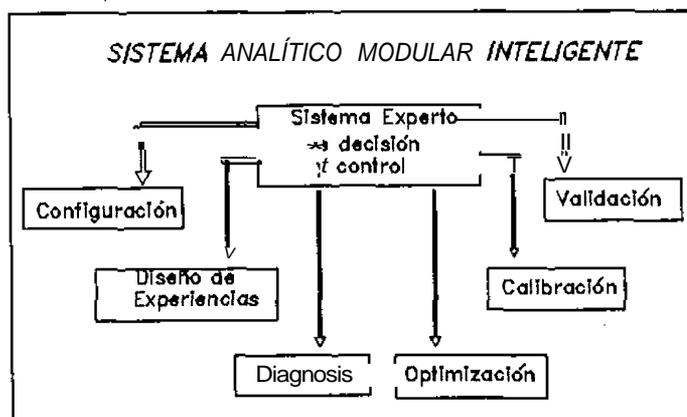
El módulo del sistema analítico inteligente desarrollado en el presente capítulo se ha aplicado a la detección de fallos y diagnóstico en la determinación de Ca y Mg en agua mediante SIA.

6.2 SISTEMA ANALÍTICO MODULAR INTELIGENTE.

Como se ha indicado previamente, el sistema analítico que se pretende desarrollar consta de varios módulos subordinados a un módulo principal (Figura 1). El **módulo principal está** concebido como un *sistema experto* y tendrá la función de conectar con los diferentes módulos que constituyen el sistema inteligente, con la finalidad de ordenar, enviar y recibir información a lo largo de las distintas etapas que implica la determinación analítica que se está llevando a cabo. Por lo tanto, dicho sistema experto es el que gobernará todo el proceso y el que se comunicará con el usuario.

Cuando el usuario se incorpora al sistema a través del módulo principal, éste le informa sobre sus capacidades, en este caso le sitúa en un análisis en continuo, con un flujo sinusoidal, inyección secuencial y detección espectrofotométrica (Figura 2). Así mismo le indica los analitos que se pueden determinar; actualmente y en un primer estudio, se está desarrollando el sistema analítico para la determinación simultánea de Ca^{2+} y Mg^{2+} en aguas de consumo.

Figura 1, sistema analítico modular inteligente.



Seleccionado el analito, el módulo principal conectaría con el **módulo configuración**. La información correspondiente a dicho módulo, es la relativa a la descripción y disposición física de los aparatos e instrumentos necesarios para construir el sistema SIA; incluye también todos los parámetros operacionales para la puesta a punto del sistema, así como las condiciones de medida más adecuadas, etc. Actualmente y como se muestra en la Figura 3, este módulo contiene las condiciones de medida establecidas en el capítulo 5 de la tesis para un determinado intervalo de concentraciones de Ca y Mg. Este módulo se está desarrollando de manera que será un sistema experto que en función de la concentración de analito en la muestra, informará de las condiciones más adecuadas de trabajo [27].

Una vez realizada la medida, obtenido y almacenado el espectro en un fichero de datos, el sistema principal conecta con el **módulo diagnóstico**, el objetivo principal de este módulo es el "reconocimiento de la señal" o espectro con el fin de evaluar si es

correcto o no y en caso negativo asignar la causa y comunicar la solución al error detectado. Dado que el desarrollo de este módulo es el objetivo principal de este capítulo, se expondrá posteriormente en profundidad.

Si las condiciones de trabajo son las adecuadas, se irán obteniendo los espectros de todas las muestras que se pretenden analizar. En el módulo denominado **diseño de experiencias** se indicará al usuario cual es el conjunto de muestras más idóneo para llevar a cabo el proceso de calibración, **calibración** que constituirá de por sí un módulo independiente; estos dos módulos serán también sistemas expertos. Finalmente el **módulo validación**, contendrá toda la información necesaria para validar el proceso analítico desarrollado.

Figura 2, ejemplo de una ejecución del módulo principal.

Welcome, this is an Intelligent Analytical System designed to carry out analytical determinations using:

- Sinusoidal Flow Sequential Injection Analysis.
- Spectrophotometric detection.
- Multivariate determination (optionally).

This System is designed to solve the next analytical problems. Select an option:

1. Ca^{2+} Mg^{2+}
2. Cl^-
3. NO_3^- with NO_2^- as possible interference

=? 1

Figura 3, ejemplo de una ejecución del módulo configuración.

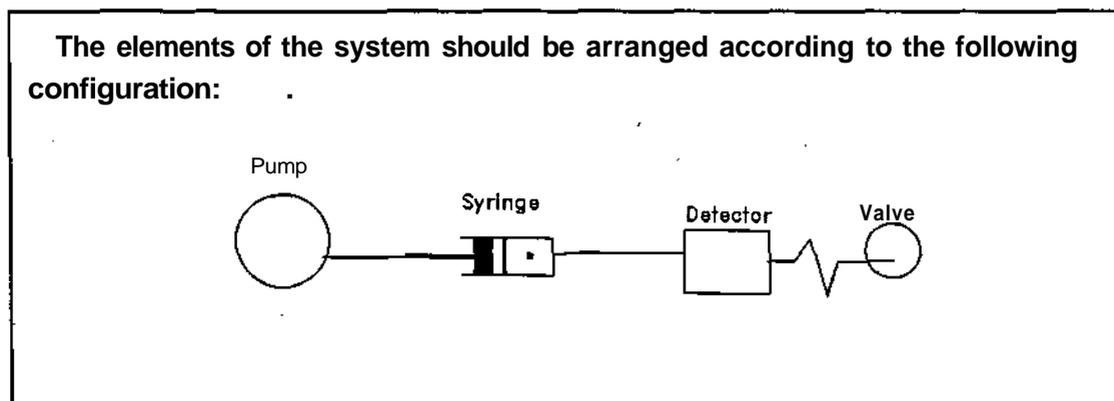


Figura 3, continuación.

The experimental components that you must use to build the analytical system are:

You are going to work with Sinusoidal Flow Injection Analysis, which involves:

- Modified Gilson Minipuls pump which provides sinusoidal flow, by adapting a cam and a plunger.
- A six multiport valve, EPS 30.
- Hamilton Syringe to fitted into a channel.
- Flow cell.
- A diode array detector for spectrophotometric measurements.

Manifold Dimensions

L1 170 cm 0,8mm (inner diameter) 855 μ l Teflon
 L2 75 cm 0,8mm (inner diameter) 375 μ l Teflon
 Flow cell: 30 μ l, optical path length 10 mm

Sinusoidal Flow Parameters

Pump frequency : 0,25 rpm
 Syringe volume : 5 ml
 Cam rotation angles a: initial = 0°, final = 141°
 Radius of the cam : 2,35 cm
 Radius of the syringe : 0,52 cm
 Maximum flow ratio : 3,1 ml/min

The following parameters are included in the program number 22 of the TMI2007 software.

Injected Volumes and Interval Times

V_{c1} , Carrier 1,9 mL (58s reversed stroke)
 V_s , Sample 52 μ L (1s reversed stroke)
 V_r , Reagent 310 μ L (6s reversed stroke)
 V_{c2} , Carrier 1,3 mL (29s reversed stroke)

To implement the system, the following steps should be taken.

Reagent preparation: 0.98 g/l of Arsenazo at pH = 8.5: prepare a buffer solution of TRIS 0.5 M (tris-hidroximetil amino methane) and adjust it to pH 8.5 with HCl (analytical reagent Merck). Place it at position number 2 on the valve.

Sample preparation: The concentration of Ca and Mg in the sample should be within the ranges 40 - 85 ppm and 4 - 50 ppm respectively. Place it at position number 1 on the valve.

Note: "All solutions must be prepared with millipore water."

Filling the channels:

- Fill the system up with millipore water.
- In order to fill the reagent and sample channels you can use programs number 95 and 96 of the TMI2007 software.

Are you interested in obtaining information about the TMI2007 software?

1. yes
2. no

=? 2

Figura 3, continuación.

Now the SIA system is ready to begin the measurement, but first you have to establish the conditions of the detector. Do you want information about the HP UV-Vis software?

1. yes
2. no

= ? 2

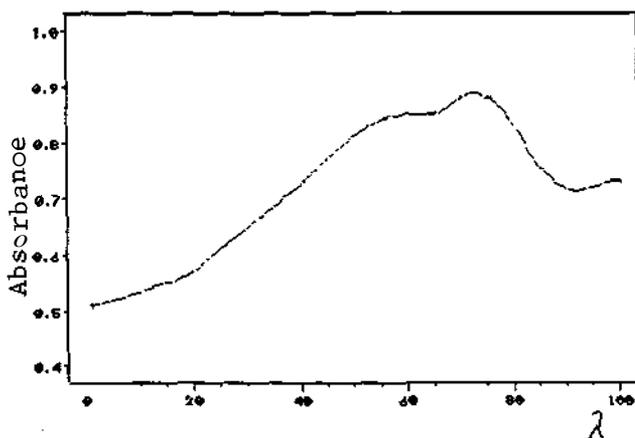
The experimental parameters that you have to select in the UV-Vis software are:

Spectral range: 450 to 650 nm.

Cycle time 6.0 s and integration time 0.1 s.

Run time 41 s and start time 65 s.

Una vez puesto el sistema en condiciones, se realizan las medidas de las muestras que se pretenden analizar, en la Figura 4 se puede observar un ejemplo de uno de los espectros obtenidos como respuesta, el espectro corresponde a una muestra de agua comercial que contiene 75 ppm de Ca y 30 ppm de Mg.

Figura 4, ejemplo del espectro obtenido por el sistema SIA,

6.3 DIAGNÓSTICO en la determinación simultánea de Ca y Mg mediante un sistema automatizado SIA.

En el sistema SIA desarrollado, interesa que el módulo diagnosis actúe de forma que no permita avanzar al sistema analítico en el proceso de análisis y tratamiento

del espectro registrado, sin antes asegurar que el espectro obtenido es correcto. Con esta finalidad, es necesario que el módulo sea capaz de:

- a) reconocer si el espectro obtenido es correcto o no,
- b) si no es correcto, que sea capaz de asignarle la causa que lo ha generado, aspecto que correspondería a la diagnosis propiamente dicha.
- c) una vez diagnosticada la causa, que comunique al usuario la posible solución al problema, para poder continuar el análisis.

En la determinación simultánea de Ca y Mg mediante un análisis de inyección secuencial en un flujo sinusoidal y con detección espectrofotométrica, las posibles causas experimentales que se han considerado, por las que el espectro obtenido resulta incorrecto o defectuoso han sido las siguientes:

- a) porque la concentración de los analitos en la muestra, es inferior o superior a los límites para los que se han establecido las condiciones de medida. En esta situación, se obtiene un espectro con unos valores de absorbancia respectivamente inferiores o superiores a aquellos para los que se considera correcto (Figura 16, del capítulo 5).
- b) por problemas en el flujo, debido principalmente a la generación de burbujas de aire. La presencia de burbujas suele dar lugar a dos tipos de espectros, espectros con valores de absorbancia muy inferiores o espectros prácticamente planos a valores de absorbancia muy superiores a los considerados correctos.
- c) por problemas del detector, que da lugar a espectros con picos espúreos.

Por lo tanto cuando se está llevando a cabo una medida en el sistema SIA, las situaciones con las que se puede encontrar el usuario son en total cinco:

1. Que el espectro sea representativo de la concentración que se espera del analito en la muestra; es lo que se ha denominado espectros correctos.
- Que el espectro sea defectuoso debido a:
 2. que la muestra contiene una concentración inferior de Ca y Mg.
 3. que la muestra contiene una concentración superior de Ca y Mg.
 4. la presencia de burbujas de aire en el flujo.
 5. la presencia de picos espúreos en el mismo.

