



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 878 111**

⑮ Int. Cl.:

**G01N 27/30** (2006.01)

**G01N 27/40** (2006.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.11.2003 E 10014341 (1)**

⑯ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.04.2021 EP 2293054**

⑭ Título: **Electrodo de referencia potenciométrico con membrana heterogénea y uso**

⑩ Prioridad:

**02.12.2002 US 307481**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**18.11.2021**

⑬ Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC.**

**(100.0%)**

**511 Benedict Avenue  
Tarrytown, NY 10591, US**

⑭ Inventor/es:

**LAUKS, IMANTS y  
MACZUSZENKO, ANDRZEJ**

⑭ Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 878 111 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Electrodo de referencia potenciométrico con membrana heterogénea y uso

Campo de la invención

La invención se refiere a sensores electroquímicos para el análisis de soluciones acuosas. En particular, la invención 5 se refiere a la construcción de electrodos de referencia de uso unitario para tales sensores.

Antecedentes de la invención

Los sensores electroquímicos de la técnica anterior típicamente consisten en una celda electroquímica con dos, a veces tres electrodos. El primer electrodo responde a una especie química en la solución de prueba y se llama 10 electrodo indicador. El segundo electrodo llamado electrodo de referencia típicamente no responde a los cambios en la composición de la solución de prueba. En polarografía, a veces se usa un tercer contraelectrodo de inyección de corriente.

Como apreciarán los expertos en la técnica, el rendimiento de un sensor electroquímico como parte de un analizador químico para la medición cuantitativa de productos químicos en soluciones acuosas se determina por su curva dosis-respuesta. Para un sensor lineal, esto se puede determinar de manera única mediante dos coeficientes: una pendiente 15 y una intersección. Para una curva dosis-respuesta que no sea lineal, pueden requerirse tres o más coeficientes. Como también es conocido en la técnica, los coeficientes de un sensor varían con el tiempo si se usa más de una vez. Los coeficientes también varían en cierta medida de sensor a sensor porque no se pueden fabricar dos sensores de forma idéntica. Por lo tanto, generalmente se requiere una calibración para determinar de forma única la curva dosis-respuesta de un sensor. En un analizador químico automático, la calibración es proporcionada por elementos para 20 movilización de fluidos (fluidos de calibración, bombas, válvulas, conductos, etc.) contenidos en el analizador. Si un sensor se implementa como un dispositivo reutilizable, los elementos de movilización de fluidos de calibración del analizador químico a menudo proporcionan al menos dos puntos de calibración y una solución de lavado. Esto se debe a que la pendiente y la intersección de la curva dosis-respuesta pueden cambiar a través de usos repetidos. Para un dispositivo de uso de la unidad no se requeriría calibración si la pendiente y la intersección fueran 25 suficientemente reproducibles de sensor a sensor durante la fabricación y el almacenamiento. Se necesitaría un solo calibrador si cualquiera de los coeficientes fuera reproducible, el otro no, y dos calibradores si ninguno de los coeficientes fuera reproducible (se podrían requerir más calibradores para los dispositivos con curvas dosis-respuesta no lineales).

A menudo el objetivo de un fabricante de analizadores químicos es producir sensores de forma suficientemente 30 económica para que puedan implementarse como dispositivos de uso de la unidad, eliminando o simplificando la movilización de fluidos, a menudo muy compleja del analizador químico necesaria para el lavado y la calibración de sensores de uso múltiple. Con este fin, los fabricantes han investigado tecnologías planas para la fabricación de sensores de bajo coste. Dichas tecnologías planas también pretenden proporcionar un control apropiado de los materiales de construcción y procesos de fabricación para lograr la reproducibilidad de dispositivo a dispositivo en 35 producción a gran volumen.

Los sensores fabricados por tecnología plana han incluido tecnologías de microfabricación de película gruesa y 40 película delgada. Los dispositivos procesados de película gruesa tales como tiras de diagnóstico de plástico se describen en la Patente de los Estados Unidos No. 5,727,548 por ejemplo. Los dispositivos fabricados por tecnología plana también incluyen sustratos planos procesados de película gruesa como en circuitos híbridos o fabricación de circuitos impresos. Las patentes de los Estados Unidos Nos. 4,133,735, 4,225,410, por ejemplo, divulan dispositivos 45 con electrodos fabricados mediante procesos de fabricación de película gruesa tales como chapado, serigrafía, dispensación y similares.

La tecnología de microfabricación con su comprobado control dimensional superior también se ha usado para fabricar dispositivos para aplicaciones de uso unitario. La tecnología de microfabricación emplea procesos a nivel de oblea, 50 como la fotolitografía en obleas de silicio. Las patentes de los Estados Unidos Nos. 4,062,750, 4,933,048 y 5,063,081 describen dispositivos que contienen electrodos fabricados mediante procesos de microfabricación de película delgada sobre sustratos de silicio.

Independientemente de cuál de las variantes anteriores de tecnología plana se esté utilizando, los dispositivos planos de la técnica anterior han sido complejos de fabricar y, por lo tanto, todavía son relativamente caros.

55 Para apreciar mejor la complejidad de los sensores planos de la técnica anterior, considérense sus componentes típicos de construcción. Un sensor electroquímico plano de la técnica anterior es un dispositivo que consiste en uno o más elementos conductores metálicos sobre un sustrato aislante plano. Se proporciona una región del elemento conductor de metal para la conexión a un circuito de medición externo. Un electrodo plano se forma en otra región del elemento conductor de metal. El electrodo plano de dicho sensor electroquímico de la técnica anterior consiste típicamente en una o más capas metálicas adicionales y capas superiores de sales metálicas que recubren el elemento conductor metálico. Los electrodos planos suelen recubrirse con varias capas funcionales adicionales como se describe a continuación.

El electrodo plano del sensor plano está recubierto típicamente por un medio de electrolito integral. Este electrolito integral puede ser una solución acuosa líquida o, más comúnmente, una capa hidrófila sólida tal como un material de gel que actúa como un electrolito acuoso. En el uso del sensor plano, la región del electrodo plano y su sobrecapa de electrolito integral se sumerge en una solución acuosa que se va a probar. Las especies químicas de la solución de prueba penetran en la capa de electrolito integral, se disuelven y a menudo reaccionan con otros reactivos contenidos dentro de la capa de electrolito integral. Los componentes de la capa de electrolito integral experimentan reacción electroquímica en la superficie del electrodo generando una corriente o un voltaje. Cuando la corriente o el voltaje medidos del sensor es selectivamente proporcional a la concentración de una especie en la solución de prueba que se transporta desde la solución de prueba al sensor, existe la base para un electrodo indicador para esa especie. Si el voltaje es independiente de la composición de la solución de prueba, existe la base para un electrodo de referencia. En los sensores electroquímicos de la técnica anterior, generalmente se requiere que los reactivos químicos dentro de la capa de electrolito integral estén en concentraciones constantes durante el tiempo de la medición.

Generalmente, se requiere que los productos químicos contenidos en la solución de prueba que son perjudiciales para las reacciones del sensor se rechacen de la capa integral de electrolito. Como es sabido en la técnica, tales contaminantes pueden afectar a las reacciones químicas dentro de la capa de electrolito integral, o pueden ser ellos mismos electroactivos y causar un voltaje o corriente que interfiere con el voltaje o corriente medida debido a la especie que se analiza. La retención del reactivo químico y el rechazo de contaminantes a menudo se logra al interponer uno o más materiales entre el electrolito integral y la solución de prueba. El transporte de las especies detectadas desde la solución de prueba a la capa de electrolito integral tiene lugar a través de los materiales interpuestos por difusión o a través de puertos o poros en esos materiales. En muchos casos de sensores planos de la técnica anterior, también es necesario interponer una capa semipermeable adicional entre el electrodo y la capa de electrolito integral. El objetivo de esta capa modificadora de electrodos es permitir el transporte de los productos químicos de la reacción del sensor mientras se rechazan interferencias electroactivas o especies que envenenan el electrodo.

En resumen, como se describió anteriormente, los sensores electroquímicos planos de la técnica anterior que incluyen los electrodos de referencia de la técnica anterior generalmente consisten en numerosos elementos. Los dispositivos resultantes son complejos de fabricar y relativamente costosos. Para ilustrar adicionalmente su complejidad, los dispositivos de la técnica anterior abordados por la presente invención se describen con más detalle en la siguiente sección.

#### Electrodos de referencia potenciométricos de puente salino de la técnica anterior

Los electrodos de referencia del puente salino de la técnica anterior consisten en un electrodo, usualmente cloruro de plata y plata en contacto con un depósito integral de una solución acuosa concentrada de una sal con iones móviles, típicamente cloruro de potasio. El depósito de electrolito acuoso integral se llama puente salino. El depósito de electrolito entra en contacto con la solución de prueba en una unión líquida de flujo limitado. Un electrodo de referencia de puente salino ideal de este diseño tiene un potencial de electrodo esencialmente constante y una pendiente de respuesta esencialmente nula para la duración de su uso. Como es conocido en la técnica de los electrodos de referencia, el potencial total del electrodo es la suma de la diferencia de potencial entre el electrodo y el electrolito de puente salino integral y la diferencia de potencial de unión líquida que está entre el electrolito de puente salino y la solución de prueba. El potencial de electrodo constante de tales electrodos de referencia de la técnica anterior se consigue, en primer lugar, porque la concentración potencial de cloruro determinante del electrolito del puente salino en la superficie del electrodo de cloruro de plata y plata permanece esencialmente fija durante el tiempo de uso. Esto se logra debido a que la tasa de flujo de salida de cloruro desde el depósito a la solución de prueba es suficientemente pequeña debido a la unión de flujo restringido y porque el depósito de electrolito es suficientemente grande. En segundo lugar, la pendiente de respuesta de tales electrodos de referencia del puente salino también es pequeña cuando la diferencia de potencial de unión líquida es pequeña como es el caso cuando el electrolito de puente salino contiene una sal concentrada con aniones y cationes de movilidad casi igual, como con el uso de un electrolito concentrado de cloruro de potasio.

Los electrodos de referencia de puente salino potenciométricos planos de la técnica anterior han usado la misma metodología que el electrodo de referencia de puente salino clásico descrito anteriormente. El documento de Patente de los Estados Unidos No. 4,592,824 describe un electrodo plano de plata y cloruro de plata sobre un sustrato de silicio plano, y una placa de cubierta de silicio que incluye una cavidad de microfabricación y una región porosa. La cavidad se convierte en el depósito integral del puente salino cuando se llena con cloruro de potasio concentrado antes de su uso. El elemento de silicio poroso forma la región de la unión líquida de flujo restringido que entra en contacto con la solución de prueba. De manera similar, la Patente de los Estados Unidos No. 4,682,602 describe un electrodo plano de plata y cloruro de plata y una capa de cubierta que define una cavidad sobre el electrodo. La cavidad, cuando se llena de electrolito, se convierte en el depósito integral del puente salino. Hay una pequeña abertura que proporciona un contacto de unión líquida que limita el flujo a una solución de prueba. El documento de Patente de los Estados Unidos No. 5,385,659 describe un electrodo de cloruro de plata y plata plano con una cavidad alargada microfabricada en una placa de cubierta. Cuando la cavidad alargada se llena de electrolito, se convierte en el depósito integral del puente salino. El flujo de electrolito del puente salino está restringido porque la cavidad es alargada y su abertura es pequeña. Estos y otros electrodos de referencia planos de la técnica anterior con cavidades electrolíticas integrales son conjuntos relativamente complejos y, por lo tanto, costosos. Deben llenarse con electrolito

concentrado de puente salino antes de su uso o, si se llenan en la fábrica, deben almacenarse húmedos. En consecuencia, no son prácticos para las aplicaciones de uso de la unidad.

La Patente de los Estados Unidos. No. 4,342,964 describe un casete de movimiento de fluidos para la medición de sangre, que contiene un electrodo de cloruro de plata y plata almacenado en seco sin una sobrecapa de electrolito de puente salino integral y un electrodo indicador separado. En uso, se introduce una solución de calibrador sobre el par de electrodos que sirve para calibrar el electrodo indicador antes de su posterior exposición a la solución de prueba.

La solución del calibrador también llena una región de la cavidad vacía del casete sobre el electrodo de cloruro de plata y plata y permanece allí formando una unión líquida con la solución de prueba cuando se introduce posteriormente en el casete. Por lo tanto, esta patente enseña cómo llenar automáticamente un depósito de puente salino de un electrodo de referencia sin aumentar significativamente la complejidad del electrodo de referencia en sí, porque el dispositivo ya requiere una solución de calibrador y la patente enseña que la solución de calibrador puede ser la misma que solución de llenado del puente salino. Sin embargo, se agrega complejidad y coste de movimiento de fluidos, y la limitación significativa de esta invención es que no existe una única composición de la solución de calibrador que sea satisfactoria tanto para calibrar con precisión el electrodo indicador como para proporcionar una unión líquida de baja respuesta. Para un rendimiento aceptable en sangre, se conoce en la técnica que el electrolito de puente salino debería tener una concentración de cloruro de potasio de aproximadamente 1 M o incluso mayor para que el componente de potencial de unión líquida del electrodo de referencia sea aceptablemente pequeño y constante. Las soluciones de calibrador conocidas para sangre no proporcionan esta concentración

Janata en Solid State Chemical Sensors, Janata J. and Huber R.J. (eds.), Academic Press Inc., Orlando 1985, pp 101-20 103, describe un electrodo de referencia de efecto de campo sensible a iones con un depósito de puente salino integral formado por una capa de gel hidrófilo que recubre el electrodo. Sinsabaugh et al. en Proceedings, Symposium on Electrochemical Sensors for Biomedical Applications, vol. 86-14, Conan, K.N.L. (ed.), The Electrochemical Society, Pennington, N.J. 1986, pp 66-73, describen un electrodo de referencia plano que consiste en un electrodo de plata-cloruro de plata sobrerecubierto por un depósito de puente salino integral formado por una membrana de látex. En este dispositivo, hay un total de tres pasos de recubrimiento en el elemento conductor y su soporte. Los dispositivos Janata y Sinsabaugh fueron diseñados para aplicaciones de sensores de usos múltiples que utilizan una solución de calibrador. En una medición típica, el electrodo de referencia, con su sobrecapa de depósito de puente salino, y un electrodo indicador espaciado se sumergen primero en una solución de calibrador. El depósito integral se equilibra a la concentración de la solución del calibrador. Cuando el par de electrodos se sumerge en una solución de prueba, el electrodo indicador responde rápidamente, pero, debido a su depósito integral de flujo limitado, la diferencia de potencial entre el plata-cloruro de plata y la capa superior de electrolito del puente salino responde lentamente. Si el espesor del depósito es suficiente (varios cientos de micrómetros), la respuesta es lo suficientemente lenta como para constituir un potencial constante a lo largo del tiempo que el electrodo indicador responde (aproximadamente 10 s). Durante usos múltiples, la composición del puente salino se aproxima gradualmente a la concentración del calibrador y a las soluciones de prueba en las que se sumerge. Estos electrodos de referencia en aplicaciones de usos múltiples están nuevamente limitados en utilidad para mediciones sanguíneas precisas debido a que el componente de unión líquida del potencial del electrodo de referencia no es suficientemente pequeño o constante debido a que la concentración del depósito de puente salino es demasiado baja. Ninguno de los documentos menciona el uso de sus depósitos de puentes de sal como formulaciones de reactivos secos en electrodos de referencia de uso unitario. Ambos documentos guardan silencio sobre la incorporación de sustancias químicas redox en los depósitos de puentes de sal y el uso de tales en los electrodos de referencia construidos con metales de recubrimiento de puentes salinos. El documento de Sinsabaugh tampoco menciona las propiedades de transporte de vapor de agua de su formulación de membrana heterogénea.

