



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2017 00610

(22) Data de depozit: 01/09/2017

(41) Data publicării cererii:
29/03/2019 BOPI nr. 3/2019

(71) Solicitant:

• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
ȘTIINȚE BIOLOGICE, BUCUREȘTI,
SPLAIUL INDEPENDENȚEI NR. 296,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• UNIVERSITATEA POLITEHNICA
BUCUREȘTI, SPLAIUL INDEPENDENȚEI
NR.313, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

• RUSU ION, STR.ION BERINDEI NR.11,
BL.1, SC.2, ET.6, AP.50, SECTOR 2,
BUCUREȘTI, B, RO;
• BREZEANU GHEORGHE,
STR.DRUMUL TABEREI NR.64, BL.F4,
SC.3, ET.2, AP.44, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;

• PRISTAVU GHEORGHE,
STR.BORDEA POENARU NR.1, BL.A11,
SC.A, ET.2, AP.11, CÂMPULUNG, AG, RO;
• DRĂGHICI FLORIN, ALEEA TOPOLOVENI
NR. 1, BL. TD6, ET. 3, AP. 20, SECTOR 6,
BUCUREȘTI, B, RO;
• ENACHE ANDREI,
STR.PETRE ISPIRESCU NR.40, BL.P71A,
SC.1, AP.1, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B,
RO;
• BUCUR BOGDAN,
STR.CONSTANTIN RĂDULESCU MOTRU
NR.6, BL.35, SC.C, ET.6, AP.125,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• BUCUR PETRUȚA MĂDĂLINA,
STR.CONSTANTIN RĂDULESCU MOTRU
NR.6, BL.35, SC.C, ET.6, AP.125,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
• RADU GABRIEL LUCIAN,
ALEEA ROTUNDĂ NR 4, BL. H6, SC. D,
AP. 61, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO

(54) POTENȚIOSTAT DE ZGOMOT REDUS PENTRU MĂSURĂTORI AMPEROMETRICE ÎN SOLUȚII AGITATE MAGNETIC

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un potențiostat de zgomot redus, destinat spre a fi folosit pentru analize amperometrice în soluții agitate magnetic, folosind o celulă electrochimică având trei electrozi: un electrod (WE) indicator, un electrod (RE) de referință și un electrod (CE) auxiliar. Potențiostatul conform invenției cuprinde un circuit analogic, format dintr-un circuit operațional (OA_1) în montură de repetor, cu rolul de a prelua tensiunea fixă V_{RE} , dintr-un circuit operațional (OA_2) în montură de amplificator cu reacție negativă, cu rolul de a furniza un curent I_{CELL} cerut de celula electrochimică, și dintr-un circuit operațional (OA_3) în montură de repetor, cu rolul de a aplica tensiunea V_{RE} pe celula cu trei electrozi, precum și un circuit de prelucrare a semnalului I_{CELL} , format dintr-un amplificator de instrumentație (INA) în montură de transimpedanță, a cărui tensiune de ieșire depinde liniar de semnalul celulei, și are o valoare suficient de mare pentru a fi citită de un circuit de prelucrare analog-digital de tip microcontroler.

Revendicări: 1
Figuri: 2

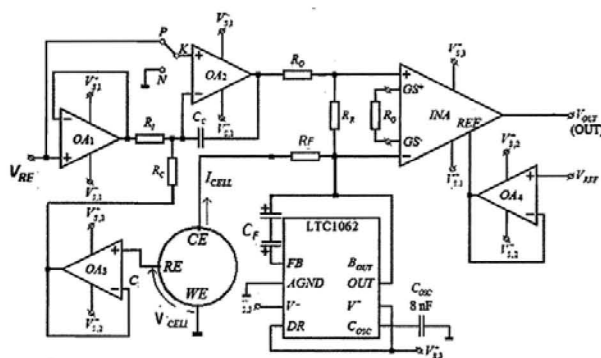
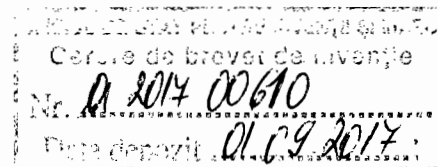


Fig. 1

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).





