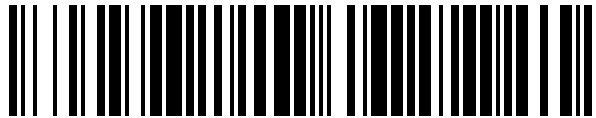


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 277 645**

21 Número de solicitud: 202130711

51 Int. Cl.:

C25B 11/02 (2011.01)

C25B 11/04 (2011.01)

G01N 27/26 (2006.01)

G01N 27/28 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

08.04.2021

43 Fecha de publicación de la solicitud:

14.09.2021

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA (100.0%)

OTRI. Calle Pedro Zerolo S/N

38200 La Laguna (Santa Cruz de Tenerife) ES

72 Inventor/es:

BORGES JURADO, Ricardo y

DE LA IGLESIA PAZÓ, Ana

54 Título: **CELDA ELECTROQUÍMICA PARA LA DETECCIÓN EN LÍNEA DE AMINAS BIÓGENAS**

ES 1 277 645 U

DESCRIPCIÓN**CELDA ELECTROQUÍMICA PARA LA DETECCIÓN EN LÍNEA DE AMINAS BIÓGENAS**

5

SECTOR DE LA TÉCNICA

Neurociencias, Farmacología, Fisiología, Bioquímica
Sistemas de medida.

10 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Diversas aminas biógenas (adrenalina, noradrenalina, dopamina, serotonina o histamina) poseen la propiedad de ser electroquímicamente activas; es decir, que ante un potencial eléctrico se oxidan o se reducen y que de esa reacción se generan o consumen electrones generando una corriente eléctrica. La magnitud de esa corriente generada es proporcional a la concentración de aminas. Esta propiedad es utilizada en detectores para cromatografía líquida, en amperometría y voltametría. Igualmente, se emplean en células aisladas y en registros en línea de la secreción (principalmente de catecolaminas: adrenalina, noradrenalina y dopamina) de células cromafines o similares. Sin embargo, los detectores electroquímicos comerciales disponibles provienen de la cromatografía líquida de alta presión, también llamada de alta eficacia (HPLC) que por su tamaño y diseño no son los idóneos para la detección en línea de la secreción. El diseño de los detectores comerciales no permite colocar varios en paralelo. Tampoco los detectores convencionales han sido diseñados para la colección de muestras.

25

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

La presente invención divulga una celda electroquímica compuesta por tres electrodos caracterizada por la presencia de un electrodo de trabajo de morfología cilíndrica. El electrodo principal es el de trabajo, habitualmente una superficie plana y pulida de carbón vítreo sobre la cual se aplica el potencial y donde tienen lugar los procesos de óxido-reducción de las moléculas a detectar, ello obliga a diseñar celdas de moderado tamaño para acomodar este electrodo. La principal novedad de la invención propuesta consiste en transformar esta superficie en un cilindro hueco del mismo material por cuyo interior circula el líquido con las catecolaminas a medir.

35 El segundo electrodo es el de referencia. Es frente a este donde se sitúa el potencial de oxidación/reducción del electrodo de trabajo. Para evitar corrientes parásitas debidas a oxidaciones/reducciones sobre la superficie del electrodo de referencia, este suele

construirse de plata clorurada y se sitúa en un ambiente salino estable (NaCl 3M) separado de la solución a medir.

El tercer electrodo es el auxiliar. Este electrodo es el que inyecta corriente al sistema para que el potencial "redox" se mantenga estable. El uso de electrodos auxiliares es muy importante cuando la superficie del electrodo de trabajo en contacto con el fluido es grande, cual es nuestro caso.

Entre las ventajas destaca una la mayor eficiencia de detección. La celda objeto de la invención descrita tiene una eficiencia de detección un 25% superior a las comerciales similares testadas, en este caso la de BioAnalytical Sciences (LC4-B).

Otra ventaja es el bajo coste de fabricación de cada célula electroquímica en comparación a las comerciales los convencionales. Puede rondar unos 5 €/celda si se emplean electrodos de referencia fabricados por el usuario.

Además, presenta un menor volumen muerto por las piezas empleadas. El volumen de espacio muerto para la detección depende sobre todo del diámetro y longitud de los sistemas de conducción. En nuestras condiciones desde las cámaras con células cromafines hasta el electrodo de trabajo es de unos 300 µL. El volumen total de la celda (que no afecta a la detección electroquímica pero sí a la colección de muestras posterior es de 560 µL.

