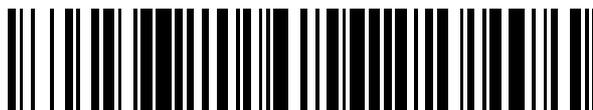


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 592 205**

51 Int. Cl.:

**G01N 31/22** (2006.01)

**G01N 21/78** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.09.2009 PCT/US2009/055748**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.03.2010 WO10028057**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.09.2009 E 09792179 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2016 EP 2331952**

54 Título: **Matrices de sensores colorimétricos basados en pigmentos nanoporosos**

30 Prioridad:

**04.09.2008 US 94301 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**28.11.2016**

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF ILLINOIS (100.0%)  
352 Henry Administration Building, 506 South Wright Street  
Urbana, IL 61801, US**

72 Inventor/es:

**LIM, SUNG, H.;  
MUSTO, CHRISTOPHER, J.;  
FENG, LIANG;  
KEMLING, JONATHAN, W. y  
SUSLICK, KENNETH, S.**

74 Agente/Representante:

**PONTI SALES, Adelaida**

**ES 2 592 205 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Matrices de sensores colorimétricos basados en pigmentos nanoporosos

**5 ANTECEDENTES**

5 [0001] Los sensores basados en matrices han surgido como una poderosa herramienta para la detección de  
diversos analitos químicamente. Estos sistemas imitan los sistemas gustativos y olfativos de mamíferos mediante la  
10 producción de especificidad, no de cualquier sensor único, sino como una respuesta compuesta única para cada  
analito. Dichas matrices de sensores de reacción cruzada tienen aplicación tanto en la tecnología de narices  
electrónicas para la detección de compuestos volátiles y gases [1-5], como en la tecnología de lenguas electrónicas  
para la detección de analitos acuosos [6-7].

15 [0002] Las matrices de sensores convencionales típicamente se han basado en una variedad de cambios en las  
propiedades de sensores individuales. Por ejemplo, la absorción del analito en polímeros conductores o materiales  
compuestos de polímero puede cambiar las propiedades eléctricas de los polímeros o materiales compuestos. En  
otro ejemplo, la adsorción del analito sobre superficies, tales como superficies de óxido de metal, puede  
proporcionar reacciones de combustión, reacciones de oxidación u otros procesos electroquímicos, que pueden  
20 detectarse eléctricamente. En otro ejemplo, se puede incluir un único fluoróforo en una matriz de diferentes  
polímeros adsorbentes, y se puede medir el cambio en la fluorescencia compuesta de la matriz.

25 [0003] Utilizando una estrategia diferente de estas matrices de sensores convencionales, las matrices de  
sensores colorimétricos se basan en la optoelectrónica. Un sensor colorimétrico es un sensor que incluye uno o más  
materiales que experimentan un cambio en las propiedades espectrales tras la exposición a un cambio apropiado en  
el entorno del sensor. El cambio en las propiedades espectrales puede incluir un cambio en la absorbancia,  
fluorescencia y/o fosforescencia de la radiación electromagnética, incluyendo radiación ultravioleta, visible y/o  
infrarroja.

30 [0004] Las matrices de sensores colorimétricos incluyen típicamente una matriz de colorantes quimiosensibles con  
reactividad cruzada, donde los colores de los colorantes quimiosensibles se ven afectados por una amplia gama de  
interacciones analito-colorante. Los sensores colorimétricos se han utilizado para la identificación y cuantificación de  
una amplia gama de analitos, tanto en fase de gas como en soluciones acuosas [8-17]. Las matrices se fabrican  
típicamente simplemente mediante la impresión de los colorantes quimiosensibles hidrófobos sobre una membrana  
35 hidrófoba

[0005] Los colorantes quimiosensibles utilizados en matrices de sensores colorimétricos típicamente se han limitado  
a colorantes moleculares solubles, que están presentes en una película porosa [18-23]. Los pigmentos no porosos  
insolubles no han proporcionado un contacto suficiente entre el analito y los cromóforos del pigmento, ya que los  
cromóforos en la superficie del pigmento son una pequeña fracción del número total de cromóforos. Del mismo  
40 modo, las películas no porosas no han proporcionado suficiente contacto entre un colorante en la película y el analito  
en la muestra.

45 [0006] Existen una serie de inconvenientes para el uso de colorantes moleculares solubles en películas porosas  
para matrices de sensores colorimétricos. Disolventes agresivos, tales como halocarburos o compuestos aromáticos,  
se utilizan normalmente para la impresión de los colorantes. Los colorantes pueden filtrarse en las soluciones de  
analito desde la película porosa. Los colorantes pueden ser inestables, lo que lleva a una vida útil limitada. La  
cristalización de los colorantes después de la impresión sobre la membrana puede hacer que los colorantes se  
vuelvan inactivos.

50 [0007] Una estrategia para hacer frente a estos inconvenientes ha sido inmovilizar los colorantes quimiosensibles en  
matrices sol-gel [24-29]. Estas matrices sol-gel, sin embargo, han tenido una mala adherencia a las superficies  
hidrófobas utilizadas para las matrices de sensores. Por lo tanto, los colorantes a base de sol-gel típicamente se han  
preparado como una película o un disco monolítico, y se han utilizado de forma individual, en lugar de como una  
matriz con otros colorantes quimiosensibles.

