

OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 279 692**

② Número de solicitud: 200501703

⑤ Int. Cl.:  
**G01N 21/64** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **02.07.2005**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.08.2007**

Fecha de la concesión: **27.06.2008**

⑭ Fecha de anuncio de la concesión: **16.07.2008**

⑮ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**16.07.2008**

⑰ Titular/es: **Universidad de Granada  
Hospital Real, Cuesta del Hospicio, s/n  
18071 Granada, ES**

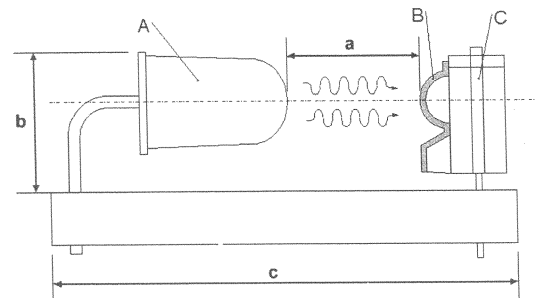
⑱ Inventor/es: **Capitán Vallvey, Luis Fermín;  
Palma López, Alberto José;  
Fernández Ramos, María Dolores;  
López González, Francisco Javier y  
Asensio Morcillo, Luis Javier**

⑳ Agente: **No consta**

⑳ Título: **Instrumento portátil y método para la medida de la concentración de gases.**

㉑ Resumen:

Instrumento portátil y método para la medida de la concentración de gases, concretamente, un sensor para la medida de un analito de interés en un medio. En particular, la invención se refiere a un instrumento basados en atenuación de fosforescencia por parte del analito de interés en gases atmosféricos con sistema de compensación de temperatura y de recalibración con un solo punto. Esta invención presenta un diseño más compacto, una mejor disposición en la alineación y reducción de los componentes optoelectrónicos, una mayor eficacia en la recogida y procesado de la información que algunos otros previamente descritos, resultando en un instrumento de medida de alta fiabilidad, portátil y de bajo coste.



ES 2 279 692 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Instrumento portátil y método para la medida de la concentración de gases.

5 **Sector de la técnica**

Análisis químicos utilizando procedimientos rápidos.

**Estado de la técnica**

10

La determinación de gases tiene gran importancia en diversos campos como puede ser medicina, medioambiente, biología, agricultura, seguridad en el trabajo, defensa, transporte o industria, así automovilística, aeroespacial, agroalimentaria o minera.

15

Existen diferentes tipos de sensores para gases y vapores, así los que se basan en medidas eléctricas como los de semiconductores de óxidos metálicos (MOS), de amplio rango de utilización aunque inherentemente no son específicos ni estables; los de conductividad térmica (catarómetro) usados tanto para gases individuales como en mezclas, aunque presentan amplio rango de respuesta aunque no son muy sensible ni selectivos; los de arrollamiento catalítico para mezclas inflamables de gases, son susceptibles de envenenamiento y necesitan del empleo de factores de corrección; los electroquímicos están basados en reacciones químicas, pueden ser mas selectivos que los anteriores aunque presentan problemas relacionados con el alto valor de la corriente residual, deriva y lentitud en la respuesta.

20

Los sensores de tipo óptico para gases pueden utilizar propiedades intrínsecas como es el caso de dióxido de carbono, metano, dióxido de azufre u otros, basado en su absorción IR y menos frecuentemente en su absorción UV.

25

Otras estrategias usadas para el desarrollo de sensores para gases se basan en la fotoionización mediante radiación UV usadas para la detección de vapores orgánicos; el empleo de la ionización de llama presenta, por otra parte, una considerable sensibilidad. Los detectores fotoacústicos basados en la combinación de radiación IR y sensores de cambios transitorios de presión permiten la determinación precisa de concentraciones. El uso de tecnología SAW (Surface Acoustic Wave) esta permitiendo el desarrollo de nuevos tipos de sensores basado en la modificación de propiedades de semiconductores por adsorción de moléculas gaseosas.

30

Un grupo de sensores ópticos de gran interés son los basados en la atenuación de luminiscencia de un luminóforo por parte de atenuadores dinámicos como puede ser el oxígeno, dióxido de azufre (T.M.A. Razeq, M.J. Miller, S.S.M. Hassan y M.A. Arnold, Talanta, 50, 491-498 (1999)), óxidos de nitrógeno (D.Y. Sasaki, S. Singh, J.D. Cox y P.I. Pohl, Sensors Act.B, 72, 51-55 (2001)), halotano, cloruros (C. Huber, T. Werner, O.S. Wolfbeis, D.E. Bell y S. Young, Optical-chemical Sensor, U.S. Patent Application 20020034826, 2003), cloro (S. Kar y M.A. Arnold, Talanta, 42, 663-670 (1995)), en este caso mediante atenuación por cloruro originado en disolución, u otros. De todos ellos, los más interesantes y demandados con mucho son los sensores de oxígeno.

35

Los sensores ópticos de oxígeno se han desarrollado en la pasada década y presentan diversas ventajas sobre los electroquímicos, así: pequeño tamaño, bajo precio, respuesta rápida, no consumen oxígeno, pueden realizar detección remota como detección invasiva para medidas *in vivo*, no necesitan electrodo de referencia ni conexiones eléctricas, están libres de interferencias electromagnéticas, presentan inercia frente a la variación de velocidad de flujo y agitación así como a presiones externas altas, no presentan sensibilidad cruzada a dióxido de carbono y ácido sulfhídrico, entre otros, no sufren contaminación en la membrana y no se envenenan con facilidad.

40

Los más utilizados son los sensores basados en la desactivación de emisión luminiscente, como fluorescencia o fosforescencia, de luminóforos. Este proceso de atenuación de luminiscencia, que es de atenuación dinámica y se da con gran eficacia, obedece la ecuación de Stern-Volmer siendo un proceso que no consume oxígeno. Permiten el acoplamiento a fibra óptica, ofreciendo la posibilidad de miniaturización del sistema, monitorización remota y multianálisis.

50

Los sensores basados en atenuación de fosforescencia ofrecen ventajas sobre los basados en atenuación de fluorescencia. Así el mayor tiempo de vida de la fosforescencia aumenta considerablemente las posibilidades de choques entre las especies reactivas (luminóforo y analito). Por otra parte, la señal analítica medida es una emisión fosforescente que presenta bajo nivel de ruido, pues se ha obtenido después de cesar la radiación excitante y la débil luminiscencia de fondo. Además, en la medida de fluorescencia influyen cambios en las características de dispersión o absorción de radiación por parte de la muestra. Por ello, los sensores basados en fosforescencia presentan mayor sensibilidad. Por último, la gran separación entre estados singletes y tripletes, los altos valores de longitudes de onda de excitación y emisión, y los elevados tiempos de vida permiten el diseño de instrumentación óptica simple y de bajo precio.

60

Los luminóforos más utilizados suelen pertenecer a alguno de los siguientes grupos: a) hidrocarburos aromáticos policíclicos, tales como pireno, ácido pirenobutírico, fluoranteno, difenilantraceno u otros. Son atenuadores eficientes, con tiempos de vida ( $\tau$ ) del orden de 200 ns, aunque presentan el inconveniente de absorber radiación solo en la región ultravioleta, lo que supone mayor problema para el diseño de instrumentación. Además el corto tiempo de vida hace que la instrumentación sea más compleja y cara; b) Colorantes que absorben a longitud de onda larga, así tripaflavina, benzoflavina, safranina, porfirinas o eritrosina (tiempo de vida ( $\tau$ ): 250  $\mu$ s). Presentan una absorción y

65

emisión favorables aunque baja fotoestabilidad; c) complejos organometálicos de los que destacan varios grupos, así quelatos de rutenio con ligandos tipo bipyridilo ( $\tau$ : 0,1 - 7  $\mu$ s), quelatos de lantánidos ( $\tau$ : 1  $\mu$ s - 2 ms) y metaloporfirinas ( $\tau$ : 20  $\mu$ s - 1 ms). Aunque presentan diferentes mecanismos de excitación, estos complejos suelen mostrar absorción en el visible, un gran desplazamiento Stokes (150-200 nm) y largos tiempos de vida. De manera general, en estos sensores ópticos el luminóforo se incorpora a una membrana permeable al gas y se mide la luminiscencia que muestra esa membrana. El material de membrana tiene una gran importancia determinando tanto la permeabilidad del oxígeno como el tiempo de vida del estado excitado del luminóforo (R. Ramamoorthy, P.K. Dutta y S.A. Akbar, *J.Mat.Sci.*, 38, 4271-4282 (2003)); (K.A. Kneas, W. Xu, J.N. Demas y B.A. DeGraff, *App.Spec.*, 51, 1346-1350 (1997)); (R.E. Slovacek y K.J. Sullivan, *Oxygen Sensing Membranes*, US 6,074,607, 2000).

Se han utilizado diversas estrategias para el desarrollo de sensores de atenuación de luminiscencia; principalmente, los basados en medidas de intensidad y los de tiempo de vida (tiempo resuelto).

Los sensores basados en medida de la intensidad de luminiscencia utilizan instrumentación convencional como pueden ser espectrómetros de luminiscencia provistos de: 1) célula de flujo en la que se encuentra el luminóforo dispuesto en una membrana o en un sólido particulado (A. Sanz-Medel, R. Pereiro-García, M.E. Diaz-García y Y.M. Liu, *Oxygen-quenchable phosphorescent materials and their applications in oxygen sensing*, EP 065355, 1994); 2) sistema de fibra óptica en cuyo extremo distal se encuentra dispuesto el luminóforo (T.B. Hirschfeld, *Remote multiposition information gathering system and method*, US 4,577,109, 1986); (J. Kane, *Optical probe for measuring pH and oxygen in blood and employing a composite membrane*, US 4,785,814, 1988). Esta instrumentación es de aplicabilidad limitada para el desarrollo de sensores por tamaño y precio. Alternativamente, se ha desarrollado instrumentación portátil de bajo costo basada en medidas de intensidad que usa electrónica de estado sólido (LED, fotodiodos y componentes analógicos y digitales) junto con sonda de fibra óptica, especialmente para medidas de oxígeno disuelto (W. Trettnak, W. Gruber, F. Reininger y I. Klimant, *Sensors Act.B.*, 29, 219-225 (1995)) o con la membrana insertada en el circuito para medida en gases (D. Xiao, Y. Mo y M.M.F. Choi, *Meas.Sci.Technol.*, 14, 862-867 (2003)); (D.B. Papkovsky, G.V. Ponomarev, V. Ogurtsov y A.A. Dvornikov, *Proc.SPIE*, 54-60 (1993)). Se han patentado diversos sistemas basados en este principio para la determinación de oxígeno tanto en gases como en disolución acuosa (C.C. Stanley y J.L. Kropp, *Apparatus and method for continuously detecting oxygen in a gas stream*, US 3,725,658, 1971); (D.W. Lubbers y N. Opitz, *Method and arrangement for measuring the concentration of gases*, US 4,003,707, 1977); (J.R. Bacon y J.N. Demas, *Apparatus for oxygen determination*, US 5,030,420, 1991).