Cada una de estas cinco situaciones constituyen una clase, que deben ser reconocidas y diferenciadas entre sí. En este trabajo, se ha planteado el establecimiento de las cinco clases mediante la aplicación de Redes Neuronales [28], aspecto que se comentará en profundidad en el apartado resultados (página 178). Una vez se han establecido y diferenciado las clases, el siguiente aspecto a considerar en este módulo, es la relación entre *la clase* a la que pertenece un determinado objeto, con *la causa* que lo ha generado. La estrategia diseñada para el establecimiento de dicha relación es mediante un sistema experto basado en normas condicionales del tipo (Figura 5):

Figura 5, normas que relacionan el síntoma (clase) con la causa.

```
if class = 1 then
  cause = correct spectrum
endif.
if class = 2 then
  cause = low concentration.
endif.
if class = 3 then
  cause = high concentration.
endif.
if class = 4 then
  cause = bubbles.
endif.
if class = 5 then
  cause = spurious noise.
endif.
```

En función de la causa encontrada, el sistema experto comunica al usuario mediante un comando "explain" la posible solución que deberá de aplicar (Figura 6). Así, en el caso de que el espectro corresponda a la clase 2 ó a la 3, el sistema indica que la concentración de los analitos en la muestra es respectivamente inferior o superior al intervalo para el cual se han establecido las condiciones de medida y que por lo tanto se debe trabajar en otras condiciones. En este caso el sistema conectaría con el módulo configuración, donde, de forma automática se ejecutarían las nuevas condiciones de medida.

Si el espectro pertenece a la clase 4, el sistema indica al usuario que hay burbujas en el sistema de flujo, ya sea en el reactor o en la celda de flujo, y que éstas deben ser eliminadas y posteriormente se ha de repetir la medida en las mismas condiciones. El nuevo espectro obtenido después de eliminar las burbujas vuelve a iniciar la secuencia hasta ahora descrita. De modo similar, si el espectro pertenece a la clase 5,

es que presenta picos espúreos y por lo tanto se debe revisar el detector y repetir la medida.

Si el espectro ha sido reconocido como correcto y por lo tanto perteneciente a la clase 1, el sistema principal indicará al usuario que puede proceder a la cuantificación, por lo que retorna al sistema principal el cual conectará con el módulo calibración.

Figura 6, atributos "class" y "cause" del sistema experto, módulo diagnosis.

```

attributes:

class: real.

cause: sgl
(correct spectrum {explain: "There is a correct spectrum, it can be used for a subsequent",
"analysis in order to carry out the quantification of Ca and Mg."}),

low concentration {explain: "Fault spectrum, due to the low concentration of the analytes",
"in the sample. For this reason you should work with another conditions given by the",
"configuration module."},

high concentration {explain: "Fault spectrum, due to the high concentration of the analytes",
"in the sample. For this reason you should work with another conditions given by the",
"configuration module."},

bubbles {explain: "Fault spectrum, due to the presence of bubbles in the flow system;",
"before continuing the analysis they must be eliminated and the measurement repeated in",
"the same conditions."},

spurious noise {explain: "Fault spectrum, due to the presence of spurious noise. It might",
"be caused by some kind of malfunction in the UV-Vis detector; you must check it and",
"then repeat the measurement in the same conditions."}).

```

6.3.1 DIFERENCIACIÓN DE LAS SITUACIONES A DIAGNOSTICAR.

La diferenciación de las cinco clases o situaciones descritas, se ha enfocado como un problema de **clasificación** mediante la aplicación de redes neuronales. En este capítulo se presentan los primeros estudios realizados y se ha creído conveniente incluir una breve introducción teórica a las redes neuronales antes de proceder a describir su aplicación.

En el grupo de investigación en el que se ha desarrollado la presente Tesis, se continúa en el estudio y aplicación de las redes neuronales tanto como técnica de clasificación como de predicción, por lo que los resultados que se comentarán probablemente serán susceptibles de **mejora**.

6.3.1.1 INTRODUCCIÓN TEÓRICA A LAS REDES NEURONALES.

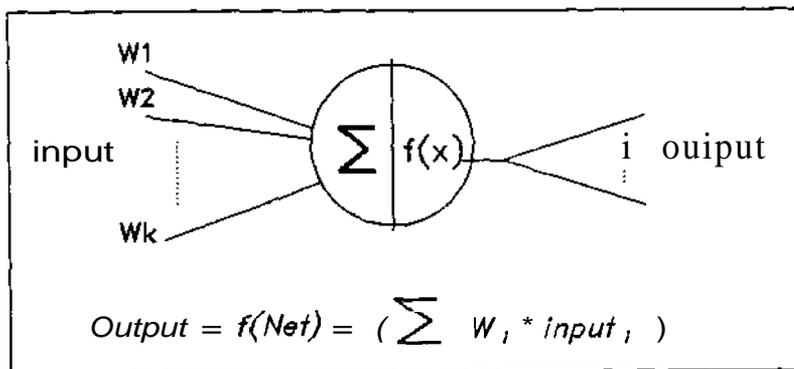
Las redes neuronales forman parte del amplio campo de la inteligencia artificial y básicamente pretenden simular matemáticamente el funcionamiento del sistema nervioso biológico [20,26,29]. La aplicación de redes neuronales está siendo de gran interés en los últimos años como una herramienta muy útil en el reconocimiento de imágenes, problemas de clasificación, calibración, etc; profundizando en las ventajas que presentan frente a otras técnicas de clasificación más clásicas como son los métodos estadísticos y métodos de reconocimiento de modelos (métodos de clustering, análisis de componentes principales, etc.) cabe destacar que [30]:

- 1) son sencillas de generar.
- 2) tienen capacidad de trabajar con un número elevado de variables.
- 3) son útiles cuando no existe linealidad entre las variables que se miden y la respuesta que se pretende reconocer.
- 4) tienen capacidad de autoaprendizaje.
- 5) útiles cuando los datos presentan un elevado contenido de ruido de fondo.
- 6) presentan tolerancia a los errores en los datos de entrada.
- 7) no son modelos matemáticos explícitos, aunque durante su desarrollo sí utilizan algoritmos matemáticos.
- 8) pueden procesar los datos de entrada en paralelo.
- 9) utilizan funciones de transferencia no lineales.

A la hora de describir las redes neuronales unas de las primeras preguntas que cabe plantearse es *¿Qué son?* y *¿Cómo funciona una red neuronal?*. Las redes neuronales se han definido como "modelos empíricos de entradas y salidas apropiados para modelar relaciones complejas de múltiples entradas y múltiples salidas" [18]. Estos modelos empíricos implican un conjunto de algoritmos y modelos matemáticos, diseñados de forma que imitan el procesamiento de la información y la adquisición de conocimiento que tiene lugar en un organismo vivo y en concreto en el cerebro humano [26, 31]. De aquí se deduce que el proceso seguido, esto es su funcionamiento, es similar al de las neuronas humanas aunque hay que resaltar que el énfasis en el término "red neuronal" hay que ponerlo más en la palabra *red* que en la palabra *neurona* [26].

Basándonos en el conocimiento del funcionamiento de una neurona humana, ésta es concebida como una unidad de operación, la cual a partir de muchos estímulos externos genera una respuesta. De modo similar actúan las unidades básicas de una red neuronal denominadas por analogía *neuronas*. Así y como queda esquematizado en la Figura 7, los estímulos externos corresponden a las diferentes variables de entrada, también denominadas entradas ("inputs"), los w_i son los coeficientes de ponderación o pesos "weights" y representan la importancia asociada a cada entrada y finalmente, la respuesta generada es la salida de la neurona también denominada salida ("output") y que a su vez puede dirigirse a una o varias neuronas de la siguiente capa.

Figura 7, unidad de operación básica de una red neuronal (neurona).

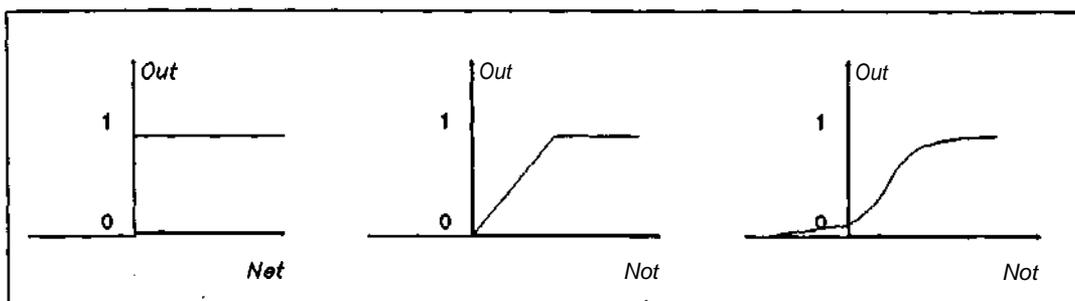


Como también se observa en la Figura 7, una vez la neurona ha recibido toda la información, expresada como suma ponderada de todas las entradas, $Net = \sum (W_i * input_i)$, se aplica una transformación no lineal denominada función de transferencia " f ", la cual produce el

resultado o salida de la neurona. La función de transferencia transforma la señal de entrada Net , en un valor de salida Out comprendido entre 0 y 1. Existen diversas funciones de transferencia siendo las más ampliamente utilizadas en redes neuronales las que se muestran en la Figura 8, ya que reúnen dos características importantes como son [26]:

1. son funciones continuas.
2. no son linealmente dependiente de la señal de entrada.

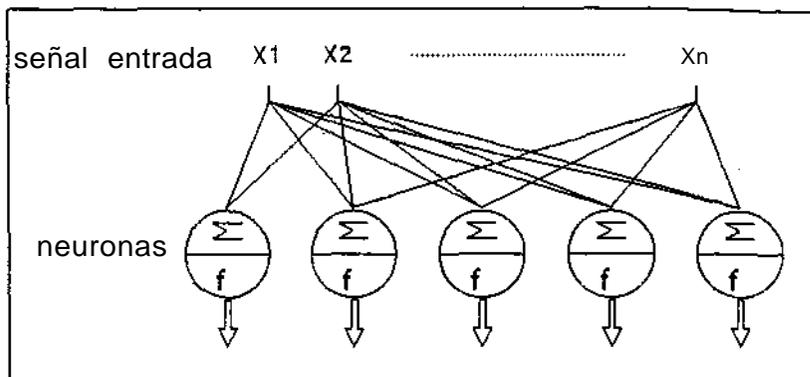
Figura 8, funciones de transferencia.



Siguiendo el símil de las neuronas del cerebro humano, los estímulos externos se reciben simultáneamente en muchas neuronas y se procesan independientemente en cada una de ellas, característica conocida como procesamiento en paralelo. La simultaneidad en la entrada de los datos en muchas y diversas neuronas de un red neuronal queda reflejado en la Figura 9,

de manera que la estructura de entrada a una red neuronal consiste en un conjunto de neuronas organizadas de tal manera que todas reciban la misma información.

Figura 9, entrada simultánea en una red neuronal.



De igual modo que en el cerebro humano, las neuronas de la red, están conectadas entre sí de alguna manera, de forma que los datos de entrada pasan a través de esas conexiones y se distribuyen y transforman para producir la/s salida/s asociada/s a cada situación que se va reconociendo. Por lo tanto podemos decir que las redes neuronales consisten en una serie de unidades de operación o neuronas conectadas en una red [26,13].

El *proceso de aprendizaje* de la red consiste en el cálculo de los valores de los pesos w_i mediante un proceso iterativo, de tal forma que al final éstos se asocian a cada una de las situaciones definidas como salidas de la red. El proceso iterativo viene definido por el número o ciclo de iteraciones ("epochs"), que pueden oscilar entre 20 y 100.000. Un ciclo de iteraciones implica que todos los objetos que constituyen el conjunto de entrenamiento se introducen en la red y se calcula una primera estima de los pesos; en la siguiente iteración vuelven a introducirse todos los objetos y se reajustan los pesos, y así **sucesivamente**.

El proceso de aprendizaje puede llevarse a cabo mediante un análisis supervisado o no supervisado de los datos, siendo en ambos casos necesario dividir el conjunto original de los datos en un conjunto de entrenamiento ("training set") con el que se establecen los coeficientes de ponderación mencionados (w_i) y un conjunto de prueba o evaluación ("test set") con el que se evalúa la bondad del modelo de red construido.

La *bondad de la red* normalmente se evalúa en función del error medio cuadrático RMS ("Root Mean Square") tanto del conjunto de entrenamiento como del conjunto de prueba [29,20]. El RMS se define como el sumatorio de los cuadrados de las diferencias entre el valor esperado y el predicho por la red.

