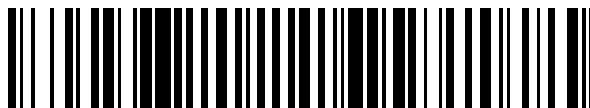


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 802 290**

21 Número de solicitud: 201930628

51 Int. Cl.:

G01N 31/00 (2006.01)

G01N 21/78 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

05.07.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

18.01.2021

Fecha de concesión:

14.05.2021

45 Fecha de publicación de la concesión:

21.05.2021

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DEL PAÍS VASCO / EUSKAL
HERRIKO UNIBERTSITATEA (100.0%)
Barrio Sarriena, S/N
48940 Leioa (Bizkaia) ES**

72 Inventor/es:

**FERNANDO, Benito López;
CASTRO ORTIZ DE PINEDO, Kepa;
COSTANTINI, Ilaria y
RODRÍGUEZ LASO, María Dolores**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

54 Título: **SENSOR MICROFLUÍDICO PARA DETECCIÓN DE ANALITOS**

57 Resumen:

Se describe un sensor microfluídico para detección de analitos en objetos, que comprende una superficie de contacto acoplable a una superficie del objeto, un orificio de entrada en la superficie de contacto de entrada de fluidos emitidos por el objeto, un primer reservorio que almacena un fluido iónico en forma de matriz polimérica. La matriz polimérica comprende una sustancia reactiva que cambia de color cuando entra en contacto con los analitos de los fluidos emitidos por el objeto. Además, comprende al menos un primer conducto microfluídico que conecta el orificio de entrada con el primer reservorio. También se describe un sistema de detección de analitos, un procedimiento para fabricar el sensor microfluídico y el uso del sensor microfluídico para la detección de analitos en obras de arte.

ES 2 802 290 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.
Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

DESCRIPCIÓN**SENSOR MICROFLUÍDICO PARA DETECCIÓN DE ANALITOS****CAMPO DE LA INVENCIÓN**

La presente invención se encuadra dentro de las técnicas para detección de analitos, por ejemplo, amoníaco, cloruros, nitratos, carbonatos, bicarbonatos, sulfatos, cationes disueltos, entre otros, en objetos, por ejemplo, obras de arte, edificios, materiales de construcción, etc. En particular se refiere a un sensor microfluídico capaz de detectar la presencia de determinados analitos en los objetos que monitoriza de una forma completamente autónoma, eficaz y en tiempo real, y estando situado el sensor microfluídico en contacto directo con el objeto que se pretende monitorizar.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La investigación sobre la conservación del patrimonio cultural se centra cada vez más no solo en la identificación de los factores de degradación que afectan al patrimonio sino, sobre todo, en la utilización de técnicas innovadoras de vigilancia climática y medioambiental mediante sistemas de control del aire y de los niveles de contaminantes. Estas técnicas permiten establecer un nivel de riesgo para la conservación de las obras muebles e inmuebles debido a la presencia de los citados factores de degradación.

En la actualidad, están apareciendo una amplia variedad de instrumentos para la monitorización de contaminantes que hacen uso de dispositivos basados en sistemas diseñados en miniatura (transductores, sensores portátiles e integrados). Estos sistemas utilizan normalmente la transmisión remota de la señal analítica, lo que permite compartir en tiempo real los datos experimentales. Además, esto implica un ahorro de tiempo para los investigadores (la recogida de datos sobre el terreno puede requerir incluso unos días), así como una mayor implicación del usuario final, que podrá conocer, los posibles daños, el origen de los mismos e incluso las estrategias de restauración y conservación.

Uno de los dispositivos más recientemente desarrollado en esta dirección es la tecnología de dosimetría MEMORI® para la monitorización de contaminantes en espacios interiores propuesta por Grøntoft et al. [Assessment of indoor air quality and the risk of damage to cultural heritage objects using MEMORI® dosimetry, Studies in Conservation, 61, 70-82]. Esta tecnología ha sido desarrollada como una herramienta para medir y evaluar el riesgo de degradación de los objetos del patrimonio cultural almacenados en interiores debido a la exposición a contaminantes atmosféricos (e.g., O₃, SO₂ y NO₂). Sin embargo, como se destaca en una investigación reciente realizada por Valentini et al. [Smart Portable Devices Suitable for Cultural Heritage: A Review, Sensors, 2018, 18, 2434; doi:10.3390/s18082434], aún no se han diseñado sensores

que se puedan aplicar directamente sobre la superficie de las obras de arte y que sean capaces de diagnosticar un daño local en las mismas.

Además, existen en el estado de la técnica sensores de tatuaje como el propuesto por Torsi et al. [Organic field-effect transistor sensors: a tutorial review, Chemical Society Reviews, 42, 8612-8628] basados en transistores de efecto de campo de semiconductores orgánicos. Estos sensores monitorizan los cambios físicos y químicos que ocurren durante la interacción de materiales con contaminantes. También se conoce el uso de sensores de tatuajes, aplicados a la piel humana, para monitorizar el desempeño deportivo mediante el análisis del sudor del deportista.

Los métodos de detección colorimétricos de analitos se han aplicado en el estado de la técnica como una herramienta rápida para la determinación y detección de la concentración de diversos tipos de analitos en diversos tipos de matrices. La técnica de detección colorimétrica utiliza la capacidad de los reactivos presentes en la matriz para asociarse a los analitos de interés, generando como resultado un nuevo componente de un color diferente al de la matriz original (reacción coloreada). La intensidad de esta reacción dependerá directamente de la concentración de analito. Sin embargo, estos sistemas de detección colorimétrica son generalmente complicados dispositivos que constan de depósitos de reactivos, bombas y válvulas para el control del flujo de líquidos en el dispositivo y módulos detectores haciendo que resulten caros e inadecuados para su uso en el lugar de la contaminación o en el objeto que se pretende monitorizar.

Los dispositivos microfluídicos son dispositivos en los que se manejan y controlan fluidos en la microescala o mesoescala de una forma precisa. El comportamiento de los fluidos en la microescala puede diferir de los macrofluidos en factores como la tensión superficial, disipación de energía y la resistencia fluídica. Por ejemplo, en los dispositivos microfluídicos (canales o conductos con diámetros de alrededor de 100 nanómetros a varios cientos de micrómetros) el número de Reynolds, que caracteriza la presencia de un flujo turbulento, es extremadamente bajo por lo que el flujo laminar se mantiene constante.

La microfluídica es un campo multidisciplinar que combina la ingeniería, física, química, bioquímica, nanotecnología y biotecnología, para aplicaciones de alto valor industrial, económico y social, y lograr dispositivos funcionales con capacidad multiplex, automatizados y de alto rendimiento.

El uso de dichos dispositivos microfluídicos abre la posibilidad de una monitorización rápida, precisa y puntual de los contaminantes y factores de degradación existentes en las obras de arte mediante componentes miniaturizados, de forma sencilla, que son conceptos que deben ser idealmente implementados en las actividades de conservación y monitorización del patrimonio.

Sin embargo, hasta la fecha no se conocen soluciones que empleen dispositivos microfluídicos para la monitorización de dichos contaminantes y factores de degradación en las obras de arte y patrimoniales. En la actualidad, no existen soluciones capaces de realizar un seguimiento continuo del patrimonio cultural (edificios, esculturas, cuadros, fotos, pinturas murales, ...) aprovechando todas las características beneficiosas de los dispositivos microfluídicos (pequeñas dimensiones, portabilidad, detección in situ, seguimiento continuo, bajo coste, facilidad de uso, etc.).

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Por tanto, existe una necesidad, por ejemplo, en los campos de la conservación y restauración (patrimonio cultural), de sensores que puedan ser acoplados directamente en la superficie de las obras de arte o en la superficie construida del patrimonio cultural y que puedan diagnosticar o prever un daño local. Este tipo de sensores permiten un seguimiento continuo, en el punto de necesidad, de las obras de arte. Además, estos sensores pueden combinarse con sensores ambientales para proporcionar una monitorización holística de la obra de arte y su entorno.

La invención provee una solución a los problemas mencionados mediante un sensor microfluídico para detección de analitos en objetos, un sistema de detección de analitos, un procedimiento para fabricar un sensor microfluídico para detección de analitos en objetos y el uso del sensor microfluídico para la detección de analitos en fluidos emitidos por superficies de objetos, como por ejemplo obras de arte o materiales de construcción, de acuerdo al juego de reivindicaciones.