La atenuación de luminiscencia tiene lugar de acuerdo con la ecuación de Stern-Volmer, siendo necesario medir la disminución de intensidad de emisión respecto a la intensidad en ausencia de oxígeno  $I_0$ . Es habitual observar curvaturas en las gráficas de Stern-Volmer que se pueden justificar considerando que existen diferentes tipos de posiciones de atenuación en la membrana, pues el polímero matriz no es un medio estructuralmente homogéneo, lo que da como resultado que el luminóforo se inmoviliza heterogéneamente. Para justificar los datos experimentales se usan diferentes modelos, así el de dos posiciones de atenuación o el de multiposición (J.N. Demas y B.A. DeGraff, *Sensors Act.B.*, 11, 35-41 (1993)); (A. Mills, *Sensors Act.B.*, 51, 60-68 (1998)).

La medida de esta intensidad en ausencia de oxígeno se puede obtener de diversas formas; así Stevens (B. Stevens, *Instrument for determining oxygen quantities by measuring oxygen quenching of fluorescence radiation*, US 3,612,866, 1971) la obtiene usando dos membranas conteniendo el mismo luminóforo, pireno, permeable a oxígeno la una e impermeable la otra. Lubbers (D.W. Lubbers y N. Opitz, *Method and arrangement for measuring the concentration of gases*, US 4,003,707, 1977) y Peterson (J.I. Peterson y R.V. Fitzgerald, *Fiber optic pO<sub>2</sub> probe*, US 4,476,870, 1984) proponen estimar  $I_0$  a partir de la propia radiación de excitación dispersada. Este sistema presenta una limitación intrínseca pues no tiene en cuenta la posible fotodegradación del luminóforo. Una segunda forma de medir la concentración de oxígeno es medir la velocidad de decaimiento, para lo que se mide la intensidad a diferentes retardos. En el caso de un decaimiento exponencial simple solo serán necesarios dos puntos, mientras que en el caso de que no lo sea, serán necesarios ajustes a exponenciales dobles o multiexponenciales, lo que complica el establecimiento de las funciones de calibrado (G.E. Khalil, M.P. Gouterman y E. Green, *Method for measuring oxygen concentration*, US 4,810,655, 1989). Esta forma de medida presenta la ventaja de ser menos dependiente de la configuración del sensor o variaciones en el camino óptico.

Los métodos basados en medidas de intensidad presentan una serie de inconvenientes relacionados con la calibración y con la estabilidad a largo plazo. Ello es debido a que la intensidad de luminiscencia puede venir afectada por cambios en la intensidad de la fuente luminosa, por variación en la eficiencia de transmisión de la óptica, por fotooxidación o lixiviación del luminóforo, por fluorescencia intrínseca de la muestra o bien por otras características ópticas de la misma. Uno de los principales problemas de los colorantes habitualmente usados es su fotolabilidad, pues la radiación electromagnética induce reacciones fotoquímicas que conducen a la descomposición del indicador, reduciendo la vida útil del sensor. La fotodescomposición origina una disminución concomitante de la señal, la fotoderiva.

Las fluctuaciones de intensidad debidas a la fuente y a la transmisión se pueden corregir utilizando configuraciones de doble haz. Los problemas de fotodescomposición, que dan lugar a deriva, se pueden evitar usando luminóforos más estables y minimizando la exposición a la luz, bien reduciendo la intensidad luminosa de la fuente, la duración de cada ciclo de medida o bien empleando señales relativas.

Se han desarrollado algunos instrumentos disponibles comercialmente para la medida de oxígeno basados en dicha medida de intensidad como es el caso de Ocean Optics (Ocean Optics, Theory of operation: oxygen sensor

## ES 2 279 692 B1

2001, <http://www.oceanoptics.com/products/foxytheory.asp#how>) y Fluorometrix (Fluorometrix, Fluorometrix 2004, <http://www.fluorometrics.com/Default.asp>), aunque presentan el inconveniente de su alto costo (1700-2500 \$), tamaño relativamente grande, sistema sensor complejo y necesidad de un ordenador para el control y adquisición de datos.

5 Los métodos de tiempo resuelto se han utilizado para tratar de evitar los problemas que presentan las medidas de intensidad, ya que en una primera aproximación el tiempo de vida es independiente tanto de la intensidad de radiación de la fuente (fluctuaciones, envejecimiento) como de la radiación ambiente y de la fotooxidación o lixiviación del luminóforo, lo que reduce los requerimientos de los componentes ópticos de la instrumentación y precisa una recalibración menos frecuente que los sistemas basados en intensidad.

10 Para las medidas de tiempo resuelto, los dos tipos de métodos mas usados son los que trabajan en el dominio del tiempo o de la frecuencia. El tiempo de decaimiento de luminiscencia se puede medir directamente usando una fuente de luz pulsada y detectores de alta velocidad; así es frecuente el empleo combinado de láser, fotomultiplicador y osciloscopio, lo que da lugar a instrumentación de gran tamaño y alto precio, que es poco útil para muchos propósitos. Son mucho más interesantes y utilizados los métodos de modulación de fase dentro de los del dominio de la frecuencia. Para ello, se emplea en vez de una fuente pulsada, una fuente de radiación modulada, habitualmente de forma sinusoidal. Como consecuencia, la intensidad de emisión luminiscente variará sinusoidalmente a la misma frecuencia que la señal de excitación, pero con un desplazamiento de fase relacionado con el tiempo de relajación. La emisión modulada se mide con un detector convencional (fotodiodo o fotomultiplicador) y se analiza con un detector sensible a fase, así un amplificador lock-in.

20 Los métodos de modulación de fase se pueden llevar a cabo de forma univariante o multivariante. En los primeros, se origina el parámetro dependiente de la concentración de atenuador cuando se trata la muestra con la señal de excitación, así podemos medir: 1) desplazamiento de fase a frecuencia de modulación constante; 2) factor de demodulación a frecuencia de modulación constante; 3) frecuencia de modulación a desplazamiento de fase constante ó 4) frecuencia de modulación a factor de demodulación constante.

30 Las medidas de desplazamiento de fase han sido las mas utilizadas para el diseño de sensores de oxígeno, tanto basados en la atenuación de fluorescencia ( $\tau \sim 5 \mu s$ ) usando LED como fuente luminosa y fotomultiplicador como detector (M.E. Lippitsch, J. Pusterhofer, M.J.P. Leiner y O.S. Wolfbeis, *Anal.Chim.Acta*, 205, 1-6 (1988)); (G. Holst, T. Köster, E. Voges y D.W. Lübbers, *Sensors Act.B*, 29, 231-239 (1995)), como en atenuación de fosforescencia. Aquí el empleo de luminóforos con mayores tiempos de vida (10-100  $\mu s$ ) ha permitido disminuir las frecuencias de modulación necesarias y simplificar el sistema electrónico (uso de LED y fotodiodos) (W. Trettnak, C. Kolle, F. Reninger, C. Dolezal y P. O'Leary, *Sensors Act.B*, 35-36, 506-512 (1996)); (C. McDonagh, C. Kolle, A.K. McEvoy, D.L. Dowling, A.A. Cafolla, S.J. Cullen y B.D. MacCraith, *Sensors Act.B*, B74, 124-130 (2001)); (A.E. Colvin, T.E. Phillips, J.A. Miragliotta, R.B. Givens y C.B. Barger, *John Hopkins APL Technical Digest*, 17, 377-384 (1996)); (A.E. Colvin, *Fluorescence Sensing Device*, US 5,910,661, 1999). También se ha propuesto utilizar como parámetro analítico la frecuencia de modulación de forma que el desplazamiento de fase se mantenga constante a 45° (J.N. Dukes, W.F.Jr. Carlsen y R.J. Pittaro, *Exponential decay time constant measurement using frequency of offset phase-locked loop: system and method*, US 4,716,363, 1987). Ha sido desarrollado un sistema comercial para la determinación de oxígeno basado en medidas de frecuencia de modulación (J.D.S. Danielson, *Sensing device and method for measuring emission time delay during irradiation of targeted samples*, US 6,157,037, 2000); (PhotoSense LLC, *Optical Oxygen Sensor 2004*, <http://www.uphotosense.com/products.html>).

45 El empleo de técnicas de demodulación de fase presenta el problema de la gran influencia que ejerce la radiación de fondo, el cual se ha obviado midiendo la amplitud de la señal a dos frecuencias de modulación diferentes (D. Andrzejewski, I. Klimant y H. Podbielska, *Sensors Act.B*, 84, 160-166 (2002)).

50 En los sistemas multivariantes, la señal de excitación contiene un amplio rango de frecuencias y es el desplazamiento de fase o bien el factor de demodulación a diversas frecuencias lo que se emplea para la determinación del analito, previa deconvolución de la señal obtenida (R.J. Alcalá, *Biomedical fiber optic probe with frequency domain signal processing*, EP 442276, 1991); (J.G. Bentsen, *Emission quenching sensors*, US 5,518,694, 1996). Este tipo de sensores multivariantes presentan el inconveniente de la mayor complejidad de los sistemas de excitación y detección.

