

IMPLEMENTACIÓN DE LÍQUIDO IÓNICO EN DISPOSITIVOS ANALÍTICOS MICROFLUÍDICOS BASADOS EN PAPEL CON OPTODOS SELECTIVOS DE IONES.

I. Lorente¹, N. Salán

Escuela Superior de Ingenierías Industrial, Aeroespacial y Audiovisual de Terrassa (ESEIAAT),
Universidad Politécnica de Cataluña (UPC)
08222 Terrassa, Barcelona.

itzel.lorente@estudiant.upc.edu

Resumen: En el siguiente texto se presenta el desarrollo de la implementación de Optodos Selectivos de Iones plastificados (de sus siglas en inglés, ISOs) combinados con Líquido Iónico (IL) en Dispositivos Analíticos Microfluídicos basados en papel (μ PADs), para llevar a cabo la determinación selectiva colorimétrica de los aniones cloruro (Cl^-) en medios como el agua mineral.

El uso de μ PADs aportará muchas ventajas respecto a los métodos actuales de detección de Cl^- , como por ejemplo: mayor rapidez de ejecución, más respeto con medio ambiente y menor coste de fabricación. Además, la utilización de Líquidos Iónicos aumenta la capacidad de los ISOs para detectar dichos aniones, lo que se traduce en la obtención de señales colorimétricas más vívidas sobre los sustratos de papel.

Palabras clave: detección Cl^- , ISO, líquido iónico, μ PADs, señales colorimétricas

1. INTRODUCCIÓN.

Los aniones de cloro se encuentran distribuidos en la naturaleza en forma de sales de sodio, potasio o calcio, pero también juegan un papel muy importante en otros medios, como por ejemplo en el agua mineral. Por este motivo, es importante determinar la calidad y cantidad de dichos iones, ya que pueden reaccionar con elementos metálicos y formar sales solubles, que incrementan los niveles de metales perjudiciales para la salud humana en el agua y causar corrosión en los tubos metálicos.

Adicionalmente, cabe destacar algunos de los métodos recientes para evaluar la cantidad del anión cloruro en el agua mineral, como son la cromatografía, la electroquímica, la espectrometría y la colorimetría. Concretamente, la técnica actual aplicada por la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC) es la espectrometría con sal de mercurio [1], procedimiento que no puede ser empleado de forma rutinaria porque ofrece desventajas, como la utilización de agentes tóxicos o el manejo de instrumentos caros. Así pues, tras la marcada necesidad de desarrollar nuevos métodos de evaluación, este trabajo propone una detección puntera mediante la implementación de ISOs plastificados con PVC combinados con Líquido Iónico (IL) en μ PADs. Esta herramienta analítica, basada en papel, ofrece múltiples ventajas y ha ganado mucha popularidad en los últimos años por ser respetuosa con la naturaleza, de bajo coste, fácil fabricación y de ligera portabilidad. También, su estructura porosa y la naturaleza hidrofílica de la celulosa permiten el transporte de muestras de forma pasiva, sin bombeo por

acción capilar, en contraste con los sistemas microfluídicos convencionales que requieren bombeo activo. Todos estos beneficios han expandido, en gran medida, los campos de aplicación de los μ PADs, incluyendo el diagnóstico médico, el análisis ambiental y el control de la calidad de los alimentos. Asimismo, la mayoría de las aplicaciones relacionadas con el uso de este dispositivo se han llevado a cabo mediante ensayos colorimétricos, porque permiten detectar todo tipo de iones gracias al cambio de color obtenido a partir de la reacción química entre el analito y el agente colorimétrico. Esta transformación se detecta muy fácilmente encima del papel, ya sea a simple vista, con una cámara digital o con teléfonos inteligentes [2,3].

Por otro lado, los Optodos Selectivos de Iones plastificados (ISOs) son utilizados para llevar a cabo la detección óptica de diversas especies de iones. Su metodología se basa en una reacción de equilibrio entre una membrana polimérica inmisible en agua y una fase acuosa [4]. Además, aunque normalmente la membrana polimérica orgánica cuenta con un receptor específico de iones dopado (ionósfera), en este trabajo se ha sintetizado líquido iónico en un optodo aniónico de cloruro de polivinilo (PVC), lo que ha permitido obtener una favorecedora diferencia respecto a las membranas convencionales: una concentración muy elevada de moléculas de colorante, aproximadamente 300 mmol/kg, mientras que normalmente su valor oscila entre 5-50 mmol/kg, por lo que se ha podido preparar una membrana muy delgada, con suficiente sensibilidad y una excelente reversibilidad de la respuesta [3,5,6].