Un primer aspecto de la invención se refiere a un sensor microfluídico para la detección de analitos en un objeto. El sensor microfluídico comprende una superficie de contacto configurada para ser acoplada a una superficie del objeto, por ejemplo, mediante un adhesivo. Además, comprende un orificio de entrada en la superficie de contacto para la entrada de fluidos, por ejemplo, líquidos o gases, emitidos por la superficie del objeto y un primer reservorio que almacena un fluido iónico en forma de matriz polimérica. La matriz polimérica comprende una sustancia reactiva que está configurada para cambiar de color cuando entra en contacto con al menos un analito presente en los fluidos emitidos por la superficie del objeto. El sensor microfluídico comprende también al menos un primer conducto microfluídico que conecta el orificio de entrada con el primer reservorio. El sensor microfluídico es de pequeño tamaño y flexible de manera que puede fijarse fácilmente a la superficie del objeto de interés, independientemente de la geometría de dicha superficie. Este al menos un conducto o canal microfluídico conduce el líquido y los gases generados por el objeto desde la superficie del propio objeto, a través del orificio de entrada, hasta el primer reservorio

donde se localiza la matriz polimétrica con la sustancia reactiva.

Un usuario puede detectar visualmente el cambio de color en la matriz polimérica provocado por la presencia del analito de interés. Además, se podrían colocar una pluralidad de sensores microfluídicos, cada uno con una matriz polimérica que almacene una sustancia reactiva diferente para detectar la presencia de diferentes analitos en la misma superficie de un objeto de interés, por ejemplo, una obra de arte. De este modo y dado el pequeño tamaño de los sensores microfluídicos, se puede monitorizar la presencia de una pluralidad de factores de degradación en un espacio muy pequeño.

En una realización particular, la sustancia reactiva está configurada para cambiar de color por reacción con el al menos un analito en una intensidad proporcional a la concentración del analito, pudiendo ser la relación concentración-intensidad lineal, cuadrática, o cualquier otra. Por tanto, a mayor concentración del analito de interés mayor será la intensidad del color resultante de la reacción química entre el analito y la sustancia reactiva en la matriz polimérica.

En otra realización particular, el sensor microfluídico comprende un segundo reservorio configurado para almacenar humedad procedente del primer reservorio y al menos un segundo conducto microfluídico que conecta el primer reservorio con el segundo reservorio. Este segundo conducto o canal microfluídico, que transporta la humedad existente en el primer reservorio hasta el segundo reservorio, y el segundo reservorio evitan que la humedad dañe la sustancia reactiva o la matriz polimérica que la contiene.

En otra realización particular, el sensor microfluídico está formado por una primera lámina adhesiva sensible a presión que tiene un primer orificio en correspondencia con el orificio de entrada del sensor microfluídico. Además, comprende una lámina de polimetilmetacrilato (PMMA) que comprende el orificio de entrada, el primer reservorio y el al menos un primer conducto microfluídico, una segunda lámina adhesiva sensible a presión que tiene un segundo orificio en correspondencia con el primer reservorio y una lámina de polímero de olefina cíclica (COP). La primera lámina adhesiva sensible a presión se adhiere al objeto y a la lámina de polimetilmetacrilato y la segunda lámina adhesiva sensible a presión se adhiere a la lámina de polimetilmetacrilato y a la lámina de polímero de olefina cíclica. El adhesivo de la cara de la primera lámina adhesiva sensible a presión está seleccionado de modo que no dañe la superficie del objeto al que se adhiriese, especialmente si el sensor microfluídico se adhiere a obras de arte. Alternativamente al PMMA y COP, estas láminas del sensor microfluídico podrían estar fabricadas de polidimetilsiloxano (PDMS) u otros materiales compatibles con producción de plásticos a macroescala que sean transparentes.

En otra realización particular, la lámina de PMMA comprende el segundo

reservorio y el al menos un segundo conducto microfluídico.

En otra realización particular, el analito es amoníaco y la sustancia reactiva es una sal de cobre (II) soluble en agua. De este modo, el sensor microfluídico es capaz de detectar la presencia de amoníaco en el objeto al que se acopla, por ejemplo, una obra de arte tal como un edificio histórico, una escultura, una pintura, etc. En otra realización particular, la sal de cobre soluble en agua es cloruro de cobre (II).

En otra realización particular, el analito está seleccionado de un grupo que comprende: cloruros, nitratos, carbonatos, bicarbonatos, sulfatos, cationes disueltos y una combinación cualquiera de los anteriores. De forma más general, el analito podría ser cualquiera cuyos aniones puedan ser analizados en un sensor de tipo colorimétrico.

En otra realización particular, la matriz polimérica está formada de un compuesto seleccionado de un grupo que comprende un ionogel, un hidrogel, un polímero poroso o líquidos poli-iónicos. De forma más general, la matriz polimérica podría estar hecha de cualquier material capaz de retener el material sensor, es decir la sustancia reactiva, y cuya porosidad la hace apta para retener líquidos o gases.

En otra realización particular, el ionogel está formado por iones seleccionados de un grupo que comprende cationes de colonio, imidazolio, fosfonio, amonio, piridinio, pirrolidinio entre otros, con una gran variedad de aniones, por ejemplo, tetrafluoroboratos, hexafluorofosfatos, fosfatos, perfluorofosfatos, perfluoroamidas, bis(oxalato)boratos, entre otros.

En otra realización particular, el sensor microfluídico es transparente. Todo el dispositivo es transparente para permitir la detección colorimétrica (el cambio de color) en la matriz polimérica. Dicha detección colorimétrica podría hacerse visualmente o bien, mediante una unidad de detección configurada para detectar el cambio de color de la sustancia reactiva como, por ejemplo, espectrómetros de infrarrojos o espectrómetros Raman, entre otros.

En otra realización particular, el objeto es una obra de arte como, por ejemplo, una pintura, una pintura mural, una escultura, un edificio histórico, materiales de construcción, etc.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a un sistema de detección de analitos en un objeto, que comprende un sensor microfluídico tal y como se ha descrito anteriormente y una unidad de detección configurada para detectar el cambio de color de la sustancia reactiva en el primer reservorio del sensor microfluídico.

En algunas realizaciones, la unidad de detección comprende una cámara para monitorizar el sensor microfluídico y un módulo de procesamiento digital de imagen para detectar el cambio de color de la sustancia reactiva en el primer reservorio del sensor microfluídico a partir de las imágenes capturadas por la cámara. La cámara podría ser

una cámara de video o una cámara fotográfica configurada para capturar imágenes del sensor microfluídico de forma periódica.

En algunas realizaciones la unidad de detección está seleccionada de un grupo que comprende un espectrómetro ultravioleta-visible, un espectrómetro infrarrojo (IR) y un espectrómetro Raman para permitir la detección colorimétrica/IR/Raman, respectivamente, de la sustancia reactiva.

Un tercer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para fabricar un sensor microfluídico para detección de analitos en objetos, como el descrito anteriormente. El procedimiento comprende proveer una superficie de contacto configurada para ser acoplada a una superficie del objeto y proveer un orificio de entrada en la superficie de contacto para la entrada de fluidos emitidos por la superficie del objeto. Además, comprende proveer un primer reservorio que almacena un fluido iónico, el fluido iónico comprendiendo una sustancia reactiva que está configurada para cambiar de color cuando entra en contacto con al menos un analito presente en los fluidos emitidos por la superficie del objeto y proveer al menos un primer conducto microfluídico que conecta el orificio con el primer reservorio.

En algunas realizaciones, el procedimiento para fabricar el sensor microfluídico comprende proveer una primera lámina adhesiva sensible a presión que comprende la superficie de contacto y que tiene un primer orificio en correspondencia con el orificio de entrada del sensor microfluídico, proveer una lámina de polimetilmetacrilato que comprende el orificio de entrada, el primer reservorio y el al menos un primer conducto microfluídico, proveer una segunda lámina adhesiva sensible a presión que tiene un segundo orificio en correspondencia con el primer reservorio y proveer una lámina de polímero de olefina cíclica. En dichas realizaciones, la primera lámina adhesiva sensible a presión se adhiere a la lámina de polimetilmetacrilato y está configurada para adherirse al objeto y la segunda lámina adhesiva sensible a presión se adhiere a la lámina de polimetilmetacrilato y a la lámina de polímero de olefina cíclica.

Un cuarto aspecto de la invención se refiere al uso del sensor microfluídico para la detección de analitos en fluidos emitidos por superficies de obras de arte como, por ejemplo, pinturas, pinturas murales, esculturas, edificios históricos otro tipo de obras de arte y patrimoniales. También se refiere al uso del sensor microfluídico para la detección de analitos en fluidos emitidos por superficies de materiales de construcción.