55 Al objeto de evitar los problemas que suelen presentar los sensores de atenuación de luminiscencia debido a fluctuaciones o bien deriva de la señal por cambios en la intensidad de la fuente luminosa, variación en la eficiencia de transmisión de la óptica, fotooxidación o lixiviación del luminóforo, fluorescencia intrínseca de la muestra o bien por otras características ópticas de la misma, se han usado diversas estrategias. Uno de los problemas más importantes lo origina la fotooxidación del luminóforo, pues afecta a las intensidades de emisión ya que los parámetros de tiempo de vida no se modifican al no emitir radiación los fotoproductos y no inducirse cambios en el microambiente del luminóforo.

60 Una de las soluciones utilizadas consiste en el empleo de señales relativas en vez de absolutas, para lo cual se emplea una molécula de referencia. La molécula de referencia puede ser el propio luminóforo, pues algunas moléculas poseen bandas de emisión que muestran diferente, poca o ninguna atenuación por oxígeno, con lo que el cociente de señales es escasamente dependiente de la fotodescomposición de la molécula. Así, se han utilizado con luminóforos tipo hidrocarburo aromático policíclico (G. Allen, H.K. Hui y A. Gottlieb, *Method and material for measurement of oxygen concentration*, US 5,094,959, 2004); (S.M. Klainer y K. Goswami, *Method of self-compensating a fiber optic chemical sensor*, US 5,094,958, 1992); (E.D. Lee, T.C. Werner y W.R. Seitz, *Anal.Chem.*, 59, 279-283 (1987)). La

limitación que presenta este sistema es que no sirve para otros luminóforos de amplio uso como son los complejos organometálicos de transición que no muestran ninguna banda que sea poco atenuable por oxígeno. Una alternativa propuesta por Kostov y Rao (Y. Kostov y G. Rao, *Sensors Act.B*, 90, 139-142 (2003)) es emplear sustancias que tienen la propiedad de emitir simultáneamente fluorescencia y fosforescencia y aprovechan que la atenuación del estado triplete depende en gran medida de la concentración de oxígeno, mientras que la intensidad singlete apenas se ve afectada. El sistema de cociente de ambas señales lo usan tanto con intensidades como con tiempos de vida, usando técnicas en el dominio de la frecuencia, y también con medidas de polarización de fluorescencia.

Un segundo grupo de sistemas propone emplear moléculas de referencia distintas de las indicadoras (luminóforo), que cumplan la condición de ser insensibles al ambiente y que fotodescompongan a la misma velocidad que el luminóforo, aunque esto último es lo más difícil y supone una de las limitaciones de estos sistemas. Así Kane *et al.* (J. Kane, R. Martin y A. Perkovich, *Ratiometric fluorescence method of making for measuring oxygen*, US 5,728,422, 1998) proponen usar complejos de rutenio-fenantrolina como indicador luminóforo y derivados del perileno como indicador de referencia ya que cumplen la condición de que la constante de Stern-Volmer,  $K_{SV}$ , de este último es  $\leq 5\%$  de la del luminóforo y con máximos de emisión diferenciados. Hauenstein *et al.* (B.L. Hauenstein, R. Picerno, H.G. Brittain y J.R. Nestor, *Luminescent oxygen sensor based on a lanthanide complex*, US 4,861,727, 1989) emplean cociente de señales procedentes de una membrana conteniendo dos complejos de lantánidos con bases de Schiff o  $\beta$ -dicetonas de los que uno muestra fosforescencia atenuable por oxígeno y el otro no, planteamiento muy similar al usado por Nestor *et al.* (J.R. Nestor, J.D. Schiff y B.H. Priest, *Excitation and detection apparatus for remote sensor connected by optical fiber*, US 4,900,933, 1990). Xu *et al.* (H. Xu, J.W. Aylott, R. Kopelman, T.J. Miller y M.A. Philbert, *Anal.Chem.*, 73, 4124-4133 (2001)) utilizan un planteamiento parecido encapsulando en nanopartículas un luminóforo sensible a oxígeno, un complejo de rutenio-fenantrolina, y un colorante fluorescente insensible, Oregon Green 488. También se han inmovilizado conjuntamente parejas de indicadores fluorescente (referencia) y fosforescente (H. Xu, J.W. Aylott, R. Kopelman, T.J. Miller y M.A. Philbert, *Anal.Chem.*, 73, 4124-4133 (2001)). El problema que presentan estos procedimientos es que suele haber variaciones en la velocidad de fotodescomposición de ambas moléculas, lo que lo hace poco útiles. Cuando la proximidad de las longitudes de onda de excitación y emisión supone un problema, se ha propuesto el empleo de mezclas de indicadores capaces de transferir energía de uno a otro (C.C. Nagel, J.G. Bentsen, M. Yafuso, A.R. Katritzky, J.L. Dektar y C.A. Kipke, *Sensors and methods for sensing*, US 5,498,549, 1996).

Otra estrategia usada para reducir el problema de la fotoderiva debida a procesos de fotooxidación del luminóforo, es el empleo de aditivos estabilizantes. El producto más abundante originado en el proceso de atenuación de luminiscencia por oxígeno es el oxígeno singlete, especie muy reactiva que puede provocar la fotooxidación de luminóforos. El empleo de diferentes procedimientos para eliminar, por reacción química, o desactivar, por atenuación física, el oxígeno singlete es un procedimiento muy efectivo para proteger polímeros y luminóforos de fotooxidación. Un sistema muy utilizado es la adición de aminas terciarias (R.S. Atkinson, D.R.G. Brimage, R.S. Davidson y E. Gray, *J.C.S.Perkin*, 960-964 (1973)) y especialmente el 1,4-diazabicyclo[2,2,2] octano (DABCO) (P. Hartmann y M.J.P. Leiner, *Optochemical sensor*, US 6,254,829, 2001).

No obstante todo lo dicho, la fotoderiva no es el único problema que se presenta en estos sensores, pues el frecuente empleo de fibra óptica origina como antes se ha indicado problemas de pérdida de señal. Se han usado diversos procedimientos para compensar éstas pérdidas. Lo *et al.* (K.P. Lo, *Loss compensation using digital-signal processing in fiber-optic fluorescence sensors*, US 6,207,961, 2001) emplean una señal modulada que tras excitar la fluorescencia regresa al sistema y es comparada con la señal fluorescente originada. De esta manera, se compensan posibles pérdidas y con el uso de técnicas de modulación-demodulación se elimina la luz ambiente.

Es bien conocido que la temperatura afecta a la intensidad de luminiscencia y al tiempo de vida del estado excitado. Tanto la frecuencia de colisiones entre el analito y el luminóforo como el coeficiente de difusión del analito están influenciados por la temperatura; cuanto mayor sea el número de colisiones mayor será la desactivación no radiante y, por tanto, menor será la luminiscencia emitida por el luminóforo (W. Trettnak *Optical Sensors Based on Fluorescence Quenching in Fluorescence Spectroscopy - New Methods and Applications*, ed. O.S. Wolfbeis, Springer, Berlin, 1993). En consecuencia, la variación de temperatura provoca la modificación de la pendiente de la función de calibrado. Se han empleado diversas soluciones para compensar el efecto de la temperatura. Frecuentemente se han utilizado tanto instrumentos de sobremesa como portátiles termostataados (W. Trettnak, W. Gruber, F. Reininger y I. Klimant, *Sensors Act.B*, 29, 219-225 (1995)); (D.W. Lubbers y N. Opitz, *Method and arrangement for measuring the concentration of gases*, US 4,003,707, 1977). En diversas ocasiones se ha estudiado la dependencia de la temperatura, así los estudios realizados por Demas *et al.* (J.N. Demas y B.A. DeGraff, *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering, Proc.SPIE Chemical, Biochemical, and Environmental Fiber Sensors IV*, 71-75 (1993)) (J.N. Demas y B.A. DeGraff, *Sensors Act.B*, 11, 35-41 (1993)), aunque estos autores no indican como es posible corregir dicha influencia. Se han usado dos tipos de soluciones; a) mediante medida óptica de temperatura usando emisiones de luminiscencia insensibles al oxígeno, pero altamente dependientes de la temperatura, bien de complejos quelatos o de materiales inorgánicos (I. Klimant y G. Holst, *Optical temperature sensors and optical-chemical sensors with optical temperature compensation*, US 6,303,386, 2001); b) mediante medida eléctrica de la temperatura y modelado de la dependencia de ésta para establecer su corrección. Así Colvin (A.E. Colvin, T.E. Phillips, J.A. Miragliotta, R.B. Givens y C.B. Barger, *John Hopkins APL Technical Digest*, 17, 377-384 (1996)) establece los coeficientes de variación entre 23 y 33°C y propone la corrección aplicando dichos coeficientes. En otra ocasión (Ocean Optics FOXY Fiber Optic Oxygen Sensor System Manual, 2002) se establece y modela la dependencia con la temperatura en un intervalo más amplio (0-75°C) sugiriendo que cuando se obedece la ecuación de Stern-Volmer tanto la intensidad inicial como la constante de Stern-Volmer muestran una dependencia cuadrática con la temperatura, lo que obliga a

conocer 6 constantes de proporcionalidad. En el caso de que la relación de Stern-Volmer presente curvatura y se use una ecuación de segundo orden, tanto la intensidad inicial como la primera y segunda constante dependerán de la temperatura de forma cuadrática, lo que obliga a establecer y emplear nueve constantes de proporcionalidad.

5 Es de gran interés el desarrollo de instrumentación portátil y autónoma que permita la calibración con un solo punto y corrija la influencia de la temperatura.