55 [0008] El documento WO 2004/077035 describe sensores ópticos de CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> combinados, que son menos  
sensibles al contenido de humedad del medio ambiente y que son sustancialmente insensibles a los niveles de  
oxígeno en condiciones normales de trabajo.

60 [0009] El documento US 2006/051826 describe un procedimiento y un dispositivo para la incorporación de un  
compuesto en los poros de un material poroso y usos de los mismos.

65 [0010] El documento US 6.562.424 describe sensores fotoquímicos y un procedimiento para la producción de los  
mismos.

[0011] El documento US 6.251.342 describe un elemento sensor de fibra óptica fluorescente fabricado usando técnicas de procesamiento de sol-gel.

5 [0012] El documento WO 2008/148987 describe un procedimiento para la detección de compuestos halogenados gaseosos.

10 [0013] Sería deseable proporcionar una matriz de sensores colorimétricos que tengan una estabilidad aumentada con respecto a las matrices colorimétricas convencionales, y que no experimenten filtraciones de los colorantes solubles durante el uso. Idealmente, dicha matriz de sensores incluiría una variedad de diferentes colorantes quimiosensibles, incluyendo colorantes y pigmentos. También sería deseable que dicha matriz se forme mediante un procedimiento que no incluya disolventes agresivos, y que sea compatible con una fabricación reproducible de alto rendimiento.

### DESCRIPCIÓN RESUMIDA

15 [0014] En un aspecto, la presente invención proporciona una matriz de sensores colorimétricos, que comprende: un sustrato; un primer punto sobre el sustrato, que comprende un primer pigmento nanoporoso; comprendiendo el primer pigmento nanoporoso un primer material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible inmovilizado; y  
20 un segundo punto sobre el sustrato, que comprende un segundo pigmento nanoporoso; comprendiendo el segundo pigmento nanoporoso un segundo material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible inmovilizado; en la que el primer pigmento nanoporoso difiere del segundo pigmento nanoporoso en que el primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes; y  
25 en la que el primero y segundo pigmentos nanoporosos son de reacción cruzada entre sí con respecto a al menos un analito, de manera que los cambios en las propiedades espectrales que se producen tras la exposición de la matriz de sensores a al menos un analito se pueden utilizar para fabricar un mapa de diferencias de color que sirve como una huella dactilar única para dicho al menos un analito a una concentración determinada, en la que el mapa de diferencias de color muestra las diferencias de color entre las imágenes de la matriz antes y después de la exposición a una muestra.

30 [0015] En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento de fabricación de una matriz de sensores colorimétricos de la presente invención, que comprende:  
(i) depositar un primer líquido en un primer lugar sobre un sustrato,  
(ii) depositar un segundo líquido en un segundo lugar sobre un sustrato,  
35 (iii) convertir el primer líquido en un primer punto sobre el sustrato, y  
(iv) convertir el segundo líquido en un segundo punto sobre el sustrato; en el que el primer punto comprende un primer pigmento nanoporoso que comprende un primer material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible inmovilizado; y  
40 el segundo punto comprende un segundo pigmento nanoporoso que comprende un segundo material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible inmovilizado; el primer pigmento nanoporoso difiere del segundo pigmento nanoporoso en que el primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes; y  
45 el primero y segundo pigmentos nanoporosos son de reacción cruzada entre sí con respecto a al menos un analito, de manera que los cambios en las propiedades espectrales que se producen tras la exposición de la matriz de sensores a al menos un analito se pueden utilizar para fabricar un mapa de diferencias de color que sirve como una huella dactilar única para dicho al menos un analito a una concentración determinada, en el que el mapa de diferencias de color muestra las diferencias de color entre las imágenes de la matriz antes y después de la exposición a una muestra.

50 [0016] En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para detectar un analito en una muestra, que comprende: obtener una primera imagen de la matriz de sensores colorimétricos de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en ausencia del analito, obtener una segunda imagen de la matriz de sensores colorimétricos en presencia de la muestra, y analizar una diferencia entre la primera imagen y la segunda imagen.

55 [0017] Las siguientes definiciones se incluyen para proporcionar una comprensión clara y consistente de la memoria descriptiva y reivindicaciones.

60 [0018] El término "colorante" significa cualquier material que absorbe la luz y/o que emite luz cuando se expone a una radiación electromagnética de frecuencia más alta. Una parte absorbente de luz de un colorante se refiere como un cromóforo, y una parte de emisión de luz de un colorante se refiere como un fluoróforo.

[0019] El término "colorante quimiosensible" significa un colorante que experimenta un cambio en las propiedades espectrales en respuesta a un cambio apropiado en su entorno químico.

65 [0020] El término "cambio en las propiedades espectrales" de un colorante significa un cambio en la frecuencia y/o intensidad de la luz que el colorante absorbe y/o emite.

[0021] El término "colorante" significa un colorante soluble.

[0022] El término "pigmento" significa un colorante insoluble.

[0023] El término "nanopartícula" se refiere a una partícula con una o más dimensiones de 100 nanómetros (nm) o menos.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0024] La presente invención se puede entender mejor con referencia a los siguientes dibujos y descripción. Los componentes de las figuras no están necesariamente a escala, haciendo énfasis en cambio en ilustrar los principios de la presente invención.

Figura 1 es un diagrama esquemático de ejemplos de dos procedimientos de fabricación de una matriz de sensores colorimétricos.

Figura 2 es un conjunto de imágenes de una impresora "dip-pin" ranurada (agujas ranuradas para inmersión) para depositar líquidos sobre un sustrato.