POTENTIOSTAT DE ZGOMOT REDUS PENTRU MASURATORI AMPEROMETRICE IN SOLUTII AGITATE MAGNETIC

Descrierea Inventiei

Inventia se refera la un potentiostat de zgomot redus destinat spre a fi folosit pentru analize amperometrice in solutii agitate magnetic folosind o celula electrochimica cu trei electrozi [2]: indicator (WE) care este senzorul selectiv pentru substanta de interes, referinta (RE) utilizat pentru stabilirea potentialului si auxiliar (CE) folosit pentru masurarea marimii curentului.

Una din metodele precise utilizate in chimia analitica se bazează pe masuratori amperometrice in celule electrochimice care convertesc concentratia in marime electrica prelucrabila. Masuratorile amperometrice conform Jaime Punter, Villagrasa, Jordi Colomer-Farrarons, Pere Ll. Miribel, Bioelectronics for Amperometric Biosensors, State of the Art in Biosensors - General Aspects, T. Rinken (Ed.), cap. 10, pp 241-274, se realizeaza activand celula electrochimica prin aplicarea un potential DC intre WE si RE (V_{CELL}) si masurarea curentului DC intre WE si CE (I_{CELL}) care este corelat cu concentratia substantei din solutie folosind un circuit de tip potențiostat conform M. Mahdi Ahmadi, Graham A. Jullien, Current-Mirror-Based Potentiostats for Three-Electrode Amperometric Electrochemical Sensors, IEEE Transactions On Circuits And Systems, vol. 56, JULY 2009, pp1339-1348. Masuratorile amperometrice se realizeaza in solutii agitate pentru omogenizare si transportul rapid al substantei analizate catre suprafata WE. O modalitate simpla si larg utilizata de agitare a solutiilor este folosirea unui agitator magnetic, dar acesta are dezavantajul de a produce un camp electromagnetic care induce in circuitul de masura un semnal perturbator comparabil cu semnalul util.

Prelucrarea semnalului furnizat de senzorul electrochimic trebuie sa aiba in vedere obtinerea urmatorilor parametri: **liniaritate, stabilitate si rezistență la zgomot**. Principala problema a acestor sisteme de masura este legata de marimea curentului util furnizat de celula care are valori cuprinse in domeniul 1-2000 nA care are valori comparabile cu nivelul perturbatiilor (zgomotului) produse atat de agitarea magnetica cat si de alte perturbatii electromagnetice din mediul ambiant.

Sunt cunoscute metode/scheme de realizare a potenciostatelor cu posibilitate limitata de reducere a zgomotului

RG 580 este un potentiostat portabil profesional cu caracteristici de masura apropiate fata de cel propus de inventie, are urmatoarele caracteristici:

Gama curentilor masurati: Ina-10mA in 8 decade de masura.

Erori in gama de masura: <0,5%

Tensiune aplicata celulei max $\pm 2V$

Impedanta la electrodul RE $> 10^{11} \Omega$

Pretul de cost este ridicat

Autolab PGSTAT204 - Compact and modular potentiostat/galvanostat

Gama curentilor masurati: 10nA-100nA

Erori in gama de masura: <0,2%

Tensiune aplicata celulei max $\pm 10V$

Impedanta la electrodul RE $> 10^{11} \Omega$

Pretul de cost este ridicat

Problema pe care o rezolva inventia este reducerea efectelor perturbatiilor electrice de orice fel printr-o metoda de filtrare analogica a semnalului util care duce la cresterea raportului semnal/zgomot NF cu cel putin 10 dB si transformarea acestuia intr-un semnal compatibil cu sistemele de prelucrare digitala folosindu-se o schema electrica de potentiostat bazata pe folosirea unei filtrari de foarte joasa frecventa suplimentare.