Debido a la complejidad de la fabricación de electrodos de referencia que contienen depósitos de fluido integral y debido a la dificultad de su almacenamiento y preparación para su uso, un electrodo de referencia de reactivo seco es altamente deseable para aplicaciones de uso de la unidad. Un depósito integral de puente salino de reactivo seco que contiene solo sales secas primero debe adquirir agua para que el depósito del puente salino pueda "humedecerse" hasta su concentración operativa. En todos los dispositivos de la técnica anterior mencionados, el transporte de especies a través del depósito de puente salino y del puente salino a la solución de contacto es a través de una fase de electrolito. La entrada de agua para humedecer si los dispositivos de la técnica anterior se preparaban inicialmente en estado seco es por el mismo camino que el eflujo de cloruro de potasio. Por lo tanto, en un dispositivo que presenta un diseño de puente salino de flujo limitado con un depósito considerable que se requiere para mantener la constancia de la concentración de cloruro en la superficie de cloruro de plata y plata, el tiempo para la absorción de agua también será grande. También, el cloruro de potasio del electrolito del puente salino escapará del depósito hacia la solución mientras el reservorio está adquiriendo agua de la solución para su humectación. Por lo tanto, los electrodos de referencia con el depósito de reactivo seco de acuerdo con la técnica anterior no se han implementado con éxito en aplicaciones de uso unitario.

El problema de humectación anterior se abordó en la Patente de los Estados Unidos No. 4,933,048, que describe un electrodo de referencia de puente salino de reactivo seco fabricado mediante microfabricación plana. En este dispositivo, hay una primera capa aislante sobre un sustrato plano que soporta un conductor para la conexión a un circuito de medición. Una segunda capa aislante cubre el conductor excepto en una región que define la abertura del electrodo. Hay películas de plata, luego cloruro de plata formado sobre el conductor en la región del electrodo. Se forma un material hidrófilo sólido que contiene cloruro de potasio sobre el cloruro de plata. Esta capa constituye el

depósito integral del puente salino. En este dispositivo, el depósito del puente salino se extiende mucho más allá del borde del electrodo de cloruro de plata y plata y está recubierto por una capa hidrófoba permeable al vapor de agua, a excepción de una región del puente salino muy alejada de la plata-cloruro de plata en donde el puente salino entra en contacto con el fluido de prueba que define la unión líquida. Este electrodo de referencia de puente salino de uso unitario fue diseñado para humedecerse rápidamente durante el uso desde su estado de almacenamiento en seco, y esencialmente retener una concentración constantemente alta de cloruro de potasio en el reservorio de puente salino integral durante un período después de una humectación completa y durante el tiempo de la medición. Estas propiedades deseadas se obtienen en el dispositivo de la patente '048 proporcionando un corto camino de difusión para la entrada rápida de agua en el depósito integral a través de la capa superior permeable al vapor de agua y una larga trayectoria de difusión del cloruro de potasio en el puente salino a lo largo del depósito integral. En uso, el agua necesaria para el correcto funcionamiento del puente salino se incorpora rápidamente en la capa de cloruro de potasio inicialmente seca en pocos segundos por difusión a través de la capa superior permeable al gas. La concentración del electrolito interno del puente salino alcanza rápidamente un valor estable después de un período de humectación de algunos segundos, que se mantiene durante un período suficiente para realizar la medición potenciométrica. Sin embargo, este dispositivo es complejo de fabricar, consta de cinco capas en la parte superior del elemento conductor y su soporte aislante.

La Patente de los Estados Unidos No. 4,431,508 describe un electrodo de referencia de grafito con un recubrimiento hidrófilo que contiene un par redox fabricado con tecnología convencional no plana.

El documento EP 1 193 495 A2 divulga un sensor multi-potenciométrico miniaturizado que comprende un electrodo de referencia de estado sólido y un conjunto de electrodos selectivos de iones. La membrana polimérica del electrodo de referencia comprende a) un polímero poroso y un polímero lipofílico o b) un plastificante hidrófilo y un polímero lipofílico.

El documento EP 1 087 225 A2 se refiere a electrodos selectivos de iones que comprenden un electrodo de referencia interno. El electrodo de referencia interno comprende una sal soluble en agua dispersa en un polímero que consiste esencialmente en desde 60 a 99 por ciento en peso de un monómero que tiene al menos un grupo carboxilo o una sal del mismo y de 1 a 40 por ciento en peso de un monómero hidrófobo.

El documento US 3 926 764 divulga electrodos selectivos de iones y electrodos de referencia para mediciones potenciométricas. El electrodo de referencia comprende un sistema redox electroquímicamente activo sensible a los iones en solución. El electrodo de referencia comprende una tableta de puente salino de material hidrofobizante poroso que contiene un compuesto soluble en agua que puede disociarse y liberar especies iónicas a las que el sistema redox es sensible. En una realización específica, la tableta de puente salino está unificada con el cuerpo del electrodo.

En resumen, los electrodos de referencia planos de la técnica anterior consisten en un electrodo de plata-cloruro de plata que está en contacto con un depósito integral de electrolito de puente salino que consiste en cloruro de potasio concentrado. Estos dispositivos se fabrican con agua ya incorporada al depósito del puente salino o son dispositivos de reactivo seco con un recubrimiento permeable al gas que facilita el transporte de agua al puente salino. El puente salino conecta con la solución de prueba a través de un pequeño puerto que limita el flujo u otro límite físico de limitación de flujo fabricado en el dispositivo en tecnología plana. La conexión del puente salino a la solución de prueba está en un punto alejado del electrodo de plata-cloruro de plata, de modo que hay un depósito integral de electrolito entre la solución y el electrodo.

Los sensores electroquímicos planos de la técnica anterior que incluyen electrodos de referencia de puente salino planos requieren numerosos materiales de electrodo y recubrimientos de membrana para lograr la funcionalidad deseada. Los sensores electroquímicos planos de la técnica anterior, por lo tanto, son todavía complicados y relativamente caros de producir. Además de ser relativamente costosos, tales dispositivos todavía requieren generalmente al menos una única etapa de fluido de calibración en uso para lograr un rendimiento equivalente a los analizadores de laboratorio. Incluso los diseños de sensores que utilizan tecnología de microfabricación (Patentes de los Estados Unidos 5,063,081 y 5,514,253 por ejemplo) con sus altos niveles de precisión dimensional no han logrado el estándar de rendimiento (pendiente e intersección de la respuesta reproducible) requerido para su uso sin una calibración.

Por lo tanto, sigue existiendo una necesidad significativa de proporcionar dispositivos sensores electroquímicos planos para análisis cuantitativos precisos rentables que sean suficientemente simples en diseño y construcción para su uso como dispositivos de uso de la unidad.

#### Resumen de la invención

Es un objeto específico de la invención proporcionar electrodos de referencia de puente salino de uso unitario potenciométrico fabricados en tecnología plana.

Es un objeto de esta invención proporcionar electrodos de referencia e indicadores de puente salino de uso unitario potenciométrico para uso con una única solución de calibrador.

Es un objeto de esta invención proporcionar electrodos de referencia e indicadores de puente salino de uso unitario para uso con una única solución de calibrador en donde los electrodos y el calibrador están contenidos dentro de una única carcasa de uso unitario. Esta invención enseña tales dispositivos de diagnóstico integral. Cuando se usa con un dispositivo de lectura de tarjeta, el dispositivo de diagnóstico integral que incluye un calibrador y electrodos en tablero de esta invención proporciona un analizador capaz de proporcionar resultados cuantitativos de prueba muy económicos.

Estos objetos se logran de acuerdo con la invención proporcionando electrodos de referencia de puente salino planos como se reivindica en las reivindicaciones 1 a 6 y su uso como se reivindica en las reivindicaciones 7 y 8. Los electrodos se construyen con al menos una única membrana heterogénea para apoyar el transporte rápido de gas y vapor de agua a través de una vía hidrófoba permeable a los gases y el transporte de electrolitos a través de una vía hidrofílica.

Las membranas heterogéneas de acuerdo con la presente invención están hechas de una formulación que comprende una mezcla íntima de al menos dos fases componentes, un compartimento hidrófilo que contiene electrolito que soporta el transporte de especies no volátiles y la reacción química y un compartimento hidrófobo que soporta transporte de gas y vapor de agua. Tal membrana heterogénea de acuerdo con la invención se puede usar como un elemento de un sensor de uso unitario de construcción muy simple.

Los polímeros altamente permeables a los gases, tales como siloxanos, en particular poli-dimetil-siloxano o derivados de los mismos, se usan preferiblemente en las membranas heterogéneas de la invención en mezcla íntima con componentes hidrófilos. La mezcla íntima de la membrana heterogénea resultante comprende un camino de transporte de gas y vapor de agua a través del compartimiento hidrófobo de siloxano y un camino de transporte tortuoso para las sales de electrolito a través del compartimento hidrófilo.

La invención enseña métodos de preparación de membranas heterogéneas a partir de emulsiones acuosas de siloxanos.

En una realización preferida, un electrodo de esta invención incluye un elemento conductor único para la conexión a un circuito de medición cuyo conductor está recubierto por una primera capa de depósito hidrófilo, que a su vez está recubierta por una segunda capa de membrana heterogénea. La membrana heterogénea proporciona las propiedades de doble electrolito y conducción de gas necesarias para el funcionamiento adecuado del dispositivo. En esta realización de la invención, la primera capa hidrófílica está en contacto con el electrodo y constituye un electrolito interno que contiene los reactivos requeridos para la reacción del electrodo (un potencial reactivo redox determinante, tal como ferrocianuro de potasio, y una sal de equimóviles iones tales como cloruro de potasio), y la membrana heterogénea proporciona transporte de gas al electrolito interno a través de su compartimiento hidrófobo así como el contacto eléctrico entre el electrolito interno y la solución de prueba por transporte de electrolito a través del compartimento hidrófilo. El compartimento hidrófilo de la membrana heterogénea forma la unión líquida del electrodo de referencia y contiene al menos una sal de iones equimóviles tales como cloruro de potasio.

En otra realización preferida, el electrodo de esta invención incluye un elemento conductor único para la conexión a un circuito de medición cuyo conductor está recubierto con una membrana heterogénea. La membrana heterogénea proporciona preferiblemente dentro de un solo elemento el depósito de electrolito y las propiedades de doble electrolito y conducción de gas requeridas para el funcionamiento adecuado del dispositivo. Esto está en contraste con los múltiples elementos contenidos en los dispositivos de la técnica anterior. En esta realización preferida, el compartimento hidrófilo de la membrana heterogénea sirve como depósito de electrolito interno y unión líquida. Contiene al menos un reactivo redox y una sal de iones equimóviles. El compartimento hidrófobo de la membrana heterogénea proporciona un rápido transporte de gas a la superficie del electrodo. Por lo tanto, esta realización logra en un único dispositivo de membrana un electrodo de referencia de puente salino desechable que puede fabricarse a un coste muy bajo.

Es un objeto adicional de la invención proporcionar composiciones de membrana única así como de membrana duales para su uso en electrodos de referencia de puente salino. Estas composiciones se logran a través de la ingeniería de rutas de transporte múltiples en materiales de membrana heterogéneos.

Es aún otro objeto de la invención proporcionar principios de diseño para la consecución de las propiedades de transporte deseadas de la membrana heterogénea.

Sorprendentemente, se ha descubierto que los procesos simplificados de fabricación de la membrana del sensor de acuerdo con esta invención pueden combinarse ventajosamente con módulos de electrodo basados en tarjetas inteligentes de bajo coste descritos en la Solicitud de Patente en trámite USSN 09/871,823. Estos sustratos son laminaciones estampadas de bajo coste de cobre recubierto de oro con láminas de epoxi. El material del electrodo es oro en estos módulos. Por tanto, un objeto de esta invención es proporcionar sensores desechables con composiciones de membrana y métodos de construcción adecuados para la fabricación sobre electrodos de hoja laminada.

Es todavía otro objeto de la invención proporcionar matrices de sensores de electrodo fabricadas en una matriz de contactos con un material de contacto común a todos los electrodos en la matriz y con solo una sola membrana por electrodo en la matriz.