Las Figuras 3A-3C son imágenes de una matriz de sensores colorimétricos, que muestran la matriz antes de la exposición a una muestra (3A), después de la exposición a una muestra (3B), y un mapa de diferencias de estas dos imágenes (3C).

Figura 4 es un conjunto de mapas de diferencias de color de matrices de sensores colorimétricos después de la exposición a 16 sustancias químicas industriales tóxicas (TIC) diferentes a sus concentraciones IDLH (peligro inmediato para la vida o la salud).

Figura 5 es un conjunto de mapas de diferencias de color de matrices de sensores colorimétricos después de la exposición a 3 TIC distintas a sus concentraciones IDLH, sus concentraciones PEL (nivel de exposición permisible) y muy por debajo de sus concentraciones PEL.

Figura 6 es un gráfico de los resultados de un Análisis de Componentes Principales (PCA) de las pruebas por quintuplicado de una matriz de sensores colorimétricos contra 16 TIC diferentes a sus concentraciones IDLH.

Figura 7 ilustra un análisis de agrupamiento jerárquico de pruebas por quintuplicado de una matriz de sensores colorimétricos contra 14 TIC y una muestra de control.

Figura 8 es un gráfico del tiempo de respuesta de una matriz de sensores colorimétricos a seis azúcares o edulcorantes representativos diferentes a 25 mM, tal como se representa por el cambio en la distancia euclidiana con el tiempo.

Figura 9 es un conjunto de mapas de diferencias de color de matrices de sensores colorimétricos después de la exposición a 14 azúcares y edulcorantes a una concentración 25 mM, a sacarosa a una concentración de 150 mM, y a un control.

Figura 10 ilustra un análisis de agrupamiento jerárquico para las pruebas por quintuplicado de la matriz de sensores colorimétricos contra los 15 azúcares y edulcorantes de la Figura 9, y un control.

Figura 11 es un gráfico de la distancia euclidiana total del cambio en las propiedades espectrales de una matriz de sensores colorimétricos en función de la concentración de D-glucosa.

Figura 12 es un gráfico del cambio en la distancia euclidiana con el tiempo, durante un ciclo repetido de una matriz de sensores colorimétricos entre D-glucosa (gris) y un tampón.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0025] La presente invención se basa en el descubrimiento de que las matrices de sensores colorimétricos que incluyen pigmentos nanoporosos pueden tener una mayor estabilidad en relación con las matrices colorimétricas convencionales. Los sensores que incluyen una matriz de sensores colorimétricos que incluyen pigmentos nanoporosos también pueden tener una mejor sensibilidad y selectividad hacia los analitos que las matrices de sensores colorimétricos convencionales. Además, las matrices que incluyen pigmentos nanoporosos pueden proporcionar una serie de ventajas de procesamiento.

[0026] Una matriz de sensores colorimétricos incluye un sustrato, un primer punto sobre el sustrato, y un segundo punto sobre el sustrato. El primer punto incluye un primer pigmento nanoporoso que incluye un primer material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible inmovilizado. El segundo punto incluye un segundo pigmento nanoporoso que incluye un segundo material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible inmovilizado. El segundo pigmento nanoporoso es diferente del primer pigmento nanoporoso en que el primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes, tal como se expone en las reivindicaciones. El primer y segundo pigmentos nanoporosos son de reacción cruzada entre sí con respecto a al menos un analito, de manera que los cambios en las propiedades espectrales que se producen tras la exposición de la matriz de sensores a al menos un analito se pueden utilizar para fabricar un mapa de diferencias de color que sirve como una huella dactilar única para dicho al menos un analito a una concentración determinada, en el que el mapa de diferencias de color muestra las diferencias de color entre las imágenes de la matriz antes y después de la exposición a una muestra, tal como se expone en las reivindicaciones.

**[0027]** El sustrato puede ser cualquier material que puede retener un punto en su superficie. Ejemplos de sustratos incluyen membranas poliméricas, tales como acetato de celulosa o difluoruro de polivinilideno (PVDF). Ejemplos de sustratos incluyen superficies no porosas, tales como vidrio, metal, o una superficie de polímero no porosa, tal como poli (tetrafluoroetileno) (PTFE) o poli (tereftalato de etileno) (PET).

**[0028]** El primer pigmento nanoporoso incluye un primer material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible inmovilizado, y el segundo pigmento nanoporoso incluye un segundo material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible inmovilizado. El primer y segundo materiales nanoporosos pueden ser iguales o pueden ser diferentes. El primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes, tal como se expone en las reivindicaciones. En un ejemplo, el primer y segundo materiales nanoporosos son diferentes, y el primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados también son diferentes. El material nanoporoso puede ser cualquier material que incluye poros, reticulaciones o espacios vacíos con dimensiones de 0,2 a 1.000 nm. Preferiblemente, el material nanoporoso incluye poros con dimensiones de 0,5 a 100 nm. Preferiblemente, el material nanoporoso incluye poros que están interconectados, de manera que un fluido puede fluir entre los poros del material. Un material nanoporoso puede ser, por ejemplo, una red inorgánica, tal como una cerámica porosa o una zeolita. Un material nanoporoso puede ser, por ejemplo, una red orgánica, tal como un conjunto de tubos de carbono o un gel reticulado. Un material nanoporoso puede ser, por ejemplo, un material de membrana, tal como una membrana de microfiltración o una membrana de ultrafiltración. Un material nanoporoso puede ser una combinación de una red inorgánica, una red orgánica y/o una membrana, tal como un compuesto inorgánico/orgánico.

