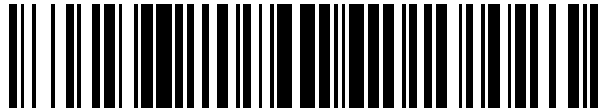


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 581 779**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/327** (2006.01)

**G01N 27/49** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.02.2003 E 03739729 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.04.2016 EP 1474678**

54 Título: **Método para ensayo de propiedades electroquímicas**

30 Prioridad:

**10.02.2002 US 355866 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**07.09.2016**

73 Titular/es:

**AGAMATRIX, INC (33.3%)**

**10 Manor Parkway**

**Salem, NH 03079, US;**

**IYENGAR, SRIDHAR G. (33.3%) y**

**HARDING, IAN S. (33.3%)**

72 Inventor/es:

**IYENGAR, SRIDHAR, G. y**

**HARDING, IAN, S.**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 581 779 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**

Método para ensayo de propiedades electroquímicas

## 5 Antecedentes de la invención

10 El uso de medios electroquímicos de detección se ha elegido con frecuencia por su simplicidad, tanto en términos de fabricación de aparatos como en términos de facilidad de uso. El modo principal de selectividad de la electroquímica (tanto para el modo amperométrico como para el potenciométrico) es el potencial de oxidación - reducción (que también se denomina "redox") del analito (el cual es la especie química de interés electroquímico). Por ejemplo, usando la técnica de amperometría (en donde el potencial se aplica al electrodo, y se mide la corriente resultante), se logra la selectividad hacia el analito basándose en el potencial de redox del analito.

15 La señal que se genera en el electrodo puede depender de muchos factores y propiedades del sistema electroquímico. Los ejemplos de propiedades de la muestra que afectan al transporte del analito incluyen la viscosidad, la temperatura, la densidad y la fuerza iónica. Las variaciones que afectan al transporte del analito pueden afectar de forma subsiguiente a la señal electroquímica medida. Los ejemplos de tales mecanismos de transporte incluyen la difusión, la migración y la convección.

20 En otro ejemplo, las propiedades del propio electrodo pueden afectar al transporte de los analitos y/o a la cinética de cualesquiera reacciones que puedan generar las señales electroquímicas medidas. Los ejemplos de tales propiedades incluyen el área efectiva de electrodo, la geometría de los electrodos, la geometría de la cámara de muestras, el grado de suciedad de electrodo, las membranas de barrera de difusión en el electrodo y las propiedades catalíticas del material de electrodo.

25 Los sensores electroquímicos se encuentran comúnmente en un número de aplicaciones de detección, desde biosensores médicos hasta sensores ambientales y de gas. Comúnmente existen dos modos de medida electroquímica, amperométrica y potenciométrica. Los sensores amperométricos operan mediante el principio de la aplicación de un potencial de voltaje a un electrodo y la medición de la corriente resultante. Los ejemplos de sensores amperométricos incluyen la mayor parte de biosensores de glucosa comerciales y muchos sensores de gas. Los sensores potenciométricos operan mediante el principio de aplicación de corriente a un electrodo y la medición del potencial resultante. Con frecuencia es el caso que la corriente aplicada se mantiene a cero amperios. El electrodo de pH es un ejemplo de un sensor potenciométrico.

35 La figura 1 muestra la acción de un sensor amperométrico en el cual se aplica un voltaje al electrodo 310, lo cual da lugar a que un analito (la sustancia que está siendo medida) en particular que se encuentra en la muestra se oxide (es decir, proporcionando electrones al electrodo). La oxidación da lugar a que se genere una corriente 315 la cual posteriormente puede ser detectada y analizada. El potencial al cual el analito se oxida, se denomina "potencial de oxidación" del analito.

40 Hablando en términos generales, se usa la expresión "potencial de redox" para indicar el potencial al cual un analito o bien se oxida o bien se reduce. En el sensor de la figura 1, el ferrocianuro ("FERRO") 300 transfiere electrones al electrodo, si el potencial es lo suficientemente alto para dar lugar a que ocurra la reacción electroquímica. Una vez que se transfieren los electrones, se oxida el ferrocianuro a ferricianuro ("FERRI") 305.

45 Por lo tanto, en la figura 1, se aplica un potencial lo suficientemente alto para oxidar el ferrocianuro, la forma reducida de la especie electroactiva, a la forma oxidada, ferricianuro, y la corriente resultante 315 detectada por el electrodo depende de la concentración de la especie reducida.

50 Tal como se describió anteriormente, la corriente procedente de los sensores amperométricos depende de un número de factores, además de la concentración de analito de interés. Los métodos amperométricos tradicionales dependen de la suposición de que únicamente la concentración de analito cambia de medición a medición; por lo tanto, cuando varían otros factores del sistema electroquímico, pueden ser incorrectas la señal medida y la estimada de la concentración de analito. Los sensores potenciométricos también adolecen de factores relacionados, incluyendo el transporte de analitos y la suciedad de electrodo. Las variaciones en estos factores podrían añadir incertidumbre y error a la señal medida. Por ejemplo, la figura 2 muestra la corriente de CC de dos sensores amperométricos en donde se cambia el área efectiva de electrodo. Los puntos de datos 455 se miden en una muestra que contiene 10 mM de ferrocianuro. Los puntos de datos 450 se miden en una muestra que contiene 20 mM de ferrocianuro. En ambos casos, a medida que varía el área de electrodo, también varía la señal de la corriente de CC medida. Además, para un área de electrodo determinada, al incrementar la concentración de analito de 10 mM a 20 mM se obtiene como resultado la medición de una señal de corriente incrementada. Esto ilustra la dependencia de la señal de corriente de CC medida con el área de electrodo y con la concentración de analito.

65 Diversos factores pueden contribuir para que un sensor tenga un área de electrodo variable. Una fuente pueden ser los errores durante la fabricación que pueden conducir a una variabilidad en el área de electrodo de sensor a sensor.

Otro factor puede ser el deterioro del electrodo durante el uso. Otro factor puede ser el contacto incompleto de la muestra con el electrodo del sensor, ejemplos de lo cual se ilustran en las figuras 8 y 9.

Las figuras 8a a 8c son diagramas esquemáticos de una tira de prueba electroquímica típica que forma las bases para muchos biosensores de glucosa comercialmente disponibles. En la figura 8a, existen dos electrodos 355, cada uno de los cuales está conectado a unos cables 350 que interactúan con la electrónica del medidor. Los electrodos 355 y los cables 350, pueden ser acoplados a un sustrato de soporte 375. En el presente ejemplo, la tira de prueba usa una configuración de dos electrodos comúnmente usada. En la figura 8a, la muestra 360 cubre completamente ambos electrodos, asegurando que toda el área de electrodo de cada electrodo esté en contacto con la muestra. En la figura 8c, la muestra 370 cubre un electrodo completamente, pero cubre parcialmente el otro electrodo. En la figura 8b, la muestra 365 cubre parcialmente ambos electrodos.

La figura 9 ilustra la cobertura parcial de los electrodos a través de una muestra para una geometría diferente de los electrodos. En el presente ejemplo, se fabrica una tira de prueba electroquímica con dos electrodos que se orientan uno hacia el otro en un diseño de placas paralelas. El electrodo 400 y el electrodo 405 están soportados por un material de sustrato sólido 420. La muestra 410 llena la cámara de muestra y cubre completamente ambas áreas de electrodo. No obstante, la muestra 415 cubre únicamente de forma parcial ambas áreas de electrodo y da como resultado un sistema de área de electrodo con efectividad reducida. Tal cobertura incompleta de la superficie de electrodo puede ser un resultado de un llenado parcial de la cámara de muestras. En un ejemplo, pacientes diabéticos que realizan mediciones de glucosa en sangre, usan con frecuencia tales tiras de prueba electroquímica para realizar mediciones de glucosa en sangre. En tales casos, si no entra suficiente sangre a la cámara de muestras, la cobertura incompleta del sistema de electrodos puede dar como resultado que se produzcan unas valoraciones de glucosa imprecisas. Por lo tanto, sería útil un método para evaluar el área de electrodo efectiva que fuera independiente de la concentración de analito.

Además, el volumen de muestra que entra en la tira de prueba puede ser estimado. Haciendo referencia a la figura 9, si se conocen las tres dimensiones de la cámara de muestras que contiene la muestra 415, entonces se puede estimar el volumen de la muestra 415 incrementando el volumen geométrico total de la cámara de muestras en la cantidad fraccionada de la cobertura de electrodos. En un ejemplo, el volumen total de la cámara de muestras es de 100 nl. Si se determina que la muestra 415 cubre el 75 % del electrodo 405, entonces una estimación del volumen de la muestra 415 podría ser  $(0,75) * 100 \text{ nl} = 75 \text{ nl}$ . La estimación del volumen de la muestra puede ser útil cuando se realizan mediciones que dependen del conocimiento del volumen de la muestra en la célula electroquímica. Un ejemplo de en dónde puede ser útil este conocimiento es en la coulombimetría.

La figura 4 ilustra el problema de la suciedad de electrodo con sensores electroquímicos. La suciedad de electrodo, también denominada suciedad de sensor, es una expresión que describe el material 320 que se adhiere, se adsorbe o recubre de otra forma la totalidad o parte del electrodo 310. En el presente ejemplo, el analito es ferrocianuro 300 el cual se ha de mover a través del material de ensuciamiento 320, y posteriormente reaccionar en el electrodo 320 en una reacción de oxidación que produce una corriente electrónica 315 en el electrodo 310. El producto de la reacción es ferricianuro 305, la cual posteriormente se mueve de regreso fuera del material de ensuciamiento 320. Un ejemplo de cuando puede ocurrir una suciedad en el electrodo es durante el uso prolongado del sensor en entornos que podrían dar lugar a suciedad, tal como la implantación de un biosensor en el cuerpo o el despliegue de sensores de gas en entornos que contienen sulfuro. En tales situaciones, así como en otras que pueden ser conocidas por los expertos en la materia, el material se puede depositar en el electrodo, dando lugar a la medición de una señal distorsionada. Con frecuencia, la intensidad de la, señal medida disminuye a medida que se incrementa la cantidad de suciedad de electrodo hasta que finalmente el sensor se vuelve insensible al analito objetivo. En otros casos, el material de ensuciamiento puede actuar como un catalizador para ciertas reacciones químicas y la respuesta del sensor se puede potenciar en la práctica. En cualquier caso, si la respuesta del sensor se altera debido a la suciedad, entonces la medida resultante es imprecisa.

En las curvas de calibración que se muestran en la figura 3, los puntos de datos 470 miden la corriente de CC de muestras con diferentes concentraciones de ferrocianuro con un electrodo que no está sucio. Los puntos de datos 480 miden la corriente de CC de muestras con diferentes concentraciones de ferrocianuro con un electrodo que es ensuciado por un recubrimiento de 3,33  $\mu\text{g}$  de acetato de celulosa. Los puntos de datos 490 miden la corriente de CC de muestras con diferentes concentraciones de ferrocianuro con un electrodo que es ensuciado por un recubrimiento de 10  $\mu\text{g}$  de acetato de celulosa. El presente ejemplo ilustra que la señal de corriente de CC medida en este sensor amperométrico depende tanto de la concentración de analito como del grado de suciedad de electrodo. Por lo tanto, una señal de CC baja puede ser el resultado o bien de una baja concentración de analito o bien de la suciedad incrementada en el electrodo. Por lo tanto, podría ser útil un medio para determinar el grado de suciedad en el electrodo el cual sea independiente de la concentración de analito. Un método de este tipo podría usarse entonces para ajustar la señal de corriente medida y corregir la distorsión de la señal originada por la suciedad de electrodo.

A pesar de que los dos ejemplos anteriores se ilustraron con sensores amperométricos, un experto en la materia reconocerá la aplicación a sensores potenciométricos. Los sensores potenciométricos también dependen de que el analito entre en las proximidades del electrodo.

Por lo tanto, cuando se usan medios de detección electroquímicos, los factores ambientales - incluyendo las propiedades de la muestra que contiene el analito - pueden influenciar en gran medida la señal que se mide. Tales factores pueden introducir imprecisiones en la medida, incluyendo pero sin limitarse a, cambio en la calibración y cambio en la sensibilidad. Por lo tanto, un método y aparato para detectar propiedades del entorno que puedan afectar a la señal medida, incluyendo la constante dieléctrica de la muestra o el electrodo, el área efectiva de electrodo y la fuerza iónica de la muestra, sería beneficioso para los sistemas de sensores electroquímicos y puede prever que se hagan correcciones a la concentración de analito estimada, calculada a partir de la señal medida, basándose en la información con respecto a los factores ambientales.

El documento US 5.423.963 describe un método de detección de suciedad de membrana por medio de un electrodo de prueba (independiente) y una medición de corriente en un instante en el que la corriente no ha alcanzado aún un nivel de estado estacionario.

#### Sumario de la invención

La presente invención proporciona un método de acuerdo con la reivindicación 1 de determinación de un área efectiva de electrodo y/o un grado de suciedad de electrodo en un sistema electroquímico que contiene una muestra, y también un método de estimación de una concentración de analito en una muestra de acuerdo con la reivindicación 13.

#### Breve descripción de los dibujos

Los dibujos adjuntos, los cuales se incorporan en y constituyen una parte de la presente memoria descriptiva, ilustran diversas realizaciones de la presente invención y, junto con la descripción, sirven para explicar los principios de la invención.

La figura 1 es un sensor amperométrico para medir ferrocianuro;

la figura 2 es una gráfica que muestra el incremento en la corriente de CC debido al incremento en el área de electrodo de dos muestras con diferente concentración de ferrocianuro;

la figura 3 son unas curvas de calibración que muestran el incremento en la corriente de CC debido a la concentración creciente de ferrocianuro usando tres electrodos con diferentes grados de suciedad;

la figura 4 es un sensor amperométrico para medir ferrocianuro en donde el electrodo está sucio;

la figura 5 es un diagrama de flujo que ilustra un método para procesar señales electroquímicas de acuerdo con una realización ilustrativa;

la figura 6 es un diagrama de flujo que ilustra un método para procesar señales electroquímicas de acuerdo con otra realización ilustrativa;

la figura 7 es un sistema para procesar señales electroquímicas de acuerdo con otra realización ilustrativa;

la figura 8 muestra tres ejemplos de cómo una muestra puede hacer contacto con unos electrodos para una organización geométrica de electrodos en particular;

la figura 9 muestra dos ejemplos de cómo una muestra puede hacer contacto con unos electrodos de otra organización geométrica de electrodos en particular;

la figura 10 muestra curvas de calibración de ferrocianuro obtenidas con unos electrodos de dos áreas efectivas diferentes;

la figura 11 muestra una forma de onda aplicada a un sistema de electrodos de acuerdo con un ejemplo realizado usando los métodos de la figura 5 y la figura 6;

la figura 12 muestra cómo un vector en el plano complejo se puede descomponer en una parte real y una parte imaginaria;

la figura 13 es una gráfica que muestra el aumento de la componente imaginaria de la corriente de CA con el área de electrodo creciente a partir de unas mediciones realizadas de dos muestras que contienen diferentes concentraciones de ferrocianuro;

la figura 14 es una gráfica que muestra la dependencia de la corriente de CC con el grado de suciedad de electrodo de tres muestras que contienen diferentes cantidades de ferrocianuro;

la figura 15 muestra cómo la relación entre la pendiente y la ordenada en el origen de una curva de calibración, que relaciona la concentración de ferrocianuro con la corriente de CC, depende del grado de suciedad de electrodo;

la figura 16 es una gráfica que muestra la amplitud de la corriente de CA de diferentes concentraciones de ferrocianuro, tal como se mide con tres electrodos con diferentes grados de suciedad;

la figura 17 muestra el valor de la corriente de CA para mediciones realizadas con unos electrodos con diferentes grados de suciedad;

la figura 18 es un medidor de glucosa de acuerdo con una realización ilustrativa;

la figura 19 es una ilustración de un depósito de combustible que contiene unas capas espacialmente separadas de gasolina y agua.

## Descripción detallada de la invención

A continuación se hará referencia con detalle a diversas realizaciones ilustrativas de la presente invención, ejemplos de las cuales se muestran en los dibujos adjuntos. Siempre que sea posible, los mismos números de referencia serán usados por la totalidad de los dibujos para referirse a las mismas partes o a partes semejantes.

En el presente documento se proporcionan sistemas y métodos para mejorar la precisión y la productividad de los sensores por medio de técnicas de procesamiento de señales digitales. En particular, de acuerdo con ciertas realizaciones ilustrativas, en el presente documento se proporcionan unos métodos para supervisar los efectos ambientales que pueden afectar a la señal de sensor medida, por ejemplo, el área efectiva de electrodo y/o el grado de suciedad, para corregir errores de medición. De esta forma, un cambio en la señal medida que es debido a un factor ambiental se puede reducir de forma substancial para medir de forma más precisa la concentración de un analito objetivo, tal como ferrocianuro.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "transductor" se refiere a una sustancia o aparato que convierte energía de una forma en energía de otra forma. Los ejemplos de transductores incluyen, pero no se limitan a, electrodos, diodos de emisión de luz, fotodiodos, material piezoeléctrico y micrófonos.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "propiedades capacitivas" se refiere a cualesquiera y a todas las propiedades de un sistema que puedan contribuir y/o afectar a la capacidad del sistema, e incluye, pero no se limita a, el área de electrodo, la constante dieléctrica, la permitividad, las características de capa doble, la fuerza iónica de una muestra y la capacidad.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "pieza bruta" se refiere a una muestra que está compuesta por un electrolito de soporte.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "soporte" se puede usar de manera intercambiable con la expresión "pieza bruta" y se refiere a la señal que es generada por una muestra de pieza bruta.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "CDAS" se refiere al espectro de admitancia dominada capacitiva (*Capacitive Dominated Admittance Spectra*) e indica el rango de frecuencia en el cual los valores de admitancia del sistema electroquímico son dominados por las componentes capacitivas del sistema electroquímico; esto puede ser generalmente hacia el rango de frecuencia mayor pero puede estar en otros rangos dependiendo de las características del sistema electroquímico en particular en consideración.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "ESS" se refiere a una fuente de señal electroquímica (*Electrochemical Signal Source*), la cual es una entidad en una muestra que puede dar origen a una señal electroquímica. La expresión "ESSs" se usa para referirse al plural de ESS. Una ESS común es una especie química electroactiva, pero la presente invención no se limita al ensayo de señales que proceden únicamente de dichas fuentes e incluye especies químicas no electroactivas, electrolitos de soporte, capacidad de capa doble, fuentes no químicas y fuentes que no están en la muestra, tales como interferencia electromagnética, a la que se hace referencia comúnmente como interferencia de RF.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "ESSI" se refiere a una ESS cuya medición es de interés, que incluye pero no se limita a, especies químicas, o a la composición de soporte de una muestra que puede dar origen a la señal de soporte o de pieza bruta, o a la capacidad que puede ser medida por la interfase transductor - muestra.