- 5 Es una característica esencial de los sensores convencionales que el elemento electrolítico interno integral sea lo suficientemente grande y esté suficientemente bien aislado de la solución de prueba que se comporta como un depósito que inmoviliza los reactivos del sensor dentro de él. En sensores convencionales, la composición de reactivo del depósito permanece así esencialmente fija durante la duración de una medición (excepto en los primeros segundos durante la humectación de dispositivos almacenados secos y, por supuesto, por la reacción química que implica la especie por analizar cuyos cambios de composición constituyen la reacción del sensor), y los contaminantes de la solución de prueba están excluidos y, por lo tanto, a baja concentración en este depósito de electrolito interno. De hecho, lo más frecuente es que la composición de reactivos en el elemento de depósito de electrolito en la superficie del electrodo permanezca fija para numerosas mediciones debido a que estos dispositivos se han diseñado típicamente para ser reutilizables. En algunos dispositivos de la técnica anterior, el elemento electrolítico interno del sensor está completamente aislado de la solución de prueba por una o más capas que transportan selectivamente solo la especie que se va a analizar. Por ejemplo, los sensores de dióxido de carbono y oxígeno disueltos de la técnica anterior consisten en elementos electrolíticos internos que cubren los electrodos de los sensores y una capa superior selectivamente permeable a los gases pero impermeable a los electrolitos. En otros dispositivos de la técnica anterior en los que existe un contacto directo entre el elemento de electrolito interno y la solución de prueba, el electrolito interno adyacente al electrodo está muy alejado del punto de contacto con la solución de prueba.
- 10 20 Por el contrario, en los dispositivos de la presente invención, no existe una disposición para el aislamiento completo del electrolito interno del electrodo de la solución de prueba. En la realización preferida, la composición de reactivo del componente de electrolito de la membrana heterogénea muy próxima a la superficie del electrodo en realidad cambia con el tiempo durante el uso del dispositivo. Por ejemplo, los reactivos se difunden desde la membrana heterogénea a la solución de prueba o los contaminantes penetran en la membrana desde la solución de prueba. Además, la 25 cantidad inicial de electrolito interno dentro de la membrana heterogénea a menudo no es suficientemente grande para constituir un depósito que mantenga una composición constante de los reactivos inmovilizados durante el uso. Sorprendentemente, aunque se han omitido numerosos elementos que eran necesarios en los dispositivos de la técnica anterior de los dispositivos simplificados de esta invención, se retienen las características importantes que definen el rendimiento de detección cuantitativa. Los dispositivos preferidos pueden exhibir una humectación rápida 30 (importante si el dispositivo se almacena seco antes de su uso), interceptaciones de respuesta reproducibles al menos si son dispositivos polarográficos y al menos pendientes de respuesta reproducibles si son dispositivos potenciométricos, y suficientemente libres de interferencias. Por lo tanto, estos dispositivos muy simples de la invención se pueden incorporar a un analizador que requiere solo un único fluido de calibración en uso.
- 35 40 Como se discutió anteriormente, los sensores con membranas heterogéneas porosas según esta invención exhibirán inevitablemente la pérdida de reactivos del dispositivo en la solución de prueba. Además, algunos contaminantes o interferencias electroquímicas pueden pasar de la solución de prueba al dispositivo. Es sorprendente que las mediciones se pueden realizar con dispositivos de la invención en los que las composiciones químicas de los reactivos cambian en la superficie del electrodo, incluso después de una humectación completa del dispositivo. Por tanto, es el objeto de esta invención enseñar composiciones y propiedades de membrana heterogéneas que son tolerantes a estos efectos perjudiciales, y enseñar métodos de medición usando electrodos que incorporan membranas heterogéneas que pierden contenidos específicos en la solución de prueba o adquieren contaminantes de la solución de prueba durante el uso. Esta invención además enseña el rango de propiedades de transporte aceptables de una membrana heterogénea para la detección electroquímica. En la realización preferida, se requiere que el coeficiente de difusión del vapor de agua sea al menos 10 veces más rápido que el coeficiente de difusión de electrolitos acuosos 45 y otras especies solubles en agua, y preferiblemente mayor que 50 veces más rápido. Más específicamente, la difusión de gas y vapor de agua se produce preferiblemente a una velocidad de difusión superior a  $5 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$  y de electrolitos a menos de  $5 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ .

También es sorprendente que los atributos de rendimiento reproducibles de los dispositivos de la invención sean robustos para las variaciones de las dimensiones físicas de los dispositivos. La metodología de acuerdo con esta invención permite, por lo tanto, un relajamiento de la especificación sobre el control dimensional y la precisión de composición y permite procesos de fabricación más simples y menos materiales y etapas de proceso.

#### Breve descripción de los dibujos

Se describirán ahora adicionalmente realizaciones preferidas de la invención a modo de ejemplo solamente y con referencia a los dibujos adjuntos, en los que

- 55 La figura 1A es una sección transversal esquemática del principio a través de un electrodo de acuerdo con la invención; Las figuras 1B y 1C son secciones transversales horizontales de realizaciones preferidas del dispositivo según esta invención;

La figura 2A es el tiempo simulado hasta el 95% de humectación de una membrana heterogénea frente al espesor de la membrana;

La figura 2B es el tiempo simulado hasta el 95% de humectación de una membrana heterogénea frente al contenido de agua en equilibrio;

5 Las figuras 3A y 3B son secciones transversales horizontales de un electrodo de referencia de puente salino plano de la técnica anterior;

La figura 3C es una sección transversal horizontal de un electrodo de referencia de puente salino de acuerdo con una realización de esta invención;

10 La figura 4 es un gráfico de datos experimentales de voltaje del electrodo en función del tiempo de los electrodos de referencia según la invención;

La figura 5A es un gráfico de la concentración de sal simulada en la superficie de la membrana interna frente al tiempo para un electrodo de referencia de acuerdo con esta invención;

La figura 5B es un gráfico del voltaje del electrodo simulado en función del tiempo de electrodos de referencia de acuerdo con la invención;

15 La figura 6A es un gráfico de la resistencia experimental a la membrana frente al tiempo para electrodos de referencia según la invención;

La figura 6B es un gráfico de la resistencia simulada a la membrana frente al tiempo de los electrodos de referencia de acuerdo con la invención;

20 La figura 7 es un gráfico de la respuesta del electrodo de referencia experimental (cuadrados abiertos) frente al tiempo y la respuesta del electrodo de referencia calculado (líneas continuas y discontinuas) de la simulación;

La figura 8A es una vista esquemática de la superficie inferior de una tarjeta de diagnóstico con fluidos integrales y que incluye electrodos de acuerdo con esta invención;

La figura 8B es un esquema de vista lateral de la tarjeta de diagnóstico de la figura 8A a lo largo de la trayectoria de movimiento de fluidos AA';

25 La figura 8C es un esquema de vista lateral de la tarjeta de diagnóstico de la figura 8A a lo largo de la trayectoria de movimiento de fluidos BA';

La figura 9A es un esquema de vista lateral de la tarjeta de diagnóstico a lo largo de la trayectoria de movimiento de fluidos AA' y los elementos coincidentes del lector de tarjetas en la posición inicial;

30 La figura 9B es un esquema de vista lateral de la tarjeta de diagnóstico a lo largo de la trayectoria de fluido AA' y los elementos coincidentes del lector de tarjetas cuando la tarjeta desciende sobre la superficie de acoplamiento;

La figura 9C es una vista lateral esquemática de la tarjeta de diagnóstico a lo largo de la trayectoria de fluido AA' y los elementos coincidentes del lector de tarjetas cuando la tarjeta ha entrado en contacto con la superficie de acoplamiento; y

35 La figura 10 es una vista lateral esquemática de la tarjeta de diagnóstico a lo largo de la trayectoria de movimiento de fluidos BA' y la entrega de muestra desde una jeringa.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

En la construcción más general como se muestra en la figura 1A, los electrodos de acuerdo con la invención incluyen un conductor 1 eléctrico plano. El conductor plano es coplano con, y se pone en contacto con un aislante 2 con una abertura 3 completa que define una región de electrodo. Una membrana 4 heterogénea está construida para contacto directo con un fluido de muestra acuoso, está situada en la región del electrodo y se extiende a través de la abertura 3 para contacto eléctrico con el conductor 1. La membrana heterogénea comprende un compartimento hidrófobo permeable al gas y un compartimento hidrófilo permeable al electrolito.

Electrodos de membrana heterogéneos

45 Las membranas heterogéneas de acuerdo con esta invención son materiales que consisten en una mezcla íntima de dos componentes. El primero es un componente de material permeable a los gases hidrófobo, el segundo es un componente conductor de electrolitos hidrófilo. En una composición preferida, el componente hidrófobo está en exceso por volumen con respecto al componente hidrófilo. La propiedad de transporte esencial de la membrana heterogénea de la invención es que el coeficiente de difusión de la membrana para gas a través del compartimento hidrófobo (vapor de agua para humedecer) es significativamente mayor que el coeficiente de difusión de la membrana de especies disueltas en el agua (iones y neutros no moléculas volátiles) contenidas dentro del compartimento hidrófilo. Hemos

encontrado que los sensores se pueden hacer con atributos de rendimiento adecuados cuando la relación de estos coeficientes de difusión es aproximadamente 10, pero preferiblemente la relación debe ser al menos 50 y mejor aún mayor que 100.

Preferiblemente, el componente hidrófobo de la mezcla es un polímero de alta velocidad con permeación de vapor.

5 Tales polímeros son bien conocidos en la técnica. Ejemplos incluyen polisiloxanos, poli-organo-fosfazenos y poli-1-trimetil-silil-1-propino y poli-4-metil-2-pentíleno. El componente hidrófilo de la mezcla es un compartimento hidrófilo que comprende algunos o todos los siguientes: emulsionantes, aglutinante de polímero hidrófilo, sales de electrolito y otros componentes disueltos opcionales dependiendo del sensor. Los polímeros hidrófilos son bien conocidos en la técnica. Ejemplos incluyen poli(alcoholes vinílicos), polihidroximetacrilatos, poliacrilamidas, polisacáridos, polímeros celulósicos y gelatinas. Otros constituyentes opcionales del compartimento hidrófilo incluyen entrecruzadores, catalizadores, agentes redox, reguladores y tensioactivos que se incorporarán en la membrana tras la preparación.

10 Las membranas heterogéneas se preparan mediante fundición a partir de soluciones y suspensiones de los materiales de la membrana en disolventes volatilizables. Las membranas se pueden fundir 1: a partir de una solución acuosa de fundición que contiene componentes hidrófilos disueltos y el componente hidrófobo como una suspensión de partículas

15 sólidas de la resina de polímero hidrófobo o como una emulsión de polímero o monómero hidrófobo líquido en suspensión. La suspensión líquida puede ser resina polimérica disuelta en un disolvente hidrófobo o puede ser un polímero o monómero líquido sin disolvente. Los monómeros o precursores líquidos de bajo peso molecular en la suspensión se pueden reticular en una membrana sólida de polímero hidrófobo después de la fundición si el polímero hidrófobo contiene grupos reactivos que pueden entrecruzarse o mediante la adición de aditivos de entrecruzamiento apropiados a la emulsión. 2: a partir de una solución de moldeo no acuosa que contiene un polímero hidrófobo disuelto y el componente hidrófilo disuelto en agua en una emulsión con el disolvente no acuoso.

20 En principio, es factible cualquier método de deposición de un recubrimiento a partir de un líquido volatilizable. La membrana podría moldearse en un electrodo plano utilizando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica, como

25 dispensar a través de una boquilla, transferir una gota al electrodo desde una punta sólida, recubrimiento por centrifugación, recubrimiento por inmersión, recubrimiento por pulverización, serigrafía y similares. Hemos utilizado principalmente técnicas de transferencia por aguja y dispensación por boquilla.

Las dimensiones del dispositivo específico y la composición del elemento de membrana heterogéneo dependerán del tipo y función del electrodo de esta invención.

30 Los dispositivos de esta invención abarcan sensores que funcionan como electrodos de referencia de puente salino potenciométricos, pero los principios de diseño también se pueden extender a otros tipos de sensores tales como sensores de gas potenciométricos y polarográficos y electrodos para enzimas.

Todos los diversos tipos principales de electrodos que se pueden conseguir con la tecnología de membrana heterogénea de la presente invención se representan en la realización preferida de la invención mostrada en la figura 1B y una realización alternativa mostrada en la figura 1C.

35 En estas figuras, las composiciones y dimensiones específicas de los elementos dependerán del tipo de electrodo específico. Como será evidente a partir de las siguientes descripciones detalladas de cada uno de los diferentes tipos de electrodos, la composición, estructura y dimensiones de las membranas heterogéneas determinan las propiedades funcionales del electrodo respectivo.

40 La figura 1B representa una primera realización preferida que es un electrodo de hoja laminada, mientras que la figura

45 1C representa otra realización preferida, un electrodo de sustrato aislante recubierto. Ambas figuras ilustran un par de electrodos en un solo sustrato para mostrar cómo se pueden producir múltiples electrodos en un único sustrato. Está claramente contemplado en esta invención que podría haber numerosas combinaciones diferentes de electrodos en un único sustrato según lo determinado por la aplicación de prueba. Por ejemplo, un dispositivo de prueba para gases sanguíneos (pH, dióxido de carbono disuelto y oxígeno disuelto) consistiría en una matriz de 4 electrodos en un sustrato (electrodos indicadores para pH y los dos gases disueltos y un electrodo de referencia de puente salino común). Un dispositivo de prueba de glucosa sería una matriz de dos electrodos en un sustrato y así sucesivamente.

50 La realización de hoja laminada de la figura 1B mostrada en sección transversal incluye un módulo de electrodo con un par de electrodos. Como se describe en detalle en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos en trámite SN09/871,823, el módulo 5 de electrodo incluye una hoja 6 aislante laminada con una lámina 7 conductora y adhesivo opcional 6A entre ellas. Las aberturas 8A y 8B se extienden a través del aislante y definen la posición de los dos electrodos. Los recubrimientos 9A y 9B se aplican sobre las aberturas y se extienden al interior con superposición sobre el aislante. Los recubrimientos están en contacto eléctrico con la lámina del conductor 7.

55 La realización del sustrato aislante recubierto de un módulo 10 de electrodo se muestra en sección transversal en la figura 1C que incluye un par de electrodos. Un sustrato 11 aislante plano soporta dos películas 12 conductoras recubiertas por una capa 13 superior aislante. Las aberturas 14A y 14B se extienden a través de la capa superior aislante y definen la posición respectiva de los dos electrodos. Los recubrimientos 15A y 15B se extienden dentro de las aberturas, se solapan sobre la capa superior aislante y hacen contacto con los conductores 12.

Los recubrimientos 9A y 9B de la figura 1B y 15A y 15B de la figura 1C son elementos de membrana heterogéneos de acuerdo con esta invención

Propiedades de transporte de membranas heterogéneas

Se necesita la consideración de las propiedades de transporte de la membrana para comprender mejor las reglas de diseño para la selección de materiales y la composición de una membrana heterogénea de acuerdo con esta invención. Para modelar las propiedades de transporte de la membrana heterogénea, es necesario conocer las propiedades de transporte de sus componentes individuales y la naturaleza de su mezcla, particularmente el volumen relativo de los componentes hidrófobos e hidrófilos, las dimensiones características de las rutas de transporte del compartimiento hidrófilo y la tortuosidad de las rutas de transporte creadas cuando los dos componentes están íntimamente mezclados.

La tortuosidad del camino de transporte de una membrana describe la rata reducida de difusión de la especie en relación con la difusión a través de un bloque de material puro. En una membrana heterogénea de esta invención, la tortuosidad se puede modelar mediante la longitud de trayectoria incrementada para el transporte de una trayectoria continua o mediante la rata reducida de transporte de partículas desde islas aisladas dentro de una trayectoria discontinua. Ambos modelos de transporte son bien conocidos en la técnica del transporte de membrana.

Una membrana heterogénea de esta invención es un bloque de área geométrica A y espesor geométrico L y volumen  $V = AL$  que comprende un volumen  $V_G$  de polímero permeable a los gases del compartimiento hidrófobo y  $V - V_G = V_H$  de un compartimento hidrófilo.