Finalmente, hay que mencionar que la detección de los iones objetivo (Cl^-) se lleva a cabo mediante una extracción del ion en la fase orgánica acompañada de una protonación, que genera una señal óptica en la membrana ISO, permitiendo detectar los aniones objetivo. Asimismo, los ISOs dopados con IL utilizados son nanopartículas; tamaño que proporciona un tiempo de respuesta extremadamente rápido para los iones Cl^- en comparación a los ISOs basados en películas, que son robustos, voluminosos y con un tiempo de respuesta bastante largo para el ensayo basado en μPAD [7].

2. MÉTODO EXPERIMENTAL.

Preparación y caracterización de membranas de PVC plastificadas a base de líquido iónico teñido.

En primer lugar, mediante un intercambio de iones se sintetizó el líquido iónico con el colorante ($[\text{P}_{66614}]_2[\text{NP}]$). Seguidamente, el cocktail sintético se mezcló con PVC y un surfactante (Pluronic F-127) y fue disuelta en THF. Posteriormente la mezcla fue agitada en un vórtice de agua [8]. Todo este procedimiento se muestra en la primera figura.

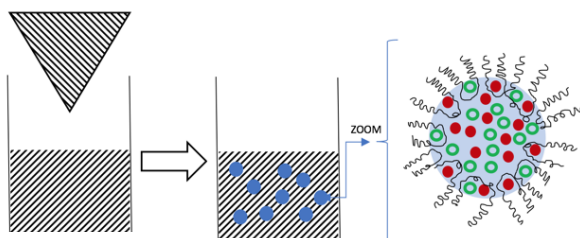


Figura 1: Proceso para sintetizar las membranas de PVC plastificadas a base de líquido iónico teñido.

La relevancia de utilizar surfactante recae en su composición hidrofóbica y hidrofílica, que permite formar nanopartículas. Concretamente, la primera interactúa con otros componentes hidrofóbicos para ayudar a construir el núcleo de la nanoesfera de los ISOs, mientras que la zona hidrofílica evita que las partículas de ISO colisionen y se fusionen entre sí. La estructura formada se muestra de forma esquemática en la segunda figura.

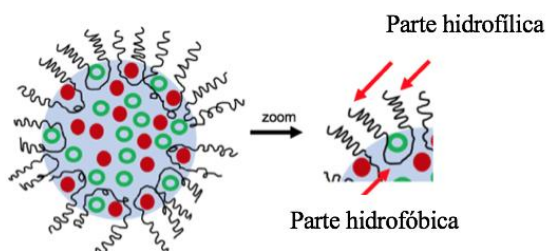
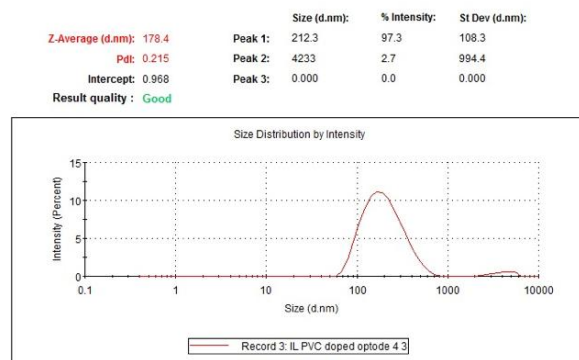


Figura 2. Estructura esquemática del surfactante.

Por último, para corroborar que el uso de surfactante Pluronic F-127 fue efectivo y se habían formada nanopartículas ISOs, se analizó el tamaño y el índice de polidispersión (PDI) de las mismas mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS, de sus siglas en inglés: Dynamic Light Scattering). Los resultados obtenidos, mostrados tercera figura, indicaban un diámetro de partícula pequeño y un PDI bajo, por lo que las nanoesferas obtenidas podían ser utilizadas en impresoras de inyección de partículas, ya que su tamaño es inferior a una centésima parte del diámetro del



orificio de la boquilla de la impresora ($\sim 20 \mu\text{m}$) [7,9]. **Figura 3.** Resultados del diámetro y del índice de polidispersión (PDI) de las nanoesferas ISOs.