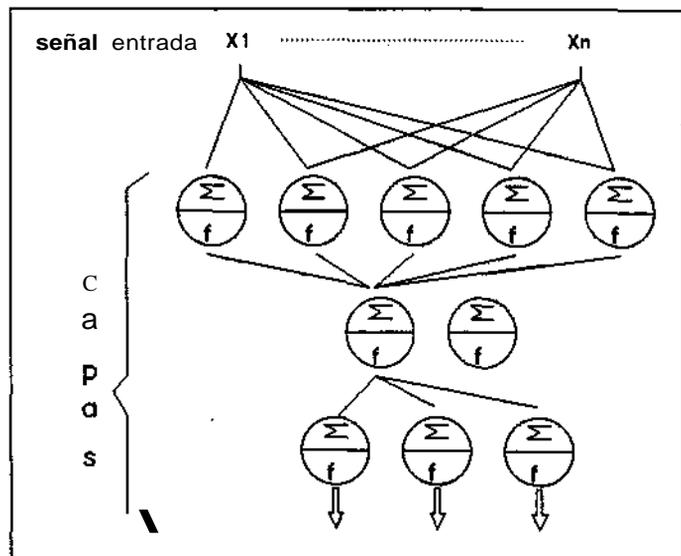
$$RMS = \sqrt{\frac{\sum_{s=1}^{n_i} \sum_{i=1}^n (y_{s:i} - Out_{si})^2}{n_i n}}$$

siendo y_{si} el componente i de la respuesta esperada y Out_{si} el de la respuesta dada por la red, ambos para el vector de entrada s ; n_i el n° de entradas y n el de salidas.

El error RMS en el entrenamiento indica la *capacidad de recordar* los datos presentados, esto es de establecer el modelo mientras que el error RMS del conjunto de prueba indica la *capacidad de predicción* o bondad del modelo.

Existen diferentes tipos de redes siendo el más comúnmente utilizado el modelo en capas [26,29] (Figura 10). En una red en capas, las neuronas se dividen en grupos de manera que las que pertenecen a una misma capa no están interconectadas entre sí, están únicamente conectadas a las neuronas de la capa inferior o superior. Hay redes de una o varias capas, pero **todas** tienen siempre una capa de entrada ("input layer") y una capa de salida ("output layer"); las capas intermedias ("hidden layer") y el número de ellas es una característica del tipo de red utilizada.

Figura 10, topología de las redes en capas.



Algunas características que diferencian unas redes de otras y las hacen más idóneas para una determinada aplicación, son:

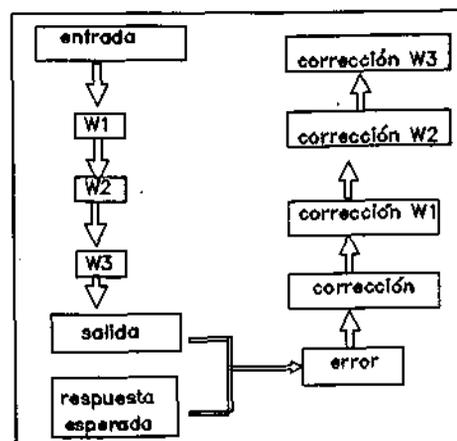
- el tipo de problema que se va a afrontar, básicamente son problemas de clasificación, asociación, obtención de mapas y más recientemente de modelización y calibración.
- el tipo de arquitectura o topología de la red, que depende del nº de neuronas de entrada y de salida, nº de capas y nº de neuronas en cada capa y del modo de conexión entre las neuronas de distintas capas.
- empleo de una técnica de análisis supervisado o no supervisado para efectuar el entrenamiento o aprendizaje de la red.
- el tipo de función de transferencia utilizada.
- etc.

Cabe resaltar que ninguna de las características mencionadas son excluyentes entre sí y que desde el punto de vista químico estamos interesados en la primera de ellas, esto es en *el tipo de problema que se va a afrontar*. Como ya se ha indicado en la introducción al capítulo, la diagnósis se puede plantear como un problema de clasificación y para ello, las redes más adecuadas parece que son las del tipo Back-Propagation [32,33], Kohonen [34,35] y Counter-Propagation [36,37]. A continuación se exponen algunas de las características más importantes de cada una de las redes citadas.

Back - Propagation of Errors

Es la red neuronal más ampliamente utilizada en problemas de clasificación [26,29]. Back-propagation, más que responder al nombre de una red neuronal es un método de aprendizaje, una estrategia para corregir los pesos basada en un algoritmo que corrige los pesos de cada capa de neuronas a partir del error obtenido en la capa inmediatamente inferior de manera que, la corrección se aplica a través de las distintas capas empezando por la última capa y continuando hacia atrás hasta la primera capa (Figura 11). Back-Propagation, sigue un proceso de *aprendizaje supervisado*, por lo que junto con los valores de entrada se deben introducir las respuestas esperadas o "target" (Figura 11), para ir comparándolo con la salida que proporciona la red y minimizar el error RMS.

Figura 11, representación esquemática de la corrección de los pesos.



La topología o arquitectura de la red es de *múltiples capas* activas; la primera capa corresponde a los valores de las variables de entrada a la que normalmente se le añade una neurona adicional o *Bias* con el fin de proporcionar mayor flexibilidad a la red, mayor capacidad de adaptación al problema planteado; esta neurona siempre se introduce en la red con valor numérico 1. Así mismo, en este tipo de red, las variables a modificar con el fin de mejorar el error RMS son el número de capas, el n° de neuronas en cada una de ellas, el modo de conexión que puede ser total o parcial y la velocidad de aprendizaje.

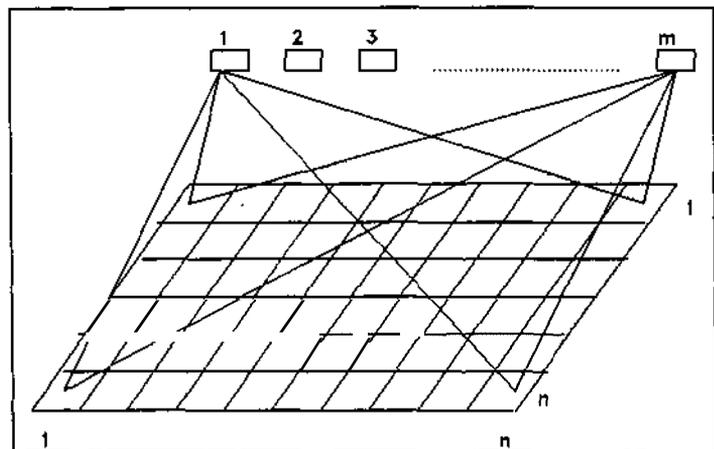
Kohonen

El objetivo principal de la red de Kohonen, es la representación de los objetos en un espacio **bi-dimensional**, por lo que es una red de *una única capa activa*. Los objetos vienen representados por un vector *m-dimensional* correspondiente a las *m* variables de entrada y las representaciones o mapas de Kohonen consisten en un plano bi-dimensional y cuadrático de $n \times n$ neuronas (Figura 12), siendo siempre $n \times n$ menor que el número de objetos. Con esta representación, se pueden diferenciar e identificar los objetos semejantes entre sí, ya que dos objetos similares aparecen próximos en el mapa en términos de distancia.

El proceso de aprendizaje es de tipo *no supervisado* y *competitivo*, por lo que no requiere el conocimiento de la respuesta y cuando se introduce un objeto en la red, todas las neuronas de la capa compiten para ser activadas por la señal de entrada, pero sólo una es seleccionada. El método pretende organizar los objetos en el espacio

bidimensional de tal manera que las neuronas activadas por objetos similares están próximas en el espacio y por lo tanto forman un grupo. Una vez activada una neurona, la corrección de los pesos se lleva a cabo de manera que para cada objeto de entrada sólo se corrigen los pesos de las neuronas concéntricas que tiene alrededor.

Figura 12, arquitectura básica de una red de Kohonen.



Por lo que se refiere a la activación de una determinada neurona, existen diversos criterios para la elección de la "mejor" neurona, siendo el más ampliamente utilizado el de escoger aquella neurona cuyos pesos sean más similares a la señal de entrada, esto es, aquella neurona para la cual la diferencia entre los pesos asignados y la señal de entrada sea mínima.

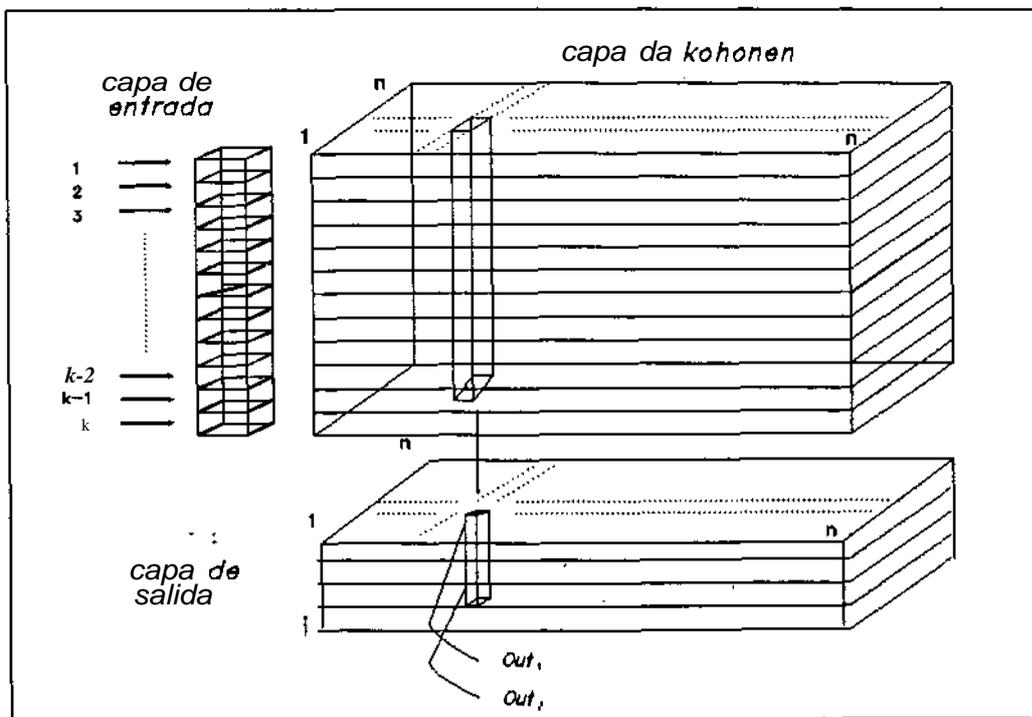
$$\text{Neurona seleccionada} \leftarrow \min \left\{ \sum_{i=1}^{\tilde{z}} (x_i - w_{i,j})^2 \right\}$$

siendo i las variables de entrada y j el índice de la neurona.

Counter - Propagation

La estrategia de aprendizaje del modelo de Counter-Propagation es básicamente un aprendizaje de Kohonen aumentado, ya que ésta red se obtiene añadiendo una segunda capa de neuronas a una red de Kohonen; por lo tanto consiste en una red de *dos capas activas* ambas con el mismo número de neuronas $n \times n$, (Figura 13).

Figura 13, arquitectura básica de una red neuronal de counter-propagation.



La principal diferencia respecto a la red de Kohonen es que el proceso de aprendizaje es *supervisado*, ya que en la segunda capa adicional se procesan las respuestas

esperadas o "target". El proceso que experimentan los objetos en la capa de Kohonen es exacto al descrito en la red de Kohonen, esto es, cuando un objeto entra en la capa, se selecciona y activa la mejor neurona y se procede a la corrección de los pesos de las neuronas vecinas del modo previamente descrito. Una vez finalizada la corrección en la capa de Kohonen, el vector de la respuesta es una entrada en la segunda capa adicional. Pero el valor del target no entra en todas las neuronas de la capa de salida sino únicamente en aquella para la cual la capa de Kohonen se ha activado. Una vez seleccionada la neurona de salida en la que entra el vector respuesta tiene lugar la corrección de los pesos de las neuronas de salida del mismo modo descrito para las entradas de las X en la capa de Kohonen, esto es, minimizando la diferencia.

6.3.1.2 PARTE EXPERIMENTAL

Instrumentos y aparatos:

El instrumental utilizado para la determinación de Ca y Mg, así como los parámetros instrumentales y condiciones de medida son los expuestos en el capítulo 5, por lo que obviamos especificarlos.

