

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 023 489**

21 Número de solicitud: 202331000

51 Int. Cl.:

B01J 20/28 (2006.01)

C08L 83/06 (2006.01)

G01N 21/78 (2006.01)

G01N 31/22 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

30.11.2023

43 Fecha de publicación de la solicitud:

02.06.2025

71 Solicitantes:

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA (ESTUDI GENERAL)
(100.00%)

Avenida Blasco Ibáñez, 13
46010 Valencia (Valencia) ES

72 Inventor/es:

CAMPÍNS FALCÓ, Pilar;
MONFORTE GÓMEZ, Belén;
MOLINER MARTÍNEZ, Yolanda y
HAKOBYAN, Lusine

74 Agente/Representante:

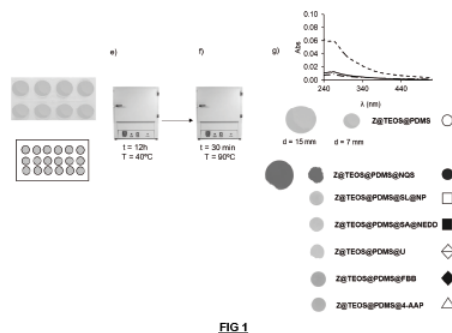
PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **MATRICES TRIDIMENSIONALES POROSAS PARA LA DETECCIÓN Y/O DETERMINACIÓN DE ANALITOS Y SU PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN**

57 Resumen:

Matrices tridimensionales porosas para la detección y/o determinación de analitos, y su procedimiento de obtención.

La presente invención pertenece al campo de la detección y/o determinación de analitos de interés, por ejemplo, en el ámbito medioambiental, industrial, agroalimentario o de la salud. En particular, la presente invención se refiere a una matriz tridimensional porosa de polidimetilsiloxano (PDMS) que comprende tetraetilortosilicato (TEOS) y zeolita, que es capaz de retener en su interior diferentes reactivos sensores de manera precisa, de forma que dicha matriz tridimensional puede actuar como sensor o multisensor de una amplia variedad de analitos.



DESCRIPCIÓN

MATRICES TRIDIMENSIONALES POROSAS PARA LA DETECCIÓN Y/O DETERMINACIÓN DE ANALITOS Y SU PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN

5

La presente invención pertenece al campo de la detección y/o determinación de analitos de interés, por ejemplo, en el ámbito medioambiental, industrial, agroalimentario o de la salud. En particular, la presente invención se refiere a una matriz tridimensional porosa de polidimetilsiloxano (PDMS) que comprende tetraetilortosilicato (TEOS) y zeolita, que es capaz de retener en su interior diferentes reactivos sensores de manera precisa, de forma que dicha matriz tridimensional puede actuar como sensor o multisensor de una amplia variedad de analitos.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

Durante los últimos años se han estudiado y desarrollado materiales porosos tridimensionales con polímeros como base que presentan morfología tridimensional, por ejemplo, morfología de esponja [Shin, J. H.; Heo, J. H.; Jeon, S.; Park, J. H.; Kim, S.; Kang, H. W. *Bio-Inspired Hollow PDMS Sponge for Enhanced Oil–Water Separation. J Hazard Mater* 2019, 365, 494–501].

20

Se han propuesto diferentes métodos para la síntesis de estas esponjas de base polidimetilsiloxano (PDMS) como el método de templado de azúcar o sal [Wang, J.; Guo, J.; Si, P.; Cai, W.; Wang, Y.; Wu, G. *Polydopamine-Based Synthesis of an In(OH)3-PDMS Sponge for Ammonia Detection by Switching Surface Wettability. RSC Adv* 2016, 6, 4329–4334], templado por emulsión [Tebboth, M.; Jiang, Q.; Kogelbauer, A.; Bismarck, A. *Inflatable Elastomeric Macroporous Polymers Synthesized from Medium Internal Phase Emulsion Templates. ACS Appl Mater Interfaces* 2015, 7, 19243–19250], espuma de níquel, cristales coloidales, espumado con gas, separación por fases, formación de perlas de PDMS [Li, N.; Li, T.; Lei, X.; Fu, B.; Liao, W.; Qiu, J. *Preparation and Characterization of Porous PDMS Beads for Oil and Organic Solvent Sorption. Polym Eng Sci* 2014, 54, 2965–2969], emulsión de PDMS con aceite de parafina, formación de esponja con poliuretano, formación de esponja con ácido cítrico, o formación de esponja mediante radiación UV.

35

La mayoría de este tipo de materiales tiene como aplicabilidad la absorción de aceites dada su elevada capacidad hidrófoba actuando como descontaminantes absorbentes. También se han desarrollado algunas esponjas como dispositivos portátiles con aplicación en robótica blanda, como sensores piezoresistivos con detección y seguimiento de movimiento o monitorización de la salud, y como sensores de presión capacitativos flexibles y ultrasensibles en el campo de la electrónica. Por otra parte, se han desarrollado esponjas hidrofílicas de PDMS- polivinil alcohol o ácido poliacrílico con aplicación en el transporte continuo en sistemas microfluídicos. Este tipo de material también es aplicable en el campo de la biología como medio de cultivo de células endoteliales, inmunoensayos, recubrimiento de péptidos o proteínas, o administración localizada de fármacos. Algunas esponjas desarrolladas presentan capacidades de multifunción fotocatalítica, aislamiento térmico, y la capacidad de reducir la adherencia hielo-superficie.

Por otra parte, existen diferentes reactivos que, por diferentes tipos de interacciones o reacciones químicas con diferentes analitos, son capaces de detectar o incluso de determinar la concentración de dichos diferentes analitos, como por ejemplo el reactivo 1,2-naphthoquinona-4-sulfonato (NQS) capaz de detectar/determinar la presencia o concentración de amoníaco o aminas mediante cambios colorimétricos. Otros reactivos capaces de detectar/determinar la presencia de otros analitos son por ejemplo el nitroprusiato que es capaz de detectar amonio junto con timol, o la que N-(1-naftil)etilendiamina diclorohidratada (NEDD) que es capaz de detectar nitritos y nitratos. Sin embargo, estos reactivos presentan el inconveniente de no ser estables en disolución, lo que supone un inconveniente para la determinación de estos analitos.

Existen también en el estado de la técnica sensores colorimétricos para la determinación de especies químicas como aminas in situ en el aire, que comprenden una matriz de PDMS en la que se embebe un reactivo que es capaz de detectar dichas aminas, mediante la sumersión de la matriz de PDMS en una disolución que comprende dicho reactivo disuelto, siendo este reactivo el 1,2-naphthoquinona-4-sulfonato (NQS), tales como los descritos en las patentes ES2519891A1 (EP3001184B1), y en la patente ES2619356B1 que particularmente describe un sensor calorimétrico pasivo para la detección y/o determinación de amoníaco o aminas alifáticas en gases que comprende una matriz de polidimetilsiloxano (PDMS) que tiene embebidos 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS) y tetraetilortosilicato (TEOS)). No obstante, estos sensores

colorimétricos del estado del arte presentan ciertos inconvenientes ya que para conseguir unos límites de detección y cuantificación bajos es necesario un largo tiempo de exposición al gas en cuestión, por lo que no son óptimos para realizar ensayos de manera puntual con el fin de controlar y monitorizar estos contaminantes atmosféricos.

5

Por ello, existe la necesidad en el campo de proporcionar dispositivos sensores que además de ser compactos y tengan integridad mecánica, presenten alta sensibilidad en la detección/determinación de dichos analitos en cortos periodos de tiempo.

10 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los autores de la presente invención proporcionan una matriz tridimensional porosa de polímero polidimetilsiloxano (PDMS) que ha sido dopada con tetraortoetilsilicato (TEOS) y zeolita. Por tanto, se trata de una matriz de PDMS que comprende TEOS y zeolita (Z@TEOS@PDMS, donde "Z" se refiere a zeolita). Se trata de un material que es preferiblemente un material tipo esponja. La síntesis de este nuevo material comprende, un método en el que además de añadirse PDMS, TEOS y zeolita, también se usa azúcar (tamizado o sin tamizar), por ejemplo, mediante el método de templado del azúcar o un método similar, de forma que aunque dicho azúcar se utiliza durante la síntesis de la esponja Z@TEOS@PDMS, dicho azúcar no forma parte del nuevo material Z@TEOS@PDMS (matriz tridimensional porosa) finalmente obtenido tras la síntesis.

Este material Z@TEOS@PDMS puede además embeber/retener en la matriz tridimensional diferentes tipos de reactivos, o liberar de la matriz reactivos previamente embebidos, por ejemplo, reactivos sensores capaces de detectar y/o determinar un analito, lo que permite el uso del Z@TEOS@PDMS como sensor para detectar y/o determinar analitos. Si se les dota de una matriz en la que capturarlos, como la de la presente invención, el inconveniente de no ser estables en disolución por parte del NQS, nitroprusiato o la N-(1-naftil)etilendiamina diclorohidratada (NEDD) desaparece, por lo que son estables con el tiempo y no existe este inconveniente.

Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a una matriz tridimensional porosa de polidimetilsiloxano (PDMS), entre 40% y 60%, preferiblemente un 60% (a partir de ahora matriz de la invención o Z@TEOS@PDMS), caracterizada

por que comprende

- tetraetilortosilicato (TEOS) entre 40% y 60%, preferiblemente un 40%; y
- zeolita entre 0,5% y 1%, preferiblemente un 1%,

5 donde la matriz tridimensional tiene una porosidad de entre 55-80% respecto al volumen total de la matriz, preferiblemente una porosidad del 60-75%, aún más preferiblemente del $66\pm 6\%$,

con tamaños de poros comprendidos entre 20-360 μm , preferiblemente 85-295 μm , aún más preferiblemente 200 μm .

10 Preferiblemente está formada mediante el método de templado del azúcar, un método de templado del azúcar modificado o un método similar.

Preferiblemente donde la matriz tridimensional tiene unas dimensiones de entre 7-15 mm de diámetro, y de espesor de entre 1.5-2 mm. Este tamaño de espesor es suficiente para la retención de los reactivos y los analitos estudiados. Un espesor menor dotaría
15 al material de una menor robustez y se llegaría a la rotura de este mucho antes. Además, no cargaría de forma óptima los reactivos en él provocando que la sensibilidad de los ensayos disminuyera.

Se define "porosidad" según la invención como la fracción volumétrica de poros que
20 posee el material, pudiendo situarse tanto en la superficie de la esponja como en su interior. La técnica utilizada para medir el % de porosidad (en volumen) en esta invención ha sido la microscopía óptica (con el uso de un equipo Nikon ECLIPSE E200, con el uso de una lente de 10 aumentos, junto con el cálculo del peso la esponja cargada y sin cargar de reactivo en disolución, como se especifica en la ecuación 1 que se
25 muestra a continuación). Si bien también podrían utilizarse otras técnicas para medir la porosidad tales como la microscopía electrónica de barrido (SEM) o la microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Se define el "tamaño de poro" según la invención como distribución geométrica de los
30 poros en el material, definiéndose en esta invención "macroporos" como aquellos poros que tienen anchuras mayores a 50 nm. La técnica utilizada para medir el tamaño de poro en esta invención ha sido la microscopía óptica (con el uso de un equipo Nikon ECLIPSE E200, con el uso de una lente de 10 aumentos, además del cálculo que se especifica en la ecuación 2). Si bien también podrían utilizarse otras técnicas para medir

la porosidad tales como la microscopía electrónica de barrido (SEM) o la microscopía electrónica de transmisión (TEM).

Tanto la porosidad como el tamaño de poro han sido calculadas a partir de las ecuaciones 1 y 2.

5

$$\text{Porosidad} = \frac{\text{Peso esponja cargada} - \text{peso esponja sin cargar}}{\text{Peso esponja cargada}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Tamaño de poro} = \sqrt{\text{tamaño de poro horizontal} \times \text{tamaño de poro vertical}} \quad (2)$$

10 En la presente invención “el método de templado del azúcar” consiste en la formación de una mezcla entre azúcar y la síntesis que contiene PDMS, de manera que al gelificar toda esta mezcla y, posteriormente, eliminar el azúcar de ella, se formen poros en el material que le confieran una morfología de esponja.

15 El material resultante Z@TEOS@PDMS, presenta una elevada porosidad que permite la absorción de reactivos muy diversos. De hecho, su porosidad está comprendida entre un 55-80% en volumen respecto al volumen total de la matriz tridimensional porosa, preferiblemente una porosidad del 60-75%, aún más preferiblemente del 66±6%. Esto le otorga una elevada porosidad, un peso muy ligero, una baja densidad, y una elevada
20 elasticidad. Todas estas características derivadas de la porosidad del material son además útiles para el uso de este material como sensor para la detección y/o determinación de analitos.

Los tamaños de dichos poros se encuentran comprendidos entre 20-360 µm,
25 preferiblemente 85-295 µm, aún más preferiblemente 200 µm. Se observado que estos tamaños de poro 85-295 µm, optimizan tanto la cantidad como la distribución homogénea del reactivo a retener y/o liberar, con ello optimizando la detección y/o determinación de analitos.

30 La matriz tridimensional porosa Z@TEOS@PDMS según la invención puede presentar cualquier geometría o tamaño, si bien preferiblemente su tamaño está comprendido entre 7-15 mm de diámetro, y/o 1,5-2 mm de espesor. Este tamaño a nivel milimétrico se puede medir mediante diferentes técnicas, por ejemplo, mediante un pie de rey de hasta 0.05 mm de precisión o una regla milimétrica.

- Dependiendo del uso que se le quiera dar a la esponja (liberación de reactivos o captura del analito en ella) se puede modificar el tamaño de la esponja, optimizando su uso para obtener los mejores límites de detección y cuantificación posibles. Por ejemplo, en lo
- 5 que confiere a la liberación de reactivos, dependiendo del volumen de disolución que se pretenda analizar sería suficiente con la cantidad de reactivo embebida en un tamaño de esponja u otro. En los casos estudiados, un tamaño de esponja de 7 mm de diámetro es suficiente para analizar al menos 2 mL de disolución. Si se pretende analizar volúmenes mayores, es posible que el tamaño de la esponja debiera ser mayor.
- 10 El PDMS provee a la matriz tridimensional Z@TEOS@PDMS de elevada elasticidad y maleabilidad, elevada estabilidad química y térmica, biocompatibilidad, resistencia química, nula toxicidad y transparencia, además de una elevada permeabilidad a gases, vapores y líquidos.
- 15 Además, la combinación de los 3 componentes de la matriz tridimensional de la invención (PDMS, TEOS, y zeolita) en la matriz Z@TEOS@PDMS, provee una serie de ventajas que se mencionan a continuación:
- 20 La adición de tetraetilortosilicato (TEOS) otorga cierto carácter hidrofílico a la matriz polimérica de PDMS que es inherentemente hidrofóbica. Con la adición de TEOS se consigue facilitar la dispersión de la zeolita en la esponja, mejorando la distribución del tamaño de los poros de la matriz porosa; y con ello la carga de los reactivos sensores en la esponja Z@TEOS@PDMS de forma más homogénea, evitando la pérdida de
- 25 reactivo. También se consigue mejorar las propiedades mecánicas de la matriz Z@TEOS@PDMS, y reducir el tiempo de gelación, es decir el tiempo que se tarda en obtener la matriz sólida de Z@TEOS@PDMS con el azúcar a partir de la mezcla en forma líquida de los compuestos que confieren la misma, mediante el método de síntesis que se explicará más adelante.
- 30 La zeolita es un aluminosilicato cristalino, con una estructura porosa con canales y cavidades de dimensiones moleculares y con interconexiones bien definidas, que permiten la transferencia de moléculas hacia su interior.
- 35 Al añadirse la zeolita conjuntamente al polímero PDMS, se consigue una transferencia

de dichas moléculas (reactivo) también hacia el interior de la matriz tridimensional Z@TEOS@PDMS, especialmente si las partículas de zeolita están homogéneamente dispersadas en la matriz (lo cual es a su vez promovido por la presencia de TEOS como se ha indicado arriba), facilitando así la retención y liberación de dichas moléculas por parte de la matriz tridimensional.

Además, la adición de zeolita en el Z@TEOS@PDMS también permite que el reactivo utilizado se retenga/embeba y se disperse más homogéneamente en la esponja, evitando en mayor medida la pérdida del reactivo una vez se ha cargado en el interior de la matriz (pudiéndose cargar por ejemplo por inmersión la esponja en una disolución que comprende el reactivo o reactivos).

Por otro lado, la adición de zeolita provee propiedades a la matriz Z@TEOS@PDMS tales como capacidad de adsorción e intercambio iónico, lo que mejora la interacción de la matriz con moléculas tales como reactivos sensores y analitos. Al dotar la matriz con zeolita, se consigue además una matriz Z@TEOS@PDMS con estructuras que mejoran la capacidad de dicha matriz de retener y/o liberar diferentes reactivos.