Las curvas de calibración representan la expresión matemática, o la tabla de valores, que permite calcular la concentración de analito a partir de la información detectada por la zona sensora y la temperatura (ésta última en los casos de sistemas con corrección térmica). Típicamente, se requieren los procedimientos de calibración del sensor en dos puntos y la recalibración. La calibración inicial se realiza tras el montaje del sensor o inmediatamente de su primer uso. La recalibración se precisa habitualmente durante la vida útil del sensor para mantener el grado de exactitud requerido en las medidas. La calibración habitual en sensores de atenuación utiliza la ecuación de Stern-Volmer y precisa de la determinación de la señal, intensidad o tiempos de vida, tanto en ausencia como en presencia de diferentes concentraciones conocidas de analito. Es frecuente el empleo de calibraciones con dos o tres puntos, de los que uno de ellos es en ausencia de analito (J.I. Peterson y R.V. Fitzgerald, Fiber optic pO<sub>2</sub> probe, US 4,476,870, 1984). Se han utilizado diversos procedimientos para lograr la calibración con un punto, tanto usando medidas de tiempos de vida (J.G. Bentsen, Emission quenching sensors, US 5,518,694, 1996) como de intensidad; así Choi y Xiao (M.M.F. Choi y X. Dan, Analyst, 124, 695-698 (1999)) proponen una modificación de la ecuación de Stern-Volmer que permite la calibración con un punto al no ser esencial el valor de I<sub>0</sub>. Sin embargo, todos estos sistemas operan a temperatura constante y lo habitual, salvo para aplicaciones concretas, como la medida de oxígeno en sangre "in vivo", es que pueda variar la temperatura de la muestra.

Si se desea corregir los efectos térmicos será necesario establecer la función de calibración para diferentes temperaturas. Este procedimiento que es necesario para evaluar la respuesta al ensayar distintos compuestos luminiscentes no es deseable cuando, una vez caracterizado un determinado sensor y construida su curva de calibración, se utiliza dentro de un sistema de medida. Por tanto, un instrumento de medida que permita la recalibración más sencilla posible, en un solo punto, sería muy deseable.

## 30 Explicación de la invención

### Objeto de la invención

La invención se refiere a un instrumento *portátil* y un procedimiento para la medida de la concentración de un analito gaseoso en un medio gaseoso, basado en la atenuación que dicho analito produce en la emisión fosforescente de un luminóforo, con compensación de los efectos de la temperatura. El instrumento se puede configurar para permitir recalibración con un solo punto. Objetivos primordiales de esta invención han sido diseñar un instrumento autónomo de altas prestaciones, respuesta estable, bajo peso y dimensiones y bajo consumo de energía.

### 40 Resumen de la invención

Esquemáticamente, las características técnicas y funcionales de la invención en la zona sensora del instrumento son:

- 45 a) Fuente de luz de características adecuadas, por ejemplo un diodo emisor de luz, para la excitación de la fosforescencia del luminóforo.
- b) Un fotodetector que genera una señal de salida binaria, es decir, caracterizada por dos niveles de tensión, dependiendo de que la intensidad de la emisión fosforescente mencionada que reciba éste, esté por encima o no de un cierto umbral. Este dispositivo está situado a pocos milímetros de la fuente de excitación mencionada.
- 50 c) Una película sensora conteniendo las sustancias necesarias para producir una señal luminiscente estable en el tiempo y dependiente de la concentración de analito. Dicha película, que es permeable al analito, se dispone en contacto con la cara activa (lente colectora) del fotodetector mencionado de forma que la emisión por el indicador fosforescente dependa de la concentración de dicho analito en la película. Si fuera necesario podría incluirse en esta película un compuesto fotoestabilizante que redujese la fotoderiva de la emisión fosforescente del indicador tras sucesivas excitaciones luminosas.
- 55 d) Un sensor de temperatura situado a pocos milímetros del conjunto película película sensora-fotodetector.

El procedimiento de medida se resume en:

- 65 1. Toma del valor de la temperatura para su uso posterior en la superficie de calibración para la obtención de la concentración de analito.
2. Excitación luminosa, recibiendo una respuesta del fotodetector en estado alto durante un cierto período de tiempo en el cual la intensidad de la fosforescencia está por encima de un cierto valor (umbral).

## ES 2 279 692 B1

3. Conversión a un valor numérico del mencionado tiempo de vida de la emisión fosforescente por encima del umbral en dos fases:
  - a. Conversión a una señal de alta frecuencia.
  - b. Conversión del tren de pulsos de alta frecuencia al valor numérico correspondiente mediante un contador digital.
4. Realización de sucesivas mediciones con un posterior promediado de los valores obtenidos para minimizar la posible fluctuación de la medida debida, sobre todo, a los elementos optoelectrónicos, con la consiguiente mejora de la relación señal-ruido del instrumento.

La instrumentación resultante de esta invención permite la recalibración con un solo punto, necesitando la simple exposición a una atmósfera de composición conocida, como puede ser al aire libre, sin exigir la preparación de mezclas de composición conocida en el laboratorio. Este procedimiento permite reconstruir la superficie de calibración que incluye, y por tanto corrige, la influencia de la temperatura sobre la atenuación de luminiscencia.

Esta invención presenta un diseño más compacto, una mejor disposición en la alineación y reducción de los componentes optoelectrónicos, una mayor eficacia en la recogida y procesado de la información que algunos otros previamente descritos, resultando en un instrumento de medida de alta fiabilidad, portátil y de bajo coste.

### Descripción detallada de la invención

De acuerdo con la figura 1, el instrumento está compuesto de los siguientes subsistemas:

- a. Subsistema excitador/sensor/detector ópticos y sensor de temperatura. Este bloque comprende los componentes para la excitación de la fosforescencia, la película sensora que contiene el indicador luminiscente o luminóforo con el fotoestabilizante (si fuera necesario), el dispositivo fotodetector que convierte la señal luminosa en una señal eléctrica y el sensor de temperatura.
- b. Subsistema basado en microcontrolador para el procesamiento de la señal y el control del instrumento. Es decir, componentes electrónicos para la conversión analógica-digital, el procesado digital, control de la zona de excitación/detección, control de las distintas interfases del usuario y gestión de la alimentación. Este subsistema preferiblemente incluye memoria para almacenar la información relativa a la función de calibración que permite calcular la concentración de analito a partir de la temperatura y de la información detectada en la zona sensora.
- c. Subsistemas accesorios de temporización y alimentación autónoma: osciladores, regulación de tensión y baterías de alimentación.
- d. Subsistema de interfases con el usuario, comprendiendo pantalla, teclado y alarma sonora.
- e. Subsistema para comunicación con otros dispositivos, como por ejemplo, ordenadores personales, dispositivos modem o teléfonos móviles.

En la figura 2 se muestra la vista lateral de la disposición de los componentes del subsistema de excitación y detección óptica: fuente de luz y fotodetector. En la detección de la señal fosforescente procedente de un luminóforo, es necesaria la excitación luminosa previa de la sustancia y algún dispositivo transductor que convierta la señal luminosa procedente del luminóforo en una señal procesable, normalmente de tipo eléctrico. En esta invención, la fuente luminosa es un diodo emisor de luz, LED, u otra fuente alternativa que cumpla las condiciones de longitud de onda adecuada para excitar la fosforescencia, tamaño reducido y bajo consumo. El tamaño de este conjunto, que se puede diseñar para ser sustituido cuando sea necesario, podría ser de 16 mm de largo, 5 mm de alto y 8 mm de ancho.

Una de las aportaciones de la presente invención radica en la disposición de la película sensora respecto al dispositivo fotodetector. A diferencia de referencias previas, en este instrumento la mencionada mezcla se dispone en forma de película directamente sobre la superficie activa (lente colectora) del dispositivo fotodetector, sin filtro intermedio, tal y como se muestra en la figura 3. La forma de situar dicha película puede ser variada, por ejemplo, se puede realizar por inmersión del fotodetector en una disolución conteniendo los reactivos apropiados además de la sustancia sensora o por deposición de un volumen del orden de microlitros sobre el mismo con secado posterior, en ambos casos, o se puede depositar a vacío sobre el fotodetector o mediante cualquier otro procedimiento existente en la técnica. Con este contacto íntimo entre luminóforo y fotodetector se logran las siguientes ventajas: i) No existe la necesidad de disponer filtros ópticos entre ambos sistemas, ii) no se requieren sistemas de alineación de los componentes optoelectrónicos, ni focalización o colimación de la señal luminosa, iii) la señal fosforescente se recoge con eficiencia máxima por el fotodetector, con lo cual se puede excitar la sustancia sensora con una intensidad menor a efectos de evitar su posible fotodegradación. Todo lo anterior posibilita un subsistema sensor/detector robusto, ligero, de pequeñas dimensiones y de fácil reemplazo, en caso necesario, tal y como se muestra en la figura 2. La reducción de costes de la zona sensora por requerirse solo una pequeña cantidad de luminóforo, es evidente frente a la opción habitual de utilizar una membrana independiente y separada del fotodetector.

## ES 2 279 692 B1

Junto a este conjunto, se dispone un sensor de temperatura con salida digital directa cuya lectura se usará en el procesado de la información para la corrección de sus efectos en la emisión luminiscente del sensor.

5 El procesamiento de la información procedente de la zona sensora tanto óptica como de temperatura está controlado y realizado por una unidad central de proceso, tarea asumible por un microprocesador o un microcontrolador. Este componente, junto con sus elementos accesorios de temporización, sincroniza además todos los elementos del instrumento, manteniendo el control del tiempo e intensidad de la excitación luminosa así como de los diferentes subsistemas de interfase y comunicaciones y la gestión de la alimentación.

10 Otra aportación de la presente invención consiste en el procedimiento de medida de la señal fosforescente. El método usado se diferencia claramente de los anteriormente propuestos, expuestos previamente en el apartado del estado de la técnica en esta materia. La novedad parte del uso de un fotodetector con salida binaria cuyo valor depende de que la intensidad luminosa recibida, esté por encima o por debajo de un umbral determinado. De manera, que al comenzar la emisión fosforescente, la intensidad luminosa se mantiene por encima de dicho umbral, produciendo  
15 una salida en estado alto del dispositivo fotodetector. Cuando decae la misma y rebasa el umbral fijado, se produce la transición de la salida del mencionado fotodetector a estado bajo con un retardo de pocos microsegundos. Es decir, con esta disposición, a la salida del fotodetector, tenemos una señal en estado alto hasta que la intensidad fosforescente decae por debajo un determinado umbral de luminosidad. El comienzo de la mencionada señal en estado alto se fija cuando cesa la alimentación al diodo emisor de luz mediante los circuitos lógicos adecuados y las señales de control de la unidad central de proceso. Por tanto, no se trata de una medida de la intensidad o del tiempo de vida de la emisión, ni de la integración de la corriente producida por los fotodetectores convencionales al ser excitados con una señal luminosa, sino de un parámetro temporal en el que intervienen ambas características de la emisión luminosa. En la figura 4 se muestra la conversión de la información en la duración de un pulso eléctrico. En dicha figura se observan varios decaimientos de emisiones fosforescentes debido a diferentes concentraciones de analito. Por  
20 razón de esta forma de realizar la medida, el luminóforo que se utilice en la presente invención debe cumplir con las condiciones habituales en sensores de atenuación (permeabilidad a oxígeno, solubilidad del luminóforo, estabilidad y adecuadas propiedades mecánicas y ópticas) siendo de especial interés que presente altos valores de vida media, junto con excitación de luminiscencia en el visible y suficiente fotoestabilidad.