Preparación y caracterización de los μPADs

El papel utilizado para el desarrollo de los μPADs fue el papel de filtro Advantec 5C. Sobre él, mediante una impresora 3D, se inyectó una barrera de cera para crear una zona hidrofóbica y delimitar el área de reacción de los ISOs. Posteriormente se calentó el conjunto a 150°C , durante aproximadamente cinco minutos, con una placa caliente para que la cera fluyera hasta la parte opuesta del papel (figura cuatro) [4].

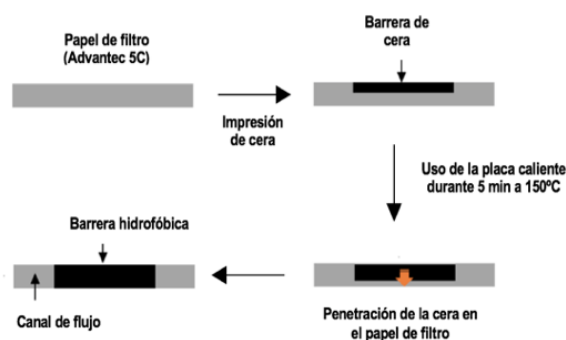


Figura 4. Representación esquemática de la metodología utilizada para inyectar completamente la cera en los μPADs

Ensayo Cl^- con μPADs .

En primer lugar, se añadieron encima de los μPAD $5 \mu\text{L}$ de solución tampón (MES/NaOH, $\text{pH}=6$) para evitar cambios de pH. Seguidamente, para obtener un color más intenso, se añadieron dos gotas, de $5 \mu\text{L}$ cada una, del cocktail iónico (membranas de PVC basadas

[P₆₆₆₁₄]₂[NP]), con un intervalo de quince minutos entre ellas. Después, se aplicaron diferentes concentraciones de 5 µL de la solución NaCl y al cabo de poco se obtuvieron las condiciones de equilibrio, que se apreciaron mediante las señales ópticas de cambio de color: de azul a naranja. Este hecho confirmaba la detección de Cl⁻ en los µPADs por primera vez, mediante la implementación de Optodos Selectivos de Iones plastificados combinados con líquido iónico. Adicionalmente, tal y como se muestra en la figura 5, la intensidad de color va ligada a la concentración de la muestra: a más concentración, más cambio de color.

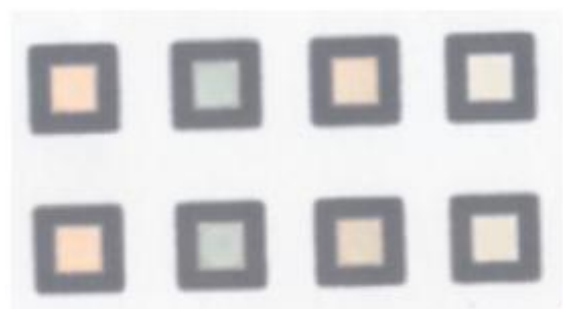


Figura 5. Señal óptica obtenida tras la detección del anión cloruro.

De forma posterior, los sustratos de papel fueron escaneados mediante el uso del software ImageJ y se obtuvieron los valores numéricos de intensidad de color de la región ISO en la escala de color RGB (del inglés Red, Green, Blue – Rojo, Verde, Azul) para cuantificar la respuesta colorimétrica. Después, a partir de la ecuación (1), los valores de intensidad de color RGB adquiridos se convirtieron a coordenadas de color HSV (del inglés Hue, Saturation, Value – Matiz, Saturación, Valor). Concretamente, fue el valor de matiz el utilizado como parámetro de señal colorimétrica principal, ya que representa como un grado de ángulo (de 0° a 360°) los diferentes valores. [4 - 10].

$$R = \text{MAX}; H = 60 \times \left(\frac{G - B}{\text{MAX}(R, G, B) - \text{MIN}(R, G, B)} \right)$$

$$G = \text{MAX}; H = 60 \times \left(\frac{R - B}{\text{MAX}(R, G, B) - \text{MIN}(R, G, B)} \right) + 120$$

$$B = \text{MAX}; H = 60 \times \left(\frac{R - G}{\text{MAX}(R, G, B) - \text{MIN}(R, G, B)} \right) + 120$$

Ecuación 1. Transformación RGB a HSV. (1)

3. RESULTADOS.

Para poder evaluar la efectividad y fiabilidad del optodo desarrollado, se analizó su sensibilidad y selectividad, dos factores cruciales para determinar la extrapolación del optodo a campos reales.