Adicionalmente, la adición de zeolita también mejora las propiedades mecánicas de la matriz tridimensional Z@TEOS@PDMS otorgándole robustez a la esponja, y aumentando la sensibilidad de la matriz tridimensional Z@TEOS@PDMS como sensor al incrementar su relación superficie/volumen.

Además, la adición de zeolita también favorece la síntesis de la matriz favoreciendo su gelificación (solidificación del material tipo esponja Z@TEOS@PDMS tras sintetizarlo partiendo de una mezcla líquida de sus componentes),

En resumen, se consigue una mejor distribución en cuanto a homogeneidad y tamaño de los poros de la matriz tridimensional porosa Z@TEOS@PDMS sintetizada, así como en la carga y distribución de reactivos sensores en la matriz, con la adición de zeolita (y TEOS) al PDMS.

En una realización preferida de este primer aspecto, la zeolita comprendida en la matriz de la invención tiene un tamaño de partícula menor de 20 μm , según especificaciones del fabricante. Este tamaño de menos de 20 μm ayuda a la mayor y más homogénea

dispersión de la zeolita en la matriz, conllevando una distribución más homogénea de los reactivos retenidos en el material resultante Z@TEOS@PDMS.

5 En otra realización preferida de este primer aspecto, la zeolita comprendida en la matriz de la invención se encuentra en una concentración de entre 0.5% y 1% en peso sobre el peso de la mezcla de PDMS y TEOS. Con ello, se obtiene la ventaja de conseguir la gelificación del material, ya que sin la zeolita no se obtiene un material sólido. Además, permite una distribución más homogénea de los reactivos retenidos en el interior de la esponja, proporcionando mejores respuestas en el análisis de analitos capturados en la
10 propia esponja o una mejor liberación de estos reactivos hacia la disolución problema. Se ha observado que porcentajes menores a un 1% de zeolita dotan al material de características menos robustas, con menor espesor y mayor probabilidad de rotura, disminuyendo su capacidad de retención y/o liberación de reactivos y analitos en su interior. Por otra parte, se ha estudiado que el uso de un porcentaje mayor al 1% de
15 zeolita en la síntesis no presenta cambios estructurales con respecto al uso de 1%.

En otra realización preferida la zeolita tiene un tamaño de partícula menor de 20 μm .

20 En otra realización preferida la zeolita se encuentra en una concentración del 1% en peso sobre el peso de la mezcla de PDMS y TEOS.

De hecho, en una realización preferida, la zeolita tiene un tamaño de menos de 20 μm y se añade en una concentración de 1% en peso sobre el peso de la mezcla de PDMS y TEOS.
25

En otra realización preferida de este primer aspecto, el PDMS de la matriz de la invención está en una concentración comprendida entre 40-60% en peso respecto a la cantidad de TEOS, preferiblemente el PDMS está en una concentración del 60% en peso y el TEOS en una concentración de un 40% en peso. Esto aporta a la matriz
30 tridimensional porosa Z@TEOS@PDMS una mayor robustez, así como una mayor capacidad de carga de la matriz con el reactivo sensor.

Por tanto, un ejemplo particular no limitativo de la invención según esta realización sería la matriz tridimensional porosa que comprende un 60% de PDMS y un 40% de TEOS (y
35 un 1% de zeolita respecto al peso de la mezcla de PDMS y TEOS).

En otra realización preferida de este primer aspecto, la matriz de la invención tiene un espesor de entre 1.5 y 2 mm. De esta manera se garantiza una óptima retención de los reactivos para los ensayos estudiados en esta invención. Con un espesor menor se obtendría un material menos robusto y su capacidad de retención de reactivos sería menor. Por otra parte, para los ensayos estudiados en esta invención no ha sido necesario el uso de un material con un espesor mayor para obtener unos buenos resultados.

En otra realización preferida de este primer aspecto, la matriz de la invención tiene un tamaño de entre 7 mm y 15 mm de diámetro, de esta manera se obtiene un tamaño de esponja suficientemente pequeño (7 mm) para poder realizar ensayos con volúmenes de muestra reducidos (hasta 2 mL) en la liberación de reactivos, o se obtienen unos límites de detección menores en el análisis en atmósfera con un tamaño de esponja mayor (15 mm).

En otra realización preferida de este primer aspecto, la matriz no comprende imidazol y/o imidazolato, y/o no comprende zeolitas con imidazol y/o imidazolato.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a un método de obtención de la matriz de la invención que comprende las etapas de:

- a) mezclar TEOS y zeolita;
- b) añadir PDMS a la mezcla del apartado a) en agitación hasta obtener una mezcla homogénea;
- c) añadir un agente de curado del PDMS a la mezcla del apartado b) en agitación hasta obtener una mezcla homogénea;
- d) añadir azúcar tamizado de tamaño entre 300 y 400 μm a la mezcla c) y homogeneizar mediante agitación;
- e) verter la mezcla obtenida en el apartado d) en un molde y dejar gelificar, donde la gelificación se realiza preferiblemente mediante una etapa de calentamiento a 30-50 °C durante 10-24 horas, preferiblemente a 40 °C, preferiblemente durante 12 horas.
- f) extraer del molde y secar el sólido resultante, donde el secado se realiza preferiblemente mediante una etapa de calentamiento a 70-90 °C durante 20-30 minutos, preferiblemente a 90 °C, preferiblemente durante 30 minutos; y
- g) eliminar el azúcar del sólido resultante, preferiblemente sumergiendo el sólido en

agua en agitación; con lo cual se consigue obtener la matriz tridimensional porosa Z@TEOS@PDMS.

La adición de azúcar en la etapa d) provee la ventaja de que permite la gelificación de la síntesis de PDMS-TEOS-ZEOLITA con partículas de azúcar (preferiblemente granulado y tamizado), ya que al mezclar este durante la síntesis y dejar que gelifique, las partículas de azúcar quedan incrustadas durante la síntesis en el molde, con la forma del molde, permitiendo la formación de los poros en el material, y dotando así a la matriz resultante de morfología de esponja cuando este azúcar se elimina y que gelifique la muestra con la nueva composición de la invención. El adicionar azúcar granulado y tamizado permite no solo la obtención de esponjas con la forma del molde que se utilice para la síntesis, sino además la obtención de una distribución más homogénea de los poros con tamaños en un rango aceptable para un buen rendimiento en la retención y/o liberación de reactivos y analitos.

La gelificación de la etapa e) permite obtener un material intermedio sólido, y puede realizarse calentando entre 30-50 °C, durante un tiempo de entre 10-24 horas, preferiblemente a 40 °C, preferiblemente durante 12 horas, lo que provee la ventaja de que la gelificación se realiza totalmente a una temperatura a la cual el material no se degrada y en un tiempo mínimo para que el disolvente, como TEOS, se evapore casi totalmente y el material quede sólido y seco.

Gelificar según la invención se refiere a la obtención de la mezcla de síntesis de PDMS con las partículas de azúcar en estado sólido mediante la aplicación de calor, de al menos una temperatura de entre 30-50 °C, preferiblemente 40°C, durante un tiempo de entre 10-24 horas, preferiblemente 12 horas. Esta etapa es necesaria para la obtención de un sólido al cual, posteriormente, se le eliminará el azúcar para la obtención de la esponja. Si no se lleva a cabo esta etapa de gelificación, no se obtiene un sólido, si no que se obtiene una "pasta" con la que no se obtiene la estructura final de esponja.

El secado de la etapa f) tras extraer el material intermedio sólido del molde, provee la ventaja de que se obtiene el material sólido seco o prácticamente seco con la forma del molde de la etapa e), forma que es estable tras el secado. Durante esta etapa se consigue la eliminación de cualquier componente líquido que quede en la síntesis, como por ejemplo TEOS, que pudiera interferir negativamente en la formación de la esponja

durante la etapa de eliminación del azúcar, asegurando la obtención de esta estructura de esponja. Esta etapa se realiza preferentemente calentando entre 70-90 °C, preferiblemente 90 °C durante 20-30 minutos, preferiblemente 30 minutos, lo que aporta la ventaja de que se consigue eliminar cualquier resto de TEOS, que pudiera dificultar la formación de la esponja en la etapa de eliminación del azúcar. Si el material no está totalmente seco cuando se inicia la etapa de eliminación de azúcar, la estructura de esponja no se forma de manera correcta. Si se incorpora esta etapa de secado a una temperatura de 90°C durante un tiempo de 30 minutos con el material fuera del molde, de manera que todas las zonas de este estén en contacto con el calor de la estufa, el material termina de secarse totalmente, eliminando cualquier líquido que pueda quedar en el material que impida la formación de la esponja en etapas posteriores. Además, se realiza esta etapa durante un máximo de 30 minutos para evitar cualquier degradación del material.

La eliminación del azúcar de la etapa g) puede realizarse mediante..., si bien preferiblemente se realiza sumergiendo el sólido en una disolución acuosa, por ejemplo, agua, lo que provee la ventaja de que es un disolvente no tóxico, con un punto de ebullición elevado que permite calentar sin que se evapore con facilidad y en el que el azúcar es altamente soluble, incluso a temperatura ambiente. Esta sumersión también puede realizarse opcionalmente a una temperatura comprendida entre 40-50 °C, preferiblemente a 50 °C, durante un tiempo comprendido entre 10-20 minutos, preferiblemente 10 minutos. Con ello se facilita la eliminación del azúcar por disolución. El solvente para disolver el azúcar puede ser cualquier en el que este sea soluble, realizando la disolución para ello a la temperatura a la que dicho solvente disuelva el azúcar, siendo el disolvente preferiblemente agua. Esta etapa g) puede realizarse cuantas veces sea necesario, por ejemplo 3 veces, hasta disolver totalmente el azúcar.

El mezclado o agitación según la invención comprende cualquier proceso conocido para ello en el estado de la técnica, por ejemplo, mezclado mediante agitación magnética o mediante ultrasonidos.

La combinación de todas estas etapas permite la generación de la nueva matriz tridimensional Z@TEOS@PDMS con una alta porosidad y un tamaño de poro controlable, que además es capaz de retener y/o liberar reactivos, por ejemplo, reactivos sensores que hacen de la esponja Z@TEOS@PDMS un sensor de alta rapidez y

sensibilidad de sensado de analitos.

5 También cabe mencionar que la adición de especies que comprenden imidazol o imidazolato a la mezcla, a la hora de sintetizar las matrices Z@TEOS@PDMS, presenta problemas a la hora de gelificar el material de Z@TEOS@PDMS, por lo que preferiblemente las zeolitas a añadir según la invención son zeolitas que no comprenden imidazol ni imidazolato, por lo cual las zeolitas de imidazolato, por ejemplo las zeolitas tipo ZIF tales como ZIF-67, son menos preferidas según la invención. Además, el
10 imidazol o imidazolato no son solubles en TEOS, por lo que no se disuelve bien la mezcla y no se consigue una mezcla homogénea durante la síntesis de la matriz Z@TEOS@PDMS.

15 En una realización preferida el método de obtención de la matriz Z@TEOS@PDMS no comprende la adición de imidazol y/o imidazolato, y/o no comprende la adición de zeolitas con imidazol y/o imidazolato, en ninguna de sus etapas.

20 En una realización preferida de este segundo aspecto, la zeolita tiene un tamaño de partícula menor de 20 μm .

En otra realización preferida de este segundo aspecto, la zeolita se añade en una concentración de hasta el 1% en peso en peso en la mezcla resultante de la etapa a).

25 En otra realización preferida de este segundo aspecto, el PDMS se añade en una concentración de un 40-60%, preferiblemente del 60% en peso, sobre el total de la mezcla tras la etapa b).

30 En otra realización preferida de este segundo aspecto, el PDMS se prepara a partir de dos componentes, una base seleccionada de entre elastómeros de silicona (como poldimetilsiloxanos o polivinilmetsiloxanos) y un agente de curado seleccionado de entre agentes de curado aptos para curar dicho/s elastómero/s de silicona. Algunos ejemplos no limitativos de dichos agentes de curado son catalizadores como octoato de estaño (STO) o dibutiltin dilaurato (DBT) como componente B, que se trata del agente de curado estándar. Aún más preferiblemente, el PDMS utilizado como matriz polimérica
35 se fabrica a partir de un kit de elastómero de silicona Sylgard 184 que contiene la base

como componente A, y el agente de curado como componente B. Preferiblemente, la base y el agente de curado se mezclan en proporción 10:1 en masa.

5 En la presente invención se hace uso preferiblemente de polidimetilsiloxano (PDMS) como elastómero de silicona, al ser un elastómero reticulado de silicona hidrofóbico que proporciona estabilidad, es ópticamente transparente, inerte, no inflamable y no es tóxico.

10 El orden de adición para la formación del polímero es homogeneizar la mezcla con PDMS y, una vez se obtiene la mezcla de síntesis homogénea, se adiciona un agente curado para obtener el polímero. Si el PDMS se polimeriza antes de obtener la mezcla de síntesis, se dificultaría la obtención homogénea de este polímero con TEOS y zeolita, y posteriormente con el azúcar, lo que impediría una formación de la esponja tal cual se describe en esta invención.

15 El azúcar añadido en la etapa c) es preferiblemente un azúcar tamizado previamente, de forma que se puede controlar el tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partícula del azúcar. Esto tiene un efecto sobre la matriz Z@TEOS@PDMS resultante, ya que permite controlar tanto el % de porosidad, así como homogeneizar y/o controlar
20 el tamaño de poro.

En otra realización preferida de este segundo aspecto, el azúcar añadido en la etapa c), o bien tamizado o bien sin tamizar, tiene un tamaño de partícula entre 200 y 600 μm . De hecho, el uso de un tamaño de partícula pequeño del azúcar (en torno a 300 y 400
25 μm) proporciona poros más compactos y homogéneos entre sí. Esto mejora la retención del reactivo en el interior de la esponja proporcionando una retención del reactivo y una detección y/o determinación del analito más homogénea y reproducible, ya sea para la respuesta del reactivo sensor retenido en el propio dispositivo tipo esponja Z@TEOS@PDMS, o para la posterior liberación de dicho reactivo sensor al medio.
30 Dicha respuesta homogénea aumenta la reproducibilidad al fabricar diferentes esponjas y retener distintos reactivos en ella, ya que así cada esponja diferente retiene una cantidad similar o idéntica de reactivo. De hecho, la mejor relación entre la sensibilidad y la reproducibilidad y homogeneidad de respuesta se obtiene con el uso de un tamaño de partícula de azúcar tamizado de entre 300 y 400 μm , lo cual permite obtener
35 porosidades elevadas de la esponja Z@TEOS@PDMS, por ejemplo una porosidad del

66 ± 6% en volumen respecto al volumen total de la esponja, porosidad calculada a partir de la ecuación 1, lo que optimiza la homogeneidad y cantidad de reactivo retenido por la esponja Z@TEOS@PDMS, así como la liberación de reactivos de la esponja al medio en su caso, con lo cual se mejora tanto la rapidez como la sensibilidad en la
5 detección y/o determinación de analitos del medio a medir con la esponja Z@TEOS@PDMS. Por el contrario, sorprendentemente se ha observado que un tamaño menor de partícula del azúcar (menor a 200 µm) dificulta la síntesis de la esponja Z@TEOS@PDMS, ya que el polvo de azúcar como plantilla forma una pasta que no favorece la formación de esponja ya que forma masa sólida compacta.

10

En otra realización preferida de este segundo aspecto, el azúcar añadido en la etapa c) tiene una relación 7:3 en peso respecto al resto de componentes de la mezcla que forman parte de la matriz tridimensional resultante tras la etapa g). Esta relación 7:3 consigue que en la mezcla de síntesis (con azúcar) no predomine de manera notable el
15 azúcar frente a la síntesis de PDMS, consiguiéndose así un equilibrio en las proporciones. Si la proporción de azúcar es demasiado grande con respecto a la síntesis de PDMS, esto impide que se forme una estructura robusta debido a que las partículas de azúcar no permiten una buena unión del polímero entre sí. Por otra parte, si la cantidad de PDMS predomina de manera notable frente a las partículas de azúcar
20 durante la síntesis, la formación de poros es escasa, obteniéndose una masa sólida con apenas porosidad.

El material o matriz de la invención es útil para ser usado como sensor para la detección y/o determinación de analitos, mediante la retención y opcionalmente la liberación de
25 reactivos previamente retenidos en el material Z@TEOS@PDMS, en mayor cantidad y de forma más homogénea, lo que conjuntamente a su bajo peso, densidad, robustez, y alta elasticidad, hace del Z@TEOS@PDMS un buen dispositivo portátil para retener reactivos así como para el análisis y/o detección de analitos, por ejemplo en el punto de necesidad.

30

Por tanto, un tercer aspecto de la presente invención se refiere a un sensor para detectar y/o determinar analitos, que comprende la matriz de la invención, y al menos un reactivo sensor capaz de detectar y/o determinar un analito embebido en la matriz tridimensional.

