

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 992 952**

51 Int. Cl.:

G01N 33/84

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2020** **E 20169813 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2024** **EP 3879273**

54 Título: **Matriz polimérica para la detección**

30 Prioridad:

10.03.2020 US 202016814643

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

20.12.2024

73 Titular/es:

**SCIOLOGICA CORP. (100.0%)
100 Fillmore Street Suite 500
Denver CO 80206, US**

72 Inventor/es:

**BARWELL, NICHOLAS PAUL y
CRANE, BARRY COLIN**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 992 952 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

Matriz polimérica para la detección

5 **Campo de la invención**

La invención proporciona una matriz polimérica para la detección óptica de CO₂. También se describe un proceso para producir la matriz polimérica. La invención también proporciona un sensor óptico para la detección óptica de CO₂, que comprende la matriz polimérica de la invención. También se describe un método para fabricar el sensor óptico. En el presente documento, también se describe un método para medir el contenido de CO₂ de una muestra, usando el sensor de la invención.

Antecedentes de la invención

En muchos campos es importante poder detectar la presencia, o incluso la concentración exacta, de dióxido de carbono en una muestra acuosa. También es útil poder determinar con precisión el pH de una muestra acuosa. Estas cantidades pueden evaluarse frecuentemente con la misma metodología, porque cuando el CO₂ se disuelve en una solución acuosa, parte de ella reacciona con el agua para formar una especie ácida, ácido carbónico (H₂CO₃). La presencia de ácido carbónico disuelto afecta al pH de la solución. Por tanto, la medición del pH de una solución no solo proporciona el pH, sino también (sujeta a corrección por la presencia de cualquier otra especie ácida o básica) la cantidad de CO₂ disuelto.

La detección de CO₂ en solución acuosa se ha logrado más comúnmente con sistemas basados en el electrodo de Severinghaus. El electrodo de Severinghaus comprende una solución tampón que contiene un depósito de iones de bicarbonato (HCO₃⁻). La solución tampón se separa de la muestra mediante una membrana permeable a los gases. El CO₂ se difunde en la solución tampón y se equilibra con los iones acuosos de bicarbonato, alterando así el pH de la solución tampón. Un electrodo de pH controla el pH de la solución tampón y, por tanto, las variaciones del pH detectadas indican variaciones en la cantidad de CO₂ presente en la muestra.

Este sistema es útil en la detección de CO₂ en procedimientos tales como la fermentación. Sin embargo, el sistema basado en electrodos presenta grandes inconvenientes para la monitorización del CO₂ en sistemas biológicos tales como la sangre. Para proporcionar una medición precisa, el electrodo de Severinghaus requiere el equilibrio de la muestra con el tampón interno de bicarbonato. Esto significa que el tiempo necesario para proporcionar una medición precisa es lento, normalmente de entre 5 y 15 minutos. Sin embargo, en los sistemas biológicos como la sangre, el contenido de CO₂ y el pH pueden variar bruscamente, con consecuencias catastróficas para el paciente. Por lo tanto, es deseable proporcionar un sistema de detección de CO₂/pH con un tiempo de respuesta más rápido. Además, es deseable proporcionar un sistema de detección de CO₂/pH capaz de controlar continuamente una muestra, para proporcionar información en tiempo real.

Otra desventaja del electrodo de Severinghaus en el campo de la detección de gases en sangre es que si la membrana que separa la muestra de sangre y el tampón de bicarbonato estalla, se puede liberar bicarbonato en la sangre. Por lo tanto, el electrodo de Severinghaus no es adecuado para medir el CO₂/pH de la sangre que se devuelve al paciente, ya que la liberación de bicarbonato en la sangre de un paciente vivo puede tener consecuencias perjudiciales.

Algunos investigadores han intentado crear sensores que superen algunas de estas dificultades. Ge *et al.*, han proporcionado un denominado "sensor óptico de CO₂ desnudo" (Ge *et al.*, Biosensors & Bioelectronics, 18 (2003), pág. 857-865). Este dispositivo utiliza un colorante fluorescente, la piranina, que tiene un perfil de emisión de fluorescencia dependiente del pH. La forma protonada de la piranina tiene un pico de emisión que difiere en la longitud de onda de la forma desprotonada de la piranina. Por tanto, la proporción de la intensidad de emisión en estas dos longitudes de onda puede utilizarse para determinar las concentraciones relativas de las dos formas de piranina y, por tanto, el pH o el contenido de CO₂ del sistema.

Para evitar la necesidad de una solución tampón de bicarbonato, el colorante fluorescente se suspende en un soporte polimérico junto con un agente de transferencia de fase. El agente de transferencia de fase suele ser una especie de amonio cuaternario que desprotona el colorante fluorescente y ayuda a su disolución. El CO₂ se difunde en el soporte polimérico y, junto con el agua atrapada, genera ácido carbónico, alterando el pH dentro del soporte polimérico y, por tanto, alterando la proporción de colorante fluorescente desprotonado y protonado.

Sin embargo, existen dificultades considerables para fabricar este sensor óptico. La región de detección debe generarse mediante la producción de un soporte polimérico y la posterior suspensión de un colorante fluorescente y un agente de transferencia de fase dentro de la matriz. La suspensión se consigue proporcionando una solución que comprende el colorante fluorescente y el agente de transferencia de fase. A continuación, el soporte polimérico se satura con esta solución y se deja secar. Sin embargo, el colorante fluorescente, el polímero y el agente de transferencia de fase suelen tener solubilidades muy diferentes. Por lo tanto, es difícil proporcionar una solución que contenga las concentraciones deseadas de cada uno de los colorantes fluorescentes y del agente de transferencia de fase, y aún más difícil proporcionar una solución que pueda penetrar en el soporte polimérico.

No solo es difícil combinar estos componentes necesarios, sino que también es difícil proporcionar una combinación de soporte polimérico/tinte/agente de transferencia de fase que sea capaz de retener suficiente agua para mediar en la variación del pH en presencia de CO₂. Una consecuencia de ello es que la cantidad de agua puede ser muy incierta, lo que conduce a una falta de uniformidad entre los sensores y a una incertidumbre considerable en las concentraciones del colorante disuelto y del agente de transferencia de fase. Esto dificulta la determinación exacta de la concentración de CO₂. Otra consecuencia es que el soporte polimérico, el colorante y el agente de transferencia de fase deben elegirse cuidadosamente (Chu *et al.*, Photonic Sensors, (2011) vol. 1, n.º 3, pág. 234-250). La elección del soporte polimérico puede regirse por consideraciones de solubilidad más que por su idoneidad para la detección del pH (p. ej., permeabilidad al gas, impermeabilidad iónica y otras características relevantes). Por otra parte, normalmente no se puede lograr la optimización de la cantidad de colorante fluorescente, agente de transferencia de fase y agua.

Por tanto, es evidente la necesidad de proporcionar un medio para la detección precisa del pH o del CO₂ que tenga un tiempo de respuesta rápido, que pueda utilizarse para mediciones continuas y que supere las dificultades de fabricación mencionadas.

El documento US 2005/0090014 describe un sensor de pH fluorescente ratiométrico para la monitorización continua y no invasiva del pH en aplicaciones como los procesos de fermentación. En el documento US 2005/0090014 también se describen sistemas y métodos para controlar el pH de forma no invasiva y continua.

El documento US 2008/0188722 describe un sensor óptico capaz de medir dos analitos simultáneamente con un único sistema indicador.

El artículo "A new ratiometric, planar fluorosensor for measuring high resolution, two-dimensional pCO₂ distributions in marine sediments", Zhu *et al.*, Marine Chemistry, vol. 101, pág. 40-53, 2006, describe un sensor que contiene una mezcla del fluoróforo HPTS, catión tetraoctilamonio e hidróxido de tetraoctilamonio suspendidos dentro de una membrana de etilcelulosa.

El artículo "Layer-by-layer approach for design of chemical sensors and biosensors", Skorb *et al.*, Current Organic Chemistry, vol. 19, pág. 1097-1116, 2015, es un artículo de revisión sobre el diseño y la fabricación de sensores químicos estratificados.

Sumario de la invención

La invención se define en las reivindicaciones. Los inventores han reconocido que puede utilizarse una fracción de contraión, con carga positiva, para formar un par iónico con el fluoróforo. El par iónico está sujeto a alteración por el ácido. Por tanto, los inventores han reconocido que el "agente de transferencia de fase" de la técnica anterior puede desempeñar un papel clave en la detección óptica de CO₂ y, por consiguiente, han apreciado que las cantidades relativas de fluoróforo y de fracción de contraión en el sistema son significativas y pueden utilizarse para mejorar la precisión de un sensor óptico basado en el par iónico y el fluoróforo.

Además, los inventores han observado que es posible reducir la dificultad de proporcionar un sensor óptico que comprenda las cantidades deseadas tanto del fluoróforo como de la fracción de contraión uniendo covalentemente el fluoróforo o la fracción de contraión a la matriz polimérica. Cuando el fluoróforo o la fracción de contraión están unidos a la matriz polimérica, solo es necesario que uno de entre el fluoróforo y la fracción de contraión se encuentre dentro de la matriz por otros medios (p. ej., suspendido en la matriz). Por tanto, se elimina por completo la necesidad de realizar la difícil tarea de proporcionar una solución que contenga las concentraciones deseadas tanto del fluoróforo como de la "fracción de transferencia de fase" de carga opuesta. Se puede suspender un componente en la matriz polimérica, lo que es mucho más fácil de conseguir que suspender dos componentes con solubilidades diferentes. En consecuencia, las cantidades relativas del fluoróforo y de la fracción de contraión pueden controlarse con mucha más precisión, lo que da lugar a un sensor más preciso, como se mostrará a continuación.

En consecuencia, en el presente documento, se describe una matriz polimérica para la detección óptica de CO₂, que comprende un fluoróforo, una fracción de contraión de carga positiva y un soporte polimérico, en donde el fluoróforo o la fracción de contraión están unidos covalentemente al soporte polimérico por una fracción conectora polimérica, y la proporción molar del contraión con respecto al fluoróforo es de 2:1 o mayor.

Cualquiera de entre el fluoróforo o de la fracción de contraión que no esté unido covalentemente al soporte polimérico puede proporcionarse dentro del soporte polimérico por cualquier medio. Normalmente, el fluoróforo o la fracción de contraión que no está unido covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica está suspendido en el soporte polimérico.

La matriz polimérica de la invención puede fabricarse por cualquier medio. Sin embargo, es particularmente conveniente proporcionar un soporte polimérico que tenga bien el fluoróforo o bien la fracción de contraión unida covalentemente al mismo, y luego suspender el otro componente (es decir, el fluoróforo y la fracción de contraión que no esté unido covalentemente al soporte polimérico) en el soporte polimérico. La etapa de suspender un fluoróforo o

una fracción de contraión en el soporte polimérico es considerablemente más sencilla y conduce a concentraciones más exactas de las especies suspendidas en el soporte polimérico que los métodos de la técnica anterior, que requieren que tanto el fluoróforo como un "agente de transferencia de fase" de carga opuesta estén suspendidos en un soporte polimérico. En consecuencia, en el presente documento, se describe un método de producción de una

(i) proporcionar un soporte polimérico, en donde un fluoróforo o una fracción de contraión están unidos covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica; y

(ii) suspender un fluoróforo o una fracción de contraión, que no esté unido covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica, en el soporte polimérico.

La matriz polimérica de la invención puede utilizarse para fabricar un sensor óptico que tenga una precisión mejorada y una mayor facilidad de fabricación. Por tanto, también se describe a continuación en el presente documento un sensor óptico para la detección óptica de CO₂ que comprende:

- una región de detección que comprende una matriz polimérica como se describe en el presente documento; y
- una guía de ondas óptica dispuesta para dirigir la luz hacia la región de detección.

En una realización particularmente preferida de la invención, se proporciona un sensor óptico para la detección óptica de CO₂, que comprende:

- una región de detección que comprende una matriz polimérica como la definida en las reivindicaciones, en donde el soporte polimérico comprende un polímero hidrófilo; y la región de detección comprende además una membrana hidrófoba permeable a los gases que es impermeable a los líquidos y a los iones de hidrógeno, y el sensor está configurado para permitir la entrada de CO₂ en la región de detección a través de la membrana hidrófoba; y
- una guía de ondas óptica dispuesta para dirigir la luz hacia la región de detección.

Esta configuración del sensor es muy preferible, ya que la membrana hidrófoba puede impedir que el agua líquida (y cualquier especie ácida o alcalina que contenga) de una muestra acuosa penetre en la región de detección del sensor. Sin embargo, la membrana hidrófoba (que suele ser permeable a los gases e impermeable a los líquidos) permite que el CO₂ gaseoso de la muestra se difunda en la región de detección. Por tanto, esta configuración de sensor detecta específicamente el CO₂.

La matriz polimérica de la invención puede utilizarse para fabricar un sensor óptico. En consecuencia, en el presente documento, se describe un método de producción de un sensor óptico para la detección óptica de CO₂, comprendiendo el método:

- (i) proporcionar una guía de ondas óptica;
- (ii) disponer una matriz polimérica como se describe en el presente documento en la guía de ondas óptica.

En una realización particularmente ventajosa, el método de producción de un sensor óptico comprende además disponer una membrana hidrófoba sobre la matriz polimérica. Esto puede garantizar que el sensor comprenda una cantidad conocida y fija de agua, y puede utilizarse para la detección específica de CO₂, como se describirá más adelante.

El sensor óptico de la invención puede utilizarse para detectar y/o cuantificar la cantidad de CO₂ en una muestra. En consecuencia, en el presente documento, se describe un método para medir el contenido de CO₂ de una muestra, comprendiendo el método:

- (i) poner en contacto un sensor óptico como se describe en el presente documento con la muestra;
- (ii) proporcionar luz de excitación a la región de detección a través de la guía de ondas óptica; y
- (iii) detectar la intensidad I₁ de la luz emitida desde el fluoróforo a una primera longitud de onda λ₁ a través de la guía de ondas óptica.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 es un diagrama esquemático de la química de detección en la que se basa la invención, ilustrada utilizando ácido 1,3,6-pirenetrisulfónico trisódico 8-hidroxilo ("HTPS") como fluoróforo e hidróxido de cetiltrimetilamonio ("CTMAOH") como fracción de contraión de carga positiva.

La figura 2 contiene dos gráficos que indican el espectro de emisión del fluoróforo HTPS en diversas condiciones. El gráfico A muestra el espectro de emisión de HTPS cuando CTMAOH⁺ está presente en una proporción molar de 50:1 con respecto a HTPS, mientras que el Gráfico B muestra el espectro de emisión de HTPS cuando CTMAOH⁺ está presente en una proporción molar de 25:1 en comparación con HTPS. En ambos casos, se muestra el espectro en presencia del 0 % de CO₂ (línea azul; mayor intensidad a 470,0 nm) y del 100 % de CO₂ (línea roja; menor intensidad a 470,0 nm).

La figura 3 es un diagrama de un sensor óptico.

La figura 4 es una curva de unión que muestra la unión de CO₂ a una matriz polimérica en un sensor de la invención en función de pCO₂.

La figura 5 muestra los valores reales de pCO₂ y los valores de pCO₂ medidos por un sensor de acuerdo con la invención durante un período de cinco horas.

10 Descripción detallada de la invención

A menos que se definan de otra manera, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la materia.

La invención se describe a continuación en el presente documento con referencia a realizaciones particulares y dibujos. Sin embargo, la invención no se limita a ninguna realización o aspecto específico de la siguiente descripción, sino que está limitada por el alcance de las reivindicaciones. Los aspectos o realizaciones que no entren en el ámbito de las reivindicaciones no forman parte de la invención.

Cabe señalar que las siguientes descripciones de diversos aspectos de la invención son aplicables a cada una de las diferentes realizaciones de la invención. Por ejemplo, la descripción del fluoróforo se refiere al fluoróforo como está presente en la matriz polimérica de la invención, y en el sensor óptico de la invención, y en los diversos procesos descritos en el presente documento.

25 Definiciones

Como se usan en la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno/a" y "el/la" incluyen referencias en plural, a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "una fracción de contraíón" incluye dos o más fracciones de contraíón.

Cuando se usa la expresión "que comprende" en la presente descripción y en las reivindicaciones, no excluye otros elementos o etapas. Además, los términos primer/a, segundo/a, tercer/a y similares, en la descripción y en las reivindicaciones, se usan para la distinción entre elementos similares y no necesariamente para la descripción de un orden secuencial o cronológico. Se ha de entender que las expresiones y los términos similares usados son intercambiables en las circunstancias adecuadas y que las realizaciones de la invención descritas en el presente documento pueden funcionar en secuencias distintas a las descritas o ilustradas en el presente documento.

"Aproximadamente", como se utiliza en el presente documento, cuando se refiere a un valor medible, tal como una cantidad, una duración temporal y similares, pretende abarcar variaciones de $\pm 20\%$ o $\pm 10\%$, más preferentemente $\pm 5\%$, aún más preferentemente $\pm 1\%$, y aún más preferentemente $\pm 0,1\%$ del valor especificado, ya que tales variaciones son adecuadas para realizar los métodos divulgados.

"Alquilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a grupos alquilo monovalentes de cadena recta y ramificados. Normalmente, el grupo alquilo es un grupo alquilo de cadena recta. Un grupo alquilo puede tener de 1 a 30 átomos de carbono (es decir, es un grupo alquilo C₁₋₃₀). Normalmente, un grupo alquilo es un grupo alquilo C₁₋₂₀ o un grupo alquilo C₁₋₁₀. Los grupos alquilo preferidos incluyen grupos alquilo C₁₋₆, por ejemplo, grupos alquilo C₁₋₄. Algunos ejemplos de grupos alquilo incluyen grupos metilo y etilo, y propilo de cadena recta o ramificada, butilo y pentilo de cadena lineal o ramificados. Grupos alquilo particulares incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, isobutilo y *terc*-butilo.

"Cicloalquilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a grupos monovalentes derivados de un hidrocarburo monocíclico saturado. Un grupo cicloalquilo puede tener, por ejemplo, de 3 a 12 átomos de carbono, pero "cicloalquilo" normalmente se refiere a grupos cicloalquilo C₃₋₁₀. Los grupos cicloalquilo C₃₋₇ son particularmente preferidos. Los grupos cicloalquilo ilustrativos incluyen grupos ciclopentilo y ciclohexilo.

"Alquenilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una fracción de hidrocarburo monovalente que comprende uno o más dobles enlaces carbono-carbono. Normalmente, un grupo alquenilo contiene un doble enlace carbono-carbono. La fracción de hidrocarburo puede ser de cadena recta o ramificado; normalmente, la fracción de hidrocarburo es una cadena recta. Un grupo alquenilo puede tener de 2 a 30 átomos de carbono (es decir, es un grupo alquenilo C₂₋₃₀). Normalmente, un grupo alquenilo es un grupo alquenilo C₂₋₂₀ o C₂₋₁₀. Los grupos alquenilo preferidos incluyen los grupos alquenilo C₂₋₆, por ejemplo, grupos alquenilo C₂₋₄.

"Cicloalquenilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a grupos monovalentes no aromáticos derivados de un hidrocarburo monocíclico que comprende uno o más dobles enlaces carbono-carbono. Normalmente, un grupo cicloalquenilo contiene un doble enlace carbono-carbono. Un grupo cicloalquenilo puede tener de 3 a 12 átomos de carbono; "cicloalquenilo" normalmente se refiere a grupos cicloalquenilo C₄₋₁₀. Los grupos cicloalquenilo C₅₋₇ son

particularmente preferidos.

"Alquinilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una fracción de hidrocarburo monovalente que comprende uno o más enlaces triples carbono-carbono. Normalmente, un grupo alquilo contiene un triple enlace carbono-carbono. La fracción de hidrocarburo puede ser de cadena recta o ramificado; normalmente, la fracción de hidrocarburo es una cadena recta. Un grupo alquilo puede tener de 2 a 30 átomos de carbono (es decir, es un grupo alquilo C₂₋₃₀). Normalmente, un grupo alquinilo es un grupo alquinilo C₂₋₂₀ o C₂₋₁₀. Los grupos alquinilo preferidos incluyen los grupos alquinilo C₂₋₆, por ejemplo, grupos alquinilo C₂₋₄.

"Ariilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo carbocíclico aromático monovalente insaturado que puede ser monocíclico (por ejemplo, un grupo fenilo) o policíclico, con múltiples anillos condensados (p. ej., un grupo naftilo). Un grupo ariilo normalmente contiene de 6 a 14 átomos de carbono. Un grupo ariilo preferido es fenilo.

"Alquilarilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo monovalente que comprende un alquileo y un ariilo, como se describe en el presente documento. El número de átomos de carbono en la fracción alquilo puede indicarse mediante un prefijo; por ejemplo, una fracción de alquilarilo C₁₋₁₀ comprende un grupo alquileo C₁₋₁₀ y un grupo ariilo. También puede indicarse el número de átomos de carbono de la fracción ariilo; por ejemplo, una especie de alquil C₁₋₁₀-ariilo C₆₋₁₄ comprende un alquileo C₁₋₁₀ y una especie de ariilo C₆₋₁₄. Una fracción de alquilarilo preferida es bencilo.

"Heteroarilo" se refiere a grupos carbocíclicos aromáticos monovalentes con al menos un heteroátomo seleccionado entre oxígeno, azufre y nitrógeno. Los grupos heteroarilo normalmente comprenden uno, dos o tres heteroátomos seleccionados cada uno independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno, normalmente uno de tales heteroátomos. Los grupos heteroarilo pueden ser monocíclicos o policíclicos. Un grupo heteroarilo normalmente comprende de 5 a 14 átomos de carbono.

"Heterocicloalquilo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a anillos monocíclicos saturados monovalentes que comprenden al menos un heteroátomo seleccionado entre oxígeno, azufre y nitrógeno. Los grupos heterocicloalquilo normalmente comprenden uno, dos o tres heteroátomos seleccionados cada uno independientemente entre oxígeno, azufre y nitrógeno, normalmente uno de tales heteroátomos. Los anillos heterocicloalquilo pueden ser monocíclicos (p. ej., piperidinilo) o policíclicos (p. ej., decahidroquinolina). Un grupo heterocicloalquilo normalmente comprende de 5 a 14 átomos de carbono.

"Alquileo", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una fracción de hidrocarburo saturado divalente que puede ser de cadena recta o ramificada. Normalmente, el grupo alquileo es un grupo alquileo de cadena recta. Un grupo alquileo normalmente tiene de 1 a 10 átomos de carbono (es decir, es un grupo alquileo C₁₋₁₀). Sin embargo, los grupos alquileo preferidos incluyen grupos alquileo C₁₋₆, por ejemplo, grupos alquileo C₁₋₄. Algunos ejemplos de grupos alquileo son los grupos metileno (-CH₂-) y etileno (-CH₂CH₂-).

"Alquenileno", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una fracción de hidrocarburo divalente que comprende uno o más dobles enlaces carbono-carbono. Normalmente, un grupo alquenileno contiene un doble enlace carbono-carbono. La fracción de hidrocarburo puede ser de cadena recta o ramificado; normalmente, la fracción de hidrocarburo es una cadena recta. Un grupo alquenileno normalmente tiene de 2 a 10 átomos de carbono (es decir, es un grupo alquenileno C₂₋₁₀). Sin embargo, los grupos alquenileno preferidos incluyen grupos alquenileno C₂₋₆, por ejemplo, grupos alquenileno C₂₋₄.

"Alquinileno", como se utiliza en el presente documento, se refiere a una fracción de hidrocarburo divalente que comprende uno o más enlaces triples carbono-carbono. Normalmente, un grupo alquinileno contiene un enlace triple carbono-carbono. La fracción de hidrocarburo puede ser de cadena recta o ramificado; normalmente, la fracción de hidrocarburo es una cadena recta. Un grupo alquinileno normalmente tiene de 2 a 10 átomos de carbono (es decir, es un grupo alquinileno C₂₋₁₀). Sin embargo, los grupos alquinileno preferidos incluyen grupos alquinileno C₂₋₆, por ejemplo, grupos alquinileno C₂₋₄.

El término "halógeno", como se usa en el presente documento, pretende incluir flúor, cloro, bromo y yodo, normalmente flúor, cloro o bromo.

El término "oxo" indica un grupo =O. El término "hidroxi" indica un grupo -OH.

La referencia en el presente documento a un grupo en su forma protonada debe entenderse como una referencia a cualquier forma desprotonada que pueda producirse en solución. Por ejemplo, la referencia a "hidroxi" o "-COOH" debe entenderse que abarca dichos grupos cuando se desprotonan a -O⁻ o -COO⁻ en solución.

Química sensorial

La química de detección empleada en la invención se ilustra en la figura 1. La matriz polimérica de la invención comprende un fluoróforo que, cuando se desprotona, porta una carga negativa; y una fracción de contraión de carga

positiva. Para fines ilustrativos, en la figura 1 se muestran HTPS (trisulfonato de hidroxipireno) desprotonado y el catión de amonio cuaternario CTMAOH⁺ (cetiltrimetilamonio). Estas dos especies iónicas de carga opuesta interactúan, formando un par de iones.

- 5 Cuando el CO₂ entra en el entorno de detección, interactúa con el agua atrapada en la matriz polimérica. La reacción de H₂O y CO₂ genera ácido carbónico, H₂CO₃. El ácido carbónico interactúa con el par de iones, mediante la protonación del fluoróforo. Esto deja un anión hidrogenocarbonato, HCO₃⁻, que interactúa con la fracción de contraíón de carga positiva, formando un nuevo par de iones. A modo de ejemplo, en la figura 1, la interacción con el ácido carbónico hace que el HTPS desprotonado se vuelva protonado, dejando un nuevo par de iones que comprende HCO₃⁻ y CTMAOH⁺.

- Esta interacción provoca un cambio en el espectro de emisión y/o en el espectro de absorción del sistema. El fluoróforo desprotonado tiene un espectro de emisión de fluorescencia diferente al del fluoróforo protonado. De forma similar, el fluoróforo desprotonado tiene un espectro de absorción diferente al del fluoróforo protonado. A modo de ejemplo, el HTPS desprotonado absorbe y emite con mayor intensidad a longitudes de onda de aproximadamente 465 nm, mientras que el HTPS protonado absorbe y emite con mayor intensidad de aproximadamente 405 nm.

- La matriz polimérica de la invención es, por tanto, útil en un método de detección para la detección óptica de CO₂, en donde el método de detección implica la alteración de un par iónico que comprende el fluoróforo y la fracción de contraíón mediante la protonación de la fracción de carga negativa del fluoróforo.

- Por tanto, el seguimiento del espectro de absorción o del espectro de emisión de la matriz polimérica mostrará un aumento de la intensidad de absorción o de emisión del pico espectral correspondiente a la forma protonada del fluoróforo a medida que aumenta la concentración de CO₂ dentro de la matriz polimérica. La intensidad de absorción o de emisión del pico espectral correspondiente a la forma desprotonada del fluoróforo disminuirá correspondientemente. De forma similar, se observará un aumento de la intensidad de absorción o de emisión del pico espectral correspondiente a la forma desprotonada del fluoróforo a medida que disminuya la concentración de CO₂ dentro de la matriz polimérica.

- Con fines de referencia, se observa que se produce una química similar en la medición del pH. En presencia de un ion H⁺ o H₃O⁺ proporcionado por un ácido, el fluoróforo de carga negativa puede protonarse. La concentración de iones H⁺ o H₃O⁺ varía con el pH, aumentando a medida que disminuye el pH. Por tanto, a medida que disminuye el pH, el espectro de absorción o el espectro de emisión de un fluoróforo en una matriz polimérica mostrará un aumento de la intensidad de absorción o de emisión del pico espectral correspondiente a la forma protonada del fluoróforo. De forma similar, se observará una disminución de la intensidad de absorción o de emisión del pico espectral correspondiente a la forma desprotonada del fluoróforo.

- Sin embargo, la detección del pH se basa en la desprotonación/protonación del fluoróforo. En consecuencia, los métodos y usos de detección del pH no requieren la presencia de una fracción de contraíón de carga positiva. Por tanto, la matriz polimérica es especialmente adecuada para la detección de CO₂. La invención proporciona sensores ópticos para la detección de CO₂, y también se describen en el presente documento métodos para detectar o cuantificar el contenido de CO₂ de una muestra.

- Cabe señalar que, en algunos casos, la forma protonada o desprotonada del fluoróforo puede tener un espectro de absorción o emisión muy débil. En tales casos, es posible que no se observe ningún aumento o disminución de la intensidad de absorción o de emisión del pico espectral correspondiente a esa forma del fluoróforo al variar su concentración. Más bien, solo puede observarse el aumento o la disminución de la intensidad de absorción o de emisión del pico espectral correspondiente a la otra forma del fluoróforo.

- La fracción de contraíón de carga positiva suele utilizarse en exceso. Cuanto más presente esté la fracción de contraíón de carga positiva, más probable es que cada fracción de fluoróforo forme un par de iones con la fracción de contraíón en ausencia de CO₂. Esto aumenta el cambio espectral que se produce cuando el CO₂ entra en la matriz polimérica, ya que es más probable que los fluoróforos que se protonan (y las moléculas de contraíón que se asocian con un ion carbonato) hayan formado parte previamente de un par de iones compuesto por un fluoróforo y un contraíón. Si el fluoróforo no forma un par iónico con la fracción de contraíón en ausencia de CO₂, entonces es probable que permanezca protonado y que no se observe el efecto de la protonación al añadirse CO₂ al sistema.

- Esto se ilustra en la figura 2. El gráfico A de la figura 2 muestra el espectro de emisión de HTPS cuando CTMAOH⁺ está presente en una proporción molar de 50:1 con respecto al HTPS, mientras que el Gráfico B muestra el espectro de emisión de HTPS cuando CTMAOH⁺ está presente en una proporción molar de 25:1 en comparación con HTPS. En ambos casos, se muestra el espectro en presencia del 0 % de CO₂ (línea azul; mayor intensidad a 470,0 nm) y del 100 % de CO₂ (línea roja; menor intensidad a 470,0 nm). Puede verse claramente que, cuando la proporción de contraíón (CTMAOH⁺):fluoróforo (HTPS) es mayor, es decir, de 50:1 en lugar de 25:1, se observa un mayor cambio de intensidad al añadir CO₂. El mayor cambio de intensidad implica que el sensor es más sensible y, por lo tanto, tiene un mejor rendimiento.

La matriz polimérica de la invención es, por tanto, especialmente ventajosa, ya que pueden incorporarse fácilmente grandes cantidades de la fracción de contraíón al soporte polimérico, garantizando así que la fracción de contraíón esté en exceso. Por tanto, en una realización preferida, la fracción de contraíón está unida covalentemente al soporte polimérico. Por otra parte, la fracción de contraíón está presente en exceso molar en comparación con el fluoróforo, siendo la proporción molar entre el contraíón y el fluoróforo de 2:1 o mayor. En una realización particularmente preferida, la fracción de contraíón está unida covalentemente al soporte polimérico (además de estar presente en un exceso molar en comparación con el fluoróforo).

Por ejemplo, la matriz polimérica puede comprender hasta aproximadamente el 25 % en peso de la fracción de contraíón, normalmente hasta el 20 % en peso, preferentemente hasta aproximadamente el 10 % en peso de la fracción de contraíón. Por lo tanto, la matriz polimérica puede comprender aproximadamente el 1-25 % en peso de la fracción de contraíón, normalmente aproximadamente el 2-20 % en peso y preferentemente aproximadamente el 5-10 % en peso de la fracción de contraíón. Cuando la fracción de contraíón se incorpora al soporte polimérico, el soporte polimérico puede contener hasta aproximadamente el 25 % en peso de la fracción de contraíón, normalmente hasta aproximadamente el 20 % en peso y preferentemente hasta aproximadamente el 10 % en peso de la fracción de contraíón. Por lo tanto, el soporte polimérico puede contener aproximadamente el 1-25 % en peso de la fracción de contraíón, normalmente aproximadamente el 2-20 % en peso y preferentemente aproximadamente el 5-10 % en peso de la fracción de contraíón.

Por el contrario, la matriz polimérica de la invención puede comprender hasta aproximadamente el 10 % en peso del fluoróforo, normalmente hasta el 7 % en peso, preferentemente hasta aproximadamente el 5 % en peso del fluoróforo. Por lo tanto, la matriz polimérica puede contener aproximadamente el 0,1-10 % en peso del fluoróforo, preferentemente aproximadamente el 1-5 % en peso del fluoróforo, por ejemplo, aproximadamente el 2 %, 3 % o 4 % en peso del fluoróforo. Cuando el fluoróforo se incorpora al soporte polimérico, el soporte polimérico puede comprender hasta aproximadamente el 10 % en peso del fluoróforo, normalmente hasta aproximadamente el 5 % en peso del fluoróforo. Por ejemplo, el soporte polimérico puede comprender aproximadamente el 0,1-10 % en peso del fluoróforo, preferentemente aproximadamente el 1-5 % en peso del fluoróforo, por ejemplo, aproximadamente el 2 %, 3 % o 4 % en peso del fluoróforo.

La proporción molar del contraíón con respecto al fluoróforo es de 2:1 o mayor. Normalmente, la proporción molar del contraíón y con respecto al fluoróforo es de al menos 20:1. Preferentemente, la proporción molar del contraíón con respecto al fluoróforo es de al menos 30:1, por ejemplo, de al menos 40:1 o al menos 50:1. Generalmente, la proporción molar del contraíón con respecto al fluoróforo es de 20:1 a 1000:1, preferentemente de 30:1 a 500:1 o de 40:1 a 200:1. A modo de ejemplo, la proporción molar del contraíón con respecto al fluoróforo puede ser de aproximadamente 50:1 o de aproximadamente 100:1.

Fluoróforo

I. Características de emisión y absorción de fluorescencia

Un fluoróforo es una fracción que puede absorber luz y emitir luz por emisión fluorescente.

Habitualmente, el fluoróforo descrito en el presente documento absorbe luz en la región visible del espectro electromagnético. Dicho fluoróforo también suele emitir luz en la región visible del espectro electromagnético. Por "la región visible del espectro electromagnético" se entiende radiación electromagnética que tiene una longitud de onda de aproximadamente 400 nm a aproximadamente 700 nm. El fluoróforo también puede absorber y/o emitir radiación fuera de la región visible del espectro electromagnético.

El fluoróforo puede existir en forma desprotonada y protonada. La protonación de un fluoróforo afecta a su estructura electrónica. Por consiguiente, las formas protonada y desprotonada de un fluoróforo suelen absorber y emitir a longitudes de onda diferentes. Los espectros de emisión y absorción característicos de la forma protonada y de la forma desprotonada difieren. Por tanto, la medición del espectro de absorción o emisión de un fluoróforo indicará si se trata de la forma protonada, la forma desprotonada o una mezcla de formas protonada y desprotonada.

Como es evidente, cuando un fluoróforo tiene múltiples formas diferentes protonadas y desprotonadas (p. ej., cuando un fluoróforo tiene dos o más protones lábiles), la medición del espectro de absorción o emisión del fluoróforo puede indicar cuál de las múltiples formas protonadas y desprotonadas diferentes está presente. Por tanto, la referencia a "la forma protonada del fluoróforo" y "la forma desprotonada del fluoróforo" debe entenderse como una referencia a "una de las formas protonadas del fluoróforo" y "una de las formas desprotonadas del fluoróforo" en los casos en que un fluoróforo tenga más de una forma protonada y más de una forma desprotonada.