El sensor microfluídico para detección de analitos en objetos, el sistema de detección de analitos, el procedimiento para fabricar un sensor microfluídico para detección de analitos en objetos y el uso del sensor microfluídico para la detección de analitos en fluidos emitidos por superficies de objetos, como por ejemplo obras de arte

o materiales de construcción, presenta una serie de ventajas frente al estado de la técnica. Dichas ventajas son: permite la monitorización y control de exudados en objetados, tales como obras de arte, que puedan estar afectados por diferentes factores de degradación o contaminación ambiental mediante tecnología microfluídica vestible y de una forma automática y autónoma. Permita también el uso de técnicas de monitorización de imágenes como cámaras de vídeo o análisis fotográfico o en combinación con técnicas de detección aún más precisas y específicas como pueden ser la espectroscopía de Raman, IR, UV-Vis, entre otras, para la monitorización y control de dichos factores de degradación. Además, está fabricado a partir de materiales flexibles, de bajo coste y puede ser fácilmente modificado en función del analito a detectar y del objeto sobre el que se va a colocar. Además, su uso presenta otras ventajas entre las que se destaca su fácil almacenamiento, transporte y es desechable, lo cual resulta muy adecuado para el diagnóstico barato y rápido in situ por personal no entrenado, sin necesidad de fuentes de energía ni componentes electrónicos. El sensor microfluídico es de dimensiones muy reducidas, portátil, utiliza pequeños volúmenes de muestra reduciendo así la cantidad de reactivos, es altamente sensible y fiable y proporciona una respuesta en un corto periodo de tiempo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Para completar la descripción y con el fin de mejorar la comprensión de la invención, se aporta un conjunto de figuras. Dichas figuras forman parte integrante de la descripción e ilustran diferentes realizaciones de la invención, lo que no debe interpretarse como una limitación del alcance de la invención, sino como ejemplos de cómo puede llevarse a cabo la invención.

La figura 1 muestra una vista frontal de un ejemplo de sensor microfluídico para detección de analito, acoplado a una pared.

La figura 2 muestra una vista explosionada en perspectiva del ejemplo de sensor microfluídico de la figura 1.

La figura 3 muestra una vista de un ejemplo de sistema de detección de analitos en un objeto.

La Figura 4 muestra los espectros de absorción del ionogel (línea negra/continua), del ionogel tras haber añadido cloruro de cobre (azul/rayada) y del ionogel con el cloruro de cobre tras haber reaccionado con el amoníaco (rojo/punteada)

La figura 5A muestra un experimento en el que cuatro sensores microfluídicos son expuestos a soluciones con diferentes concentraciones de nitrato de amonio (a través del exudado del mortero) y un sensor de referencia (donde no se utiliza nitrato de amonio, solo agua). La figura 5B muestra un histograma en el que se muestran los

valores medios del parámetro de color "H" para los cinco sensores microfluídicos (número de medidas del valor de "H" en el sensor igual a tres).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La figura 1 muestra una vista frontal de un ejemplo de sensor microfluídico 100 para detección de analitos, por ejemplo, el amoníaco desprendido tras reaccionar el amonio con el mortero, acoplado a una pared 101. Debe entenderse que el sensor microfluídico 100 representado en la figura 1 puede incluir componentes adicionales y que algunos de los componentes aquí descritos pueden ser eliminados y/o modificados sin apartarse del alcance del sensor microfluídico 100.

El sensor microfluídico 100 se encuentra acoplado en una pared 101 para la detección y monitorización del impacto del catión amonio en los materiales de construcción de dicha pared 101. El sensor microfluídico 100 comprende un orificio de entrada 102 de los exudados provenientes de la pared 101, pudiendo contener estos exudados el catión amonio, además de otros aniones, cationes y sustancias como, por ejemplo, agua y amoníaco. El sensor microfluídico 100 tiene además un primer reservorio 103 donde se almacena un ionogel 104 en líquido iónico en forma de matriz polimérica que hace de soporte para contener una sustancia reactiva, en este caso, cloruro de cobre (CuCl_2) aunque podría ser cualquier sal soluble de Cu^{2+} . La sustancia reactiva se encuentra embebida en la matriz polimérica, donde la estructura de la matriz polimérica permite el almacenamiento de la sustancia reactiva por largos períodos de tiempo sin que se deteriore a la vez que permite que reaccione con el analito de interés para que funcione como un sensor colorimétrico.

El primer reservorio 103 tiene una configuración que permite que los exudados, líquidos y/o gases, pasen a través del ionogel 104. El sensor microfluídico 100 está fabricado en material transparente para permitir la detección colorimétrica/IR/Raman en la matriz polimérica y presenta una baja rigidez que le permite acoplarse a superficies con geometrías diversas.

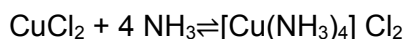
El sensor microfluídico 100 comprende además un primer conducto microfluídico 105 que comunica el orificio de entrada 102 con el primer reservorio 103 para el transporte de los exudados desde la pared 101 hasta el primer reservorio 103. Además, comprende un segundo reservorio 106 para almacenar la humedad proveniente del primer reservorio 103 y que se transporta desde el primer reservorio 103 vía un segundo conducto microfluídico 107.

El ionogel 104 podría estar formado por líquidos iónicos basados en tiazolio, benzotiazolio, fosfonio e imidazolio, entre otros. Además, el ionogel 104 podría contener otras sustancias reactivas para controlar otros analitos de interés como, por ejemplo,

cationes de hidrogeno para la detección del pH o de variaciones en el potencial redox, cloruros, nitratos, nitritos, carbonatos, bicarbonatos, sulfatos, cationes disueltos, entre otros.

Alternativamente al ionogel 104, el primer reservorio 103 podría contener hidrogeles, polímeros porosos o líquidos poli-ionicos en forma de matriz polimérica, dependiendo de las necesidades de detección del sensor microfluídico 100. Los hidrogeles son estructuras polimerizadas, entrecruzadas, porosas, y con propiedades hidrófilas capaces de retener una importante fracción de agua dentro de la misma. Los hidrogeles se preparan generalmente a partir de monómeros hidrófilos, aunque también se pueden utilizar monómeros hidrófobos para regular las propiedades para aplicaciones específicas. Por ejemplo, los hidrogeles podrían ser poliacrilamidas.

En este ejemplo de sensor microfluídico 100, el cloruro de cobre (II) reacciona con el amoniaco proveniente de los exudados de la pared 101 de manera que el catión de cobre (II) forma un compuesto estable con el amoniaco y cambia el color de amarillo-verdoso a azul, de acuerdo a la reacción:



Gradualmente, el cloruro de cobre (CuCl_2) reacciona con vapores de amoníaco, y cuando la reacción está completa y se forma el complejo metálico de cobre y amoníaco ($[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2$), el sensor cambia de color de amarillo-verdoso a azul.

En este ejemplo, el ionogel 104 se obtiene utilizando el IL's (IO-1) 1-etil-3-metilimidazolio etilsulfato. El ionogel se sintetiza mezclando dos monómeros, un primer monómero lineal (*N*-isopropilacrilamida) y un segundo monómero reticulante (*N,N'*-metileno-bisacrilamida) para dar a la estructura tridimensional y que gracias a sus cargas positivas y negativas asegura que la estructura de la matriz polimérica no se colapse a la vez que mejora la plasticidad del gel. Además, se añade un fotoiniciador (2,2-Dimetoxi-2-fenilacetofenona) para inducir la fotopolimerización a una longitud de onda de 365 nm. Para ello, con una pipeta mecánica, se coloca uniformemente en un soporte 75 μL de la solución con los dos monómeros junto con el fotoiniciador. Posteriormente, la solución se somete a un proceso de fotopolimerización con una lámpara UV-VIS de 365 nm de longitud de onda durante 5 minutos. El ionogel 104 resultante de los líquidos iónicos se lava con isopropanol y agua destilada y se seca con papel absorbente para eliminar cualquier resto de los monómeros que no hayan reaccionado y de cualquier otro reactivo. Luego, se vierten 75 μL de una solución de cloruro de cobre en etanol de 0,3 M sobre el ionogel para su secado. Finalmente, el sensor se lava con agua destilada y se seca con papel absorbente.

La figura 2 muestra una vista explosionada en perspectiva del ejemplo de sensor microfluídico 100 de la figura 1. El sensor microfluídico 100 está fabricado utilizando

protocolos de laminación multicapa.