30 Resumiendo, la información de la concentración del analito viene contenida en la duración en estado alto de la señal digital mencionada. La inmunidad al ruido electrónico y a la interferencia de esta forma de obtener y procesar la información, mejora los procedimientos anteriores. Tal y como se muestra en la figura 5, al no obtener la información por integración de la corriente producida en un fotodetector convencional, y dada la alta velocidad de respuesta de los componentes de la zona excitadora/detectora, las posibles interferencias debidas a la propia señal de excitación y a la posible fluorescencia del luminóforo, no influyen en el resultado. Estos fenómenos interferentes ocurren en los primeros instantes de la emisión fosforescente cuando la intensidad luminosa está muy por encima del umbral establecido para la conmutación de la salida del fotodetector.

40 La conversión analógica-digital de la señal procedente del fotodetector es directa, sencilla y con posibilidad de conseguir alta resolución. Una posibilidad sería multiplicar esa señal por una señal periódica de alta frecuencia y contar los ciclos del resultado con un contador digital. El resultado de esta cuantificación  $N_1$  será el valor numérico correspondiente al tiempo medido desde el comienzo de la emisión fosforescente hasta que ésta decaiga por debajo de un umbral determinado.

45 Además, la relación señal ruido de esta adquisición se mejora repitiendo el proceso de medida y realizando el promediado digital en el microcontrolador. Este valor promediado junto con la lectura digital del sensor de temperatura se procesan en el microcontrolador, introduciéndolos en la superficie de calibración previamente caracterizada y almacenada, lo que da como resultado la concentración del analito que produce la atenuación de luminiscencia.

50 La inmunidad al ruido y a las interferencias inherentes a este diseño y la mejora de la relación señal-ruido mediante promediado, hace posible que en este instrumento no sea necesario un segundo canal de referencia luminosa para reducir las desviaciones en la medida que provocan las posibles fluctuaciones de las características de los componentes optoelectrónicos: fuente de luz y fotodetector.

55 En la obtención final de la concentración de analito, es necesaria la inclusión de una función de calibración de donde se extraiga dicha concentración a partir de los valores numéricos asociados a la fosforescencia con el procedimiento anteriormente mencionado y a la temperatura de adquisición. Dicha función se podría almacenar en la memoria de la unidad central de proceso.

60 Una posible realización de la función de calibración puede ser a través de la superficie de calibración siguiente:

$$[A] = a_0 + a_1 T + a_2 N_1^{-1/2} + a_3 T N_1^{-1/2} + a_4 T^2 N_1^{-1/2}$$

65 donde  $[A]$  es la concentración de analito,  $T$  es la temperatura,  $N_1$  el valor numérico asociado a la fosforescencia y  $a_0$ ,  $a_1$ ,  $a_2$ ,  $a_3$  y  $a_4$  son coeficientes reales.



## ES 2 279 692 B1

El proceso de calibración inicial consiste en la determinación experimental de dichos coeficientes. La recalibración supone la corrección de la función de calibración mediante el reajuste de los coeficientes  $a_i$  ( $i = 0,4$ ) durante la vida útil del sensor, manteniéndose dentro de las especificaciones inicialmente establecidas. La complejidad de dicha recalibración dependerá de cuantos de los mencionados coeficientes sean independientes entre sí. En el caso de que la dependencia sea de la forma  $a_1=f_1(a_0)$ ,  $a_2=f_2(a_0)$ ,  $a_3=f_3(a_0)$ ,  $a_4=f_4(a_0)$ , el proceso de recalibración del instrumento de medida se podrá realizar en un solo punto. Por tanto, la concentración de analito [A] será función en definitiva de  $a_0$ , T y  $N_1$ .

Es decir, con unas condiciones controladas de concentración de analito y temperatura, y con una sola adquisición, se podrá reconstruir la superficie de calibración arriba expresada a partir del cálculo de  $a_0$ , con lo que el instrumento estará preparado para su uso con las prestaciones indicadas y en los rangos determinados. En otros casos menos favorables, sería necesario exponer el instrumento a tantas mezclas gaseosas de composición conocida como coeficientes independientes se hubiesen hallado durante el proceso de determinación de los mismos.

La recalibración mediante un punto presenta ventajas adicionales como son: i) facilidad de procedimiento, ii) no es necesario usar un laboratorio para calibración, iii) corrección sucesiva de fotoderiva mediante un protocolo de recalibraciones periódicas, iv) independencia del resultado de condiciones ambientales tales como presión o humedad, mediante recalibración cuando haya modificación de esas condiciones.

La interfase con el usuario comprende la salida a través de pantalla de cristal líquido (LCD) de la concentración de analito y la temperatura, además de la activación de una alarma sonora cuando dicha concentración sobrepase determinados márgenes preestablecidos. Para mejorar la versatilidad del instrumento de medida se le podría dotar de una botonera para que el usuario pueda elegir el tiempo entre adquisiciones, por ejemplo se podría elegir entre modo de adquisición casi continuo, otro modo de adquisición intermitente o modo de adquisición inmediato. El microcontrolador se encarga de situar al instrumento en modo de muy bajo consumo cuando no esté realizando ninguna medida, con el objeto de alargar la vida de las baterías.

El instrumento se completa con una interfase para la conexión de dispositivos compatibles, como ordenadores personales o módem. Un posible soporte es el estándar de comunicación serie entre equipos, RS232. Esta la comunicación permite la reconfiguración del instrumento mediante la variación de dicha superficie de calibración, así como la modificación de las condiciones de medida, mediante la reprogramación del microcontrolador o unidad central de proceso.

A continuación se describe una posible realización de esta invención para la determinación de la concentración de oxígeno que demuestra la validez del presente invento.

Ejemplo

### *Medida de concentración de oxígeno en aire*

Esta invención se ha aplicado a la medida de oxígeno gaseoso en aire. Considerando las condiciones que debe cumplir el luminóforo para este caso concreto, se pueden emplear diferentes complejos de rutenio con ligandos tipo fenantrolina y bipyridilo, colorantes orgánicos como la eritrosina, quelatos de lantánidos, principalmente de europio y terbio, metaloporfirinas como: platino (II) octaetilporfirina, paladio (II) octaetilporfirina, platino (II) octaetilporfirinacetona, paladio (II) octaetilporfirinacetona o platino (II) tetrapentafluorofenilporfirina, destacando la platino (II) octaetilporfirina por su alto tiempo de vida, su buena fotoestabilidad en presencia de estabilizantes adecuados, alta sensibilidad a oxígeno, disponibilidad y precio.

Como polímero de membrana se pueden emplear polímeros que presenten suficiente permeabilidad a oxígeno y buenas propiedades ópticas y mecánicas, entre los que se encuentran cloruro de polivinilo, poliestireno, siliconas o fluorometacrilatos, entre otros, plastificados cuando sea necesario. Como estabilizante se pueden usar diversas aminas terciarias, así por ejemplo la 1,4-diazabicyclo[2,2,2] octano (DABCO).

En concreto, una realización para la preparación del fotodetector recubierto consiste en la deposición sobre él de una película compuesta por distintas sustancias químicas en cantidades comprendidas en los intervalos: 0,075-2,25  $\mu\text{g}$  de poliestireno, 1,6-9,9  $\mu\text{g}$  de complejo platino (II) octaetilporfirina y 2,5-22,5  $\mu\text{g}$  de DABCO. Para ello, se depositaron volúmenes comprendidos entre 5 y 15  $\mu\text{l}$  de una disolución en tetrahidrofurano recién destilado, de los anteriores productos químicos, con posterior secado en atmósfera saturada de tetrahidrofurano, durante al menos 24 horas.

Dadas las características de la película sensora usada en este ejemplo, se utilizó para la excitación luminosa un diodo emisor de luz ultrabrillante con el máximo de emisión en 525 nm y una intensidad máxima de 1000 mcd. El fotodetector proporciona dos salidas: una a 0 V y otra a 5 V dependiendo de si la intensidad recibida está por debajo o por encima de un umbral, siendo por tanto directamente conectable a los circuitos digitales posteriores. El tiempo de transición típico entre los estados alto y bajo de la salida del mencionado detector es de 3  $\mu\text{s}$ . El procesado de la información y el control de todos los periféricos lo realiza un microcontrolador de gama media.

## ES 2 279 692 B1

La adquisición consta de los siguientes pasos:

1. Se adquiere la temperatura con un sensor con salida digital directa y se almacena en la unidad central.
2. Iluminación previa del sensor sin medida de la salida del fotodetector, para que se estabilice la respuesta de toda la etapa optoelectrónica.
3. A continuación, se ilumina el sensor con una señal luminosa pulsada de frecuencia 2000 Hz durante 1 segundo, promediando el resultado de estas 2000 medidas. Para cada una de esas medidas, la señal de salida del fotodetector en estado alto con la duración del intervalo temporal desde que cesa la excitación luminosa hasta que se rebasa el umbral, se multiplica por la señal de reloj de 4 MHz que sincroniza la unidad central. Un contador de la propia unidad central realiza la cuantificación y la almacena.
4. Ambos datos de temperatura y duración promedio de la fosforescencia se introducen en la curva de calibración, previamente caracterizada, y se presentan los resultados.