Habitualmente, por lo tanto, el fluoróforo tiene al menos una forma protonada y al menos una forma desprotonada, en donde el espectro de emisión de fluorescencia de la forma protonada difiere del espectro de emisión de fluorescencia de la forma desprotonada. Por ejemplo, el espectro de emisión de fluorescencia de la forma protonada puede tener una longitud de onda de emisión del pico de λ_1 y el espectro de emisión de fluorescencia de la forma desprotonada puede tener una longitud de onda de emisión del pico de λ_2 , en donde λ_1 difiere de λ_2 . Normalmente, λ_1 difiere de λ_2 .

en al menos 5 nm; y preferentemente λ_1 difiere de λ_2 en al menos 10 nm o al menos 20 nm. Cuanto mayor sea la diferencia entre λ_1 y λ_2 , más fácil es distinguir los dos picos en un espectro de emisión de fluorescencia.

De forma similar, en otra realización preferida, el espectro de absorción de la forma protonada difiere del espectro de absorción de la forma desprotonada del fluoróforo. Por ejemplo, el espectro de absorción de la forma protonada puede tener una longitud de onda de absorción del pico de λ_3 y el espectro de absorción de la forma desprotonada puede tener una longitud de onda de absorción del pico de λ_4 , en donde λ_3 difiere de λ_4 . Normalmente, λ_3 difiere de λ_4 en al menos 5 nm; y preferentemente λ_3 difiere de λ_4 en al menos 10 nm o al menos 20 nm. Cuanto mayor sea la diferencia entre λ_3 y λ_4 , más fácil será distinguir los dos picos en un espectro de absorción.

Por tanto, el fluoróforo tiene un espectro de absorción dependiente del pH y/o un espectro de emisión fluorescente dependiente del pH. Por "espectro de absorción dependiente del pH" se entiende que el espectro de absorción comprende (a) un pico de absorción correspondiente a la absorción de una forma protonada del fluoróforo; y/o (b) un pico de absorción correspondiente a la absorción de una forma desprotonada del fluoróforo. Por "espectro de emisión fluorescente dependiente del pH" se entiende que el espectro de emisión fluorescente comprende (a) un pico de emisión correspondiente a la emisión de una forma protonada del fluoróforo; y/o (b) un pico de emisión correspondiente a la emisión de una forma desprotonada del fluoróforo. Preferentemente, el fluoróforo tiene un espectro de absorción dependiente del pH o un espectro de emisión fluorescente dependiente del pH que comprende tanto (a) como (b), ya que esto permite realizar mediciones ratiométricas de las dos formas.

A medida que aumenta la concentración de ácido carbónico en la matriz polimérica, la proporción de fluoróforo que adopta la forma protonada aumentará. Por consiguiente, aumentará la intensidad de los picos espectrales de absorción o emisión asociados a la forma protonada del fluoróforo.

Normalmente, por lo tanto, el espectro de emisión del fluoróforo comprende (a) un pico de emisión correspondiente a la emisión de fluorescencia de una forma protonada del fluoróforo, cuya intensidad está correlacionada con la concentración del fluoróforo protonado en la matriz polimérica. De forma similar, el espectro de emisión del fluoróforo normalmente también o como alternativa comprende (b) un pico de emisión correspondiente a la emisión de fluorescencia de una forma desprotonada del fluoróforo, cuya intensidad está correlacionada con la concentración de la forma desprotonada del fluoróforo en la matriz polimérica. Preferentemente, el espectro de emisión comprende (a) y (b).

De forma similar, el espectro de absorción del fluoróforo normalmente comprende (a) un pico de absorción correspondiente a la absorción de una forma protonada del fluoróforo, cuya intensidad está correlacionada con la concentración del fluoróforo protonado en la matriz polimérica. De forma similar, el espectro de absorción del fluoróforo normalmente también o como alternativa comprende (b) un pico de absorción correspondiente a la absorción de una forma desprotonada del fluoróforo, cuya intensidad está correlacionada con la concentración de la forma desprotonada del fluoróforo en la matriz polimérica. Preferentemente, el espectro de absorción comprende (a) y (b).

Cuando la intensidad de un pico de absorción o de emisión está correlacionada con la concentración de una forma protonada o desprotonada del fluoróforo, la concentración de esa especie (y, por tanto, el contenido de CO_2 del sistema) puede calcularse utilizando únicamente la intensidad de ese pico. Sin embargo, puede obtenerse una medición más precisa utilizando un enfoque ratiométrico. Esto es posible cuando el espectro de absorción o emisión comprende dos picos, uno correspondiente a la forma protonada y otro correspondiente a la forma desprotonada del fluoróforo. Donde se obtiene la relación de intensidad de estos dos picos y se utiliza para calcular el contenido de CO_2 del sistema, pueden eliminarse los errores en el cálculo debidos al fotoblanqueo del fluoróforo.

Por tanto, en una realización preferida, el fluoróforo puede sufrir una emisión de fluorescencia a una primera longitud de onda λ_1 con una intensidad I_1 , y puede sufrir una emisión de fluorescencia a una segunda longitud de onda λ_2 con una intensidad I_2 , en donde la proporción de I_1 con respecto a I_2 varía en función del pH. En una realización preferida similar, el fluoróforo puede absorber luz a una primera longitud de onda λ_3 con una intensidad I_3 , y puede absorber luz a una segunda longitud de onda λ_4 con una intensidad I_4 , en donde la proporción de I_3 con respecto a I_4 varía en función del pH.

Generalmente, la emisión de fluorescencia en λ_1 es la emisión de fluorescencia de la forma protonada del fluoróforo, mientras que la emisión de fluorescencia en λ_2 es la emisión de fluorescencia de la forma desprotonada del fluoróforo. De forma similar, la absorción en λ_3 es la absorción de la forma protonada del fluoróforo, mientras que la absorción en λ_4 es la absorción de la forma desprotonada del fluoróforo. Estos valores numéricos son meras etiquetas y, por supuesto, pueden invertirse.

II. Formas protonada, desprotonada y de sal del fluoróforo

El fluoróforo tiene una forma protonada y otra desprotonada, por lo que puede interactuar con el agua o el vapor de agua para ganar o perder uno o más protones. Un sistema que comprende H_2O y el fluoróforo tenderá hacia un equilibrio en donde estén presentes las formas desprotonada y/o protonada del fluoróforo.

La cantidad de cada una de estas formas presentes (es decir, la posición del equilibrio) dependerá del pH del sistema y de la pKa de la fracción de fluoróforo. Cuando el sistema es muy ácido, generalmente todo el fluoróforo estará protonado; cuando el sistema es muy alcalino, generalmente todo el fluoróforo estará desprotonado. En los sistemas biológicos, el pH no suele ser ni muy ácido ni muy alcalino. Puede seleccionarse un fluoróforo que tenga una pKa adecuada para su uso previsto.

La detección será más eficaz cuando la pKa del fluoróforo sea similar al pH del entorno en el que se va a utilizar. Cuando la pKa del fluoróforo es muy diferente del pH del medio en el que se utiliza, casi todo el fluoróforo permanecerá protonado o desprotonado cuando cambie el pH del medio. Por tanto, la variación en las propiedades de absorción y/o emisión del sistema será pequeña y la diferencia será difícil de detectar utilizando metodología óptica. Sin embargo, cuando la pKa del fluoróforo es similar al pH de su entorno, los pequeños cambios en el pH del medio pueden provocar un cambio significativo en las concentraciones relativas de las formas protonada y desprotonada del fluoróforo. Por tanto, las propiedades de absorción y/o emisión del sistema cambiarán más significativamente y serán más fáciles de detectar a través del espectro de absorción o emisión del sistema.

La matriz polimérica puede ser útil para la detección óptica en los sistemas biológicos. Los sistemas biológicos suelen tener un pH casi neutro. El pH casi neutro suele ser de 5,5 a 8,5, en particular, de pH 6 a pH 8. Normalmente, por lo tanto, el fluoróforo tiene una pKa de aproximadamente 3,5 a 10. En una realización preferida, el fluoróforo tiene una pKa de aproximadamente 4 a 9, por ejemplo, de 5 a 8 o de 6 a 8.

En algunas realizaciones, el fluoróforo comprende un ácido débil o una sal de un ácido débil. En el contexto de la presente invención, un "ácido débil" se refiere a un ácido que tiene una pKa de 5 a 9, por ejemplo de 5,5 a 8,5, preferentemente de 6 a 8 o de 6,5 a 8.

Por tanto, el fluoróforo descrito en el presente documento puede ser cualquier fluoróforo portador de una fracción de carga negativa a un pH casi neutro. La fracción de carga negativa puede estabilizarse mediante la fracción de contraión. Sin embargo, el fluoróforo también puede protonarse (p. ej., en presencia de ácido). El fluoróforo portador de una fracción de carga negativa normalmente existirá en un equilibrio que también comprende la forma protonada del fluoróforo a pH casi neutro. Preferentemente, la posición de equilibrio se inclina hacia la forma desprotonada del fluoróforo a pH casi neutro. Por ejemplo, el 50 % o más del fluoróforo puede estar desprotonado (es decir, comprender una fracción de carga negativa) a pH casi neutro.

Preferentemente, el fluoróforo comprende un grupo $-O^-$ y/o un grupo $-COO^-$ a pH casi neutro. Como es evidente, el fluoróforo que comprende un grupo $-O^-$ o un grupo $-COO^-$ puede existir en equilibrio con una forma del fluoróforo en donde el grupo $-O^-$ y/o el $-COO^-$ estén protonados.

Son posibles los fluoróforos con múltiples formas desprotonadas, tales como los fluoróforos que tienen múltiples elementos cargados capaces de aceptar un protón. La referencia a un fluoróforo portador de una carga o una fracción cargada no excluye la posibilidad de que el fluoróforo pueda incluir otras fracciones cargadas capaces de aceptar un protón. Además, la referencia a un "fluoróforo" en el presente documento debe entenderse que abarca tanto la forma desprotonada del fluoróforo como la forma protonada del fluoróforo, a menos que se indique lo contrario.

Cuando el fluoróforo está en forma de sal, por ejemplo, cuando el fluoróforo comprende una sal de un ácido débil, el fluoróforo puede incluir uno o más iones positivos. Estos iones de carga positiva no están unidos covalentemente al fluoróforo ni a la matriz polimérica. Tales iones se disocian del fluoróforo cuando este se encuentra en solución. La naturaleza del ion positivo no está especialmente limitada. Los iones positivos adecuados incluyen cationes de elementos del grupo I o del grupo II de la tabla periódica (p. ej. Li^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} o Ca^{2+}) o sales de amonio (p. ej., NH_4^+ , $CH_3NH_3^+$ o $CH_3CH_2NH_3^+$). Se prefieren Na^+ y K^+ .

Como el fluoróforo puede comprender uno o varios iones positivos, la carga global del fluoróforo no es necesariamente negativa, ni siquiera en su forma desprotonada. Sin embargo, no es necesario que haya iones positivos; por ejemplo, si el soporte polimérico se genera teniendo un fluoróforo unido covalentemente al mismo y después se lava, pueden eliminarse los iones positivos asociados al fluoróforo. Por lo tanto, la carga global del fluoróforo puede ser positiva, neutra o negativa. Normalmente, la carga global del fluoróforo es neutra o negativa.

III. Estructura del fluoróforo

El fluoróforo tiene al menos una forma protonada y una forma desprotonada. A pH casi neutro, el fluoróforo comprende una fracción de carga negativa que puede aceptar un protón. Más allá de esto, la estructura química de la fracción de fluoróforo no está particularmente limitada. El fluoróforo puede o no estar unido covalentemente al soporte polimérico. Por ejemplo, en una realización, el fluoróforo puede consistir en la fracción de fluoróforo y, opcionalmente, uno o más iones asociados; en otra realización, el fluoróforo puede estar unido covalentemente al soporte polimérico. Se prefiere que el fluoróforo no esté unido covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica.

Se prefiere que el fluoróforo pueda disolverse en una solución de recubrimiento; que pueda añadirse a la matriz polimérica una solución de recubrimiento en la que esté disuelto el fluoróforo, a fin de suspender el fluoróforo en la

matriz polimérica. Una solución de recubrimiento puede comprender cualquier disolvente, por ejemplo, agua y/o un disolvente orgánico.

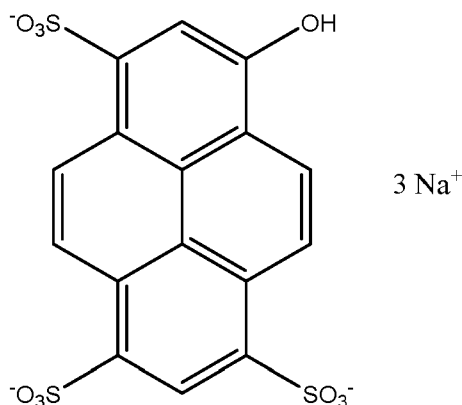
Una característica importante de la fracción de fluoróforo es que suele ser estable en solución acuosa. También se prefiere que el fluoróforo sea resistente al fotoblanqueo, ya que esto permite utilizar la matriz polimérica repetidamente y/o durante largos períodos de tiempo. Es particularmente preferible que el fluoróforo sea resistente al fotoblanqueo durante largos períodos, ya que esto permite utilizar la matriz polimérica en aplicaciones de detección para mediciones continuas durante largos períodos. Normalmente, por lo tanto, la pérdida de fluoróforo por fotoblanqueo es inferior al 5 % por hora de irradiación con luz visible, preferentemente inferior al 2 % o inferior al 1 %. Se prefiere especialmente que la pérdida de fluoróforo debida al fotoblanqueo sea inferior al 5 % por cada 24 horas de irradiación con luz visible, preferentemente inferior al 2 % o inferior al 1 %.

Preferentemente, la forma desprotonada del fluoróforo comprende una fracción $-O^-$ o una fracción $-COO^-$. Se prefieren estas especies ya que el átomo O altamente electronegativo puede estabilizar la carga negativa del fluoróforo desprotonado. Cuando está protonado, por lo tanto, se prefiere que el fluoróforo comprenda una fracción $-OH$ o una fracción $-COOH$. Se prefiere especialmente que el fluoróforo desprotonado comprenda una fracción $-O^-$, que puede protonarse para formar una fracción $-OH$.

Además, el fluoróforo normalmente comprende un sistema extendido de electrones deslocalizados, ya que estos sistemas suelen dar lugar a los estados electrónicos excitados necesarios para permitir la absorción y la fluorescencia en la región visible del espectro electromagnético.

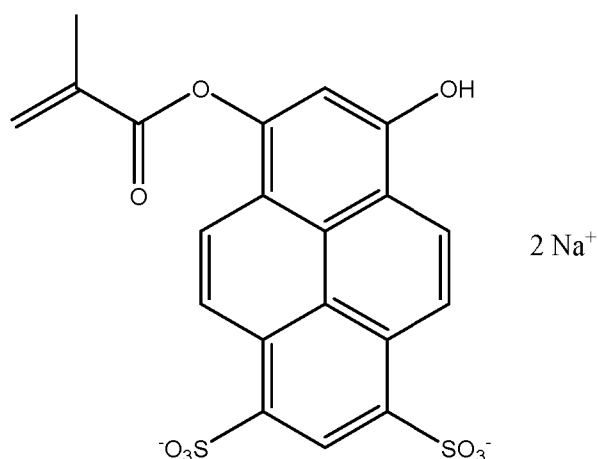
En una realización preferida, por lo tanto, el fluoróforo comprende una especie de arilo policíclico o heteroarilo policíclico opcionalmente sustituido, sustituida con al menos un grupo $-OH$ o $-COOH$. La referencia a un grupo $-OH$ o $-COOH$ se refiere al fluoróforo en su forma protonada; la forma desprotonada del fluoróforo comprendería una fracción $-O^-$ o una fracción $-COO^-$. En una realización particularmente preferida, el fluoróforo comprende una especie de arilo policíclico o heteroarilo policíclico opcionalmente sustituido, sustituida con al menos un grupo $-OH$ (de nuevo, la referencia a un grupo $-OH$ se refiere al fluoróforo en su forma protonada).

En algunas realizaciones, el fluoróforo es piranina o un derivado de la misma. La piranina (también denominada HTPS o ácido 1,3,6-pirenetrisulfónico trisódico 8-hidroxi) tiene la siguiente estructura:

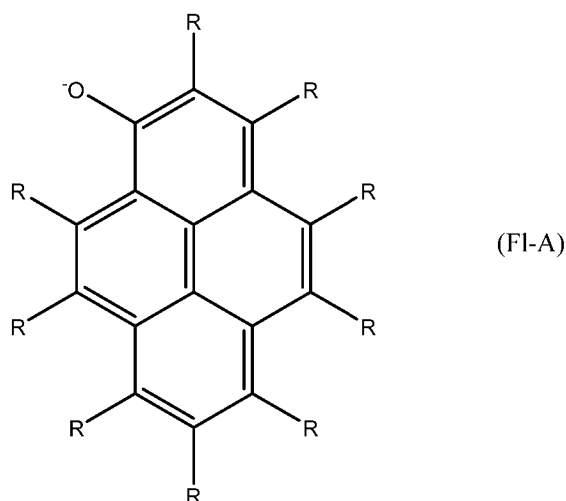


La fracción $-OH$ puede desprotonarse, dando lugar a un fluoróforo desprotonado que tenga un espectro de absorción y emisión que difiera de los espectros de absorción y emisión de la forma protonada. En algunas realizaciones, por lo tanto, el fluoróforo comprende o es piranina.

También se sabe que las versiones modificadas de la piranina son útiles como fluoróforos en la detección del pH. Un ejemplo de dicho compuesto es el DHDS modificado (ácido dihidroxipiren-disulfónico), mostrado a continuación.



Por tanto, en algunas realizaciones el fluoróforo comprende una especie de fórmula (FI-A):



5

Cada grupo R se selecciona independientemente entre alquilo, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -SR^a, -OR^a, -SO₂R^a, -SO₃⁻, -SOR^a, -SO₂NR^a, -S(O)(NR^a)R^a, -NR^a₂, -NR^aCOR^a, -NR^aCO₂R^a, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^a₂, o un enlace covalente que une el fluoróforo a la fracción conectora polimérica; o dos grupos R vecinos se unen entre sí para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico.