Muestras:

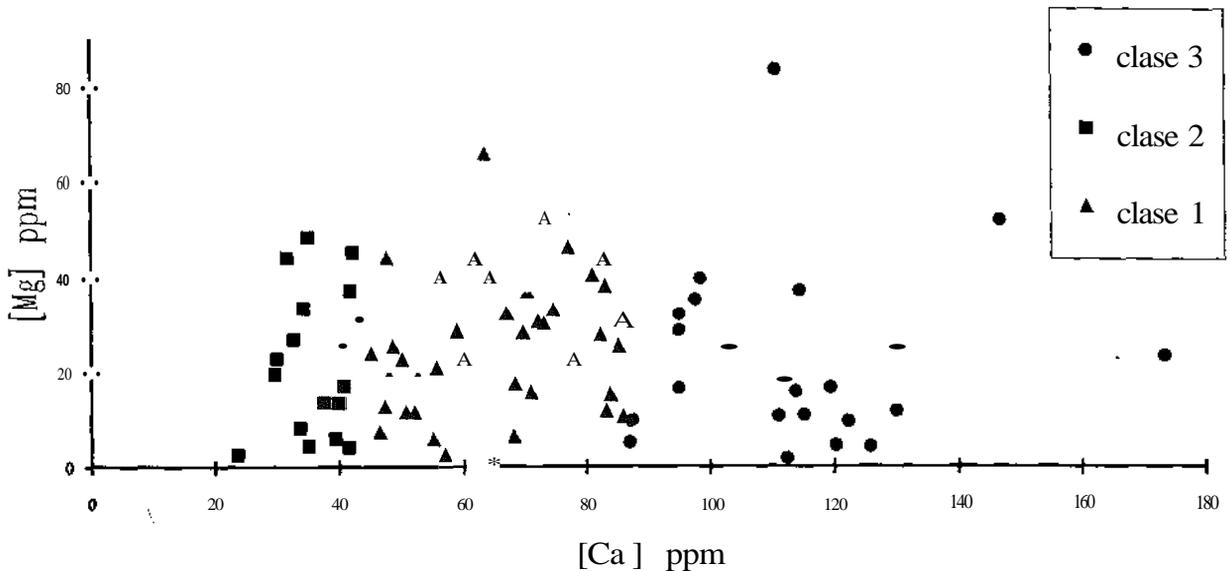
Para llevar a cabo el proceso de diagnosis en el sistema SIA, se han utilizado un total de **140** muestras de agua, distribuidas de manera que sean representativas de las cinco clases que se quieren diagnosticar, esto es:

Clase	tipo de espectro	nº muestras	numeración
1	correcto	43	1 - 43
2	concentración baja	18	44 - 61
3:	concentración alta	23	62 - 84
4	burujas	33	86 - 117
5	picos espúreos	23	117 - 140

El conjunto de muestras que constituyen la clase 1, está formado por un total de 43 muestras de las cuales 29 corresponden a las previamente utilizadas en el capítulo 4 de la tesis y el resto se han obtenido comercialmente o mediante mezclas de

éstas. Las muestras que constituyen las clases 2 y 3, se ha obtenido a partir de aguas comerciales, mediante mezclas de éstas y también añadiendo alíquotas de disoluciones estándar de Ca y Mg con el fin de conseguir una distribución homogénea de las muestras. En la Figura 14, se indica como quedan distribuidas las muestras de las clases 1, 2 y 3.

Figura 14, distribución de las muestras.



La concentración de Ca y Mg en todas las muestras que constituyen las clases 1, 2 y 3, se ha determinado experimentalmente mediante el sistema SIA desarrollado y se ha comprobado la exactitud de los valores obtenidos mediante la determinación de las mismas por espectrofotometría de absorción atómica.

Las muestras correspondientes a las clases 4 y 5, como corresponden a espectros defectuosos, ya sea por que se han obtenido con burbujas en el flujo o por que presentan picos espúreos, son espectros defectuosos que se obtuvieron experimentalmente al realizar los análisis por SIA de las muestras pertenecientes a las clases 1, 2 y 3.

Soportelógico:

Redes Neuronales: Los programas utilizados han sido desarrollados en la Universidad de Ljubljana y corresponden a los distintos tipos de redes utilizadas en la presente Tesis.

a) Back-propagation [32,33]

b) Counter-propagation [36,37]

c) Kohonen [34,35]

Programas en Turbo Basic: ha sido necesario el desarrollo de pequeños programas para la lectura e interpretación de los ficheros obtenidos, estos programas han sido desarrollados en nuestro laboratorio. La versión **.BAS** se incluye en el diskette anexo.

- a) **UNSC.EXE**, programa para la modificación de los ficheros de salida del espectrofotómetro, que contienen los valores de absorbancia de las muestras analizadas, con el fin de acondicionarlo para poder ser introducido en los programas de las redes neuronales.
- b) **ANN.EXE**, programa para la modificación e interpretación del fichero que contiene las salidas de la red neuronal entrenada, es decir, se lleva a cabo el reconocimiento de a qué clase pertenece un determinado objeto.

6.3.1.3 RESULTADOS

En la discusión de cada una de las redes utilizadas se especifican las distintas posibilidades que ofrece el tipo de red en lo que respecta a la arquitectura, pretratamiento de los datos etc. Los datos que se introducen en las redes neuronales pueden normalizarse [21]; sin embargo tratándose de datos espectrales en los que todos presentan el mismo intervalo de variabilidad la normalización no es necesaria y por lo tanto no se ha efectuado en el presente trabajo.

Otro aspecto importante y que se discute en cada una de las redes utilizadas es la elección del conjunto de entrenamiento y conjunto de prueba ya que "una buena elección del conjunto de entrenamiento, consiste en un razonable grupo de objetos que constituyan una buena representación del dominio" [18], esto es, que recojan la máxima variabilidad de la información que se pretende diferenciar.

Una vez entrenada la red, se debe comprobar la validez de la misma para llevar a cabo el proceso de clasificación, validez que se comprueba en función de los resultados obtenidos con los objetos del conjunto de prueba [18]. El análisis de los resultados de las redes entrenadas se ha efectuado en función del error RMS como medida cuantitativa, pero al mismo tiempo se ha realizado un estudio cualitativo de la clasificación o distribución de los objetos en las distintas clases. Las redes clasifican a los objetos en una determinada clase asignándoles valores comprendidos entre 0.0 y 1.0, de manera que cuando a un objeto se le asigna un valor próximo a 1.0, está indicando que la probabilidad

de que pertenezca a esa clase es máxima, mientras que si es próximo a 0.0 la probabilidad es nula.

1) Estudio de la diferenciación con una red neuronal de tipo *Back-Propagation*:

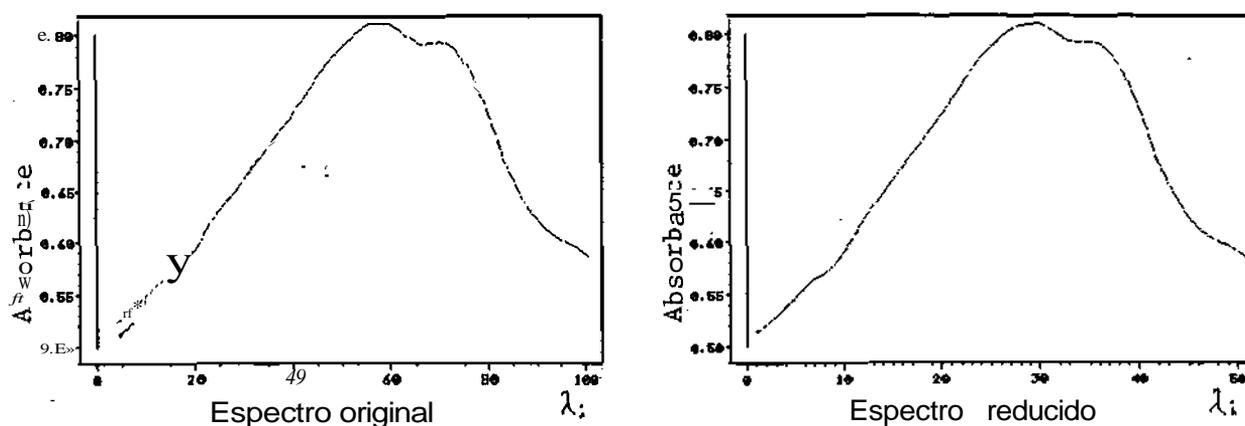
Los primeros estudios se llevaron a cabo con *Back-propagation* por ser la más ampliamente utilizada en problemas de clasificación [26,29].

Pretratamiento de los datos:

Dado que en el programa de redes neuronales de *Back-Propagation* del que se dispone, el número de variables de entrada no puede ser superior a 70, se efectuó una reducción de las 101 variables originales, que corresponden a los valores de absorbancia entre 450 y 650 nm y registrados cada 2 nm. Para llevar a cabo dicha reducción se buscó un modo que alterara o modificara mínimamente la forma del espectro ya que como se ha indicado, la diferenciación de las situaciones se lleva a cabo en función de la forma o imagen de éste.

El modo elegido ha sido el de aplicar el método de suavizado conocido como "moving average" con $n = 2$ [38], mediante el cual se promedian los valores de absorbancia cada dos longitudes de onda obteniendo de esta manera la mitad de las variables de entrada. En la Figura 15, se muestra, a modo de ejemplo, la alteración sufrida por uno de los espectros en estudio.

Figura 15, efecto de la modificación sufrida por un espectro.



Establecimiento de las clases:

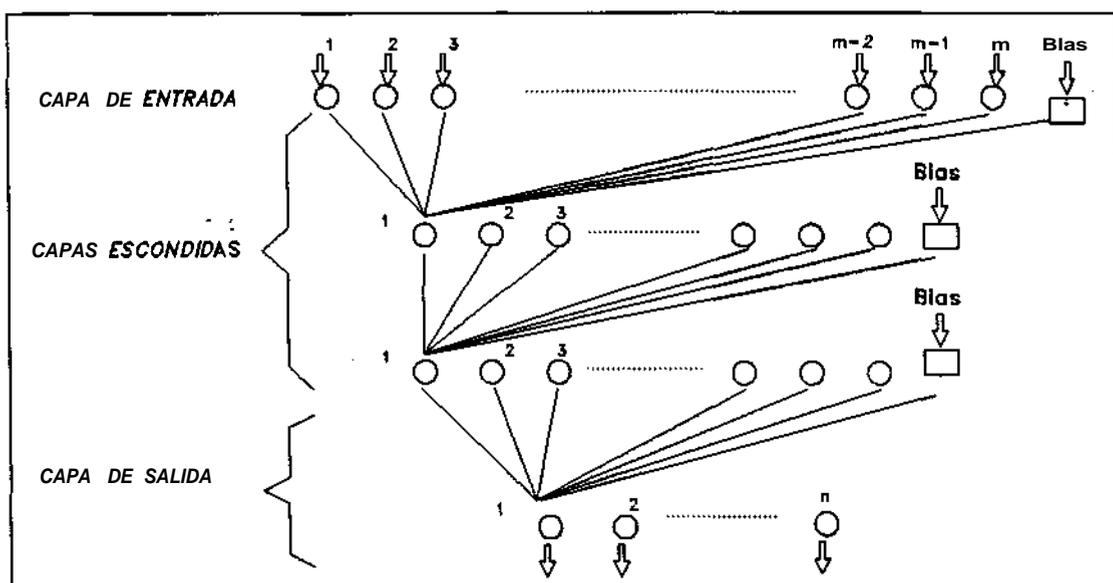
Para llevar a cabo esta etapa, se procedió a la división del conjunto de los 140 objetos, en el conjunto de entrenamiento y el conjunto de prueba. Para el conjunto de entrenamiento, se eligieron aleatoriamente un total de 73 objetos representativos de las cinco clases a diferenciar y el conjunto de prueba quedó formado por los restantes 67 objetos según la siguiente distribución:

	Clase1	Clase2	Clase3	Clase4	Clase5	Total
Conjunto de entrenamiento	20	10	10	18	15	73
Conjunto de prueba	23	8	13	15	8	67

Diferenciación de las cinco situaciones con una red neuronal.