El sensor microfluídico 100 consta de cuatro capas. En principio las capas que forman el sensor microfluídico 100 puede ser de cualquier material siempre que sea inerte a los materiales con los que va a entrar en contacto, es decir, que no reaccione, y no interfiera con la química de la matriz polimérica, las sustancias reactivas contenidas en la matriz polimérica, ni con los compuestos químicos provenientes de los exudados del objeto que se pretende monitorizar. Ejemplos de materiales plásticos adecuados para las capas son, entre otros, polietileno de alta densidad, polietileno de baja densidad, politereftalato de etileno, policloruro de vinilo, polipropileno, poliestireno o policarbonato, polímero o copolímero de olefinas cíclicas o resinas acrílicas.

En este ejemplo, el sensor microfluídico 100 comprende una primera capa adhesiva sensible a la presión 108, cortada con un plotter de corte (Graphtec CE5000-40 Craft Robo Pro), que contiene un primer orificio 109 en correspondencia con el orificio de entrada 102. La primera capa adhesiva sensible a la presión tiene ambas caras adhesivas, con una cara externa que se adhiere al objeto a monitorizar, en este caso a la pared 101, y una cara interna que se adhiere a una capa interna de polimetilmetacrilato (PMMA) 110. La capa interna de PMMA 110 está fabricada mediante un sistema de ablación por láser de CO₂ (Laser Micro-machining Light Deck). Esta capa interna de PMMA comprende el orificio de entrada 102, el primer conducto microfluídico 105, el primer reservorio 103, el segundo conducto microfluídico 107 y el segundo reservorio 106. La capa interna de PMMA presenta una mayor rigidez, es ligeramente más gruesa (por ejem, alrededor de 1mm) y presenta una mayor resistencia mecánica que las otras tres capas que conforman el sensor microfluídico 100.

El segundo conducto microfluídico 107 que conecta el primer reservorio 103 con el segundo reservorio 106 transporta la humedad que llega al ionogel 104 hasta el segundo reservorio 103 donde se almacena. Mediante la eliminación de la humedad de la matriz polimérica, se alarga la vida útil del sensor microfluídico 100. Además, puede ser utilizado como una forma cualitativa de medir la humedad que exuda el objeto que se pretende monitorizar. Las dimensiones del segundo reservorio 106 pueden variar dependiendo del objeto al que se acople el sensor microfluídico, siendo mayor cuando se prevea una mayor cantidad de humedad exudada por el objeto.

El sensor microfluídico 100 tiene una segunda capa adhesiva sensible a presión 111 que se adhiere por un lado a la capa interna de PMMA 110 y por el otro lado a una capa de polímero de cicloolefina (COP) 113. La segunda capa adhesiva sensible a presión 111 dispone de un orificio 112 en correspondencia con el primer reservorio 103 de manera que el espacio del primer reservorio 103 queda definido por la primera capa adhesiva sensible a presión 108, la capa PMMA 110 y la capa COP 113. Esta capa COP

113 permite una total transparencia de la zona de detección del primer reservorio 103 y mantiene el ionogel 104 en la zona delantera y más externa del sensor microfluídico 100. Preferentemente, todas las capas del sensor microfluídico 100 están hechas de un material transparente.

5 En este ejemplo concreto, para la fabricación del sensor microfluídico 100, se coloca la primera capa adhesiva sensible a presión 108 y a ella se adhiere la capa PMMA 110. Después, se colocan 5 μ L de IL's (IO-1) sulfato etílico de 1-etil-3-metilimidazolio en el primer reservorio 103 y se realiza la fotopolimerización con una lámpara UV-VIS durante 1 min para formar el ionogel 104. Alternativamente, el ionogel
10 104 podría obtenerse en un recipiente aparte y de él tomarse una cantidad que se depositaría en el primer reservorio 103 donde se llevaría a cabo la fotopolimerización. A continuación, se lava el ionogel 104 con isopropanol y agua destilada y se seca con papel absorbente. Posteriormente, se agrega al ionogel 104 5 μ L una solución de cloruro de cobre en etanol de 0,3 M y se vuelve a lavar el ionogel 104 con agua y se seca.
15 Finalmente, se colocan la segunda capa adhesiva sensible a presión 111 y la capa de COP 113. Por último, se coloca el sensor microfluídico 100 sobre la superficie a monitorizar. Este diseño permite la simple visualización ocular del cambio de color en la matriz polimérica que contiene el ionogel 104. También permite el uso de unidades electrónicas de detección, por ejemplo, espectrómetros, para la detección del cambio
20 de color en la matriz polimérica.

La cantidad de ionogel 104 que se deposita en el primer reservorio 103 es variable y dependerá en cada caso del diseño del sensor microfluídico 100.

Aunque las figuras 1 y 2 muestran un sensor microfluídico 100 con una geometría y una disposición de los elementos muy concretos, las dimensiones del sensor
25 microfluídico 100 pueden ser variables y no existe ninguna limitación particular al respecto. El tamaño de sensor microfluídico 100 puede variar dependiendo de los requisitos de análisis y del objeto sobre el que se vaya a colocar, entre otros parámetros. En una realización particular el dispositivo presenta 1,5 mm de espesor y un tamaño de 3x3 cm. Asimismo las dimensiones, disposiciones y las formas de los reservorios,
30 aperturas y conductos microfluídicos también pueden variar en el sensor microfluídico 100, sin que exista tampoco ninguna limitación particular al respecto.

La figura 3 muestra una vista de un ejemplo de sistema de detección 200 de analitos en un objeto, por ejemplo, una pared 201, incluyendo el sensor microfluídico 202 y una unidad de detección 203 configurada para detectar el cambio de color de la
35 sustancia reactiva en el primer reservorio del sensor microfluídico 202. Debe entenderse que el sistema de detección 200 representado en la figura 3 puede incluir componentes adicionales y que algunos de los componentes aquí descritos pueden ser eliminados y/o

modificados sin apartarse del alcance del sistema de detección 200.

El sistema de detección 200 de analitos, por ejemplo, el amoníaco, en un material constructivo de un edificio, por ejemplo, la pared 201 de un edificio, comprende un sensor microfluídico 202, por ejemplo, como el descrito en las figuras 1 y 2, acoplado a dicha pared 201. Además, comprende una unidad de detección 203 configurada para detectar el cambio de color en el sensor microfluídico 202. Esta unidad de detección 203 está formada por un espectrómetro ultravioleta-visible (no mostrado) conectada a una cámara de video 204 que monitoriza el sensor microfluídico 202. La una unidad de detección 203 también aloja un módulo de procesamiento digital de imagen integrado en el espectrómetro que está configurado para detectar el cambio de color de la sustancia reactiva en el sensor microfluídico 202. Tanto la cámara de video 204 como el espectrómetro y el módulo de procesamiento digital de imagen se integran en el interior de la carcasa de la unidad de detección 203.

La unidad de detección 203 dispone de medios de comunicación inalámbricos, por ejemplo, una conexión Bluetooth o WiFi, para el envío de los resultados del procesamiento de la imagen capturadas a un dispositivo remoto 205 como puede ser un ordenador, un teléfono móvil, un iPad, una PDA, etc.

Alternativamente, la unidad de detección 203 podría disponer de un espectrómetro infrarrojo o un espectrómetro Raman conectado también a la cámara de video 204 y al módulo de procesamiento digital de imagen integrado en el espectrómetro. En otros ejemplos, alternativamente a la cámara de video 204, la unidad de detección podría disponer de una cámara fotográfica programada para tomar imágenes del sensor microfluídico 202 de forma periódica.

Dicha unidad de detección 203, podría estar acoplada a la pared 201 y localizada en proximidad al sensor microfluídico 202 o podría acoplarse directamente al sensor microfluídico 202, siempre que la cámara 204 quede alineada con el primer reservorio del sensor microfluídico 202 para la monitorización colorimétrica de la matriz polimérica.

Alternativamente, el sistema de detección 200 podría ser un teléfono móvil o dispositivo análogo, capaz de hacer fotos del dispositivo microfluídico 202, y dicha imagen podría ser analizada posteriormente de forma remota con el software adecuado; o in situ, si el móvil tiene el programa de análisis de imágenes adecuado.

Para el análisis de las imágenes del sensor microfluídico capturadas, el módulo de procesamiento digital de imagen podría usar softwares como el ImageJ® u otras herramientas analíticas más complejas (aparatos de análisis colorimétrico, fibras ópticas, espectrómetros, etc.).