35 Se entiende por “reactivo” o “reactivo sensor” según la presente invención cualquier

compuesto capaz de interactuar o reaccionar con un analito, de forma que a partir de dicha interacción o reacción es posible cuantificar y/o determinar la presencia y/o concentración de dicho analito. Preferiblemente se selecciona de entre 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS), salicilato (SL), nitroprusiato (NP), sulfanilamida (SA),
5 N-(1-naftil)etilendiamina diclorohidratada (NEDD), ureasa, Fast Blue B (FBB), 4-amino antipirina (4-AAP), y cualquiera de sus combinaciones. Más preferiblemente, la combinación de dos o más reactivos provee la ventaja de poder detectar y/o determinar diferentes tipos de analitos en distintas concentraciones en un mismo medio y con el mismo sensor. Algunos de estos reactivos presentan mayor estabilidad en ciertas
10 condiciones de almacenamiento, como por ejemplo la 4-amino antipirina o la ureasa que presentan mayor estabilidad que el Fast Blue B que puede degradarse con mayor facilidad. La invención también contempla como reactivo cualquier compuesto que reaccione formando una reacción colorimétrica, como por ejemplo el compuesto Folin-Ciocalteu (FC) para la determinación de fenoles.

15

Además, las especies que comprenden grupos amino en su estructura, tales como el imidazol o imidazolato, al tratarse de aminas secundarias, reaccionan con el reactivo sensor NQS, perjudicando así su función como reactivo sensor por ejemplo para detectar amoníaco o amonio, de ello que su uso sea menos preferido según la invención.
20 Otra amina que también reacciona con el reactivo sensor perjudicando así su función sensora es la polidopamina (PDA), de ahí que su uso también sea menos preferido.

De hecho, la matriz tridimensional Z@TEOS@PDMS, que combina TEOS y zeolita en la matriz de PDMS, permite una rápida difusión, en tan solo unos segundos, tanto del
25 analito como del reactivo retenido/embebido en la matriz Z@TEOS@PDMS, o liberado por la matriz Z@TEOS@PDMS. Por ello, al usarse esta matriz como sensor, ésta presenta alta rapidez de sensado y sensibilidad a los analitos a detectar y/o determinar en diferentes medios, por ejemplo, en disolución acuosa. Esto le dota a la esponja cargada con los reactivos de características similares a las obtenidas cuando se utilizan
30 estos reactivos en disolución, cosa que no ocurre con estos mismos reactivos embebidos en otro tipo de sensores con matriz polimérica. Además, estos reactivos embebidos en la esponja pueden ser estables bajo ciertas condiciones de almacenamiento, como por ejemplo el almacenamiento a una temperatura de 4°C en el caso de la ureasa o de -20°C en el caso de los demás reactivos estudiados en esta
35 invención, lo que no es posible cuando se encuentran en disolución ya que estos

reactivos se degradan fácilmente. De hecho, gracias a la combinación de esos 3 compuestos, la matriz Z@TEOS@PDMS presenta una absorbancia (por ejemplo, al amoníaco) altamente mejorada respecto a otros sensores de analitos del estado de la técnica, como se observará a modo de ejemplo en la Figura 3 que se explicará más adelante.

Otra ventaja del uso de esta matriz porosa como sensor, es que al permitir tanto la retención como la posterior liberación de diferentes reactivos, permite una alta adaptabilidad al uso de diferentes reactivos sensores para la detección/determinación de una alta cantidad de analitos en una gran variedad de medios. Además, indica que es aplicable a un gran número de reactivos colorimétricos sin importar el analito que determinen, de qué estén compuestos ni el medio en el que se encuentran.

Un cuarto aspecto de la presente invención se refiere a poner en contacto la matriz con una disolución que contenga los reactivos a ser retenidos/embedidos en la matriz. Más concretamente, el cuarto aspecto de la presente invención se refiere a un método para la obtención de un sensor descrito según el tercer aspecto de la presente invención; que comprende obtener una matriz según las etapas (a) a (g) del método descrito según el segundo aspecto de la presente invención, que incorpora adicionalmente las siguientes etapas:

h) someter a inmersión la matriz tridimensional porosa obtenida en la etapa g) en una disolución de al menos un reactivo sensor, es decir, en una disolución que contenga un compuesto sensor para detectar el analito, de forma que dicho compuesto sensor se incorpora a la matriz tridimensional o esponja;

i) eliminar el exceso de disolución absorbido de la matriz tras su inmersión en el apartado (h) mediante el uso de un material absorbente, preferiblemente mediante papel, tela de algodón y/o gasas de algodón, más preferiblemente papel, obteniendo así el sensor con el reactivo incorporado.

Esta etapa i) solo es necesaria para los sensores que van a captar el analito en su interior, pero, sin embargo, no es necesaria para los sensores que liberan los reactivos a la disolución.

El material absorbente no se encuentra limitado, si bien este es preferiblemente papel, AA, BB...

En una realización preferente del cuarto aspecto, la disolución de la etapa (h)

comprende al menos un reactivo seleccionado de entre 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS), salicilato (SL), nitroprusiato (NP), sulfanilamida (SA), N-(1-naftil)etilendiamina diclorohidratada (NEDD), ureasa, Fast Blue B (FBB), 4-amino antipirina (4-AAP), o cualquiera de sus combinaciones.

5

Un quinto aspecto de la presente invención se refiere al uso de la matriz de la invención, para la fabricación de un sensor para detectar y/o determinar analitos.

Un sexto aspecto de la presente invención se refiere al uso del sensor de la invención para la detección y/o determinación de analitos.

10

En una realización preferida del uso del sensor de la invención el analito se selecciona de entre amonio, amoníaco, fenoles, urea, cannabidiol (CBD), ácido 3,5-dihidroxihidrocinámico (DHCA), nitritos, nitratos, o sus combinaciones.

15

En otra realización preferida el analito se encuentra en medios gaseosos, medios sólidos o medios acuosos, preferiblemente matrices biológicas, aire y alimentos.

Un séptimo aspecto de la presente invención es el método de estimación de analitos en medio gaseoso, acuoso o sólido que comprende

20

- I. poner en contacto el sensor descrito anteriormente con el medio que comprende el analito a detectar y/o determinar;
- II. esperar un tiempo entre 5 y 80 minutos (dependiendo del ensayo); y
- III. observar un cambio de color reactivo sensor embebido y/o de la disolución.

25

De hecho, mediante el uso del sensor de la invención, la presente invención provee un método simple, rápido y de bajo coste para la estimación de diferentes analitos en medios tales como atmósferas o medios acuosos, a partir de utilizar el material Z@TEOS@PDMS con al menos un reactivo sensor embebido como sensor, mediante la puesta en contacto del sensor (matriz porosa Z@TEOS@PDMS con el reactivo sensor retenido/embebido) con el medio que comprende el analito a detectar y/o determinar, y/o bien mediante la liberación (opcionalmente, en su caso) de los reactivos embebidos en la matriz Z@TEOS@PDMS hacia el medio, estando la matriz y el medio en contacto. Con ello se consigue detectar y/o determinar analitos en el medio, por ejemplo, mediante un cambio de color del material Z@TEOS@PDMS que comprende

35

el reactivo sensor embebido, y/o un cambio de color de la disolución en la que opcionalmente se libera el reactivo sensor previamente embebido en la matriz Z@TEOS@PDMS.

Mediante el sensor de la invención se pueden detectar y/o determinar una gran variedad de analitos dependiendo del reactivo sensor utilizado, en diferentes concentraciones, con alta sensibilidad y de manera rápida.

Se entiende por “analito” según la invención cualquier compuesto químico o biológico presente en un medio cuya presencia y concentración en dicho medio es de interés determinar, por ejemplo, mediante su interacción o reacción con el “reactivo sensor”. Preferiblemente el analito se selecciona de entre amonio, amoníaco, fenoles, urea, cannabidiol (CBD), ácido 3,5-dihidroxihipocinámico (DHCA), nitritos, nitratos, o sus combinaciones. Ejemplos de algunos fenoles a determinar son el resorcinol o fenoles ácidos como el ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico. Los analitos a detectar pueden encontrarse en cualquier tipo de medio; gaseosos, sólidos, líquidos como por ejemplo acuosos, o sus combinaciones.

De hecho, en otra realización preferente el analito se encuentra en medios sólidos como por ejemplo matrices biológicas, alimentos, suelos, vegetación, etc.; medios líquidos como por ejemplo soluciones o matrices acuosas, saliva, orina, bebidas alcohólicas, jugo de plantas y frutas, etc.; y medios gaseosos como por ejemplo aire, atmósferas de entornos animales o industriales, aliento, etc.; o sus combinaciones como por ejemplo una matriz biológica acuosa.

Los mencionados reactivos sensores retenidos en la matriz Z@TEOS@PDMS resultan en un dispositivo sensor que es útil por ejemplo para la estimación de la presencia de amoníaco (NH_3) en atmósferas, de amonio (NH_4^+) en saliva, de nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) en aguas, de compuestos cannabinoides en plantas y drogas, de fenoles y amonio en agua. La detección y/o determinación de amonio, urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y/o ácido 3,5-dihidroxihipocinámico (DHCA) puede realizarse en matrices biológicas como saliva y orina.

La detección y/o determinación de amoníaco puede realizarse en atmósferas o medios de grandes volúmenes, por ejemplo, los dedicados a la cría de ganado y otros animales e industrias, así como en atmósferas o medios de volúmenes reducidos como alimentos

o muestras líquidas en una atmósfera confinada. Por otro lado, la determinación de amonio, fenoles, cannabidiol, nitrito y nitrato puede realizarse en muestras líquidas.

La detección y/o liberación del analito con la esponja Z@TEOS@PDMS también puede realizarse mediante la liberación de los reactivos previamente embebidos/retenidos en ella, por ejemplo mediante la liberación de salicilato de sodio (SL) y nitroprusiato (NP) para detectar amonio en disolución, de amino antipirina (4-AAP) para detectar fenol (Ph) o bisfenol-A (BPh-A), de ureasa junto con salicilato de sodio (SL) y nitroprusiato (NP) para determinar urea y/o amonio en disolución, de Fast Blue B (FBB) para detectar ácido 3,5-dihidroxihipocinámico (DHCA) y/o cannabidiol, de sulfanilamida (SA) y N-1-naftil-etilendiamina diclorohidratado (NEDD) para determinar nitritos y nitratos, etc. Estos reactivos se liberan a una disolución problema que contiene los analitos a detectar y/o determinar, disolución donde se produce la reacción con el reactivo, lo que permite detectar en disolución los diferentes analitos a partir de un cambio de color de la disolución detectado a simple vista en un análisis cualitativo, y que además puede ser cuantificado a partir de diferentes métodos como espectrofotometría de reflectancia difusa empleando un equipo del laboratorio, o métodos portátiles miniaturizados con el empleo de un smartphone. Se trata de reactivos colorimétricos, y por tanto, la detección del analito se determina a partir de un cambio de color en la disolución o en el propio sensor. La ventaja de la liberación de los reactivos previamente embebidos en la esponja es que al liberarse los reactivos, la esponja es capaz de volver a retener y opcionalmente volver a liberar nuevos reactivos sensores de analitos, por lo que así la esponja Z@TEOS@PDMS puede reutilizarse de nuevo, por ejemplo como sensor para la detección y/o determinación de nuevos analitos en nuevos medios tras cargarla con nuevos reactivos sensores.

En una realización preferida del método de estimación de analitos, la observación del cambio de coloración de la etapa III se lleva a cabo mediante medidas de absorbancia en UV-Vis, reflectancia difusa, o mediante una app o un software, preferiblemente SPECTROFREE.

La determinación cuantitativa del analito a detectar y/o determinar presente en el medio se puede llevar a cabo mediante medidas de absorbancia en UV-Vis, reflectancia difusa, o mediante una app SPECTROFREE desarrollada por el grupo de investigación de la presente invención a través de la imagen generada en el Smartphone. Los resultados

muestran que estos dispositivos tipo esponja son reproducibles, eficientes en coste, estables en el tiempo bajo condiciones de bajas temperaturas y, en el caso de los ensayos en disolución, reutilizables. Además, permiten una detección de los analitos sencilla y rápida con la opción de desarrollar el ensayo en el punto de necesidad, es decir en el momento o situación específica en la que un individuo o entidad requiere o desea un recurso, producto o servicio particular para cumplir un propósito específico o abordar un problema o necesidad particular, como por ejemplo, análisis medio ambientales de amoníaco, nitratos, nitritos y/o fenoles, entre otros, así como ensayos en matrices biológicas como amonio en la saliva, entre otros, que requieren de ensayos *in-situ*, de manera rápida y simple.

En resumen, la capacidad de estas esponjas Z@TEOS@PDMS para retener y/o liberar diferentes reactivos sensores de forma precisa y homogénea, hacen de ellas potenciales dispositivos sensores de analitos que presentan una sensibilidad elevada, así como un tiempo de detección bajo en la detección del analito de interés, como se puede observar en la Tabla 2. Por ejemplo, se obtienen límites de detección tan pequeños como 0.01 mg NH_4^+ /mL para la determinación de amonio en saliva, de 0.01 ppm para la detección de nitritos en agua o 0.04 ppm en la determinación de DHCA en orina. En cuanto a los tiempos de análisis se trabaja en un rango de entre 80 y 5 minutos, que incluyen todo el proceso de análisis de esos analitos, permitiendo tiempos tan bajos de 5 minutos como por ejemplo en la determinación de nitritos y nitratos en agua, de DHCA en orina o de CBD en agua.

Un octavo aspecto de la invención es un programa de ordenador adaptado para poner en práctica el método de detección y/o determinación de analitos descrito anteriormente.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Para complementar la descripción y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con ejemplos preferentes de realización, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, unas figuras en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

5

Figura 1.- Muestra los moldes para el diseño del material base absorbente y las distintas esponjas obtenidas Z@TEOS@PDMS. El molde pequeño es para la obtención de esponjas de 7 mm de diámetro, mientras que el molde grande es para la obtención de esponjas de 15 mm de diámetro. También se muestra el proceso de síntesis según las etapas e) correspondiente al calentamiento en estufa de 12 horas a 40°C, f) correspondiente al calentamiento en estufa de 30 minutos a 90°C, y g) correspondiente a la etapa de eliminación del azúcar. El gráfico que se muestra se realizó mediante espectrometría UV/Vis, donde se determinó la absorbancia de la sacarosa en el agua durante la etapa de eliminación del azúcar (etapa g). Se muestra la absorbancia de la sacarosa en las tres etapas de eliminación de azúcar a una longitud de onda de 270 nm, donde se observa como en la segunda y la tercera etapa ya no se obtiene señal de absorbancia a dicha longitud de onda, por tanto, se consigue eliminar el azúcar casi en su totalidad.

Figura 2.- Muestra imágenes obtenidas por microscopía óptica de esponjas Z@TEOS@PDMS sin cargar que se encuentra en la primera fila, esponjas cargadas Z@TEOS@PDMS@NQS que se observan en la segunda fila de color gris más claro siendo amarillentas en la imagen en color original, y en la tercera fila sus respuestas colorimétricas a 34.8 mg NH₃/m³ (50 ppmv) de amoníaco con una coloración gris más oscuro siendo amarronadas en la coloración original, con proporciones de 40:60 y 60:40 de PDMS-TEOS en eso, con zeolita, y utilizando un tamaño de azúcar de 300–400 µm formar la plantilla previa sobre la que se vierte la mezcla de PDMS, TEOS, y zeolita; plantilla de azúcar que posteriormente se elimina mediante su disolución.

Figura 3.- Muestra la respuesta de otros sensores PDMS-TEOS-NQS-NPsSiO₂ y PDMS-TEOS-NQS-IL-NPsSiO₂ con formulaciones de patentes anteriores, en comparación con el sensor Z@TEOS@PDMS@NQS de la presente invención con un tamaño de azúcar en su síntesis de entre 300–400 µm y una proporción de 60:40 PDMS-TEOS. Ensayo realizado en la botella de dilución estática de 2L durante 20 minutos con una concentración de amoníaco de 34.8mg/m³, equivalente a 50ppmv.

Figura 4.- Muestra espectros de reflectancia difusa obtenidos para las esponjas Z@TEOS@PDMS@NQS de : A) a diferentes concentraciones de amoníaco ($0 - 34.8 \text{ mg/m}^3$, equivalente a $0 - 50 \text{ ppmv}$) en la botella de dilución estática de 2 L durante 20 minutos; de: B) y C) su estabilidad con el tiempo de conservación en congelador, de manera que se observa como el sensor es estable bajo estas condiciones de almacenamiento al presentar una absorbancia similar para una misma concentración al cabo de al menos dos meses, a) correspondiente al mismo día, b) una semana, e) un mes, f) un mes y medio, g) dos meses; y de: D) de esponjas Z@TEOS@PDMS@NQS de 7 mm de diámetro en la botella de dilución estática durante 10 minutos. Las figuras A y D representan el aumento de la absorbancia con el aumento de la concentración de NH_3 .