En algunas realizaciones, cada grupo R se selecciona independientemente entre alquilo, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -SR^a, -OR^a, -SO₂R^a, -SO₃⁻, -SOR^a, -SO₂NR^a, -S(O)(NR^a)R^a, -NR^a₂, -NR^aCOR^a, -NR^aCO₂R^a, -COR^a, -CO₂R^a y -CONR^a₂. Por ejemplo, cada R puede seleccionarse preferentemente de forma independiente entre H, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, -OR^a, -SO₃⁻, -COR^a y -CO₂R^a. En particular, preferentemente, cada R se selecciona independientemente de H, alquilo C₁₋₄ y -SO₃⁻.

Cada grupo R^a se selecciona independientemente entre H, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C₂₋₁₀ y alquino C₂₋₁₀. Preferentemente, cada R^a se selecciona independientemente entre H, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalqueno C₄₋₆ y alqueno C₂₋₁₀. En particular, preferentemente, cada R^a se selecciona independientemente entre H y alquilo C₁₋₄.

Cualquier grupo R susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes. El uno o más sustituyentes pueden estar presentes en cualquier posición adecuada del grupo R, incluido (cuando exista) en un grupo R^a. El uno o más sustituyentes normalmente se seleccionan entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -OR^b, -NR^b₂, -COR^b, -CO₂R^b y -CONR^b₂. Cada R suele estar sustituido con 0, 1, 2 o 3 sustituyentes, preferentemente con 0 o 1 sustituyente.

Los sustituyentes preferidos incluyen halógeno, oxo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alqueno C₂₋₆, -OR^b, -NR^b₂,

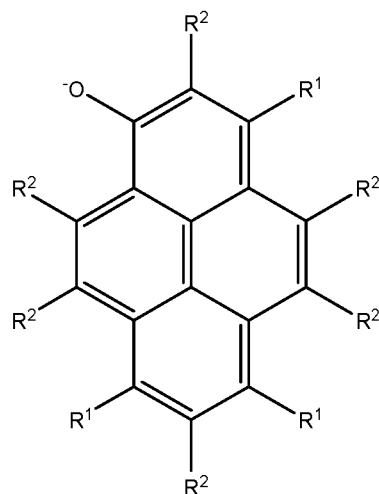
$-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$. Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen halógeno, hidroxilo, alquilo C_{1-4} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^b_2$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$.

R^b se selecciona entre H, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-6} , cicloalqueno C_{4-6} y alqueno C_{2-6} . Preferentemente, R^b se selecciona entre H, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-6} y alqueno C_{2-6} . Más preferentemente, R^b se selecciona entre H y alquilo C_{1-4} .

En una realización preferida, por lo tanto, cada grupo R se selecciona independientemente entre alquilo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} , $-\text{OR}^a$, $-\text{SO}_3^-$, $-\text{COR}^a$ y $-\text{CO}_2\text{R}^a$ y cada R^a se selecciona independientemente entre H, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-6} , cicloalqueno C_{4-6} y alqueno C_{2-10} . En esta realización, cada R puede estar sin sustituir o sustituido con un sustituyente seleccionado independientemente entre halógeno, hidroxilo, alquilo C_{1-4} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^b_2$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$, en donde R^b se selecciona entre H y alquilo C_{1-4} .

Cuando un grupo R, o un sustituyente del mismo, comprende un grupo hidroxilo o un grupo $-\text{COOH}$, la referencia a "hidroxilo" o " $-\text{COOH}$ " (es decir, $-\text{CO}_2\text{R}^a$, en donde R^a es H) incluye las formas desprotonadas de dichos grupos, es decir, $-\text{O}^-$ y $-\text{COO}^-$ respectivamente.

En una realización preferida, la especie de fórmula (FI-A) tiene grupos que retiran electrones en determinadas posiciones de la estructura principal heterocíclica y no en otras. En una realización preferida, por lo tanto, el fluoróforo comprende una especie de fórmula (FI-B)



(FI-B)

Cada grupo R^1 se selecciona independientemente entre halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, $-\text{OR}^a$, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_3^-$, $-\text{SOR}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a$, $-\text{S(O)}(\text{NR}^a)\text{R}^a$, $-\text{NR}^a_2$, $-\text{NR}^a\text{COR}^a$, $-\text{NR}^a\text{CO}_2\text{R}^a$, $-\text{COR}^a$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$, $-\text{CONR}^a_2$ y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica. Normalmente, cada grupo R^1 se selecciona independientemente entre halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, $-\text{OR}^a$, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_3^-$, $-\text{SOR}^a$, $-\text{SO}_2\text{NR}^a$, $-\text{S(O)}(\text{NR}^a)\text{R}^a$, $-\text{NR}^a_2$, $-\text{NR}^a\text{COR}^a$, $-\text{NR}^a\text{CO}_2\text{R}^a$, $-\text{COR}^a$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$ y $-\text{CONR}^a_2$. Preferentemente, cada grupo R^1 se selecciona independientemente entre hidroxilo, $-\text{OR}^a$, $-\text{SO}_2\text{R}^a$, $-\text{SO}_3^-$, $-\text{SOR}^a$, $-\text{COR}^a$, $-\text{CO}_2\text{R}^a$ y $-\text{CONR}^a_2$. Algunos ejemplos particularmente preferidos de R^1 son $-\text{OR}^a$ y $-\text{SO}_3^-$.

Cada grupo R^2 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalqueno C_{4-10} , arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C_{2-10} , alquino C_{2-10} , y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica. Habitualmente, cada grupo R^2 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-6} , cicloalqueno C_{4-6} y alqueno C_{2-10} . Preferentemente, cada grupo R^2 se selecciona independientemente entre H y alquilo C_{1-6} . Lo más preferentemente cada grupo R^2 es H.

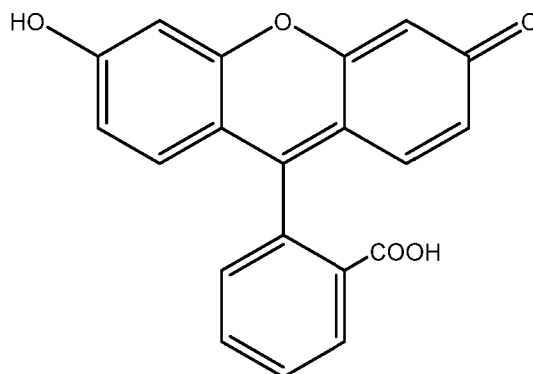
Cualquier grupo R^1 o R^2 susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes. El uno o más sustituyentes pueden estar presentes en cualquier posición adecuada del grupo R^1 o R^2 , incluido (cuando exista) en un grupo R^a . El uno o más sustituyentes normalmente se seleccionan entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalqueno C_{4-10} , alqueno C_{2-10} , alquino C_{2-10} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^b_2$, $-\text{COR}^b$, $-\text{CO}_2\text{R}^b$ y $-\text{CONR}^b_2$. Cada R^1 o R^2 suele estar sustituido con 0, 1, 2 o 3 sustituyentes, preferentemente con 0 o 1 sustituyente. Los sustituyentes preferidos incluyen halógeno, oxo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-6} , alqueno C_{2-6} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^b_2$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$. Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen halógeno, hidroxilo, alquilo C_{1-4} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^b_2$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$.

Cuando un grupo R^1 o R^2 , o un sustituyente del mismo, comprende un grupo hidroxilo o un grupo $-\text{COOH}$, la referencia a "hidroxilo" o " $-\text{COOH}$ " incluye las formas desprotonadas de esos grupos, es decir, $-\text{O}^-$ y $-\text{COO}^-$ respectivamente.

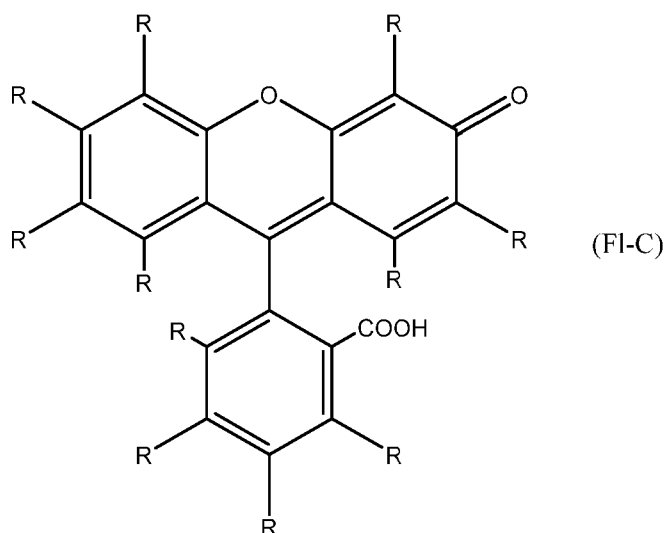
R^a y R^b son como se ha descrito anteriormente.

- 5 En una realización preferida, cada R¹ se selecciona independientemente entre hidroxilo, -OR^a, -SO₂R^a, -SO₃⁻, -SOR^a, -COR^a, -CO₂R^a y -CONR^a₂; y cada R² se selecciona independientemente entre H y alquilo C₁₋₆. R^a se selecciona independientemente entre H, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalqueno C₄₋₆ y alqueno C₂₋₁₀. En esta realización, cada grupo R¹ y R² puede estar sin sustituir o sustituido con un sustituyente seleccionado independientemente entre halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, -OR^b, -NR^b₂, -COR^b y -CO₂R^b, en donde R^b se selecciona entre H y alquilo C₁₋₄.

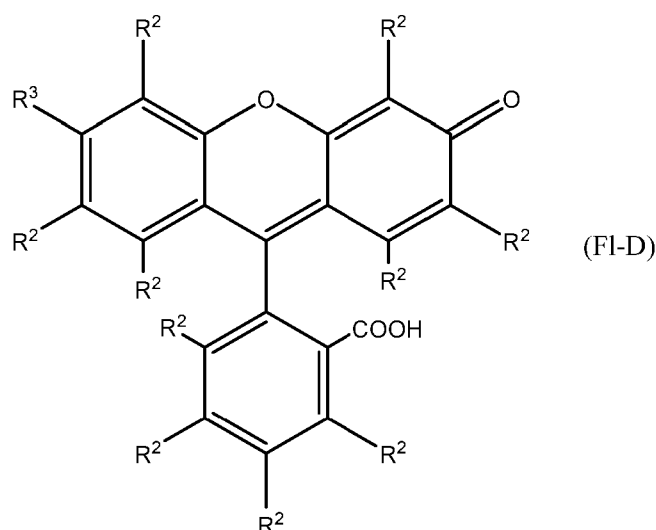
- 10 En algunas realizaciones, el fluoróforo es fluoresceína o un derivado de la misma. La fluoresceína es un compuesto que tiene la siguiente estructura:



- 15 Sin embargo, se sabe que las variaciones estructurales de la fluoresceína actúan como fluoróforos. Por tanto, cuando el fluoróforo es un derivado de la fluoresceína o está basado en la fluoresceína, el fluoróforo puede comprender, por ejemplo, una especie de fórmula (FI-C)



- 20 En donde R es como se ha definido anteriormente y puede estar opcionalmente sustituido como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, el fluoróforo puede comprender una especie de fórmula (FI-D)



R² es como se ha definido anteriormente.

- 5 R³ se selecciona entre ciano, nitro, hidroxilo, -OR^a, -SO₂R^a, -SO₃⁻, -SOR^a, -SO₂NR^a, -S(O)(NR^a)R^a, -NR^a₂, -NR^aCOR^a, -NR^aCO₂R^a, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^a₂ y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica. Habitualmente, R³ se selecciona entre hidroxilo, -NR^a₂, -NR^aCOR^a y -COOH. Preferentemente, R³ se selecciona entre hidroxilo, -NR^a₂ y -CO₂R^a; en especial, hidroxilo.
- 10 Cualquier grupo R² o R³ que sea susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes. El uno o más sustituyentes pueden estar presentes en cualquier posición adecuada del grupo R² o R³, incluido (cuando exista) en un grupo R^a. El uno o más sustituyentes normalmente se seleccionan entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -OR^b, -NR^b₂, -COR^b, -CO₂R^b y -CONR^b₂. Cada R² o R³ habitualmente está sustituido con 0, 1, 2 o 3 sustituyentes, preferentemente con 0 o 1 sustituyente. Los sustituyentes preferidos incluyen halógeno, oxo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alqueno C₂₋₆, -OR^b, -NR^b₂, -COR^b y -CO₂R^b. Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, -OR^b, -NR^b₂, -COR^b y -CO₂R^b.

R^a y R^b son como se ha descrito anteriormente.

- 20 En una realización preferida, cada R² se selecciona independientemente entre H y alquilo C₁₋₆, R³ se selecciona entre hidroxilo, -NR^a₂ y -CO₂R^a, y cada R^a se selecciona independientemente entre H, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalqueno C₄₋₆ y alqueno C₂₋₁₀. En esta realización, cada grupo R² y R³ puede estar sin sustituir o sustituido con un sustituyente seleccionado independientemente entre halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, -OR^b, -NR^b₂, -COR^b y -CO₂R^b, en donde R^b se selecciona entre H y alquilo C₁₋₄.

Como ocurre con R¹ y R², donde un grupo R³, o un sustituyente del mismo, comprende un grupo hidroxilo o un grupo -COOH, la referencia a "hidroxilo" o "-COOH" (es decir, -CO₂R^a, en donde R^a es H) incluye las formas desprotonadas de dichos grupos, es decir, -O⁻ y -COO⁻ respectivamente.

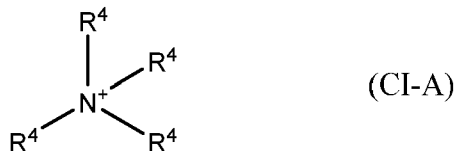
Fracción de contracción

Una función clave de la fracción de contracción es formar un par de iones con la forma desprotonada del fluoróforo presente a pH casi neutro. Por tanto, la fracción de contracción porta una carga positiva a pH casi neutro. Como es evidente, la fracción de contracción puede tener carga negativa a valores de pH más extremos.

Además de portar una carga positiva a pH casi neutro, la fracción de contracción es, en general, estable en solución acuosa. El experto conoce muchos cationes de carga positiva estables en agua adecuados.

- 40 La fracción de contracción puede estar suspendida en la matriz polimérica de la invención o puede estar unida covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica. En general, se prefiere que la fracción de contracción esté unida covalentemente al soporte polimérico. Esto permite convenientemente que esté presente una gran cantidad de la fracción de contracción, lo que significa que se puede proporcionar un exceso en comparación con la cantidad de fluoróforo presente, sin ninguna limitación debida a la solubilidad del contracción. Un enlace covalente del soporte polimérico a la fracción de contracción se forma fácilmente cuando la fracción de contracción comprende una fracción orgánica. Por tanto, en una realización preferida, la fracción de contracción comprende una fracción orgánica.

Entre los cationes orgánicos adecuados se incluyen los iones de amonio cuaternario. Por tanto, en una realización preferida, la fracción de contraíón comprende un ion amonio cuaternario. Por ejemplo, la fracción de contraíón puede comprender un catión de amonio cuaternario de fórmula (CI-A):



Cada grupo R^4 se selecciona independientemente entre H; o alquilo C_{1-30} , cicloalquilo C_{3-12} , cicloalqueno C_{4-12} , arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C_{2-30} , alquino C_{2-30} , y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica; o dos grupos R^4 pueden unirse entre sí para formar un grupo heterocicloalquilo C_{3-16} o un grupo heterocicloalqueno C_{4-16} . Preferentemente, cada grupo R^4 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_{1-20} , cicloalquilo C_{3-6} , alqueno C_{2-20} , y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica. Algunos ejemplos particulares de R^4 son H, alquilo C_{1-20} , alqueno C_{2-20} y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica.

En una realización normal, un grupo R^4 es un enlace covalente a la fracción conectora polimérica y los tres grupos R^4 restantes se seleccionan independientemente entre H, alquilo C_{1-20} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalqueno C_{4-12} , arilo, alquilaril heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C_{2-20} , alquino C_{2-20} . Preferentemente, un grupo R^4 es un enlace covalente a la fracción conectora polimérica y los tres grupos R^4 restantes se seleccionan independientemente entre H, alquilo C_{1-20} y alqueno C_{2-20} .

Cualquier grupo R^4 susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes. El uno o más sustituyentes normalmente se seleccionan entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalqueno C_{4-10} , alqueno C_{2-10} , alquino C_{2-10} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^{b2}$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$. Cada R^4 suele estar sustituido con 0, 1, 2 o 3 sustituyentes, preferentemente con 0 o 1 sustituyente. Los sustituyentes preferidos incluyen halógeno, oxo, hidroxilo, alquilo C_{1-6} , cicloalquilo C_{3-6} , alqueno C_{2-6} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^{b2}$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$. Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen halógeno, hidroxilo, alquilo C_{1-4} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^{b2}$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^b$.

R^b es como se ha definido anteriormente.

En una realización preferida, un grupo R^4 es un enlace covalente a la fracción conectora polimérica y los tres grupos R^4 restantes se seleccionan independientemente entre H, alquilo C_{1-20} y alqueno C_{2-20} . Cada grupo R^4 susceptible de sustitución está sin sustituir o sustituido con un sustituyente seleccionado independientemente entre halógeno, hidroxilo, alquilo C_{1-4} , $-\text{OR}^b$, $-\text{NR}^{b2}$, $-\text{COR}^b$ y $-\text{CO}_2\text{R}^{13}$, en donde R^b se selecciona entre H y alquilo C_{1-4} .

En algunas realizaciones, la fracción de contraíón comprende un ion hexadeciltrimetilamonio o un derivado del mismo. Por ejemplo, la fracción de contraíón puede comprender $(\text{C}_{16}\text{H}_{33})(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$; o $(\text{C}_{16}\text{H}_{33})(\text{CH}_3)_2\text{R}^4\text{N}^+$, en donde R^4 es un enlace covalente a la fracción conectora polimérica.