La Figura 4 muestra los espectros de absorción del ionogel (línea negra/continua), del ionogel tras haber añadido cloruro de cobre (azul/rayada) y del

ionogel con el cloruro de cobre (II) tras haber reaccionado con el amoníaco (rojo/punteada).

Estos espectros se han obtenido mediante técnicas de espectrofotometría UV-VIS-NIR y se corresponden a un único sensor microfluídico como el descrito en relación a la figura 2. Por lo tanto, los análisis se realizaron en la muestra de ionogel como tal, después de añadir cloruro de cobre (II) y después de la reacción con amoníaco. El espectro UV-VIS-NIR obtenido para el sensor microfluídico con solo el ionogel muestra bandas de frecuencias situadas a los 1430, 1615, 1933 y 2260 nm. El espectro UV-VIS-NIR obtenido para el sensor microfluídico con la solución de cloruro de cobre muestra la máxima absorción del ion Cu^{2+} en solución a los 415 nm, es decir en la región anaranjada y amarilla del espectro electromagnético. Después de la reacción con el amoníaco y la formación del complejo metálico, el espectro UV-VIS-NIR obtenido para el sensor microfluídico muestra un desplazamiento de la banda principal de emisión a los aproximadamente 615 nm, que se corresponde con la máxima absorción del compuesto $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$, en la región de los azules del espectro electromagnético. Esta es la razón por la que el ojo humano percibe el cambio cromático desde los amarillos hacia los azules en la matriz polimérica.

Dichos espectros demuestran la viabilidad de la detección mediante técnicas visuales (ojo humano) y de espectrofotometría para verificar la formación del complejo metálico $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}_2$ que denota la presencia del analito de interés.

La figura 5A muestra un experimento en el que cuatro sensores microfluídicos son expuestos a soluciones con diferentes concentraciones de nitrato de amonio (a través del exudado del mortero) y un sensor de referencia (donde no se utiliza nitrato de amonio, solo agua). La figura 5B muestra un histograma en el que se muestran los valores medios del parámetro de color "H" detectados en los cinco sensores microfluídicos expuestos a soluciones con diferentes concentraciones (0,1 M, 0,3 M) de nitrato de amonio y en un sensor microfluídico de referencia, obtenidas mediante técnicas de espectrofotometría y el software ImageJ®.

Para llevar a cabo este experimento, que se trata de un ejemplo ilustrativo del funcionamiento de la invención que en ningún caso deben interpretarse como limitante del ámbito de protección de la invención, el nitrato de amonio se reprodujo en el laboratorio. Este nitrato de amonio (NH_4NO_3) se obtuvo mezclando cloruro de amonio (NH_4Cl) y nitrato de potasio (KNO_3). Se prepararon tres soluciones de cloruro de amonio y nitrato de potasio disueltos en agua miliQ a diferentes concentraciones (0,1 y 0,3 M). En este caso el analito a ser detectado es el amonio (NH_4^+) después de ser transformado en amoníaco tras reaccionar con el material de construcción.

Las soluciones se colocaron dentro de diferentes contenedores de plástico 300-

302 cerrados con tapón, y unas muestras de mortero 303 apoyadas por varillas metálicas y abrazaderas de laboratorio (no mostradas) se colocaron encima de las mismas. Por medio de una fina abertura en la tapa, se utilizó papel de filtro 304 para actuar como vehículo entre las soluciones y las muestras de mortero 303. Otras muestras fueron expuestas a vapores de nitrato de amonio para verificar si podían detectar vapores de NH_3 . Por la misma razón y para tener una referencia, se puso un sensor microfluídico 305 en contacto con una solución de agua solamente. Para la solución con NH_4NO_3 0,1M se utilizaron dos sensores microfluídicos, uno en la parte inferior 306 y otro en la parte superior 307, simulando dos alturas diferentes. Para la solución con NH_4NO_3 0,3M se utilizaron dos sensores microfluídicos, uno en la parte inferior 308 y otro en la parte superior 309, simulando las mismas alturas que los sensores microfluídicos 306-307.

El sensor microfluídico 306 colocado en la parte inferior y expuesto a la solución de 0,1 M mostró, al cabo de un mes, un cambio de color de amarillo a azul claro. Por otro lado, el sensor microfluídico 307 colocado en la parte superior (13 cm sobre el otro sensor) en la misma maqueta 303 no mostró evidencias de un cambio de color ya que la solución no llegó, por capilaridad, al orificio de entrada del sensor microfluídico 307 después de un mes de experimento. Además, el sensor microfluídico 305 de referencia colocado en la parte inferior de la maqueta 303 con el agua y el papel de filtro 304 no mostraban ningún cambio de color.

Así, las maquetas 303 se colocaron en un lugar húmedo (alrededor del 90% de humedad) donde permanecieron durante unos 7 meses expuestos a los vapores y a las soluciones de nitrato de amonio. Después de 7 meses, ambos sensores 306-307 expuestos a la solución 0.1 M mostraron un claro cambio de color, especialmente el sensor 306.

Los sensores microfluídicos 308-309 que fueron expuestos a soluciones con concentraciones más altas (0,3 M) mostraron una variación cromática similar, probablemente debido al largo tiempo del experimento, en el que todos los sensores pudieron haber alcanzado un estado estacionario en la formación del color.

En todos los casos, debido a la alta humedad, se observó la presencia de agua en el segundo reservorio, probando la viabilidad de este reservorio para el buen funcionamiento del dispositivo sensor microfluídico.

Aquellos sensores que han mostrado una coloración azulada más evidente han sido los expuestos a soluciones con mayores concentraciones de nitrato de amonio, sensores 308-309. Para verificar estas pruebas mediante un procedimiento analítico, se realizó una evaluación del cambio de color en relación con la concentración de las soluciones utilizando el programa informático de código abierto ImageJ® (Fiji) creado

para el procesamiento de imágenes tras tomar una fotografía de los diferentes sensores microfluídicos. Así, el programa ImageJ®, utilizando el complemento "Transformador de color", calculó los valores HVS (que es un modelo de color definido en términos de sus componentes, (del inglés *Hue*, *Saturation*, *Value* – Matiz, Saturación, Valor).

5 Posteriormente, se seleccionaron las áreas de interés y luego se extrajo el valor de H tanto del fondo (tomado en un área del sensor con el fondo de la maqueta) como del área del sensor donde se encontraba el ionogel. Así, el software ImageJ® calculó el valor H0 del fondo que fue restado del valor H del sensor.

Los valores obtenidos por la gráfica de los resultados fueron compatibles con la
10 intensidad del color azul de los sensores después de 7 meses de exposición a soluciones a diferentes concentraciones (0,1, 0,3 M y referencia), como puede verse en el histograma que se muestra en la figura 5B. El valor de referencia se tomó de una fotografía tomada a un sensor microfluídico antes de comenzar el experimento y es el que muestra el valor más alto de H ya que no se produjo ninguna reacción. Se obtuvieron
15 valores bajos de H para los sensores expuestos a las soluciones de 0,1 M, obteniéndose los valores más bajos para los sensores expuestos a las soluciones de 0,3 M. De hecho, cuanto más intenso es el color del sensor (hacia el color azul), más bajos son los valores de H.

Además, el valor promedio de H también se calculó sobre la base de la posición
20 del sensor en la maqueta (más abajo o más arriba). El valor de H fue menor en el sensor situado en la zona baja del mortero, sensores 306,308, porque es el sensor más cercano a las soluciones y el que más detecta la presencia de amonio. La misma situación se observó para ambas concentraciones (0,1 y 0,3 M). Este protocolo demostró la posibilidad de utilizar técnicas sencillas de análisis de imágenes (extraer información
25 analítica de un cambio de color procedente de una imagen) para caracterizar el rendimiento del sensor microfluídico.

La invención no está limitada a las realizaciones concretas que se han descrito, sino que abarca también, por ejemplo, las variantes que pueden ser realizadas por el experto medio en la materia dentro de lo que se desprende de las reivindicaciones.

30

REIVINDICACIONES

1. Un sensor microfluídico para detección de analitos en un objeto, caracterizado porque comprende:

5 una superficie de contacto configurada para ser acoplada a una superficie del objeto; un orificio de entrada en la superficie de contacto para la entrada de fluidos emitidos por la superficie del objeto;

un primer reservorio que almacena un fluido iónico en forma de matriz polimérica, la matriz polimérica comprendiendo una sustancia reactiva que está configurada para 10 cambiar de color cuando entra en contacto con al menos un analito presente en los fluidos emitidos por la superficie del objeto; y

al menos un primer conducto microfluídico que conecta el orificio de entrada con el primer reservorio.