La expresión "variación" tal como se usa en el presente documento, se refiere al valor absoluto de la diferencia entre el valor máximo y el valor mínimo de una forma de onda durante el curso de su aplicación.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "TSI" se refiere a la interfase transductor - muestra (*Transducer - Sample Interface*) que está compuesta por la interfase entre el transductor y la muestra que puede contener un conjunto de ESSs.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "FFT" se refiere a la Transformada Rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform*).

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "FT" se refiere a la Transformada de Fourier (*Fourier Transform*).

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "DFT" se refiere a la Transformada Discreta de Fourier (*Discrete Fourier Transform*).

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "WT" se refiere a la Transformada de Ondícula (*Wavelet Transform*).

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "DTFT" se refiere a la Transformada de Fourier Discreta de Tiempo (*Discrete Time Fourier Transform*).

5 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "ADC" se refiere a un convertidor de analógico a digital (*Analog-to-Digital Converter*).

10 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "cantidades obtenidas" se refiere a cantidades que pueden ser computadas con referencia a los datos medidos procedentes del sistema electroquímico y a fuentes externas de datos y/o de información.

15 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "faradaico" se refiere a reacciones electroquímicas en las cuales se transfiere carga electrónica a través de la TSI. Estas reacciones se refieren a una oxidación o reducción de un analito.

20 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "área efectiva de electrodo" se refiere al área de electrodo que se encuentra en contacto electrolítico con la muestra. El área efectiva de electrodo se puede variar al alterar la geometría del electrodo o mediante un contacto parcial del electrodo con la muestra.

25 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "grado de suciedad de electrodo" se refiere a la cantidad, la geometría, la densidad y/o la composición de material que puede adsorberse o recubrir de otra forma la totalidad o parte de un electrodo o sensor.

30 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "factores ambientales" se refiere a propiedades y/o factores diferentes de la concentración de analito, que afectan a la señal electroquímica medida. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, el área de electrodo, el grado de suciedad de electrodo, el dieléctrico de la muestra, la temperatura y la concentración iónica de la muestra.

35 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "contacto electrolítico" se refiere a tener un sistema electroquímico compuesto por al menos un electrodo desplegado en una forma tal que recopila la información electroquímica de una muestra. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, un electrodo en contacto físico con una muestra; un electrodo separado de una muestra mediante una membrana, una película u otro material; y un electrodo separado de una muestra mediante un medio acuoso. Los ejemplos de información electroquímica incluyen la corriente faradaica, la corriente no faradaica y el potencial químico.

40 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "sistema electroquímico" se refiere a un sistema compuesto por al menos un electrodo que se usa para recopilar datos electroquímicos. Los ejemplos de sistemas electroquímicos incluyen configuraciones de dos electrodos; configuraciones de tres electrodos; y disposiciones de electrodos.

45 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "conjunto de electrodos" se refiere a un sistema electroquímico compuesto por al menos un electrodo.

50 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "análisis de espectro" se refiere a un método para analizar el contenido espectral de una señal o parte de una señal. Los ejemplos de métodos usados para el análisis de espectro incluyen FT, FFT, DFT, DTFT, y WT.

55 Las figuras 5 a 7 muestran una realización ilustrativa de un método y sistema para determinar la variación de señal debido a factores ambientales que alteran una señal electroquímica, en respuesta a una forma de onda de voltaje aplicada. Por ejemplo, las variaciones en señal originadas por factores ambientales pueden ser cuantificadas y corregidas, si es necesario, alterando la estimación de la concentración de analito medida aparente. Las figuras 5 y 6 ilustran realizaciones del método en forma de diagrama de flujo.

60 La figura 7 muestra un ejemplo más detallado de un sistema para llevar a cabo los métodos de las figuras 5 y 6, pero se ha de entender que los métodos de las figuras 5 y 6 pueden ser implementados a través de cualquier número de diferentes sistemas y aparatos. Por ejemplo, el sistema de la figura 7 se podría implementar, a su vez, en forma de aparato de prueba portátil, tal como para probar concentraciones de glucosa en la sangre.

65 La figura 7 ilustra un método a modo de ejemplo para identificar y cuantificar las propiedades capacitivas de la TSI de acuerdo con una realización de la presente invención. Todas las flechas representan un conjunto de canales de comunicación, a menos que se marque de otro modo, y pueden incluir pero no se limitan a, transmisión eléctrica a través de conductores físicos, transmisión inalámbrica y múltiples canales de comunicación. Las etapas que se encuentran a continuación esbozan un aparato a modo de ejemplo y un proceso a modo de ejemplo que ilustra la invención.

1. Un conjunto de transductores 6 adecuados se despliega en una forma que es adecuada para unas detectar ESSs 4 en la muestra 2. En el presente ejemplo, los transductores 6 son electrodos que se colocan en contacto

electrolítico en la interfase transductor - muestra 38 con una muestra 2 que contiene múltiples ESSs 4, marcadas como ESS 1, ESS 2 y ESS n, en donde n significa un número que representa una ESS que es única con respecto a las otras ESSs en la muestra 2. Otros ejemplos de transductores pueden incluir electrodos con membranas, electrodos químicamente modificados u otros elementos que se puedan usar como transductores electroquímicos.

2. Se aplica una señal de control 34 al transductor 6 procedente de un aparato de control de transductor 12, la cual puede ser procesada mediante un proceso de filtración opcional 10, tal como un circuito o un aparato de cómputo que ejecuta el proceso de filtración. El proceso de filtración 10 puede ser parte del aparato de control de transductor 12. Un beneficio de un filtro sería eliminar el ruido no deseado de la señal aplicada. En la presente realización, la señal de control 34 es una forma de onda de potencial de voltaje que se aplica mediante un aparato de control de transductor 12 en forma de circuito de potencióstato. Un potencióstato es un circuito que se usa comúnmente para controlar y registrar datos electroquímicos y se explica con mayor detalle en la publicación "*Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*", primera edición, Oxford University Press, 1993 de C. M. A. Brett y A. M. O. Brett.

3. La señal de dominio del tiempo 36 (es decir, la señal de corriente que se genera como una función de tiempo) procedente de los transductores 6 con el aparato de control de transductor 12 es medida y, si se desea, almacenada. Un proceso de filtración opcional 8 puede ser parte de este proceso, y además puede ser parte del aparato de control de transductor 12. El proceso de filtración puede ser análogo al elemento de figura 10 y podría proporcionar el beneficio útil de eliminar el ruido de señal no deseado.

4. La señal se filtra de forma opcional usando un proceso de filtración 14. Un ejemplo de un filtro de este tipo incluye un filtro anti-distorsión por repliegue del espectro, que se usa junto con el proceso para convertir señales analógicas en señales digitales. Otros ejemplos de filtros obvios para un experto en la materia, incluyen los filtros de paso alto, los filtros de paso bajo, los filtros de paso de banda y los filtros de supresión de banda.

5. La señal se convierte de analógica a digital para permitir el procesamiento de la señal mediante un aparato de cómputo 18 usando un ADC 16. El presente ejemplo ilustra el uso de un aparato de cómputo digital para llevar a cabo parte del método de la invención; no obstante, se usa un aparato de cómputo digital como un ejemplo y no limita la presente invención. Los ejemplos del aparato de cómputo 18 incluyen circuitos analógicos, circuitos digitales, microprocesadores y microcontroladores. Los ejemplos de microcontroladores usados normalmente incluyen H8/3887 de Hitachi, 3185265-F de Texas Instruments, SC84036CV de Sierra, S5640 ASIC de Amtel, FTA-R2 ACIC de NEC, H8/3847 de Hitachi, MN101C097KB1 de Panasonic, ASIC (construido entorno a Intel 8051), etcétera.

6. La señal se filtra usando un proceso de filtración 20. Dicho filtro puede ser usado para volver a conformar y/o transformar la señal a una forma de onda más óptima que está mejor adaptada para los otros procesos de cómputo en el aparato de cómputo 18. Un ejemplo de dicho filtro puede ser un filtro de paso de banda que sólo selecciona un rango de frecuencias en particular y suprime otras frecuencias de la señal medida. Dicho filtro podría ser útil si la señal de corriente fuera generada mediante un proceso electroquímico no lineal, que da como resultado componentes de frecuencia superior además de la frecuencia fundamental que se usó como el estímulo de voltaje.

7. El contenido espectral de la señal está caracterizado en términos tanto de magnitud como de ángulo de fase de cada componente de frecuencia de interés, usando un proceso de análisis de espectro 22; un proceso comúnmente usado es FT e incluye procesos relacionados tales como FFT, DFT, WT, DTFT. Un experto en la materia reconocerá la posibilidad de usar otros procesos de análisis de espectro según sea adecuado para el sistema en consideración.

8. La contribución de la señal de las ESSs que da origen a las capacidades capacitivas del sistema en la señal medida, se determina usando un proceso de cuantificación de propiedad capacitiva 24. Por ejemplo, una realización de dicho proceso 24 es:

a. Computar el espectro de señal de frecuencia superior y cuantificar las características relevantes de esta parte del espectro, debido a que se espera que la parte de frecuencia superior del espectro contenga más información con respecto a las propiedades capacitivas de la señal. En un ejemplo, la magnitud y el ángulo de fase del espectro de frecuencias se usan como las características de la señal.

b. Computar los valores asociados con las propiedades capacitivas de la señal; dichas propiedades pueden incluir pero no se limitan a la impedancia, la reactancia, la resistencia y la capacidad, usando cualquier fuente de datos externos A 26 que pueda ser necesaria.

9. Computar otros valores que pueden ser obtenidos de los cálculos anteriores usando un proceso de cómputo de cantidad obtenida que puede hacer referencia a una fuente de datos externos B 30. La fuente de datos A 26 y la fuente de datos B pueden ser la misma fuente de datos. Estas representan medios para almacenar información y pueden ser estructuras de datos diferentes dentro de una sola unidad de memoria. Los ejemplos de información que puede contener la fuente de datos externa B 30, incluyen propiedades del transductor tales como el área de electrodo y curvas de respuesta de frecuencia para diferentes aplicaciones; propiedades de la muestra tales como la

fuerza iónica, la viscosidad, la densidad, los valores de capacidad de capa doble y la constante dieléctrica; propiedades de cualquier material en la muestra que pueda dar lugar a la suciedad de electrodo tales como las constantes dieléctricas y valores relacionados; propiedades tales como las constantes dieléctricas y el espesor o propiedades capacitivas de cualquier membrana o material similar que pueda cubrir el electrodo. Los ejemplos de cantidades obtenidas incluyen el cómputo de la concentración de analito mediante la comparación con los datos de calibración, el cómputo del área efectiva de electrodo, el cómputo del grado de suciedad de electrodo y el cómputo de las constantes dieléctricas y de permitividad del electrolito de soporte mediante la comparación con ecuaciones y otros datos que describen la composición del electrolito.

10. Se usan las cantidades obtenidas del proceso de cómputo de cantidad obtenida 28 en un proceso de corrección 40 que corrige las distorsiones o variaciones de la señal medida 36, originadas por variaciones ambientales y variaciones físicas que han sido identificadas y cuantificadas anteriormente. Un ejemplo del proceso de corrección es incrementar la concentración de analito estimada que se determinó mediante el proceso de cómputo de cantidad obtenida 28 por un valor que refleje el cambio en el área efectiva de electrodo o por un valor que refleje el grado de suciedad de electrodo, tal como se determina mediante el proceso de cuantificación de propiedad capacitiva 24.

11. La salida 32 es generada en una forma utilizable. Los ejemplos incluyen transmisión de valores de concentración de todas las ESSI en un formato electrónico o presentar visualmente la concentración estimada del analito en una pantalla LCD al usuario del sensor.

Las figuras 5 y 6 se refieren a los procesos que se implementan en el sistema de la figura 7. Haciendo referencia a la figura 5, la conformación de una forma de onda puede ser seleccionada (la etapa 100) y aplicada a un sistema de electrodos para medir muestras que contienen concentraciones conocidas de un analito de interés. En la primera realización a modo de ejemplo, se varía el área de electrodo de forma sistemática sin suciedad de electrodo a medida que se miden diferentes concentraciones de analito (las etapas 105, 110, 115, 120, 125) para recopilar datos de calibración. En la segunda realización a modo de ejemplo, se mantiene constante el área de electrodo, pero se varía el grado de suciedad de electrodo, a medida que se miden diferentes concentraciones de analito (las etapas 105, 110, 130, 135, 140) para recopilar datos de calibración.

En las presentes realizaciones a modo de ejemplo, se selecciona la forma de onda de estímulo (la etapa 100) de tal modo que se mida una componente de señal que depende de la concentración de analito deseado y una componente de señal que dependa de los factores ambientales. En el presente ejemplo, los dos factores ambientales que se ilustran son el área efectiva de electrodo y el grado de suciedad de electrodo. De acuerdo con una realización, se elige la forma de onda de estímulo de tal modo que las propiedades capacitivas del sistema electroquímico se puedan extraer (la etapa 110) y cuantificar. En otra realización, se elige la forma de onda de estímulo de tal modo que las componentes de la señal capacitiva sean mucho más sensibles a los factores ambientales (por ejemplo, área de electrodo y suciedad de electrodo) y mucho menos sensibles a la concentración de analito, permitiendo de este modo supervisar los efectos del área de electrodo y suciedad de electrodo que dependen de la concentración de analito. Esto permite la cuantificación solo de la variación ambiental sin depender de la concentración de analito.

De acuerdo con una realización que corrige las variaciones en el área efectiva de electrodo, se pueden recopilar los datos de calibración para realizar mediciones con unos electrodos de diferentes áreas efectivas conocidas con muestras que contienen diferentes concentraciones de analito conocidas (la etapa 115). Para mediciones realizadas con cada área de electrodo, se pueden construir curvas de calibración que relacionen la componente de la señal faradaica con la concentración de analito en la muestra (la etapa 120). Las curvas de calibración también pueden ser construidas para que relacionen la componente de la señal capacitiva con las variaciones en el área de electrodo cuando se miden muestras con diferentes concentraciones de analito (la etapa 120). En el sistema de la figura 7, se puede usar el proceso de filtro 20, el proceso de análisis de espectro 22 y el proceso de cuantificación capacitiva 24 para cuantificar la componente de señal capacitiva.

De acuerdo con una realización, se pueden construir ecuaciones para corregir la curva de calibración que estima la concentración de analito basándose en una componente de señal faradaica para los errores que puedan surgir de las variaciones en el área efectiva de electrodo del sensor usando los datos de calibración capacitiva que cuantifican el área efectiva de electrodo (la etapa 125).

Una vez que se han determinado las curvas de calibración y las ecuaciones de corrección en el sistema de la figura 7, esta información puede ser almacenada en la fuente de datos A 26 y/o en la fuente de datos B 30. Se pueden usar las ecuaciones de corrección en el proceso de corrección 40, para corregir una estimación errónea del analito que haya sido alterada por variaciones en el área efectiva de electrodo cuando se realiza una medición en una muestra con una concentración no conocida de analito y con un electrodo en donde no se conozca el área efectiva de electrodo.

Haciendo referencia a las figuras 6 y 7, se pueden poner los transductores 6 (ilustrados como electrodos) en contacto con la muestra 2 que contiene concentraciones no conocidas de analito, indicadas mediante ESS 4. Se puede aplicar la forma de onda de estímulo seleccionada (la etapa 105) a los electrodos mediante el potenciostato,



indicado como el aparato de control de transductor 12. La aplicación de esta forma de onda de estímulo se ilustra como la señal 34. La señal de respuesta 36 puede ser medida y analizada mediante el aparato de cómputo 18 para cuantificar las componentes de señal capacitiva y faradaica (la etapa 110). Las componentes de señal capacitiva, los cuales sólo han sido computados mediante el proceso de análisis de espectro 22 y el proceso de cuantificación de propiedad capacitiva 24, pueden ser comparados con los datos de calibración almacenados en la fuente de datos A 26 para determinar el área efectiva de electrodo (la etapa 200). La componente de señal faradaica puede ser comparado posteriormente con datos de calibración procedentes de la fuente de datos B 30, para estimar la concentración de analito en la muestra (la etapa 225).

Esta estimación del analito aún no es corregida en cuanto a los errores que puedan resultar de las variaciones en el área efectiva de electrodo. Las ecuaciones de corrección procedentes de la fuente de datos B 30, pueden ser usadas con las valoraciones iniciales del analito en un proceso de corrección 40 para ajustar la concentración de analito estimada para explicar los cambios en el área efectiva de electrodo (la etapa 205). Posteriormente la estimación del analito corregido se puede emitir 32 en una forma utilizable, tal como usando una pantalla LCD (la etapa 210).

De acuerdo con una realización que corrige las variaciones en el grado de suciedad de electrodo, los datos de calibración pueden ser recopilados realizando mediciones con unos electrodos de diferentes grados de suciedad conocidos con muestras que contienen concentraciones conocidas de diferentes analitos (la etapa 130). Para estas mediciones, se pueden construir curvas de calibración que relacionen la componente de señal faradaica con la concentración de analito en la muestra (la etapa 135). Las curvas de calibración también pueden ser construidas de tal modo que relacionen la componente de señal capacitiva con variaciones en el grado de suciedad de electrodo, cuando se midan muestras con diferentes concentraciones de analito (la etapa 135). En el sistema de la figura 7, el proceso de filtro 20, el proceso de análisis de espectro 22 y el proceso de cuantificación capacitiva 24 pueden ser usados para cuantificar la componente de señal capacitiva.

De acuerdo con una realización, se construyen ecuaciones para corregir la curva de calibración que valora la concentración de analito basándose en una componente: de señal faradaica con respecto a los errores que puedan surgir de variaciones en el grado de suciedad de electrodo usando los datos de calibración capacitiva que cuantifican el grado de suciedad de electrodo (la etapa 140).

Una vez que se han determinado las curvas de calibración y las ecuaciones de corrección, se puede almacenar esta información en el sistema de la figura 7, por ejemplo, en la fuente de datos A 26 y/o la fuente de datos B 30. Se pueden usar las ecuaciones de corrección en el proceso de corrección 40, por ejemplo, para corregir una estimada de analito errónea, tal como uno que haya sido alterado por variaciones en el grado de suciedad de electrodo cuando se realiza la medición en una muestra de concentración de analito no conocido y con un electrodo en donde no se conoce el grado de suciedad.