Con esta realización y durante el cálculo de la superficie de calibración del instrumento descrita anteriormente:

$$[O_2] = a_0 + a_1 T + a_2 N_I^{-1/2} + a_3 T N_I^{-1/2} + a_4 T^2 N_I^{-1/2}$$

se obtienen curvas experimentales como las mostradas en la figura 6, donde la temperatura viene expresada en grados Celsius.

En este caso, todos los coeficientes se pueden poner como funciones lineales de  $a_0$ , con lo que se puede realizar la recalibración del instrumento en un solo punto, ya que la concentración de oxígeno es una función exclusiva de  $a_0$ ,  $T$  y  $N_I$ . Por tanto, con un solo punto de concentración conocida de oxígeno se puede reconstruir la mencionada superficie de calibración. Las relaciones entre los coeficientes obtenidas al caracterizar 10 sensores fabricados de la manera arriba indicada son:

$$a_1 = -7.69 \cdot 10^{-3} \cdot a_0 + 1.7 \cdot 10^{-2}$$

$$a_2 = -5.03 \cdot 10^2 \cdot a_0 - 8.45 \cdot 10^2$$

$$a_3 = 6.04 \cdot a_0 + 1.78 \cdot 10^1$$

$$a_4 = -2.08 \cdot 10^{-2} \cdot a_0 - 1.04 \cdot 10^{-1}$$

Es decir, a concentración ambiente de oxígeno,  $[O_2] = 21,0\%$ , midiendo la temperatura  $T$  con el sensor térmico y cuantificando la emisión fosforescente de la forma indicada  $N_I$ , se calcula en la unidad de proceso  $a_0$ , y a partir de él se reconstruye la superficie de calibración. Las ventajas de este procedimiento de recalibración son evidentes:

- a. Recalibración del instrumento fuera de condiciones de laboratorio, como por ejemplo podría ser al aire libre. Esto incide en un fácil manejo por personal sin apenas entrenamiento previo.
- b. Reajuste periódico de la superficie de calibración para ir corrigiendo los efectos de la fotodegradación del luminóforo, minimizada por el uso del fotoestabilizante, lo que alarga considerablemente la vida de la película sensora dentro de las especificaciones.
- c. Independencia de la medida de la concentración de oxígeno de las condiciones ambientales tales como presión o humedad, mediante recalibración cuando haya modificación en alguna de ellas.

De entre gases potencialmente concomitantes con el oxígeno como pueden ser gases combustibles como el metano, corrosivos como el dióxido de azufre y el ácido sulfhídrico, anestésicos como el protóxido de nitrógeno o inocuos como el dióxido de carbono, el único gas que es un notable interferente es el dióxido de azufre, debido a que, como es conocido (J.R. Bacon y J.N. Demas, Anal.Chem., 59, 2780-2785 (1987)), también actúa como atenuador de fosforescencia (tabla 1).

# ES 2 279 692 B1

TABLA 1

Porcentaje de gas que origina una interferencia  $\geq 3\%$  en concentración para una mezcla del 21% en oxígeno

Compuesto	Concentración %
Metano	79
Protóxido de nitrógeno	79
Dióxido de carbono	1*
Dióxido de azufre	2
Sulfuro de hidrógeno	5*

\* Concentración máxima ensayada

Las especificaciones conseguidas para esta realización en particular son:

- Rango de temperaturas:  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $50^{\circ}\text{C}$ .
- Rango de concentración de  $\text{O}_2$ : 0 a 30%.
- Consumo: 1,75 mA.
- Resolución: 0,2% en concentración.
- Exactitud: 3% de la medida.
- Tiempo de respuesta:  $< 30$  s (10%-90% rango total).
- Derivas:  $< 0,01\%$  en concentración/día (sin recalibración).
- Dimensiones y peso (HxLxW): 28 mm x 110 mm x 66 mm. 95 g (sin batería).
- Modo de recalibración por un punto.
- Modos de operación:
  - Medida cada minuto.
  - Medida cada 10 minutos.
  - Medida instantánea al presionar un botón.
- Alarma sonora (inhibible presionando un botón) por debajo de un umbral preestablecido de concentración de  $\text{O}_2$ .
- Puerto de conexión RS232.

Esta realización presenta un diseño compacto, una notable reducción de la zona sensora, una gran eficacia en la recogida y procesado de la información, una respuesta rápida y estable, tal como se aprecia en la figura 7, resultando en un instrumento de medida de alta fiabilidad, portátil, de bajo coste y de fácil recalibración.

## Breve descripción de las figuras

La figura 1 representa el diagrama de bloques de la invención dentro del cuadro de líneas discontinuas. En el bloque o subsistema A, A.1 es el elemento de excitación luminosa, A.2 el sensor y el fotodetector y A.3 el sensor de temperatura; en el subsistema B.1 es la unidad central de proceso y B.2 el preproceso de la señal; en el subsistema C, C.1 es la pantalla, C.2 el teclado y C.3 la alarma sonora; en el subsistema D, D.1 corresponde al módulo de alimentación y el D.2 al de temporización; y en el subsistema E, E.1 es el módulo de comunicaciones que lo conecta con ordenadores y/o modems como se representa en la parte superior.

## ES 2 279 692 B1

La figura 2 es una ilustración esquemática de la vista lateral de la zona de excitación y detección óptica, donde A es la fuente de excitación luminosa, B es la película sensora y C el fotodetector. Las medidas de los elementos, así como las distancias entre ellos están indicadas por  $a = 4.50$  mm,  $b = 4.80$  mm y  $c = 17.50$  mm

5 La figura 3 es una ilustración detallada de las vistas lateral y frontal del fotodetector con la película sensora, A, depositada, con B la lente colectora del fotodetector. Las medidas de los elementos, así como las distancias entre ellos están indicadas por  $a = 2.20$  mm,  $b = 1.90$  mm,  $c = 1.50$  mm,  $d = 4.00$  mm,  $e = 0.8$  mm,  $f = 1.27$  mm,  $g = 1.27$  mm,  $h = 1.60$  mm,  $i = 2.60$  mm y  $j = 1.27$  mm.

10 La figura 4 es una ilustración en la que se representan los parámetros temporales medidos para distintas emisiones fosforescentes en presencia de diferentes concentraciones de analito, junto con el umbral del fotodetector. En el eje de abscisas se representa el tiempo y en el de ordenadas la intensidad luminosa relativa.  $t_1$ ,  $t_2$  y  $t_3$  representan los intervalos temporales que serán cuantificados de acuerdo al método propuesto.

15 La figura 5 es una ilustración de todas las señales luminosas presentes en la excitación y detección. La curva A representa la suma de todas las intensidades recogidas en el fotodetector. La curva B es la intensidad detectada debido a la excitación luminosa inicial. La curva C es la intensidad detectada debido a la fluorescencia de la película sensora. La curva D es la intensidad detectada debido a la fosforescencia de la película sensora (en ella se encuentra la información útil). El punto F es donde la suma de las intensidades detectadas decae por debajo del umbral del fotodetector, E.  $t_M$  es el intervalo de tiempo que contiene la información a procesar.

20

La figura 6 es la representación de la función de calibración para la concentración de  $[O_2]$  en función de la temperatura T y el parámetro  $N_I$ . Con símbolos se representan los datos experimentales y con líneas los ajustes de las curvas de calibración propuesta: A, 38.5°C; B 31.5°C; C, 23.5°C; D, 15°C; y E 6°C.

25 La figura 7 es una representación de la respuesta del instrumento a atmósferas alternativas de nitrógeno a oxígeno.

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un instrumento portátil para la medida de la concentración de un analito gaseoso en un medio gaseoso, basado en la desactivación de la fosforescencia de un indicador luminiscente, compensado en temperatura y **caracterizado** por poseer los siguientes componentes:
- 10 a. una fuente de luz con longitud de onda adecuada para la excitación de la fosforescencia del citado indicador luminiscente;
  - 15 b. un fotodetector de salida binaria presentando dos niveles de tensión, situado a pocos milímetros de la fuente luminosa y que genera una señal eléctrica en respuesta a la fosforescencia del indicador luminiscente;
  - 20 c. una película sensora, permeable al analito, conteniendo el indicador luminiscente cuya fosforescencia está atenuada por la presencia de dicho analito y un material de membrana. Esta película está dispuesta en contacto con la cara activa del fotodetector, recibiendo directamente la excitación de la mencionada fuente de luz;
  - 25 d. un sensor de temperatura situado a pocos milímetros del conjunto anteriormente indicado;
  - 30 e. una unidad central de proceso con memoria para almacenar la superficie de calibración que caracteriza la relación entre la luminiscencia, la temperatura y la concentración de analito.
2. El instrumento de la reivindicación 1, **caracterizado** porque los mencionados fuente luminosa y fotodetector, con la película sensora dispuesta en su cara activa, están montados sobre una placa de circuito impreso de dimensiones superficiales de entre 10 y 20 mm de largo y entre 5 y 10 mm de ancho.
3. El instrumento según reivindicaciones 1 ó 2 **caracterizado** porque el material de membrana lleva una sustancia fotoestabilizante.
- 35 4. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado** porque el indicador luminiscente de la película sensora es el compuesto platino (II) octaetilporfirina.
5. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado** porque el material de membrana de la película sensora es poliestireno.
6. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado** porque el compuesto fotoestabilizante de la película sensora es 1,4-diazabicyclo[2,2,2] octano.
- 40 7. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado** por poseer una película sensora situada sobre el fotodetector conteniendo entre 0,075 y 2,25  $\mu\text{g}$  de poliestireno, entre 1,6 y 9,9  $\mu\text{g}$  de complejo platino (II) octaetilporfirina y entre 2,5 y 22,5  $\mu\text{g}$  de 1,4-diazabicyclo[2,2,2] octano.
- 45 8. El instrumento de la reivindicación anterior, **caracterizado** porque la película sensora se ha depositado sobre la cara activa del mencionado fotodetector, en volúmenes comprendidos entre 5 y 15  $\mu\text{l}$  de una disolución en tetrahydrofurano recién destilado de los compuestos químicos: poliestireno, platino (II) octaetilporfirina y 1,4-diazabicyclo[2,2,2] octano, con posterior secado en atmósfera saturada de tetrahydrofurano, durante al menos 24 horas.
- 50 9. El instrumento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores **caracterizado** por poseer una fuente luminosa cuya longitud de onda esté comprendida entre 500 nm y 550 nm.
10. Un método de medida de la concentración de analito en un medio gaseoso que comprende las siguientes fases:
- 55 a. Toma del valor de la temperatura para su uso posterior en la superficie de calibración para la obtención de la concentración de analito.
  - 60 b. Excitación luminosa, recibiendo una respuesta de un fotodetector en estado alto durante un cierto período de tiempo en el cual la intensidad de la fosforescencia está por encima de un cierto valor.
  - 65 c. Conversión a un valor numérico del mencionado tiempo de vida de la emisión fosforescente por encima del umbral en dos fases:
    - i. Conversión a una señal de alta frecuencia.
    - ii. Conversión del tren de pulsos de alta frecuencia al valor numérico correspondiente mediante un contador digital.