15 2. El sensor microfluídico según la reivindicación 1, donde la sustancia reactiva está configurada para cambiar de color por reacción con el al menos un analito en una intensidad proporcional a la concentración del analito.

3. El sensor microfluídico según la reivindicación 1 o 2, que comprende:

20 un segundo reservorio configurado para almacenar humedad procedente del primer reservorio; y

al menos un segundo conducto microfluídico que conecta el primer reservorio con el segundo reservorio.

25 4. El sensor microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende:

una primera lámina adhesiva sensible a presión que tiene un primer orificio en correspondencia con el orificio de entrada del sensor microfluídico;

una lámina de polimetilmetacrilato que comprende el orificio de entrada, el primer 30 reservorio y el al menos un primer conducto microfluídico;

una segunda lámina adhesiva sensible a presión que tiene un segundo orificio en correspondencia con el primer reservorio; y

una lámina de polímero de olefina cíclica,

35 donde la primera lámina adhesiva sensible a presión se adhiere al objeto y a la lámina de polimetilmetacrilato y donde la segunda lámina adhesiva sensible a presión se adhiere a la lámina de polimetilmetacrilato y a la lámina de polímero de olefina cíclica.

5. El sensor microfluídico según la reivindicación 4, donde la lámina de polimetilmetacrilato comprende el segundo reservorio y el al menos un segundo conducto microfluídico.

5

6. El sensor microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el analito es amoníaco y la sustancia reactiva es una sal de cobre (II) soluble en agua.

10

7. El sensor microfluídico según la reivindicación 6, donde la sal de cobre soluble en agua es cloruro de cobre (II).

15

8. El sensor microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el analito está seleccionado de un grupo que comprende: cloruros, nitratos, carbonatos, bicarbonatos, sulfatos, cationes disueltos y una combinación cualquiera de los anteriores.

20

9. El sensor microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la matriz polimérica está seleccionada de un grupo que comprende un ionogel, un hidrogel, polímero porosos o líquidos poli-iónicos.

25

10. El sensor microfluídico según la reivindicación 9, donde el ionogel está formado por iones seleccionados de un grupo que comprende: tiazol, benzotiazol, fosfonio e imiadazol.

11. El sensor microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el sensor microfluídico es transparente.

30

12. El sensor microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el objeto es una obra de arte.

35

13. Un sistema de detección de analitos en un objeto, que comprende:
un sensor microfluídico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12; y
una unidad de detección configurada para detectar el cambio de color de la sustancia reactiva en el primer reservorio del sensor microfluídico.

14. El sistema de detección de analitos, según la reivindicación 13 donde la unidad

de detección comprende una cámara para monitorizar el sensor microfluídico y un módulo de procesamiento digital de imagen para detectar el cambio de color de la sustancia reactiva en el primer reservorio del sensor microfluídico.

5 15. El sistema de detección de analitos, según la reivindicación 13 o 14, donde la unidad de detección está seleccionada de un grupo que comprende un espectrómetro ultravioleta-visible, un espectrómetro infrarrojo y un espectrómetro Raman.

10 16. Un procedimiento para fabricar el sensor microfluídico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, que comprende:

- proveer una superficie de contacto configurada para ser acoplada a una superficie del objeto;

- un orificio de entrada en la superficie de contacto para la entrada de fluidos emitidos por la superficie del objeto;

15 - un primer reservorio que almacena un fluido iónico, el fluido iónico comprendiendo una sustancia reactiva que está configurada para cambiar de color cuando entra en contacto con al menos un analito presente en los fluidos emitidos por la superficie del objeto; y

20 - al menos un primer conducto microfluídico que conecta el orificio con el primer reservorio.

17. El procedimiento para fabricar el sensor microfluídico de la reivindicación 16, que comprende:

25 - proveer una primera lámina adhesiva sensible a presión que comprende la superficie de contacto y que tiene un primer orificio en correspondencia con el orificio de entrada del sensor microfluídico;

- proveer una lámina de polimetilmetacrilato que comprende el orificio de entrada, el primer reservorio y el al menos un primer conducto microfluídico;

30 - proveer una segunda lámina adhesiva sensible a presión que tiene un segundo orificio en correspondencia con el primer reservorio; y

- proveer una lámina de polímero de olefina cíclica,
donde la primera lámina adhesiva sensible a presión se adhiere al objeto y a la lámina de polimetilmetacrilato y donde la segunda lámina adhesiva sensible a presión se adhiere a la lámina de polimetilmetacrilato y a la lámina de polímero de olefina cíclica.

35 18. Uso del sensor microfluídico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para la detección de analitos en fluidos emitidos por superficies de obras de arte.

19. Uso del sensor microfluídico de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para la detección de analitos en fluidos emitidos por superficies de materiales de construcción.