Por último, el diseño de este tipo de celdas permite su adaptación a un colector de fracciones. Mediante impresión 3D se pueden construir soportes para alojar a 4 celdas electroquímicas como la descrita con una separación entre los tubos de salida de ellas de 16 mm a fin de acomodarlos a la distancia entre los tubos de ensayo sitios en una gradilla estándar para la colección de muestras.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos y gráficas en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

Figura 1. Elementos que conforman la celda. Se muestran los distintos elementos que conforman la celda electroquímica. Cilindro de metacrilato (1), electrodo de trabajo (2), electrodo de referencia (3), electrodo auxiliar (4), conector del electrodo de trabajo (5),

arandelas (6), conectores tipo Rainin (7) y tubos de cabeza expandida (8), taladro superior (9), taladro inferior (10), taladro intermedio (11), taladro lateral roscado para el conector del electrodo de trabajo (12), taladro lateral roscado para el conector del electrodo de referencia (13), taladro lateral para el electrodo auxiliar (14).

5

Figura 2. Ensamblaje de la celda. Se muestran los distintos elementos montados en la celda electroquímica. Electrodo de trabajo (2), electrodo de referencia (3), electrodo auxiliar (4), conector del electrodo de trabajo (5), arandelas (6), conectores tipo Rainin (7), orificio de entrada del fluido (20), orificio de salida (21). Conector eléctrico del electrodo de trabajo (15), conector eléctrico del electrodo de referencia (16) y del electrodo auxiliar (17) que se integran en el cable apantallado de conexión al potencióstato (18). En la parte superior de la figura se muestra en detalle el sistema de muelle (19) que incorpora el conector del electrodo de trabajo para realizar el contacto con la superficie de carbón vítreo.

15

Figura 3. Registro amperométrico de pulsos de adrenalina 10 μM aplicados durante 5 segundos.

REALIZACIÓN PREFERENTE

En la realización preferente de la invención la celda está fabricada sobre un cilindro de metacrilato (1) sobre el que se alojan los tres electrodos (2,3, 4). El bloque cilíndrico de metacrilato tiene un diámetro de 20 mm y una longitud de 40 mm. Al bloque se le practican en ambos extremos dos taladros roscados (9,10) (6 mm \varnothing , y un paso de rosca de 1 mm). Un tercer taladro (11) de 1,5 mm de diámetro conecta ambos extremos. Tres taladros laterales se practican en la celda para conectar los tres electrodos con el fluido (12, 13 y 14).

25

El primer taladro lateral (12), de 6 mm de diámetro y un paso de rosca de 1 mm, se realiza para la conexión eléctrica del electrodo de trabajo (2). La dimensión de los electrodos convencionales (comerciales) planos es habitualmente de 3 mm de diámetro, o lo que es lo mismo una superficie expuesta de $\approx 7 \text{ mm}^2$. La principal novedad de la invención consiste en transformar esta superficie plana en un cilindro hueco del mismo material por cuyo interior circula el fluido a medir, en este caso catecolaminas. El electrodo de trabajo, por tanto, está construido con un bloque de carbón vítreo hueco de morfología cilíndrica. El cilindro mide 5 mm de largo y un diámetro interno de 1 mm, o lo que es lo mismo $17,7 \text{ mm}^2$. El bloque de carbón vítreo fue encargado a la empresa (Cat. No. RE-3VT; C3 Prozess- und Analysentechnik GmbH, Haar, Alemania).

35

Dado que por su naturaleza el carbón vítreo no se puede soldar ni taladrar se ha desarrollado un sistema de conexión basado en el contacto por presión (19) y que se describe con detalle en la figura 2. Un muelle mantiene la presión de un terminal de cobre (2 mm de diámetro, 10 mm de largo). El muelle conecta el terminal con el conector eléctrico.

El segundo taladro lateral (13) aloja al electrodo de referencia (3). Tiene un diámetro de 6 mm y su paso de rosca hembra es de 28 G (rosca tipo Whitworth) aunque puede realizarse con cualquier paso de rosca compatible con el electrodo de referencia a emplear. El electrodo de referencia puede ser comercial, aunque en este caso se han diseñado y construido electrodos propios electrodos.