El material heterogéneo tiene dos rutas de transporte a través del espesor de la membrana. Hay una primera ruta de transporte para el gas y el vapor de agua a través del compartimento de polímero hidrófobo. El polímero hidrófobo es un material caracterizado por una solubilidad en gas  $S_G$  moles  $\text{cm}^{-3}$   $\text{atm}^{-1}$  y un coeficiente de difusión de gas  $D_G$   $\text{cm}^2 \text{seg}^{-1}$ . Cuando se equilibra con agua a una temperatura  $T$ , hay  $S_G P$  moles de agua por  $\text{cm}^3$  del compartimiento hidrófobo en donde  $P$  en atmósferas es la presión de vapor saturada de agua en  $T$ . La ruta de transporte de gas hidrófoba se caracteriza por un área efectiva  $A_G$ , y una longitud  $L_G$  efectiva. La relación  $L_G/L > 1$  caracteriza una ruta de transporte más larga para permeabilidad gaseosa que el grosor geométrico. La relación  $(L_G/L)^2 = \tau_G$  caracteriza la tortuosidad de la trayectoria permeable al gas. Para una membrana heterogénea en la que el componente de volumen predominante es el compartimento hidrófobo,  $V_G/V > 0.5$ , la tortuosidad estará en el rango  $1 < \tau_G < 2$ . El coeficiente de difusión efectiva del gas a través del camino permeable al gas de la membrana heterogénea es  $D_{G,M}$  dada por  $D_{G,M} = D_G/\tau_G$  en donde el coeficiente de difusión efectivo con relación a la membrana es menor que el coeficiente de difusión en un bloque del polímero hidrófobo puro  $D_G$  por el factor de tortuosidad  $\tau_G$ . El material permeable al gas preferido seleccionado fue poli-dimetil siloxano (PDMS) y sus derivados. Los datos publicados para la solubilidad del gas y el coeficiente de difusión para PDMS a temperatura ambiente se muestran en la tabla a continuación.

TABLA 1

Gas	$D \text{ cm}^2 \text{seg}^{-1}$	$S \text{ moles cm}^{-3}$
Vapor de agua	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-3}$
Dióxido de carbono	$1.1 \times 10^{-5}$	$6 \times 10^{-5}$
Oxígeno	$2 \times 10^{-5}$	$1.5 \times 10^{-5}$

Un segundo camino de transporte para las sales de electrolitos y las moléculas no volátiles es a través del compartimento hidrófilo. El compartimento hidrófilo se caracteriza por una solubilidad en agua de  $S_H$  moles  $\text{cm}^{-3}$   $\text{atm}^{-1}$ . Cuando se equilibra con agua a una temperatura  $T$  hay  $S_H P$  moles de agua por  $\text{cm}^3$  de volumen del compartimento hidrófilo en donde  $P$  en atmósferas es la presión de vapor saturada de agua a temperatura  $T$ . El camino de transporte se caracteriza por un área efectiva  $A_H$ , y una longitud efectiva  $L_H$ . La relación  $L_H/L > 1$  caracteriza una ruta de transporte más larga que el grosor geométrico. La relación  $(L_H/L)^2 = \tau_H$  caracteriza la tortuosidad de la ruta hidrófila. Para una membrana heterogénea en la que el componente de volumen minoritario es el compartimento hidrófilo ( $V_H/V < 0.5$ ), la tortuosidad puede ser grande y depender de la naturaleza de la mezcla de componentes hidrófobos e hidrófilos. Cuando la cantidad de componente hidrófilo en la membrana heterogénea es grande, el compartimento hidrófilo comprende trayectos de conducción conectados continuos dentro de la membrana heterogénea y  $\tau_H$  estará en el orden de la unidad. Cuando la cantidad de componente hidrófilo en la membrana es pequeña, las trayectorias del compartimento hidrófilo son tortuosas o incluso discontinuas y  $\tau_H$  será grande, y cuando se aíslan,  $\tau_H$  se approxima al infinito y no hay un camino de conducción hidrófilo a través de la membrana.

El compartimento hidrófilo se caracteriza además por un modelo de poros microcapilares que contienen agua contenida dentro de una matriz hidrófila continua. El volumen de electrolito acuoso en el compartimento hidrófilo es  $V_E$  y el volumen de los componentes secos del otro hidrófilo  $V_H - V_E$ . En el equilibrio  $V_E/V_H = S_H P/0.055$ , suponiendo que 0.055 moles de agua ocupan  $1 \text{ cm}^3$ . El camino de conducción del electrolito dentro del compartimento hidrófilo se

caracteriza por un área efectiva  $A_E$  y una longitud efectiva  $L_E$ . La relación  $L_E/L_H > 1$  caracteriza una ruta de transporte más larga para el difusor de electrolito a través de los poros del compartimento hidrófilo que la longitud del camino hidrófilo. La relación  $(L_E/L_H)^2 = \tau_P$  caracteriza la tortuosidad de los poros del electrolito con relación a la trayectoria hidrófila. La combinación de la tortuosidad de la ruta del electrolito en la matriz hidrófila y la tortuosidad de la ruta de la matriz hidrófila dentro de la membrana heterogénea da la tortuosidad total de la ruta del electrolito con respecto a la membrana como  $(L_E/L)^2 = \tau_{PTH} = \tau_E$ . Es bien conocido en la técnica de geles poliméricos hidrófilos que  $\tau_P$  la tortuosidad del recorrido del electrolito a través de los poros de un polímero hidrófilo puede ser muy grande dependiendo del contenido de agua en equilibrio del polímero hidrófilo y el grado de entrecruzamiento de la matriz, de modo que típicamente  $1 < \tau_P < 10000$  cuando  $0.01 < V_E/V_H < 1$ . En consecuencia, es posible formular matrices hidrófilas en donde el contenido de agua en equilibrio es del orden de un pequeño porcentaje del volumen de la matriz hidrófila y el coeficiente de difusión de difusores acuosos en la matriz hidrófila es hasta 1000 veces menor que el coeficiente de difusión en agua. (véase, por ejemplo, Hydrogels in Medicine and Pharmacy, CRC Press, N.A. Peppas ed., Vol 1 1986). El coeficiente de difusión efectivo de una especie disuelta en el agua intersticial del compartimento hidrófilo de una membrana heterogénea es  $D_{E,M}$  dado por  $D_{E,M} = D_E/\tau_E$  en donde el coeficiente de difusión efectivo con respecto a la membrana heterogénea es menor que el coeficiente de difusión en un bloque de electrolito  $D_E$  puro acuoso por el factor de tortuosidad  $\tau_E$ . Para la difusión de moléculas pequeñas a través de un polímero hidrófilo que contiene una fracción volumétrica  $V_E/V_H$  del agua, la constante de difusión de una sal a través del compartimento hidrófilo  $D_H$  es menor que el coeficiente de difusión en agua  $D_w$  por un factor dado por

$$\frac{D_H}{D_w} = \frac{1}{\tau_P} = e^{N \left( 1 - \frac{V_H}{V_E} \right)}$$

### Ecuación 1

en donde  $N$  es una constante cercana a la unidad (véase, por ejemplo, H. Yasuda et al, "Permeability of Solutes through Hydrated Polymer Membranes" en Die Makromolekulare Chemie 118 (No. 2858), (1968) p 19-35). El factor de coeficiente de difusión relativo está relacionado con la tortuosidad previamente definida. La literatura de polímeros hidrófilos (de los cuales son típicos los dos ejemplos anteriores) proporciona numerosos ejemplos de métodos de entrecruzamiento químico para lograr matrices poliméricas hidrófilas con diferente absorción de agua en equilibrio y diferentes coeficientes de difusión de sal.

El transporte de gas y vapor de agua a través de la membrana heterogénea es principalmente por difusión a través del compartimiento permeable a los gases y luego por partición entre el compartimento permeable a los gases y el compartimento hidrófilo dentro de la membrana. Se puede suponer que el reparto de agua entre los poros de los compartimentos hidrófilo e hidrófilo es un proceso de equilibrio cuando el transporte de agua a través del límite de poro hidrófobo/hidrófilo es rápido en comparación con el transporte a lo largo del poro a través del espesor de la membrana. La distancia característica del transporte de poros hidrófobos a hidrófilos es del orden del tamaño de poro de la mezcla (del orden de 1 micrómetro) que es pequeña en comparación con el espesor de la membrana (del orden de 100 micrómetros). Cuando el transporte de agua desde el compartimiento hidrófobo al compartimento hidrófilo es más lento, tal como cuando el tamaño de poro característico de la mezcla heterogénea es grande, se introduce una constante de tiempo adicional en la cinética de absorción de agua.

El transporte de electrolito es a través de los poros capilares llenos de agua dentro del compartimento hidrófilo solamente.

Para comprender mejor el rango requerido de propiedades de transporte de las membranas heterogéneas de esta invención, hemos realizado simulaciones de las características de respuesta de los electrodos inventados usando un método numérico de diferencia finita. Con este método resolvimos las ecuaciones que describen el transporte simultáneo de varias especies a través de la membrana heterogénea. Los resultados de esta simulación son las concentraciones de la especie (agua, iones, otros solutos y gases) dentro de la membrana frente a la posición y el tiempo. Estos valores de concentración se usan a continuación para calcular las respuestas eléctricas de los electrodos usando membranas heterogéneas de esta invención. Estas simulaciones numéricas y los datos de los electrodos de membrana heterogéneos de ejemplo fabricados de acuerdo con esta invención se presentan a continuación para enseñar cómo practicar mejor la invención.

#### Difusión de agua en membranas heterogéneas

Generalmente, el caso es que antes de la incorporación de agua en un sensor electroquímico de reactivo seco 1: El dispositivo muestra un ruido significativo. En ausencia de agua, los componentes de membrana global del dispositivo aún no son suficientemente conductores de iones y su resistencia eléctrica es grande; 2: Los potenciales del electrodo y las pendientes de respuesta de los electrodos potenciométricos, incluidos los electrodos de referencia potenciométricos, son erráticos y varían rápidamente con el tiempo. Antes de la humectación, las reacciones electroquímicas en las interfaces de los electrodos son lentas y se dice que el potencial del electrodo no está bien equilibrado; 3: Los dispositivos polarográficos muestran una baja corriente de electrodo y grandes corrientes transitorias capacitivas antes de la humectación. En consecuencia, hay un momento inicial en donde un sensor

electroquímico de reactivo seco debe sumergirse en una solución acuosa, durante cuyo tiempo el dispositivo absorbe agua antes de alcanzar su estado de funcionamiento como sensor. Esto se llama tiempo de humectación.

La humectación de las membranas heterogéneas de esta invención es por difusión rápida de agua a través del compartimiento hidrófobo permeable a los gases y luego mediante una rápida división entre el compartimento permeable a los gases y el compartimento hidrófilo dentro de la membrana heterogénea.

Se ha calculado la humedad de las membranas heterogéneas de la siguiente manera: Primero calculamos la dependencia del tiempo y la posición del agua que se difunde en la membrana a través del compartimiento hidrófobo. La solución numérica de las ecuaciones de transporte utilizó una condición inicial de  $1 \times 10^{-5}$  moles  $\text{cm}^{-3}$  correspondiente al contenido de agua de equilibrio inicial de un polímero hidrófobo con solubilidad en agua  $1 \times 10^{-3}$  moles  $\text{cm}^{-3}$   $\text{atm}^{-1}$  almacenado inicialmente en un ambiente de 0.01 atmósferas de vapor de agua (que corresponde al aire ambiente normal a  $23^\circ\text{C}$  y 40% RH). La solubilidad y el coeficiente de difusión utilizados en este cálculo son los que se muestran en la Tabla 1 para PDMS que es un ejemplo de un polímero altamente permeable a los gases. La cantidad de agua en el compartimento hidrófilo se obtiene calculando la división de equilibrio entre los compartimentos hidrófobo e hidrófilo (suponiendo un valor para la absorción de agua en equilibrio del compartimento hidrófilo). La cantidad de agua frente al tiempo en la superficie de la membrana interna en el electrodo se obtiene así. El tiempo para una absorción de agua del 95% en la superficie interna se obtiene a partir del transiente de tiempo calculado.

El tiempo calculado para una humectación del 95% para varias composiciones y espesores de membrana heterogéneas se muestra en la figura 2. El porcentaje en volumen de agua en la membrana dado por  $V_E/V \times 100\% = V_E/V_H \times V_H/V \times 100\%$  es el producto de la fracción de volumen de agua en el componente hidrófilo multiplicado por la fracción de volumen del hidrófilo compartimento en la membrana heterogénea. El tiempo de humectación aumenta linealmente con la cantidad de agua en la membrana humedecida (figura 2A). El tiempo de humectación aumenta a medida que el cuadrado del espesor de la membrana (figura 2B).

Las composiciones de membrana típicas de acuerdo con esta invención tienen  $0.01 < V_H/V < 0.1$  y  $0.01 < V_E/V_H < 0.1$ , de modo que  $0.0001 < V_E/V < 0.01$ . Un grosor de membrana típico es de 0.01 cm, de modo que  $t_{95}$  de una membrana heterogénea típica está en el rango de  $12 < t_{95} < 60$  segundos cuando contiene un polímero hidrófobo típico permeable a los gases cuya solubilidad en agua es  $1 \times 10^{-3}$  moles  $\text{cm}^{-3}$   $\text{atm}^{-1}$  y el coeficiente de difusión es  $1 \times 10^{-5}$   $\text{cm}^2 \text{seg}^{-1}$ .

#### Electrodo de referencia de puente salino potenciométrico con membrana heterogénea

Las figuras 3A y 3B muestran secciones transversales horizontales de electrodos de referencia de puente salino plano de la técnica anterior, mientras que la figura 3C ilustra una sección horizontal preferida de un electrodo de puente salino preferido de la invención. El dispositivo 20 representado en la figura 3A es un electrodo de referencia plano de puente salino extendido de la Patente de la técnica anterior US 4,933,048. Comprende un sustrato 21 plano, con un conductor 22 microfabricado en contacto con un electrodo de plata 24 y 25 cloruro de plata microfabricado a través de un orificio en una capa 23 aislante. Una matriz 26 hidrófila de película delgada que contiene cloruro de potasio se microfabrica para extender desde el electrodo a una región 28 remota en donde hay una unión líquida con la solución de prueba. La película de matriz hidrófila está recubierta con un elemento 27 aislante permeable al vapor de agua micro fabricado. El dispositivo 30 representado en la figura 3B es otro electrodo de referencia plano de la patente de la técnica anterior US 4,592,824. Comprende un sustrato 31 de silicio plano, con un electrodo 34 de plata y 35 cloruro de plata microfabricado sobre una capa 33 aislante. Hay una cavidad grabada en el silicio que se llena con solución 36 de cloruro de potasio y se sella con una cubierta 37 de vidrio. El electrolito integral en la cavidad crea un contacto de unión líquida con la solución de prueba a través de una región porosa fabricada en el sustrato 38 de silicio.