**[0029]** El colorante quimiosensible inmovilizado puede ser cualquier colorante quimiosensible que está inmovilizado como una parte de un pigmento nanoporoso. Un colorante está inmovilizado como una parte de un pigmento nanoporoso si menos del 1% del colorante se extrae del pigmento nanoporoso cuando está en contacto con un volumen de agua igual o mayor que el volumen del pigmento nanoporoso, durante un período de 1 hora a temperatura ambiente.

**[0030]** El colorante quimiosensible puede ser un colorante quimiosensible que se insolubiliza por el material nanoporoso. Ejemplos de colorantes quimiosensibles incluyen colorantes ácido-base de Lewis, porfirinas sensibles a la estructura, colorantes sensibles al pH, colorantes solvatocrómicos, colorantes vapocrómicos, colorantes sensibles al redox, y colorantes sensibles a iones metálicos. Los colorantes quimiosensibles pueden ser sensibles a una o más interacciones químicas incluyendo interacción ácido-base de Lewis, interacción ácido-base Brønsted, unión a ligando, complejos  $\pi$ - $\pi$ , enlaces de hidrógeno, polarización, oxidación/reducción y coordinación de metales.

**[0031]** El colorante quimiosensible puede ser insolubilizado por el material nanoporoso a través de un enlace químico, tal como un enlace covalente, un enlace iónico o un enlace de hidrógeno. El colorante quimiosensible puede ser insolubilizado por el material nanoporoso a través de la adsorción sobre una superficie del material nanoporoso. El colorante quimiosensible puede ser insolubilizado por el material nanoporoso a través del atrapamiento físico del colorante en el material nanoporoso. El colorante quimiosensible puede estar en una superficie exterior del material nanoporoso, o puede estar sobre una superficie interior, tal como dentro de los poros, reticulaciones o espacios vacíos del material.

**[0032]** El colorante quimiosensible puede ser, por ejemplo, un colorante ácido-base de Lewis, tal como un colorante de ácido de Lewis o un colorante de base de Lewis. Un colorante ácido-base de Lewis es un colorante que puede interactuar con una sustancia mediante el intercambio de aceptor-donante de un par de electrones con la sustancia, lo que da lugar a un cambio en las propiedades espectrales. El cambio en las propiedades espectrales para un colorante ácido-base de Lewis puede estar relacionado con la interacción ácido-base de Lewis y la unión a ligando, pero también a la formación de complejos  $\pi$ - $\pi$ , enlaces de hidrógeno, y/o cambios de polaridad. Los colorantes ácido-base de Lewis incluyen colorantes que contienen iones metálicos, tales como metaloporfirinas y otros colorantes de macrocilos o quelantes de unión a ion metálico; colorantes que contienen boro y ácido borónico; y colorantes con heteroátomos accesibles (por ejemplo, N, O, S, P) con pares de electrones solitarios capaces de coordinación de Lewis (por ejemplo, "colorantes complejométricos").

**[0033]** Ejemplos de colorantes ácido-base de Lewis incluyen colorantes que contienen iones metálicos, tales como porfirinas que contienen iones metálicos (es decir, metaloporfirinas), complejos salen, clorinas, porfirinas "bis-pocket", y ftalocianinas. La diversidad dentro de las metaloporfirinas se puede obtener mediante la variación de la porfirina parental, el centro metálico de la porfirina, o los sustituyentes periféricos de la porfirina. La porfirina parental también se refiere como una porfirina de base libre, que tiene dos átomos de nitrógeno centrales protonados (es decir, cationes de hidrógeno unidos a dos de los átomos de nitrógeno centrales). En un ejemplo, una porfirina parental es la llamada forma de base libre 5,10,15,20-tetrafenilporfirina ( $H_2TPP$ ), su dianión es 5,10,15,20-tetrafenil-porfirinato ( $-2$ ) (dianión TPP), sus complejos metalados y sus formas de ácido ( $H_3TPP^+$  y  $H_4TPP^{+2}$ ). Esta porfirina puede formar complejos metalados, por ejemplo, con  $Sn^{4+}$ ,  $Co^{3+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Mn^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ru^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ag^{2+}$ ,  $In^{3+}$  e  $Ir^{3+}$ . Se describen colorantes de metaloporfirina que contienen iones metálicos, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 6.368.558 B1 de Suslick et al. y en la Publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2003/0143112 A1 de Suslick et al.

5 **[0034]** Los desplazamientos espectrales visibles y las diferencias de intensidad de absorción para las metaloporfirinas pueden tener lugar después de la unión del centro metálico, lo que conduce fácilmente a cambios observables en las propiedades espectrales. La magnitud de este desplazamiento espectral normalmente se correlaciona con la polarizabilidad del ligando, permitiendo así la distinción entre los analitos en base a las propiedades electrónicas de los analitos. Utilizando los centros metálicos que abarcan una gama de dureza química y afinidad de unión a ligando, puede ser posible diferenciar entre una amplia gama de analitos volátiles, incluyendo moléculas que tienen grupos funcionales blandos, tales como tioles, y moléculas que tienen grupos funcionales duros, tales como aminas. Dado que las porfirinas pueden exhibir cambios de longitud de onda y de intensidad en sus bandas de absorción con una polaridad variante del disolvente, se puede utilizar una matriz que incluye porfirinas para distinguir colorimétricamente entre una serie de vapores de disolventes de unión débil, tales como arenos, halocarbonos y cetonas.