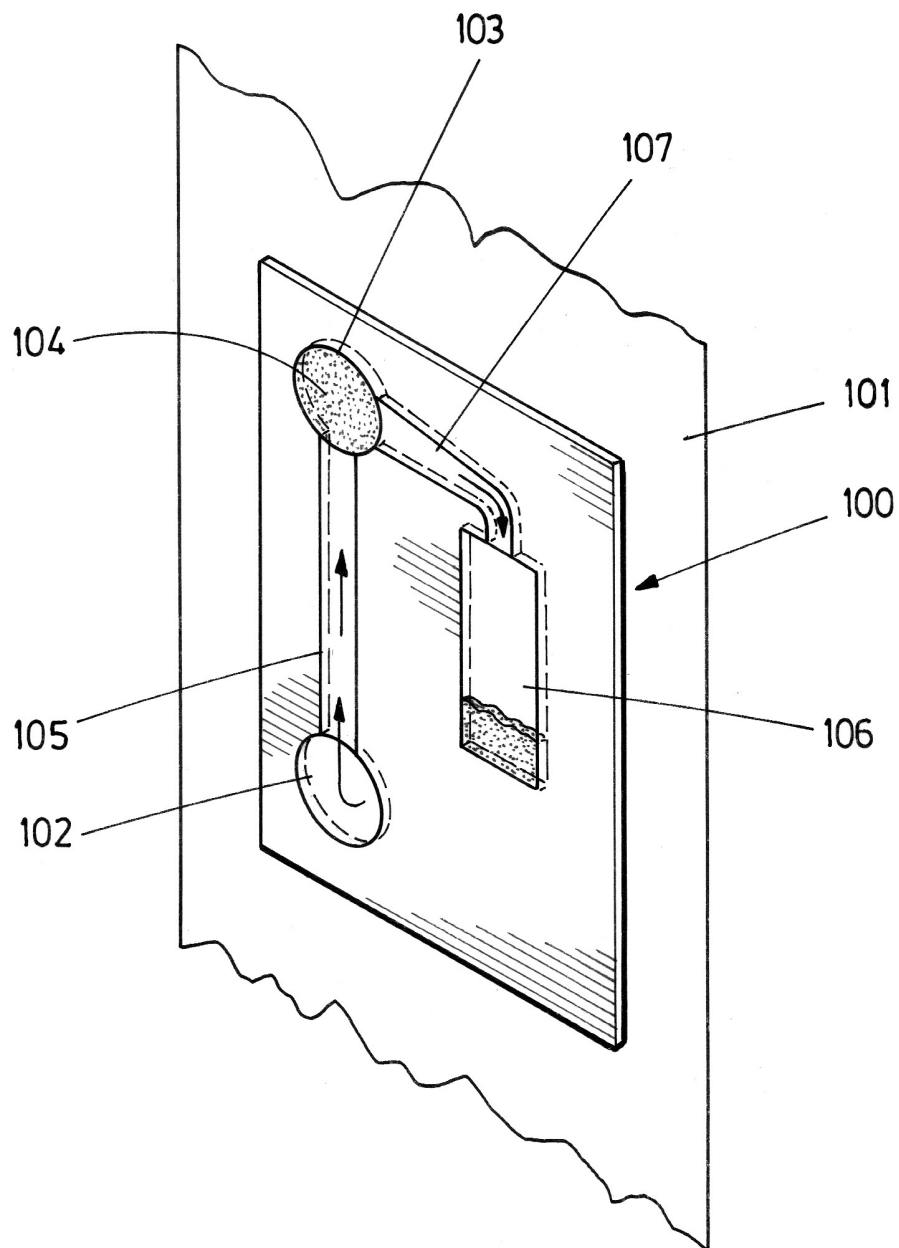


FIG.1

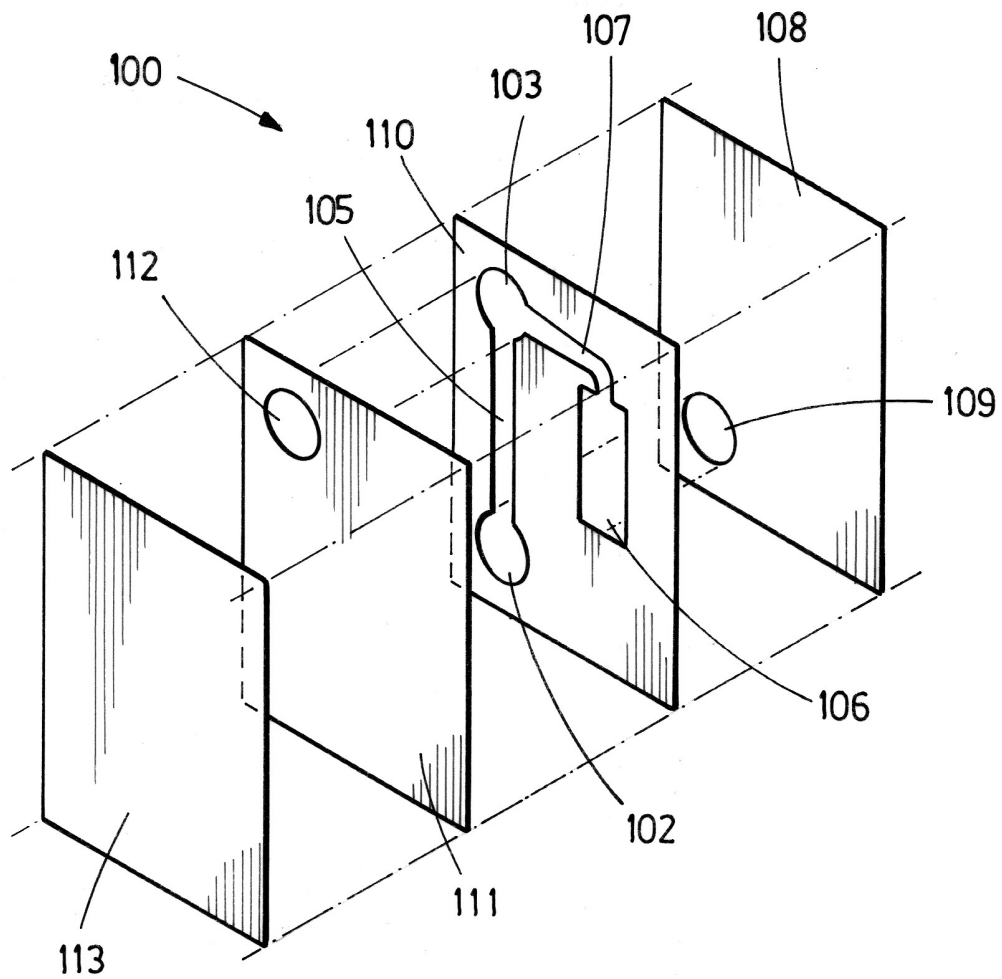


FIG.2

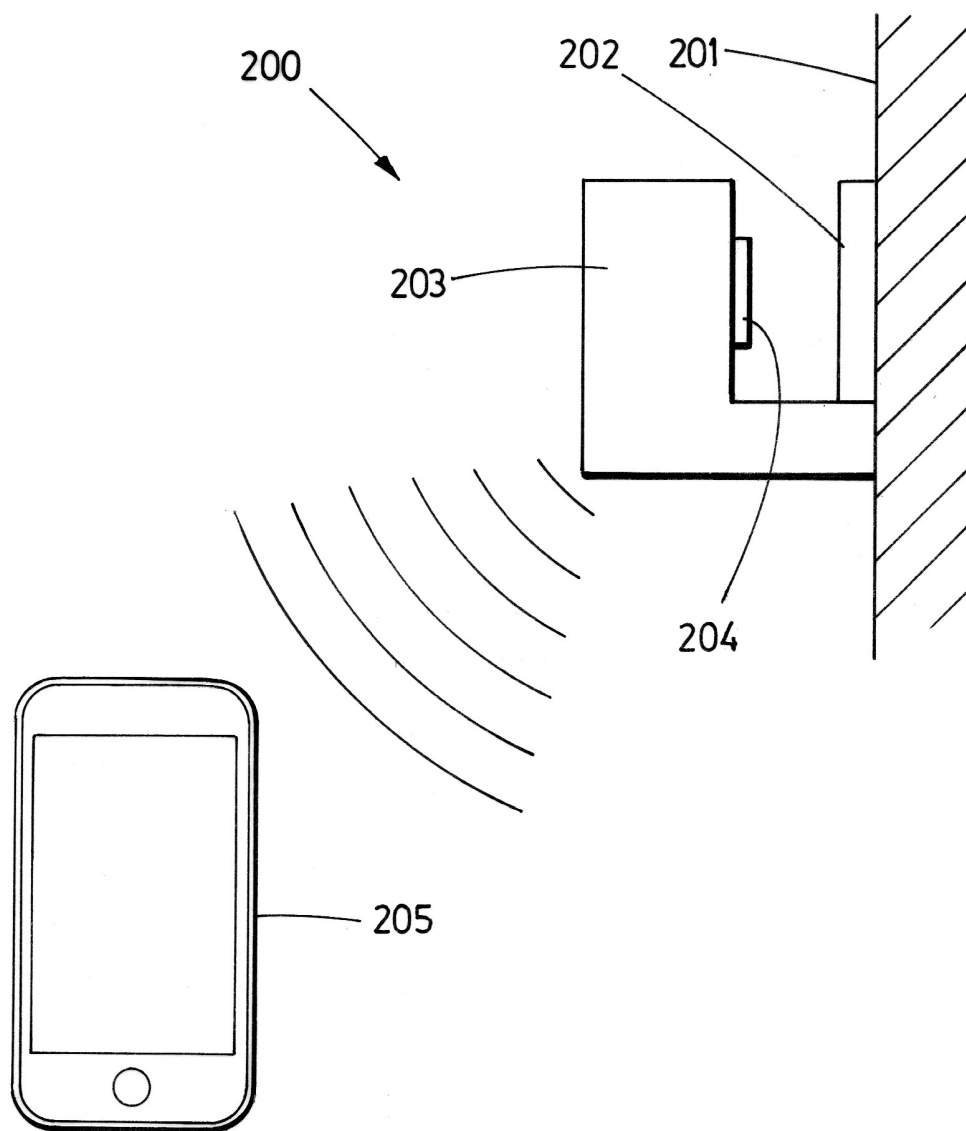


FIG.3