Se prezinta in Figura 1 schema electrica de potentiostat analogic propusa conform inventiei permite obtinerea urmatoarelor caracteristici:

- liniaritate : in domeniul. 2-2000 nA
- stabilitate : Erori de masura si conversie <0.2%
- imunitate la zgomot: Raport semnal/zgomot >10dB la 1nA
- capacitatea asigurării ambelor polarități ale tensiunii fixe furnizate de potentiostat $V_{RE}=V_{CELL}$
- posibilitatea măsurării ambelor sensuri ale curentului $\pm I_{CELL}$

Prin urmare, potentiostatul asigura o tensiune constantă între electrozii RE și WE in conditiile variatiei impedanței echivalente a celulei electrochimice corelata cu concentrația substantei din solutie. Aceasta se realizează prin operarea cu reacție negativă a amplificatorului operațional OA₂ astfel încât acesta, prin furnizarea curentului cerut de celula electrochimica sa asigure repetarea tensiunii de intrare $V_{RE}=V_{CELL}$ pe electrodul RE.(Fig.1)

Astfel circuitul analogic al potentiostatului, conform inventiei, cuprinde:

Potentiostatul propriu zis format din circuitele operationale OA₁ ,OA₂ si OA₃ unde:

circuitul OA_1 este în montura de repetor cu rolul de a prelua tensiunea fixă V_{RE} ,

circuitul OA_3 în montura repetor cu rolul de a aplica tensiunea V_{RE} pe celula cu trei electrozi și circuitul OA_2 în montura de amplificator cu reacție negativă cu rolul de a furniza curentul I_{CELL} cerut de celula electrochimică.

și:

Circuitului de prelucrare a semnalului furnizat de senzor (I_{CELL}) format din:

Amplificatorul de instrumentație INA în montura transimpedanță a cărui tensiune de ieșire depinde liniar de semnalul celulei, coeficientul de proporționalitate fiind dat de produsul dintre câștigul lui INA și R și are o valoare suficient de mare pentru a fi citită de un circuit de prelucrare analog-digitală de tip microcontroller.

În urmărire, în schema prezentată această prelucrare se realizează prin convertirea curentului I_{CELL} în tensiunea V_{OUT} de către amplificatorul transimpedanță în care rezistența R_R este rezistența de măsură a amplificatorului.

Repetorul OA_4 aplică o tensiune V_{REF} amplificatorului INA pentru extinderea răspunsului liniar.

Rezistențele R_I și R_C împreună cu comutatorul K permit obținerea atât a unei configurații inversoare cât și neinversoare, ceea ce este util având în vedere faptul că tensiunea de intrare V_{RE} are valoare pozitivă fiind furnizată de un microcontroller

De asemenea, rezistențele R_I și R_C au un rol în compensarea în frecvență a lui OA_2 iar dimensionarea lor se face astfel încât circuitul să fie stabil;

Atunci când comutatorul K este pe poziția P, circuitul este neinversor și tensiunea V_{RE} este repetată pe RE – se obține $V_{CELL} > 0$. Dacă comutatorul K este pe poziția N, rezultă un potențial negativ pe RE și $V_{CELL} < 0$;

Condensatorul de compensare C_C , împreună cu rezistențele R_I și R_C , are rol în asigurarea stabilității potențostatului formând un filtru trece jos asigurând astfel și condiția de zgomot redus.

Operaționalul OA_1 configurat ca repetor, are rolul de a izola circuitul (mai precis rezistențele R_I și R_C) de exterior;

Operaționalul OA_3 de asemenea configurat ca repetor, are rolul de a izola RE de rezistențele R_I și R_C .

Operaționalul OA_4 de asemenea configurat ca repetor furnizează o tensiune de referință pentru amplificatorul de instrumentație.

Condiția de zgomot redus este asigurată prin introducerea în paralel cu celula electrochimică a unui **filtru trece-jos Cebâșev de ordinul 5, format cu R_F , C_F și circuitul integrat LTC1062** care prezintă o rezistență echivalentă foarte mare (consum neglijabil de curent continuu) care a fost configurat, prin intermediul condensatorului C_{OSC} , conform foii sale de catalog, să aibă o frecvență de tăiere de 5 Hz.