Haciendo referencia a las figuras 6 y 7, posteriormente el sistema de electrodos (ilustrado como los transductores 6) puede ser puesto en contacto con la muestra 2 que contiene una concentración no conocida de analito (ilustrado como ESS 4). Se puede aplicar la forma de onda de estímulo seleccionada (la etapa 105) a los electrodos mediante el potencióstato (ilustrado como el aparato de control de transductor 12). Esta forma de onda se ilustra como la señal 34. Se puede medir la señal de respuesta 36 y ser analizada por el aparato de cómputo 18 para cuantificar las componentes de señal capacitiva y faradaica (la etapa 110). Las componentes de señal capacitiva, los cuales sólo han sido computados mediante el proceso de análisis de espectro 22 y el proceso de cuantificación de propiedad capacitiva 24, se comparan con los datos de calibración almacenados en la fuente de datos A 26 para determinar el grado de suciedad de electrodo (la etapa 215). Se compara la componente de señal faradaica con los datos de calibración procedentes de la fuente de datos B 30, para estimar la concentración de analito en la muestra (la etapa 225). Esta estimación del analito aún no ha sido corregida con respecto a los errores que puedan resultar de las variaciones en el grado de suciedad de electrodo. Las ecuaciones de corrección procedentes de la fuente de datos B 30, se usan con los valoraciones de analito iniciales en un proceso de corrección 40, que ajusta la concentración estimada del analito para explicar los cambios en el grado de suciedad de electrodo (la etapa 220). La estimación corregida del analito se emite posteriormente 32 en una forma utilizable, siendo presentada visualmente por ejemplo al usuario en una pantalla LCD (la etapa 210).

En el presente ejemplo, la forma de onda de estímulo se usa en primer lugar para recopilar los datos de calibración de las muestras que contienen diferentes concentraciones de analito y con diferentes factores ambientales para formar ecuaciones de corrección. Esta misma forma de onda se aplica a la muestra que contiene concentraciones no conocidas del analito y factores ambientales no conocidos. En el presente ejemplo, se identifica el ferrocianuro como el analito deseado (u objetivo) y se identifica el área efectiva de electrodo y el grado de suciedad de electrodo como factores ambientales ilustrativos.

La forma de onda de estímulo puede ser un potencial de CC con una onda sinusoidal de CA de pequeña amplitud de frecuencia superior superpuesta. La expresión "onda sinusoidal de pequeña amplitud de alta frecuencia" tal como se usa en el presente documento, denota una forma de onda sinusoidal (normalmente por debajo de 50 mV de amplitud de pico a pico y normalmente por encima de 100 Hz) que generará una respuesta de señal de la muestra que puede

ser aproximada mediante una relación lineal con el potencial aplicado. Un formato de forma de onda a modo de ejemplo se muestra en la figura 11. Se aplica un potencial de CC al electrodo y un voltaje sinusoidal de CA 510 se superpone en este potencial de CC. La amplitud de este voltaje de CA 510, no necesita mantenerse por debajo de 50 mV y puede ser cualquier valor que dé origen a una señal utilizable. La frecuencia del potencial de CA 510, puede ser ajustada según sea necesario para generar las características capacitivas del sistema electroquímico, y se puede ajustar el rango según sea necesario para el sistema en consideración y no limitar el alcance de la presente invención de forma alguna. Posteriormente el voltaje de CA 510 puede ser escalonado a través de un rango de frecuencias, para sondear las características espectrales del sistema electroquímico a través de un rango espectral. Un experto en la materia podrá reconocer la posibilidad de usar otras formas de onda que puedan extraer propiedades capacitivas del sistema electroquímico incluyendo el uso de diferentes frecuencias de estímulos y diferentes conformaciones de formas de onda.

La aplicación de potenciales de CC y de CA puede dar como resultado la generación de una corriente de CC y de CA, en donde la corriente de CA puede estar compuesta por la misma frecuencia que el potencial de CA de estímulo. Si el sistema electroquímico es lineal, entonces la corriente de CA resultante contendrá únicamente la misma componente de frecuencia que el potencial de CA de estímulo. No obstante, si el sistema electroquímico no es completamente lineal, entonces puede haber otras componentes de frecuencia en la señal de corriente de CA.

A la frecuencia de estímulo, la representación de fase del voltaje y las señales de corriente puede ser determinada mediante:

$$\vec{V} = V_r + jV_i$$

$$\vec{I} = I_r + jI_i$$

donde  $\vec{V}$  e  $\vec{I}$  son vectores, denominados fasores, que representan la información de magnitud y ángulo de fase del voltaje de CA y las señales de corriente de CA, respectivamente, a una frecuencia de interés en particular. Los fasores representan esta información en forma de número complejo en donde los subíndices r e i representan las componentes reales e imaginarias, respectivamente. Además, la magnitud y ángulo de fase de los fasores puede ser determinada mediante:

$$\angle V = \arctan\left(\frac{V_i}{V_r}\right)$$

$$\angle I = \arctan\left(\frac{I_i}{I_r}\right)$$

$$|V| = \sqrt{(V_r)^2 + (V_i)^2}$$

$$|I| = \sqrt{(I_r)^2 + (I_i)^2}$$

La comprensión con el uso de fasores es que la información se refiere a una frecuencia de interés en particular. El análisis de fasores de las señales sinusoidales es un método bien conocido, tal como se explica en la publicación de B. P. Lathi, "*Linear Systems and Signals*", Berkeley-Cambridge Press, Carmichael, CA 1992. Un ejemplo del uso de las señales de onda sinusoidal de CA ilustra el uso de sondear el sistema electroquímico en un rango de frecuencias. De acuerdo con una realización, un método a modo de ejemplo del escalonamiento a través de un rango de frecuencias, puede incluir las siguientes etapas:

1. Empezar la oscilación del voltaje a una frecuencia en particular;
2. Registrar la señal de corriente resultante cuando se establecen las lecturas;
3. Cambiar la frecuencia de oscilación a un nuevo valor; y
4. Repetir las etapas del 2 al 4 según sea necesario, para cubrir el rango de interés.

Un ejemplo de escalonamiento a través de un rango de frecuencias, incluye empezar la oscilación a una frecuencia en particular y posteriormente incrementar de forma logarítmica la frecuencia. No obstante, un experto en la materia reconocerá la posibilidad de empezar a una frecuencia superior y disminuir la frecuencia a través del rango deseado o la posibilidad de escalar a través de las frecuencias en un modo lineal en lugar de en un modo logarítmico.

El proceso de análisis de espectro 22, puede computar la información de fasores necesaria para las señales de voltaje y corriente de acuerdo con una realización de la presente invención. En un ejemplo, se aplica cada frecuencia de estimulación a los transductores en las etapas, por lo que un método de análisis de espectro posible es computar la información de fasores de cada frecuencia de estímulo subsiguiente a la medición en dicha frecuencia. Otro ejemplo de un posible método es almacenar primero todos los datos de señal medida y aplicada y posteriormente llevar a cabo todo el cómputo en una etapa al final de las etapas de adquisición de datos. Otro ejemplo de un posible método es en el caso de un sistema electroquímico lineal, todas las frecuencias de interés pueden ser superpuestas de forma simultánea en la forma del estímulo de voltaje; posteriormente se puede esperar que la señal de corriente resultante contenga respuestas en todas las frecuencias de estimulación. Si fuera el caso de un sistema lineal, entonces la realización de un análisis FT en toda la señal una sola vez, podría revelar la información de fasores de cada frecuencia de interés de forma simultánea. Un experto en la materia reconocerá la posibilidad de ejecutar el proceso de análisis de espectro 22 en muchos diferentes modos. Por ejemplo, puede ser posible realizar el análisis de espectro midiendo la correlación entre la señal medida y un conjunto de ondas sinusoidales de referencia de diferentes frecuencias y en diferentes desplazamientos de fase.

La información de fasores de las señales CA de corriente y voltaje pueden ser usadas posteriormente por el proceso de cuantificación de propiedad capacitiva 24. Un método para cuantificar las propiedades capacitivas incluye, pero no se limita a, computar el valor de inmitancia del sistema electroquímico. La inmitancia puede ser computada en términos de impedancia, determinada mediante  $\vec{Z}$ , o la admitancia, determinada mediante  $\vec{Y}$ . En un ejemplo, se calcula la admitancia como se indica a continuación:

$$\vec{Y} = \frac{\vec{I}}{\vec{V}}$$

$$|\vec{Y}| = \frac{|\vec{I}|}{|\vec{V}|}$$

$$\angle \vec{Y} = \angle \vec{I} - \angle \vec{V}$$

$$\vec{Y} = \frac{1}{\vec{Z}}$$

donde todos los valores se toman como proporcionados a una frecuencia en particular.

Se pueden usar los valores de admitancia para el cómputo de propiedades capacitivas. Un condensador ideal tal como se considera tradicionalmente en un análisis de circuito electrónico, tendrá las siguientes propiedades de admitancia:

$$\vec{Y}(\omega) = j\omega C$$

$$|\vec{Y}(\omega)| = \omega C$$

$$\angle \vec{Y}(\omega) = 90^\circ$$

donde C es la capacidad, la cual describe la capacidad del sistema para almacenar la carga, es el número imaginario  $\sqrt{-1}$ , y  $\omega$  es la frecuencia del estímulo sinusoidal, determinado mediante  $\omega = 2\pi f$  en donde  $f$  es la frecuencia en hercios.

Un sistema electroquímico también puede ser una componente capacitiva a pesar de que las propiedades pueden no seguir las de un condensador electrónico ideal. Esta propiedad capacitiva puede surgir de diversas consideraciones, incluyendo pero sin limitarse a las siguientes:

1. poner un electrodo en una muestra que contenga especies cargadas que se aproximen a algunas de las propiedades eléctricas de un condensador electrónico ideal;
2. colocar un electrodo en una muestra que contenga ESSs la cual pueda tener momentos dipolares que se aproximen a algunas de las propiedades eléctricas de un condensador electrónico ideal; y
3. variar con el tiempo el potencial o corriente del electrodo para aproximarse a algunas de las propiedades

eléctricas de un condensador electrónico ideal, permitiendo que la carga se acumule en la superficie de electrodo y dando lugar de este modo a la acumulación con el tiempo de las cargas adecuadas cerca de la superficie de electrodo en la muestra.

5 Los orígenes de las propiedades capacitivas de la interfase electrodo - muestra 38, son bien conocidas, y se describen en la publicación "*Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*", primera edición, Oxford University Press, 1993 de C. M. A. Brett y A. M. O. Brett. En mediciones de frecuencia superior, la señal electroquímica total puede ser dominada por las componentes capacitivas, por consiguiente, en el presente ejemplo, es el espectro de alta frecuencia lo que se considera para probar las propiedades capacitivas del sistema electroquímico.

10 La presente invención comprende diversos métodos para computar la capacidad del sistema electroquímico. Un ejemplo, es obtener la señal de corriente que resulta de una forma de onda potencial sinusoidal de frecuencia superior. Los valores de admitancia revelan que las propiedades capacitivas pueden no ser ideales. Las desviaciones del comportamiento ideal del condensador, pueden materializarse en diversas formas incluyendo, pero sin limitarse a, que el ángulo de fase de admitancia no esté en 90° dentro del rango de frecuencias medidas. No obstante, el espectro de magnitud de admitancia aún puede ser lineal cuando se traza en los ejes logarítmico - logarítmico, tal como se realiza en una representación de Bode. Estos son ejemplos de cómo las propiedades capacitivas de un sistema electroquímico pueden ser manifestadas en un sistema real y por lo tanto se pretende que sean ejemplos de propósitos ilustrativos y no limiten el alcance de la presente invención.

15 En el análisis de las propiedades capacitivas de un sistema electroquímico, puede ser necesario considerar las desviaciones de la capacidad ideal. Un ejemplo de cómo las variaciones pueden ser atendidas, es considerar la componente de la admitancia que está a 90° para cada frecuencia de interés. La figura 12 ilustra este concepto. A una frecuencia en particular, el vector que representa la admitancia 50 no es el valor ideal del condensador de 90°. No obstante, la componente real del vector 54 y la componente imaginaria 52 pueden ser usadas para dividir el vector de admitancia 50 en dos vectores. Por consiguiente, al considerar el valor de la componente imaginaria 52 solo, se puede seleccionar la componente capacitiva de la admitancia total. Esto permite la extracción solo de la componente de señal de corriente que está desfasada 90° con la señal de voltaje, lo cual puede ser una medida de la naturaleza capacitiva del sistema electroquímico. En esta forma, se pueden minimizar en el análisis final las características no ideales del CDAS, las cuales pueden dar lugar a desviaciones del ángulo de fase ideal de 90°.

25 Otro ejemplo para analizar las propiedades capacitivas no ideales de un sistema electroquímico, es considerar el espectro de magnitud. En el presente ejemplo, el espectro de magnitud en el rango de frecuencia que es dominado por las señales capacitivas, se toma como lineal en una representación de Bode logarítmica - logarítmica. Por lo tanto, la naturaleza lineal de la representación de magnitud puede evidenciar la dominancia de las componentes capacitivas en el sistema electroquímico con respecto a las componentes no capacitivas. En algunas aplicaciones, la pendiente del espectro de magnitud se puede correlacionar con diferentes propiedades de la TSI y puede usarse para caracterizar el sistema.

35 Algunos factores a modo de ejemplo que pueden afectar a las propiedades capacitivas del sistema electroquímico, incluyen:

- 40 1. área efectiva de electrodo.
- 45 2. componentes que comprende la muestra, incluyendo pero sin limitarse a la cobertura iónica de la muestra, cobertura no iónica de la muestra, presencia de diversas ESSs.
3. viscosidad de la muestra.
4. densidad de la muestra.
5. grado de suciedad de electrodo.
- 50 6. membranas que pueden cubrir el electrodo.
7. el voltaje de CC aplicado.
8. el voltaje de CA aplicado.
9. transporte de masa en la muestra incluyendo, convección, difusión de las componentes de la muestra, migración de las componentes de la muestra, caudal de la muestra.
- 55 10. temperatura.
11. reacciones que pueden ocurrir en el electrodo.

La medida de la capacidad del sistema electroquímico puede usarse para sondear las características del sistema electroquímico. Un ejemplo de cómo se puede representar esto, es considerando una ecuación que define la capacidad de un condensador de placas paralelas.

$$C = \frac{A\epsilon}{d}$$

donde C es la magnitud de la capacidad, A es el área de electrodo,  $\epsilon$  es la permitividad (y refleja las propiedades dieléctricas del sistema), y d es la distancia entre las placas de un condensador de placas paralelas. En este sistema electroquímico a modo de ejemplo, se puede considerar que una placa del condensador es la superficie de electrodo y se puede considerar que la otra placa es el plano en la muestra que contenga la capa de cargas espacialmente distribuidas. Esto es una descripción bien conocida de la TSI, a la que comúnmente se hace referencia como "capa doble" y se describe en la publicación "*Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*", primera edición, Oxford University Press, 1993 de C. M. A. Brett y A. M. O. Brett. Un experto en la materia reconocerá la posibilidad de tener otras ecuaciones que relacionan la capacidad con las propiedades físicas del ajuste electroquímico. Por ejemplo, puede ser más apropiada una ecuación de condensador cilíndrico para un electrodo cableado. Tales relaciones que son necesarias y adecuadas para el sistema en consideración, pueden ser suministradas por la fuente de datos A 26. Suponiendo que la ecuación anterior describe la capacidad del sistema electroquímico en consideración en el presente ejemplo, es posible igualar la admitancia con la capacidad, tal como se indica a continuación:

$$|\bar{Y}(\omega)| = \omega C = \frac{\omega A \epsilon}{d}$$

Por lo tanto, si la magnitud de la admitancia es conocida a una frecuencia determinada, entonces tres aspectos desconocidos restantes, en concreto, A,  $\epsilon$  y d. Al usar una fuente de datos externa A 26, la cual puede contener los valores de dos de estos aspectos no conocidos, entonces el tercero puede ser computado mediante la ecuación anterior a través del proceso de cuantificación de propiedad capacitiva 24. Como ejemplo adicional, los valores de los parámetros que describen la capacidad no necesitan ser conocidos de forma explícita. Más bien, pueden ser conocidos en conjunto y el cambio en capacidad se debe a que uno de estos parámetros puede ser usado como una medida para cuantificar las propiedades capacitivas en el proceso 24. El beneficio de este análisis es que con frecuencia se pueden conocer diversos de éstos parámetros, pero uno puede cambiar sin conocimiento. Esta característica de la capacidad puede ser explotada para corregir las variaciones en la TSI mediante un proceso de corrección 40.

Estos procedimientos que miden las propiedades capacitivas de un sistema electroquímico, pueden ser útiles debido al hecho de que la naturaleza inherente de las mediciones conduce propiamente a supervisar principalmente las propiedades físicas y materiales de los entornos en los cuales opera el sistema electroquímico. Estas ayudan a establecer una métrica general para caracterizar los efectos físicos y ambientales del sistema electroquímico y formar las bases para desarrollar el mecanismo de corrección 40, que puede explicar tales fuentes de error y se pueden extender para mediciones más detalladas de diversos propósitos, tal como:

1. diagnosticar el estado y condición de un electrodo transductor, incluyendo determinar el área efectiva de electrodo.
2. determinar diversas características del escenario de suciedad de electrodo, incluyendo pero sin limitarse, al espesor de la capa de suciedad, la velocidad de acumulación del material de ensuciamiento, y las propiedades eléctricas del material de ensuciamiento.

En la práctica, se puede seleccionar una forma de onda de estímulo a través de una combinación de pruebas experimentales y la consideración teórica del proceso que están involucradas en el proceso de detección. La selección de la forma de onda se lleva a cabo con el objeto de lograr ciertas características de señal única generadas mediante un analito y los factores ambientales en particular. La componente de CC de la señal medida puede estar compuesta principalmente por componentes de señal faradaica, los cuales son afectados por la concentración de analito y factores ambientales. Así mismo, la componente de CA de la señal medida puede estar compuesta principalmente por componentes de señal capacitiva, los cuales es menos probable que se vean afectados por el analito pero responden a los factores ambientales. Por lo tanto, la componente de CA se puede usar para ganar información de forma independiente con respecto a los factores ambientales sin ser influenciado por la concentración de analito.

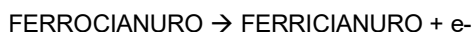
Los factores que se deben tener en mente cuando se elige una forma de onda, incluyen pero no se limitan a: el uso de potenciales del electrodo de trabajo más positivos con respecto al electrodo de referencia generalmente incrementará la velocidad de oxidación; de forma similar el uso de potenciales más negativos del electrodo de trabajo con respecto al electrodo de referencia que generalmente incrementarán la velocidad de reducción; y, cuando la velocidad de cinética sea mucho más rápida que la velocidad de transporte del analito, tal como mediante difusión, el incrementar adicionalmente la velocidad de la cinética incrementando el potencial en la dirección adecuada (positiva para oxidaciones o negativa para reducciones), puede no incrementar de forma significativa el flujo de corriente faradaica; las ondas sinusoidales de CA de frecuencia superior pueden ser sensibles a propiedades capacitivas no faradaicas que ondas sinusoidales de CA de frecuencia inferior.