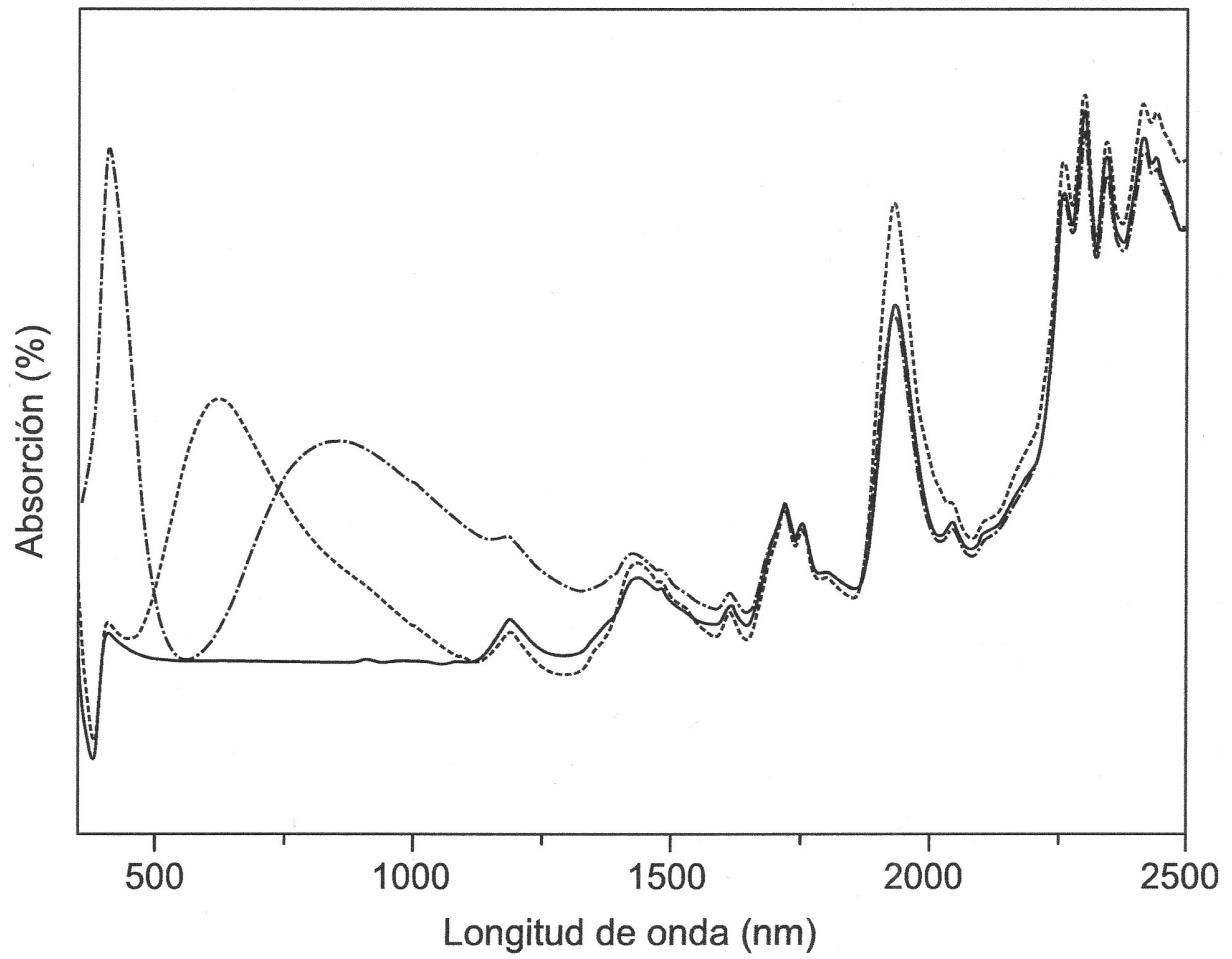


FIG.4

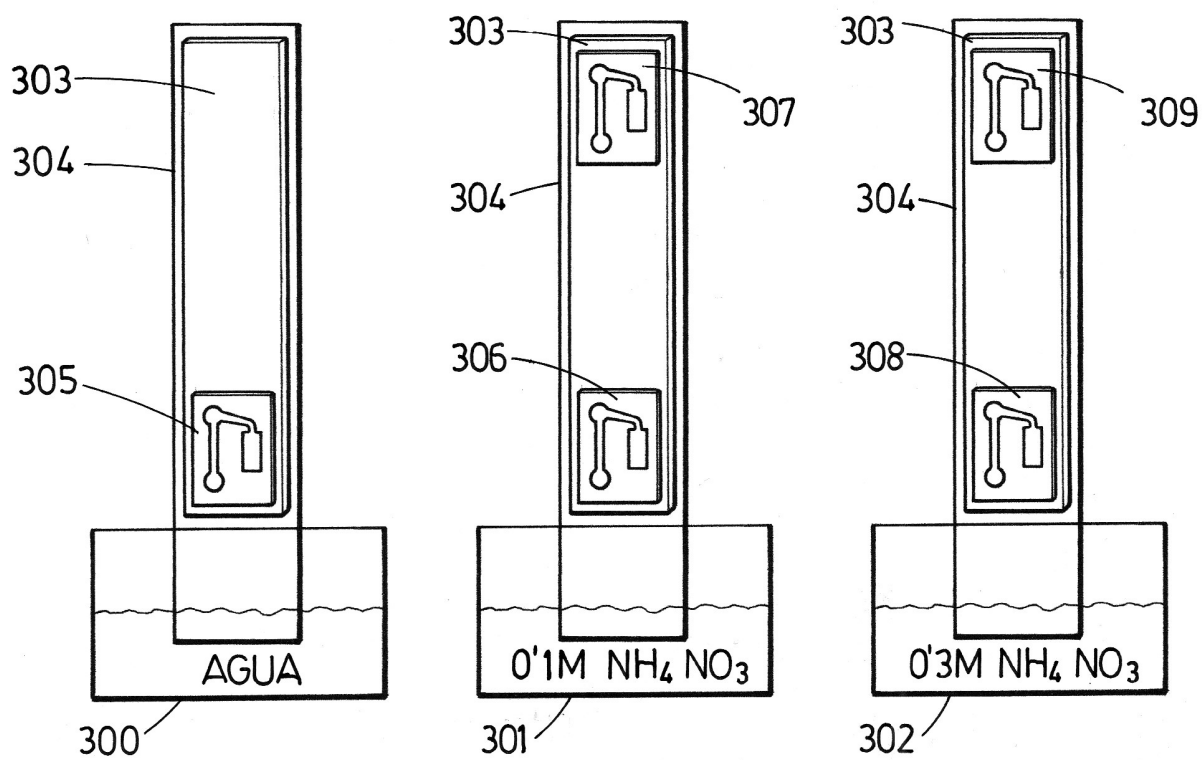


FIG.5A

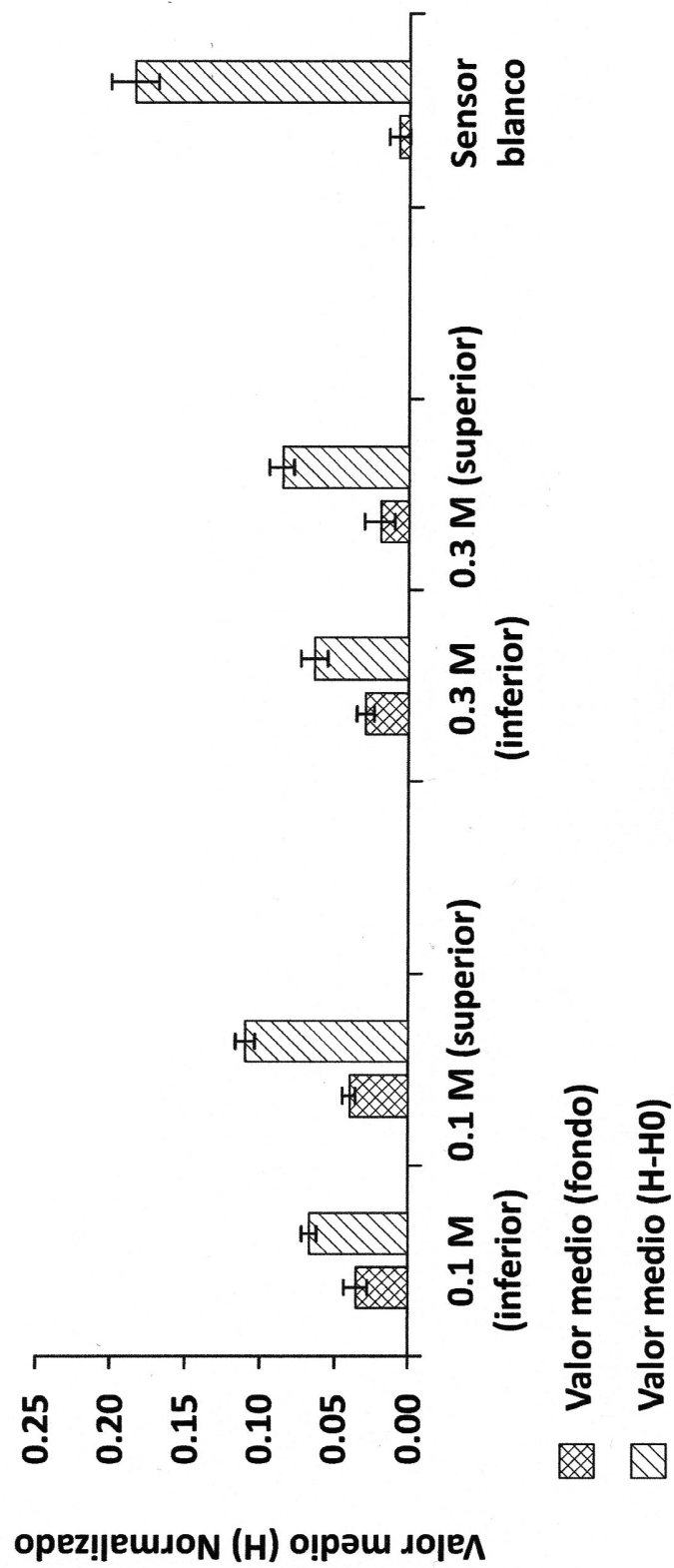


FIG.5B