15 **[0035]** El colorante quimiosensible puede ser, por ejemplo, una porfirina sensible a la estructura. Las porfirinas sensibles a la estructura incluyen porfirinas modificadas que incluyen una superestructura unida a la periferia de la porfirina. Por ejemplo, las metaloporfirinas funcionalizadas con una superestructura en la periferia pueden limitar el acceso estérico al ion metálico, lo que permite la distinción selectiva en la forma de los analitos, tal como entre n-hexilamina y ciclohexilamina. El control de la unión de diversos ligandos nitrogenados a dendrímeros de metaloporfirinas puede proporcionar selectividades en un intervalo de más de  $10^4$ .

20 **[0036]** Entre los ejemplos de superestructuras que pueden unirse a una porfirina se incluyen dendrímeros, grupos siloxilo, grupos arilo, tales como grupos fenilo, grupos alquilo, tales como grupos t-butilo, grupos organometálicos, grupos inorgánicos, y otros sustituyentes voluminosos. Las porfirinas que llevan superestructuras pueden ser selectivas a una forma molecular, incluyendo la sensibilidad a factores estéricos, factores enantioméricos y factores regioisoméricos. Por ejemplo, las estructuras pueden proporcionar bolsillos estéricamente restringidos en una o ambas caras de la porfirina. Las porfirinas que llevan superestructuras también pueden ser sensibles a factores, tales como enlaces de hidrógeno y funcionalidades ácido-base. Los colorantes de metaloporfirinas que contienen un ion metálico que incluyen una superestructura unida a la periferia de la porfirina y procedimientos de fabricación de dichos colorantes, se describen, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 6.495.102 B1 de Suslick et al.

30 **[0037]** Un ejemplo de porfirinas modificadas que incluyen una superestructura unida a la periferia de las porfirinas es la familia de tetrakis(2,4,6-trimetoxifenil)porfirina (TTMPP). Variando el metal en esta porfirina, es posible distinguir entre sustancias, tales como entre t-butilamina y n-butilamina, y entre ciclohexilamina y n-hexilamina.

35 **[0038]** Otro ejemplo de una porfirina modificada que incluye una superestructura unida a la periferia de la porfirina es la familia de metaloporfirinas de sili éter. Por ejemplo, los andamios ("scaffolds") derivados de la reacción de 5,10,15,20-tetrakis(2',6'-dihidroxifenil)porfirina de zinc (II) con cloruro de t-butildimetilsililo proporcionan de porfirina de Zn (II) en la que las dos caras están protegidas con seis, siete u ocho grupos siloxilo. Esto puede resultar en un conjunto de tres porfirinas que tienen propiedades electrónicas similares, pero que tienen diferente impedimento alrededor del átomo de metal central presente en la porfirina. Las selectividades por la forma de estas porfirinas pueden ser de hasta  $10^7$  o mayor.

40 **[0039]** Otros ejemplos de porfirinas modificadas que incluyen una superestructura unida a la periferia de la porfirina incluyen porfirinas "bis-pocket" sustituidas con siloxilo, tales como 5-fenil-10,15,20-tris(2',6'-dihidroxifenil) porfirina de zinc (II); 5,10,15,20-tetrakis(2',6'-dihidroxifenil)porfirina de zinc (II); 5(fenil)-10,15,20-trikis(2',6'-disililoxifenil) porfirina de zinc (II); 5,10,15-trikis(2',6'-disililoxifenil)20-(2'-hidroxi-6'-sililoxifenil)porfirina de zinc (II). Las selectividades por la forma de estas porfirinas pueden ser de hasta  $10^7$  o mayor en comparación con las metaloporfirinas no impedidas. El ajuste fino de las propiedades de unión de estas porfirinas puede ser posible, tal como mediante el uso de "pockets" de demanda estérica variable.

50 **[0040]** Otros ejemplos de colorantes de metaloporfirinas que contienen iones metálicos que incluyen una superestructura unida a la periferia de la porfirina incluyen 2,3,7,8,12,13,17,18-octafluoro-5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil)-porfirinatocobalto (II); 2,3,7,8,12,13,17,18-octabromo-5,10,15,20-tetrafenil-porfirinatozinc (II); 5,10,15,20-tetrafenilporfirinatozinc (II); 5(fenil)-10,15,20-trikis(2',6'-bis(dimetil-t-butilsiloxil)fenil)porfirinatozinc (II); 5,10,15,20-tetrakis(2',6'-bis(dimetil-t-butilsiloxil)fenil)porfirinatozinc (II); 5,10,15,20-tetrafenilporfirinatocobalto (II); 55 5,10,15,20-tetrakis(2,6-difluorofenil)-porfirinatozinc (II); y 5,10,15,20-tetrakis(2,4,6-trimetilfenil)-porfirinatozinc (II).

60 **[0041]** Una matriz que incluye una porfirina sensible a la estructura puede utilizarse en bibliotecas combinatorias para la detección selectiva por la forma de sustratos. Dicha matriz también puede incluir una sensible a estructuras que tiene superestructuras quirales en la periferia de la porfirina, que puede proporcionar la identificación de sustratos quirales, tales como medicamentos, productos naturales y componentes de muestras biológicas de un paciente. Dicha matriz también se puede utilizar para el análisis de entidades biológicas en base a las proteínas de superficie, oligosacáridos, antígenos, etc., que interactúan con las metaloporfirinas. Los ejemplos de entidades biológicas incluyen especies individuales de bacterias y virus. Dicha matriz también se puede utilizar para el análisis de secuencias de ácido nucleico, incluyendo el reconocimiento específico de secuencias individuales de ácidos nucleicos. Los sustituyentes en las porfirinas que serían particularmente útiles a este respecto incluyen moléculas intercalantes de ADN conocidas y oligómeros de ácido nucleico.