El tercer taladro lateral (14) de 1,5 mm de diámetro alojará al electrodo auxiliar (4). El electrodo auxiliar es un alambre de acero inoxidable tipo 314 de 1 mm de diámetro y una superficie expuesta de 1,5 mm².

El ensamblado de los distintos componentes se muestra en la Figura 2. El cilindro de carbón vítreo se inserta en el bloque de metacrilato situando sendas arandelas de goma (6) para sellar ambos extremos e impedir que parte del fluido escape por los lados del cilindro y obligar a que todo él pase por el interior de este. Este cilindro puede extraerse para su limpieza en los casos en los que se pierda respuesta utilizando isopropanol (alcohol isopropílico).

El electrodo de referencia (3) se rosca en un taladro (13) practicado al efecto. Dado que la punta de este electrodo requiere mantenerse siempre húmeda, debe almacenarse inmerso en ambiente salino similar al interno (NaCl 3 M). Este electrodo comercial viene con un conector macho de 6 mm de diámetro y una rosca con paso 28 G, (Whitworth). El electrodo auxiliar (4) se sella mediante una resina epóxida ya que no se precisa ser extraído (Figuras 1 y 2). Esté se unirá a un conector hembra metálico (1,5 mm de diámetro) (Harting, Ref 091150006271) u otro similar situado dentro de un aislante de plástico.

La conexión del detector al fluido se realiza por medio de dos conectores planos macho tipo Rainin® (7) mediante dos tubos de cabeza expandida (8) de polietileno abiertos por calor mediante una herramienta de dilatación. Este tipo de conexión garantiza un bajo volumen muerto y que todo el fluido se conduzca hacia el extremo terminal del electrodo de trabajo sin pérdidas.

La conexión de la celda al potencióstato se realiza por medio de un cable apantallado a tierra (de 3 hilos de 0,5 mm + apantallado de 1,5 m de largo), figura 2, señalado como (18). Cualquier potencióstato comercial de los utilizados como detectores electroquímicos de HPLC debe ser capaz de registrar las corrientes de oxidación para un amplio rango de concentraciones de aminos. En el caso de la invención se ha utilizado un potencióstato de fabricación propia.

El cableado se explica en la figura 2. Para evitar confusiones, los tres electrodos utilizan conectores machos/hembra distintos (15, 16, 17).

En la figura 3 se muestran los trazos correspondientes a la respuesta de la celda electroquímica a la administración de adrenalina en pulsos repetidos de 10 μ M durante 5 segundos. Puede apreciarse la reproducibilidad y sensibilidad.

REIVINDICACIONES

1. Celda electroquímica para la detección en línea de aminas biógenas de tres
electrodos caracterizada por un electrodo de trabajo morfología cilíndrica y hueco a
5 través del cual pasan los fluidos a analizar.

2. Celda electroquímica para la detección en línea de aminas biógenas según
reivindicación 1 apta para ser colocada y conectada en paralelo a otras celdas para la
realización de registros simultáneos de compuestos químicamente activos.