Después de seleccionar la forma de onda, se pueden recopilar los datos de muestras que contengan diferentes concentraciones de objetivo y con diferentes factores ambientales (las etapas 115 y 130). Por ejemplo, en la diferenciación y determinación de la influencia del área efectiva de electrodo y concentración de analito, se podrían

realizar cinco mediciones repetidas usando la forma de onda seleccionada de cada una de las siguientes concentraciones de ferrocianuro: 0 mM, 1 mM, 2 mM, 3 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM usando electrodos de cada una de las siguientes áreas efectivas: 0,1 mm<sup>2</sup>, 0,2 mm<sup>2</sup>, 0,3 mm<sup>2</sup>, 0,5 mm<sup>2</sup>, 0,7 mm<sup>2</sup>, 10 mm<sup>2</sup>. En otro ejemplo, en la diferenciación y determinación de la influencia del grado de suciedad de electrodo y concentración de analito, se podrían realizar cinco mediciones repetidas usando la forma de onda seleccionada de cada una de las siguientes concentraciones de ferrocianuro: 0 mM, 1 mM, 2mM, 3 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM usando electrodos que hayan sido recubiertos con material de ensuciamiento de cada uno de los siguientes espesores: 10 μm, 20 μm, 30 μm, 50 μm, 70 μm, 100 μm, 150 μm, 200 μm, 300 μm, 500 μm. Los ejemplos de materiales que podrían usarse para emular diferentes tipos de suciedad, incluyen polímeros tales como acetato de celulosa y poliritamina, o proteínas tales como albúmina de suero bovino.

#### Ejemplo 1:

A continuación se describe un ejemplo que usa el método de las figuras 5 y 6 y el sistema tal como se lleva a cabo mediante, por ejemplo, el sistema de la figura 7, en términos de análisis de concentración de una muestra que contiene el ferrocianuro del analito y un área efectiva de electrodo variable. La reacción faradaica que se detecta mediante un potencial de CC se determina mediante:



lo cual es una reacción de oxidación. La célula electroquímica puede ser una configuración de 3 electrodos convencional con un electrodo de trabajo de paladio, un contraelectrodo de platino y un electrodo de referencia de Ag/AgCl. El electrodo de trabajo se puede mantener en un potencial de CC de -400 mV con respecto al electrodo de referencia. La figura 2 muestra la corriente de CC de dos muestras, una que contiene 10 mM de FERRO y la otra que contiene 20 mM de FERRO, para mediciones realizadas con diferentes áreas efectivas de electrodo.

La figura 2 muestra los puntos de datos 450 que se midieron aplicando un potencial de CC de -400 mV a una muestra que contiene 20 mM de ferrocianuro. Las mediciones 450 fueron realizadas con unos electrodos de diferentes áreas efectivas, y los datos se trazan en la figura 2. El eje X muestra el área efectiva de electrodo del electrodo que se usó para realizar las mediciones y el eje Y muestra el valor de la corriente de CC que se midió. Usando los mismos electrodos, posteriormente se realizaron mediciones en muestras que contienen 10 mM de ferrocianuro y se muestran como los puntos de datos 455. Esta figura ilustra el problema de medir señales amperométricas usando un potencial de CC. La señal medida se ve afectada tanto por la concentración para el análisis como por el área efectiva de electrodo. Una ecuación que se puede usar para describir esta relación, es:

$$I = \alpha A_e [\text{FERRO}]$$

donde  $\alpha$  es una constante de proporcionalidad,  $A_e$  es el área efectiva de electrodo y  $[\text{FERRO}]$  es la concentración de ferrocianuro en la muestra. Un experto en la materia podrá reconocer la posibilidad de que puedan existir otras relaciones, y estas relaciones podrían ser determinadas mediante una combinación de investigación teórica y experimental. La figura 10 ilustra esta relación para dos valores de  $A_e$ . Los puntos de datos 500 son las mediciones de corriente de CC realizadas con un electrodo de  $A_e = 0,8925 \text{ mm}^2$ . La ecuación de la curva de calibración para esta  $A_e$  es:

$$I = 109,21 [\text{FERRO}]$$

Los puntos de datos 505 son las mediciones de corriente de CC realizadas con un electrodo de  $A_e = 1,575 \text{ mm}^2$ . La ecuación de la curva de calibración de esta  $A_e$  es:

$$I = 171,13 [\text{FERRO}]$$

Por lo tanto, si las mediciones se realizan con un electrodo bajo la suposición de que  $A_e = 1,575 \text{ mm}^2$ , la concentración de ferrocianuro se podría estimar con la ecuación:

$$[\text{FERRO}] = I/171,13$$

donde  $I$  es la corriente de CC medida en nA y la  $[\text{FERRO}]$  es la concentración de ferrocianuro estimada en mM.

No obstante, si el área efectiva de electrodo es inadvertidamente no igual a  $1,575 \text{ mm}^2$ , entonces podría ser incorrecta la estimación de ferrocianuro calculada. Por ejemplo, si  $A_e$  fuera realmente de  $0,8925 \text{ mm}^2$ , entonces una muestra que contiene 20 mM de ferrocianuro podría producir una señal de corriente medida de 2188 nA, tal como se muestra en la figura 10 a través de los puntos de datos 500. Los ejemplos de cómo puede ocurrir dicho cambio en  $A_e$  incluyen errores en la fabricación o contacto parcial de la muestra con el electrodo. Al usar la suposición de que  $A_e$  es  $1,575 \text{ mm}^2$ , la concentración de ferrocianuro estimada podría ser calculada mediante la ecuación de calibración:

$$[\text{FERRO}] = 2188/171,13 = 12,3 \text{ mM}$$

Esto ilustra el tipo de error en la estimación de la concentración de analito que puede ocurrir si el área efectiva de electrodo se alterara de forma inadvertida. No obstante, al tener la capacidad de obtener una medida del área efectiva de electrodo, se puede permitir a corrección de la estimación del analito para tales cambios en el sistema de medición.

5 Para sondear el área efectiva de electrodo, en el presente ejemplo se sobrepuso una onda sinusoidal de 1000 Hz de 40 mV de amplitud de pico a pico en el potencial de polarización negativa de CC de -400 mV (la etapa 100) tal como se muestra en la curva 510 de la figura 11. Esta forma de onda se aplicó posteriormente al sistema de electrodos (la etapa 105). La Transformada de Fourier de la señal de corriente resultante se tomó para seleccionar la componente sinusoidal de CA de 1000 Hz (la etapa 110), debido a que se espera que las propiedades capacitivas del sistema sean reflejadas en componentes de alta frecuencia de la señal. En el presente ejemplo, debido a que la amplitud del potencial de ondas sinusoidal de CA se mantiene constante en 40 mV de pico a pico, es suficiente usar solamente los valores de corriente de CA en el cálculo de las propiedades capacitivas en lugar de computar los valores de admitancia, tal como se define mediante la relación matemática entre la admitancia CA, corriente de CA y potencial de CA descritos anteriormente.

La figura 13 muestra los datos de señal capacitiva representados por la componente imaginaria de la señal de corriente de CA de 1000 Hz recopilados con unos electrodos de diferentes áreas efectivas en una muestra de ferrocianuro 10 mM (los puntos de datos de color negro 515) y una muestra de 20 mM de ferrocianuro (los puntos de datos de color blanco 520). Queda claro a partir de estos datos que existe una relación lineal entre la componente de señal capacitiva y el área efectiva de electrodo y que además, los datos de señal capacitiva no son influenciados de forma significativa por la concentración de ferrocianuro en la muestra.

Una ecuación que relaciona la corriente de CA imaginaria con el área efectiva de electrodos (la etapa 120) que depende de la concentración de analito es:

$$I_{i, CA} = (818,26) (A_{e, real}) - 14,33$$

donde  $I_{i, CA}$  es la componente imaginaria de la corriente de CA a 1000 Hz,  $A_{e, real}$  es el área real efectiva de electrodo.

Una ecuación que se puede usar para describir la corriente de CC faradaica medida del electrodo ( $I_F$ ), que se usará en la construcción de curvas de calibración para estimar la concentración de ferrocianuro en una muestra, es:

$$I_F = \alpha A_{e, esperado} [FERRO]$$

$$[FERRO] = \left( \frac{1}{\alpha A_{e, esperado}} \right) I_F$$

donde  $A_{e, esperado}$  es el valor del área efectiva de electrodo que se espera que tenga el electrodo. Esto se debe a que cuando las curvas de calibración se construyeron usando un sistema de electrodos (la etapa 120) basándose en los datos de señal faradaica para relacionar la señal faradaica medida con la concentración de ferrocianuro, se usó un electrodo de área efectiva  $A_{e, esperado}$ . Si se mide una muestra no conocida con un electrodo de  $A_{e, esperado}$  y estas curvas de calibración se usan para estimar la concentración de ferrocianuro en la muestra (la etapa 225), entonces se puede esperar que la concentración de ferrocianuro valorada sea representativa de una concentración real en la muestra. No obstante, si se mide la muestra desconocida con un electrodo de área efectiva que no es igual a  $A_{e, esperado}$ , entonces probablemente resultará una estimada errónea de ferrocianuro.

Por lo tanto, una ecuación de corrección (la etapa 125) que se puede usar para ajustar la concentración de ferrocianuro estimada (la etapa 205) para variaciones en el área efectiva de electrodo es:

$$[FERRO]_c = \left( \frac{1}{\alpha A_{e, esperado}} \right) \left( \frac{A_{e, esperado}}{A_{e, real}} \right) I_F$$

$$[FERRO]_c = \left( \frac{A_{e, esperado}}{A_{e, real}} \right) [FERRO]_u$$

$$A_{e, real} = \frac{I_{i, CA} + 14,33}{818,26}$$

donde  $A_{e, \text{real}}$  se computa tal como se describió anteriormente.  $[\text{FERRO}]_c$  es la concentración de ferrocianuro corregida para la variación en el área efectiva de electrodo y  $[\text{FERRO}]_u$  es la concentración de ferrocianuro no corregida.

5 Continuando con el objeto ilustrativo, si las pruebas de calibración para estimar la concentración de ferrocianuro fueron construidas con un área esperada del electrodo  $A_{e, \text{esperado}} = 1\,575 \text{ mm}^2$ , y las mediciones se realizaron en una muestra que contiene 20 mM de ferrocianuro usando un electrodo con  $A_{e, \text{real}} = 0,8925 \text{ mm}^2$ , podría resultar una estimación errónea de la concentración de ferrocianuro, tal como se describió anteriormente, proporcionando  $[\text{FERRO}] = 2188/171,13 = 12,3 \text{ mM}$ . No obstante, al usar los datos de señal capacitiva representados por la  
 10 componente imaginaria de la corriente sinusoidal de CA de 1000 Hz, la concentración estimada de ferrocianuro puede ser corregida para la variación en área efectiva de electrodo. Tal como se muestra en la figura 3 y a través del punto de datos 515, una muestra que contiene 20 mM de ferrocianuro medida mediante un electrodo con  $A_{e, \text{real}} = 0,8925 \text{ mm}^2$  produce  $I_{e, \text{CA}} = 680 \text{ nA}$ . Por lo tanto,

$$A_{e, \text{real}} = \frac{I_{e, \text{CA}} + 14,33}{818,26} = \frac{680 + 14,33}{818,26} = 0,850 \text{ mm}^2$$

$$[\text{FERRO}]_c = \left( \frac{A_{e, \text{esperado}}}{A_{e, \text{real}}} \right) [\text{FERRO}]_u = \left( \frac{1,575}{0,850} \right) 12,3 = 22,8 \text{ mM}$$

15 produciendo de este modo una estimación corregida de ferrocianuro de 22,8 mM en comparación con una estimación no corregida de 12,3 mM de ferrocianuro, lo que representa una reducción de error de casi tres veces.

20 Esto ilustra una realización a modo de ejemplo que usa la información de señal capacitiva para corregir los errores en medición que surgen de las variaciones en el área efectiva de electrodo. A pesar de que el presente ejemplo se ilustró con una frecuencia de onda sinusoidal, se pueden realizar las mejoras a este método usando información procedente de múltiples frecuencias de estímulo sinusoidal, cubriendo un rango de frecuencias para construir un conjunto de ecuaciones de corrección que serán usadas. Otro ejemplo de una mejora es construir curvas de calibración con una matriz de datos más grande. Las figuras 10 y 13 ilustran datos de calibración de muestras que  
 25 contienen dos concentraciones diferentes de ferrocianuro; no obstante, los datos de calibración pueden ser adquiridos de muestras compuestas por una mayor selección de concentraciones diferentes de ferrocianuro para crear un conjunto de curvas de calibración más refinado. De forma similar, los datos pueden ser adquiridos de electrodos con áreas efectivas mucho más diferentes para crear un conjunto de curvas de calibración más refinado.

30 Ejemplo 2:

A continuación se describe un ejemplo usando el método de las figuras 5 y 6 y el sistema tal como se lleva a cabo, por ejemplo, por el sistema de la figura 7, en términos del análisis de la concentración de una muestra que contiene  
 35 el ferrocianuro del analito y el grado variable de suciedad de electrodo. Como en el ejemplo 1, la reacción faradaica que se detecta es la oxidación de ferrocianuro a ferricianuro, y se usa un sistema electroquímico de 3-electrodos equivalentes en donde el electrodo de trabajo es un electrodo de platino de  $3,14 \text{ mm}^2$ . En el presente ejemplo, el área efectiva de electrodo se puede mantener constante y se varía el grado de suciedad de electrodo para ilustrar el efecto de suciedad en la señal medida y la concentración de ferrocianuro estimada. Se describe un método para  
 40 usar la información de señal capacitiva para corregir errores en la estimación de ferrocianuro que puedan surgir debido a la suciedad de electrodo.

El electrodo de trabajo fue ensuciado con un recubrimiento de toda el área de electrodo con una membrana de acetato de celulosa ("CA"). Se varió en dos casos el grado de suciedad de electrodo. En un caso, se disolvió CA en  
 45 acetona en la proporción de 10 mg de acetato de celulosa por 1 ml de acetona. Se recubrió en forma de gotas un  $\mu\text{l}$  de esta solución sobre el electrodo de trabajo para cubrir de este modo toda la superficie de platino. Se dejó secar la solución, formándose un recubrimiento de acetato de celulosa, proporcionando un total de aproximadamente  $10 \mu\text{g}$  de CA. En un segundo caso, se disolvió el CA en acetona en la proporción de 3,33 mg de CA por 1 ml de acetona. Se cubrió en forma de gotas un  $\mu\text{l}$  de esta solución sobre el electrodo de trabajo, para cubrir de éste modo toda la  
 50 superficie de platino. Se dejó secar la solución, formándose un recubrimiento de CA que contenía aproximadamente  $1/3$  de la cantidad de acetato de celulosa, aproximadamente  $3,33 \mu\text{g}$  de CA. Por lo tanto, en el presente ejemplo, se varió la cantidad de CA para emular diferentes grados de suciedad de electrodo; esperándose poder simular un mayor grado de suciedad de electrodo mediante el recubrimiento del electrodo con una mayor cantidad de acetato de celulosa.

55 La figura 3 muestra curvas de calibración que fueron construidas aplicando un potencial de CC de -400 mV a una muestra que contiene diferentes concentraciones de ferrocianuro usando un electrodo sin suciedad (los puntos de datos 470),  $3,33 \mu\text{g}$  de CA de suciedad (los puntos de datos 480) y  $10 \mu\text{g}$  de CA de suciedad (los puntos de datos 490). Se puede apreciar que la señal de corriente de CC medida, la cual es denominada por la componente de



## ES 2 581 779 T3

corriente faradaica procedente de la oxidación de ferrocianuro, depende de la concentración de ferrocianuro y el grado de suciedad de electrodo. Una ecuación de la curva de calibración que puede usarse para describir esta relación es:

$$I_{CC} = \alpha E_{f1} A_e [FERRO] + \beta E_{f2}$$

donde  $\alpha$  y  $\beta$  son constantes,  $A_e$  es el área efectiva de electrodo,  $E_{f1}$  es una medida de cómo el grado de suciedad de electrodo afecta a la pendiente de la curva de calibración,  $E_{f2}$  es una medida de cómo el grado de suciedad de electrodo afecta a la ordenada en el origen de la curva de calibración,  $I_{CC}$  es la corriente de CC medida y [FERRO] es la concentración de ferrocianuro en la muestra. Un experto en la materia podrá reconocer la posibilidad de que existan otras relaciones, y estas relaciones podrían ser determinadas mediante una combinación de investigación teórica y experimental.

En el ejemplo sin suciedad (los puntos de datos 470) una ecuación que describe la curva de calibración puede ser determinada como:

$$I_{CC} = 0,8757 [FERRO] + 1,6$$

$$A_e = 3,14 \text{ mm}^2$$

$$\alpha E_f = 0,279 \mu\text{A mm}^{-2} \text{ mM}$$

En el ejemplo de 3,33  $\mu\text{g}$  de CA de suciedad (los puntos de datos 480), una ecuación que describe la curva de calibración puede ser determinada como:

$$I_{CC} = 0,664 [FERRO] + 0,1717$$

$$A_e = 3,14 \text{ mm}^2$$

$$\alpha E_f = 0,211 \mu\text{A mm}^{-2} \text{ mM}$$

En el ejemplo de 10  $\mu\text{g}$  de CA de suciedad (los puntos de datos 490), una ecuación que describe la curva de calibración puede ser determinada como:

$$I_{CC} = 0,1729 [FERRO] + 0,2703$$

$$A_e = 3,14 \text{ mm}^2$$

$$\alpha E_f = 0,055 \mu\text{A mm}^{-2} \text{ mM}$$

Se puede apreciar que el grado de suciedad afecta tanto a la pendiente como a la ordenada en el origen de las curvas de calibración. La figura 15 es un ejemplo de cómo se puede expresar la relación entre el grado de suciedad de electrodo y los parámetros de la curva de calibración lineal, lo cual en el presente ejemplo son la pendiente y la ordenada en el origen. Los puntos de datos 540 representan el valor de la pendiente de la curva de calibración que relaciona [FERRO] con  $I_{CC}$  para diferentes grados de suciedad de electrodo, determinado por la cantidad  $\alpha E_{f1} A_e$ ; puntos de datos 545 representan el valor de la ordenada en el origen de la prueba de calibración que relaciona [FERRO] con  $I_{CC}$  para diferentes grados de suciedad de electrodo, determinado mediante la cantidad  $\beta E_{f2}$ . Un ejemplo de un conjunto de ecuaciones para describir esta relación es:

$$I_{CC} = \alpha E_{f1} A_e [FERRO] + \beta E_{f2}$$

$$\alpha E_{f1} A_e = 0,0708 (M_{CA}) + 0,8853$$

$$\beta E_{f2} = 0,0444 (M_{CA})^2 - 0,5767 (M_{CA}) + 1,6$$

donde  $M_{CA}$  es la masa de CA usada para ensuciar el electrodo en microgramos. Un experto en la materia reconocerá que se pueden usar otras ecuaciones y relaciones dependiendo de la naturaleza de los datos.