Rolul acestui filtru este de a diminua perturbațiile ce pot să apară în rețeaua de reacție a lui OA_2 care conține celula electrochimică,

Acest filtru are o proprietate deosebită: în curent continuu, nu injectează curent în circuit (prin pinul OUT nu circulă curent), ceea ce face ca el să se preteze foarte bine pentru aplicația curentă;

Rezistența R_O ajustează funcția de transfer a buclei (R_F are valoarea impusă de filtru și R_R are valoarea impusă de câștigul ce se dorește a fi obținut);

În ceea ce privește amplificatoarele integrate folosite, un parametru critic pentru acestea este reprezentat de curenții de polarizare a intrărilor (nu este admisibil ca aceste amplificatoare să introducă sau să consume curenți paraziți comparabili cu curentul util).

Potentiostatul, conform invenției, prezintă următoarele avantaje:

- permite realizarea de masuratori amperometrice în soluții agitate magnetic
- permite diminuarea zgomotului cu cel puțin 10dB
- liniaritate..<0.5%
- este simplu de realizat
- este portabil
- are un pret de cost scăzut
- se bazează pe componente cu un cost redus
- tehnologia de fabricație este PCB multistrat

Se prezintă în continuare un exemplu de utilizare a invenției pentru analiza etanolului din soluții folosind WE modificați cu albastru de Prusia (un mediator electrochimic care permite detectia apei oxigenate la un potențial de -50 mV) și alcool oxidat (o enzimă care catalizează oxidarea selectivă a etanolului în prezența oxigenului cu producere a apei oxigenate) conform M. C. Rădulescu, M. P. Bucur, A. Alecu, B. Bucur, G. L. Radu, "Electrochemical determination of Hydron peroxide using a Prussian Blue-Copper modified platinum microelectrode", Analytical Letters, vol. 49, no. 13, pp. 2006-2017, 2016.

Pentru realizarea biosenzorului se folosește un ansamblu de trei electrozi produs prin screen-printare pe un suport ceramic care este format din: un WE de 4 mm în diametru din carbon modificat cu mediatorul albastru de Prusia, RE din argint și CE din carbon. Biosenzorul

este realizat prin imobilizarea alcooloxidazei pe suprafata WE prin reticulare folosind glutaraldehida (un reactiv bifunctional care realizeaza legaturi intre gruparile amino de la suprafata proteinelor) si albumina serica bovina (o proteina folosita pentru a proteja enzima). Alcool oxidaza este imobilizata prin depunerea si intinderea pe suprafata WE a 1.5 μL de solutie proaspat preparata prin amestecarea a: 5 μL solutie alcool oxidaza extrasa din *Pichia pastoris* stabilizata cu sucroza 30%, 2,5 μL solutie glutaraldehida concentratie 1 % preparata in tampon fosfat pH= 7,5 si 2,5 μL solutie albumina serica bovina concentratie 0,4 % preparata in tampon fosfat pH= 7,5. Electrozii sunt lasati la temperatura camerei timp de o ora pentru a avea loc reactia de reticulare si apoi pastrati in frigider.

Masuratorile amperometrice se realizeaza la un potential de -50 mV (V_{CELL}) prin imersarea electrozilor in 10 mL de tampon fosfat pH=8,2 care contine si 0,1 M KCl. Solutia este agitata magnetic folosind un magnet de 4 mm. Dupa aplicarea potentialului se asteapta stabilizarea curentului (obtinerea liniei de baza) si apoi se injecteaza in solutie alicoturi dintr-o solutie standard de etanol pentru a se obtine in celula de masuratoare concentratii in domeniul 0,01- 15 mM etanol. Curba de calibrare este liniara in domeniul 20-620 μM etanol. In figura 2 sunt prezentate semnalele analitice si curba de calibrare obtinute in acest exemplu de utilizare a potentioastatului.