Figura 5.- Muestra los espectros de reflectancia difusa obtenidos para las esponjas Z@TEOS@PDMS@NQS de 7 mm de diámetro a: A) a diferentes concentraciones de amoníaco ($0 - 417 \text{ mg/m}^3$, equivalente a $0 - 0.22 \text{ mg/mL}$ de muestra de saliva) en una bolsa de 50 mL, durante 10 minutos; B) su estabilidad con el tiempo de conservación en congelador, a) correspondiente al mismo día, b) una semana, c) dos semanas, d) tres semanas, e) un mes, f) un mes y medio, g) dos meses; y C) a diferentes concentraciones de amonio ($0 - 20 \text{ ppm}$) en la placa de 24 pocillos durante 60 minutos.

Figura 6.- Muestra los resultados obtenidos con la aplicación software "SPECTROFREE", para la esponja Z@TEOS@PDMS@NQS de 15 mm (A) y la de 7 mm (B) para una muestra. En esta aplicación se observa como con tan solo un blanco y un patrón se puede obtener la concentración de la muestra. "*Blank Avg*" es la medida del blanco en las tres coordenadas de color rojo (R), verde (G) y azul (B). "*Std Avg*" es la medida del patrón en cada una de las tres coordenadas. "*Spl Avg*" es la medida de la muestra en cada una de las tres coordenadas. "*K*" es la pendiente obtenida a partir de la concentración conocida del patrón para cada coordenada restando el blanco ($R = K_R C_{\text{Std}}$; $G = K_G C_{\text{Std}}$; $B = K_B C_{\text{Std}}$ "*C Sample*" es la concentración de la muestra estimada a partir de la K del patrón para cada coordenada y las medidas de las coordenadas R, G y B después de restar el blanco. Si se observa las dos imágenes superiores se concluye que la muestra tiene una concentración de $14.98 \text{ mg NH}_3/\text{m}^3$, tal y como se indica en "*C Sample*" del color rojo correspondiente, obtenida a partir de un blanco y un patrón de $14 \text{ mg NH}_3/\text{m}^3$. En las dos imágenes inferiores se obtiene la concentración de

la muestra de 0.16 mg NH_4^+ /mL, correspondiente a “C Sample” de la coordenada de color rojo, a partir de un blanco y un patrón de 0.147 mg NH_4^+ /mL.

Figura 7.- Muestra espectros de UV-Vis obtenidos para las esponjas A) Z@TEOS@PDMS@SL@NP de 7 mm de diámetro a diferentes concentraciones de amonio (0–1 ppm) en un eppendorf durante 10 minutos; B) Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD de 7 mm de diámetro a diferentes concentraciones de nitritos (0–1.25 ppm) en un eppendorf durante 5 minutos; C) Z@TEOS@PDMS@PDMS@SA@NEDD de 7 mm de diámetro a diferentes concentraciones de nitratos (0 – 25 ppm) reducidas a nitrito con nanopartículas de zinc (ZnNPs) en un eppendorf durante 5 minutos; D) Espectros de reflectancia difusa obtenidos para las esponjas Z@TEOS@PDMS@NQS de 7 mm de diámetro a diferentes concentraciones de amonio (0 – 2.3 ppm) obtenida a partir de la hidrólisis de la urea y determinado en la placa de 24 pocillos durante 60 minutos y E) Espectros de UV-Vis obtenidos para las esponjas Z@TEOS@PDMS@SL@NP de 7 mm de diámetro a diferentes concentraciones de amonio (0 – 0.26 ppm) obtenido a partir de la hidrólisis de la urea y determinado en un eppendorf durante 10 minutos.

Figura 8.- Muestra espectros de UV-Vis obtenidos para las esponjas Z@TEOS@PDMS@FBB de 7 mm de diámetro a diferentes concentraciones de A) DHCA (0 – 2ppm) y de B) CBD (0 – 20ppm), ambos A) y B) determinados en un eppendorf durante 5 minutos; y de esponjas Z@TEOS@PDMS@AAP a diferentes concentraciones de C) fenol (0 – 2 ppm) y D) bisfenol A (0 – 5 ppm), ambos C) y D) determinados en un eppendorf durante 10 minutos.

25

Figura 9.- Muestra los resultados obtenidos con la aplicación SPECTROFREE para la esponja Z@TEOS@PDMS@AAP de 7 mm, para dos muestras A) y B) que comprenden una disolución acuosa de fenol de 0.5 ppm y 1ppm respectivamente. “Blank Avg” es la medida del blanco en las tres coordenadas de color rojo (R), verde (G) y azul (B). “Std Avg” es la medida del patrón en las tres coordenadas. “Spl Avg” es la medida de la muestra en las tres coordenadas. “K” es la pendiente obtenida a partir de la concentración conocida del patrón. “C Sample” es la concentración de la muestra obtenida a partir de la del patrón. Si se observa las dos imágenes superiores se concluye que la muestra tiene una concentración de 0.54 ppm de fenol, tal y como se indica en “C Sample” del color verde correspondiente, obtenida a partir de un blanco y un patrón

35

de 0.5 ppm de fenol. En las dos imágenes inferiores se obtiene la concentración de la muestra de 0.98 ppm de fenol, correspondiente a “C Sample” de la coordenada de color verde, a partir de un blanco y un patrón de 1 ppm de fenol.

EJEMPLOS

5

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

1. Procedimientos experimentales

10

1.1. Reactivos

15

Elastómero Base (PDMS) (Sylgard 184); tetraetilortosilicato (TEOS) (Sigma Aldrich); zeolita (Sigma Aldrich); 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS) (Sigma Aldrich); cloruro de amonio (NH_4Cl) (Probus); disolución de NaOH 2M (VWR Chemicals); disolución tampón de bicarbonato 2M pH = 11.3 (Merk Eurolab), sulfanilamida (SA) (Guinama); N-1-naftil-etilendiamina diclorohidratado (NEDD) (Fluka); nanopartículas de zinc (NPsZn) (Sigma Aldrich); nitrito de sodio (Merk Eurolab); nitrato de potasio (Merk Eurolab); disolución de ácido cítrico 330mM (VWR Prolabo); etanol (VWR Chemicals); salicilato de sodio (SL) (Sigma Aldrich); nitroprusiato de sodio (NP) (Probus); disolución de NaOH 1M – 0.6% NaOCl (VWR Chemicals); disolución tampón fosfato 0.2M pH = 7.2 (PanReac); urea (VWR Chemicals); ureasa (Sigma Aldrich); Fast Blue B (FBB) (Sigma Aldrich); cannabidiol (CBD) (Sigma Aldrich); ácido 3,5-dihidroxihipocinámico (DHCA) (Sigma Aldrich); 4-amino antipirina (4-AAP) (Sigma Aldrich); ferrocianuro de potasio ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) (Probus); fenol (Ph) (Sigma Aldrich); bisfenol A (BPh-A) (Sigma Aldrich).

20

25

1.2. Instrumentación

Espectrofotómetro Cary 60 UV-Vis, con accesorio de video “VideoBarrelino” y fibra óptica refractaria diferencial: registros de espectros de reflectancia en el rango 200-1000 nm; estufa (Pol-Eko Aparatura); Ultrasonic Cleaner (LBX instruments); agitador termostático de microplaca DTS-2 (Elmi); *smartphone* Redmi Note 8.

30

1.3. Diseño de los sensores

La Figura 1 muestra el esquema de síntesis de las esponjas Z@TEOS@PDMS. Se realiza en base al método de templado del azúcar para la formación de esponjas con modificaciones. Primero se mezcla la zeolita (0.038g x) con tetraetilortosilicato (TEOS,

1.4g x) y se forma una dispersión en ultrasonidos durante unos segundos. A continuación, se adiciona la matriz polimérica de polidimetilsiloxano (PDMS, 2g x) y se agita durante 45 – 60 minutos, dependiendo de la viscosidad de la síntesis. Se adiciona el agente curado (0.2g x) y se homogeneiza durante 15 minutos. Se añade azúcar tamizado de un tamaño de partícula entre 400 y 300µm en una proporción 3:7 (síntesis:azúcar) con respecto a la masa de síntesis (3.438g).

Si se trata de la esponja de mayor tamaño, en un molde (una placa de 8 pocillos) se pesan 0.4g de la mezcla (Figura 1). Cuando se sintetiza la esponja de menor tamaño, en otro molde (una placa de hasta 25 pocillos) se pesan 0.12g de la mezcla. En ambos casos se deja gelificar durante 12 horas en estufa a 40°C, se desmolda y se seca en estufa 30 minutos a 90°C. Por cada gramo pesado de síntesis, se obtienen entre 7 y 8 esponjas grandes y hasta 30 pequeñas.

A continuación, para eliminar el azúcar se añaden 2mL de agua en cada uno de los 24 pocillos de una placa y se agita a 50°C durante 10 minutos, realizando este paso hasta 3 veces con cada esponja. Se obtienen esponjas Z@TEOS@PDMS de 15 mm de diámetro y esponjas de 7 mm de diámetro, ambas con un espesor de entre 1.5-2 mm.

Para obtener las esponjas Z@TEOS@PDMS@NQS con el reactivo sensor retenido en ellas, se sumergen 5 grandes o 12 pequeñas en una disolución acuosa de 10000ppm de NQS durante unos 30 minutos. A continuación, se secan cuidadosamente con un papel para eliminar el exceso de disolución en la esponja y se conservan a una temperatura de -20°C hasta su uso.

Para obtener las esponjas Z@TEOS@PDMS@SL@NP se sumergen en una disolución en etanol-agua 50:50 de 10000ppm de salicilato (SL) y 5000ppm de nitroprusiato (NP) durante 30 minutos y se conservan a una temperatura de -20°C hasta su uso.

En el caso de las esponjas Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD se realiza inmersión de las esponjas durante 30 minutos en una disolución de etanol-agua 50:50 de 15000ppm de sulfanilamida (SA) y 5000ppm de N-1-naftil-etilendiamina diclorohidratado (NEDD) y se conservan a una temperatura de -20°C hasta su uso. Para obtener esponjas Z@TEOS@PDMS@U se sumergen en una disolución de 8000ppm de ureasa en tampón fosfato 0.2M y pH = 7.2 durante 30 minutos y se conservan a una temperatura

de 3°C hasta su uso.

En el caso de la obtención de Z@TEOS@PDMS@FBB las esponjas se sumergen en una disolución de 2500ppm de Fast Blue B (FBB) en agua durante 30 minutos y se conservan a una temperatura de -20°C; y para obtener Z@TEOS@PDMS@AAP las esponjas se sumergen durante 30 minutos en una disolución acuosa de 10000ppm del reactivo 4-amino antipirina (4-AAP) y se conservan a una temperatura de -20°C hasta su uso.

1.4 Determinación de amoníaco en atmósfera Z@TEOS@PDMS@NQS

1.4.1 Generación de patrones

Para la preparación de patrones de amoníaco se emplearon botellas de dilución estática de 2L. Se añadió una concentración conocida de amonio en agua (100µL) y a continuación un volumen de NaOH (200µL) para la completa volatilización del amonio en amoníaco.

1.4.2 Respuesta de la esponja

La medida de la respuesta se realizó con dos tamaños de esponja diferentes. Se empleó la botella de dilución estática con la esponja suspendida. En la atmósfera confinada se introdujo una disolución de NH_4^+ con disolución basificadora para generar NH_3 . Se han estudiado concentraciones de NH_3 de 3.5, 7, 10.4, 14, 24.3 y 34.8 mg/m³, correspondientes a 5, 10, 15, 20, 35 y 50 ppmv de NH_3 respectivamente, para la botella de dilución estática de 2L de volumen de aire.

1.5 Determinación de amonio en saliva Z@TEOS@PDMS@NQS

1.5.1 Generación de patrones

Para la preparación de patrones de amoníaco se emplearon bolsas selladas herméticamente con la esponja adherida a la pared. Se añadió una concentración conocida de amonio en agua (100µL) y a continuación tampón bicarbonato (100µL), para volúmenes de aire de 50mL en bolsa, con el fin de conseguir la completa volatilización del amonio en amoníaco.

1.5.2 Respuesta de la esponja

La medida de la respuesta se realizó en una bolsa sellada con la esponja adherida a una de las paredes. En la atmósfera confinada se introdujo una disolución de NH_4^+ con

disolución basificadora para generar NH_3 . Se han estudiado concentraciones de 0.018, 0.037, 0.074, 0.147 y 0.221 $\text{mgNH}_4^+/\text{mL}$ de muestra de saliva, correspondientes a 34.8, 70, 139, 278 y 417 mg/m^3 de aire, y 50, 100, 200, 400 y 600 ppmv de NH_3 respectivamente, para la bolsa sellada de 50mL de volumen de aire.

5

1.6 Determinación de amonio en medios acuosos Z@TEOS@PDMS@NQS

1.6.1 Generación de patrones

Para la preparación de patrones de amonio se emplearon placas de 24 pocillos de 2mL de volumen. Se añadió una concentración conocida de amonio en agua y a continuación un volumen de NaOH (200 μL) hasta un volumen de 1mL en cada pocillo completamente sellado, con el fin de conseguir la completa volatilización del amonio en amoníaco.

10

1.6.2 Respuesta de la esponja

La medida de la respuesta se realizó con la esponja adherida a la tapa de la placa de 24 pocillos completamente sellada. Para generar la atmósfera de amoníaco se introdujo una disolución basificadora de NaOH junto con los patrones de NH_4^+ . Se han estudiado concentraciones de NH_4^+ de 0.5, 1, 2, 5, 10 y 20ppm.

15

1.7 Determinación de amonio en medios acuosos Z@TEOS@PDMS@SL@NP

20

1.7.1 Generación de patrones

Para la preparación de patrones de amonio se emplearon tubos Eppendorf. Se añadió una concentración conocida de amonio en agua, la esponja cargada con los reactivos, y a continuación un volumen de NaOH 1M – 0.6% NaOCl (40 μL) para la formación del indofenol.

25

1.7.2 Respuesta de la esponja

Para la medida de la respuesta se han estudiado concentraciones de NH_4^+ de 0.1, 0.2, 0.4, 0.5 y 1 ppm en un volumen total de 1mL de disolución.

30

1.8 Determinación de nitritos y nitratos en medios acuosos Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD

1.8.1 Generación de patrones

Para la preparación de patrones de nitritos se emplearon tubos Eppendorf. Se añadió una concentración conocida de NO_2^- en agua, la esponja cargada con los reactivos y a

35

continuación un volumen de ácido cítrico 330mM (500μL) para la formación del cromóforo que produce el cambio de color.

5 Para la preparación de patrones de nitratos se emplearon tubos Eppendorf. Se añadió una concentración conocida de NO_3^- en agua junto con nanopartículas de zinc inmovilizadas en nylon mediante filtración para su reducción a nitritos, se añadió la esponja cargada con los reactivos correspondientes, y a continuación un volumen de ácido cítrico 330mM (500μL) para la formación del cromóforo que produce el cambio
10 de color.

1.8.2 Respuesta de la esponja

Para la medida de la respuesta se han estudiado concentraciones de NO_2^- de 0.025, 0.05, 0.25, 0.5 y 1.25 ppm en un volumen total de 2mL y concentraciones de NO_3^- de
15 1.5, 3, 5, 10, 15, 20 y 25 ppm en un volumen total de 2mL.

1.9 Determinación de urea en orina mediante Z@TEOS@PDMS@U y Z@TEOS@PDMS@NQS

20 1.9.1 Generación de patrones

Para la hidrólisis de urea en amonio se introduce una esponja cargada con ureasa en un tubo Eppendorf con 12.5 y 15ppm de urea en tampón fosfato 0.2M y pH = 7.2 y se deja incubar durante 20 minutos en un baño de agua a 37°C.

25 Para la preparación de patrones de amonio se emplearon placas de 24 pocillos de 2mL de volumen. Se añadió una concentración teórica de amonio a partir de la hidrólisis de la urea con la ureasa y a continuación un volumen de NaOH (200μL) hasta un volumen de 1mL con agua en cada pocillo completamente sellado, con el fin de conseguir la completa volatilización del amonio en amoníaco.

30

1.9.2 Respuesta de la esponja

La medida de la respuesta se realizó con la esponja adherida a la tapa de la placa de 24 pocillos completamente sellada. Para generar la atmósfera de amoníaco se introdujo una disolución basificadora de NaOH junto con los patrones de NH_4^+ . Se ha estudiado
35 la hidrólisis de 12.5 y 15 ppm de urea con la esponja de ureasa obteniendo, de manera

teórica, 0.75, 1.90, 3.75 y 7.43 ppm de amonio a partir de los cuales se obtiene un rendimiento de hidrólisis.

5 1.10 Determinación de urea en orina mediante Z@TEOS@PDMS@U y
Z@TEOS@PDMS@SL@NP

1.10.1 Generación de patrones

Para la hidrólisis de urea en amonio se introduce una esponja cargada con ureasa en un tubo Eppendorf con 5 y 15 ppm de urea en tampón fosfato 0.2M y pH = 7.2, y se deja incubar durante 20 minutos en un baño de agua a 37°C.