La figura 14 ilustra adicionalmente la relación entre la corriente medida, concentración de ferrocianuro y el grado de suciedad de electrodo de tres diferentes concentraciones de ferrocianuro usando electrodos con tres diferentes grados de suciedad. Los puntos de datos 525 son de muestras que contienen 5 mM de ferrocianuro, los puntos de datos 530 son de muestras que contienen 3 mM de ferrocianuro, y los puntos de datos 535 son de muestras que contienen 2 mM de ferrocianuro. Los datos son trazados en la figura 14 con el eje-Y representando el recíproco de la corriente de CC medida. En el presente ejemplo, dicha representación permite una relación lineal aproximada que será observada entre la cantidad de CA usada para ensuciar el electrodo y la corriente de CC medida. Un experto en la materia reconocerá que pueden existir otras relaciones, dependiendo de la naturaleza del sistema electroquímico

y la naturaleza de suciedad. En los datos a modo de ejemplo ilustrados en la figura 14, la relación entre la corriente de CC y el grado de suciedad puede determinarse como:

$$\frac{1}{I_{CC}} = 0,1317M_{CA} + 0,275$$

5 para muestras con 2 mM de ferrocianuro;

$$I_{CC} = \frac{1}{0,1317M_{CA} + 0,275}$$

$$\frac{1}{I_{CC}} = 0,1033M_{CA} + 0,1871$$

10 para muestras con 3 mM de ferrocianuro;

$$I_{CC} = \frac{1}{0,1033M_{CA} + 0,1871}$$

$$\frac{1}{I_{CC}} = 0,067M_{CA} + 0,1279$$

15 para muestras con 5 mM de ferrocianuro;

$$I_{CC} = \frac{1}{0,067M_{CA} + 0,1279}$$

20 donde  $I_{CC}$  es la corriente de CC en microamperios y  $M_{CA}$  es la masa de CA usada para ensuciar el electrodo en microgramos.

25 Por lo tanto, si las mediciones se usaron con la suposición de que no existe suciedad en el electrodo, entonces se puede usar la curva de calibración que representa este caso. No obstante, si el electrodo se ensucia hasta un grado no conocido, entonces se puede computar una valoración de ferrocianuro incorrecta. Por ejemplo, si el electrodo fue ensuciado con 3,33  $\mu\text{g}$  de CA y se realizaron mediciones en una muestra que contiene 5 mM de ferrocianuro, entonces de acuerdo con la figura 14,  $I_{CC} = 3,4 \mu\text{A}$ . Debido a que en el presente ejemplo, el grado de suciedad de electrodo no es conocido o cuantificado, la curva de calibración que se usa para estimar la concentración de ferrocianuro es la que se construye con los datos procedentes de un electrodo no ensuciado, tal como se describió anteriormente. Al usar esta curva de calibración, se obtiene la siguiente estimación imprecisa de la concentración de ferrocianuro:

$$35 \quad I_{CC} = 0,8757 [\text{FERRO}] + 1,6$$

$$[\text{FERRO}] = \frac{I_{CC} - 1,6}{0,8757} = \frac{3,4 - 1,6}{0,8757} = 2,1 \text{ mM}$$

40 Por lo tanto, se necesita un método para cuantificar el grado de suciedad de electrodo de tal modo que los parámetros de la curva de calibración de la pendiente y la ordenada en el origen puedan ser alterados para estimar de forma más precisa la concentración de ferrocianuro en la muestra. Para sondear el grado de suciedad de electrodo, se sobrepuso una onda sinusoidal de 1000 Hz de 40 mV de amplitud de pico a pico sobre el potencial de polarización negativa de CC de -400 mV (la etapa 100), tal como se muestra en la curva 510 de la figura 11. Posteriormente esta forma de ondas se aplicó al sistema de electrodos (la etapa 105). En el presente ejemplo, debido a que se espera que las propiedades capacitivas del sistema sean la componente dominante en la parte de alta frecuencia de la señal, la amplitud de pico a pico de la señal de corriente de CA fue computada (la etapa 110) tomando la diferencia entre el pico de la corriente de onda sinusoidal y el valle de la corriente de onda sinusoidal del último ciclo medido completo.

50 La figura 16 muestra los datos de señal capacitiva representados por la amplitud de pico a pico de la señal CA de 1000 Hz recopilada de muestras con diferentes concentraciones de ferrocianuro usando electrodos sin suciedad (los

puntos de datos 550), 3,33  $\mu\text{g}$  de CA usados para ensuciar el electrodo (los puntos de datos 555) y 10  $\mu\text{g}$  de CA usados para ensuciar el electrodo (los puntos de datos 560). Queda claro a partir de estos datos, que la amplitud de corriente de CA se ve afectada principalmente por el grado de suciedad y se ve afectada mínimamente por la concentración de ferrocianuro. Por lo tanto, se calculó el valor promedio de la corriente de CA para cada conjunto de mediciones realizadas con un grado fijo de suciedad de electrodos. La figura 17 muestra que en el presente ejemplo, existe una señal entre esta amplitud de corriente de CA promedio (los puntos de datos 565) y el grado de suciedad de electrodo. Una ecuación de calibración para describir la relación entre el grado de suciedad de electrodo y la corriente de CA, se determina mediante:

$$I_{CA} = (-8.0598) (M_{CA}) + 119,05$$

donde  $I_{CA}$  es la amplitud de pico a pico de la componente sinusoidal de 1000 Hz y  $M_{CA}$  es la masa de CA usada para ensuciar el electrodo.

Las mediciones de CA pueden ser insensibles e independientes de la concentración de analito en el presente ejemplo. Por lo tanto, se puede usar el valor de corriente de CA para estimar el grado de suciedad de electrodo. Una vez que se ha estimado el grado de suciedad de electrodo, se puede realizar una corrección para la curva de calibración de concentración que da como resultado una estimada más precisa de la concentración de ferrocianuro.

Continuando con el ejemplo de medir una muestra que contiene 5 mM de ferrocianuro con un electrodo que ha sido ensuciado con 3,33  $\mu\text{g}$  de CA, de acuerdo con la figura 16, se podrá registrar una corriente de CA de 96,8  $\mu\text{A}$ . Al usar la curva de calibración que relaciona la corriente de CA con la masa de CA, se obtiene la siguiente estimada de masa de CA:

$$I_{CA} = (-8.0598) (M_{CA}) + 119,05$$

$$M_{CA} = \frac{I_{CA} - 119,05}{-8,0598} = \frac{96,8 - 119,05}{-8,0598} = 2,76 \mu\text{g}$$

Usando esta masa estimada de CA como una medida de suciedad de electrodo, se pueden determinar los factores de corrección para la pendiente y la ordenada en el origen de la curva de calibración usando las ecuaciones descritas anteriormente:

$$\alpha E_{f1} A_e = -0,0708 (M_{CA}) + 0,8853 = -0,0708 (2,76) + 0,8853 = 0,690$$

$$\beta E_{f2} = 0,0444 (M_{CA})^2 - 0,5767 (M_{CA}) + 1,6 = 0,0444 (2,76)^2 - 0,5767 (2,76) + 1,6 = 0,346$$

$$I_{CC} = \alpha E_{f1} A_e [\text{FERRO}] + \beta E_{f2}$$

$$[\text{FERRO}]_c = \frac{I_{CC} - \beta E_{f2}}{\alpha E_{f1} A_e} = \frac{3,4 - 0,346}{0,690} = 4,4 \text{ mM}$$

donde  $[\text{FERRO}]_c$  es la estimada de ferrocianuro en la muestra que ha sido corregida con respecto al grado de suciedad de electrodo. La estimada corregida de ferrocianuro es por lo tanto 4,4 mM; cuando se compara con la estimada no corregida de 2,1 mM, el método de corrección representa una reducción de error de casi 5 veces.

Esto ilustra una realización a modo de ejemplo que usa información de señal capacitiva para corregir los errores de medición que surgen de las variaciones del grado de suciedad de electrodo. A pesar de que el presente ejemplo fue ilustrado con una frecuencia de ondas sinusoidal, se pueden realizar mejoras a este método usando la información procedente de múltiples frecuencias de estímulo sinusoidal, cubriendo un rango de frecuencias para construir un conjunto de ecuaciones de corrección que serán usados. Otro ejemplo de una mejora es construir curvas de calibración con una matriz de datos más grandes. Las figuras 14, 15, 16 y 17 ilustran datos de calibración de electrodos con tres grados de suciedad; no obstante, se pueden adquirir datos de calibración de electrodos con una mayor selección de diferentes grados de suciedad para crear un conjunto de curvas de calibración más refinado. De forma similar, los datos pueden ser adquiridos de muestras que contienen concentraciones de ferrocianuro mucho más diferentes para crear un conjunto de curvas de calibración más refinado. Otro ejemplo de una mejora es usar la parte imaginaria de la señal de la corriente de CA, debido a que se espera que la parte imaginaria de la señal CA refleje las propiedades capacitivas del sistema electroquímico.

### Ejemplo 3:

Otro ejemplo de un beneficio útil de las mediciones de capacidad es detectar cuándo cambia la muestra. Puede haber situaciones en un almacenamiento de depósito de combustible, en donde el material externo se filtre en estos

depósitos, tal como se muestra en la figura 19. Por ejemplo, es común que el agua se filtre en un depósito de combustible que contiene productos de gasolina. En algunas situaciones, el agua y la gasolina son inmiscibles y cada líquido se separa en capas dentro del depósito. Esto se muestra en la figura a través de una capa de gasolina 56 con una capa de agua 58 en la parte superior. También puede haber una capa de espacio de aire 60 por encima.

5 Si se alinea una disposición de electrodos 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74 a lo largo del lado del depósito, entonces puede ser posible resolver espacialmente la distribución de las capas de agua dentro de las capas de gasolina. Una forma en la cual se puede representar esto, es midiendo la capacidad de cada sistema de electrodos 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74 a través de la medición del CDAS. En un ejemplo, esto se puede lograr aplicando ondas sinusoidales de alta frecuencia de pequeña amplitud al sistema de electrodos y medir la corriente resultante. La componente de corriente

10 de CA contendrá información capacitiva con respecto al sistema electroquímico. Haciendo referencia a los datos externos 30 que contienen los perfiles de CDAS para una muestra de gasolina y una muestra de agua, entonces el proceso de cómputo de cantidad obtenida 28 puede determinar qué conjunto de electrodos estuvo en contacto con las muestras de agua 72 y 70, y qué electrodos estuvieron en contacto con las muestras de gasolina 62, 64, 66, 68 y qué electrodos no estuvieron en contacto con ninguna 74. Posteriormente esto puede permitir resolver

15 espacialmente la cantidad de filtración de agua en un depósito de almacenamiento de gasolina. En el presente ejemplo, se puede estimar que aproximadamente una parte de agua por dos partes de gasolina en volumen están en el depósito debido a que dos sensores 72 y 70 están en contacto con el agua 58, y cuatro sensores 62, 64, 66, 68 están en contacto con la gasolina 56.

20 Un experto en la materia reconocerá la posibilidad de usar otras fuentes de datos en el cómputo de valores de propiedades relacionadas con la capacidad de un sistema electroquímico. Un ejemplo incluye generar una base de datos de valores de capacidad de diferentes configuraciones de electrodos y configuraciones de muestras. Por ejemplo, puede ser posible desarrollar un conjunto de espectros de admitancia para:

25 1. diferentes fuerzas iónicas del electrolito de soporte en una muestra determinada;  
 2. dos espesores diferentes de una membrana o parte de una membrana en particular que cubre un electrodo;  
 3. diferentes espesores de material que pueden ensuciar un electrodo;  
 4. diferentes muestras;  
 5. diferente geometría de los electrodos.

30 Un experto en la materia también reconocerá la posibilidad de usar otros parámetros de señal para obtener información capacitiva con respecto al sistema electroquímico. Un ejemplo incluye la velocidad inicial de disminución de una señal medida en respuesta a un potencial. Otro ejemplo es la cantidad de histéresis que se observa cuando se usa la técnica electroquímica de voltametría cíclica.

35 La figura 18 muestra una realización ilustrativa de un medidor de glucosa, que puede usarse para implementar los diversos métodos descritos anteriormente. El medidor incluye un conector de tira de pruebas 600 para conectar la tira de prueba al medidor. La tira de prueba puede incluir, por ejemplo, tres electrodos (de trabajo, de referencia y contraelectrodo).

40 Se acopla el conjunto de circuitos de acondicionamiento de señal 602 al conector de tira de prueba 600, y se lleva a cabo la filtración de la onda aplicada a los electrodos en la tira de prueba. El conjunto de circuitos de acondicionamiento de señal 604 realiza la filtración de la señal de corriente resultante procedente de la tira de prueba, y registra la señal de corriente. Los conjuntos de circuitos 602 y 604 comprenden juntos, lo que se conoce

45 como un circuito de potencióstato. El DAC 606 convierte las señales digitales del controlador 610 a señales analógicas. El ADC 608 convierte las señales analógicas en formato digital para ser usado por el controlador 610. El controlador 610 procesa señales en el medidor, por ejemplo, procesando las señales de corriente detectadas por el conector de tira de prueba de la forma que se enseña en las realizaciones ilustrativas anteriores de las figuras 5 y 6.

50 Los botones 612 proporcionan una interfaz de usuario para que el usuario opere el medidor. El circuito de potencia 614 proporciona potencia al medidor, normalmente en forma de baterías, y la pantalla LCD 616 presenta visualmente la concentración de glucosa para el usuario.

55 Se debe observar que el medidor de la figura 18 y los sistemas y métodos de procesamiento de señal que se enseñan en el presente documento en las figuras 5 a 7, pueden ser usados para detectar analitos diferentes de la glucosa. Tales aplicaciones incluyen: detección de inmunoensayo electroquímico, detección de gas industrial, supervisión de calidad de agua (metales biológicos o tóxicos) detección de agentes bélicos químicos y biológicos.

60 Las técnicas del procesamiento de señal que se enseñan en el presente documento, también pueden ser aplicadas a aparatos de detección existentes, tal como aparatos de prueba de glucosa existentes. Esta modificación puede estar en forma de actualización de soporte lógico inalterable para controladores existentes.

La función de la actualización del soporte lógico inalterable es implementar las siguientes técnicas del procesamiento de señal que se enseñan en el presente documento:

- 5 1) Aplicar a la muestra una forma de onda personalizada. Los datos que codifican la muestra de la forma de onda pueden residir en la memoria, serán leídos por el microprocesador y la forma de onda deseada puede ser generada y aplicada a un convertidor de digital a analógico, por ejemplo, el DAC 606 de la figura 18.
- 10 2) Introducir por lectura la señal de corriente resultante. El soporte lógico inalterable puede indicar al microprocesador que introduzca por lectura los datos digitalizados del convertidor de analógico a digital (detectados de los electrodos de la tira de prueba) por ejemplo el ADC 608 de la figura 18 y almacenar los datos digitalizados en la memoria. El soporte lógico inalterable puede llevar a cabo la administración de memoria que se necesita para introducir por lectura los datos deseados.
- 15 3) Realizar las operaciones matemáticas para implementar el procesamiento de señal. Esto incluye calcular los parámetros de acuerdo con las instrucciones del soporte lógico inalterable (por ejemplo, computar la Transformación de Fourier de las señales) y usar estos valores de parámetro en la ecuación de estimación (por ejemplo, generados por los métodos de las figuras 5 o 6) para determinar la concentración de glucosa.

20 Otros procesos que son llevados a cabo por el soporte lógico inalterable se pueden dejar al soporte lógico inalterable existente y no es necesario que sean parte de la mejora. Por ejemplo, el soporte lógico inalterable también puede controlar la presentación visual de un resultado al usuario (por medio de la pantalla LCD 616, por ejemplo) y otras operaciones "entre bastidores" del medidor, por ejemplo, la administración de potencia, la respuesta a solicitudes de usuario tales como desplazamiento en pantalla de datos, el promedio de datos, la transferencia de datos a un PC, etc.

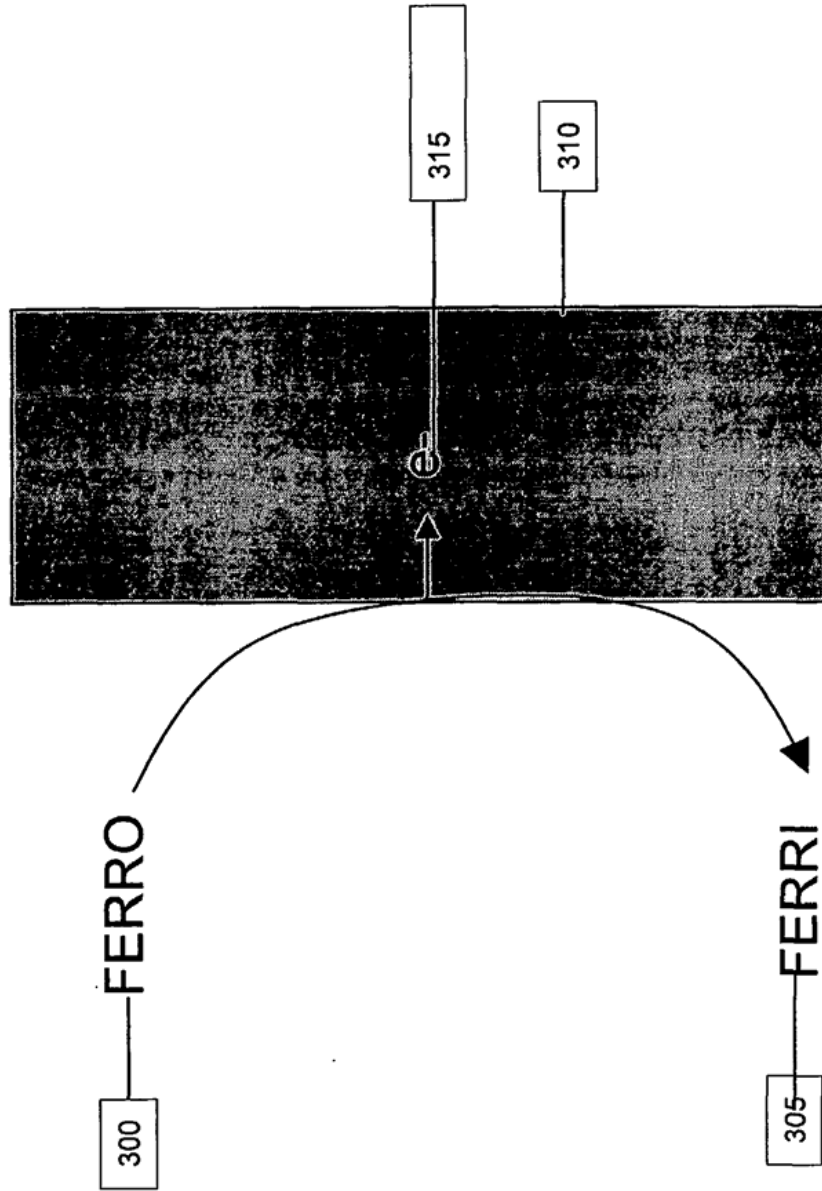
25 Los expertos en la materia podrán apreciar que se pueden realizar diversas modificaciones y variaciones en la presente invención, sin apartarse del alcance de la invención.