Nota: biosenzorul bazat pe alcool oxidaza si albastru de Prusia este doar un exemplu de utilizare a potentiostatului. Domeniul de aplicare al potentiostatului este extins la toate masuratorile amperometrice care sunt realizate la diferite potentiale de lucru in functie de proprietatile electrochimice specifice ale substantei de analiza si a mediatorului electrochimic (utilizarea acestuia este optionala in functie de aplicatia specifica).

POTENTIOSTAT DE ZGOMOT REDUS PENTRU MASURATORI AMPEROMETRICE IN SOLUTII AGITATE MAGNETIC

Revendicari

Potentiostatul de zgomot redus pentru masuratori amperometrice folosind senzori electrochimici caracterizat prin aceea ca:

- este alcatuit dintr-un circuit electronic de control al potentialului fix V_{RE} in care amplificatorul care furnizeaza curentul I_{CELL} are in bucla de reactie un filtru trece jos de foarte joasa frecventa.
- introducerea condensatorului de compensare C_C in bucla de reactie a amplificatorului OA2 are ca efect cresterea stabilitatii potentiostatului prin filtrare trece jos.
- introducerea unei filtrari trece jos suplimentare de mare impedanta in paralel cu celula electrochimica.Filtru Cebasev de ordinul 5 trece jos cu circuitul specializat LTC 1062
- prelucrarea analogica a semnalului realizata cu amplificator de instrumentatie (INA) in montura amplificator transimpedanta.
- capabilitatea asigurării ambelor polarități ale tensiunii V_{RE}
- posibilitatea tehnica de a inversa sensul curentului debitat de celula I_{CELL}