Sensibilidad

Para analizar la sensibilidad, se aplicaron sobre la zona de análisis de los µPAD once muestras de NaCl de diferentes concentraciones, con el fin de obtener la curva de calibración representada en la figura seis.

Como resultado, se confirmaba nuevamente la detección satisfactoria del anión cloruro, no obstante su extrapolación a campos reales no era posible, ya que la reproducibilidad era insuficientemente debido a que la curva no moldeaba una figura sigmoidea en forma de "S", sino que era abrupta: la intensidad del color debía ser gradual y aumentar con la concentración, pero no sucedía así. Además, el error representado por las desviaciones estándar en algunas concentraciones era excesivamente grande para ser aceptado, como por ejemplo en las de 1M o 0.05M que eran muy superiores a la media. [11]

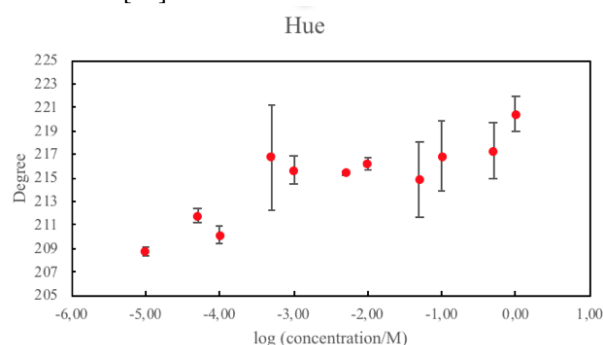


Figura 6. Curva de calibración de la sensibilidad. Las barras de erros representan las desviaciones estándar.

Selectividad

El análisis de la selectividad del optodo se llevó a cabo mediante un mecanismo de coextracción: las concentraciones de diferentes muestras de aniones (Cl⁻, SO₄²⁻, Br⁻, SCN⁻) se variaron bajo un pH constante para obtener los cambios de espectros de absorción, a partir de los cuales se desarrolló la curva de calibración que se muestra en la figura siete. En ella, la respuesta se analiza en función de log C, siguiendo la teoría establecida del optodo.

También, tal y como se ha mencionado, la presente membrana de PVC respondió a los aniones a través del mecanismo de coextracción y la secuencia de selectividad siguió mínimamente la serie de Hofmeister (clasificación de los iones en función de su capacidad para eliminar la sal o las proteínas). A tal efecto, los aniones relativamente lipófilos, como por ejemplo los de sulfocianuro (SCN⁻), fueron más receptivos, por lo que se obtuvo una respuesta razonable para una membrana sin ionosfera.

No obstante, el grado de deprotonación (α) obtenido mediante el valor del matiz en cada caso, se mantiene en un valor similar para todos los iones analizados, este hecho es porque durante el equilibrio del sistema ocurrió la evaporación de la muestra debido al efecto de la temperatura y la humedad exterior. Como resultado, hubo un aumento de la concentración de anión, de modo que la cantidad de aniones (básicamente, de Br⁻ y SCN⁻)

fue más alta de la esperada y no siguieron claramente las series de Hofmeister ($\text{SO}_4^{-2} > \text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{SCN}^-$). Así pues, aunque se haya obtenido la respuesta teórica de los aniones, ésta no fue suficiente para aplicarlo en un campo real para detectar Cl^- [11 - 12].

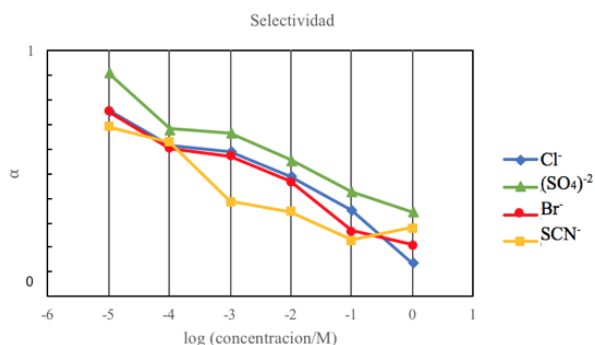


Figura 7. Curva de la Selectividad de las diferentes muestras de aniones. Las barras de erros representan las desviaciones estándar.