En su uso, los electrodos de referencia de puente salino plano de la técnica anterior se sumergen en la solución de prueba. El depósito integral de cloruro de potasio permanece en una concentración constante sobre el electrodo de plata-cloruro de plata, definiendo así un voltaje de electrodo constante. Un puente salino conecta eléctricamente la región del electrodo de plata-cloruro de plata a la solución de prueba externa.

La Figura 3C muestra una sección transversal horizontal de una realización preferida de la presente invención dirigida a electrodos de referencia de puente salino potenciométricos.

La realización de la figura 3C es notablemente simple cuando se compara con los dispositivos complejos multicapa de la técnica anterior discutidos anteriormente. En esta realización, el electrodo plano es solo de metal (sin sal metálica como en la tecnología estándar de plata-cloruro de plata). El metal es el mismo que el material de contacto de metal. El electrolito de puente salino se incorpora en un recubrimiento de membrana de una sola capa que consiste en una composición heterogénea. El módulo 40 de electrodo mostrado en sección transversal incluye una hoja 41 aislante laminada con un elemento 42 de lámina metálica conductora y un adhesivo 43 intermedio opcional. Un pasaje 44 perforado a través de la hoja 41 aislante determina la ubicación del electrodo. La membrana 45 heterogénea consiste en un componente polimérico hidrófobo que es permeable al vapor de agua (pero no permeable al electrolito) y un componente hidrófilo, permeable a electrolito. El componente hidrófilo consiste en al menos una sal concentrada de cationes y aniones aproximadamente equimóviles (tales como cloruro de potasio) y una especie activa redox que participa en una reacción de óxido-reducción en el electrodo de metal. En una realización preferida de este dispositivo, el electrodo es de oro, la membrana heterogénea consiste en un polímero hidrófobo de siloxano mezclado con un

componente hidrófilo que contiene al menos cloruro de potasio y ferrocianuro de potasio. Componentes adicionales del compartimento hidrófilo de la membrana son aglutinantes poliméricos hidrófilos tales como poli(alcohol vinílico) y tensioactivos y reguladores de pH.

- 5 El compartimento hidrófobo permeable al vapor de agua de la membrana heterogénea debería estar presente en cantidad suficiente para lograr una captación de agua suficiente y rápida (típicamente menos de 30 segundos) en la membrana inicialmente sustancialmente seca. La definición de "seco" utilizada en esta descripción es la ausencia de agua en la medida en que el compartimento hidrófilo "seco" tiene las propiedades de un clasificador cuasisólido que un electrolito líquido, y además que los componentes de la membrana son químicamente estables durante el almacenamiento en estantería y no se transporta apreciablemente fuera de la membrana durante el almacenamiento.
- 10 La condición inicial de la membrana seca podría ser tal como los resultados del almacenamiento en un entorno de humedad relativa del 40% normal y no necesita estar seca como resultado de una condición de almacenamiento relativamente anhidra (baja humedad relativa). Hemos almacenado todos los dispositivos de ejemplo descritos aquí a la temperatura y humedad nominales (40% +/- 10% RH). En uso, hay una absorción de agua rápida inicial (típicamente menos de 30 segundos) a través del compartimento hidrófobo tras la inmersión del dispositivo en la solución de prueba.
- 15 En estado seco, el contenido de agua del compartimento hidrófilo es relativamente pequeño y, de acuerdo con la ecuación 1, la tortuosidad de sus trayectorias de conducción es grande. En consecuencia, la resistencia eléctrica también es grande y los dispositivos exhiben ruido. El dispositivo no funciona como un electrodo de referencia estable hasta que se haya humedecido.
- 20 Debido a que este dispositivo está destinado a uso con un electrodo indicador potenciométrico en un procedimiento de medición que usa un único fluido de calibración, la especificación de diseño de un electrodo de referencia de puente salino de la invención actual no requiere el potencial del electrodo de referencia (que es la suma del potencial en el electrodo debido a la posible reacción determinante más el potencial de unión del líquido) para ser constante en el curso de una medición, o constante de un dispositivo a otro. El dispositivo de rendimiento óptimo solo necesita mostrar una baja pendiente de respuesta a los cambios en la composición química de la solución de prueba. Por lo tanto, no es necesario que las concentraciones de la especie determinante del potencial del electrodo (el reactivo redox en este ejemplo) en el límite interno de la membrana heterogénea permanezcan constantes durante el uso, solo que las concentraciones permanecen en un exceso suficiente sobre contaminantes redox que impregnán desde la solución de prueba para constituir la posible reacción de electrodo determinante. Tampoco es necesario que las concentraciones de los diversos electrolitos del puente salino permanezcan constantes, solo que permanecen por encima de una concentración umbral consistente con un bajo potencial de unión líquida.
- 25 Durante y después de la humectación, se produce un agotamiento continuo de la membrana heterogénea de los reactivos incorporados inicialmente en su compartimento hidrófilo (al menos cloruro de potasio y un electrolito redox) por difusión a la solución de prueba. Por lo tanto, la concentración de estos reactivos en la membrana heterogénea disminuye a lo largo de la medición. Las cantidades iniciales de reactivos en la membrana, el espesor de la membrana y la permeabilidad del compartimento hidrófilo de la membrana determinarán el tiempo para agotar los reactivos a un nivel de concentración de umbral crítico. Como se mostrará a continuación, siempre que el coeficiente de difusión de sal sea suficientemente bajo, la concentración de cloruro de potasio en la membrana permanece por encima de una concentración umbral hasta el momento de la medición (un tiempo de medición típico es del orden de 10 a 200 segundos) la pendiente de respuesta del electrodo de referencia será pequeña. Siempre que la concentración del reactivo redox permanezca en un nivel tal que el reactivo redox sea la especie potencial determinante, no habrá respuesta del electrodo a los niveles cambiantes de contaminantes electroactivos en la solución de prueba. La membrana heterogénea formulada con un bajo coeficiente de difusión de electrolito también impide el transporte de contaminantes redox desde la solución de prueba a la superficie del electrodo, en donde podrían competir como potenciales reactivos determinantes.
- 30 35 40 45 50 55
- 40 Durante y después de la humectación, se produce un agotamiento continuo de la membrana heterogénea de los reactivos incorporados inicialmente en su compartimento hidrófilo (al menos cloruro de potasio y un electrolito redox) por difusión a la solución de prueba. Por lo tanto, la concentración de estos reactivos en la membrana heterogénea disminuye a lo largo de la medición. Las cantidades iniciales de reactivos en la membrana, el espesor de la membrana y la permeabilidad del compartimento hidrófilo de la membrana determinarán el tiempo para agotar los reactivos a un nivel de concentración de umbral crítico. Como se mostrará a continuación, siempre que el coeficiente de difusión de sal sea suficientemente bajo, la concentración de cloruro de potasio en la membrana permanece por encima de una concentración umbral hasta el momento de la medición (un tiempo de medición típico es del orden de 10 a 200 segundos) la pendiente de respuesta del electrodo de referencia será pequeña. Siempre que la concentración del reactivo redox permanezca en un nivel tal que el reactivo redox sea la especie potencial determinante, no habrá respuesta del electrodo a los niveles cambiantes de contaminantes electroactivos en la solución de prueba. La membrana heterogénea formulada con un bajo coeficiente de difusión de electrolito también impide el transporte de contaminantes redox desde la solución de prueba a la superficie del electrodo, en donde podrían competir como potenciales reactivos determinantes.
- 45 Para comprender mejor las reglas de diseño para formular la membrana de puente salino heterogénea de acuerdo con esta invención, presentamos datos de prueba de varios electrodos de referencia de ejemplo hechos de acuerdo con esta invención y comparamos sus características eléctricas con datos de simulación calculados.
- 50 En las simulaciones, se calculó la concentración transitoria de tiempo de difusión de agua, difusión de reactivos y difusión de contaminantes en el compartimento hidrófilo de la membrana heterogénea utilizando la solución de diferencia finita previamente descrita de las ecuaciones de difusión. Un refinamiento adicional de la simulación numérica es el uso de coeficientes de difusión de sales variables en tiempo y posición en la membrana. Esto permite el modelado del transporte de la membrana durante el período de humectación, tiempo durante el cual están cambiando la porosidad y la tortuosidad (y, por lo tanto, los coeficientes de difusión de la sal) del camino hidrófilo. Se ha utilizado la relación de la ecuación 1 entre las propiedades de transporte de membrana y el contenido de agua.
- 55 **Ejemplos de electrodo de referencia:**

Se fabricaron electrodos de referencia en módulos de tarjetas inteligentes disponibles comercialmente. Comprenden un cuerpo de lámina epoxi de aproximadamente 1 cm x 1 cm y 0.01 cm de espesor con un lado laminado con un cobre de 0.0015 cm que se chapa con oro. La lámina de metal había sido fotoconformada en 8 almohadillas de contacto en

una geometría especificada por el estándar ISO para módulos de tarjetas inteligentes. Había siete puertos de 0.8 mm de diámetro cortados a troquel a través de la lámina de epoxi en las regiones por encima del metal de contacto.

- 5 Los módulos se usaron para la preparación de electrodos tal como se recibieron del vendedor. Las membranas heterogéneas de los electrodos de referencia se imprimieron mediante la técnica de impresión por transferencia por pasador. En este método, se sumergió un pasador de metal en la solución de impresión para adquirir una carga de material de impresión. El pasador con material de impresión fue luego transferido a la superficie del módulo en la región de un pasaje a través del epoxi. La carga de impresión se depositó sobre el pasaje cuando el pasador con su material de impresión se puso en contacto con la superficie del módulo. El espesor húmedo de la impresión fue de aproximadamente 200 a 500 micrómetros y el diámetro de aproximadamente 1 mm a 1.2 mm. Para fines de prueba, normalmente se imprimieron varios electrodos por módulo con membranas de electrodos de referencia. Los módulos impresos se secaron al aire durante aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente y luego en una placa caliente a aproximadamente 70°C. Las membranas que contenían PVA fotocohezivo se expusieron después a UV desde una lámpara dental comercial durante 10 segundos. Los módulos se almacenaron a temperatura ambiente (20-25°C) y humedad (40-50% de humedad relativa) antes de la prueba.
- 10 15 El cóctel de impresión comprendía una emulsión acuosa de siloxano con sales disueltas. La emulsión de siloxano acuosa fue SM2059 obtenida de General Electric. Esta es una emulsión de siloxano con terminación amina reactiva con emulsionante catiónico. Se añadieron cantidades pesadas de sales (y alcohol polivinílico en algunos cócteles) a la emulsión de siloxano tal como se recibió, en las cantidades que se muestran en la tabla a continuación. El poli(alcohol vinílico) era una formulación fotoentrecruzable que usa poli(alcohol vinílico) funcionalizado con estilbazonio (PVASBQ250 obtenido de Esprix Technologies).
- 20

Tabla 2

Cóctel de impresión	Siloxano/PVA	Porcentaje de sólidos PVA	Porcentaje sólidos de siloxano	milimoles KCl por gramo de siloxano	Micromol de ferrocianuro de potasio por gramo de siloxano	micromol NaHEPES por gramo de siloxano	micromol HHEPES por gramo de siloxano
PC020726-1B	SM2059/PVASBQ250	20%	80%	0.9	35	7.0	7.0
PC020729-1	SM2059/PVASBQ250	29%	71%	0.9	33	7.0	7.0
PC-020729-3	SM2059/PVA18-88	41%	59%	0.9	50	10.0	10.0
PC-020729-4	SM2059/PVASBQ250	20%	80%	0.9	35	7.0	7.0
PC-020729-4/1	SM2059/PVASBQ250	11%	89%	0.5	18	3.5	35
PC-020802-1	SM2059/PVASBQ250	20%	80%	1.1	35	7.0	7.0
PC-020802-1/1	SM2059/PVASBQ250	10%	90%	0.9	18	3.5	3.5
PC-020802-2	SM2059		100%	1.1	35	7.0	7.0
PC-021007-1	SM2059		100%	1.19	35	7.0	7.0
PC-021007-1/1	SM2059		100%	0.3	8.7	1.7	1.7

Las membranas de electrodos de referencia fueron curadas hasta a un elastómero firme, cuyo espesor seco estaba en el rango de 50 a 200 micrómetros.

- 25 Los electrodos se probaron en una celda de movimiento de fluidos. La celda comprendía una cámara de movimiento de fluidos para la introducción de fluidos acuosos. La celda consistía en dos superficies planas espaciadas, una era la superficie del electrodo del módulo para la prueba, la otra un bloque de policarbonato. Las superficies estaban

separadas por una junta de caucho de silicona que sellaba la cámara en cuanto a movimiento de fluidos. Los fluidos se introdujeron en la cámara a través de una primera tubería de entrada y se retiraron a través de una segunda tubería de salida conectada cada una a través de la losa de policarbonato. La superficie de contacto del módulo fue contactada por un conector de tarjeta inteligente fabricado por Amphenol. Había un electrodo de tierra plateado en el tubo de entrada y un electrodo de referencia de plata/cloruro de plata KCl 3M comercial (Microelectrodes Inc.) en el tubo de salida. Para mediciones potenciométricas, cada uno de los electrodos de referencia en el conjunto de electrodos de tarjeta inteligente y el electrodo de referencia comercial en línea se conectaron a un amplificador seguidor de fuente de alta impedancia y luego a un PC a través de una tarjeta de adquisición de datos. Para las mediciones de voltaje-corriente, se aplicó un voltaje al electrodo de plata en línea y los electrodos de la tarjeta inteligente se conectaron a convertidores de corriente a voltaje y luego a un PC a través de una tarjeta de adquisición de datos.

Las soluciones de ensayo fueron diversas soluciones acuosas reguladas HEPES que contenían cloruro de sodio y bicarbonato de sodio

**Ejemplo 1: Transientes de voltaje durante la humectación:**

El voltaje frente al tiempo de una matriz de siete electrodos de referencia se muestra en la figura 4. Estos datos corresponden a un conjunto de electrodos impreso con la formulación PC 020802-1/1 que se describe en la Tabla 2.

Los datos en este gráfico muestran el voltaje característico frente al transiente de tiempo de los electrodos de acuerdo con esta invención. Hay un primer transiente rápido de humectación (0-30 segundos) durante el cual el electrodo puede ser ruidoso y el voltaje cambia rápidamente. Esto es seguido por una región de meseta en la que el voltaje cambia más lentamente y luego un voltaje lento cambia a medida que las sales se escapan de la membrana.