## ES 2 279 692 B1

- d. Realización de sucesivas mediciones con un posterior promediado de los valores obtenidos para minimizar la posible fluctuación de la medida debida, sobre todo, a los elementos optoelectrónicos, con la consiguiente mejora de la relación señal-ruido.

5 11. El método de la reivindicación anterior, **caracterizado** porque se realiza una excitación previa del mencionado sensor luminiscente, sin medida de la salida de dicho fotodetector, para que se establezca la respuesta de los elementos excitador y detector ópticos.

10 12. Instrumento según reivindicación 1 que utiliza el método definido en la reivindicaciones 10 ó 11, **caracterizado** porque la superficie de calibración se recalibra en un solo punto, es decir, se reconstruye mediante una sola medida en presencia de una concentración conocida de analito.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

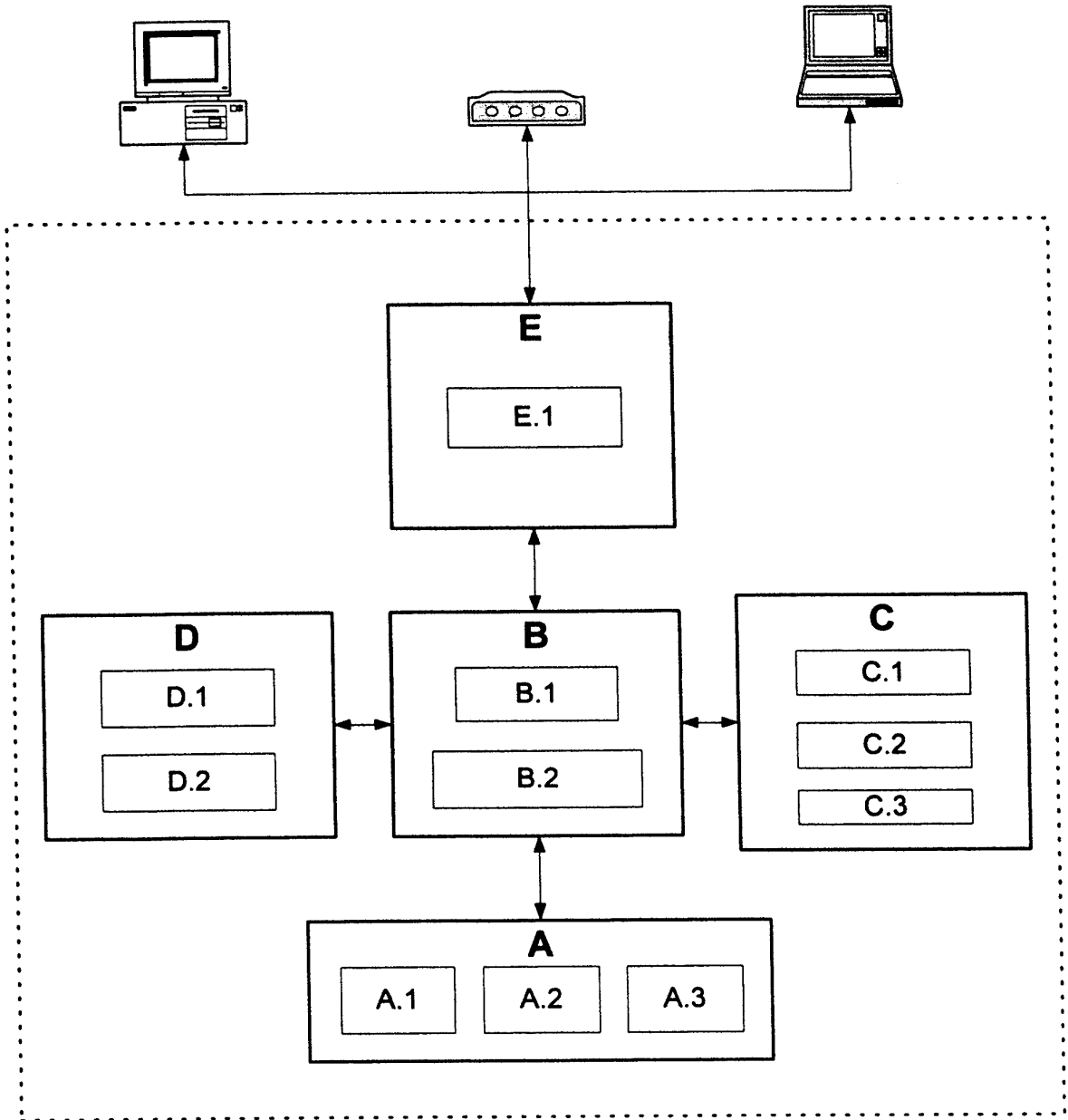


Figura 1

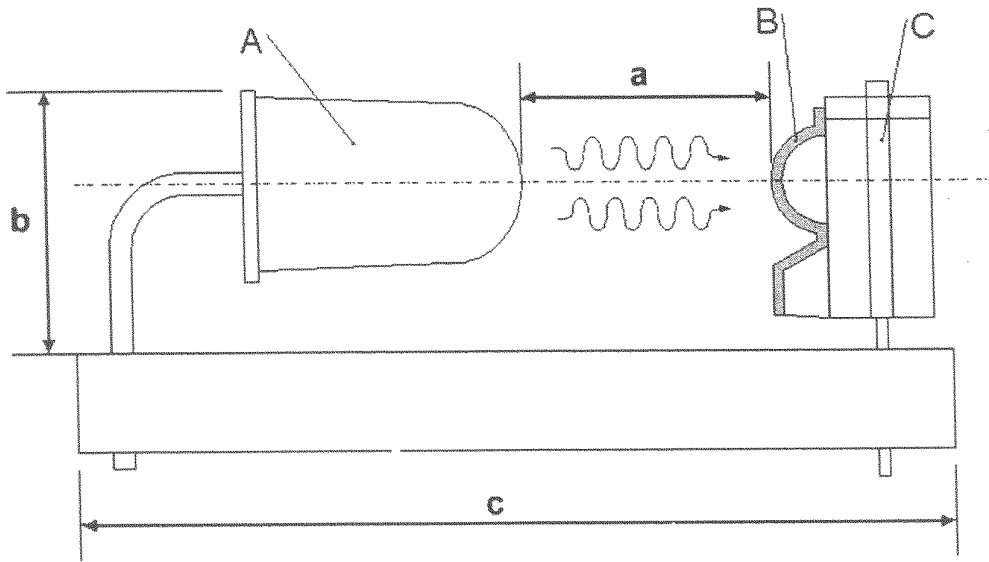


Figura 2

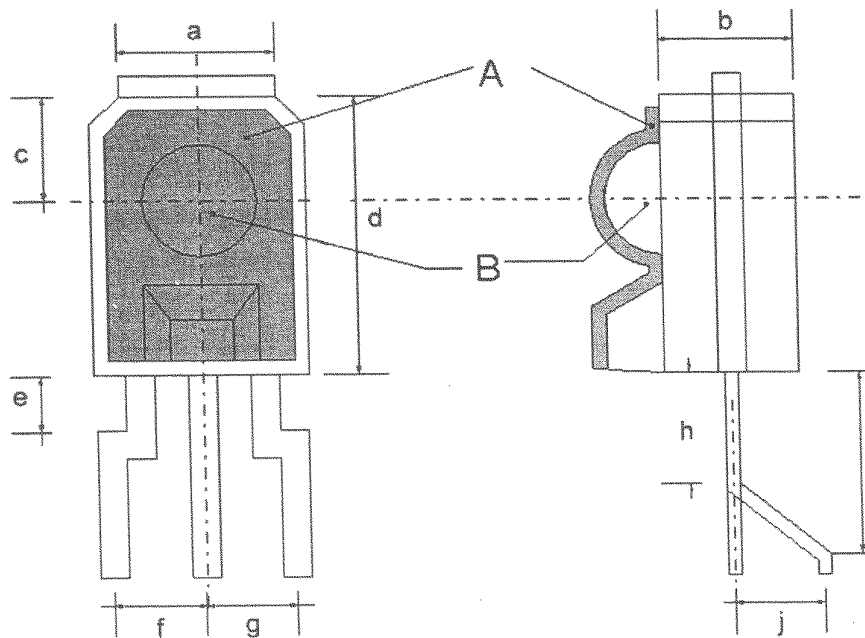


Figura 3



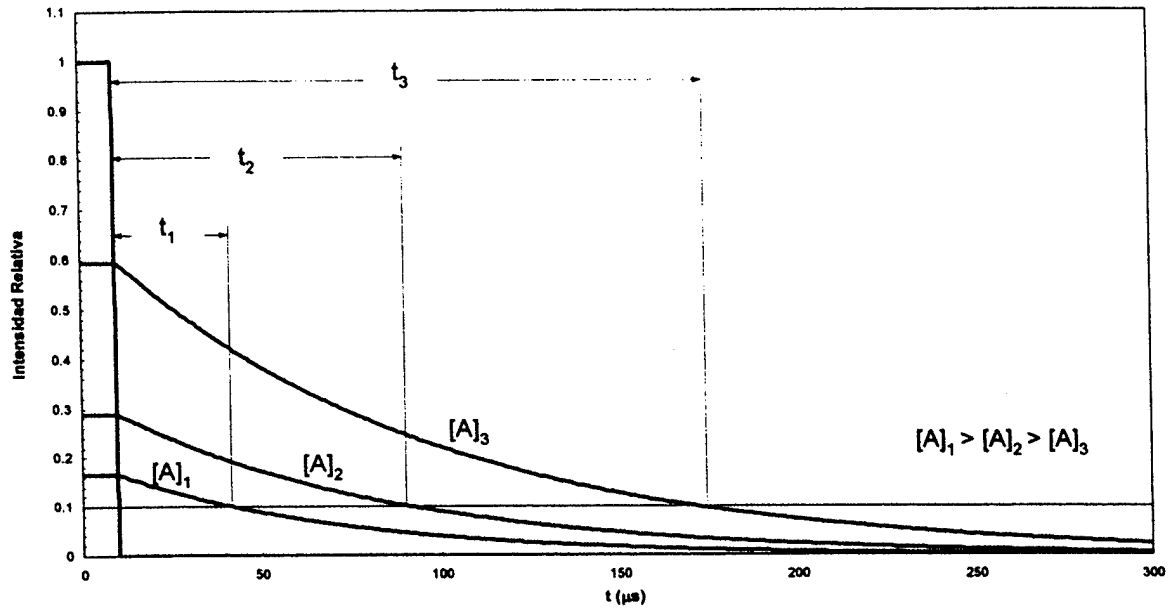


Figura 4

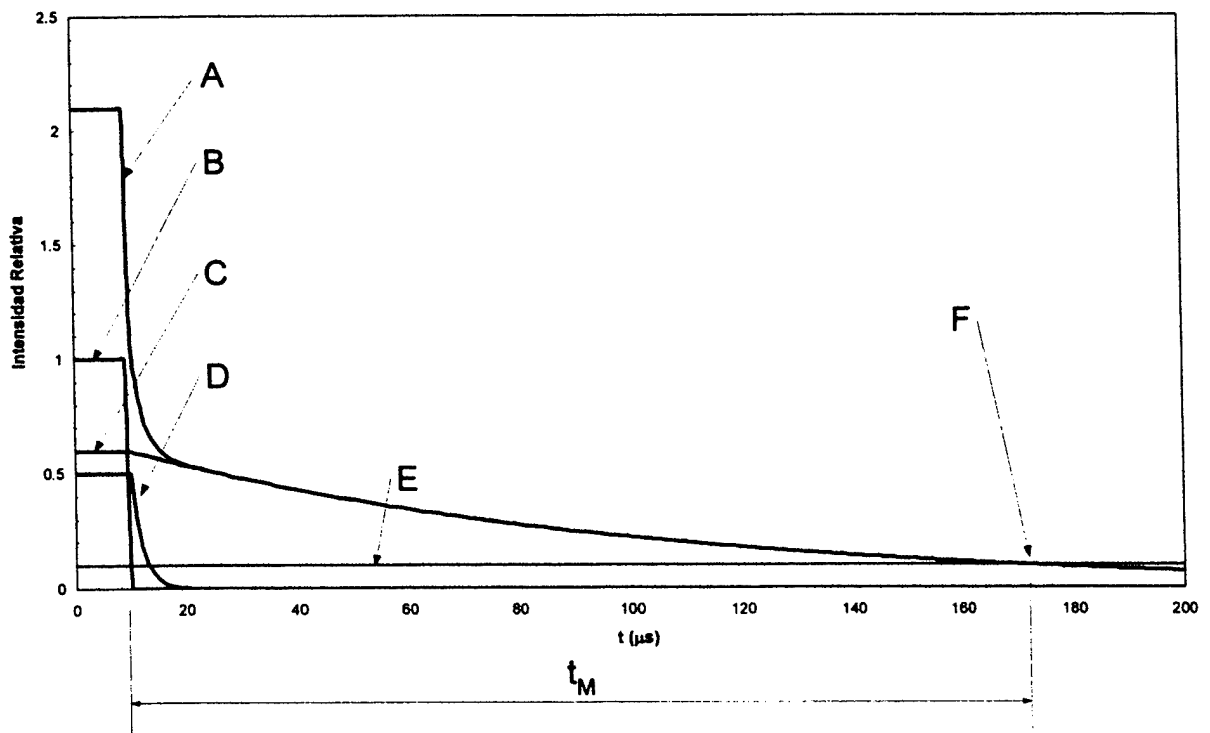