10

Para la preparación de patrones de amonio se emplearon tubos Eppendorf. Se añadió una concentración teórica de amonio a partir de la hidrólisis de la urea catalizada por la ureasa anteriormente y a continuación un volumen de NaOH 1M – 1% NaOCl (300µL) para la formación del indofenol.

15

1.10.2 Respuesta de la esponja

Para la medida de la respuesta se ha estudiado la hidrólisis de 5 y 15 ppm de urea con la esponja de ureasa obteniendo, de manera teórica, 0.05, 0.09, 0.23 y 0.35 ppm de amonio a partir de los cuales se obtiene un rendimiento de hidrólisis.

20

1.11 Determinación de cannabidiol (CBD) mediante Z@TEOS@PDMS@FBB

1.11.1 Generación de patrones

25 Para la preparación de patrones de CBD se emplearon tubos Eppendorf. Se añadió una concentración conocida de CBD en agua y la esponja cargada con el reactivo para la formación del cromóforo que produce el cambio de color.

1.11.2 Respuesta de la esponja

30 Para la medida de la respuesta se han estudiado concentraciones de CBD de 2, 5, 10, 15 y 20ppm en un volumen total de 1mL de disolución.

1.12 Determinación de ácido 3,5-dihidroxihipocinámico (DHCA) en orina mediante
Z@TEOS@PDMS@FBB

35 1.12.1 Generación de patrones

Para la preparación de patrones de DHCA se emplearon tubos Eppendorf. Se añadió una concentración conocida de DHCA en etanol y la esponja cargada con el reactivo para la formación del cromóforo que produce el cambio de color.

5 1.12.2 Respuesta de la esponja

Para la medida de la respuesta se han estudiado concentraciones de DHCA de 0.05, 0.1, 0.5, 1 y 2 ppm en un volumen total de 1 mL de disolución.

10 1.13 Determinación de fenoles en matrices acuosas mediante Z@TEOS@PDMS@AAP

1.13.1 Generación de patrones

Para la preparación de patrones de los fenoles estudiados se emplearon tubos Eppendorf. Se añadió una concentración conocida de fenol en agua, un volumen de
15 tampón fosfato 0.5M pH = 8 (50 μ L) y la esponja cargada con el reactivo. para la formación del complejo que produce el cambio de color se adicionó un volumen de $K_3Fe(CN)_6$ al 15% en agua (50 μ L).

1.13.2 Respuesta de la esponja

20 Para la medida de la respuesta se han estudiado concentraciones de fenol de entre 0.05 y 2 ppm, y de bisfenol A de entre 0.05 y 5 ppm en un volumen total de 2 mL de disolución,

2. Resultados

25

En este ejemplo se evaluó el uso de membranas poliméricas tridimensionales en forma de esponja dopadas con diferentes reactivos de manera que permiten la retención y/o liberación de estos para la estimación de NH_3 en atmósferas, NH_4^+ , urea, fenoles, CBD, DHCA, NO_2^- y NO_3^- en medios acuosos y matrices biológicas. La matriz polimérica está
30 compuesta por PDMS, TEOS y zeolita y después de la eliminación de la plantilla de azúcar se carga el reactivo por inmersión.

2.1 Estudio de la eliminación del azúcar en las esponjas

En la Figura 1 se muestra los espectros de sacarosa en el proceso de eliminación del
35 azúcar de las esponjas observando la absorbancia a una longitud de onda de 270nm.

En el primer ciclo de 10 minutos, espectro correspondiente a la línea continua se elimina la mayoría del azúcar presente en el dispositivo, obteniendo una respuesta más baja en los dos ciclos que siguen en este proceso, siendo los espectros de línea discontinua, y línea discontinua con puntos, respectivamente.

5

2.2 Estudio de la respuesta de la esponja con diferente porcentaje de PDMS

La Figura 2 muestra imágenes de microscopía óptica obtenidas de las diferentes esponjas blancas Z@TEOS@PDMS sin cargar, cargadas con NQS, y su respuesta para 50ppmv de amoníaco con proporciones de 40:60 y 60:40 de PDMS-TEOS con zeolita y el tamaño de partícula de azúcar optimizado, en la botella de dilución estática durante 20 min.

10

2.3 Estudio de patrones de amoníaco para Z@TEOS@PDMS@NQS

En la Tabla 1 se muestra el porcentaje de volatilización del amonio en amoníaco en diferentes ensayos; estudiando el volumen, el tiempo de ensayo y la concentración de amoníaco empleada.

15

La determinación del amonio en el residuo de la disolución después del ensayo se obtiene mediante el método de uso del timol con nitroprusiato, observando la señal de absorbancia a una longitud de onda de 690 nm. La desviación se obtiene a partir de la expresión $\bar{x} \pm K_s/\sqrt{n}$, donde en dicha expresión $\bar{x}$ se refiere a la media de los valores obtenidos, K_s se refiere al valor de la incertidumbre expandida, y n se refiere al número de muestras; considerando un valor de $K_s=2$ correspondiente a la incertidumbre expandida que corresponde a una probabilidad de cobertura de, aproximadamente, un 95%.

20

25

Los porcentajes de volatilización de amonio en amoníaco en las condiciones de ensayo estudiadas son satisfactorios. No hay diferencias significativas entre el uso de la botella de dilución estática y la bolsa sellada herméticamente, pudiendo elegir cualquiera de los dos recipientes de ensayo según se requiera. Los valores son similares entre diferentes tiempos de ensayo entre 1 y 8 horas, lo que asegura la volatilización de la mayor parte del amonio presente en amoníaco a la atmósfera confinada en el tiempo. Además, el porcentaje de volatilización es similar independientemente de la concentración de amoníaco empleada para el ensayo.

30

Tabla 1. Porcentaje de volatilización de amonio en amoníaco en diferentes ensayos estudiando el tipo de recipiente, botella de dilución estática o bolsa, el tiempo de ensayo de 1 a 8 horas y la concentración de amoníaco de 10, 20 y 50 ppmv de amoníaco, donde

5 V_{aire} se refiere al volumen de la atmósfera del recipiente donde se realiza el ensayo (botella o bolsa), tiempo (h) se refiere al tiempo de ensayo, y $[\text{NH}_3]$ se refiere a la concentración del amoníaco en dicha atmósfera que resulta de la volatilización del amonio (NH_4^+) presente inicialmente en el medio de ensayo.

Estudio desprendimiento de amonio en diferentes recipientes de ensayo				
	V_{aire} (L)	Tiempo (h)	$[\text{NH}_3]$ ppmv	% volatilización de NH_4^+
Botella de dilución estática	2	1	50	95.5 ± 1.5
Bolsa hermética	2	1	50	97.5 ± 0.5

Estudio desprendimiento de amonio a diferentes tiempos de ensayo				
	V_{aire} (L)	Tiempo (h)	$[\text{NH}_3]$ ppmv	% volatilización de NH_4^+
Botella de dilución estática	2	1	50	95.5 ± 1.5
Botella de dilución estática	2	5	50	94.2 ± 0.5
Botella de dilución estática	2	8	50	94.5 ± 1.0

Estudio desprendimiento de amonio a diferentes concentraciones				
	V_{aire} (L)	Tiempo (h)	$[\text{NH}_3]$ ppmv	% volatilización de NH_4^+
Botella de dilución estática	2	1 - 8	10	92.6 ± 1.7
Botella de dilución estática	2	1 - 8	20	95.4 ± 0.7
Botella de dilución estática	2	1 - 8	50	95.1 ± 0.9

10

2.4 Estudio de la respuesta de la esponja Z@TEOS@PDMS@NQS

La Figura 3 muestra una respuesta de la esponja muy elevada (es decir una absorbancia

15 elevada de 0.94, lo que indica una alta sensibilidad para el amoníaco) a la conseguida

con sensores alternativos con formulaciones de patentes anteriores como PDMS-TEOS-NQS-NPsSiO₂ y PDMS-TEOS-NQS-IL-NPsSiO₂, a un tiempo de ensayo de 20 minutos con una concentración de amoníaco de 34.8mg/m³ en la botella de dilución estática de 2L, equivalentes a 50ppmv de amoníaco.

5

En la Figura 4A se muestra los espectros de reflectancia difusa de las esponjas sintetizadas de 15 mm de diámetro. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de amoníaco generada en la atmósfera en un tiempo de 20 minutos de ensayo. Los parámetros analíticos se indican en la Tabla 2. Si se aumentara el tiempo de ensayo disminuirían los límites de detección y cuantificación. El tiempo elegido es adecuado para obtener una buena relación lineal a concentraciones deseadas para la determinación de NH₃ en atmósferas de granjas e industrias. La Figura 4B representa la respuesta obtenida a cierta concentración de sensores blancos conservados en el congelador durante el menos dos meses, obteniendo una absorbancia similar en cada caso, por tanto, es estable durante ese período de tiempo.

La figura C representa la absorbancia de tres sensores, reaccionados con 3.5mgNH₃/m³, 14mgNH₃/m³ y otro de 34.8mgNH₃/m³, conservados en el congelador durante al menos dos meses. Se observa como la respuesta no varía de forma significativa, por tanto, son estables.

Lo mismo sucede con la esponja de 7 mm de acuerdo con la Figura 4C. La Figura 4D muestra los espectros correspondientes a un calibrado obtenido a los 10 minutos de exposición a la atmósfera de NH₃, y la Tabla 2 los parámetros analíticos.

Las figuras A y D representan el aumento de la absorbancia con el aumento de la concentración de NH₃.

En la Figura 5A se muestran los espectros de reflectancia difusa de esponjas de 7 mm confinadas en bolsa para el ensayo del analito amonio en saliva. Se observa un comportamiento similar al reflejado en el apartado anterior, manteniendo el tiempo de ensayo, pero reduciendo el volumen de aire de la atmósfera confinada y las concentraciones de amonio empleadas, de 0 a 0.22 mg NH₄⁺/mL de muestra.

La Tabla 2 indica los parámetros analíticos estimados. La Figura 5B muestra la estabilidad de diferentes blancos de la esponja guardados a -20°C (en congelador) durante al menos dos meses. Se estudia la respuesta de estos blancos en la bolsa

durante 10 minutos a una concentración de 0.15 mg de NH_4^+ /mL de muestra, equivalentes a 278 mg de NH_3/m^3 , y a 400 ppmv de amoníaco. No hay variaciones significativas en la respuesta de diferentes esponjas. Se observa como a bajas temperaturas, las esponjas se conservan durante al menos dos meses obteniendo una respuesta similar en los diferentes blancos conservados durante diferentes tiempos en estas condiciones. En la Figura 5C se muestran los resultados para el ensayo en microplacas de 24 pocillos y en la Tabla 2 los parámetros analíticos. La Figura 6 muestra los resultados obtenidos con la aplicación software SPECTROFREE, para la esponja de 15 mm (A) y la de 7 mm (B).

Con esta esponja se obtiene un LOD para el amoníaco en atmósfera de 2.4 mg NH_3/m^3 en 10 min de muestreo pasivo, lo cual corresponde a la detección del analito de forma rápida en apenas pocos minutos, y con una alta sensibilidad, y con coste energético nulo.

Además, el uso de esponjas de Z@TEOS@PDMS con un tamaño de hasta 15 mm de diámetro permite determinar de 2.1 a 34.8 mg de NH_3/m^3 en un tiempo de 20 minutos (equivalentes a 3 y 50 ppmv de NH_3 respectivamente), mientras esponjas de 7 mm de diámetro pueden determinar de 7.3 a 34.8 mg de NH_3/m^3 , (equivalentes a 10.5 y 50 ppmv de NH_3 respectivamente), en las mismas condiciones de volumen de atmósfera confinada. Visualmente, la esponja Z@TEOS@PDMS@NQS que retiene el reactivo NQS adopta un color anaranjado, y al entrar en contacto con amoníaco atmosférico ésta sufre un cambio de naranja a marrón en función de la concentración de amoníaco.

Además, el uso de esta esponja Z@TEOS@PDMS para medir atmósferas de amoníaco puede realizarse en todo tipo de habitáculos (por ejemplo, habitáculos de animales o dedicados a la cría de aves). De hecho, en habitáculos dedicados a la cría de aves u de otros animales el límite está en 20 ppmv de NH_3 , mientras que en ambientes laborales los valores límite ambientales (VLA) de exposición diaria (ED) y de corta duración (EC) son 20 y 50 ppmv de NH_3 .

Adicionalmente, cuando la esponja Z@TEOS@PDMS@NQS se utiliza para detectar amonio en saliva, mediante la liberación de amoníaco a partir del amonio de la saliva en un volumen de aire confinado, se consigue un LOD de 0.01 mg NH_4^+ /mL de saliva en 10 min. De hecho, con el uso de esponjas Z@TEOS@PDMS@NQS de 7mm de

diámetro, se puede determinar un volumen confinado pudiendo determinar de 60 a 417 mg de NH_3/m^3 (equivalentes a 86 y 600 ppmv de amoníaco, y a 0.03 y 0.22 mg NH_4^+/mL de saliva), en un tiempo de 10 minutos. Esto a su vez permite relacionar el contenido de amonio en saliva con diferentes enfermedades.

5

2.5 Estudio de la respuesta de la esponja Z@TEOS@PDMS@SL@NP

En la Figura 7A se muestra los espectros de UV-Vis de esponjas de 7 mm de diámetro cargadas con salicilato y nitroprusiato. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de amonio en la disolución en un tiempo de 10 minutos de ensayo. Los parámetros analíticos se indican en la Tabla 2. La respuesta de diferentes ensayos realizados con esponjas reutilizadas (n=20), con esponjas cargadas con los reactivos y guardadas a una temperatura de -20°C (en congelador) durante al menos dos semanas, y esponjas que han sido cargadas con los reactivos justo antes de su uso se ajustan a la sensibilidad mostrada en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones de ensayo, linealidad, intervalo lineal y límites de detección, y cuantificación de la esponja optimizadas con diferentes reactivos. ¹esponja de 15 mm; t(min) se refiere al tiempo de ensayo; ²Amonio a partir de la hidrólisis de la urea; ^(a)mg NH_3/m^3 ; ^(b)mg NH_4^+/mL , ^(c)mg/L.

20

Analito	Esponja	t, min	Medio	Ensayo	Linealidad			
					b ± S _b	a ± S _a	R ²	Intervalo lineal LOD
NH ₃	¹ Z@TEOS@PDMS@NQS	20	Atmósfera	Botella estática, 2L	^(a) 0.0264 ± 0.002	0.08 ± 0.04	0.97	2.3 – 34.8
	Z@TEOS@PDMS@NQS	10	Atmósfera	Botella estática, 2L	^(a) 0.0153 ± 0.0003	0.084 ± 0.006	0.99	7.3 – 34.8
	Z@TEOS@PDMS@NQS	10	Saliva	Bolsa 50mL	^(b) 3.57 ± 0.015	0.086 ± 0.017	0.99	0.03 – 0.22
NH ₄ ⁺	Z@TEOS@PDMS@NQS	60	Agua	Placa 24 pocillos 1mL/pocillo	^(c) 0.060 ± 0.005	0.08 ± 0.02	0.98	2 – 10
	Z@TEOS@PDMS@SL@NP	10	Agua	Eppendorf, 1mL	^(c) 0.466 ± 0.014	0.012 ± 0.007	± 0.99	0.15 – 1
	Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD	5	Agua	Eppendorf, 2mL	^(c) 0.694 ± 0.017	0.001 ± 0.010	± 0.99	0.02 – 1.25
NO ₂ ⁻	Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD	5	Agua	Eppendorf, 2mL	^(c) 0.0409 ± 0.0007	± 0.037	± 0.99	1 – 25
	Z@TEOS@PDMS@U	80	Orina	Placa 24 pocillos 1mL/pocillo	^(c) 0.085 ± 0.002	0.050 ± 0.003	± 0.99	0.7 – 2.32
	Z@TEOS@PDMS@U	30	Orina	Eppendorf, 1mL	^(c) 0.48 ± 0.05	0.024 ± 0.008	± 0.97	0.1 – 0.26
² NH ₄ ⁺	Z@TEOS@PDMS@U	5	Orina	Eppendorf, 1mL	^(c) 0.384 ± 0.005	0.031 ± 0.005	0.98	0.1 – 2
	Z@TEOS@PDMS@FBB	5	Agua	Eppendorf, 1mL	^(c) 0.0164 ± 0.0007	± 0.034 ± 0.008	0.99	5 – 20
	Z@TEOS@PDMS@4-AAP	10	Agua	Eppendorf V=2mL	^(c) 0.125 ± 0.008	0.080 ± 0.009	0.99	0.7 – 2
Bisfeno I-A	Z@TEOS@PDMS@4-AAP	10	Agua	Eppendorf V=2mL	^(c) 0.51 ± 0.003	0.050 ± 0.006	0.99	1.2 – 5
								0.41

En la Tabla 2 se observan las condiciones de ensayo de los diferentes analitos como el tiempo de ensayo, el medio en el que se encontraba el analito y el volumen de aire o disolución empleados, así como el material. Por otra parte, se obtiene la sensibilidad de cada analito para el reactivo empleado, junto con el intervalo lineal y el límite de detección. Se llega a la conclusión de que se obtienen unos resultados favorables para todos los analitos estudiados, con tiempos de ensayo de entre 10 y 80 minutos, con volúmenes de muestra de no más de 2mL y coeficientes de regresión muy favorables, lo que indica que este material tipo esponja es apto para este tipo de ensayos de retención y/o liberación de reactivos y analitos tales como los estudiados en la Tabla 2 en diferentes medios.