Se realizó una simulación en una membrana heterogénea con  $V_H/V = 0.01$ ,  $V_E/V_H = 0.06$  (dando  $V_E/V = 0.06\%$  para el contenido de agua de equilibrio de la membrana),  $D_G = 1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ ,  $S_G = 1 \times 10^{-3} \text{ moles cm}^{-3} \text{ atm}^{-1}$ . La carga de sal inicial en el compartimiento hidrófilo de la membrana fue cloruro de potasio a  $1 \times 10^{-2} \text{ moles cm}^{-3}$  y ferrocianuro de potasio a  $2 \times 10^{-3} \text{ moles cm}^{-3}$ . El voltaje del electrodo frente al tiempo se calculó a partir del logaritmo de la concentración del ion de determinación de potencial (ferrocianuro) en la superficie del electrodo.

La concentración de sal simulada en la membrana en la superficie del electrodo se muestra en la figura 5A, y el voltaje del electrodo frente al tiempo en la figura 5B. Esta simulación muestra el mismo transiente de voltaje de la firma que hemos observado experimentalmente. Durante los primeros 20 segundos hay una disminución inicial rápida en la concentración de cloruro de potasio y ferrocianuro de potasio debido a la absorción de agua. Esto es seguido por una disminución más lenta por la difusión salina. La tasa de disminución de la concentración de sal aumenta con el coeficiente de difusión de sal que aumenta con el tiempo a medida que el camino hidrófilo adquiere agua según la ecuación 1. El coeficiente de difusión de sal terminal se calcula a partir de la ecuación anterior conociendo el contenido de agua terminal del camino hidrófilo. La cantidad difusión salina para una membrana dada aumenta como el coeficiente de difusión de sal de la membrana. La cantidad de contaminante externo (sal AB a 100 mM en la solución de prueba) incorporada en la membrana también aumenta como el coeficiente de difusión de sal.

**Ejemplo 2: Transientes de resistencia de la membrana durante la humectación:**

Los datos mostrados en la figura 6A son la resistencia experimental de la membrana frente al tiempo para una serie de tres electrodos con diferentes espesores. Estos electrodos se imprimieron con la formulación PC021007-1 descrita en la Tabla 2.

Los datos experimentales de la figura 6A también son transientes distintivos de los electrodos de esta invención. Hay un período (0-30 segundos para la membrana con un espesor de 100 micrómetros, 0-90 segundos para las membranas de 200 micrómetros) de humectación durante el cual la resistencia de la membrana cae rápidamente a medida que el compartimento hidrófilo de la membrana adquiere agua. Una resistencia mínima corresponde a una membrana que ha adquirido agua en equilibrio y todavía retiene las sales sustancialmente en la cantidad inicialmente cargada en la membrana. Durante un tiempo prolongado, las sales se filtran y la resistencia de la membrana aumenta nuevamente.

La resistencia eléctrica global de la membrana se simuló mediante el cálculo de los perfiles de concentración de sal transientes y los coeficientes de difusión de sal dependientes del tiempo de humectación. Este cálculo se muestra en la figura 6B. La simulación empleó un coeficiente de difusión de vapor de agua de  $1 \times 10^{-5}$  y un coeficiente de difusión de sal de  $1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ . La simulación muestra la misma característica transitoria de resistencia que los datos experimentales.

Los datos y las simulaciones anteriores muestran que durante la humectación hasta un momento en donde hay una captación de agua sustancialmente completa, la resistencia eléctrica de la membrana es grande y varía rápidamente. En consecuencia, el electrodo de referencia no muestra un rendimiento útil hasta después de una humectación sustancial.

**Ejemplo 3: Rendimiento del electrodo de referencia**

El electrodo de referencia de puente salino potenciométrico de la presente invención se dirige al despliegue de uso de la unidad con una única solución de calibrador, principalmente para análisis de sangre *in vitro*. En una aplicación de este tipo, el tiempo de medición es típicamente inferior a 300 segundos.

5 El gráfico de la figura 7 muestra los datos experimentales sobre las respuestas del electrodo de referencia de la unión líquida para una membrana heterogénea típica formulada para la aplicación. Los datos de prueba son las respuestas promediadas tomadas de dos módulos, cada uno con siete electrodos de referencia. Las membranas heterogéneas se imprimieron usando la formulación PC-020802-2 de la Tabla 2. En esta formulación, el compartimento hidrófilo comprende emulsionante y sales solamente, es decir, no se añadió aglutinante de polí(alcohol vinílico). Para la serie de formulaciones SM2059, encontramos el mejor comportamiento con el menor contenido de PVA con el rendimiento óptimo cuando no había un aglutinante de PVA.

10 En estas pruebas, presentamos sucesivamente tres soluciones diferentes en la celda de flujo. Una primera solución de referencia 1 fue NaCl 91 mM, NaHepes 9 mM y HHepes 11 mM, una segunda solución 2A (que fue la solución de referencia con cloruro 30 mM reemplazado por bicarbonato 30 mM) cuya composición fue NaCl 63 mM, NaHCO<sub>3</sub> 30 mM, NaHepes 7.5 mM y HHepes 12.5 mM. Una tercera solución 2B (que era la solución de referencia con NaCl 30 mM adicional) cuya composición era NaCl 121 mM, NaHepes 9 mM, HHepes 11 mM. Cuando se cambió la solución de la solución 1 a 2A o 2B, se registró el cambio en el potencial del electrodo con respecto al electrodo comercial de referencia, así como el tiempo durante el cual se realizó el cambio durante un período de medición desde la humectación completa hasta aproximadamente 300 segundos.

15 20 Los datos muestran que la respuesta del electrodo de referencia generalmente aumentó con el tiempo de inmersión en los fluidos de prueba, alcanzando +0.25 mV (adición de bicarbonato 30 mM) y -0.25 mV (adición de cloruro 30 mM) a 300 segundos.

25 También hemos realizado simulaciones de la respuesta de unión líquida. Hemos utilizado el modelo de difusión de diferencia finita para calcular las concentraciones de electrolitos frente al tiempo en la membrana. La diferencia de potencial entre el electrolito en el límite interno de la membrana y el electrolito en la solución de prueba en el límite externo de la membrana es el potencial de unión líquido que se calcula a partir de la ecuación de Henderson para uniones líquidas utilizando las concentraciones de electrolitos obtenidas de las soluciones numéricas de las ecuaciones de difusión. La ecuación de Henderson, que se muestra a continuación, es bien conocida en la técnica y se describe en muchos textos estándar sobre el tema (por ejemplo, A. J. Bard and L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, John Wiley & Sons, 1980).

$$V = \frac{RT}{F} \frac{\sum_i \frac{\mu_i}{z_i} (C_i(L) - C_i(0))}{\sum_i \mu_i (C_i(L) - C_i(0))} \ln \frac{\sum_i \mu_i C_i(L)}{\sum_i \mu_i C_i(0)}$$

Ecuación 2

30 Las concentraciones de todos los iones del tipo i en el compartimiento acuoso de la membrana heterogénea se evalúan en el límite interno C<sub>i</sub>(L) en la superficie del electrodo y en el límite externo en contacto con el calibrador o solución de prueba C<sub>i</sub>(0). z<sub>i</sub> y μ<sub>i</sub> son el número de carga y la movilidad del i-ésimo ion, respectivamente. Esta ecuación enseña que cuando hay una sal en la unión líquida en una concentración dominante y cuando la movilidad de los cationes de la sal y los aniones de la sal son similares en valor, el potencial de unión líquida será pequeño e independiente de todas las otras concentraciones de sal en la unión. Por lo tanto, el electrodo de referencia de puente salino estándar de la industria utiliza un puente salino compuesto por cloruro de potasio 3 o 4M cuyos iones son aproximadamente equimóviles a una concentración que está cerca de la solubilidad de saturación. El cálculo del potencial de unión líquida de la membrana heterogénea de la invención utiliza valores de movilidad iónica en la membrana obtenidos a partir de la movilidad dentro de los poros capilares acuosos de la membrana (típicamente igual que en un electrolito acuoso puro) multiplicados por el factor de tortuosidad. En una buena unión líquida es necesario que no existan interacciones específicas entre el ion difusor y los componentes del compartimento hidrófilo. Tales interacciones se manifiestan como cambios en las movilidades relativas de iones a partir de sus valores en un electrolito acuoso puro. Para que una membrana sea una matriz eficaz de puente salino que presente un pequeño potencial de unión líquida, la movilidad relativa de los iones de potasio y cloruro debería ser aproximadamente la misma que en el electrolito acuoso puro, es decir, deberían ser aproximadamente equimóviles.

35 40 45 50 En la simulación, el potencial de unión líquida se calcula cuando el dispositivo se sumerge por primera vez en la solución 1, luego se sumerge en una segunda solución de prueba 2A o 2B con una composición diferente. La diferencia de potencial de la solución 1 a la 2 representa la respuesta de unión líquida. El gráfico de la figura 7 traza el cambio calculado del potencial de unión líquida en milivoltios (eje Y de DmV) frente al tiempo. Al igual que con los datos experimentales, el cálculo también muestra un aumento en el potencial de unión líquida en función del tiempo y está en concordancia con la disminución gradual a lo largo del tiempo de la concentración de cloruro de potasio dentro de la membrana.

- Los datos y la simulación cuantifican el cambio del potencial de unión líquida cuando la composición de los iones electrolito dominantes en la solución de prueba (sodio, cloruro y bicarbonato cuando la solución de prueba es sangre) se cambian en 30 mM alrededor de un punto medio de composición cercano a la composición de sangre normal. Un cambio de 30 mM representa el rango del 99% de las composiciones sanguíneas de estos iones alrededor de la composición sanguínea normal. Este cambio representa el rango máximo de composición sobre el que la respuesta de unión líquida del electrodo de referencia debe permanecer dentro de un límite especificado. Cuando se usa un electrodo indicador potenciométrico en combinación con un electrodo de referencia de puente salino en la medición de una concentración de iones univalente, se incurre en un error en la medición del error de +/-1% por cada +/-0.25 mV de la unión líquida del electrodo de referencia. Para lograr menos de un error de medición especificado del 2% (típicamente requerido para la aplicación de análisis de sangre *in vitro*), la unión líquida del electrodo de referencia no debe contribuir con más de +/-0.5 mV de respuesta.
- Los datos muestran que los electrodos de referencia modelo se pueden usar a 300 segundos y contribuyen con menos de +/-0.25 mV de error. La simulación correspondiente muestra un umbral para la concentración agotada del puente salino de cloruro de potasio 0.6 mol/L en el punto de medición para lograr un error de menos de 0.25 mV relativo a la respuesta del electrodo de referencia estándar de la industria con una unión líquida de cloruro de potasio de 3 o 4 M. Para lograr menos del 1% de error en relación con el electrodo de referencia estándar de la industria, la unión líquida debe contribuir no más de 0.25 mV. La concentración umbral de cloruro de potasio al 1% de tolerancia es aproximadamente 1M.
- Otros electrodos de referencia de ejemplo, por ejemplo los que tienen la formulación PC-020802-1/1, muestran una respuesta de referencia mayor de +/-0.5 mV a los 100 segundos que aumentan hasta +/-1 mV después de 200 segundos. Estos electrodos superan el límite de tolerancia del 2% después de 100 segundos y la medición debe realizarse antes de los 100 segundos para alcanzar la tolerancia deseada del 2%. La simulación muestra resultados consistentes con un agotamiento de sal más rápido con un coeficiente de difusión de  $3.5 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ .
- La regla de diseño para determinar la ventana de tiempo óptima en la cual realizar una medición potenciométrica se puede resumir ahora como el tiempo entre el cual la membrana se ha humedecido sustancialmente y el tiempo en donde el cloruro de potasio de la membrana se ha reducido a 1M (1% de tolerancia) hasta 0.6M (2% de tolerancia). Esta ventana de tiempo dependerá de los coeficientes de difusión relativos de transporte de agua y transporte de sal fuera de la membrana.
- La tasa de influxo y efluxo difusor de material desde la membrana se puede entender aproximadamente en términos de tiempos característicos. El tiempo característico  $t_c$  para un proceso difusivo se escala con el grosor al cuadrado dividido por el coeficiente de difusión:  $t_c \sim L^2/D$ . Para la afluencia de agua a una membrana de 0.01 cm de espesor en  $D = 1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ ,  $t_c = 10$  segundos y el tiempo para completar el 95% es aproximadamente  $-\ln(0.05)t_c = 30$  segundos. Para la salida de sal de una membrana de 0.01 cm de espesor en  $D = 1 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ ,  $t_c = 1000$  segundos y el tiempo para decir 50% de agotamiento es aproximadamente  $-\ln(0.5)t_c = 690$  segundos. Para la salida de sal de una membrana de 0.01 cm de espesor a  $D = 5 \times 10^{-7} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ ,  $t_c = 200$  segundos, y el tiempo hasta el 50% de agotamiento es aproximadamente  $-\ln(0.5)t_c = 138$  segundos. Para la salida de sal de una membrana de 0.01 cm de espesor en  $D = 1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ seg}^{-1}$ ,  $t_c = 100$  segundos, y el tiempo hasta el 50% de agotamiento es aproximadamente  $-\ln(0.5)t_c = 69$  segundos.
- La membrana heterogénea del electrodo de referencia del puente salino de esta invención es marginalmente útil cuando la relación de difusión de agua y sal es aproximadamente 10. Si el tiempo de medición nominal se establece en 44 segundos para una membrana de 0.01 cm de espesor nominal, el tiempo de medición cae fuera de la ventana cuando el espesor de la membrana es, en cambio, de 0.008 cm de espesor (grosor nominal menos 20%) o 0.012 cm (grosor nominal más 20%). Las membranas deben imprimirse con un espesor nominal de +/-20% / 3 = 7% de coeficiente de variación para que estén consistentemente dentro de las especificaciones. Dicha composición de membrana, por lo tanto, no es resistente a las variaciones en el espesor de la membrana. Cuando la relación de coeficiente de difusión de agua a sal es 20, la especificación de espesor de membrana requerida es nominal +/-36%/3 = 12% CV. Cuando la relación es 100, la especificación de espesor de la membrana requerida es nominal +/- 65% / 3 = 22% CV. Estas membranas son resistentes a las variaciones en el espesor de la membrana.
- Hemos preferido fabricar electrodos de referencia de puente salino con una sola etapa de recubrimiento de membrana heterogénea en un electrodo de metal. Como se muestra arriba, esto requiere que la membrana heterogénea proporcione el depósito interno de sal que contiene cloruro de potasio y reactivo redox dentro de su compartimento hidrófilo. Evidentemente también es factible hacer electrodos de referencia que todavía sean significativamente más simples de producir que los dispositivos de la técnica anterior, pero incluyen dos membranas que recubren el electrodo de metal. El primero es una capa de depósito interno que comprende un compartimento hidrófilo que contiene las sales de depósito. La segunda es una membrana heterogénea que tiene un compartimento permeable al vapor de agua y un compartimento hidrófilo. El compartimento permeable al vapor de agua de la membrana heterogénea permite el transporte de vapor de agua para permitir la humectación tanto de la capa hidrófila interna como del compartimento hidrófilo de la membrana heterogénea. El compartimento hidrófilo de la membrana heterogénea permite el transporte de sales entre el depósito interno y la solución de prueba para establecer la unión líquida.
- Tarjetas de diagnóstico que usan electrodos de esta invención

Los electrodos de esta invención son especialmente adecuados para su despliegue en dispositivos de diagnóstico de uso unitario con una única solución de calibrador. Se ha configurado una tarjeta de diagnóstico de uso unitario en una única unidad integral que se denomina tarjeta de prueba de diagnóstico. Las tarjetas de prueba de diagnóstico con sensores y calibradores integrales son bien conocidas en la técnica. Sin embargo, hasta ahora, ninguna se ha realizado de la manera económica como se describe aquí. Hemos divulgado tarjetas de diagnóstico rentables que incorporan módulos de electrodos en la solicitud pendiente USSN 09/871,823. Se describen en este documento en más detalle una tarjeta de diagnóstico configurada para uso con módulos de electrodos y electrodos de membrana heterogéneos de esta invención. La nueva tarjeta representa un dispositivo de medición integrado mucho más rentable que cualquier dispositivo de la técnica actual.