**[0042]** El colorante quimiosensible puede ser, por ejemplo, un colorante sensible al pH. Los colorantes que son sensibles al pH incluyen un indicador de pH o colorantes indicadores ácido-base que pueden cambiar de color tras la exposición a ácidos o bases. Ejemplos de colorantes sensibles al pH incluyen colorantes ácidos de Brønsted. Un colorante ácido de Brønsted es un donador de protones que puede donar un protón a una base de Brønsted (es decir, un aceptor de protones), dando lugar a un cambio en las propiedades espectrales. Bajo ciertas condiciones de pH, un colorante ácido de Brønsted puede ser una base de Brønsted.

**[0043]** Los ejemplos de colorantes ácidos de Brønsted incluyen porfirinas protonadas, pero no metaladas; clorina; porfirinas "bispocket"; ftalocianinas; y colorantes polipirrólicos relacionados. Los ejemplos de colorantes ácidos de Brønsted de porfirinas no metaladas incluyen el dicatión de 5,10,15,20-tetrakis(2',6'-bis(dimetil-t-butilsiloxil)fenil)porfirina; el dicatión de 5,10,15,20-tetrafenil-21H,23H-porfirina; o el dicatión de 5,10,15,20-tetrafenilporfirina. Otros ejemplos de colorantes ácidos de Brønsted incluyen rojo de clorofenol, verde de bromocresol, púrpura de bromocresol, azul de bromotimol, rojo de bromopirrogalol, violeta de pirocatecol, rojo de fenol, azul de timol, rojo de cresol, alizarina, naranja mordiente, naranja de metilo, rojo de metilo, rojo Congo, azul victoria B, azul de eosina, marrón grasa B, Benzopurpurina 4B, Floxina B, Naranja G, amarillo de metanilo, verde de naftol B, azul de metileno, safranina O, violeta de metileno 3RAX, naranja sudán G, hidrato de morin, rojo neutro, naranja disperso # 25, ácido rosólico, marrón grasa RR, cloruro de cianidina, 3,6-acridinamina, 6'-butoxi-2,6-diamino-3,3-azodipiridina, base de para-rosanilina, base de naranja de acridina, violeta cristal, base carbinol de verde malaquita, rojo Nilo, azul Nilo, amarillo de nitracina, rojo de bromofenol, azul de bromofenol, azul de bromoxilenol, sal tetrasódica de naranja de xilenol, 1-[4-[[4-(dimetilamino)fenil]azo]fenil] 2,2,2 trifluoro-etanona, perclorato de 4-[2-[4-(dimetilamino)fenil]etenil]-2,6-dimetil-pirilio y 1-amino-4-(4-decilfenilazo)-naftaleno.

**[0044]** El colorante quimiosensible puede ser, por ejemplo, un colorante solvatocrómico o un colorante vapocrómico. Los colorantes solvatocrómicos pueden cambiar de color dependiendo de la polaridad local de su microentorno líquido. Los colorantes vapocrómicos pueden cambiar de color dependiendo de la polaridad local de su microentorno gaseoso. La mayoría de colorantes son solvatocrómicos y/o vapocrómicos en cierta medida; sin embargo, algunos son mucho más sensibles que otros, especialmente aquellos que pueden tener fuertes interacciones dipolo-dipolo. Los ejemplos de colorantes solvatocrómicos incluyen colorantes de Reichardt, Rojo Nilo, fluoresceína, y colorantes polipirrólicos.

**[0045]** Una matriz que incluye un colorante sensible al pH y/o un colorante solvatocrómico o vapocrómico puede ser útil en la diferenciación de analitos que no se unen a, o se unen sólo débilmente a, iones metálicos. Dichos analitos incluyen compuestos ácidos, tales como ácidos carboxílicos, y ciertos compuestos orgánicos que carecen de funcionalidad unible. Lo ejemplos de compuestos orgánicos que carecen de funcionalidad unible incluyen alcanos simples, arenos, y algunos alquenos y alquinos, en especial si están estéricamente impedidos. Los ejemplos de compuestos orgánicos que carecen de funcionalidad unible también incluyen moléculas que están suficientemente estéricamente impedidas para impedir la unión eficaz. Las matrices que incluyen un colorante sensible al pH y/o solvatocrómico o vapocrómico se describen, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente de Estados Unidos No. 2003/0143112 A1 de Suslick et al.

**[0046]** El colorante quimiosensible puede ser, por ejemplo, un colorante sensible a redox que experimenta un cambio en las propiedades espectrales dependiendo de su estado de oxidación. Ejemplos de colorantes que son sensibles a redox incluyen indicadores redox que se describen en H.A. Laitinen, Chemical Analysis (McGraw-Hill: Nueva York, 1960). Ejemplos de indicadores redox incluyen azul de metileno, azul-negro de naftol ponceau brillante,  $\alpha$ -naftoflavona, fucsina básica, amarillo de quinoleína, acetato de tionina, naranja de metilo, rojo neutro, difenilamina, ácido difenilaminosulfónico, 1,10-fenantrolina de hierro (II), sales de permanganato, sales de plata y sales de mercurio.