La fracción de contraíón puede estar asociada con uno o más iones de carga negativa distintos del fluoróforo de carga negativa. Estos iones de carga negativa no están unidos covalentemente a la fracción de contraíón ni a la matriz polimérica. Dichos iones se disocian de la fracción de contraíón cuando la fracción de contraíón y el ion o los iones asociados entran en contacto con el agua. Entre los iones negativos adecuados se encuentran los iones haluro o los iones hidróxido; preferentemente iones hidróxido. El ion asociado puede estar presente normalmente cuando la fracción de contraíón de carga positiva se introduce en la matriz polimérica suspendiendo una sal disuelta que contiene la fracción de contraíón y uno o más iones negativos asociados en la matriz polimérica.

Fracción conectora polimérica

La matriz polimérica comprende una fracción conectora polimérica que forma una unión covalente entre el soporte polimérico y el fluoróforo o la fracción de contraíón. En algunas realizaciones, la fracción conectora polimérica es un enlace covalente que une directamente el soporte polimérico al fluoróforo o a la fracción de contraíón. En otras realizaciones, la fracción conectora polimérica puede incluir uno o más átomos intermedios.

Preferentemente, el conector es estable a la hidrólisis durante el almacenamiento. Por ejemplo, se prefiere que el conector sea estable con respecto a la hidrólisis durante el almacenamiento por un período de hasta 1, 2, 3, 4, 5 o 6 meses. Por "estable a la hidrólisis" se entiende que al menos el 90 %, preferentemente al menos el 95 %, del conector no se hidroliza.

La naturaleza de la fracción conectora polimérica no está particularmente limitada. La fracción conectora polimérica puede incluir uno o más enlaces covalentes, O, S, N, y C. Normalmente, la fracción conectora polimérica comprende

uno o más enlaces covalentes, -O-, -S-, -SO₂-, -SO-, un alquileo opcionalmente sustituido, un alquenileno opcionalmente sustituido, un alquinileno opcionalmente sustituido, y -NR⁵-. Por ejemplo, la fracción conectora polimérica puede comprender uno o más enlaces covalentes, -O-, -NR⁵-, -S-, -SO₂-, -SO-, un alquileo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido, y un alquenileno C₂₋₁₀ opcionalmente sustituido.

Cuando la fracción conectora polimérica comprende más de una de las especies divalentes mencionadas anteriormente, la fracción conectora polimérica normalmente comprende dos o tres fracciones seleccionadas independientemente entre -O-, -NR⁵-, -S-, -SO₂-, -SO-, un alquileo C₁₋₁₀ opcionalmente sustituido, y un alquenileno C₂₋₁₀ opcionalmente sustituido. Al menos dos de las fracciones son diferentes.

Preferentemente, la fracción conectora polimérica comprende una o más fracciones seleccionadas independientemente entre un enlace covalente, -O-, -NR⁵-, y un alquileo C₁₋₆ sustituido opcionalmente. Los ejemplos de una fracción conectora polimérica incluyen un enlace covalente, -O-, -NH-, -NR⁵- y alquileo C₁₋₄.

R⁵ normalmente se selecciona entre H, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -COR^a, -CO₂R³ y -CONR^{a2}. Preferentemente, R⁵ se selecciona entre H, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆ y alqueno C₂₋₁₀. En particular, preferentemente, R⁵ se selecciona entre H y alquilo C₁₋₄. Algunos ejemplos de R⁵ incluyen hidrógeno, grupos metilo y etilo.

La fracción conectora polimérica puede estar opcionalmente sustituida con uno o más sustituyentes. El uno o más sustituyentes pueden estar presentes en cualquier posición adecuada de la fracción conectora polimérica, incluido (cuando exista) en un grupo R^a. En concreto, una fracción alquileo, alquenileno o alquinileno de la fracción conectora polimérica puede estar opcionalmente sustituida. El uno o más sustituyentes normalmente se seleccionan entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b, -CO₂R^b y -CONR^{b2}. La fracción conectora polimérica suele estar sustituida con 0, 1, 2 o 3 sustituyentes, preferentemente con 0 o 1 sustituyente. Los sustituyentes preferidos incluyen halógeno, oxo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alqueno C₂₋₆, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b y -CO₂R^b. Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b y -CO₂R^b.

Preferentemente, la fracción conectora polimérica no está sustituida
R^a y R^b son como se ha descrito anteriormente.

En una realización preferida, la fracción conectora polimérica comprende una, dos o tres fracciones seleccionadas independientemente entre un enlace covalente, -O-, -NR⁵-, y un alquileo C₁₋₆ sustituido opcionalmente. R⁵ se selecciona entre H y alquilo C₁₋₄. En esta realización, la fracción conectora polimérica puede estar sin sustituir o sustituida con un sustituyente seleccionado independientemente entre halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b y -CO₂R^b, en donde R^b se selecciona entre H y alquilo C₁₋₄. Algunos ejemplos particularmente preferidos de una fracción conectora polimérica incluyen un enlace covalente, -O- y -CH₂-.

Para proporcionar una mayor exhaustividad, cabe señalar que cuando cualquiera de R o R¹ a R³ es un enlace covalente que une el fluoróforo a la fracción conectora polimérica y la fracción conectora polimérica es un enlace covalente, el fluoróforo está unido al soporte polimérico por un enlace covalente en la posición R o R¹ a R³ respectiva. De forma similar, donde R⁴ es un enlace covalente que une el contraíón a la fracción conectora polimérica y la fracción conectora polimérica es un enlace covalente, la fracción de contraíón está unida al soporte polimérico por un enlace covalente en la posición R⁴ correspondiente.

Soporte polimérico

La matriz polimérica comprende un soporte polimérico. Un soporte polimérico es un polímero que puede comprender unidades estructurales derivadas de un tipo de monómero o de una pluralidad de monómeros diferentes. En general, al menos la mayoría de las unidades estructurales presentes en el soporte polimérico se derivan de un tipo de monómero.

El soporte polimérico es generalmente permeable a los gases. Cuando la matriz polimérica es permeable a los gases, un gas tal como el CO₂ puede difundirse en la matriz y esta puede utilizarse como sensor de gas. El soporte polimérico puede ser además permeable a los líquidos, tal como agua.

En algunas realizaciones, que se prefieren, el soporte polimérico comprende un polímero hidrófilo. Por ejemplo, el soporte polimérico puede comprender o consistir en unidades estructurales derivadas de la polimerización de un monómero hidrófilo. Cuando el soporte polimérico comprende unidades estructurales derivadas de la polimerización de un monómero hidrófilo, el soporte polimérico normalmente es a su vez hidrófilo.

Algunos ejemplos adecuados de un polímero hidrófilo que puede estar comprendido en el soporte polimérico incluyen un hidrogel, un derivado de celulosa, etilcelulosa, un sol-gel o un polímero hidrófilo a base de silicona. Preferentemente, el soporte polimérico comprende un hidrogel. Algunos ejemplos adecuados de hidrogel son poliacrilamida o metacrilato de polihidroxietilo.

En algunas realizaciones, el soporte polimérico comprende un polímero hidrófobo. Por ejemplo, el soporte polimérico puede comprender o consistir en unidades estructurales derivadas de la polimerización de un monómero hidrófobo. Cuando el soporte polimérico comprende unidades estructurales derivadas de la polimerización de un polímero hidrófobo, el propio soporte polimérico normalmente es hidrófobo.

Por ejemplo, el soporte polimérico puede comprender uno o más de poliestireno, un polímero hidrófobo a base de silicona, un derivado hidrófobo de celulosa o etilcelulosa plastificada. Entre ellos, se prefiere el poliestireno.

El soporte polimérico puede comprender unidades estructurales que incluyan el fluoróforo o la fracción de contraíón. En una realización preferida, el soporte polimérico comprende unidades estructurales que incluyen la fracción de contraíón. La inclusión de dichas unidades estructurales en la matriz polimérica puede lograrse de varias maneras, como se explica a continuación.

- (i) El soporte polimérico puede producirse mediante la copolimerización de (a) un monómero que comprenda el fluoróforo unido covalentemente a una fracción polimerizable mediante una fracción conectora polimérica y (b) otro u otros monómeros.
- (ii) El soporte polimérico puede producirse mediante la copolimerización de (a) un monómero que comprenda la fracción de contraíón unida covalentemente a una fracción polimerizable mediante una fracción conectora polimérica y (b) uno o más monómeros.
- (iii) El soporte polimérico puede producirse mediante la copolimerización de (a) un monómero que comprenda un precursor de una fracción conectora polimérica y una fracción polimerizable y (b) uno o más monómeros. Un "precursor de fracción conectora polimérica" es una especie que puede reaccionar con un precursor fluoróforo o un precursor de fracción de contraíón para formar un fluoróforo o una fracción de contraíón unidos covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica. Por consiguiente, el precursor de la fracción conectora polimérica se hace reaccionar con un precursor fluoróforo o un precursor de la fracción de contraíón para producir un fluoróforo o una fracción de contraíón unidos covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica.

Matriz polimérica

La matriz polimérica comprende un fluoróforo, una fracción de contraíón de carga positiva y un soporte polimérico. Sin embargo, cuando la matriz polimérica se utiliza en la detección óptica descrita en el presente documento, la matriz polimérica debe comprender agua para mediar en la transferencia de H^+ hacia y desde el fluoróforo. En consecuencia, en algunas realizaciones, la matriz polimérica comprende agua. Normalmente, la proporción molar de agua (H_2O) con respecto al fluoróforo es de 1:1 o mayor. Esto garantiza que haya suficiente H_2O presente para interactuar con cada par de iones. Por ejemplo, la proporción molar de agua (H_2O) con respecto al fluoróforo puede ser de al menos 2:1 o de al menos 5:1.

Preferentemente, la matriz polimérica comprende una cantidad conocida de agua.

La cantidad molar de agua presente suele ser superior a la cantidad molar de fluoróforo presente. La cantidad molar de agua presente también puede ser superior a la cantidad molar de la fracción de contraíón.

En algunas realizaciones, la matriz polimérica está saturada de agua.

Sensor óptico

La matriz polimérica es útil en un sensor óptico para la detección óptica de CO_2 . Un sensor óptico genera una señal óptica que varía con el pH, en presencia de CO_2 . La señal óptica puede generarse dirigiendo luz de excitación sobre la matriz polimérica mientras esta entra en contacto con una muestra (directa o indirectamente). En consecuencia, en el presente documento, se describe un sensor óptico 1 para la detección óptica de CO_2 , que comprende:

- una región de detección que comprende una matriz polimérica 5 como se describe en el presente documento; y
- una guía de ondas óptica 3 dispuesta para dirigir la luz hacia la región de detección.

Una guía de ondas óptica es una estructura física que tiene un primer extremo y un segundo extremo, capaz de guiar ondas electromagnéticas en la región óptica del espectro entre los extremos primero y segundo de la estructura.

El sensor óptico 1 es adecuado para detectar el contenido de CO_2 de una muestra 9. En el presente documento, el CO_2 presente en una muestra se denomina analito. La muestra 9 puede ser cualquier líquido, cuyo contenido de CO_2 sea de interés. Las muestras ilustrativas incluyen tampones y muestras biológicas tales como saliva o sangre. En una realización preferida, la muestra 9 es una muestra de sangre, por ejemplo, una muestra de sangre tomada de un paciente humano. Por tanto, en una realización preferida, el óptico es un sensor para detectar el contenido de CO_2 de la sangre.

Cuando la muestra 9 es una muestra biológica, la muestra 9 normalmente es una muestra *ex vivo*; es decir, la muestra 9 suele estar fuera del cuerpo humano o animal.

5 El diseño de un sensor óptico 1 que comprenda la matriz polimérica 5 de la invención puede verse influido por la naturaleza del soporte polimérico y, en particular, por el hecho de que el soporte polimérico sea hidrófobo o hidrófilo.

10 Cuando el soporte polimérico es de naturaleza hidrófoba, la matriz polimérica 5 puede utilizarse para construir el denominado "sensor desnudo". Cuando el soporte polimérico es hidrófobo, la matriz polimérica 5 puede ponerse en contacto directo con una solución acuosa (por ejemplo, una muestra biológica, tal como la sangre), y la solución acuosa no penetrará en la matriz polimérica 5 o penetrará en la matriz polimérica 5 en escasa medida. Además, cuando el soporte polimérico sea hidrófobo, resistirá ventajosamente la adsorción de proteínas hidrófilas. En tales casos, no es necesario proporcionar una capa adicional para evitar la penetración de la solución acuosa o de las proteínas en la matriz polimérica 5.

15 Un sensor desnudo (que no comprende una membrana dispuesta para impedir la penetración de una muestra acuosa en la matriz polimérica 5) presenta varias ventajas. Una membrana puede ralentizar el paso del analito y actuar como reservorio del mismo; esto aumenta el tiempo de respuesta del sensor. Por tanto, los sensores desnudos tienen tiempos de respuesta excepcionalmente rápidos.

20 Los sensores ópticos contruidos con una matriz polimérica hidrófila también presentan ventajas especiales. En uso como sensor óptico, la matriz polimérica 5 debe contener agua (para permitir la formación de ácido carbónico durante la detección de CO₂). Si el contenido de agua es demasiado bajo, es posible que no todo el CO₂ pueda generar ácido carbónico. Por tanto, no todo el CO₂ presente está disponible para provocar la protonación del fluoróforo y, por tanto, para alterar las características de absorción o emisión de la matriz polimérica 5. Por tanto, un contenido insuficiente de agua puede dar lugar a un sensor óptico cuya salida óptica no corresponda exactamente al contenido de CO₂ de la muestra 9 sometida a prueba.

30 Cuando se utiliza una matriz polimérica hidrófoba 5, es difícil garantizar que la matriz polimérica 5 contenga suficiente agua para permitir la química de detección. Por lo tanto, es conveniente utilizar una matriz polimérica hidrófila 5 en el sensor óptico 1, ya que puede saturarse fácilmente con agua. Cuando una matriz polimérica hidrófila 5 entra en contacto con el agua, absorberá y retendrá una cantidad específica de agua. Una matriz polimérica hidrófila 5 (p. ej. un hidrogel) puede saturarse de agua.

35 Si una matriz polimérica hidrófila 5 se pone en contacto directo con una solución acuosa (por ejemplo, una muestra biológica, tal como la sangre), la solución acuosa penetrará en la matriz polimérica hidrófila 5. En consecuencia, cuando el sensor óptico 1 comprende una matriz polimérica hidrófila 5, el sensor óptico 1 suele comprender también una membrana hidrófoba 7 dispuesta de forma que la muestra 9 entre en contacto con la matriz polimérica 5 a través de la membrana hidrófoba 7. Por tanto, el sensor óptico 1 que comprende una matriz polimérica hidrófila 5 puede comprender una membrana hidrófoba 7 dispuesta para permitir que el analito penetre en la matriz polimérica 5 a través de la membrana hidrófoba 7.

40 Cuando un sensor óptico comprende una matriz polimérica hidrófila 5 y una membrana hidrófoba 7 permeable a los gases, y el sensor óptico se pone en contacto con una solución acuosa, el agua gaseosa (vapor de agua) puede atravesar la membrana hidrófoba 7 permeable a los gases. Sin embargo, se mantiene el equilibrio y, por tanto, la cantidad de agua presente en la matriz polimérica 5 permanece aproximadamente constante. En consecuencia, un sensor óptico que comprende una matriz polimérica hidrófila 5 es menos sensible a las imprecisiones derivadas de la presencia de una cantidad insuficiente de agua o de un contenido de agua variable.

50 En algunas realizaciones, por lo tanto, el sensor óptico 1 comprende una membrana 7. Generalmente, la membrana 7 es permeable a los gases. La membrana 7 puede ser además permeable a los líquidos. Normalmente, cuando el sensor óptico 1 comprende una membrana 7, el sensor óptico 1 está configurado para permitir la entrada de un analito en la región de detección a través de la membrana 7. En dichas realizaciones, la membrana 7 normalmente es hidrófoba y, preferentemente, la matriz polimérica 5 es hidrófila.

55 En algunas realizaciones, la matriz polimérica 5 puede penetrar en la membrana 7. La membrana 7 puede estar dispuesta dentro o parcialmente dentro de la matriz polimérica 5.

60 Las membranas adecuadas, especialmente las membranas permeables a los gases, se conocen en la técnica. Dichas membranas incluyen membranas de diálisis y membranas microporosas; se prefieren las membranas de diálisis.

El sensor óptico 1 está configurado específicamente para la detección de CO₂. En una realización particularmente preferida, se proporciona una sonda óptica 1 para la detección óptica de CO₂, que comprende:

65 - una región de detección que comprende una matriz polimérica 5 como se describe en el presente documento, en donde la región de detección comprende además una membrana hidrófoba 7, y el sensor está configurado para permitir la entrada de un analito en la región de detección a través de la membrana hidrófoba 7; y

- una guía de ondas ópticas 3 dispuesta para dirigir la luz hacia la región de detección.

El analito es CO₂.

- 5 Durante el uso, la membrana hidrófoba 7 está situada entre la muestra 9 sometida a prueba y la región de detección. Por lo tanto, la membrana hidrófoba 7 actúa como una barrera contra los líquidos y puede impedir que los líquidos (en particular el agua) de la muestra 9 sometida a prueba penetren en la región de detección. Preferentemente, por lo tanto, la membrana hidrófoba 7 es impermeable a los líquidos. Esto evita que cualquier ácido de la muestra 9 penetre en el sensor. Sin embargo, el CO₂ gaseoso o disuelto en la muestra 9 sometida a prueba puede difundirse a través de la membrana hidrófoba 7 hacia la región de detección, ya que la membrana hidrófoba 7 es permeable a los gases. Por tanto, cuando el sensor comprende una membrana hidrófoba 7, el sensor óptico 1 detecta específicamente el CO₂. Por otra parte, el sensor no sufre interferencias de especies contenidas en una muestra líquida 9 como ácidos o álcalis.

- 15 En particular, preferentemente, la membrana hidrófoba 7 es impermeable a los iones de hidrógeno.

En esta configuración específica para el CO₂, se prefiere que la matriz polimérica 5 sea hidrófila, por las razones explicadas anteriormente. La matriz polimérica hidrófila 5 puede atrapar fácilmente el agua necesaria para permitir la formación de ácido carbónico y ayudar al funcionamiento del sensor.