Se han entrenado varios modelos de red Back-Propagation, en todas ellas se han utilizado el pretratamiento de los datos y la división en el conjunto de entrenamiento y de prueba precedentemente descritos. Todas las redes entrenadas constan de una capa de entrada con 51 neuronas que corresponden a las variables de entrada promediadas, y de una capa de salida con 5 neuronas correspondientes a cada una de las cinco clases que se pretende diferenciar. Las variaciones introducidas de un modelo a otro, que se especifican más adelante, han sido en el número de capas intermedias y en el n° de neuronas en dichas capas. Así en general, la topología de las redes entrenadas es la que se muestra en la Figura 16, donde $m = 51$ y $n = 5$.

Figura 16, topología general de una red de tipo back-propagation.



La primera red entrenada consta de una capa escondida de 30 neuronas. Un análisis de como quedan clasificados los objetos con esta red, indica que no reconoce o diferencia significativamente bien ninguna de las cinco clases ya que los objetos quedan clasificados con una probabilidad muy similar y con valores bajos del orden de 0.3, en cada una de ellas. En la Tabla 1 se muestran los valores promedios de clasificación de los objetos en cada clase; los correspondientes a la clase real a la que pertenecen los objetos del conjunto de entrenamiento se señalizan en negrita.

En la Tabla 2 se recogen los errores RMS obtenidos en la diferenciación de cada clase, observando en todas ellas valores muy bajos y similares entre sí, lo que constata que con este tipo de red no hay ninguna clase que quede bien diferenciada de las demás. Por esta razón se han omitido incluir los valores del error RMS para el conjunto de prueba ya que éstos no aportarían más información.

Tabla 1, valores promedio de la clasificación de los objetos del conjunto de entrenamiento.

Red/Real	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5
Clase 1	0.29	0.29	0.47	0.23	0.30
Clase 2	0.25	0.32	0.32	0.34	0.20
Clase 3	0.30	0.28	0.51	0.21	0.24
Clase 4	0.22	0.30	0.31	0.58	0.17
Clase 5	0.29	0.30	0.43	0.26	0.22

Tabla 2, error RMS en el conjunto de entrenamiento.

Clases	clase 1	clase 2	clase 3	clase 4	clase 5	Total
RMS	49.50	35.32	36.20	26.54	46.44	39.67

Ante los resultados encontrados se intentaron otras estructuras de la red; en un primer estudio se aumentó el número de neuronas de la capa escondida de 30 a 51 pero no se obtuvieron resultados significativamente diferentes a los anteriores. También se estudió el aumentar a dos el número de capas escondidas, cada una de ellas con 30 neuronas.

En este caso (Tabla 3, valores promedios de clasificación), los objetos quedan mayoritariamente clasificados y con valores ligeramente superiores, entre la clase a la que pertenecen y la clase 5. Los objetos de la clase 4 quedan clasificados correctamente ya que presentan unos valores del orden de 0.8 y los de la clase 5 quedan aleatoriamente distribuidos entre todas las clases. Esto indica que con esta red se ha conseguido una cierta diferenciación de las clases, pero en todas ellas se observa una confusión con la clase 5 y unos valores de clasificación bajos, del orden de 0.3-0.4.

En cuanto al error RMS (Tabla 4), como cabía esperar, no se ha conseguido reducirlo significativamente, ya que los porcentajes con que se clasifican los objetos en las distintas clases siguen siendo bajos.

Tabla 3, valores promedio de clasificación de los objetos del conjunto de entrenamiento.

Red/Real	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5
Clase 1	0.39	0.14	0.20	0.26	0.43
Clase 2	0.25	0.49	0.12	0.22	0.44
Clase 3	0.42	0.10	0.36	0.25	0.44
Clase 4	0.28	0.09	0.10	0.84	0.42
Clase 5	0.39	0.11	0.28	0.24	0.43

Tabla 4, error RMS en el conjunto de entrenamiento.

Clases	clase 1	clase 2	clase 3	clase 4	clase 5	total
RMS	45.60	27.67	31.92	16.22	44.77	35.02

Diferenciación de la clase 5 del resto de las clases.

Ante los resultados obtenidos, se pensó en seguir otra estrategia de diferenciación. En concreto dado que la clase 5 es la que parece que interfiere en el resto de las clases puesto que todos los objetos presentan una importante contribución en la misma, se optó por intentar diferenciar primero los objetos pertenecientes a dicha clase para posteriormente pasar a la diferenciación de las cuatro clases restantes.

La interferencia que se observa de la clase 5 es en cierta manera lógica ya que cabe recordar que los objetos pertenecientes a dicha clase tienen la misma forma que los pertenecientes a las clases 1, 2 y 3, con la única diferencia de que presentan picos espúreos en el espectro y las redes neuronales diferencian en base a la forma o estructura de los datos de entrada que en este caso es el espectro. Además, una de las características mencionadas en la introducción teórica a las redes neuronales, es que son tolerantes al ruido de fondo por lo que se puede deducir que la red neuronal no distingue la presencia de picos espúreos en los espectros cuando éstos no poseen un tamaño significativo.

En este caso, la situación que queremos diferenciar es únicamente si los espectros presentan picos espúreos o no. Para ello la modificación introducida en la red respecto a las anteriores, es la reducción del número de neuronas de la capa de salida de 5 a 1 (Figura 16, con $m = 5$ y $n = 1$) ya que únicamente definimos una clase, esto es, una salida de la red.

Se entrenaron algunas estructuras de red, primero con una capa escondida de 30 neuronas y en un estudio posterior con 51. El error RMS encontrado en el entrenamiento es del 25.3% y del 24.8 % respectivamente. Aunque comparado con los resultados anteriores, el error se ha reducido considerablemente, sigue siendo elevado. El análisis de como se clasifican los objetos de la clase 5, indica que se clasifican en su clase, pero con unos valores del orden de 0.3 de pertenecer a otra clase, por lo que no se puede considerar que la clasificación sea suficientemente clara.

Ante los resultados encontrados con las redes entrenadas, más que seguir modificando los parámetros topológicos de las redes del tipo Back-Propagation se pensó en aumentar el número de variables de entrada que al hacer el promedio se había reducido de 101 a 51, ya que aunque la alteración sufrida por el espectro era mínima (Figura 15), implica una pérdida de cierta información original. Para ello, se pensó en la posibilidad de hacer una selección previa de aquellas variables que retengan más información, pero al tratarse de variables continuas por ser valores de absorbancia a longitudes de onda correlativas, a priori es difícil realizar dicha selección.

En consecuencia se optó por trabajar con las 101 variables originales, siendo en esta situación el número de variables siempre superior al número de objetos, ya que los 140 objetos se han de dividir en el conjunto de entrenamiento y de prueba. Por lo tanto y según los programas de que se disponen actualmente, se debe trabajar con otro modelo de red neuronal. En concreto se realizaron los estudios con el modelo de red de Counter-Propagation ya que permite trabajar con un número mayor de variables de entrada.

2) Estudio de la diferenciación con una red neuronal de tipo Counter-Propagation:

Al igual que en el estudio precedente, los resultados de las redes según el modelo de Counter-Propagation se analizan en función del error RMS como medida cuantitativa y se realiza un estudio cualitativo de como quedan clasificados los objetos del conjunto de prueba al ser introducidos en la red. De manera también similar al descrito anteriormente, la red neuronal clasifica los objetos en una determinada clase, asignándoles una contribución con valores entre 0 y 1, de manera que pertenece a aquella clase en la que le asigna un valor próximo a 1.0.

Diferenciación de las cinco situaciones con una red neuronal.

En un primer estudio se intentó separar las cinco clases con una única red neuronal, con el fin de estudiar el comportamiento de esta red frente a la de Back-propagation en la que los espectros de la clase 5 dificultaban la diferenciación entre las cinco clases.

Tratamiento de los datos:

En este caso no fue necesario efectuar ningún tratamiento previo de los datos, por lo que las variables de entrada son los valores de absorbancia originales a las distintas longitudes de onda. La distribución de los objetos en el conjunto de entrenamiento y el de prueba sigue siendo el descrito para las redes anteriores.

Análisis de las redes entrenadas:

La *topología* de la primera red tipo counter-propagation utilizada se muestra en la Figura 17. Consta de una primera capa de Kohonen de 9 x 9 neuronas, se escogió esta dimensionalidad ya que la dimensionalidad del plano o capa no debe ser superior al número de objetos y en este caso los objetos correspondientes al conjunto de entrenamiento son en total 79. -Así mismo la red consta de 101 variables de entrada y de cinco neuronas en la capa de salida correspondientes a las cinco situaciones que se pretende diferenciar.

Los resultados en clasificación para los objetos del conjunto de prueba se muestran en la tabla 5, en este caso se han seleccionado algunos objetos representativos del total de la clase y en la tabla se incluye el valor de la respuesta o "target", esto es el valor real de la clase a la que pertenece.

Figura 17, topología de la red counter-propagation de 101 x (9 x 9) x 5.

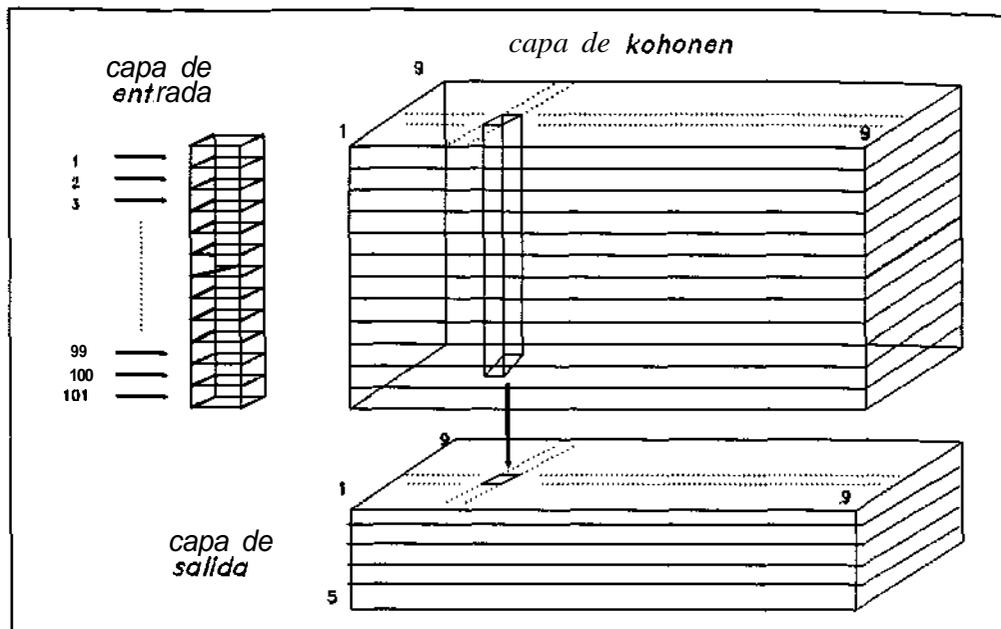


Tabla 5, algunos valores representativos de la clasificación de los objetos de prueba.

Red/Real	respuesta	objeto	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5
Clase 1	1.0	1	.05	.00	.03	.08	.83
	0.0	4	.14	.00	.00	.01	.86
	0.0	6	.91	.00	.00	.06	.03
	0.0	12	.66	.00	.00	.01	.32
	0.0	17	.99	.00	.00	.00	.00
Clase 2	0.0	18	.00	.99	.00	.00	.00
	1.0	19	.49	.50	.00	.00	.00
	0.0	21	.01	.99	.00	.00	.00
	0.0	22	.01	.99	.00	.00	.00
	0.0						
Clase 3	0.0	23	.51	.00	.49	.00	.00
	0.0	26	.05	.00	.92	.00	.03
	1.0	30	.01	.00	.99	.00	.00
	0.0	33	.49	.00	.51	.00	.00
	0.0						
Clase 4	0.0	36	.01	.02	.00	.97	.00
	0.0	38	.00	.00	.00	1.0	.00
	0.0	39	.01	.00	.00	.99	.00
	1.0	41	.00	.00	.00	.99	.00
	0.0						
Clase 5	0.0	48	.49	.50	.01	.00	.00
	0.0	50	.83	.00	.02	.11	.03
	0.0	52	.51	.00	.49	.00	.00
	0.0	53	.99	.00	.00	.00	.00
	1.0						

Los resultados obtenidos en función del error RMS y del estudio cualitativo de la clasificación de los objetos, indican una buena diferenciación entre aquellos pertenecientes a la clase 4 y el resto de las clases; mientras que se observan errores de clasificación entre los objetos de las clases 1,2 y 3. Con el fin de optimizar la diferenciación obtenida, se pensó en entrenar una red para diferenciar las cinco clases pero introduciendo como variables de entrada la primera derivada de los datos originales.