30 Los expertos en la materia podrán apreciar otras realizaciones de la presente invención a partir de la consideración de la memoria descriptiva y la práctica de la invención divulgada en el presente documento. Se pretende que la memoria descriptiva y los ejemplos se consideren únicamente como a modo de ejemplo, estando indicado un alcance real de la invención por las siguientes reivindicaciones.

## REIVINDICACIONES

1. Un método para determinar un área efectiva de electrodo y/o un grado de suciedad de electrodo en un sistema electroquímico que contiene una muestra, en el que el sistema electroquímico incluye un electrodo que tiene una superficie, en el que la superficie incluye una porción de contacto y una porción de no contacto, en el que la porción de contacto del electrodo se encuentra en contacto electrolítico con la muestra, y la porción de no contacto del electrodo no se encuentra en contacto con la muestra, caracterizado por que el método comprende las etapas de aplicar un estímulo de potencial variable con el tiempo de alta frecuencia de pequeña amplitud al sistema para generar una respuesta de señal a partir de la muestra que tiene una relación aproximadamente lineal con el potencial aplicado, medir la respuesta de señal, computar una información de capacidad a partir de la respuesta de señal a partir de la muestra que se puede aproximar por una relación lineal con el potencial aplicado, y determinar un valor indicativo de un área efectiva de electrodo y/o un grado de suciedad de electrodo a partir de la información de capacidad.
2. El método de la reivindicación 1, en el que se determina el grado de suciedad de electrodo.
3. El método de la reivindicación 1, en el que se determina el área de electrodo.
4. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el sistema electroquímico comprende al menos dos electrodos planos en una geometría de placas paralelas.
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la información capacitiva se basa en una componente imaginaria de una señal de corriente generada en el sistema electroquímico mediante la aplicación del estímulo variable con el tiempo.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la información capacitiva se basa en una componente imaginaria de una inmitancia compleja del sistema electroquímico.
7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la corriente variable con el tiempo tiene una amplitud, en el que la información capacitiva se basa en la amplitud.
8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la información capacitiva se basa en una velocidad de disminución de la señal.
9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la información capacitiva se basa en una velocidad de subida de la señal.
10. El método de la reivindicación 1 caracterizado por que el potencial variable con el tiempo es un potencial de polarización de CC con un potencial sinusoidal superpuesto.
11. El método de la reivindicación 10, en el que la polarización de CC es de aproximadamente 0 voltios.
12. El método de la reivindicación 10 u 11, en el que el potencial sinusoidal tiene menos de aproximadamente 50 mV de amplitud de pico a pico.
13. Un método de estimación de una concentración de analito en una muestra en un sistema electroquímico, comprendiendo dicho sistema un electrodo de medición, comprendiendo dicho método:
- aplicar un potencial al electrodo de medición del sistema para generar una señal de corriente;  
medir la señal de corriente en el electrodo de medición; y  
determinar una concentración de analito a partir de la señal de corriente medida,
- caracterizado por que
- a) el potencial aplicado tiene una componente de CC y una componente variable con el tiempo de pequeña amplitud superpuesta sobre la misma;
- b) la señal de corriente tiene una componente de corriente de CC y una componente de corriente variable con el tiempo;
- c) una concentración de analito no corregido se determina a partir de la componente de corriente de CC;
- d) determinar un área efectiva de electrodo y/o un grado de suciedad de electrodo de acuerdo con el método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, y
- e) corregir el analito no corregido usando el grado de suciedad o el área efectiva de electrodo determinados.

fig 1



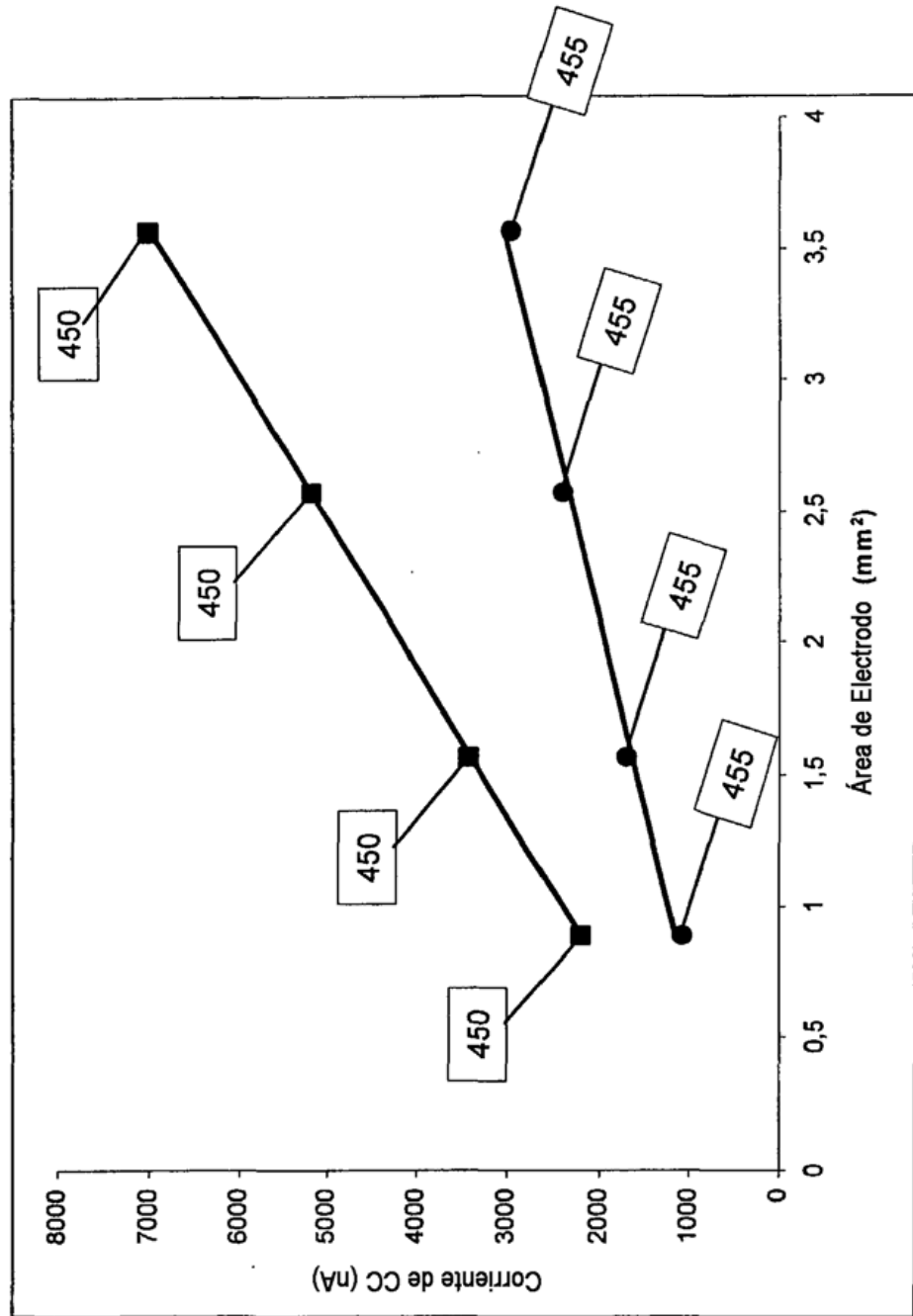
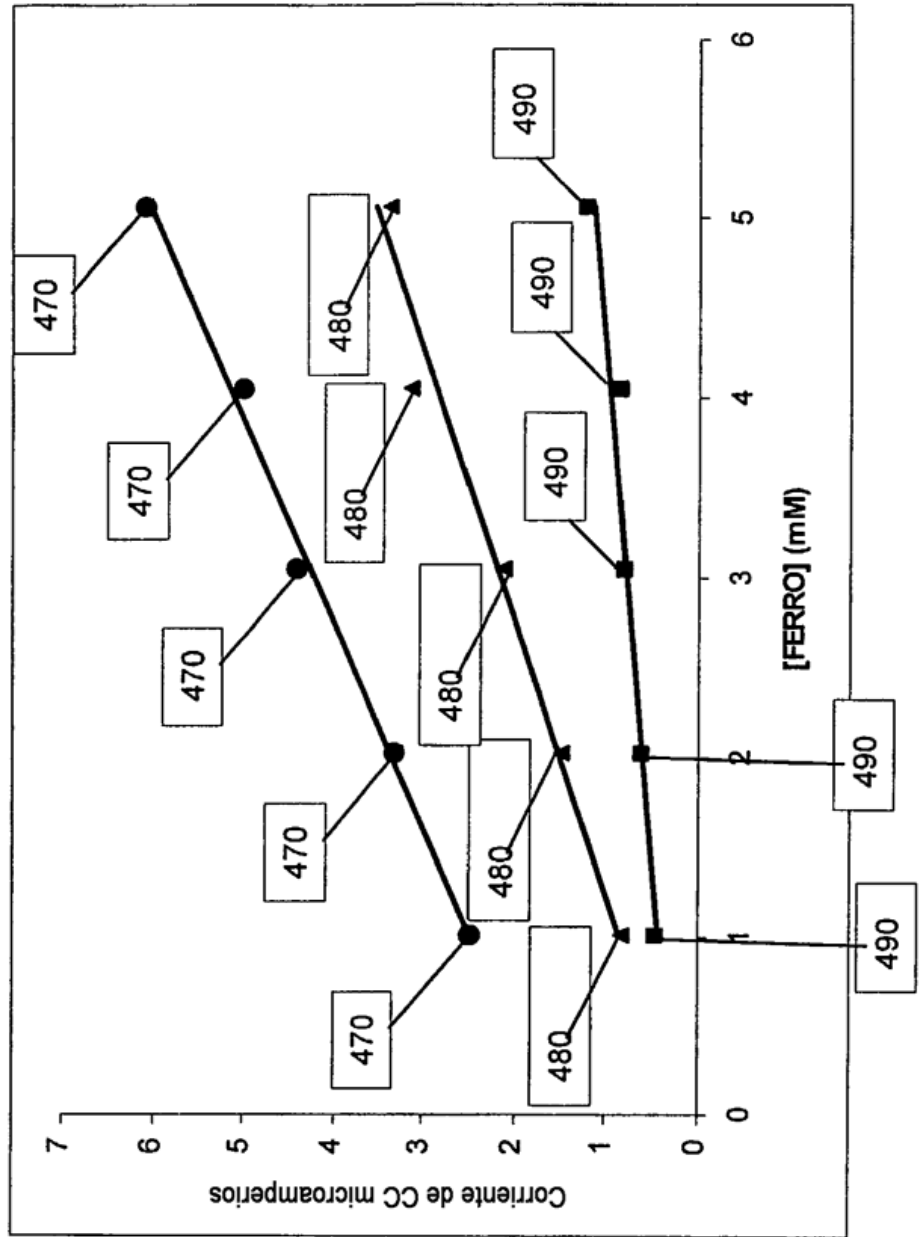