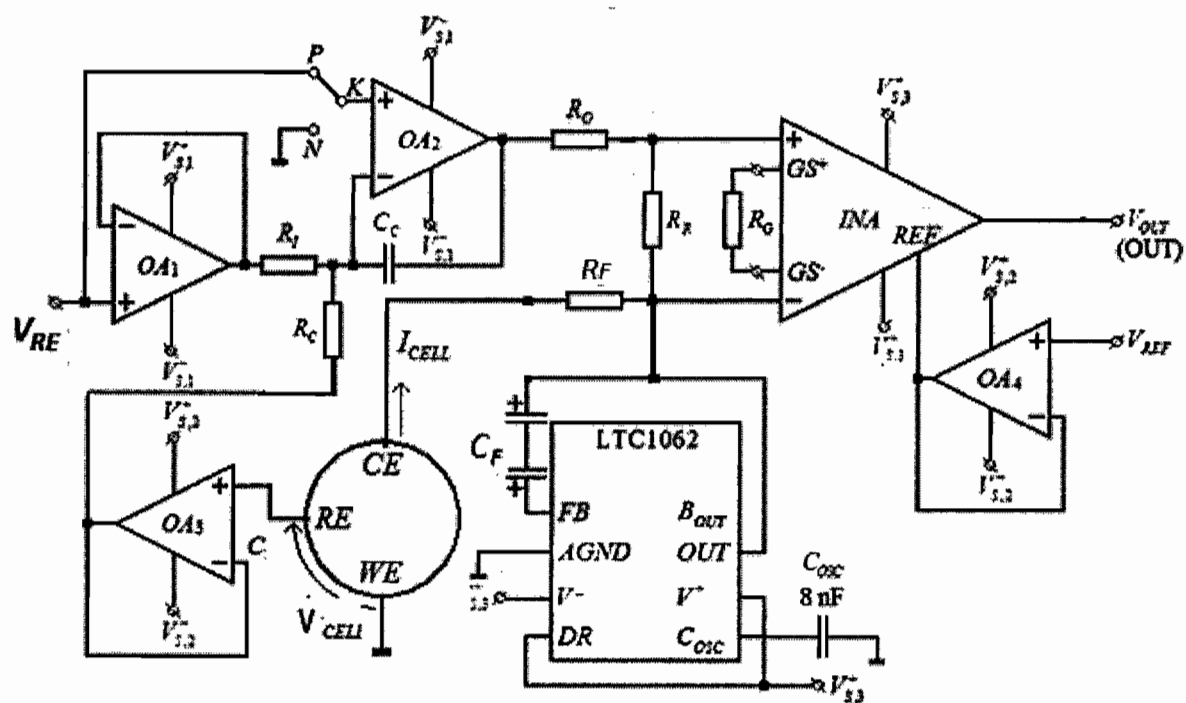


Figura 1. Schema electrica de potentiostat analogic propusa

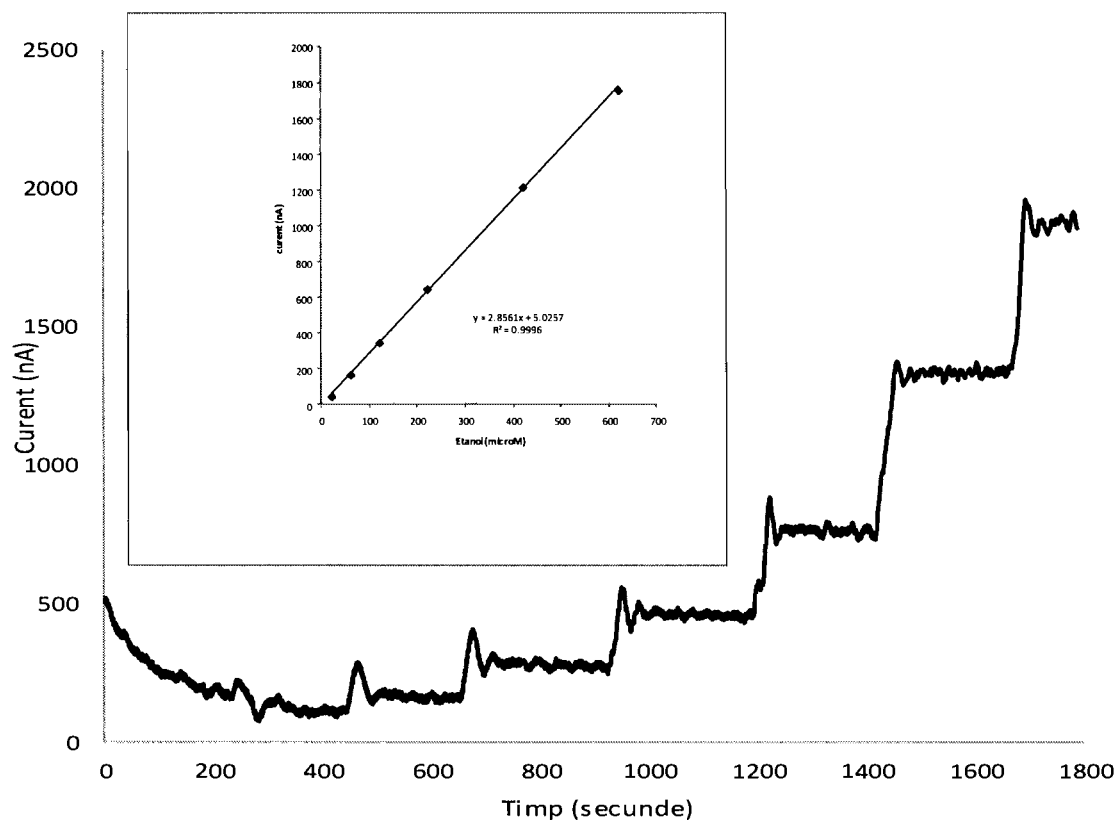


Figura.2 Semnalele analitice obtinute pentru injectarea unor concentratii crescatoare de etanol folosind potentiostatul conform inventiei si biosenzori bazati pe alcool oxidaza conform exemplului de aplicare. Inserata este curba de calibrare a curentului masurat in functie de concentratia de etanol din celula si ecuatia curbei de calibrare care demonstreaza liniaritatea raspunsului.