La matriz Z@TEOS@PDMS@SL@NP puede aportar un LOD tan bajo como 0.05 mg/L de amonio en 10 min, lo que indica una alta sensibilidad en un tiempo rápido. De hecho, con esponjas Z@TEOS@PDMS@SL@NP con un tamaño de 7 mm de diámetro se pueden determinar de 0.15 a 1ppm de amonio en matrices acuosas en un tiempo de 10 minutos, mediante la liberación de estos reactivos hacia la disolución, produciendo un cambio de color de amarillo a verde en presencia del analito.

20

2.6 Estudio de la respuesta de la esponja Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD

En la Figura 7B se muestran los espectros de UV-Vis de esponjas de 7 mm de diámetro y cargadas con los reactivos de Griess, es decir, sulfanilamida (SA) y N-1-naftil-etilendiamina diclorohidratado (NEDD), para la determinación de nitritos. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de nitritos en la disolución en un tiempo de 5 minutos de ensayo. Los parámetros analíticos se indican en la Tabla 2. La respuesta de diferentes ensayos realizados con esponjas reutilizadas (n=20), con esponjas cargadas con los reactivos y guardadas a una temperatura de -20°C durante al menos dos semanas, y con esponjas que han sido cargadas con los reactivos justo antes de su uso, se ajustan a la ecuación mostrada en la Tabla 2.

En la Figura 7C se muestran los espectros de UV-Vis de las esponjas sintetizadas de 7 mm de diámetro y cargadas con los reactivos de Griess, es decir, sulfanilamida (SA) y

N-1-naftil-etilendiamina diclorohidratado (NEDD), para la determinación de nitratos. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de nitratos en la disolución en un tiempo de 5 minutos de ensayo. Se reducen los nitratos a nitritos para la determinación de estos con nanopartículas de zinc inmovilizadas en nylon.

5

Con el uso de sulfanilamida (SA) y N-1-naftil-etilendiamina diclorohidratado (NEDD) previamente embebidos en la matriz Z@TEOS@PDMS, se puede obtener una matriz Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD con LODs de 0.007mg/L y 0.4 mg/L en 5 minutos respectivamente para el nitrito y el nitrato. Además, con esponjas Z@TEOS@PDMS@SA@NEDD de 7 mm de diámetro se puede determinar de 0.02 a 1.25ppm de nitritos y 1.14 a 25ppm de nitratos en matrices acuosas en un tiempo de 5 minutos. La determinación de nitratos se realiza a partir de su reducción a nitritos con nanopartículas de zinc inmovilizadas en nylon45. Visualmente, durante la determinación de nitrito y nitrato tras la reducción a nitrito, se produce un cambio de color en la disolución de incoloro a rosa con la formación de un cromóforo con grupos azo.

15

2.7 Estudio de la respuesta de la esponja Z@TEOS@PDMS@U

Se estudia la acción catalítica de la ureasa, que se encuentra cargada en la esponja sintetizada, bajo las condiciones de ensayo, determinando el amonio que se obtiene de la urea hidrolizada a partir de las esponjas dopadas con NQS y las esponjas con el método de Berthelot, es decir, empleando esponjas dopadas con salicilato de sodio (SL) y nitroprusiato de sodio (NP).

20

En la Figura 7D se muestran los espectros de reflectancia difusa de esponjas de 7 mm de diámetro y cargadas con el reactivo derivatizante NQS para la determinación de urea hidrolizada en amonio por la acción catalítica de la ureasa presente en la esponja. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de amonio a partir de urea en la disolución en un tiempo de 60 minutos de ensayo. Los parámetros analíticos se dan en la Tabla 2.

25

30

En la Figura 7E se muestra los espectros de UV-Vis de las esponjas de 7 mm de diámetro y cargadas con salicilato y nitroprusiato para la determinación de urea hidrolizada en amonio por la acción catalítica de la ureasa presente en la esponja. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de urea en la

35

disolución en un tiempo de 10 minutos de ensayo. Los parámetros analíticos se dan en la Tabla 2.

En resumen, esto permite la estimación de urea mediante la matriz de la invención que comprende retenida/embebida la enzima ureasa (U), que hidroliza la urea a amonio. Visualmente, al liberarse la ureasa a la disolución por difusión, y esta catalizar la hidrólisis de urea en amonio, la disolución cambia de color de incoloro a rosa.

Posteriormente, se estima el amonio en la orina mediante la matriz con un reactivo sensor de amonio embebido NQS, obteniéndose la esponja Z@TEOS@PDMS@NQS capaz de detectar y/o determinar el amonio presente en la orina en concentraciones desde 0.7 a 4.6 ppm de amonio. Alternativamente también puede usarse para determinar el amonio la esponja con NP, obteniéndose en su caso la esponja @TEOS@PDMS@NP, pudiéndose con esta medir concentraciones de amonio de 0.1 a 1ppm.

Con ello, se puede relacionar el amonio determinado con la cantidad de urea inicialmente presente, así como estimar el rendimiento de la reacción de hidrólisis de urea a amonio.

20

2.8 Estudio de la respuesta de la esponja Z@TEOS@PDMS@FBB

En la Figura 8A se muestran los espectros de UV-Vis de las esponjas de 7 mm de diámetro cargadas con Fast Blue B para DHCA. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de DHCA en la disolución en un tiempo de 5 minutos de ensayo. La Tabla 2 indica los parámetros analíticos obtenidos.

La Figura 8B muestra los espectros de UV-Vis de las esponjas de 7 mm cargadas con Fast Blue B para CBD. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de CBD en la disolución en un tiempo de 5 minutos de ensayo. La Tabla 2 indica los parámetros analíticos.

La esponja Z@TEOS@PDMS@FBB se puede usar por tanto como sensor para la determinación de ácido 3,5-dihidroxihidrocínámico (DHCA), que es un biomarcador del gluten, y cannabidiol (CBD); con el uso de la sal Fast Blue B (FBB) retenida en la matriz,

obteniéndose la matriz Z@TEOS@PDMS@FBB con LODs de 0.04 y 1.6 mg/L en 5 min para el DHCA y el CBD respectivamente.

De hecho, con esponjas Z@TEOS@PDMS@FBB con un tamaño de 7 mm de diámetro se pueden medir concentraciones de 5 a 20 ppm de CBD en matrices acuosas en un tiempo de 5 minutos, y de 0.1-2 ppm de DHCA en matrices biológicas en 5 minutos.

Visualmente, al liberarse la sal FBB a la disolución por difusión, dicha sal FBB reacciona con el DHCA y el CBD con la formación de un cromóforo con grupos azo a partir de la sal de diazonio, generando un cambio de color de amarillo a rojo.

2.9 Estudio de la respuesta de la esponja Z@TEOS@PDMS@AAP

En las Figuras 8C y 8D se muestran los espectros de UV-Vis de esponjas de 7 mm cargadas con 4-AAP. Se observa como la respuesta del dispositivo aumenta con la concentración de fenol y bisfenol A en la disolución en un tiempo de 10 minutos de ensayo y la Tabla 2 los parámetros analíticos.

La Figura 9 muestra los resultados obtenidos con la aplicación software SPECTROFREE para la esponja y dos concentraciones de muestra.

Con la esponja Z@TEOS@PDMS@4-AAP para la determinación de fenoles tales como fenol o bisfenol-A en disolución acuosa, mediante la difusión del 4-AAP hacia la disolución, puede conseguirse un LOD de hasta 0.23 ppm de fenol y de 0.41ppm de bisfenol-A en 10 min. De hecho, con esponjas Z@TEOS@PDMS@4-AAP de 7mm de diámetro se puede determinar 0.68 – 2 ppm de fenol y 1.24 – 5 ppm de bisfenol-A en un tiempo de 10 minutos. Visualmente, esta reacción del 4-AAP con fenoles forma un complejo coloreado.

Todos estos ensayos permiten la determinación de analitos como amoníaco, amonio, nitritos, nitratos, cannabidiol y fenoles, entre otros, con gran rapidez, una elevada sensibilidad, buenos coeficientes de regresión, y límites de detección y cuantificación favorables, lo que indica que este material es apto para la retención y/o liberación de reactivos y analitos por difusión. El uso de este sensor tipo esponja mejora los resultados de otro tipo de sensores basados en PDMS cuya liberación de los reactivos a la

disolución o difusión de los analitos hacia el interior del sensor es más lenta y, en algunos casos, no se libera el 100% de los reactivos embebidos. Además, el formato de esponja presenta las mismas ventajas que los reactivos en disolución, en cuanto a efectividad, pero evitando la degradación de estos si se conservan de manera adecuada, lo cual no ocurre en disolución.

5

REIVINDICACIONES

1. Matriz tridimensional porosa de polidimetilsiloxano (PDMS), entre 40% y 60% en peso, caracterizada por que comprende
 - 5 • Tetraetilortosilicato (TEOS) entre 40% y 60% en peso, y
 - zeolita entre 0,5% y 1% en peso sobre el peso de la mezcla de PDMS y TEOS, donde la matriz tridimensional tiene una porosidad de entre 55-80% respecto al volumen total de la matriz, con tamaños de poros comprendidos entre 20-360 μm .
- 10 2. Matriz según la reivindicación 1, donde la zeolita tiene un tamaño de partícula menor de 20 μm .
3. Matriz según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde la zeolita se encuentra en una concentración de 1% en peso sobre el peso de la mezcla de PDMS y TEOS.
- 15 4. Matriz según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el PDMS está en una concentración del 60% en peso y el TEOS en una concentración de un 40% en peso.
- 20 5. Matriz según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la matriz tiene un espesor de entre 1,5 y 2 mm.
6. Matriz tridimensional según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la matriz tiene un tamaño de entre 7 mm y 15 mm de diámetro.
- 25 7. Método de obtención de una matriz tridimensional porosa descrita según las reivindicaciones 1 a 6, que comprende las etapas de:
 - 30 a) mezclar TEOS y zeolita;
 - b) añadir PDMS a la mezcla del apartado a) en agitación hasta obtener una mezcla homogénea;
 - c) añadir un agente de curado del PDMS a la mezcla del apartado b) en agitación hasta obtener una mezcla homogénea;

- d) añadir azúcar tamizada de tamaño de partícula entre 300 y 400 μm a la mezcla c) y homogeneizar mediante agitación;
- e) verter la mezcla obtenida en el apartado d) en un molde y dejar gelificar, donde la gelificación se realiza preferiblemente mediante una etapa de calentamiento a 30-50 °C durante 10-24 horas, preferiblemente a 40 °C durante 12 horas,
- f) extraer del molde y secar el sólido resultante, donde el secado se realiza preferiblemente mediante una etapa de calentamiento a 70-90 °C durante 20-30 minutos, preferiblemente a 90 °C durante 30 minutos; y
- g) eliminar el azúcar del sólido resultante, preferiblemente sumergiendo el sólido en agua en agitación.
8. Método según la reivindicación 7, donde la zeolita tiene un tamaño de partícula menor de 20 μm .
9. Método según la reivindicación 7 o 8, donde la zeolita se añade en una concentración de hasta el 1% en peso sobre el total de la mezcla obtenida tras realizar la etapa a).
10. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, donde el PDMS se añade en una concentración de un 60% en peso sobre el total de la mezcla obtenida tras la etapa b).
11. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, donde el PDMS se prepara a partir de dos componentes, una base seleccionada de entre elastómeros de silicona y un agente de curado seleccionado de entre agentes de curado aptos para curar dicho/s elastómero/s de silicona.
12. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 11, donde el azúcar añadido en la etapa c) tiene un tamaño de partícula entre 300 y 400 μm .
13. Método según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, donde el azúcar añadido en la etapa c) tiene una relación 7:3 en peso respecto al resto de componentes de la mezcla que forman parte de la matriz tridimensional resultante tras la etapa g).
14. Sensor para detectar y/o determinar analitos que comprende la matriz

tridimensional porosa descrita según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 y al menos un reactivo sensor capaz de detectar y/o determinar un analito embebido en la matriz tridimensional.

- 5 15. Sensor según la reivindicación 14, donde el reactivo sensor se selecciona de entre 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS), salicilato (SL), nitroprusiato (NP), sulfanilamida (SA), N-(1-naftil)etilendiamina diclorohidratada (NEDD), ureasa, Fast Blue B (FBB), 4-amino antipirina (4-AAP), y cualquiera de sus combinaciones.
- 10 16. Método para la obtención de un sensor descrito según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 15; que comprende obtener una matriz según las etapas (a) a (g) del método descrito según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 13 y las siguientes etapas:
h) someter a inmersión la matriz tridimensional porosa obtenida en la etapa g) en una
15 disolución de al menos un reactivo sensor;
i) eliminar el exceso de disolución absorbido de la matriz tras su inmersión en el apartado (h) mediante un material absorbente, preferiblemente mediante papel, tela de algodón y/o gasas de algodón, más preferiblemente papel, obteniendo así el sensor con el reactivo incorporado.
20 17. Método según la reivindicación 16, donde la disolución de la etapa (h) comprende al menos un reactivo seleccionado de entre 1,2-naftoquinona-4-sulfonato (NQS), salicilato (SL), nitroprusiato (NP), sulfanilamida (SA), N-(1-naftil)etilendiamina diclorohidratada (NEDD), ureasa, Fast Blue B (FBB), 4-amino antipirina (4-AAP), y
25 cualquiera de sus combinaciones.
18. Uso de la matriz tridimensional porosa según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para la fabricación de un sensor para detectar y/o determinar analitos.
- 30 19. Uso del sensor descrito según las reivindicaciones 14 o 15 para la detección y/o determinación de analitos.
20. Uso del sensor según la reivindicación 19, donde el analito se selecciona de entre amonio, amoníaco, fenoles, urea, cannabidiol (CBD), ácido 3,5-

dihidroxihidrocinámico (DHCA), nitritos, nitratos, o sus combinaciones.

21. Uso del sensor según cualquiera de las reivindicaciones 19 o 20, donde el analito se encuentra en medios gaseosos, medios sólidos o medios acuosos, preferiblemente
5 matrices biológicas, aire y alimentos.

22. Un método de estimación de analitos en medio gaseoso, acuoso o sólido caracterizado por que comprende

- 10 I. poner en contacto el sensor descrito según las reivindicaciones 14 o 15 con el medio que comprende el analito a detectar y/o determinar;
- II. esperar un tiempo entre 5 y 80 minutos; y
- III. observar un cambio de color reactivo sensor embebido y/o de la disolución.

23. Método según la reivindicación 23, donde la observación del cambio de coloración
15 de la etapa III se lleva a cabo mediante medidas de absorbancia en UV-Vis, reflectancia difusa, o mediante una app o un software.