10 Las figuras 8A-8C muestra una vista plana inferior y dos esquemas de vista en sección transversal de una tarjeta de diagnóstico que incluye un módulo de electrodo con electrodos de membrana heterogéneos de acuerdo con la invención. La sección transversal esquemática AA' de la figura 8B está a lo largo de la trayectoria de movimiento de fluidos desde una cámara 220 de calibrador a través de la celda 211 de medición hasta un canal 241 de desecho, y la otra sección transversal esquemática BA' de la figura 8C está a lo largo de una trayectoria de movimiento de fluidos desde el puerto 251 de entrada de muestra a través de la celda 211 de medición hasta un canal 241 de desecho.

15 Con referencia a las figuras 8A-8C, la tarjeta de diagnóstico en la realización preferida es una carcasa 200 de plástico moldeado del tamaño de una tarjeta de crédito con un módulo 203 de electrodo incrustado en la superficie inferior de la carcasa. El módulo de electrodo es una matriz de electrodos que comprende membranas heterogéneas de esta invención. Tiene un elemento 204 de lámina epoxídica con pasos intermedios troquelados y laminados con una lámina de cobre chapada en oro que ha sido fotoconformada en ocho elementos de contacto de electrodo. Dos elementos 205 y 206 de contacto se muestran en los diagramas esquemáticos de vista lateral. Las membranas 207 y 208 heterogéneas se muestran contactando los contactos 205 y 206 metálicos a través de los pasos en el epoxi en la superficie superior del módulo. Preferiblemente, las dimensiones del módulo de electrodo y sus metales de contacto se ajustan a las especificaciones ISO establecidas para las tarjetas inteligentes electrónicas. La carcasa 200 también 20 contiene características moldeadas (surcos, zanjas y agujeros) tanto en sus líneas superiores (líneas de puntos en el esquema inferior) como inferiores (líneas continuas en el esquema inferior) que, cuando están selladas, forman canales de movimiento de fluidos y un depósito de fluido sellado. Se realizan obturaciones a la superficie inferior y superior de la carcasa por laminación con los elementos 201 y 202 y 223 de sellado. El elemento 201 de sellado en la superficie inferior de la tarjeta es una lámina de polímero recubierta de adhesivo troquelada. El elemento 202 de sellado en la superficie superior es también una lámina recubierta con adhesivo troquelada, elegida impermeable al gas, algo mecánicamente rígida y transparente o semitransparente. El elemento 203 es una lámina metálica troquelada recubierta con cloruro de polivinilideno para el sellado térmico.

25 Hay dos zanjas en la superficie inferior de la carcasa de plástico. Cuando están sellados por el elemento 223, forman una cámara 220 con un volumen de aproximadamente 150 microlitros. Un puerto 221 de llenado se extiende a través 30 de la carcasa 200 de plástico a través del cual se puede inyectar una solución 224 de calibrador desde la superficie superior de la carcasa para llenar la cámara 220, con un puerto 222 de ventilación, también a través de la carcasa, proporcionando la ventilación de aire desde la cámara 220 durante el proceso de llenado. La cámara llena de fluido 35 está completamente sellada cuando los puertos 221 y 222 son cerrados por el elemento 202 de sellado laminado a la superficie superior de la carcasa.

40 Hay un canal 210 de fluido que conecta la cámara de calibrador a la celda 211 de medición por encima del módulo y luego a un canal 241 de desecho. Un segundo canal 250 de fluido conecta un puerto 251 de entrada de muestra a la celda de medición. Se proporciona un sello 230 rompible en el canal entre la celda de medición y la cámara del calibrador para la apertura selectiva de la cámara del calibrador. Este sello 230 incluye un tapón 234 encajado en una 45 abertura 233 a través de la carcasa 200 para permitir el desplazamiento deslizante del tapón dentro de la abertura de la carcasa. Como se describirá con más detalle a continuación, las regiones 231 y 232 del sello entre la carcasa 200 y el elemento 202 de sellado en la proximidad del tapón 234 se deslaminan al movimiento hacia arriba del tapón 234.

50 La tarjeta se ensambla de la siguiente manera. La carcasa 200 de plástico moldeado como se recibió se lamine primero con el módulo 203 de electrodo y el elemento 223 de sellado de la cámara de calibrador. El fluido calibrador se inyecta a través del puerto 221 en la cámara 220. Se pueden imprimir membranas heterogéneas en el módulo en este punto del proceso de montaje o también se puede imprimir antes del ensamblaje del módulo. La laminación de la carcasa de la tarjeta con el elemento 202 de sellado superior a continuación, el elemento 201 de sellado inferior completa el proceso. El elemento 202 de sellado superior incluye una porción 290 de aleta que permite la elevación parcial del elemento de sellado desde la carcasa 200.

55 En uso, la tarjeta se inserta en un dispositivo lector de tarjetas que comprende un elemento 280 de acoplamiento plano con varias características como se muestra esquemáticamente en la figura 9A.

60 El puerto de inserción de la tarjeta del lector de tarjetas tiene una guía para alinear las características de la tarjeta con sus respectivas características de acoplamiento en el elemento de acoplamiento del lector de tarjetas. La superficie inferior de la tarjeta se pone en contacto con la superficie de acoplamiento del lector de tarjetas. Cuando la tarjeta se pone en contacto con la superficie de acoplamiento, el elemento 282 de pasador contacta primero con la tarjeta en la válvula 230 de salida de la cámara del calibrador (figura 9B). El pasador empuja el tapón 234 hacia arriba. Esto levanta

el laminado 202 semirrígido causando la deslaminación en los puntos 231 y 232 de sellado, abriendo así al movimiento de fluidos la cámara del calibrador. Al mismo tiempo, el módulo de electrodo se pone en contacto mediante una disposición de contacto del módulo de electrodo que incluye una matriz de ocho pasadores de contacto también incrustados en la superficie de acoplamiento del lector de tarjetas. Dos de los ocho pasadores se muestran en el 5 esquema de vista lateral de la figura 9A. Cada uno tiene un extremo 283, 284 de contacto para hacer contacto de acción z con los elementos 205, 206 de contacto, en la superficie inferior del módulo de electrodo, y un extremo 285, 286 para el contacto con una disposición de medición de circuito eléctrico. Al mismo tiempo, el módulo de electrodo también 10 se pone en contacto con un bloque 287 de calentador. El bloque 287 de calentador hace contacto térmico con el módulo en su superficie inferior directamente debajo de la cámara de medición. El bloque de calentador contiene 15 un elemento calentador y un elemento de medición de temperatura, cada uno en íntimo contacto térmico con el bloque. El elemento calentador y el elemento de medición de temperatura también están conectados al circuito eléctrico. A medida que la tarjeta continúa descendiendo sobre la superficie de acoplamiento, el elemento 281 de pasador se 20 acopla ahora a la cámara 220 de calibrador y la comprime provocando el suministro de fluido fuera de la cámara a lo largo del canal 210 de fluido a la cámara 211 de medición (figura 9C). Después de un período de calibración, el lector de tarjetas solicita al usuario que suministre fluido de muestra a la tarjeta de diagnóstico. El usuario levanta la aleta 290 separando así el elemento 202 de sellado de la carcasa 200 en la zona del puerto 251 de muestra y luego acopla una jeringa que contiene la muestra al accesorio de tipo luer en el puerto 251 de entrada de muestra de la tarjeta. El usuario entrega una muestra de la jeringa a la celda 211 de medición a lo largo del canal 250, desplazando así el calibrador fuera de la cámara 211 a la cámara 241 de desechos. Esto se muestra esquemáticamente en la figura 10.

La etapa de inyección de muestra continúa hasta que sustancialmente todo el fluido del calibrador es forzado desde la celda 211 de medición, que puede confirmarse visualmente debido a las propiedades transparentes del elemento 201 de sellado, al menos en el área por encima de la celda de medición. La medición de la muestra se lleva a cabo inmediatamente después de la finalización de la inyección de la muestra.

## REIVINDICACIONES

1. Un electrodo (40) de referencia potenciométrico para uso en un análisis electroquímico de una muestra acuosa, que comprende:
  - un conductor (42) eléctrico;
  - 5 una capa (41) aislante sobre el conductor (42), teniendo la capa (41) aislante una abertura (44) pasante que define una región de electrodo; y
  - 10 una capa (45) de membrana heterogénea sobre la capa (41) aislante en la región del electrodo para el contacto directo con la muestra y para el contacto eléctrico con el conductor (42) a través de la abertura (44), teniendo la capa (45) de membrana heterogénea al menos un compartimento hidrófobo, permeable al gas que contiene sales con iones equimóviles y un reactivo redox determinante de potencial, y, en íntima mezcla con el mismo, al menos un compartimento de electrolito conductor de iones hidrófilos, en el que el conductor (42) es uno de una matriz de n conductores metálicos, y la capa (41) aislante tiene n aberturas (44) pasantes, cada una de las cuales define una región de electrodo y está ubicada sobre uno de los conductores metálicos y que la capa (45) de membrana heterogénea es una de las n capas de membrana en contacto respectivamente con uno de los n conductores metálicos.
  - 15 2. El electrodo (40) como se define en la reivindicación 1, en el que las cantidades relativas de los compartimentos hidrófilo e hidrófobo varían dentro de la membrana.
  - 3. El electrodo (40) como se define en la reivindicación 1, en el que la membrana (45) heterogénea está en una condición inactiva sustancialmente seca y se puede convertir en una condición activa de humectación tras la exposición al agua.
  - 20 4. El electrodo (40) de la reivindicación 3, en el que el compartimento hidrófobo de la membrana es permeable al vapor de agua.
  - 5. El electrodo (40) de la reivindicación 4, en el que el compartimento hidrófobo es adecuado para proporcionar transporte de vapor de agua tras la exposición de la membrana (45) heterogénea al agua.
  - 6. El electrodo (40) de la reivindicación 1, en el que la capa (41) aislante es una capa de epoxi o epoxi cargado.
  - 25 7. Uso de un electrodo (40) como se define en la reivindicación 1, que comprende las etapas de exponer el electrodo (40) al agua para convertir la capa (45) de membrana de la condición inactiva seca a la condición activa de humectación, exponiendo la capa (45) de membrana al fluido de muestra, y midiendo un potencial eléctrico en el conductor (42) mientras que la concentración de la sal en la fase de electrolito disminuye, debido a su difusión en el fluido de muestra, pero aún está por encima de un valor concentración umbral preseleccionada a la que la pendiente de respuesta del electrodo de referencia supera un valor preseleccionado.
  - 30 8. El uso como se define en la reivindicación 7, en el que la etapa de medición se lleva a cabo mientras disminuye la concentración del componente redox en la capa (45) de membrana, debido a la difusión del mismo en el fluido de muestra y la difusión de contaminantes del fluido de muestra. en la capa (45) de membrana, pero solo mientras el componente redox sigue siendo la especie potencial determinante.