10

Figura 1

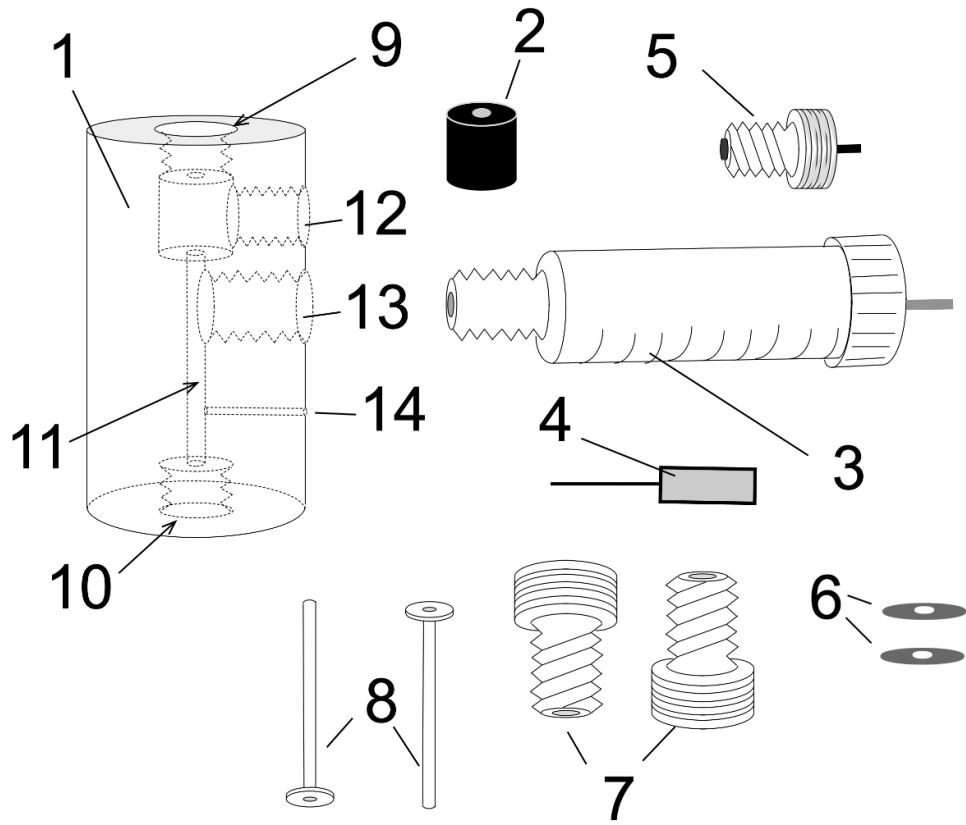


Figura 2

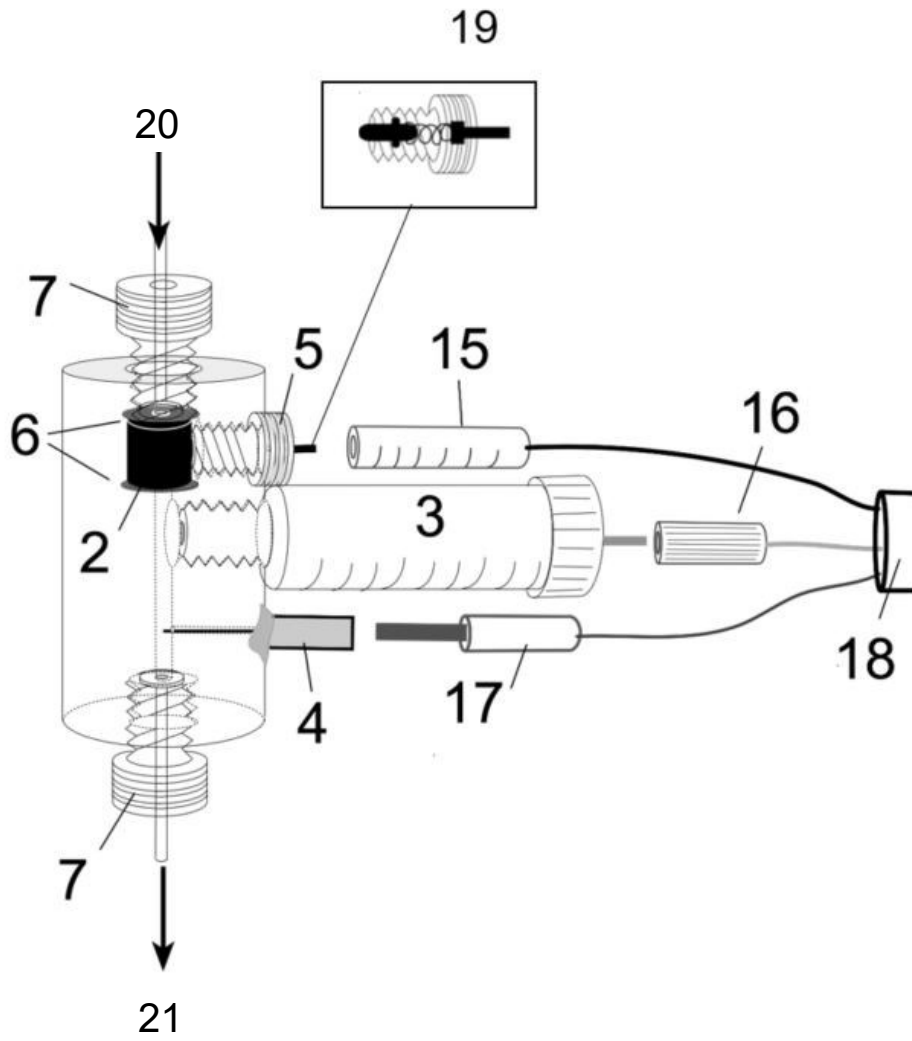


Figura 3