24. Un programa de ordenador adaptado para poner en práctica el método de cualquiera de las reivindicaciones 22 o 23.

20

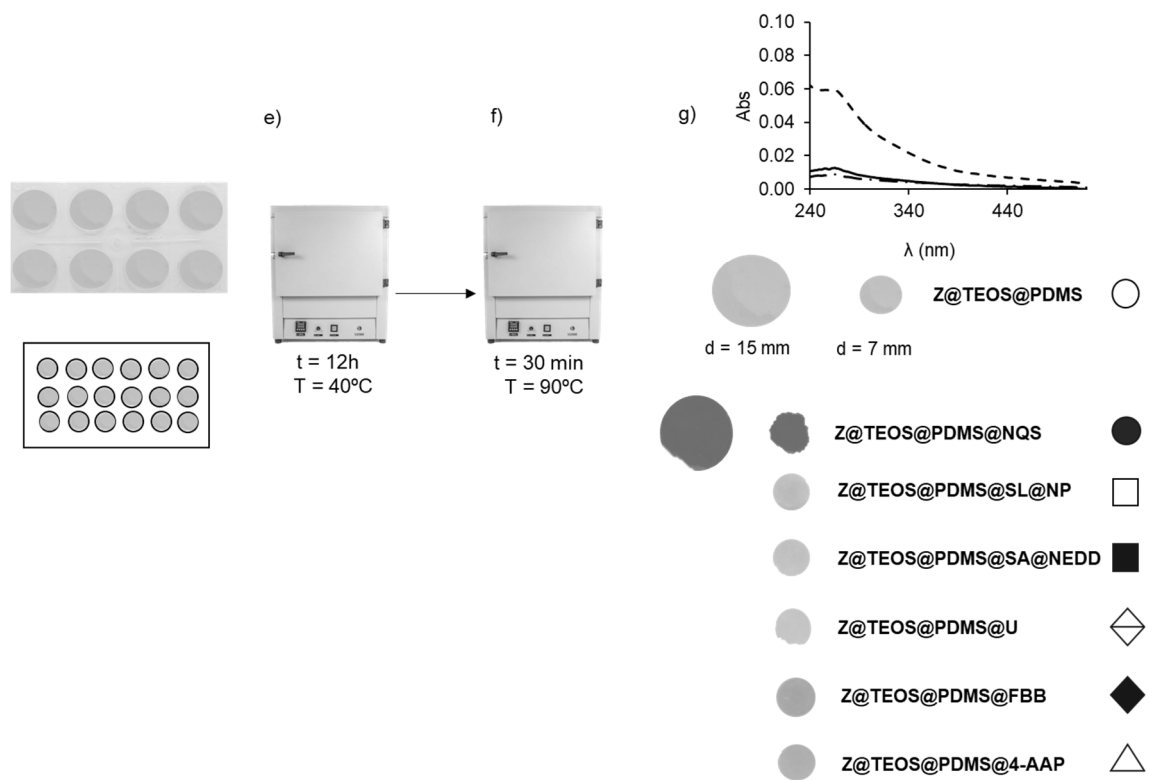


FIG 1

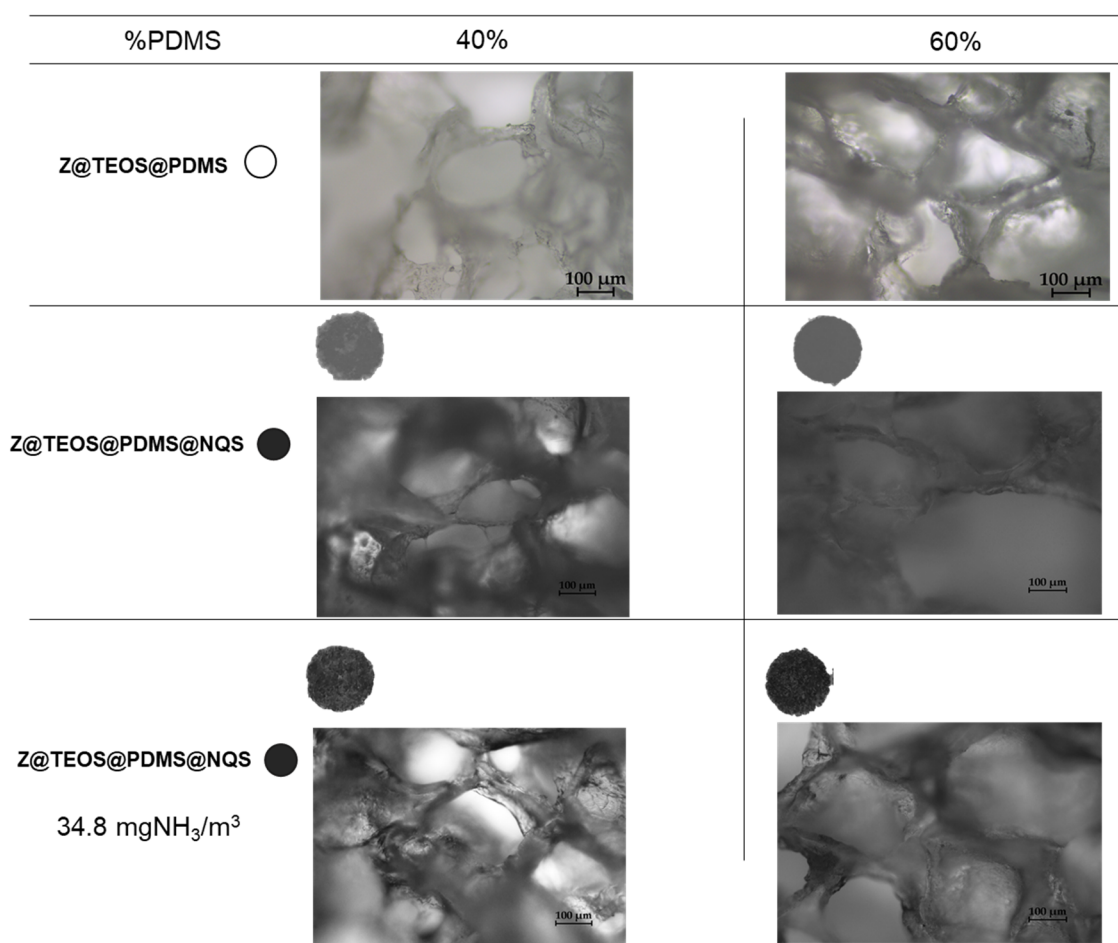


FIG 2

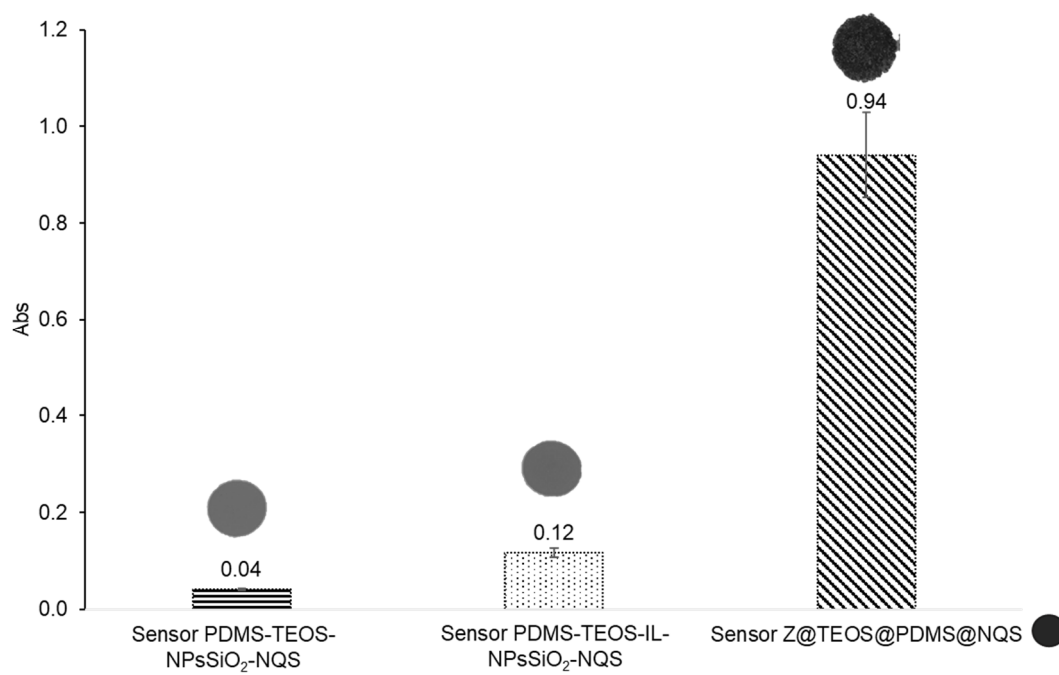


FIG 3

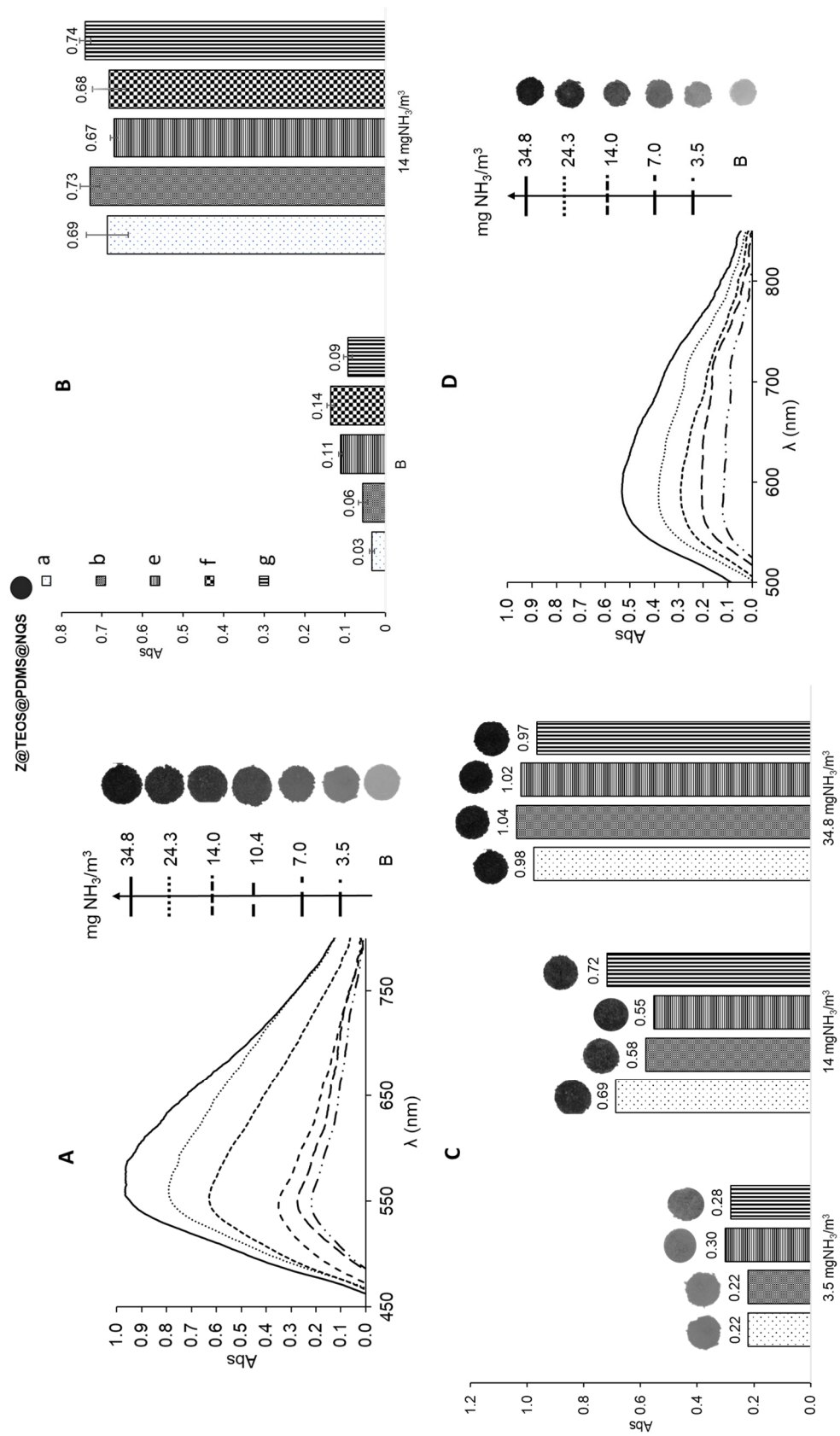


FIG 4

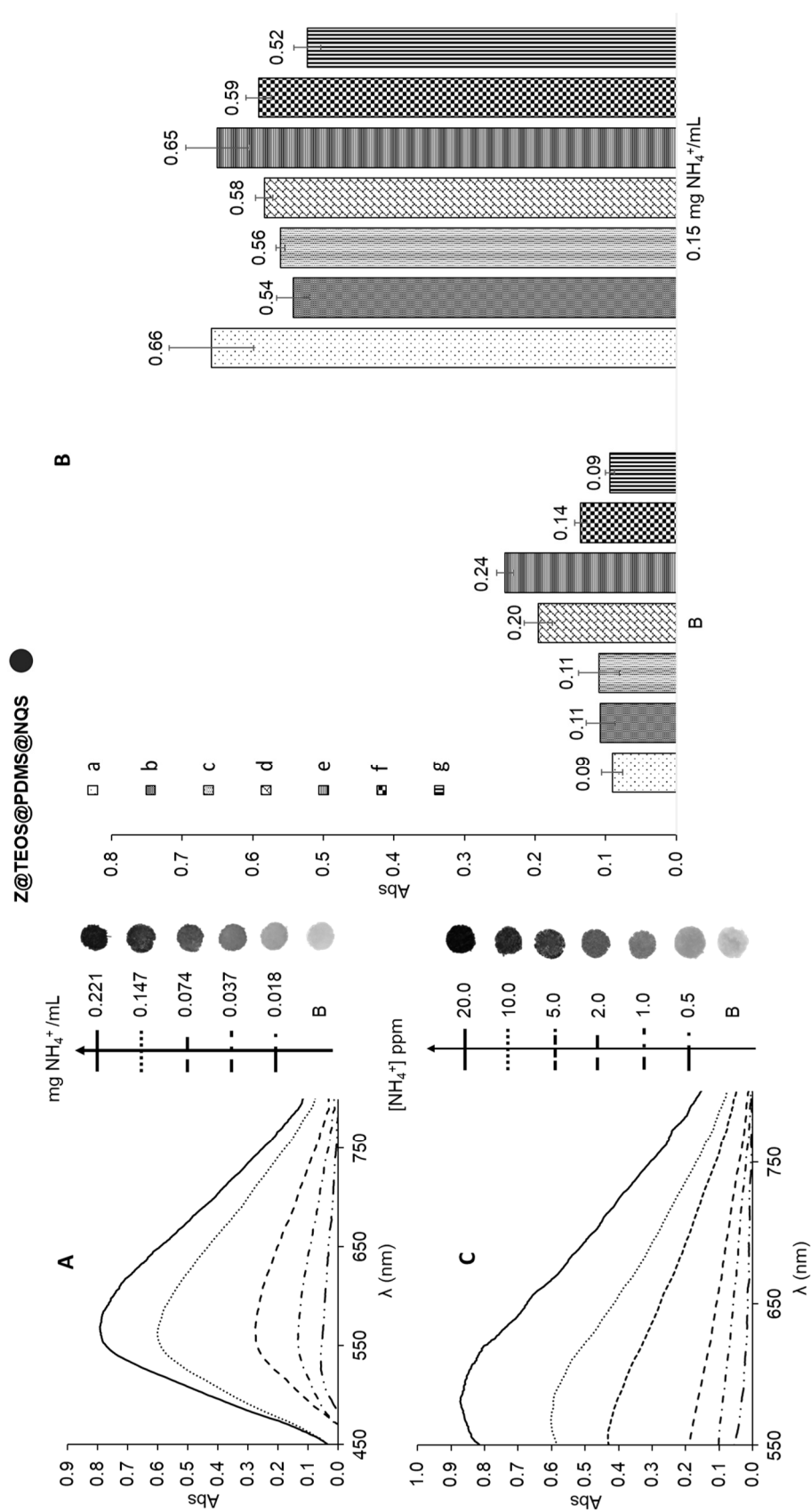
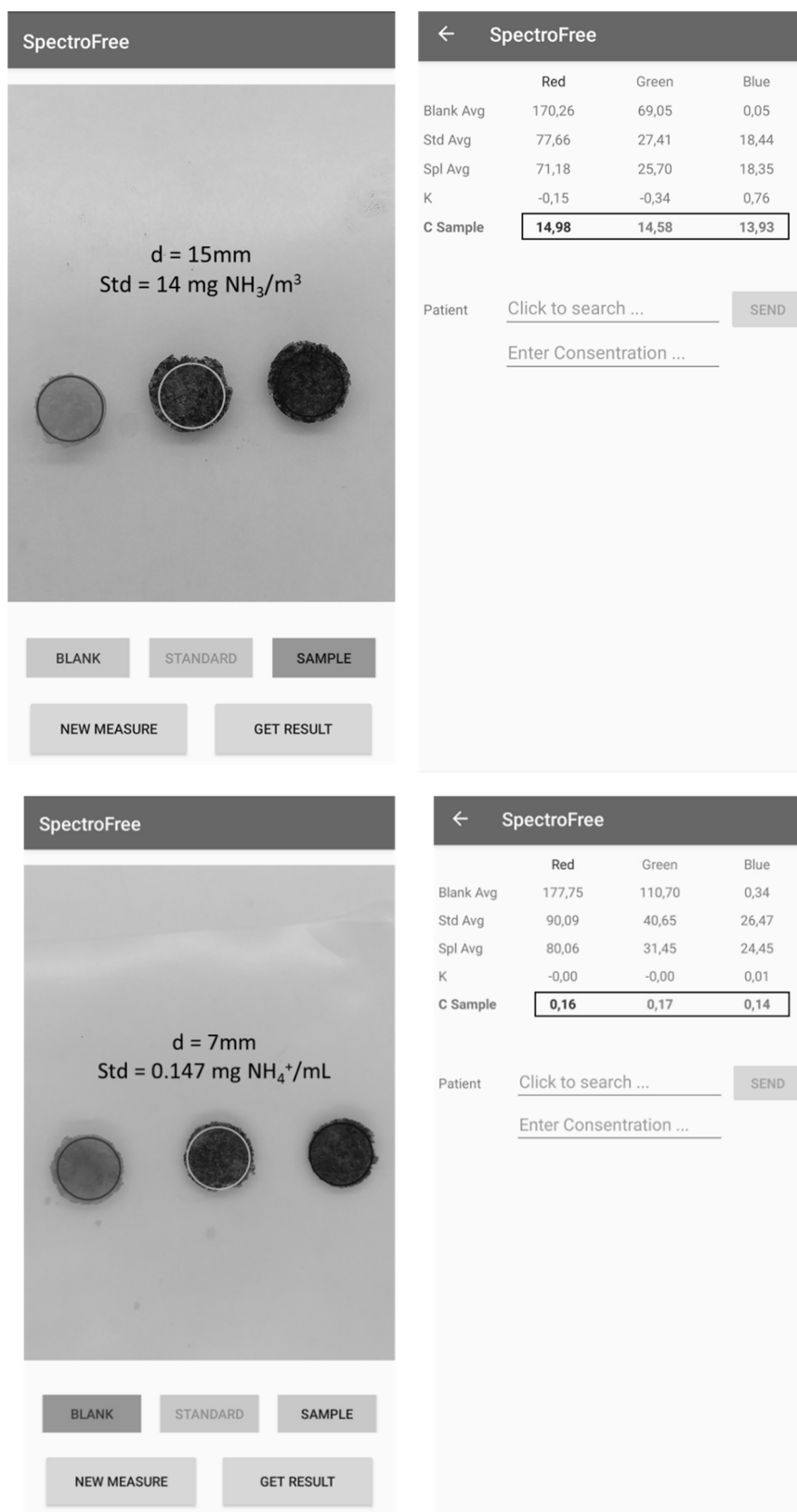