4. CONCLUSIONES

La implementación sobre μPADs de una membrana plastificada ISO a base de PVC y líquido iónico para detectar, por primera vez, el anión cloruro se logró con éxito. No obstante, se concluyó que se han de aplicar mejoras en el dispositivo final para poder usarlo en un ámbito real, como el análisis del agua mineral.

Concretamente, la sensibilidad del ISO debería mejorarse en futuros experimentos mediante el uso de tecnologías de impresión (en inglés, inkjet printing technologies), ya que gracias a esta técnica es posible un microdiseño, bien definido y que permite inyectar con precisión el cocktail ISO en los μPADs , permitiendo así obtener una curva Sigmoidea apropiada y con perfecta reproducibilidad

Por otro lado, para mejorar la selectividad, se debería realizar la laminación completa del dispositivo, ya que evitaría la pérdida de componentes por culpa de la evaporación de la muestra acuosa y mantendría las cantidades [4-11].

5. REFERENCIAS

- [1] Yakoh, A.; Rattanarat, P.; Siangproh, W.; Chailapakul, O. Simple and Selective Paper-Based Colorimetric Sensor for Determination of Chloride Ion in Environmental Samples Using Label-Free Silver Nanoprisms. *Talanta* 2018, 178, 134–140.
- [2] Ota, R.; Yamada, K.; Suzuki, K.; Citterio, D. Quantitative Evaluation of Analyte Transport on Microfluidic Paper-Based Analytical Devices (MPADs). *The Analyst* 2018, 143 (3), 643–653.
- [3] Nilghaz, A.; Guan, L.; Tan, W.; Shen, W. Advances of Paper-Based Microfluidics for Diagnostics—The Original Motivation and

Current Status. *ACS Sens.* 2016, 1 (12), 1382–1393.

- [4] Shibata, H.; Henares, T. G.; Yamada, K.; Suzuki, K.; Citterio, D. Implementation of a Plasticized PVC-Based Cation-Selective Optode System into a Paper-Based Analytical Device for Colorimetric Sodium Detection. *The Analyst* 2018, 143 (3), 678–686.
- [5] Mistlberger, G.; Crespo, G. A.; Bakker, E. Ionophore-Based Optical Sensors. *Annual Review of Analytical Chemistry* 2014, 7 (1), 483–512.
- [6] Mikhelson, K. N.; Peshkova, M. A. Advances and Trends in Ionophore-Based Chemical Sensors. *Russian Chemical Reviews* 2015, 84 (6), 555–578.
- [7] Xie, X.; Mistlberger, G.; Bakker, E. Ultrasmall Fluorescent Ion-Exchanging Nanospheres Containing Selective Ionophores. *Analytical Chemistry* 2013, 85 (20), 9932–9938.
- [8] Mizuta, T.; Sueyoshi, K.; Endo, T.; Hisamoto, H. Ionic Liquid-Based Dye: A “Dyed Plasticizer” for Rapid and Highly Sensitive Anion Optodes Based on a Plasticized PVC Membrane. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2018, 258, 1125–1130.
- [9] Yamada, K.; Henares, T. G.; Suzuki, K.; Citterio, D. Paper-Based Inkjet-Printed Microfluidic Analytical Devices. *Angewandte Chemie International Edition* 2015, 54 (18), 5294–5310.
- [10] Cantrell, K.; Erenas, M. M.; de Orbe-Payá, I.; Capitán-Vallvey, L. F. Use of the Hue Parameter of the Hue, Saturation, Value Color Space As a Quantitative Analytical Parameter for Bitonal Optical Sensors. *Analytical Chemistry* 2010, 82 (2), 531–542.
- [11] Soda, Y.; Shibata, H.; Yamada, K.; Suzuki, K.; Citterio, D. Selective Detection of K^+ by Ion-Selective Optode Nanoparticles on Cellulosic Filter Paper Substrates. *ACS Applied Nano Materials* 2018, 1 (4), 1792–1800.
- [12] Shimizu, S.; McLaren, W. M.; Matubayasi, N. The Hofmeister Series and Protein-Salt Interactions. *The Journal of Chemical Physics* 2006, 124 (23), 234905.