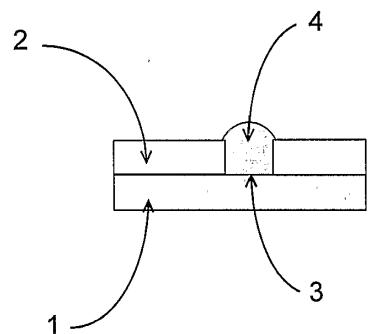


Fig. 1A

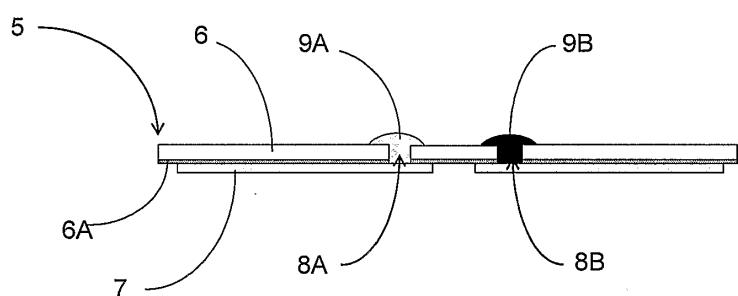


Fig. 1B

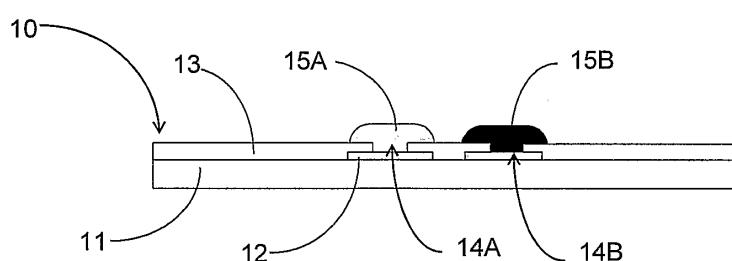


Fig. 1C

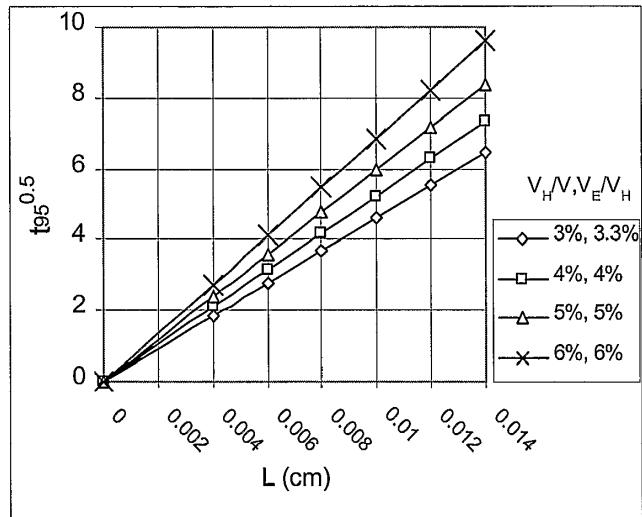


FIG. 2A

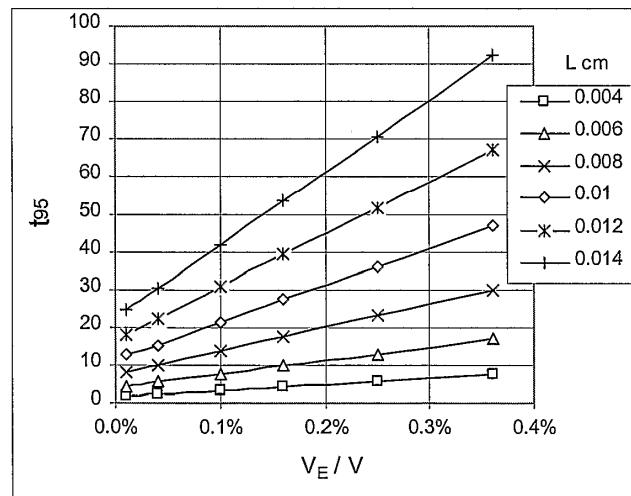
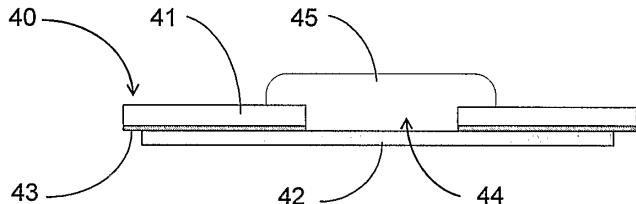
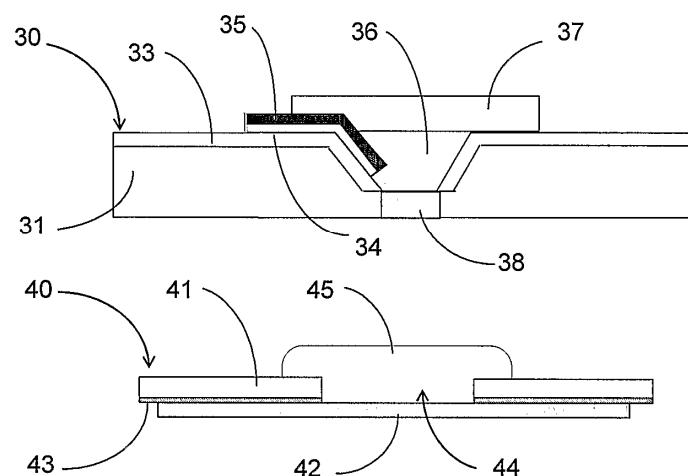
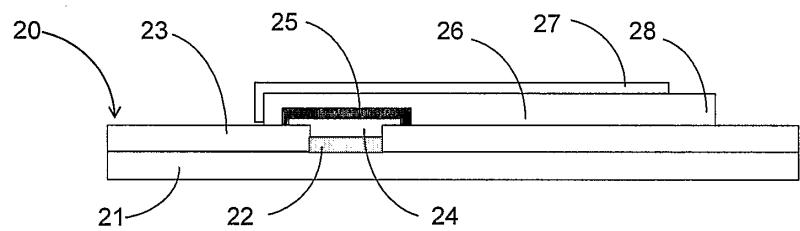


FIG. 2B



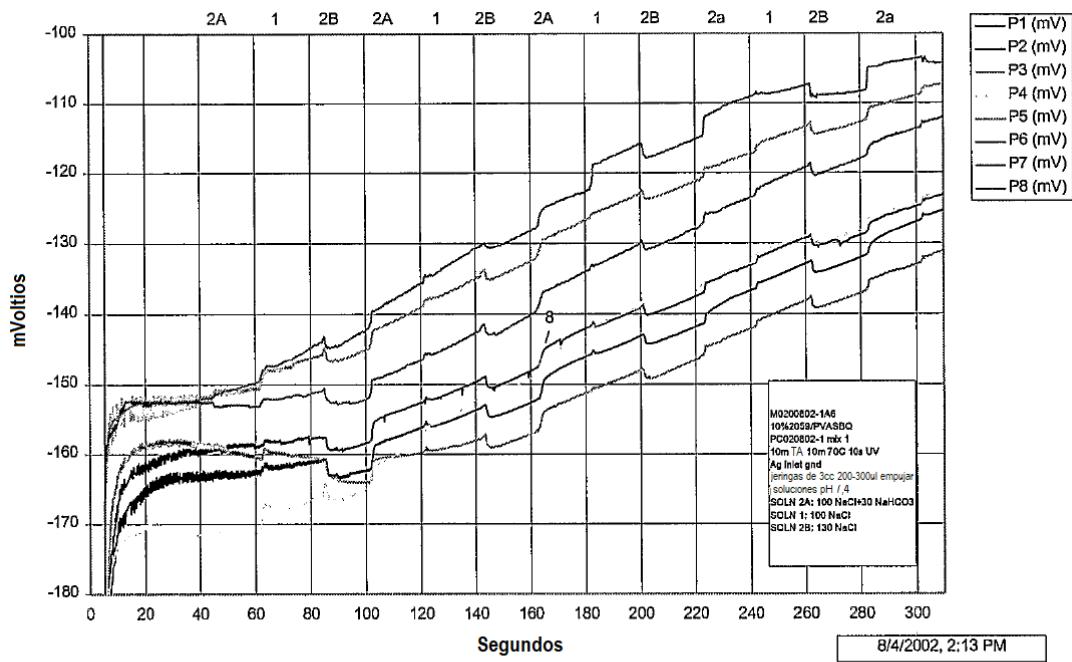
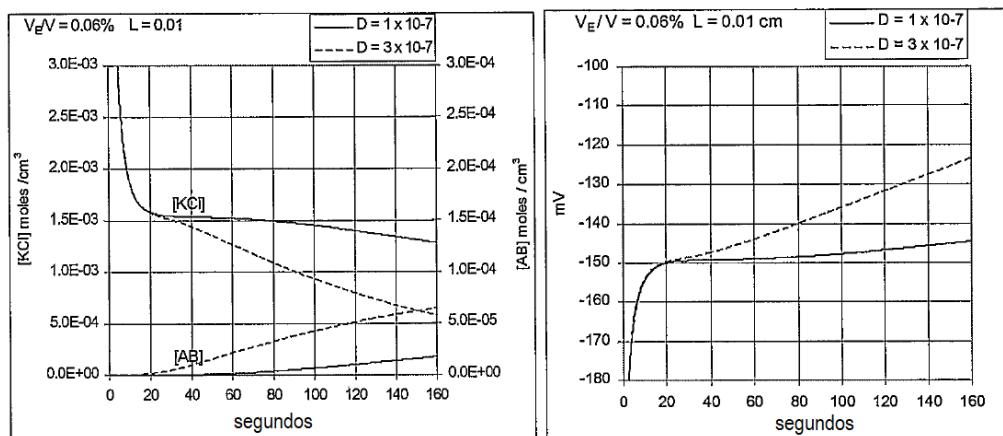


FIG. 4



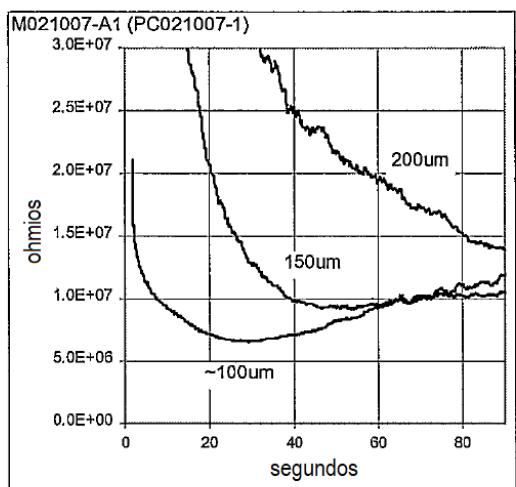


FIG. 6A

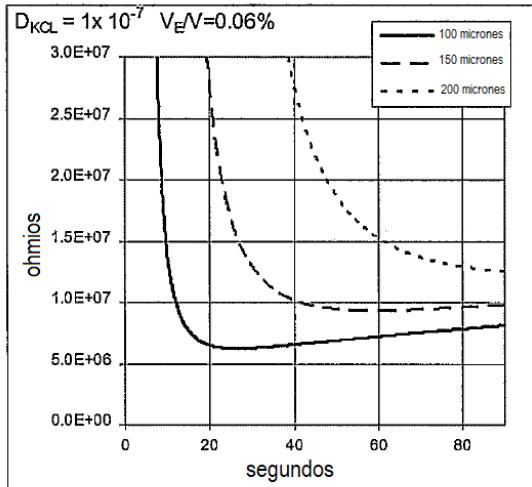


FIG. 6B

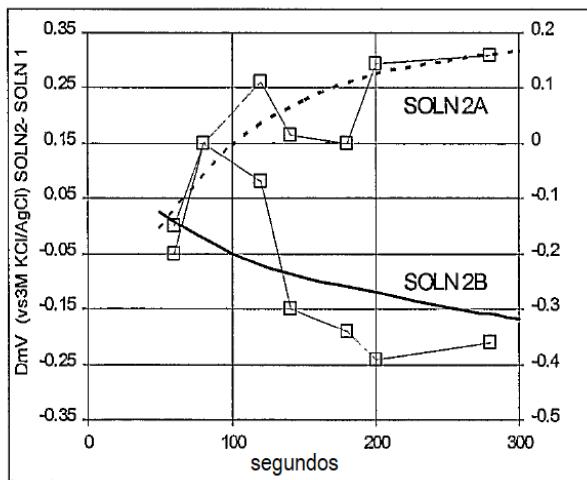


FIG. 7

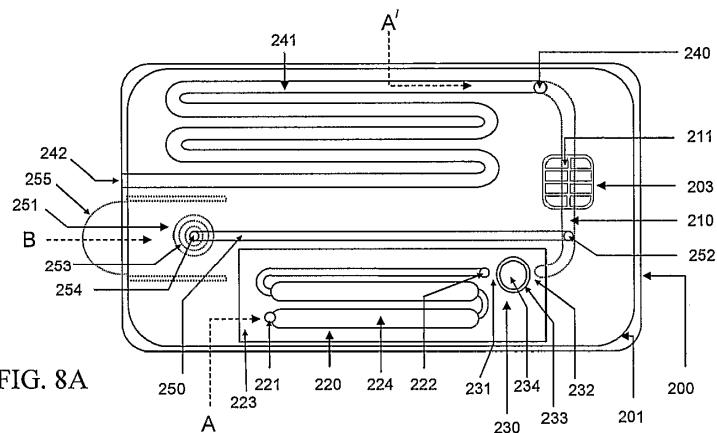


FIG. 8A

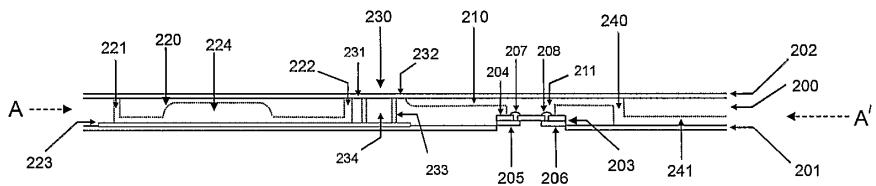


FIG. 8B

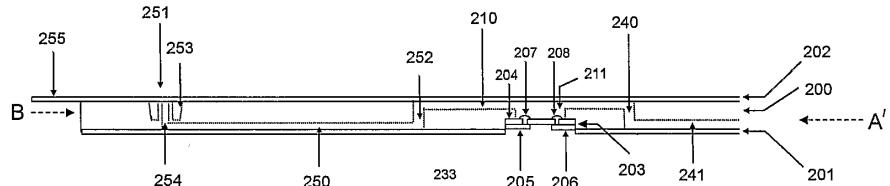


FIG. 8C

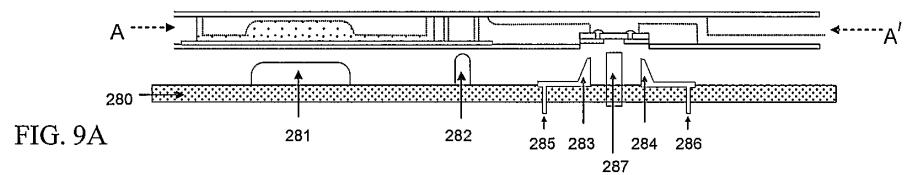


FIG. 9B

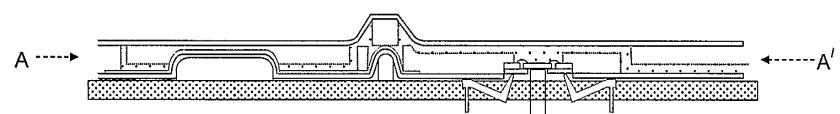


FIG. 9C

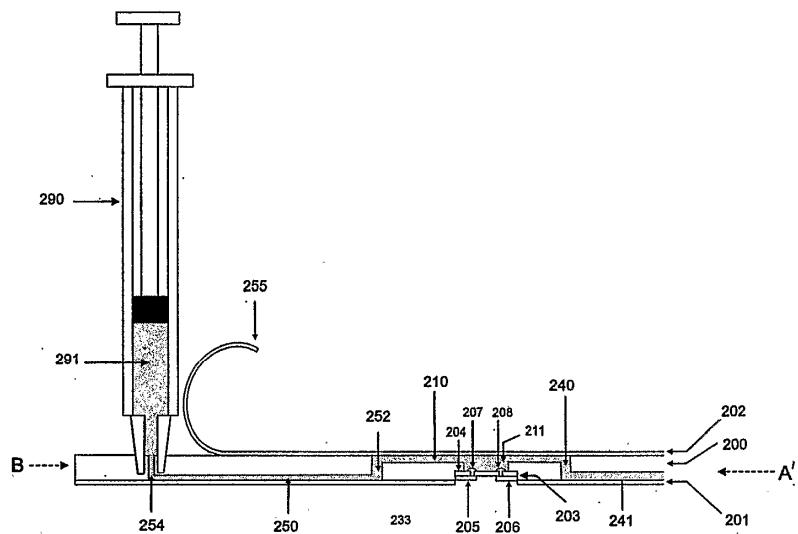


FIG. 10