FIG 5

Z@TEOS@PDMS@NQS

**FIG 6**

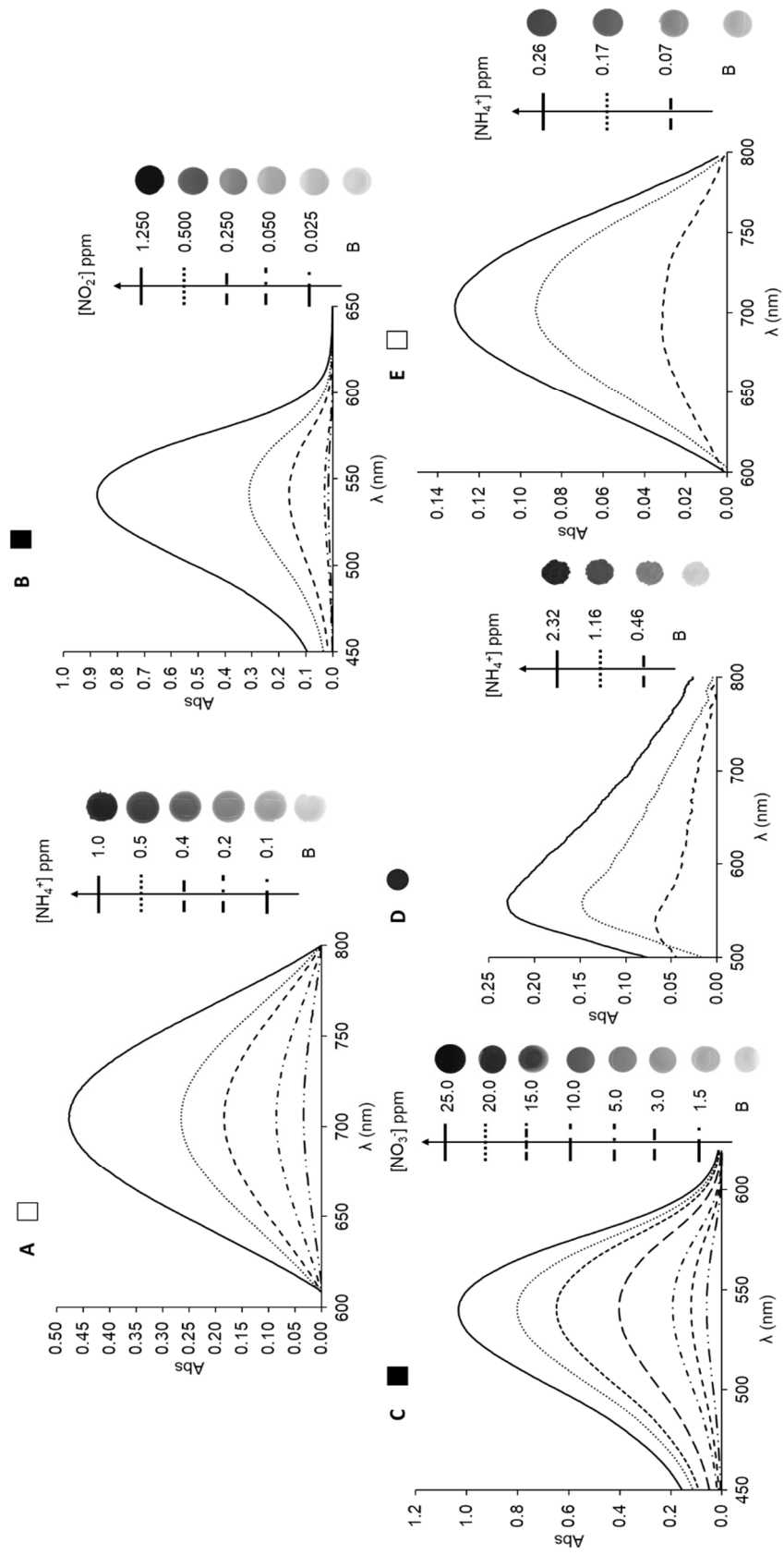


FIG 7

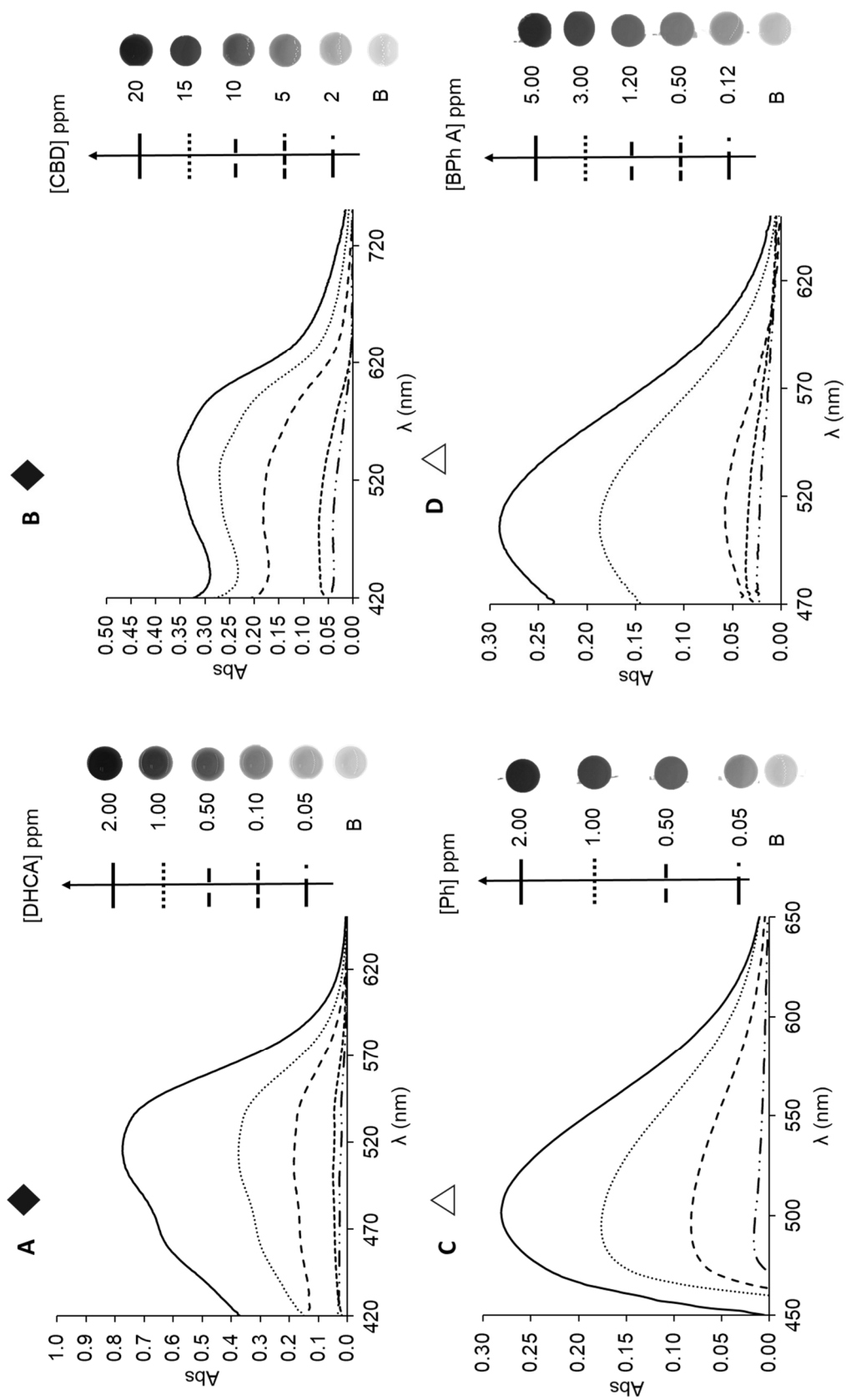


FIG 8

Z@TEOS@PDMS@4-AAP $\triangle$
d = 7mm

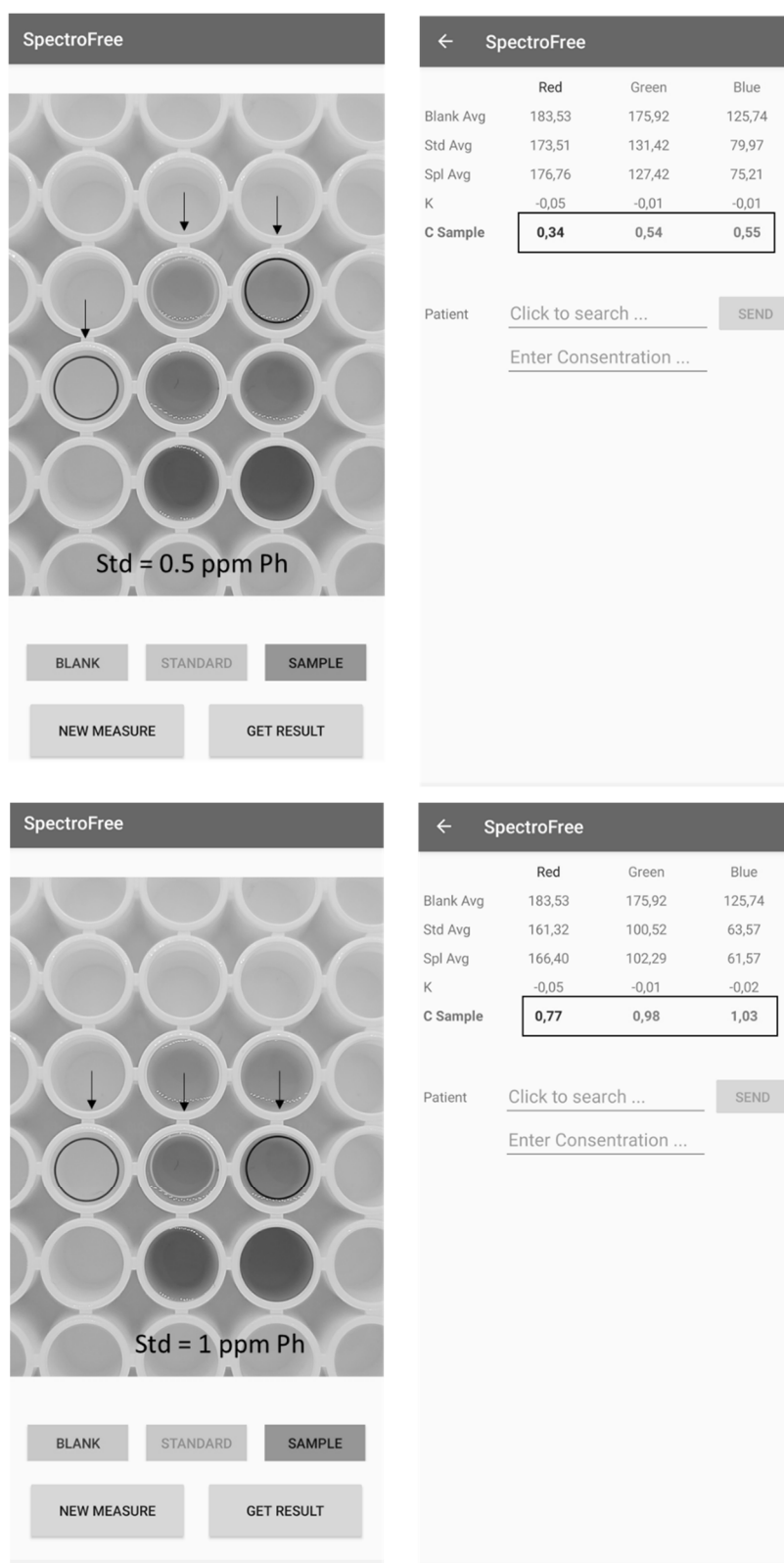


Fig 9



- ②① N.º solicitud: 202331000
②② Fecha de presentación de la solicitud: 30.11.2023
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	BALLESTER-CAUDET A et al. Ionic-liquid doped polymeric composite as passive colorimetric sensor for meat freshness as a use case. <i>TALANTA</i> , 20201015 <i>ELSEVIER</i> , AMSTERDAM, NL. Dasgupta Purnendu, 15/10/2020, Vol. 223, ISSN 0039-9140, <DOI: doi: 10.1016/j.talanta.2020.121778>, página 2; página 3, Tabla 1; página 7, columna 1; Fig. 1, 4	1-24
A	MARTINEZ-AVINO A et al. Nqs-doped pdms solid sensor: From water matrix to urine enzymatic application. <i>Biosensors</i> 20210601 MDPI che. , 01/06/2021, Vol. 11, Nº 6, ISSN 2079-6374 (electronic), <DOI: doi:10.3390/bios11060186 pubmed:34201174>, páginas 2-3; página 7; Fig. 1	1-24
A	HAKOBYAN L et al. Fast blue B functionalized silica-polymer composite to evaluate 3,5-dihydroxyhydrocinnamic acid as biomarker of gluten intake. <i>Sensors and Actuators B: Chemical</i> , 20210621 Elsevier BV, NL. McDonagh Colette; MacCraith Brian, 21/06/2021, Vol. 345, ISSN 0925-4005, <DOI: doi:10.1016/j.snb.2021.130333>, páginas 2-3; página 7; Fig. 1	1-24
A	PULLANO SALVATORE ANDREA et al. Optically Unobtrusive Zeolite-Based Dry Electrodes for Wearable ECG Monitoring. <i>IEEE Sensors Journal</i> , 20220421 IEEE, USA., 21/04/2022, Vol. 22, Nº 11, Páginas 10630 - 10639, ISSN 1530-437X, <DOI: doi:10.1109/JSEN.2022.3169504>, página 3, columna 1; página 8, columna 2; página 9, columna 1; Fig. 2	1-24
A	ES 2619356 A1 (UNIV DE VALENCIA) 26/06/2017, página 3, líneas 32-54; página 3, líneas 1-35	1-24
A	HAKOBYAN LUSINE et al. Improving Sustainability of the Griess Reaction by Reagent Stabilization on PDMS Membranes and ZnNPs as Reductor of Nitrates: Application to Different Water Samples. <i>Polymers Switzerland</i> 24 Jan 2022. , 24/01/2022, Vol. 14, Nº 3, ISSN 2073-4360 (Electronic), <DOI: doi:10.3390/polym14030464 pubmed:35160454>, páginas 3-4; página 14	1-24

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
23.10.2024

Examinador
L. Sanz Perdiguero

Página
1/3



- 21 N.º solicitud: 202331000
- 22 Fecha de presentación de la solicitud: 30.11.2023
- 32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	MONFORTE-GOMEZ B et al. Passive Solid Chemosensor as Saliva Point of Need Analysis for Ammonium Determination by Using a Smartphone. <i>Chemosensors</i> 20230701 Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI) che. , 01/07/2023, Vol. 11, Nº 7, ISSN 2227-9040 (electronic), <DOI: doi:10.3390/chemosensors11070387>, páginas 2-4; páginas 11-12; Fig. 1	1-24
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 23.10.2024	Examinador L. Sanz Perdiguero	Página 2/3

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

B01J20/28 (2006.01)

C08L83/06 (2006.01)

G01N21/78 (2006.01)

G01N31/22 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

B01J, C08L, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, XPESP, HCAPLUS, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, INSPEC, MEDLINE, Internet