Figura 5

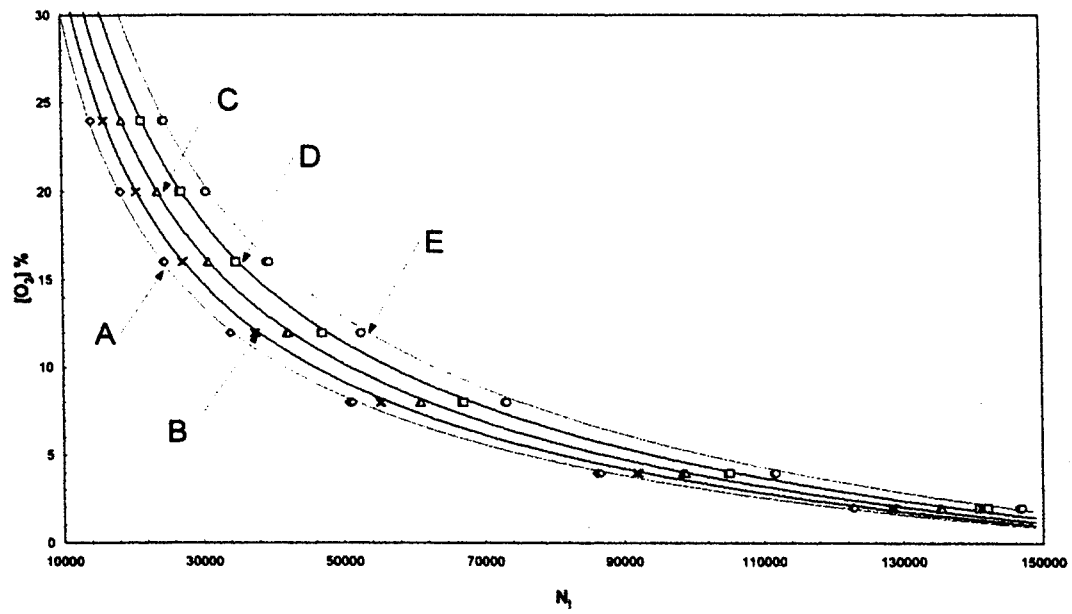


Figura 6

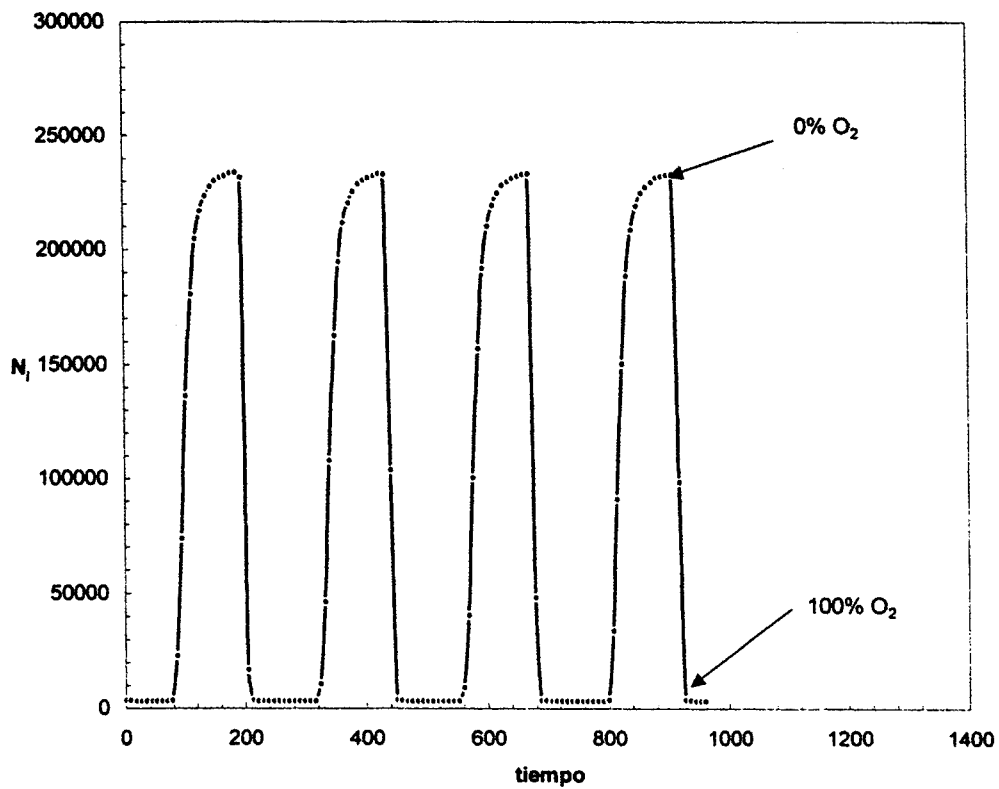


Figura 7



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 279 692

② Nº de solicitud: 200501703

③ Fecha de presentación de la solicitud: **02.07.2005**

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **G01N 21/64** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	LOPEZ FERNANDEZ, F.J. Desarrollo de Sensores Opticos para Gases y Diseño de Instrumentación Portátil. Tesis Doctoral. Ed. Universidad de Granada, 2005. ISBN: 84-3383-3243-3, capítulo 3. 07-04-2005: [recuperado el 08.01.2007]. Recuperado de Internet: < <a href="http://hera.ugr.es/tesisugr/15408504.pdf">http://hera.ugr.es/tesisugr/15408504.pdf</a> >	1-12
X	US 5462879 A (ALCATEL;MINNESOTA MINING & MFG CO) 31.10.1995, columna 11, línea 47 - columna 13, línea 52; figura 2.	1-12
A	US 5917605 A (COLVIN ARTHUR E JR) 29.06.1999, todo el documento.	1-12
A	ES 2130964 A1 (UNIV MADRID COMPLUTENSE) 01.07.1999, todo el documento.	1-12

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

24.07.2007

Examinador

E. Pina Martínez

Página

1/1