- 20 Por tanto, en una realización particularmente preferida, el sensor óptico 1 es un sensor óptico 1 para la detección óptica de CO₂, que comprende:

- una región de detección que comprende una matriz polimérica 5 como se describe en el presente documento, en donde el soporte polimérico comprende un polímero hidrófilo; y la región de detección comprende además una membrana hidrófoba 7 permeable a los gases que es impermeable a los líquidos y a los iones de hidrógeno; y el sensor está configurado para permitir la entrada de CO₂ en la región de detección a través de la membrana hidrófoba 7; y
- una guía de ondas óptica 3 dispuesta para dirigir la luz hacia la región de detección.

- 30 En la figura 3 se muestra un diagrama de un sensor óptico 1 en uso; en la realización mostrada, el sensor óptico 1 comprende una membrana 7 permeable a los gases, pero esta no es necesaria. La guía de ondas óptica 3 está dispuesta para dirigir la luz de excitación hacia una región de detección que incluye la matriz polimérica 5. Durante el uso, la región de detección entra en contacto con una muestra 9. Una membrana 7 permeable a los gases está dispuesta sobre la matriz polimérica 5 y configurada de manera que un analito (ácido o CO₂) presente en la muestra 9 pueda atravesar la membrana 7 (si está presente) para entrar en contacto con la matriz polimérica 5. El fluoróforo absorberá la luz de excitación y podrá emitir luz; la luz emitida por el fluoróforo atraviesa la guía de ondas óptica 3. Los espectros de absorción y emisión dependerán del pH de la muestra 9, que determina el grado de protonación del fluoróforo.

- 40 La guía de ondas puede ser de cualquier material ópticamente transmisivo. Normalmente, la guía de ondas comprende o consiste en una fibra óptica; como alternativa, puede utilizarse una ventana óptica transparente. Las fibras ópticas utilizan una reflexión interna total para evitar que la fibra pierda luz.

- 45 Esto significa que la luz puede ser transportada eficazmente hacia y desde el fluoróforo, mejorando la señal y proporcionando mediciones de mayor calidad y confiabilidad.

- Opcionalmente, el sensor óptico 1 puede comprender un reflector configurado para reflejar la luz emitida por el fluoróforo en la guía de ondas óptica 3. El reflector, cuando está presente, aumenta la proporción de luz emitida por el fluoróforo que puede ser recogida por la guía de ondas y posteriormente detectada. El reflector puede comprender una capa depositada sobre la matriz polimérica 5, por ejemplo, sobre una membrana 7 dispuesta sobre la matriz polimérica 5.

- 55 Entre los materiales adecuados que pueden utilizarse como reflectores figuran las polisulfonas (PSU), polietersulfonas (PESU) y polifenilsulfonas (PPSU). Se prefieren las polisulfonas. También sería posible utilizar otros compuestos reflectantes tales como el óxido de titanio que contiene silicio o el sulfato de bario.

El sensor óptico 1 que comprende una región de detección y una guía de ondas óptica 3, y que opcionalmente también comprende una membrana 7 y/o un reflector, puede denominarse sonda de detección.

- 60 El sensor óptico 1 puede comprender además una fuente de luz configurada para proporcionar luz de excitación al fluoróforo. La fuente de luz puede ser cualquier fuente de luz capaz de emitir luz a las longitudes de onda e intensidades necesarias para excitar el fluoróforo. Por ejemplo, la fuente de luz puede comprender un diodo láser.

- 65 El sensor óptico 1 puede comprender además un detector configurado para detectar la luz emitida por el fluoróforo a través de la guía de ondas óptica 3. El detector puede ser cualquier dispositivo capaz de producir una señal en respuesta a la recepción de luz en las longitudes de onda emitidas por el fluoróforo. Por ejemplo, el detector puede

comprender un dispositivo de carga acoplada, un sensor de píxeles activos, un fotodiodo o fotorresistor.

Una parte o la totalidad del sensor óptico 1 puede ser desechable. Esto es conveniente en contextos clínicos, en donde el sensor óptico 1 puede entrar en contacto con una muestra biológica del interior o tomada de un paciente. En tales casos, la parte del sensor óptico 1 que entra en contacto con la muestra biológica debe ser estéril y no puede reutilizarse entre pacientes. Por ejemplo, la sonda del sensor puede ser desechable y no el detector o la fuente de luz, si están presentes. En un caso de este tipo, el sensor óptico 1 puede comprender además una interfaz de conexión configurada para conectar la guía de ondas óptica 3 a la fuente de luz y al detector.

El sensor óptico 1 puede formar parte de un sistema de detección óptica que comprende además un sistema de control. El sistema de control puede estar configurado para hacer que la fuente de luz emita luz y, opcionalmente, para activar el detector si es necesario. El sistema de detección óptica puede comprender además un sistema de análisis. El sistema de análisis puede estar configurado para determinar si un analito (ácido carbónico) está presente en la muestra 9 sometida a prueba. En concreto, el sistema de análisis puede estar configurado para determinar la concentración de CO₂ de la muestra 9 sometida a prueba.

El sensor óptico 1 y el sistema de detección óptica descritos en el presente documento pueden utilizarse para proporcionar mediciones rápidas y en tiempo real del contenido de CO₂ de una muestra 9. Esto es especialmente deseable en la detección de gases en sangre. Es importante controlar el contenido de CO₂ de la sangre de un paciente durante procedimientos como la diálisis o la cirugía, en particular la cirugía de baipás cardíaco, ya que el contenido de CO₂ puede variar rápidamente con consecuencias peligrosas para el paciente.

En consecuencia, el sistema de detección óptica puede ser un sistema de detección de gases sanguíneos en línea que comprende un sensor óptico 1 como se describe en el presente documento, en donde el sistema de detección de gases en sangre en línea está configurado para dirigir la sangre del cuerpo del paciente fuera del cuerpo y en contacto con la región de detección del sensor óptico 1. Habitualmente, el sistema de detección de gases en sangre en línea está configurado además para devolver la sangre al cuerpo del paciente.

Generalmente, el sistema de detección de gases en sangre en línea comprende además un sensor óptico 1, como se describe en el presente documento, una línea sanguínea y una bomba, en donde la línea sanguínea está configurada para dirigir la sangre del cuerpo del paciente fuera del cuerpo y en contacto con la región de detección del sensor óptico 1; y devolver la sangre al cuerpo del paciente. La bomba está configurada para bombear sangre a lo largo de la línea sanguínea.

En un ejemplo, la divulgación se refiere a un sistema de diálisis que comprende un sistema de detección de gases en sangre en línea como se describe en el presente documento. En otro ejemplo, la invención se refiere a un sistema de baipás cardíaco que comprende un sistema de detección de gases en sangre en línea, como se describe en el presente documento.

Método para producir una matriz polimérica

La matriz polimérica de la invención puede producirse por cualquier método adecuado. Por ejemplo, sería posible generar una matriz polimérica en donde el fluoróforo o la fracción de contraíón ya estuvieran suspendidos dentro de la matriz polimérica, realizando una reacción de polimerización para producir un soporte polimérico en presencia del fluoróforo o de la fracción de contraíón. Sin embargo, es conveniente generar primero el soporte polimérico que tiene una fracción de fluoróforo o de contraíón unida covalentemente al mismo, y luego proporcionar la fracción de fluoróforo o de contraíón (la que no esté unida al soporte polimérico) dentro de la matriz. Este método permite lavar cualquier producto de desecho o material de partida sobrante de la generación del soporte polimérico.

Por tanto, en el presente documento se describe un método de producción de una matriz polimérica para la detección óptica, comprendiendo el método:

- (i) proporcionar un soporte polimérico, en donde un fluoróforo o una fracción de contraíón están unidos covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica; y
- (ii) suspender un fluoróforo o una fracción de contraíón, que no esté unido covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica, en el soporte polimérico.

Generalmente, la matriz polimérica para la detección óptica producida por el método divulgado es una matriz polimérica como se describe en el presente documento.

La etapa (i) puede comprender la unión covalente de un fluoróforo o una fracción de contraíón a un soporte polimérico. Por ejemplo, la etapa (i) puede comprender:

- generar un soporte polimérico polimerizando un monómero; y
- hacer reaccionar el soporte polimérico con un precursor del fluoróforo que comprenda un fluoróforo, o con un precursor del contraíón que comprenda una fracción de contraíón, generar un fluoróforo o una fracción de contraíón

unida covalentemente al soporte polimérico por una fracción conectora polimérica.

Un monómero adecuado es cualquier fracción polimerizable, normalmente una fracción polimerizable hidrófoba o una fracción polimerizable hidrófila. Algunos ejemplos son los monómeros de estireno o de hidrogel.

En otro ejemplo, la etapa (i) puede comprender:

- funcionalizar un soporte polimérico; y
- hacer reaccionar el soporte polimérico funcionalizado con un precursor del fluoróforo que comprenda un fluoróforo o con un precursor del contraíón que comprenda una fracción de contraíón, generar un fluoróforo o una fracción de contraíón unida covalentemente al soporte polimérico por una fracción conectora polimérica.

Este método puede ser útil cuando se desea un polímero existente como soporte polimérico, por ejemplo, celulosa o un derivado de la misma.

De manera conveniente, el soporte polimérico puede producirse directamente incorporando el fluoróforo o la fracción de contraíón. En dicha realización, la etapa (i) comprende la copolimerización de un monómero de fluoróforo o de un monómero de contraíón con otro u otros monómeros. Preferentemente, la etapa (i) comprende la copolimerización de un monómero de contraíón con otro u otros monómeros.

Por "monómero de fluoróforo" se entiende un monómero polimerizable que comprende el fluoróforo. Un "monómero de fluoróforo" adecuado es un fluoróforo como se describe en el presente documento en donde el enlace covalente que une el fluoróforo a una fracción conectora polimérica se sustituye por una fracción polimerizable, normalmente un grupo alquénilo o alquínilo.

Por "monómero de contraíón" se entiende un monómero polimerizable que comprende la fracción de contraíón. Un "monómero de contraíón" adecuado es una fracción de contraíón como se describe en el presente documento, en donde el enlace covalente que une la fracción de contraíón a una fracción conectora polimérica se sustituye por una fracción polimerizable, normalmente un grupo alquénilo o alquínilo.

Un monómero de contraíón ilustrativo es un catión de amonio cuaternario de fórmula (CI-AM):



PL es una fracción polimerizable. Preferentemente, PL es un grupo alquénilo o alquínilo. Por ejemplo, PL puede ser un grupo alquénilo C₂₋₁₀ o un grupo alquínilo C₂₋₁₀. En particular, preferentemente, PL es un grupo alquénilo C₂₋₆.

Cada grupo R⁶ se selecciona independientemente entre H; o alquilo C₁₋₃₀, cicloalquilo C₃₋₁₂, cicloalquénilo C₄₋₁₂, arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alquénilo C₂₋₃₀ y alquínilo C₂₋₃₀; o dos grupos R⁸ pueden unirse entre sí para formar un grupo heterocicloalquilo C₃₋₁₆ o un grupo heterocicloalquénilo C₄₋₁₆. Preferentemente, cada grupo R⁶ puede seleccionarse independientemente entre H, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₆ y alquénilo C₂₋₁₀. Los ejemplos más preferidos de R⁶ son H y alquilo C₁₋₆.

PL y/o cualquier grupo R⁶ susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes. El uno o más sustituyentes pueden estar presentes en cualquier posición susceptible de sustitución. El uno o más sustituyentes normalmente se seleccionan entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquénilo C₄₋₁₀, alquénilo C₂₋₁₀, alquínilo C₂₋₁₀, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b, -CO₂R^b y -CONR^{b2}. PL y R⁶ suelen estar sustituidos con 0, 1, 2 o 3 sustituyentes, preferentemente con 0 o 1 sustituyente. Los sustituyentes preferidos incluyen halógeno, oxo, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alquénilo C₂₋₆, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b y -CO₂R^b. Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b y -CO₂R^b. Lo más preferible es que PL y R⁶ no estén sustituidos.

R^b es como se ha descrito anteriormente.

En una realización preferida, PL es un grupo alquénilo C₂₋₆ y cada grupo R⁶ se selecciona independientemente entre H y alquilo C₁₋₆. PL y R⁶ están cada uno sin sustituir o sustituidos con un sustituyente seleccionado independientemente entre halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₄, -OR^b, -NR^{b2}, -COR^b y -CO₂R^b, en donde R^b se selecciona entre H y alquilo C₁₋₄.

Pueden realizarse etapas intermedias entre la etapa (i) y la etapa (ii). Por ejemplo, el soporte polimérico que tiene un fluoróforo o una fracción de contraíón unido covalentemente al mismo puede lavarse antes de realizarse la etapa (ii).

La etapa (ii) implica suspender un fluoróforo o una fracción de contraión en la matriz polimérica. Por ejemplo, la etapa (ii) puede implicar la disolución del fluoróforo (p. ej., una forma salina del fluoróforo) en una solución de recubrimiento, tal como agua o una solución acuosa, y el contacto del soporte polimérico producido en la etapa (i) con la solución de recubrimiento que comprende el fluoróforo disuelto. Como alternativa, la etapa (ii) puede implicar la disolución de la fracción de contraión (p. ej., una sal que comprenda la fracción de contraión, normalmente una sal de hidróxido de la fracción de contraión) en una solución de recubrimiento tal como agua o una solución acuosa, y poner en contacto el soporte polimérico producido en la etapa (i) con la solución de recubrimiento que comprende la fracción disuelta del contraión.

Después de la etapa (ii) pueden realizarse otras etapas. Por ejemplo, el método de producción de una matriz polimérica puede comprender además el secado de la matriz polimérica para eliminar el exceso de agua.

Método de producción de un sensor óptico

La matriz polimérica puede utilizarse para proporcionar un sensor óptico. Por tanto, en el presente documento se describe un método para producir un sensor óptico, comprendiendo el método:

- (i) proporcionar una guía de ondas óptica;
- (ii) disponer una matriz polimérica como se describe en el presente documento en la guía de ondas óptica; y
- (iii) disponer opcionalmente una membrana sobre la matriz polimérica.

Generalmente, el sensor óptico producido por este método es un sensor óptico 1 como se describe en el presente documento. Por ejemplo, la membrana normalmente es una membrana permeable a los gases y preferentemente también hidrofóbica.

Disponer una matriz polimérica sobre la guía de ondas óptica no siempre requiere que la matriz polimérica esté en contacto directo con la guía de ondas óptica. Puede, por ejemplo, ser un recubrimiento intermedio presente en la guía de ondas óptica.

En algunos casos, la etapa (ii) puede incluir el suministro de una matriz polimérica como se describe en el presente documento, que comprende tanto un fluoróforo como una fracción de contraión (uno de los cuales está unido covalentemente al soporte polimérico) y, a continuación, disponer esa matriz polimérica en la guía de ondas óptica.

El método para proporcionar la matriz polimérica puede ser el descrito en el presente documento. Por ejemplo, el método de producción de un sensor óptico puede comprender:

- (i) proporcionar una guía de ondas óptica;
 - (ii) proporcionar un soporte polimérico, en donde una fracción de fluoróforo o de contraión está unida covalentemente al soporte polimérico por una fracción conectora polimérica, y suspender un fluoróforo o una fracción de contraión, que no esté unido covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica, en el soporte polimérico, para producir una matriz polimérica como se describe en el presente documento; y
- disponer la matriz polimérica en la guía de ondas óptica.

Como alternativa, la etapa (ii) puede consistir en generar *in situ* una matriz polimérica como se describe en el presente documento, en la guía de ondas óptica. El método de generación de la matriz polimérica puede ser el descrito en el presente documento. Por ejemplo, el método de producción de un sensor óptico puede comprender:

- (i) proporcionar una guía de ondas óptica;
- (ii) (a) disponer un soporte polimérico sobre la guía de ondas óptica, en donde un fluoróforo o una fracción de contraión están unidos covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica; y
- (b) suspender un fluoróforo o una fracción de contraión, que no esté unido covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica, en el soporte polimérico.

En un ejemplo típico, el método de producción de un sensor óptico puede comprender:

- (i) proporcionar una guía de ondas óptica;
- (ii) (a) poner en contacto la guía de ondas ópticas con una solución que comprenda un monómero de fluoróforo o un monómero de contraión con otro u otros monómeros e iniciar la polimerización, producir un soporte polimérico dispuesto sobre la guía de ondas ópticas en donde un fluoróforo o una fracción de contraión está unido covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica; y (b) suspender un fluoróforo o una fracción de contraión, que no esté unido covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica, en el soporte polimérico, para producir una matriz polimérica como se describe en el presente documento.

Puede realizarse una etapa de lavado entre (ii)(a) y (ii)(b), para eliminar los monómeros sin reaccionar y/o los productos de desecho.

Puede ser conveniente incorporar una membrana al sensor óptico durante su producción. Esto puede hacerse una vez generada la matriz polimérica de la invención y dispuesta sobre el sensor. Por ejemplo, el método de producción de un sensor óptico puede comprender:

- (i) proporcionar una guía de ondas óptica;
- (ii) disponer una matriz polimérica como se describe en el presente documento en la guía de ondas óptica; y
- (iii) disponer posteriormente una membrana sobre la matriz polimérica.

En otras realizaciones, la membrana puede incorporarse en un momento anterior del procedimiento, por ejemplo, antes de generar la matriz polimérica. Por ejemplo, en algunas realizaciones el método de producción de un sensor óptico puede comprender:

- (i) proporcionar una guía de ondas óptica;
- (ii) (a) poner en contacto la guía de ondas ópticas y una membrana con una solución que comprenda un monómero de fluoróforo o un monómero de contraíón con otro u otros monómeros e iniciar la polimerización, producir un soporte polimérico dispuesto sobre la guía de ondas ópticas en donde un fluoróforo o una fracción de contraíón está unido covalentemente al soporte polimérico mediante una fracción conectora polimérica; y
- (b) suspender un fluoróforo o una fracción de contraíón, que no esté unido covalentemente al soporte polimérico a través de la fracción conectora polimérica, en el soporte polimérico.