**[0047]** El colorante quimiosensible puede ser, por ejemplo, un colorante sensible a iones metálicos que experimenta un cambio en las propiedades espectrales en presencia de iones metálicos. Ejemplos de colorantes que son sensibles a iones metálicos incluyen indicadores de iones metálicos que se describen en Laitinen [30]. Ejemplos de colorantes indicadores de iones metálicos incluyen negro de eriocromo T, murexida, 1-(2-piridilazo)-2-naftol, y violeta de pirocatecol.

**[0048]** El colorante quimiosensible puede ser un pigmento quimiosensible. Preferiblemente, el pigmento quimiosensible es un pigmento poroso. Una partícula de pigmento poroso tiene un área superficial quimiosensible que es mucho mayor que el área superficial quimiosensible de una partícula de pigmento no poroso correspondiente. Ejemplos de pigmentos porosos incluyen carbonato de calcio poroso, carbonato de magnesio poroso, sílice porosa, alúmina porosa, óxido de titanio poroso y zeolitas.

**[0049]** El colorante quimiosensible puede ser una nanopartícula quimiosensible. Una nanopartícula quimiosensible puede ser una nanopartícula discreta, o puede formarse a partir de iones o moléculas que forman nanopartículas. Ejemplos de iones o moléculas que forman nanopartículas se describen en Murphy et al. [31]. La nanopartícula puede estar en una variedad de formas, incluyendo una nanoesfera, una nanovarilla, una nanofibra y un nanotubo.

Los ejemplos de nanopartículas quimiosensibles incluyen sólidos de porfirina nanoporosos, nanopartículas semiconductoras, tales como puntos cuánticos y nanopartículas metálicas. Ejemplos de sólidos de porfirina nanoporosos se describen en Suslick et al. [32].

5 **[0050]** Una matriz de sensores colorimétricos puede incluir además una pluralidad de puntos adicionales sobre el sustrato, donde cada punto adicional incluye independientemente un colorante quimiosensible. Al menos un punto de los puntos adicionales puede incluir un pigmento nanoporoso adicional que es diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos. Un pigmento nanoporoso adicional incluye un material nanoporoso y un colorante quimiosensible inmovilizado. El material nanoporoso y el colorante pueden ser como se ha descrito anteriormente para materiales nanoporosos y colorantes quimiosensibles. Preferiblemente, cada punto adicional incluye independientemente un pigmento nanoporoso adicional que es diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos. Más preferiblemente, cada punto adicional incluye, independientemente, un pigmento nanoporoso adicional, cada uno de los pigmentos nanoporosos adicionales es diferente, y cada uno de los pigmentos nanoporosos adicionales es diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos. Como se ha señalado anteriormente, dos pigmentos nanoporosos son diferentes si sus materiales nanoporosos componentes y/o sus colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes.

20 **[0051]** Una matriz de sensores colorimétricos que incluye además una pluralidad de puntos adicionales sobre el sustrato puede incluir al menos un punto que no incluye un pigmento nanoporoso. Por ejemplo, la matriz puede incluir al menos un punto que incluye un colorante quimiosensible que no está inmovilizado con un material nanoporoso. Las matrices colorimétricas en las que los puntos no incluyen pigmentos nanoporosos se describen, por ejemplo en las patentes de Estados Unidos Nos. 6.368.558 y 6.495.102 de Suslick et al., y en la publicación de las solicitudes de patente de Estados Unidos Nos. 2003/0143112, 2003/0129085 y 2003/0166298 de Suslick et al. [18-23]. Por lo tanto, una única matriz de sensores colorimétricos puede incluir puntos que incluyen pigmentos nanoporosos y también pueden incluir puntos que incluyen sólo colorantes quimiosensibles que no están inmovilizados con un material nanoporoso.

30 **[0052]** El uso de más de un tipo de colorante quimiosensible puede ampliar la gama de analitos a la que la matriz es sensible, puede mejorar la sensibilidad a algunos analitos, y/o puede aumentar la capacidad de discriminar entre analitos. En un ejemplo, una matriz de sensores colorimétricos incluye de 2 a 1.000 puntos. Preferiblemente, una matriz de sensores colorimétricos incluye de 4 a 500 puntos. Más preferiblemente, una matriz de sensores colorimétricos incluye de 8 a 250 puntos. Más preferiblemente, una matriz de sensores colorimétricos incluye de 10 a 100 puntos. Más preferiblemente, una matriz de sensores colorimétricos incluye de 16 a 49 puntos, incluyendo de 36 puntos. Cada punto en una matriz de sensores colorimétricos puede incluir un colorante diferente. Sin embargo, puede ser deseable incluir puntos duplicados que incluyen el mismo colorante. Los puntos duplicados pueden ser útiles, por ejemplo, para proporcionar redundancia a la matriz y/o para servir como indicador del control de calidad.