fig 2



fig 3



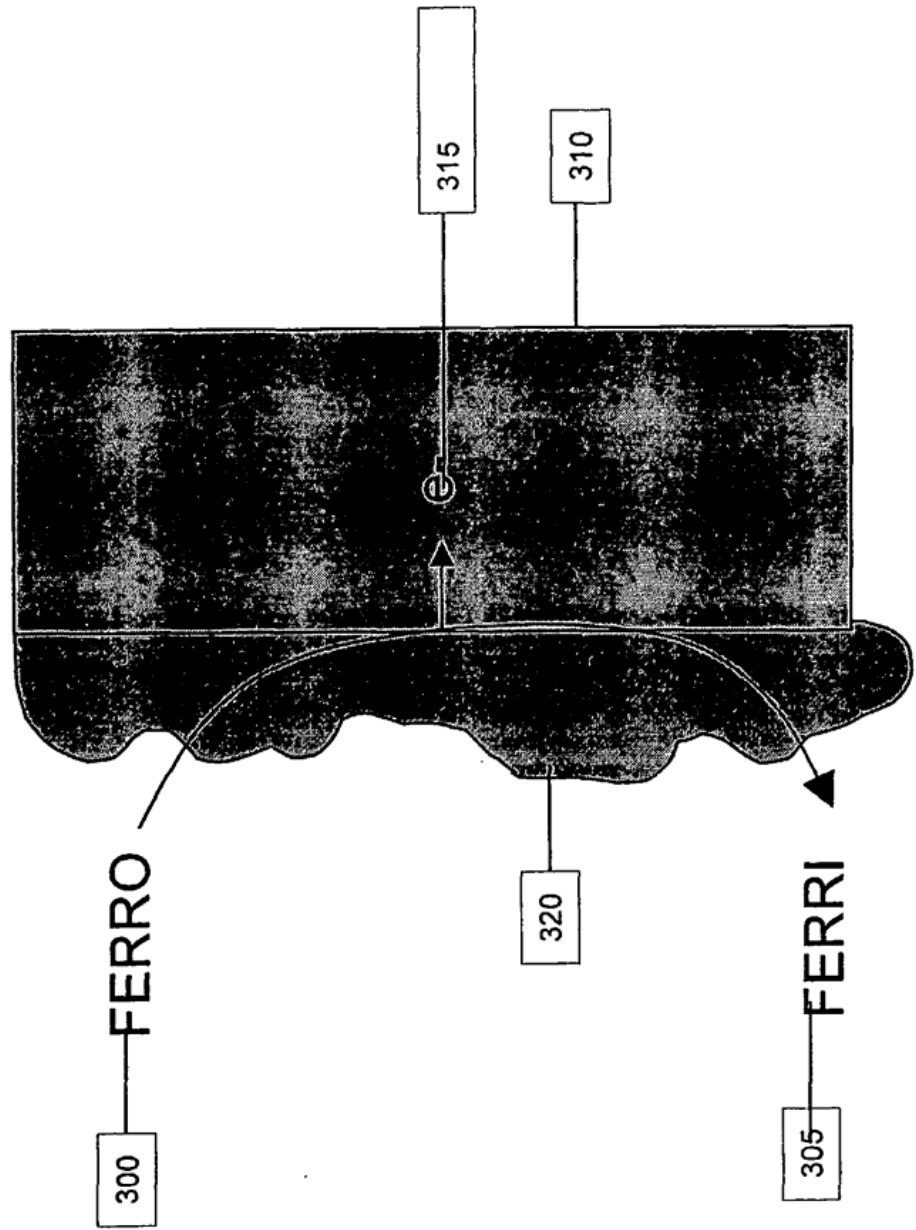


fig 4

fig 5

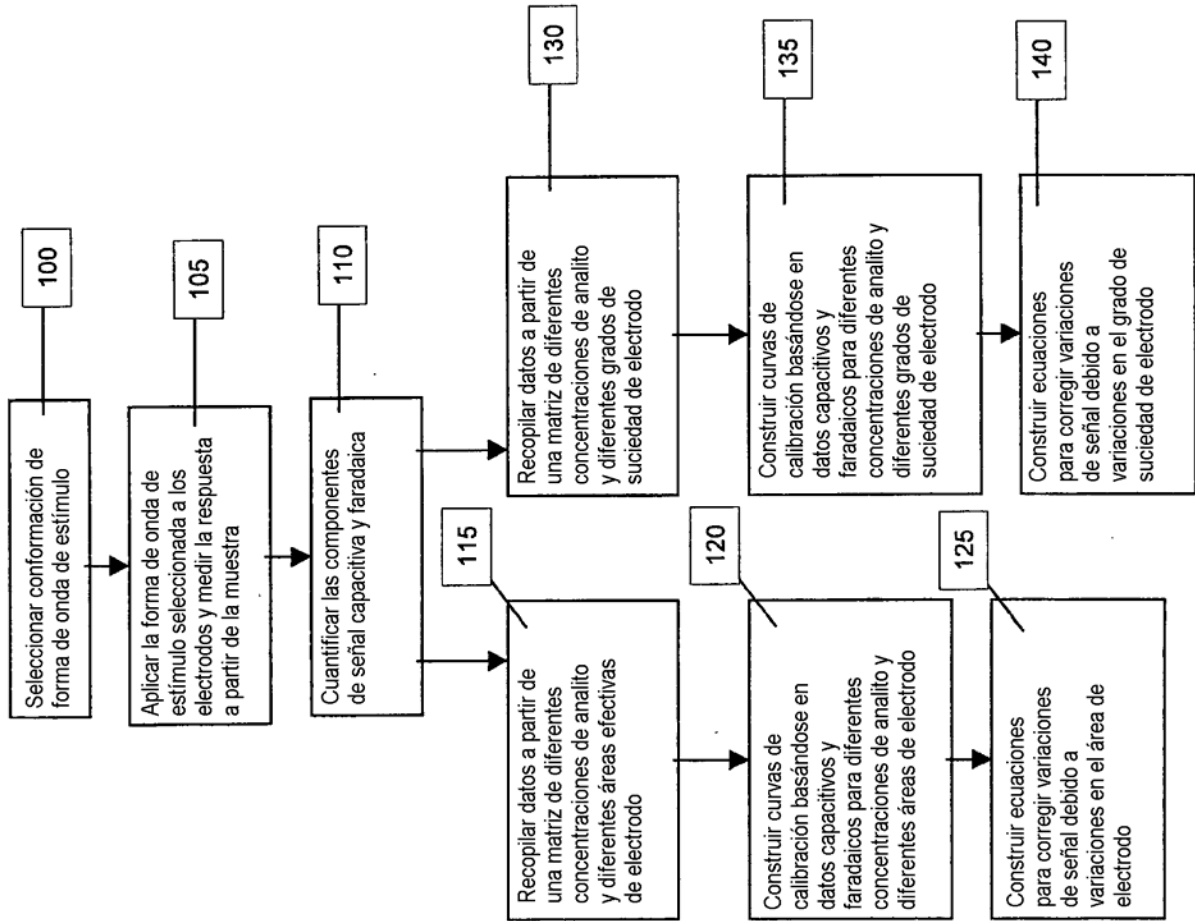


fig 6

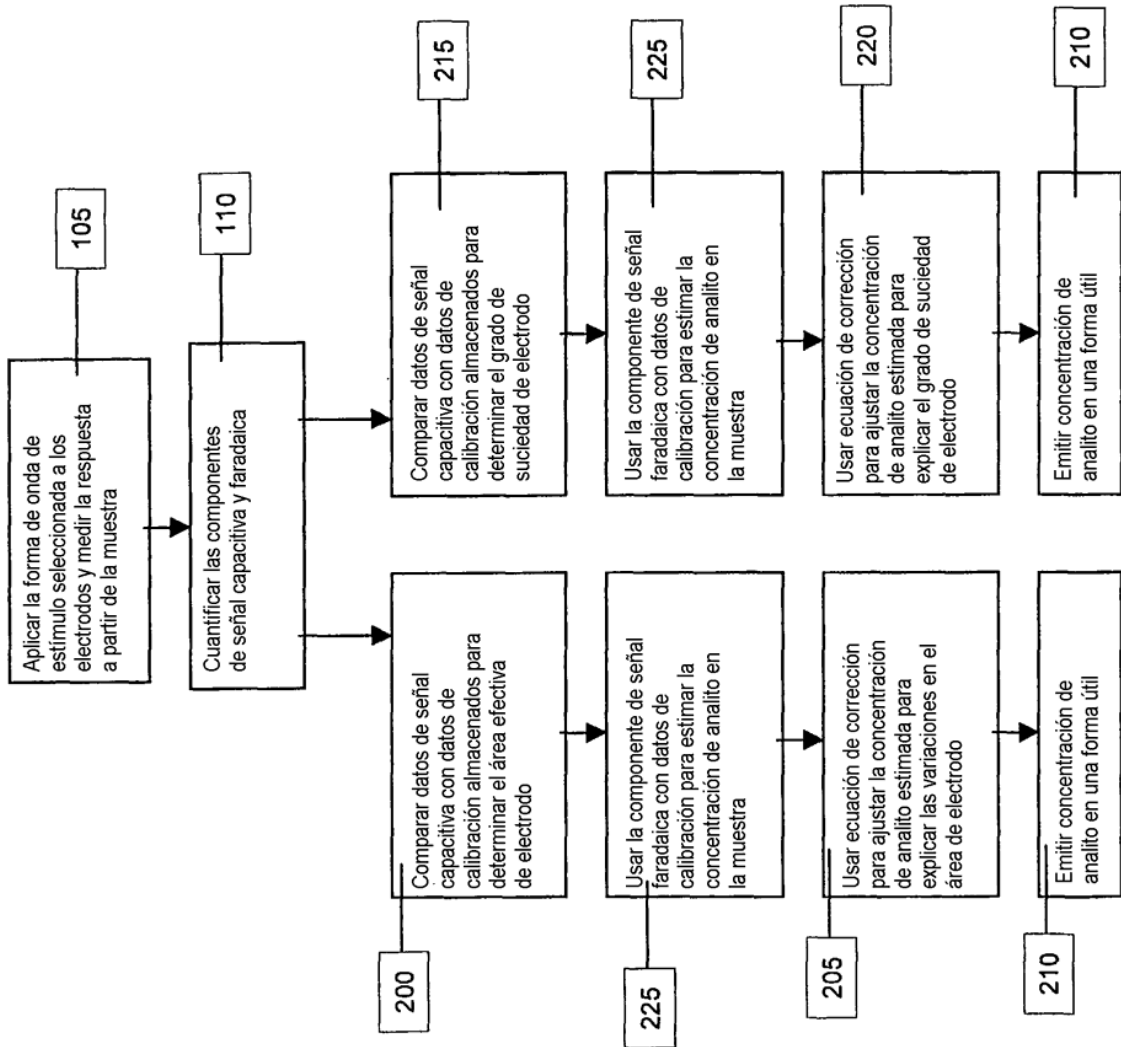


fig 7

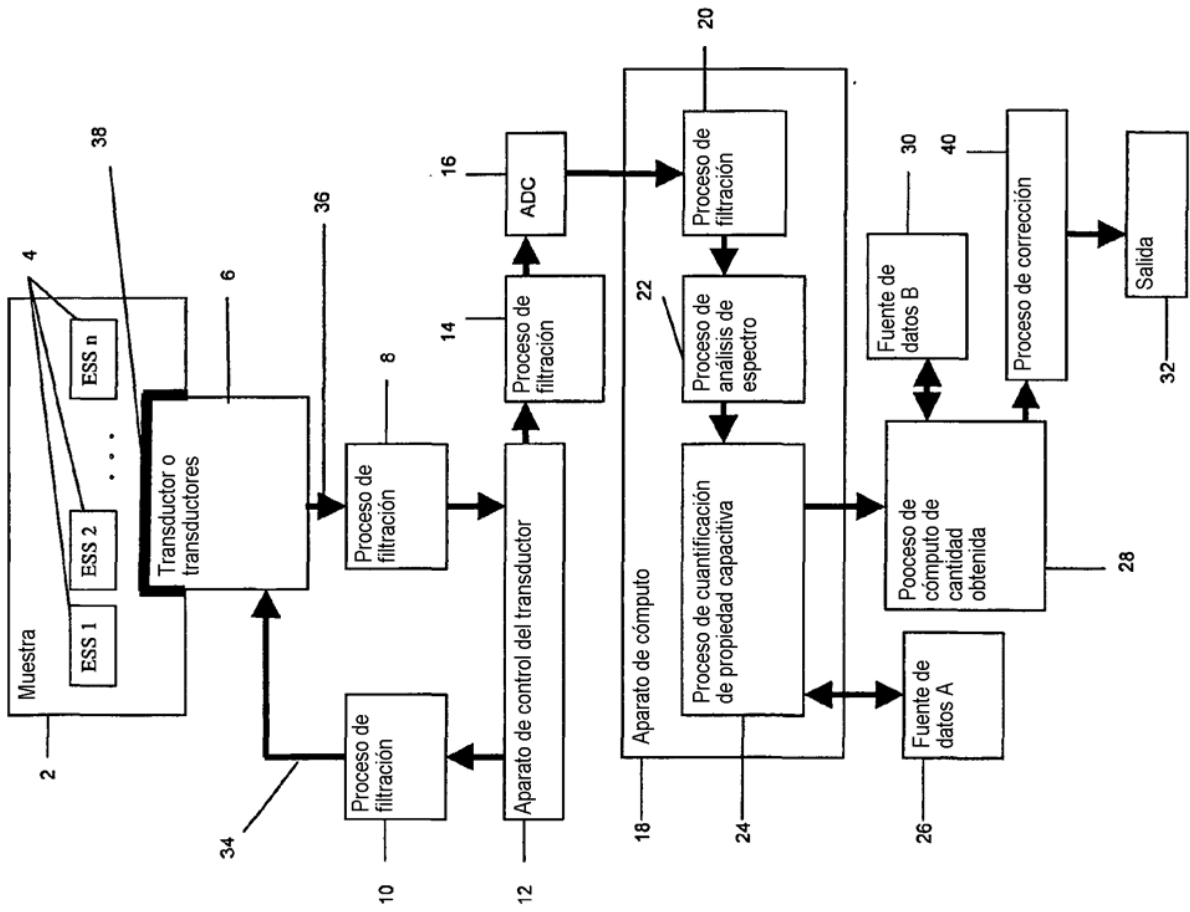


fig 8

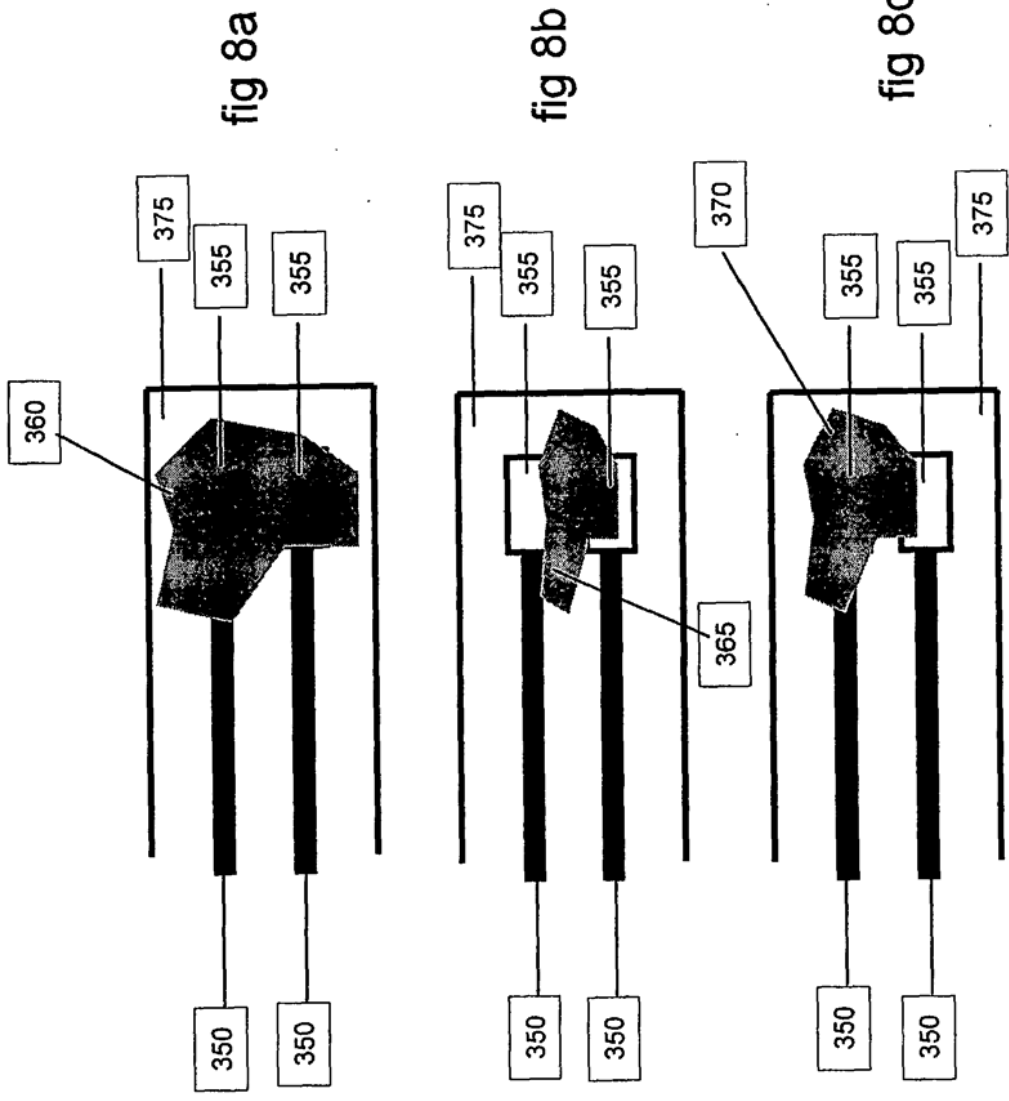


fig 9

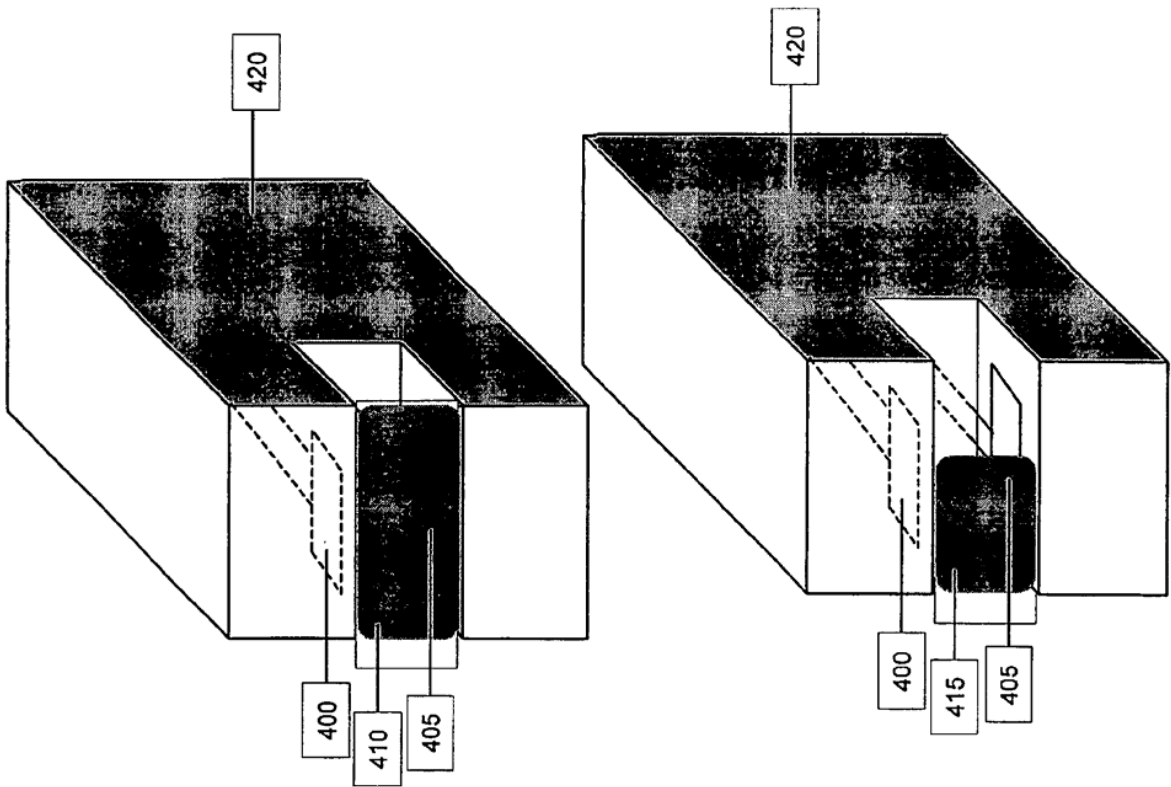


fig 10

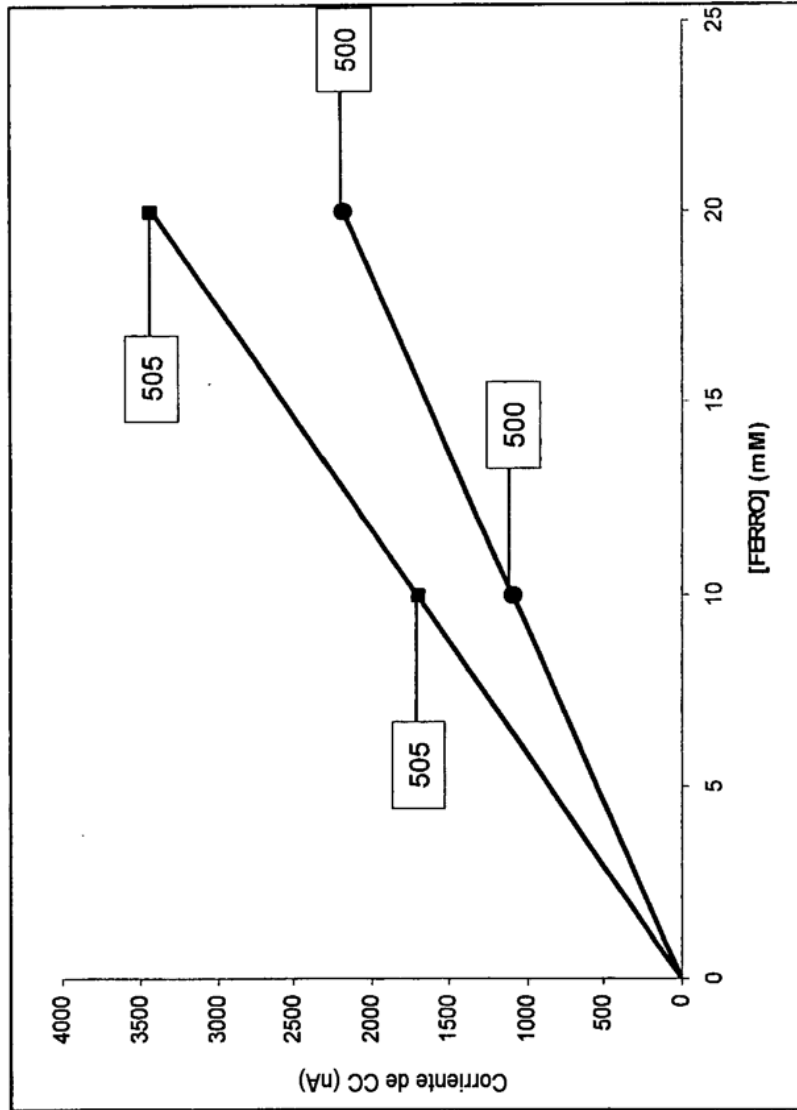




fig 11