Estudio de la diferenciación de las cinco situaciones con una red de tipo counter-propagation y con la primera derivada de los datos originales.

Tratamiento de los datos:

Las variables de entrada corresponden a los valores de la primera derivada de los datos originales quedando por lo tanto reducidas a 100. Los resultados óptimos se obtuvieron según la distribución de los objetos en el conjunto de entrenamiento y conjunto de prueba obtenida apartir de la representación de los 140 objetos en un mapa de Kohonen de 100 x (12 x 12 neuronas) y escogiendo para el primero un objeto de cada una de las neuronas activadas en total 79 y quedando los 61 restantes para el conjunto de prueba según la siguiente distribución:

	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5	Total
Conjunto de entrenamiento	24	10	14	18	13	79
Conjunto de prueba	19	8	9	15	10	61

Análisis de la red:

La topología de la red es similar a la de la Figura 17, con 9 x 9 neuronas en la capa de Kohonen, 5 neuronas en la capa de salida y 100 variables de entrada. El error RMS para el conjunto de entrenamiento ha sido de un 18.2 % y el del conjunto de prueba de un 21.5 %. Por lo que respecta a la contribución con que quedan clasificados los objetos (Tabla 9), se observa una mayor definición de las clases ya que los objetos quedan clasificados con unos porcentajes más elevados de pertenecer a una determinada clase y además se ha reducido únicamente a tres el número de los objetos que por estar en el límite de concentración quedaban clasificados entre dos clases. Se han obtenido algunos errores en los objetos de la clase 1, 3 y 4. Como era de esperar los objetos de la clase 5 están todos correctamente clasificados y con valores elevados de 1.0.

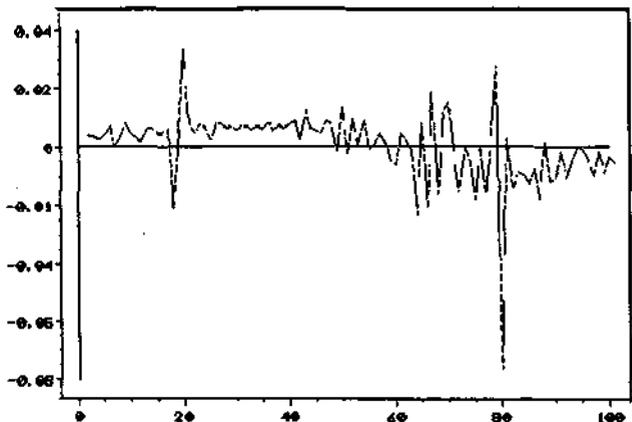
En dicha tabla se observa una correcta clasificación para los objetos de la clase 4 con unos valores elevados, del orden de 0.98; algunos errores entre los de las clases 1, 2 y 3 que quedan clasificados en dos clases distintas con valores aproximados de 0.5, y también cabe resaltar que los objetos de la clase 5 se clasifican todos incorrectamente, mayoritariamente asignados a la clase 1. Sin embargo, con este modelo de red de counter-propagation, sí se observan diferencias entre las clases y además se pone más en evidencia la dificultad que se encuentra de diferenciar los objetos pertenecientes a la clase 5; por ello se pensó en realizar algún tratamiento de los datos y retomar la estrategia de diferenciar individualmente los objetos pertenecientes a dicha clase. El error RMS del conjunto de entrenamiento es un 18.6% y del de prueba un 37.4%.

Diferenciación individual de la clase 5 realizando la primera derivada.

Tratamiento de los datos:

Ante los resultados encontrados hasta ahora, se planteó la posibilidad de efectuar alguna transformación de los datos originales de manera que se ponga más de manifiesto la diferencia debida a la presencia de picos espúreos en el espectro, esto es los objetos de la clase 5. Para ello se llevó a cabo la primera derivada de los datos originales siendo un ejemplo de la transformación sufrida en el espectro la que se muestra en la Figura 18, en la que puede observarse que los valores elevados corresponden a la presencia de los picos espúreos con lo que se ha conseguido pronunciar o resaltar su presencia.

Figura 18, ejemplo de modificación obtenida al realizar la primera derivada.



Análisis de la red:

La *topología* de la red entrenada con counter-propagation es similar a la descrita en la Figura 17 y consta de 9 x 9 neuronas en la capa de entrada, **100 variables** de entrada que corresponden a los valores de la primera derivada y 1 neurona en la capa de salida. En este caso el error de clasificación en el conjunto de entrenamiento es de un 0.03 % y el error en el conjunto de prueba es de un 1.9 % que indican una buena

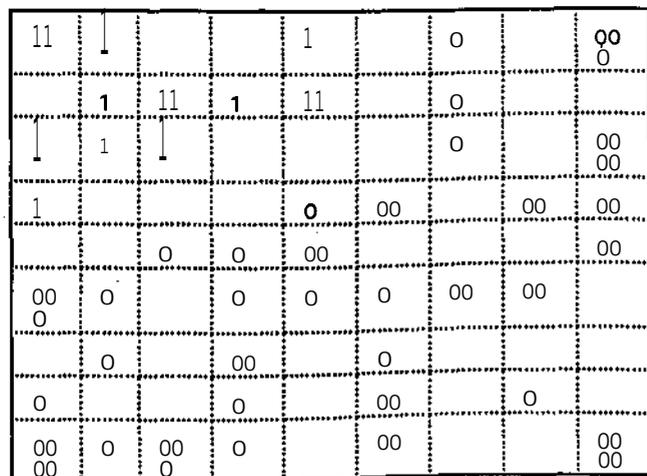
clasificación. En el estudio de la clasificación que realiza la red para el conjunto de prueba se observa que todos los objetos de la clase 5 han sido correctamente clasificados (Tabla 6) con valores de 1.0, y los objetos de las cuatro clases restantes han sido perfectamente diferenciados ya que les asigna valores de 0.0. De los resultados obtenidos, se puede deducir que la red neuronal entrenada puede actuar como técnica de clasificación adecuada para llevar a cabo la diferenciación de la clase 5, esto es, de los espectros que presentan picos espúreos.

Tabla 6, clasificación de los 67 objetos del conjunto de prueba.

Red/Real	Target	Clase 5								Total
Clase 1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	23
		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
Clase 2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	8	
Clase 3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	13
		0.0	0.0	0.0						
Clase 4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	15
		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
Clase 5	1.0	1.0	1.0	0.8	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8

Como en una red del tipo counter-propagation, la primera capa de neuronas corresponde a una capa de Kohonen, esto permite hacer una representación de la misma que indica cómo quedan distribuidos los objetos y por lo tanto cómo quedan diferenciados en clases en función de su proximidad o distancia en dicho plano (Figura 19). En dicha representación cada objeto está identificado por el número de la clase a la que pertenece y se observa realmente una clara diferenciación de los objetos pertenecientes a la clase 5 respecto de los de las otras cuatro clases, ya que aparecen agrupados en la esquina superior izquierda del plano.

Figura 19, representación de Kohonen para la diferenciación de la clase 5.



Diferenciación de las cuatro clases restantes.

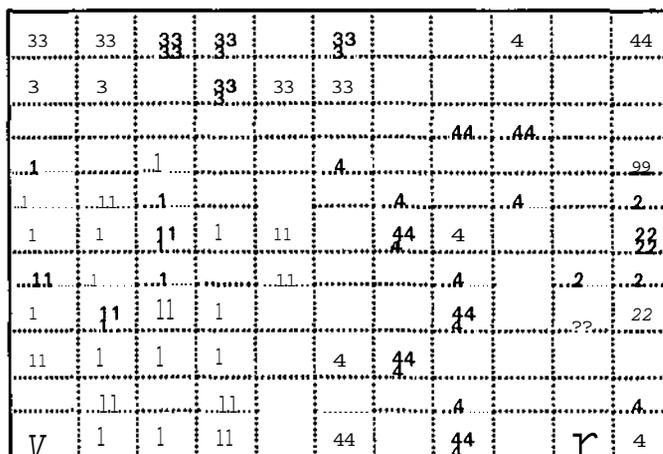
Una vez diferenciados los objetos de la clase 5, se procedió a la clasificación y diferenciación de las clases restantes, 1, 2, 3 y 4 entre sí.

Tratamiento de los datos:

Las variables de entrada utilizadas en este caso son los 101 valores de absorbancia originales, esto es, sin realizar ninguna transformación de las mismas. Por lo que respecta a los objetos, como la clase 5 ya se ha diferenciado del resto de las clases, de la matriz original de los datos que es 140 x 101, se deben eliminar los 23 objetos correspondientes a la clase 5, 15 considerados en el conjunto de entrenamiento y 8 en el de prueba, de manera que se obtiene una matriz de datos 117 x 101.

Dados los buenos resultados que parece se obtienen con el modelo de counter-propagation, en este caso se dividieron los objetos para el conjunto de entrenamiento y el conjunto de prueba según su distribución en un mapa de Kohonen (Figura 20) de 11x11 neuronas en la primera capa. El número de neuronas en cada lado de la capa de Kohonen, se ha aumentado a 11, ya que interesa ver como quedan distribuidos los 117 objetos que constituyen la matriz de datos y que posteriormente se dividirán en el conjunto de entrenamiento y de prueba.

Figura 20, mapa de Kohonen para la distribución de los objetos de las clases 1-4.



Para el conjunto de entrenamiento se escogió un objeto de cada una de las neuronas activadas **resultando** en total 65 objetos, mientras que para el conjunto de prueba se escogieron los restantes 52 objetos, distribuidos de la siguiente manera:

	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Total
Conjunto de entrenamiento	29	7	10	19	65
Conjunto de prueba	14	11	13	14	52

Análisis de la red:

La *topología* de la primera red entrenada es similar a la que se muestra en la Figura 17, con 9 x 9 neuronas en la capa de Kohonen ya que el conjunto de entrenamiento está formado por 65 objetos y 4 neuronas en la capa de salida correspondientes a la cuatro clases que se pretenden diferenciar, esto es, las clases 1, 2, 3 y 4.

Con esta estructura se entrenaron varias redes modificando los parámetros que mejoran la red (número de iteraciones y velocidad de aprendizaje), los resultados encontrados en función del error RMS tanto para el conjunto de entrenamiento como para el de prueba, se muestran en la tabla 7:

Tabla 7, resultados de las redes entrenadas tipo Counter-Propagation de 9x9 neuronas, en función del n° de iteraciones.

RED	n° iteraciones	RMS % entrenamiento	RMS % prueba
1	50	20.6	30.3
2	75	18.5	29.4
3	100	18.1	28.7
4	300	13.2	29.8
5	400	18.1	30.7

La cuarta red es la que presenta los errores menores en entrenamiento. Los resultados de clasificación de esta red se detallan en la Tabla 8. Un análisis de éstos permite observar que:

- los objetos de la clase 4, que son espectros debidos a la presencia de burbujas, se clasifican todos correctamente con contribuciones próximas a 1.0.
- existen algunos objetos que tienen probabilidades semejantes (valores del orden 0.5) de pertenecer a dos clases. Un análisis de estos objetos, permite observar que son muestras cuya concentración en Ca y Mg se sitúa en los límites de definición de ambas clases, en este sentido las consecuencias de este error son relativas.

- hay dos objetos de la clase 1 y dos de la clase 3, que tienen una probabilidad claramente superior de pertenecer a otra clase. Se observó que estos objetos también se sitúan en los límites de definición de ambas clases.
- solamente un objeto que se podría considerar representativo de la clase 3, se clasifica mal y con la misma probabilidad en la clase 1 y en la 2.

Tabla 8, clasificación de los objetos correspondientes a la red n° 4 de la Tabla 7.