La solución que comprende un monómero de fluoróforo o un monómero de contraíón con otro u otros monómeros puede penetrar en la membrana. Por ejemplo, la membrana puede empaparse con dicha solución.

El método de producción de un sensor óptico puede comprender una o más etapas adicionales después de (i) y (ii), como se explica a continuación. Estas etapas adicionales pueden realizarse en cualquier orden.

El método de producción de un sensor óptico puede comprender además una etapa de contacto del sensor óptico con agua (en forma de vapor de agua y/o más preferentemente agua líquida). Esto permite que el contenido de agua dentro del sensor se equilibre con el agua exterior. Esto garantiza que, cuando el sensor entra en contacto con una muestra que contiene agua (p. ej., una muestra acuosa como una solución acuosa, sangre o saliva) se minimiza la absorción o pérdida de agua por el sensor óptico.

El método de producción de un sensor óptico puede comprender además una etapa de disposición de un reflector sobre el sensor óptico. Por ejemplo, el método de producción de un sensor óptico puede comprender una etapa de disposición de una capa que comprende una o más de polisulfona (PSU), polietersulfona (PESU) y polifenilsulfona (PPSU) en la matriz polimérica. Cuando una membrana permeable a los gases está dispuesta sobre la matriz polimérica, el método de producción de un sensor óptico puede comprender una etapa de disposición de una capa que comprende una o más de polisulfona (PSU), polietersulfona (PESU) y polifenilsulfona (PPSU) en la membrana permeable a los gases. Se prefieren las polisulfonas.

El método de producción de un sensor óptico puede comprender además la incorporación de una fuente de luz y/o un detector. El método también puede comprender la incorporación de un sistema de control y/o un sistema de análisis.

Métodos de medición

El sensor descrito en el presente documento puede utilizarse para detectar CO₂ en una muestra. El sensor óptico puede utilizarse además para determinar la cantidad de CO₂ en una muestra. Esto puede lograrse mediante una simple medición de la intensidad. Por ejemplo, la señal de salida óptica del sensor óptico (normalmente la luz emitida por el fluoróforo) puede calibrarse utilizando una o más soluciones de contenido de CO₂ conocido. Por tanto, la intensidad I_1 de la emisión fluorescente a una longitud de onda λ_1 puede determinarse en función del contenido de CO₂. Como alternativa o adicionalmente, la absorbancia A_1 a una longitud de onda λ_1 puede determinarse en función del contenido de CO₂. λ_1 y λ_1' son las longitudes de onda a las que la forma protonada del fluoróforo emite/absorbe luz, respectivamente; también puede realizarse una calibración para la forma desprotonada. Se mide la emisión (en λ_1) o la absorbancia (en λ_1') que se produce cuando la luz de excitación está dispuesta en el sensor óptico en contacto con una muestra, y puede utilizarse entonces para determinar el contenido de CO₂ de la muestra.

Aunque el sensor puede funcionar en los modos de absorción o emisión, se prefiere utilizar el sensor para detectar la emisión fluorescente. Esto se debe a que la longitud del recorrido de la luz a través de la región de detección del sensor óptico suele ser demasiado pequeña para permitir una absorción intensa.

En el presente documento, se describe un método para medir el contenido de CO₂ de una muestra, comprendiendo el método:

- (i) poner en contacto un sensor óptico como se describe en el presente documento con la muestra;
- (ii) proporcionar luz de excitación a la región de detección a través de la guía de ondas óptica; y
- (iii) detectar la intensidad I_1 de la luz emitida desde el fluoróforo a una primera longitud de onda λ_1 a través de la guía de ondas óptica.

5 El contacto del sensor con una muestra suele consistir en hacer fluir la muestra sobre la región de detección del sensor o sumergir la región de detección del sensor en la muestra.

10 En el presente documento, también se describe un método para medir el contenido de CO_2 de una muestra utilizando la metodología de absorción, comprendiendo el método:

- (i) poner en contacto un sensor óptico como se describe en el presente documento con la muestra;
- (ii) proporcionar luz de excitación a la región de detección a través de la guía de ondas óptica;
- (iii) detectar la luz que vuelve de la región de detección a través de la guía de ondas óptica; y
- 15 (iv) determinar la absorbancia A_1 del fluoróforo a una primera longitud de onda λ_1 .

El método puede comprender una etapa inicial de calibración del sensor.

20 El método puede comprender una etapa de cálculo posterior, que consiste en comparar la intensidad de emisión detectada I_1 o la absorbancia A_1 con una curva de calibración para determinar el contenido de CO_2 de la muestra.

Una sola medición de la intensidad es ventajosamente sencilla. La precisión del resultado puede mejorarse tomando una o más mediciones adicionales. Por tanto, en algunas realizaciones, el método de medición del contenido de CO_2 de una muestra comprende:

- (i) poner en contacto un sensor óptico como se describe en el presente documento con la muestra;
- (ii) proporcionar luz de excitación a la región de detección a través de la guía de ondas óptica;
- (iii) detectar la intensidad I_1 de la luz emitida por el fluoróforo a una primera longitud de onda λ_1 a través de la guía de ondas óptica; y
- 30 (iv) detectar la intensidad I_2 de la luz emitida por el fluoróforo a una segunda longitud de onda λ_2 a través de la guía de ondas óptica.

Este método puede comprender además, por ejemplo, determinar el contenido de CO_2 basándose en cada una de I_1 e I_2 y, a continuación, tomar un promedio (por ejemplo, una media) de los dos valores para llegar a un valor medio del contenido de CO_2 de la muestra.

40 Las mediciones de intensidad basadas en la intensidad absoluta están sujetas a imprecisiones que se producen cuando los fluoróforos se fotoblanquean. Cuando una fracción de fluoróforo se fotoblanquea, la intensidad total de la emisión de fluorescencia disminuye, indicando de forma inexacta un cambio en la concentración del analito. Por tanto, se prefiere especialmente utilizar una medición ratiométrica para medir el contenido de CO_2 de una muestra. Un método de medición ratiométrico reduce o evita los errores debidos al fotoblanqueo del sensor óptico entre el proceso de calibración y la medición.

45 Puede utilizarse un método ratiométrico cuando cada una de las formas protonada y desprotonada del fluoróforo experimentan una emisión fluorescente a longitudes de onda diferentes, y/o cuando las formas protonada y desprotonada del fluoróforo absorben luz a longitudes de onda diferentes. El método ratiométrico consiste en comparar la intensidad de emisión (o absorbancia) de las formas protonada y desprotonada, y utilizar la proporción de esas dos intensidades de emisión (o absorbancias) para determinar las cantidades relativas de fluoróforo protonado y desprotonado. Por tanto, puede determinarse el contenido de CO_2 de la muestra.

50 La determinación del contenido de CO_2 de una muestra puede realizarse calibrando el sensor óptico (es decir, determinando la salida del sensor al entrar en contacto con una o más muestras de contenido de CO_2 conocido). Como alternativa, el contenido de CO_2 de una muestra puede determinarse basándose en un modelo matemático del sistema.

55 Como con una simple medida de intensidad, se puede realizar una medición ratiométrica en modo de absorción o de emisión. Sin embargo, se prefiere realizar la medición en modo de emisión, ya que la longitud del camino de la luz a través de la región de detección del sensor óptico suele ser demasiado corta en la práctica para permitir una absorción significativa.

60 En consecuencia, en el presente documento, se describe un método para medir el contenido de CO_2 de una muestra, comprendiendo el método:

- (i) poner en contacto un sensor óptico como se describe en el presente documento con la muestra;
- (ii) proporcionar luz de excitación a la región de detección a través de la guía de ondas óptica;
- 65 (iii) detectar la intensidad I_1 de la luz emitida por el fluoróforo a una primera longitud de onda λ_1 a través de la guía de ondas óptica;

- (iv) detectar la intensidad I_2 de la luz emitida por el fluoróforo a una segunda longitud de onda λ_2 a través de la guía de ondas óptica; y
- (v) comparar I_2 con I_1 .

5 El método puede comprender una etapa inicial de calibración del sensor.

El método puede comprender una etapa de cálculo posterior, que consiste en comparar la proporción de intensidad de emisión detectada $I_1:I_2$ con una curva de calibración para determinar el contenido de CO_2 de la muestra.

- 10 Cada medición óptica se realiza rápidamente, y suele tardar menos de un segundo. Por otra parte, el volumen de muestra de la región de detección del sensor es muy pequeño, y normalmente no actúa como un depósito para la muestra. Por consiguiente, el sensor tiene un tiempo de respuesta muy rápido. Además, el sensor óptico no degrada ni agota sustancialmente la muestra, ya que no afecta a la muestra salvo para extraer de ella una cantidad muy pequeña del analito. En consecuencia, el sensor puede ponerse en contacto con una muestra biológica (tal como la
- 15 que se encuentre dentro del cuerpo o de un paciente o, lo que es más habitual, se extrae del cuerpo de un paciente y se devuelve al mismo. Todos estos factores hacen que el sensor sea sumamente adecuado para realizar mediciones continuas en una muestra, en particular una muestra biológica, durante largos períodos de tiempo.

20 En consecuencia, en algunas realizaciones, el método de medición del contenido de CO_2 de una muestra es un método de medición continua del contenido de CO_2 de la muestra, en donde:

- el sensor óptico se expone continuamente a la muestra durante un período de exposición de al menos diez minutos;
- 25 - la luz de excitación se proporciona a la región de detección de forma continua o intermitente a lo largo del período de exposición a través de la guía de ondas óptica; y
- la intensidad I_1 de emisión del fluoróforo a una primera longitud de onda λ_1 , y opcionalmente la intensidad I_2 de emisión del fluoróforo a una segunda longitud de onda λ_2 , se detecta de forma continua o intermitente a lo largo
- 30 del período de exposición a través de la guía de ondas óptica.

El período de exposición es preferentemente de al menos 1 hora. Por ejemplo, el período de exposición puede ser de al menos 100 horas, normalmente hasta 144 horas (7 días). Por lo tanto, el método de medición puede utilizarse cuando sea importante controlar una muestra biológica (tal como sangre) durante largos períodos, por ejemplo,

35 durante una diálisis o una operación a corazón abierto.

Ejemplo

40 Se produjo una fracción de contracción de carga positiva unida covalentemente a un soporte polimérico de la siguiente manera.

Etapa (a)

45 Se disolvieron estireno (1,0 eq en masa) y cloruro de vinilbencilo (0,052 eq en masa) en tolueno (55,7 vol). La solución se agitó y se hizo burbujear nitrógeno a través de la solución durante 30 minutos utilizando un tubo de inmersión de nitrógeno. A continuación, se retiró el tubo de inmersión en nitrógeno y se añadió el iniciador AIBN (0,002 eq en masa); a continuación, se calentó la solución hasta 60 °C durante 18 horas. A continuación, se hizo precipitar el polímero resultante, poli(cloruro de estireno-co-vinilbencilo) de la solución mediante la adición de metanol para proporcionar material en bruto que se disolvió dos veces en cloroformo y se hizo precipitar con metanol. A continuación, se secó el

50 precipitado resultante al alto vacío.

Etapa (b)

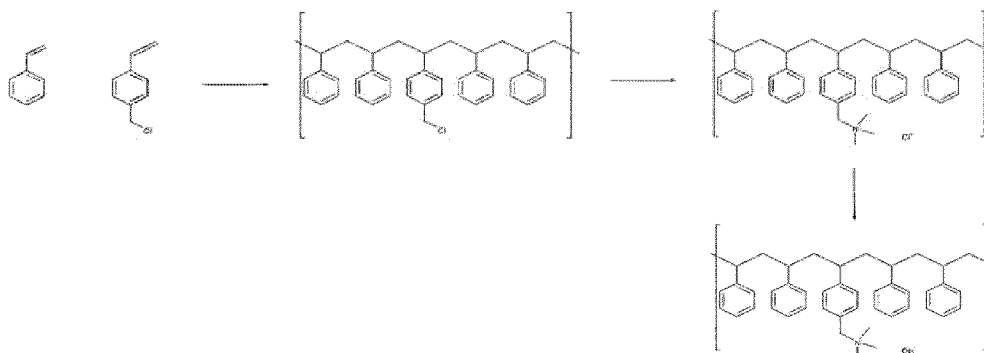
55 Se disolvió el poli(cloruro de estireno-co-vinilbencilo) (1,0 eq), un soporte polimérico, en DMF anhidro (20 vol) y se agitó en atmósfera de nitrógeno hasta su completa disolución. Se añadió trimetilamina acuosa al 45 % (4,4 vol), un precursor de la fracción de contracción, y la mezcla resultante se agitó a TA durante toda la noche. Después de agitar durante 20 h, se obtuvo un IPC coherente con la formación de un nuevo producto. Los disolventes se eliminaron al vacío a 60 °C. El producto resultante fue poli(estireno-co-hidróxido de (vinilbencil)trimetilamonio), que contenía un 5 % en peso de hidróxido de (vinilbencil)trimetilamonio.

60

Etapa (c)

Se disolvió el poli(estireno-co-hidróxido de (vinilbencil)trimetilamonio) (500 mg) en DCM (50 ml) y se lavó 3 veces con NaOH (0,1 M, 50 ml). A continuación se eliminó el disolvente al vacío. A continuación se muestra un esquema de reacción que incluye las etapas (a) a (c).

65



A continuación se preparó una matriz polimérica que contenía además una fracción de fluoróforo disolviendo poli(estireno-co-hidróxido de (vinilbencil)trimetilamonio) (5 % en peso de hidróxido de (vinilbencil)trimetilamonio) (30 mg) en diclorometano (600 μ l). Se añadió la fracción de fluoróforo HTPS (2 μ l, 10 mg. ml^{-1} en agua) y se agitó la mezcla, con lo que la HTPS se extrajo en la fase orgánica.

A continuación, se preparó un sensor sumergiendo la punta de una guía de ondas óptica (concretamente una fibra óptica) en esta solución y dejando que se secara, formando una matriz polimérica en la punta de la fibra óptica. El sensor se probó colocándolo en un entorno que contenía CO_2 .

Las curvas de unión y los datos de rendimiento de estas fibras pueden verse en las figuras 4 y 5.

La figura 4 es una curva de unión que muestra la unión de CO_2 a una matriz polimérica en un sensor de la invención en función de pCO_2 . La proporción de CO_2 que se une a la matriz coincide estrechamente a los valores predichos, lo que demuestra que el sensor detecta eficazmente el CO_2 .

La figura 5 muestra los valores reales de pCO_2 y los valores de pCO_2 medidos por un sensor de acuerdo con la invención durante un período de cinco horas. En esta figura también se muestra la temperatura, que se mantuvo invariable entre 35 y 40 $^{\circ}\text{C}$ durante el período de prueba. Es evidente que el valor real de pCO_2 (presión parcial de CO_2 en la muestra sometida a prueba), indicado con una línea de puntos, coincide estrechamente con el valor detectado utilizando el sensor de la invención (mostrado con una línea continua).

La precisión del sensor de acuerdo con la invención es excelente. Se comprobó que el sensor podía detectar valores de pCO_2 en el intervalo probado (de 0,0 a 46,57 kPa [de 0,0 a 349,3 mmHg], 0-50 %) con una precisión del 3,67 %.

REIVINDICACIONES

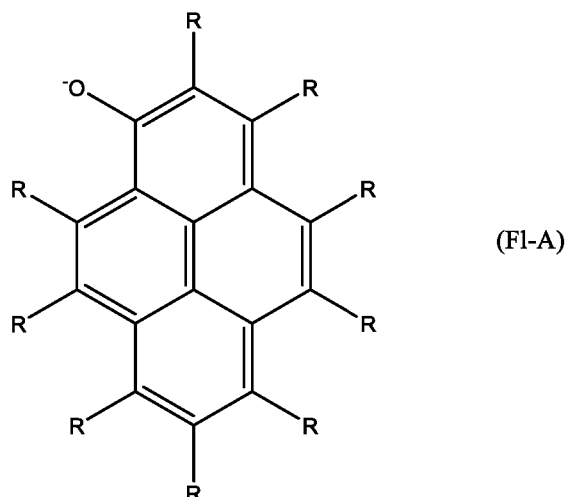
1. Una matriz polimérica para la detección óptica de CO₂, que comprende un fluoróforo, una fracción de contracción de carga positiva y un soporte polimérico, en donde el fluoróforo o la fracción de contracción están unidos covalentemente al soporte polimérico por una fracción conectora polimérica, y la proporción molar del contracción con respecto al fluoróforo es de 2:1 o mayor.

2. La matriz polimérica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el fluoróforo comprende una fracción de carga negativa a pH casi neutro, preferentemente en donde el fluoróforo comprende un grupo -O⁻ o un grupo -COO⁻ a pH casi neutro.

3. La matriz polimérica de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde el fluoróforo o la fracción de contracción que no está unido covalentemente al soporte polimérico por una fracción conectora polimérica está suspendido en el soporte polimérico.

4. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde el fluoróforo tiene un espectro de emisión fluorescente dependiente del pH.

5. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde el fluoróforo comprende una especie de fórmula (FI-A):



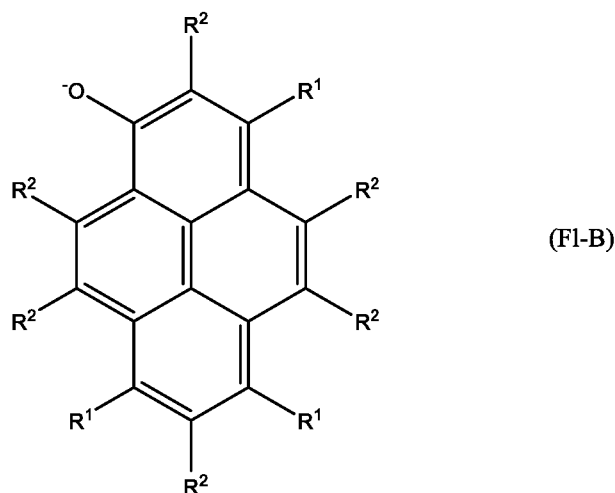
en donde cada grupo R se selecciona independientemente entre H, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -SR^a, -OR^a, -SO₂R³, -SO₃⁻, -SOR^a, -SO₂NR^a, -S(O)(NR^a)R^a, -NR^a₂, -NR^aCOR^a, -NR^aCO₂R^a, -COR^a, -CO₂R^a, -CONR^a₂, o un enlace covalente que une el fluoróforo a la fracción conectora polimérica; o dos grupos R vecinos se unen entre sí para formar un anillo carbocíclico o heterocíclico;

siendo cada grupo R^a seleccionado independientemente entre H, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C₂₋₁₀ y alquino C₂₋₁₀;

y cualquier grupo R susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, alqueno C₂₋₁₀, alquino C₂₋₁₀, -OR^b, -NR^b₂, -COR^b, -CO₂R^b y -CONR^b₂,

en donde R^b se selecciona entre H, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalqueno C₄₋₆ y alqueno C₂₋₆;

o una especie de fórmula (FI-B)



en donde cada grupo R^1 se selecciona independientemente entre halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, $-OR^a$, $-SO_2R^a$, $-SO_3^-$, $-SOR^a$, $-SO_2NR^a$, $-S(O)(NR^a)R^a$, $-NR^{a_2}$, $-NR^aCOR^a$, $-NR^aCO_2R^a$, $-COR^a$, $-CO_2R^a$, $-CONR^{a_2}$ y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica;

cada grupo R^2 se selecciona independientemente entre H, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica;

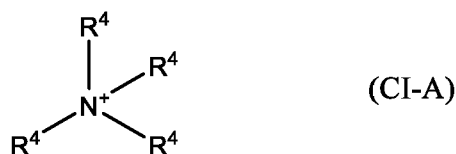
cualquier grupo R^1 o R^2 que sea susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , $-OR^b$, $-NR^{b_2}$, $-COR^b$, $-CO_2R^b$ y $-CONR^{b_2}$; y

R^a y R^b son como se han definido anteriormente;

preferentemente, en donde el fluoróforo es piranina o un derivado de la misma.

6. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde la fracción de contracción está unida covalentemente al soporte polimérico.

7. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde la fracción de contracción comprende un catión de amonio cuaternario, preferentemente un catión de amonio cuaternario de fórmula (CI-A):



en donde cada grupo R^4 se selecciona independientemente entre H; o alquilo C_{1-30} , cicloalquilo C_{3-12} , cicloalquenilo C_{4-12} , arilo, alquilarilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alquenilo C_{2-30} , alquinilo C_{2-30} , y un enlace covalente a la fracción conectora polimérica; o dos grupos R^4 pueden unirse entre sí para formar un grupo heterocicloalquilo C_{3-16} o un grupo heterocicloalquenilo C_{4-16} ;

y cualquier grupo R^4 susceptible de sustitución puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, oxo, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , $-OR^b$, $-NR^{b_2}$, $-COR^b$ y $-CO_2R^b$,

en donde R^b es como se define en la reivindicación 5;

más preferentemente, en donde la fracción de contracción es un ion hexadeciltrimetilamonio o un derivado del mismo.

8. La matriz polimérica de acuerdo con la reivindicación 7, en donde un grupo R^4 es un enlace covalente a la fracción conectora polimérica y los tres grupos R^4 restantes se seleccionan cada uno independientemente entre H, alquilo C_{1-10} .

4 y alqueno C_{2-4} .

9. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde el soporte polimérico es permeable a los gases.

5 10. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde el soporte polimérico comprende

(a) un polímero hidrófilo, preferentemente seleccionado entre uno o varios de un hidrogel, un derivado de celulosa, etilcelulosa, un sol-gel o un polímero hidrófilo a base de silicona; seleccionado de manera particularmente preferida 10 entre poliacrilamida o metacrilato de polihidroxietilo; o

(b) un polímero hidrófobo, seleccionado preferentemente entre uno o más de poliestireno, un polímero hidrófobo a base de silicona, un derivado hidrófobo de celulosa o etilcelulosa plastificada.

15 11. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde la fracción conectora polimérica comprende uno o más de un enlace covalente, -O-, -S-, -SO₂-, -SO-, un alqueno opcionalmente sustituido, un alqueno opcionalmente sustituido, un alqueno opcionalmente sustituido y -NR⁵;

20 R⁵ se selecciona entre H, alquilo C_{1-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalqueno C_{4-10} , arilo, arilalquilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, alqueno C_{2-10} , alquilo C_{2-10} , -COR^a, -CO₂R³ y -CONR^a₂, y

R^a es como se define en la reivindicación 5.

25 12. La matriz polimérica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde la matriz polimérica también comprende agua.

13. Un sensor óptico para la detección óptica de CO₂, que comprende:

- 30 - una región de detección que comprende una matriz polimérica como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-12; y
- una guía de ondas óptica dispuesta para dirigir la luz hacia la región de detección.

35 14. El sensor óptico de acuerdo con la reivindicación 13, en donde la región de detección comprende además una membrana hidrófoba, y el sensor está configurado para permitir la entrada de un analito en la región de detección a través de la membrana hidrófoba.

40 15. El sensor óptico de acuerdo con la reivindicación 13 o la reivindicación 14, en donde el soporte polimérico comprende un polímero hidrófilo; la región de detección comprende además una membrana hidrófoba permeable a los gases que es impermeable a los líquidos y a los iones de hidrógeno; y el sensor está configurado para permitir la entrada de CO₂ en la región de detección a través de la membrana hidrófoba.

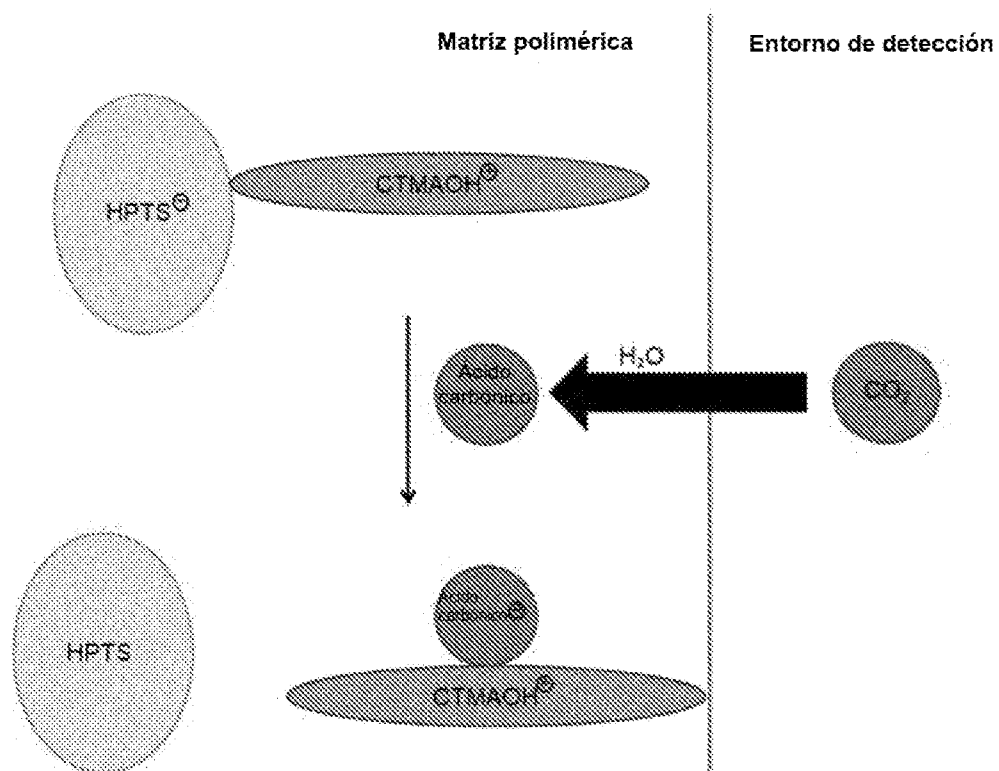


Figura 1

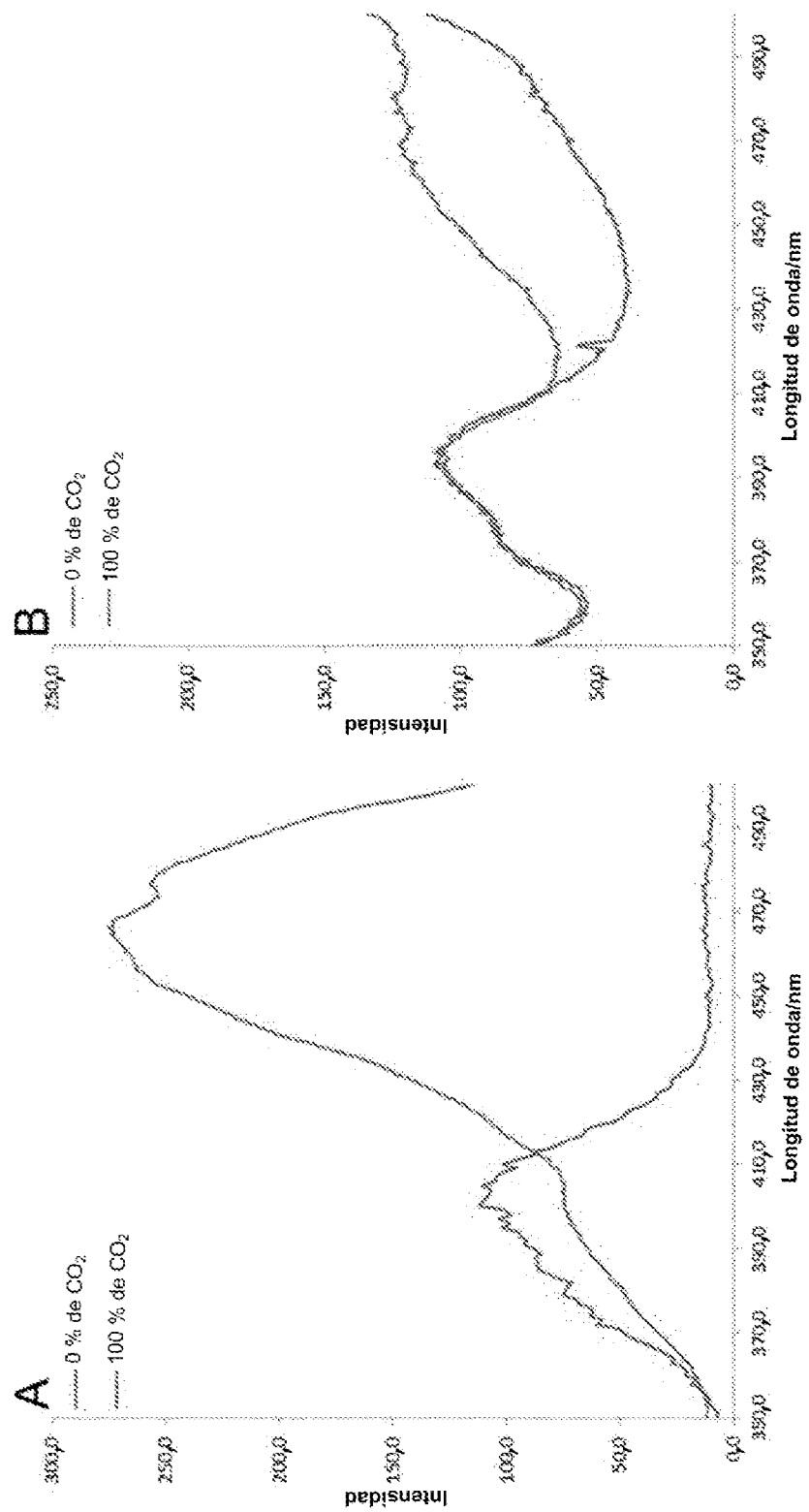


Figura 2

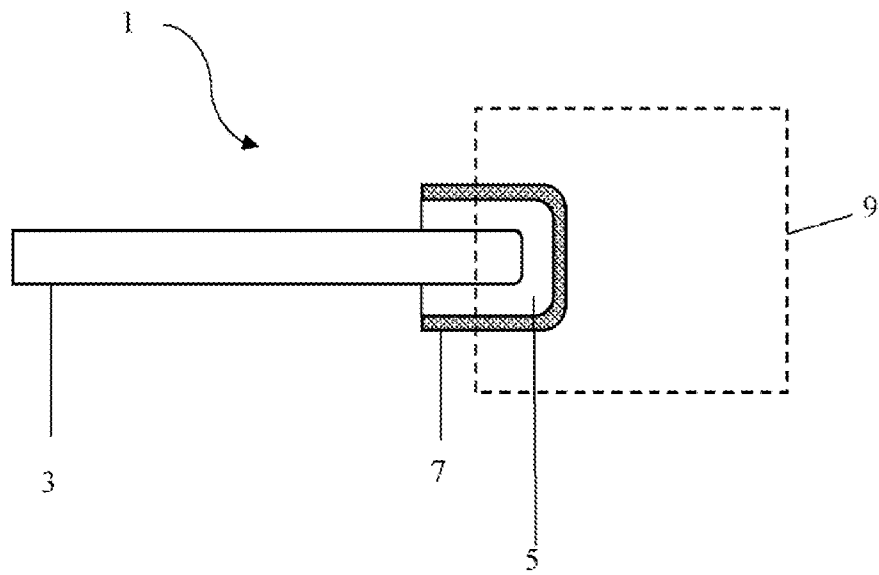


Figura 3

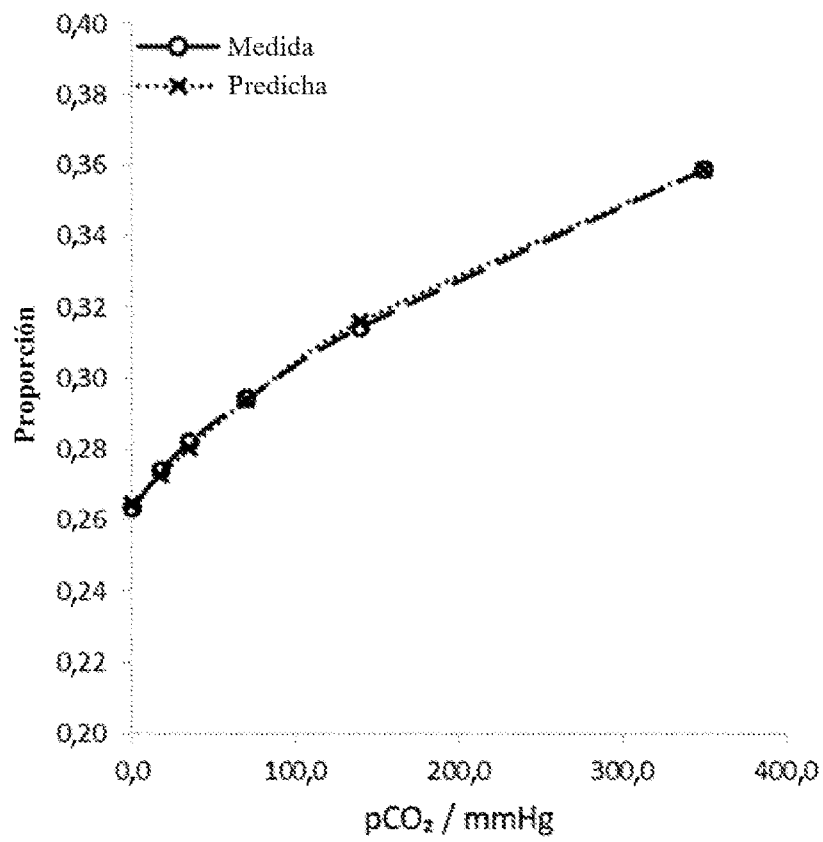


Figura 4

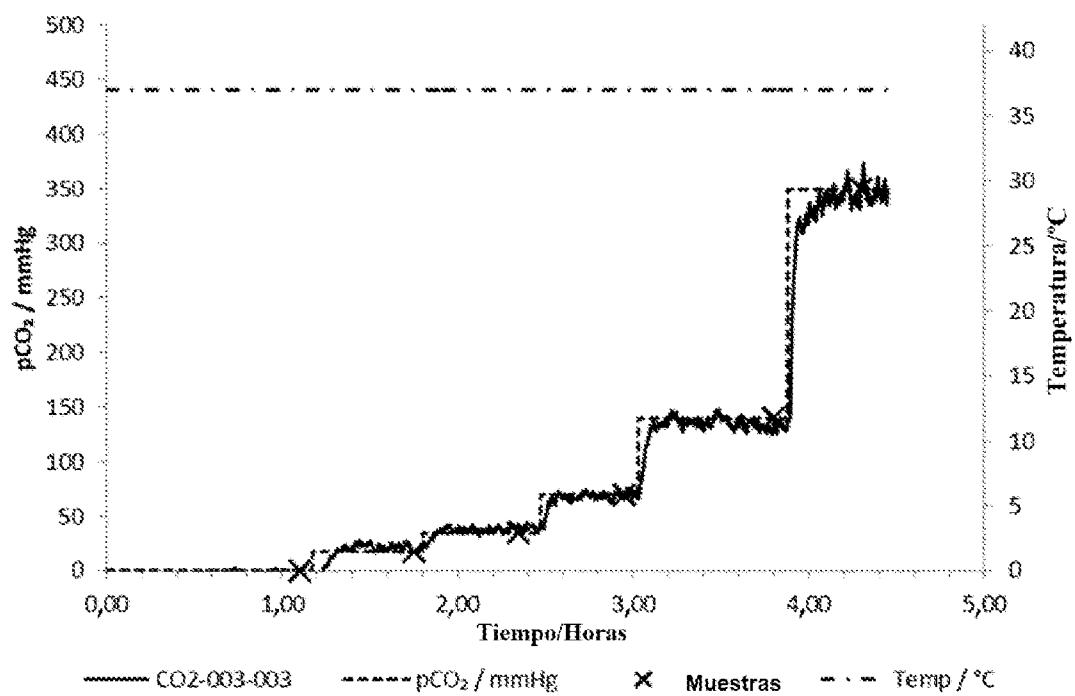


Figura 5