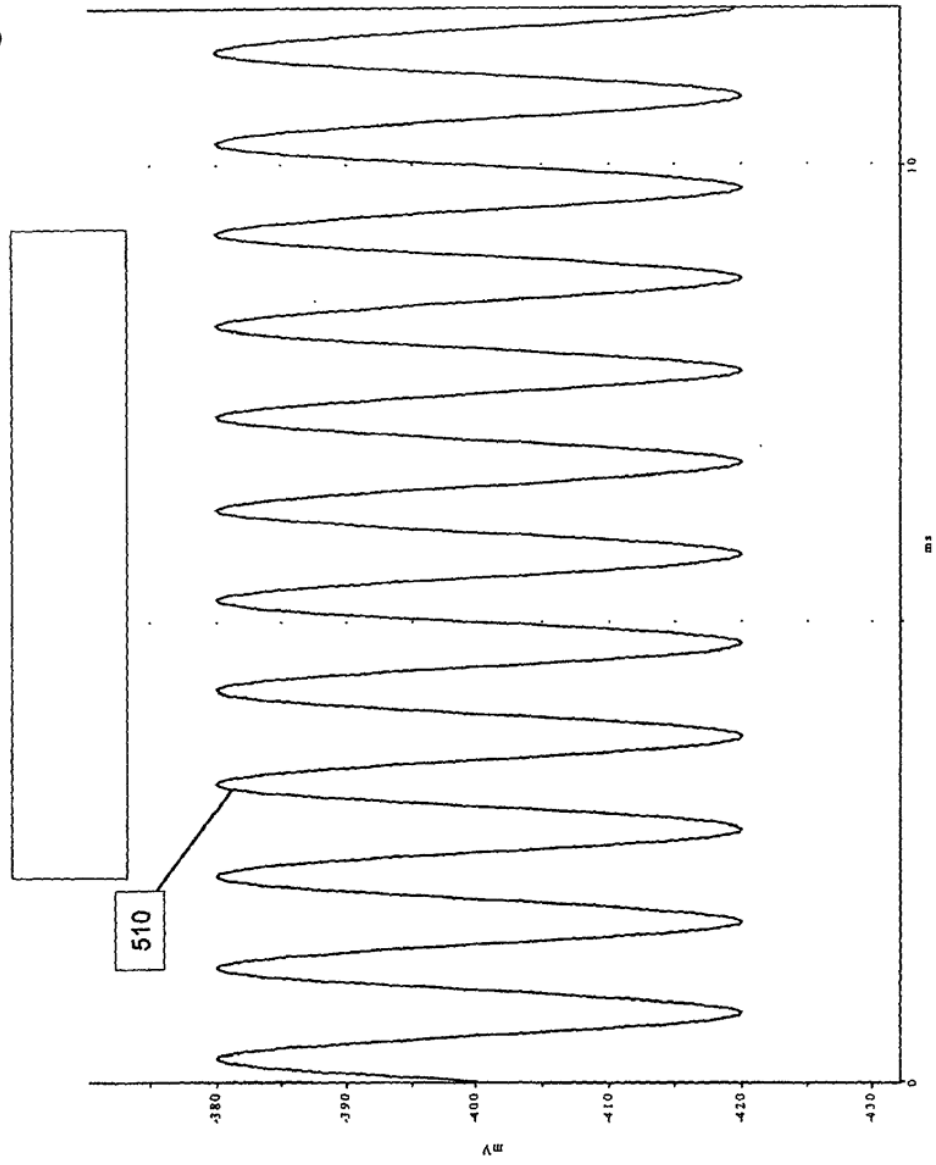


fig 12

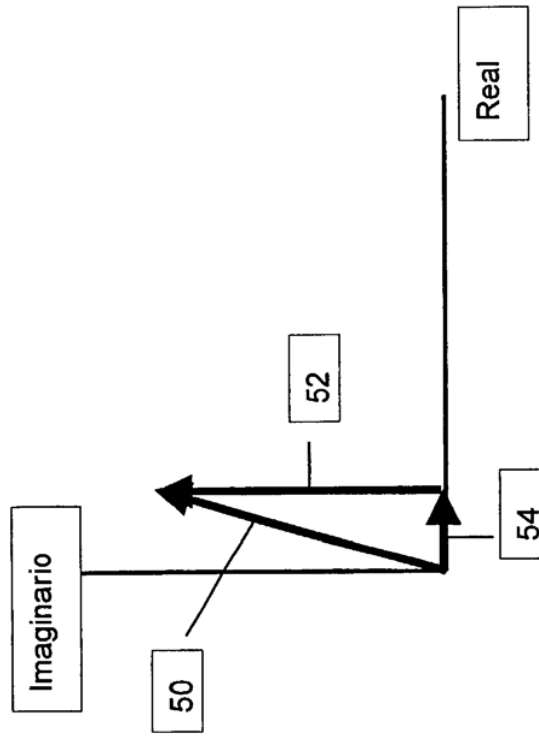


fig 13

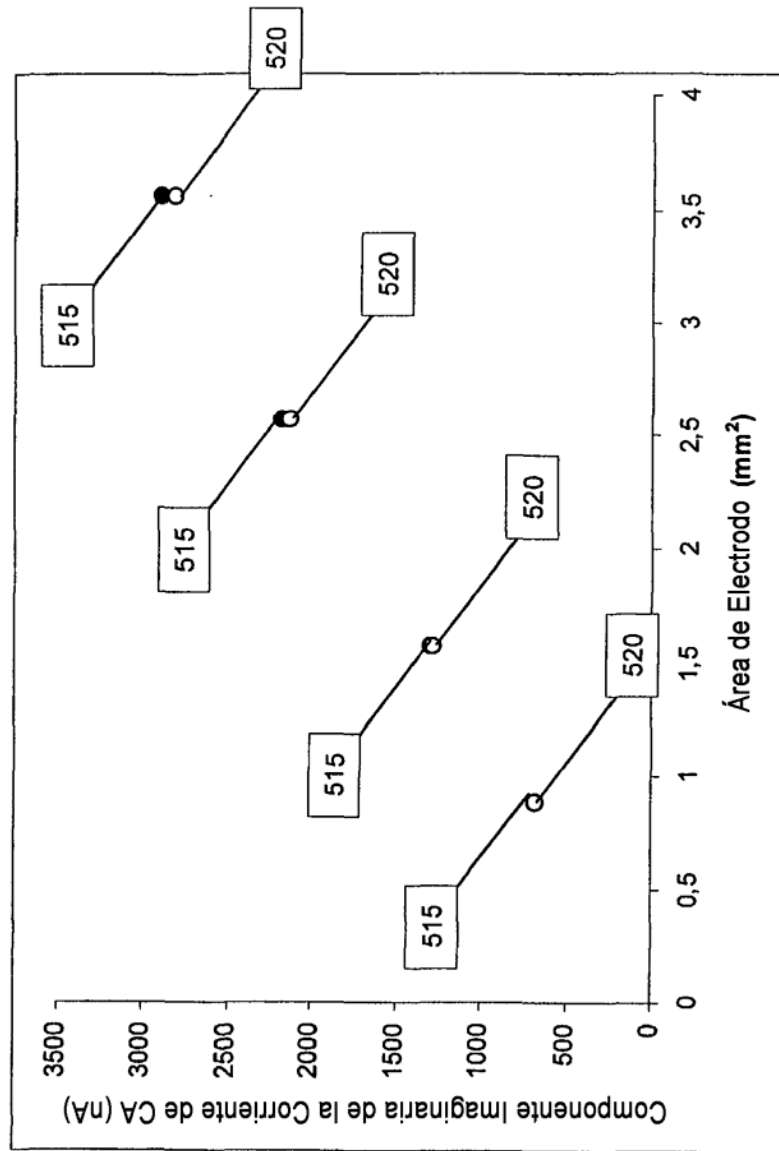


fig 14

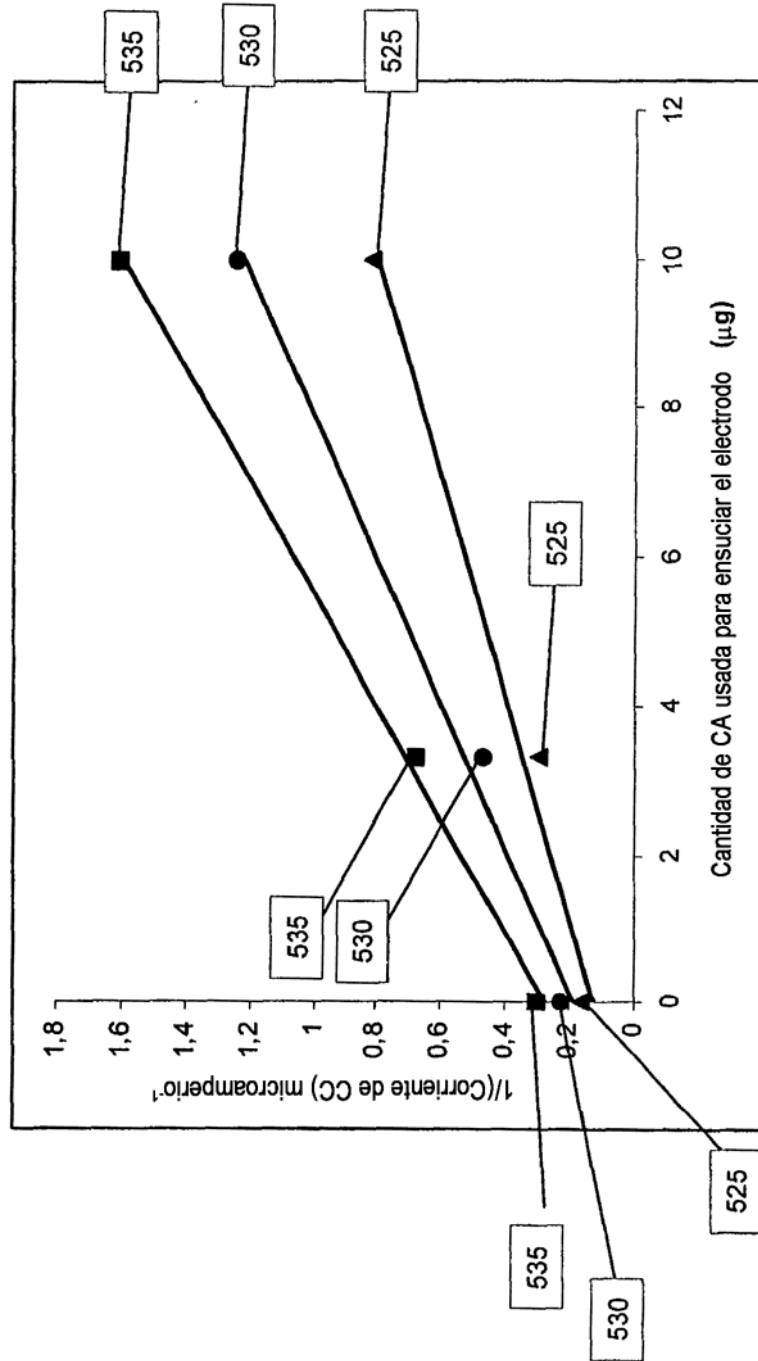


fig 15

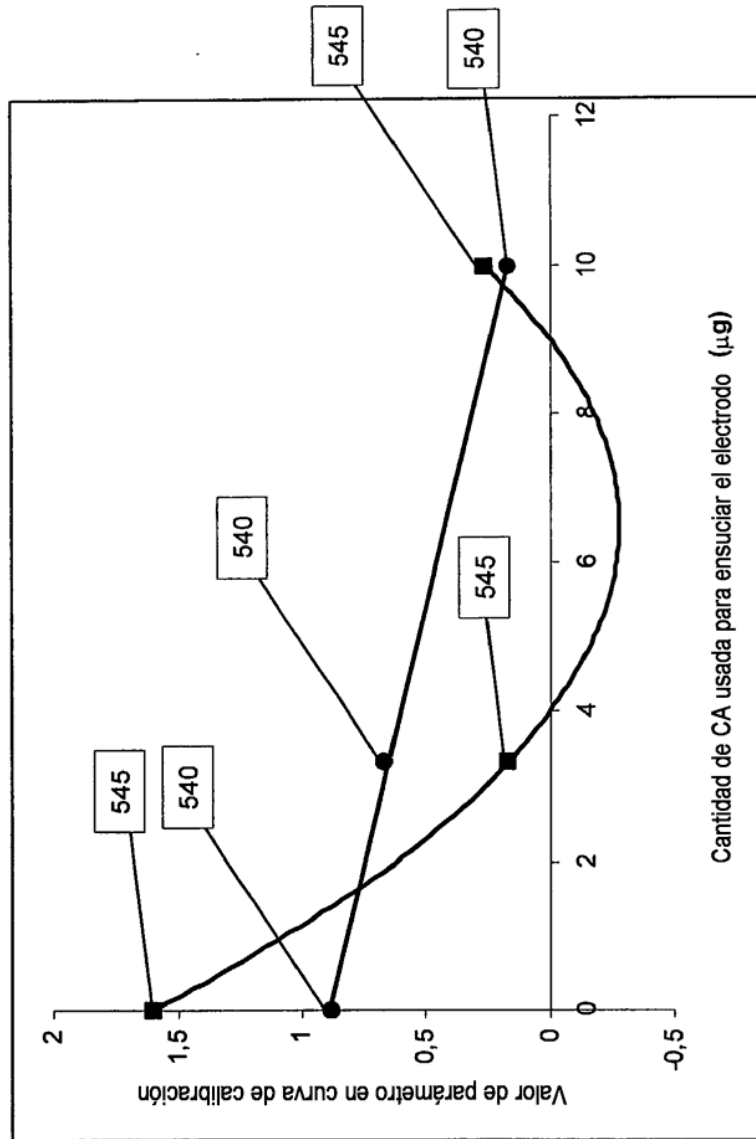


fig 16

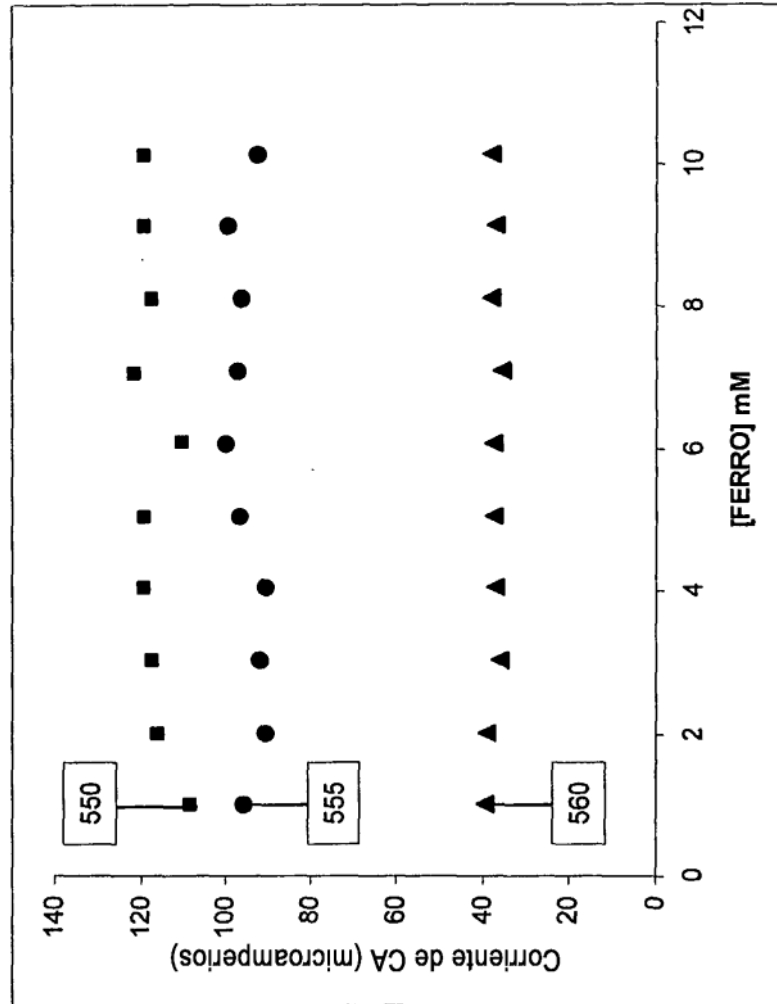


fig 17

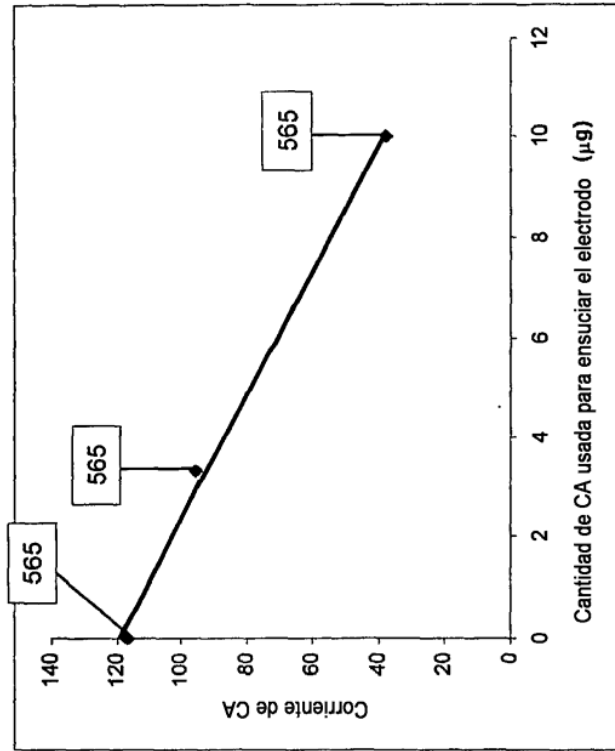


fig 18

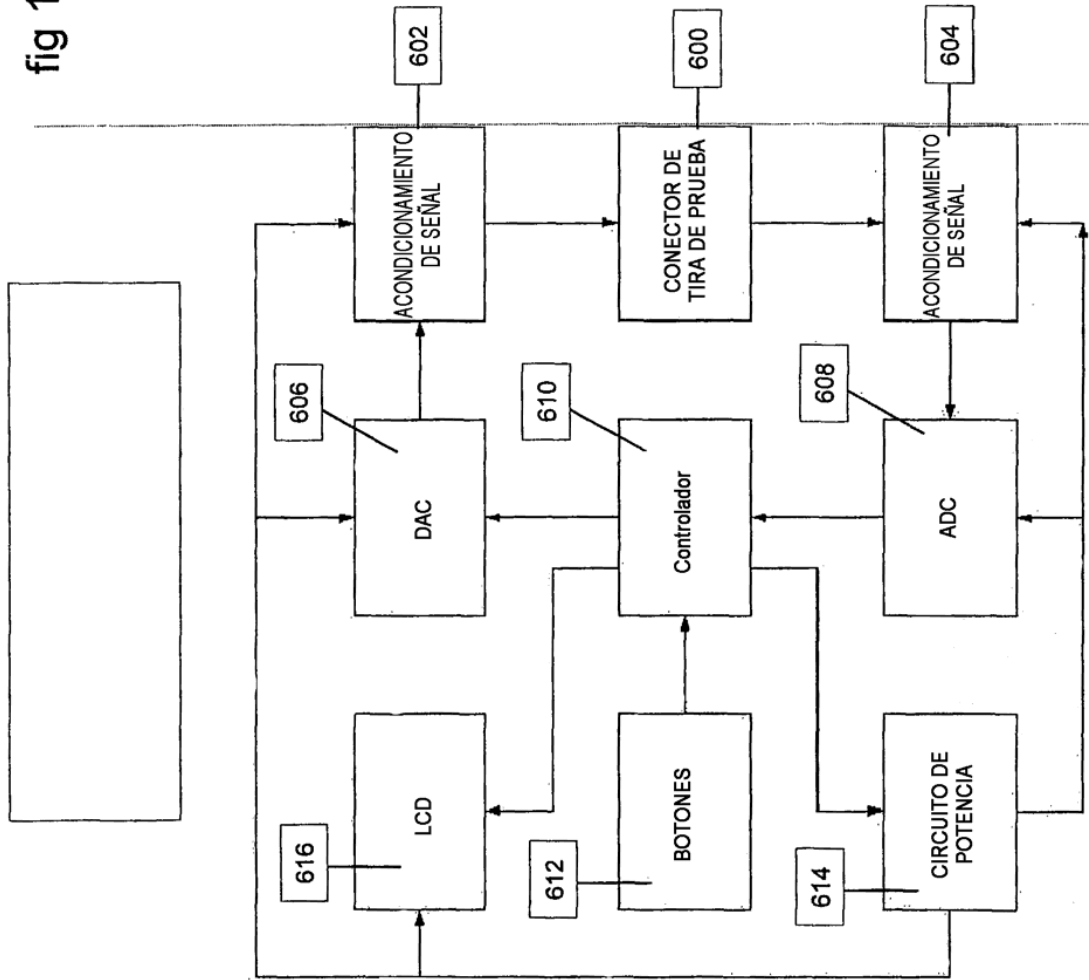




fig 19