Red/Real	Target	Clase 1				Clase 2				Clase 3				Clase 4			
Clase 1	1.0	.52	.99	.73	.74	.48	.00	.00	.00	.00	.00	.17	.26	.00	.00	.09	.00
	0.0	1.0	.01	.52	.51	.00	.00	.48	.00	.00	.99	.00	.49	.00	.00	.00	.00
	0.0	1.0	1.0	.74		.00	.00	.00		.00	.00	.26		.00	.00	.00	
	0.0	.55	.68	.01		.00	.13	.00		.20	.08	.99		.24	.11	.00	
Clase 2	0.0	.99	.52	.00		.00	.48	.99		.00	.00	.00		.00	.00	.00	
	1.0	.00	.00	.00		.99	.99	.99		.00	.00	.00		.00	.00	.00	
	0.0	.00	.00	.00		.99	1.0	.99		.00	.00	.00		.00	.00	.00	
	0.0	.99	.00			.00	.99			.00	.00			.00	.00		
Clase 3	0.0	.00	.00	.19	.51	.00	.00	.00	.00	.99	1.0	.60	.49	.00	.00	.21	.00
	0.0	.01	.00	.52		.00	.00	.48		1.0	.99	.00		.00	.00	.00	
	1.0	.99	.51	.51		.00	.00	.00		.00	.49	.49		.00	.00	.00	
	0.0	.00	.99	.51		.00	.00	.00		1.0	.00	.49		.00	.00	.00	
Clase 4	0.0	.00	.01	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	1.0	.99	.99	1.0
	0.0	.00	.01	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	1.0	.99	.99	1.0
	0.0	.00	.01	.00		.00	.00	.00		.00	.00	.00		.99	.99	.99	
	1.0	.00	.00	.00		.00	.00	.00		.00	.00	.00		.99	.99	1.0	

En este caso también se puede obtener la distribución espacial de los objetos según el mapa de Kohonen correspondiente a la primera capa de la red (Figura 21).

Analizando dicha representación no se observa una clara diferenciación de las cuatro clases, ya que los objetos pertenecientes a las mismas no forman grupos diferenciados.

Figura 21, mapa de Kohonen para la diferenciación de las 4 clases.

4	3	1	1		4		4	44	
		3		11					
3	31	1	1	11		4	14	44	
3		31	1	3	1	2	1	2	
1	1		11	3	11	11		22	
			13						
4	4	4		1	1		1	2	
				4		1	2	1	4
	4					4	2		
4			44		4			4	

Tabla 9, valores de clasificación de los objetos del conjunto de entrenamiento con una red tipo Counter-Propagation de 9x9 neuronas.

Red/Real	r	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4	Clase 5
Clase 1	1	.66 .67 1.0	.00 .00 .00	.33 .33 .00	.00 .00 .00	.0 .0 .0
	0	1.0 .60 .94	.00 .06 .00	.00 .19 .06	.00 .14 .00	.0 .0 .0
	0	.33 .88 .04	.00 .00 .00	.67 .06 .94	.00 .05 .01	.0 .0 .0
	0	1.0 .25 1.0	.00 .75 .00	.00 .00 .00	.00 .00 .00	.0 .0 .0
	0	.85 1.0 .94	.15 .00 .00	.00 .00 .06	.00 .00 .00	.0 .0 .0
	0	.99 .12	.00 .00	.00 .84	.01 .04	.0 .0
Clase 2	0	.99 .10	.00 .00	.00 .90	.01 .00	.0 .0
	0	.00 .00	.99 .99	.00 .00	.00 .00	.0 .0
	1	.33 .22	.67 .53	.00 .00	.00 .25	.0 .0
	0	.22 .22	.54 .53	.00 .00	.25 .25	.0 .0
	0	.33	.67	.00	.00	.0
Clase 3	0	.00	.99	.00	.00	.0
	0	.48 .00	.00 .00	.02 .99	.50 .00	.0 .0
	0	.00 .33	.00 .00	.99 .67	.00 .00	.0 .0
	1	.00 .00	.00 .00	.99 .99	.00 .00	.0 .0
	0	.00 .33	.00 .00	.99 .00	.00 .67	.0 .0
Clase 4	0	.00	.00	.99	.00	.0
	0	.00 .15 .03	.00 .50 .00	.00 .00 .14	1.0 .35 .82	.0 .0 .0
	0	.00 .02 .03	.00 .01 .00	.00 .01 .14	1.0 .97 .82	.0 .0 .0
	0	.00 .33 .00	.00 .00 .00	.00 .00 .00	1.0 .67 1.0	.0 .0 .0
	1	.15 .03 .00	.50 .00 .00	.00 .14 .00	.35 .82 1.0	.0 .0 .0
Clase 5	0	.00 .03 .00	.01 .00 .00	.00 .14 .00	.99 .82 1.0	.0 .0 .0
	0	.00 .00	.00 .00	.00 .00	.00 .00	1. 1.
	0	.00 .00	.00 .00	.00 .00	.00 .00	1. 1.
	0	.00 .00	.00 .00	.00 .00	.00 .00	1. 1.
	1	.00 .00	.00 .00	.00 .00	.00 .00	1. 1.

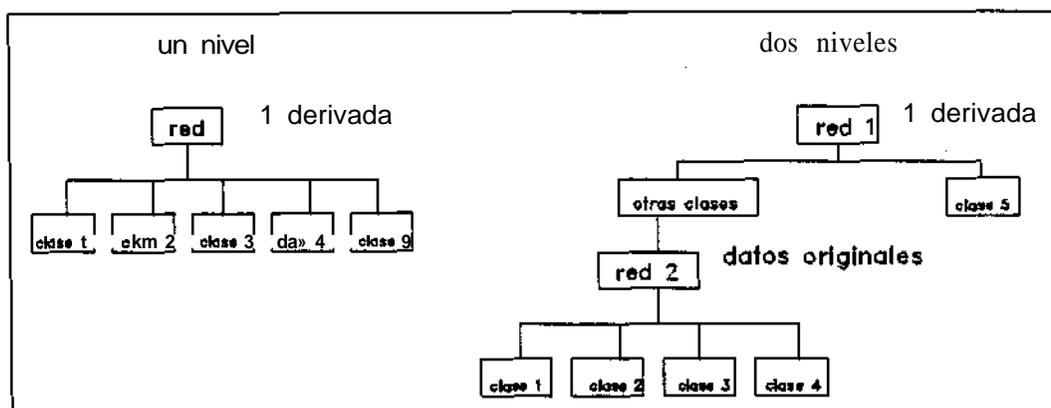
Los errores encontrados son en cierta manera lógicos ya que al hacer la primera derivada, como se ha demostrado, la presencia de picos espúreos en el espectro se ve potenciada; a su vez los espectros originales la clases 2 al ser muy parecidos entre sí quedan muy iguales y por lo tanto la red neuronal los diferencia muy bien del resto, lo mismo ocurre con los objetos pertenecientes a la clase 3. Por lo que respecta a la clase 1 correspondiente a los espectros correctos, éstos ya presentaban un intervalo de **variación** en los datos originales que se mantiene al hacer la primera derivada y por la tanto, al haber cierta variación en los datos, la diferenciación de los espectros que en función de su concentración se encuentran en los límites de la clase 1, no es del todo correcta.

Los dos errores encontrados en la clase 4 se explican ya que hay dos tipos de espectros debidos a la presencia de burbujas: cuando es debido a la presencia de la burbujas en el reactor, la forma del espectro es similar a la de los espectros de las clases 2 y 3 y por lo tanto la red no lo distingue mientras que cuando la burbuja se encuentra en el camino óptico de la celda de flujo el espectro es prácticamente plano y los espectros se clasifican correctamente.

A modo de resumen se puede decir que se han conseguido **establecer** dos estrategias para llevar a cabo la diferenciación de la señal obtenida en el sistema analítico SIA, utilizando en ambas un modelo de red **Counter-Propagation**; estas son:

- 1) *clasificación en un nivel de decisión*: diferenciación de las cinco clases con una única red neuronal.
- 2) *clasificación con dos niveles de decisión*: diferenciar en una primera etapa la presencia de picos espúreos en los espectros (clase 5), para posteriormente y en una segunda etapa, diferenciar las cuatro clases restantes.

Con dichas redes se planten dos estrategias de diagnosis que quedan reflejadas en los siguientes diagramas:



De las dos estrategias presentadas, la diagnosis en un nivel de decisión presenta algunas ventajas. Así cabe destacar que por lo que respecta al tiempo, evidentemente es mucho menor si el estudio se lleva a cabo en un único nivel de decisión, ya que con dos niveles se han de entrenar y establecer dos redes neuronales con todo lo que ello conlleva y además los espectros han de realizar dos ciclos de secuencias dentro del módulo diagnosis.

El error RMS, aunque con la red de un nivel de decisión aumenta ligeramente en el conjunto de entrenamiento, éste disminuye significativamente en el conjunto de prueba.

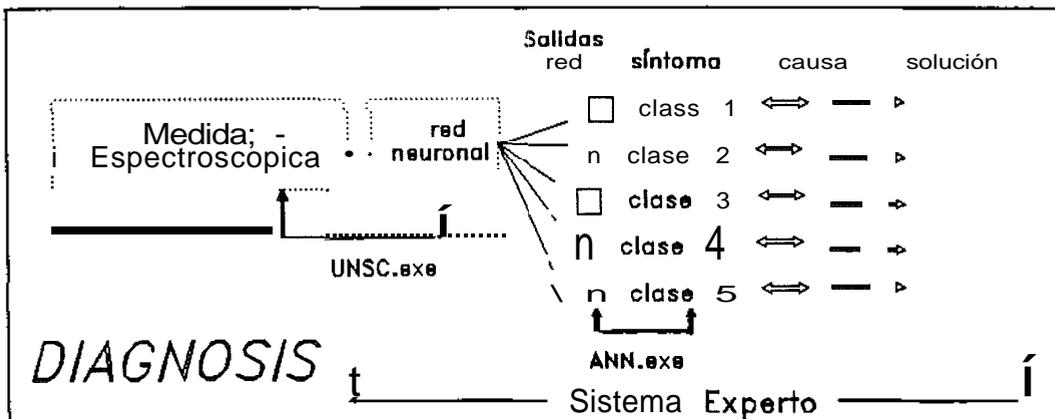
Con un nivel de decisión se ha conseguido una mayor diferenciación entre las clases ya que los objetos se clasifican con contribuciones más elevadas de pertenecer a una determinada clase y por lo tanto, los objetos que se encuentran en las fronteras entre las clases 2 y 3 respecto a la 1 o viceversa, se diferencian mejor.

6.4 Integración de **ESPECTROFÓTOMETRO - SISTEMA EXPERTO - RED NEURONAL.**

Como ya se ha indicado, en el módulo diagnosis, se contempla la construcción de un sistema experto y la aplicación de redes neuronales, por lo que en este apartado se pretenden reflejar las etapas necesarias para transmitir la información desde el espectrofotómetro, esto es, desde que se registra el espectro y se almacena en un fichero, hasta la salida del módulo diagnosis.

Como se observa en la Figura 22, para la transmisión de la información desde el "software" del espectrofotómetro hasta la red, ha sido necesario el desarrollo del programa **UNSC.BAS** (diskette anexo), el cual modifica la estructura del fichero que contiene los valores de absorbancia con el fin de adaptarlo al formato necesario para la ejecución de la red. Las redes proporcionan cinco salidas numéricas que deben ser identificadas con las cinco clases descritas, para ello ha sido también necesario el desarrollo del programa **ANN.BAS** (diskette anexo). El atributo *class* se identifica mediante un external en el sistema experto **SEDIAG** (diskette anexo) y a través de las normas definidas en el mismo, se le asigna la posible causa y solución.

Figura 22, etapas del módulo diagnosis.



6.5 BIBLIOGRAFÍA.

- 1 *J. Zupan*; Anal. Chim. Acta; 235 (1990) 53.
- 2 *S.R. Crouch*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 8 (1990) 259.
- 3 *D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, S.N. Deming, Y. Michotte and L. Kaufman*; Chemometrics: a textbook. Elsevier, Amsterdam 1988.
- 4 *F.X. Ffius*; Anal. Chim. Acta; 1 (1993) 283. / *Ruisánchez, A. Rius y F.X. Rius*; Sistemas expertos en el análisis químico. Notas de la Escuela Europea de Quimiometría. Santiago de Compostela, Julio 1993.
- 5 *M. Peris, A. Maquieira, R. Puchades, V. Chirivella, R. Ors, J. Serrano and A. Bonastre*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 21 (1993) 243.
- 6 *M.A. Kramer*; AIChE J.; 33 (1987) 130.
- 7 *F. Fékih-Ahmed, B.V. Faltings and C. Bachmann*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 21 (1993) 267.
- 8 *S. Lahiri and M.J. Stillman*; Anal. Chem.; 64 (1992) 283.
- 9 *D.P. Webb, J. Hamier and E.D. Salin*; Trends Anal. Chem.; 13 (1994) 44.
- 10 *K. Varmuza*; Pattern Recognition in Chemistry, Springer-Verlag, Berlin, 1980.
- 12 *D. Coomans, D.L. Massart and L. Kaufman*; Anal. Chim. Acta; 136 (1979) 97.
- 13 *D.J. Burr*; IEEE Trans. ASSP; 36 (1988) 1162.
- 14 *W. Y. Huang and R.P. Lippman*; "Neuronal Net and Traditional Classifiers"; IEEE Proc. ICNN, San Diego (1987).
- 15 *A.E. Lucas and J. Kittler*; Proc. First Intl. Conf. on Artificial Neuronal Network; IEEE Publ. nº313, London 1989).
- 16 *J.C. Hoskins, K.M. Kaliyur and D.M. Himmelblau*; AIChE J.; 37 (1991) 137.
- 17 *K. Watanabe, I. Matsuura, M. Abe, M. Kubota and D.M. Himmelblau*; AIChE J.; 35 (1989) 1803.
- 18 *D. Ricard, C. Cachet and D. Cabrol-Bass*; J. Chem. Inf. Sci. 33 (1993) 202.
- 19 *J.R. Smits, p. Shoenmakers, A. Stehman, F. Sijstermans and G. Kateman*; Chemom. Intell. Lab. Syst.; 18 (1993) 27.
- 20 *M. Hartnett and D. Diamond*; Analyst; 118 (1993) 347.
- 21 *M. Bos, A. Bös and W. E. Van der Linden*; Analyst; 118 (1993) 323.
- 22 *V.V. King Chan*; AIChE J.; 35 (1989) 1993.
- 23 *Z. Fathi, W.F. Ramirez and J. Korbicz*; AIChE J.; 39 (1993) 42.
- 24 *Yih-Yuan Hsu and Cheng-Ching Yu*; Ind. Eng. Chem. Res.; 31 (1992) 1937.
- 25 *H. Moch, M. Oberholzer, H. Christen, M. Buser, P. Dalquen, W. Wengmann and F. Gudat*; Virchows Archiv A- Pathological Anatomy; 423 (1993) 493.
- 26 *J. Zupan and J. Gasteiger*; Neural Networks for Chemists, an introduction.; VCH, Verlagsgese Msschaft mbH. Weinheim (FRG) 1993.

- 27 *A. Rius*; Tesis, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona. (En preparaci3n)
- 28 *J. Gasteiger and J. Zupan*; "Neuronal Networks in Chemistry", *Angewandte - International Ed. in English* 32, 1993, 503-527.
- 29 *G. Kateman and J.R.M. Smits*; *Anal. Chim. Acta*; 227 (1993) 179.
- 30 *P.A. Jansson*; *Anal. Chem.*; 63 (1991) 357A.
- 31 *C. Albano, W. Dunn, U. Edlund, E. Johansson, B. Norden, M. Sjostr3m, and S. Wold*; *Anal. Chim. Acta*; 103 (1978) 429.
- 32 *J.A. Bums and G.M. Whitesides*; *Chemical Reviews*; 93 (1993) 2583.
- 33 *J.R.M. Smits, W.J. Meissen, L.M.C. Buydens and G. Kateman*; *Chemom. Intell. Lab. Syst.*; 22 (1994) 165.
- 34 *T. Kohonen*; "Self-Organisation and Associative Memory", Third Edition, Springer Verlag, Berlin, 1989.
- 35 *T. Kohonen*; "An Introduction to Neuronal Computing", *Neuronal Networks*, 1 (1988) 3.
- 36 *R. Hecht-Nielsen*; *Appl. Optics*; 26 (1987) 4979.
- 37 *D.G. Stork*; *Synapse Connection*; 1 (1988) 9.
- 38 STATGRAPHCS, Statistical graphics system by statistical graphics corporation, STSC, Inc. USA, (1986) 22-2.
- 39 *W.R. Breckaft and P.L. Lee*; *Computer. Chem. Eng.*; 17 (1993) 1001.

7. CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES.

Se ha realizado una introducción a los sistemas expertos incluyendo una revisión bibliográfica de la aplicación de éstos en el análisis químico, tanto en el análisis cualitativo como cuantitativo.

Se ha desarrollado un sistema experto en el campo del electroanálisis, basado en la construcción de normas que da orientaciones al usuario sobre el pretratamiento de la muestra problema y la elección de la técnica voltamperométrica adecuada para llevar a cabo la determinación de 17 cationes metálicos. Así mismo guía al usuario en el análisis cualitativo y cuantitativo de la señal obtenida.

Es un sistema experto útil para aquellos usuarios que no son especialistas en el campo voltamperométrico; los métodos incluidos están perfectamente bien establecidos, siendo la mayoría métodos estándar. Las técnicas consideradas han sido: DPP, DPASV, DPCSV y DPAdSV.

En la mayoría de los casos se recomienda el empleo de electrodos de gota de mercurio debido a su gran reproducibilidad. El electrodo de película de mercurio, que es más sensible pero menos reproducible no queda contemplado en este sistema experto mientras que sí se hace referencia al electrodo de Au en la determinación de Hg y opcionalmente en la del Cu.

Tanto en el análisis cualitativo como en el cuantitativo, el sistema experto conecta con programas externos desarrollados en nuestro laboratorio. En el caso de que aparezcan picos polarográficos solapados ofrece la posibilidad de conectar con un programa que lleva a cabo la deconvolución de los mismos.

El sistema experto se ha desarrollado utilizando la carcasa KES, comercialmente accesible y compatible con PC.

Se ha utilizado material comercialmente accesible con el fin de facilitar la construcción y la incorporación del sistema en diversos ambientes. Teniendo en cuenta que los sistemas expertos son herramientas de trabajo en continua evolución, la presente versión muestra su validez para el análisis actual de muestras reales.

Se ha desarrollado un sistema automático con inyección secuencial en un flujo sinusoidal y con detección espectrofotométrica UV-VIS aplicado a la determinación simultánea de Ca y Mg en aguas de consumo. En concreto se ha llevado a cabo la automatización de la inyección y transporte de la muestra y el reactivo hasta el detector mediante el control automático y simultáneo de la bomba y la válvula a través de un programa escrito en lenguaje de programación C.

Este sistema presenta las ventajas genéricas de los sistemas de flujo: rapidez de análisis, poco consumo de muestras y reactivos, alto nivel de automatización. Presenta además ventajas específicas de inyección secuencial, tal como la sencillez del montaje a costa de una versatilidad de configuración que no se persigue en metodologías específicas como la desarrollada.

El intervalo de concentraciones que pueden determinarse es amplio, adaptándose al contenido de estos iones en la mayoría de las muestras naturales, debido a la posibilidad de elegir el punto de medida en el cual la muestra haya experimentado una dispersión adecuada, lo que facilita el análisis sin tener que realizar diluciones previas de la muestra.

La detección con diodos en serie encarece el sistema, sin embargo ha permitido una determinación simultánea del Ca y Mg utilizando en la etapa de calibrado un modelo de calibración lineal multivariante, en concreto el PLS que incorpora las interferencias en el modelo construido sin que éstas afecten a la exactitud de resultados.

Así mismo se puede pensar que el sistema descrito sería fácil de aplicar a la determinación espectrofotométrica de otros muchos analitos para los cuales se han descrito métodos de análisis convencionales. Con una velocidad de análisis de 20 muestras por hora, el método desarrollado permite mayor rapidez que el método estándar de AAS.

Se ha realizado el estudio de un prototipo de sistema analítico inteligente basado en una configuración modular. Se ha desarrollado el módulo diagnóstico, aplicándose a la determinación de Ca y Mg en agua mediante un sistema SIA con detección espectrofotométrica UV-Vis.

Se ha construido el sistema experto que constituye el módulo diagnóstico y se ha conseguido establecer una estrategia de diferenciación de las distintas clases o situaciones experimentales que dan lugar a espectros defectuosos. Dicha diferenciación se ha realizado mediante la aplicación de redes neuronales como técnica de clasificación de espectros.

Se ha establecido un modelo de red counter-propagation que diferencia las cinco clases, la topología de la red es de 100 variables en la capa de entrada correspondientes a la primera derivada de los datos originales, una capa de Kohonen de 9x9 neuronas en cada lado y una capa de salida de 5 neuronas correspondiente a las cinco situaciones que se pretenden diferenciar. Los resultados encontrados permiten diferenciar perfectamente las clases correspondientes a la presencia de burbujas y a problemas en el detector, mientras que la diferenciación de las otras clases presentó algún error. Un análisis de éstos errores permite observar que corresponden a muestras cuya concentración en Ca y Mg está en los límites que definen las clases que se pretenden diferenciar, lo cual desde el punto de vista práctico no tiene consecuencias graves.

Una etapa necesaria en el empleo de redes neuronales es su entrenamiento con el fin de encontrar la solución más idónea al problema planteado. Dado que los parámetros característicos de las redes están todavía en estudio, esta etapa conlleva problemas de automatización y control desde un sistema experto, lo que origina que su empleo se ha efectuado en discontinuo.

El sistema es capaz de reconocer los fallos más habituales, que se presentan al trabajar con un sistema de inyección secuencial en flujo sinusoidal y detección espectrofotométrica UV-Vis, a partir de los espectros obtenidos por el propio sistema y es también capaz de diagnosticar la causa que ha generado el fallo así como comunicar al usuario la posible solución al problema detectado.

A lo largo de la Tesis, se ha mostrado que los sistemas expertos tienen un papel importante tanto como sistemas de soporte, como integrados en sistemas analíticos. En el control de las distintas etapas del proceso químico, pueden asumir funciones que van desde dar consejos hasta la toma de decisiones.

8. ANEXO

8. ANEXO

A. Secuencias del programa TMI2007, utilizados en la determinación simultánea de Ca y Mg, citadas en el capítulo 5.

Programa n° 22, secuencia de ejecución para el análisis de las muestras.

1 : BI	16: V5
2 : BR0.25	17: BD
3 : T58	18: BM
4 : V1	19: T21
5 : T1	20: V5
6 : V2	21: T8
7 : T6	22: V5
8 : V6	23: T6
9 : T8	24: V5
10: BP	25: T1
11: T60	26: V5
12: BM	27: T58
13: T21	28: BP
14: BP	29: V6
15: T42	30:

Programa n° 95, vaciado de las vías reactivo / muestra.

1 : BI
2 : BR0.25
3 : T60
4 : BP
5 : V1/V2
6 : BD
7 : T60
8 : BP
9 : V6

Programa n° 96, llenado de las vías reactivo / muestra.

1 : BI	12:V5
2 : BR0.25	13:T65
3 : T65	14:BP
4 : BP	15:V6
5 : V1/V2	
6 : BM	
7 : T12	
8 : BP	
9 : V5	
10:BD	
11:T12	

B. Distribución, de los programas elaborados en la presente Tesis, en el diskette anexo.

Subdirectorío KES:

Este subdirectorío contiene el sistema experto para la determinación voltamperométrica de 17 cationes metálicos. Incluye la versión original denominada "**SEVOLT**", de manera que mediante un editor de textos se puede examinar la estructura del mismo. Así como los programas escritos en Basic a los que accede el sistema experto durante su ejecución: COOK'S2.BAS, DECON.BAS, ADDA.BAS.

Subdirectorío **TMI2007**:

En este subdirectorío se incluye los distintos módulos que constituyen el programa TMI2007, desarrollado para el control automático y simultáneo de la bomba y la válvula.

Subdirectorío DIAGNOSI:

Contiene el sistema experto "**SEDIAG**" desarrollado para llevar a cabo la detección de fallos y diagnóstico del sistema automatizado SIA para la determinación de Ca y Mg en aguas. Así mismo, incluye los programas a los que accede el sistema experto durante su ejecución: CONFIG.BAS, UNSC.BAS y ANN.BAS, necesarios para realizar distintas modificaciones.