40 **[0053]** Un procedimiento para fabricar una matriz de sensores colorimétricos incluye depositar un primer líquido en un primer punto sobre un sustrato, depositar un segundo líquido en un segundo punto sobre un sustrato, convertir el primer líquido en un primer punto sobre el sustrato, y convertir el segundo líquido en un segundo punto sobre el sustrato. El primer punto incluye un primer pigmento nanoporoso que incluye un primer material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible inmovilizado. El segundo punto incluye un segundo pigmento nanoporoso que incluye un segundo material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible inmovilizado. El segundo pigmento nanoporoso es diferente del primer pigmento nanoporoso en que el primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes, tal como se expone en las reivindicaciones. El primer y segundo pigmentos nanoporosos son de reacción cruzada el uno con el otro con respecto a al menos un analito, de manera que los cambios en las propiedades espectrales que se producen tras la exposición de la matriz de sensores a al menos un analito se puede utilizar para producir un mapa de diferencias de color que sirve como una huella dactilar única para dicho al menos un analito a una concentración determinada, en el que el mapa de diferencias de color muestra las diferencias de color entre las imágenes de la matriz antes y después de la exposición a una muestra, tal como se expone en las reivindicaciones.

55 **[0054]** En un primer ejemplo, el primer líquido incluye un primer precursor de material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible. Un precursor de material nanoporoso es una sustancia que formará un material nanoporoso cuando se solidifica. En este ejemplo, la conversión del primer líquido en un primer punto incluye la solidificación del primer precursor de material nanoporoso para formar el primer material nanoporoso. El primer precursor de material nanoporoso puede ser, por ejemplo, un polímero, un prepolímero, precursores cerámicos o mezclas de éstos. El primer líquido puede incluir otros ingredientes, tales como un disolvente y/o un agente tensioactivo.

60 **[0055]** El primer precursor de material nanoporoso puede incluir materiales de partida para un cerámico que han sido al menos parcialmente hidrolizados. El primer líquido puede formarse por la combinación de ingredientes que incluyen materiales de partida para un cerámico, un disolvente y el primero colorante quimiosensible para formar una primera mezcla y, a continuación, la hidrólisis de la primera mezcla para formar un sol. La solidificación del primer precursor de material nanoporoso puede incluir la condensación del primer precursor de material nanoporoso para formar un gel y secar el gel para formar el primer material nanoporoso.

**[0056]** La solidificación puede incluir cualquier procedimiento que convierte el precursor de material nanoporoso en un material nanoporoso. Los ejemplos de procedimientos de solidificación incluyen la reticulación química, la exposición a radiación UV y calentamiento. En un ejemplo, la solidificación incluye calentar el líquido sobre el sustrato. Puede ser preferible el curado inicial a temperatura ambiente durante 24 a 72 horas a fin de mantener la porosidad del pigmento nanoporoso. Puede llevarse a cabo un calentamiento adicional, por ejemplo, en un horno de convección estándar. Si el sustrato es sensible a la temperatura, se prefiere el calentamiento del líquido durante 24 horas a temperaturas inferiores a 70°C. Cuando se prepara un punto que incluye un cerámico nanoporoso y un colorante sensible al pH como colorante quimiosensible, se prefiere la solidificación a 60°C o incluso a temperatura ambiente. Con sustratos térmicamente más robustos, la solidificación se puede completar mucho más rápidamente, por ejemplo, en 1 hora a 120°C.

**[0057]** El segundo líquido puede ser como se describe el primer líquido, y puede convertirse en el segundo punto de una manera similar. Por ejemplo, el segundo líquido puede incluir un segundo precursor de material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible, y convertir el segundo líquido en un segundo punto puede incluir la solidificación del segundo precursor de material nanoporoso para formar el segundo material nanoporoso. El segundo precursor de material nanoporoso puede ser como se ha descrito el primer precursor de material nanoporoso. Alternativamente, el segundo líquido puede incluir una suspensión coloidal que se convierte en un segundo punto mediante secado, tal como se describe a continuación.

**[0058]** La Figura 1 es un diagrama esquemático, el mecanismo superior de la cual es un ejemplo de este procedimiento. En este mecanismo, se forma un líquido inicial mediante la combinación de precursores de sílice, un colorante quimiosensible y un disolvente que incluye agua. El líquido se somete a hidrólisis para formar un sol coloidal y, a continuación, se deposita en un punto sobre un sustrato. Los precursores de sílice se solidifican mediante condensación para formar un gel de sílice, seguido de secado del gel para formar un aerogel de sílice. El punto formado es, de este modo, el aerogel nanoporoso que incluye el colorante quimiosensible inmovilizado.

**[0059]** En un segundo ejemplo, el primer líquido incluye una primera suspensión coloidal que incluye un primer disolvente y partículas del primer pigmento nanoporoso. En este ejemplo, la conversión del primer líquido en un primer punto incluye el secado de la primera suspensión coloidal. El primer líquido se puede formar mediante la dispersión de las partículas del primer pigmento nanoporoso en el primer disolvente. El primer líquido puede incluir otros ingredientes, tales como un agente tensioactivo.

**[0060]** Las partículas del primer pigmento nanoporoso pueden formarse mediante la combinación de ingredientes que incluyen materiales de partida para un cerámico, un segundo disolvente y el primer colorante quimiosensible para formar una primera mezcla; la hidrólisis de la primera mezcla para formar un sol; y la condensación del sol para formar una segunda mezcla que incluye las partículas del primer pigmento nanoporoso.

**[0061]** El segundo líquido puede ser como se describe el primer líquido, y puede convertirse en el segundo punto de una manera similar. Por ejemplo, el segundo líquido puede incluir una segunda suspensión coloidal que incluye un tercer disolvente y partículas del segundo pigmento nanoporoso, y la conversión del segundo líquido en un segundo punto puede incluir el secado de la segunda suspensión coloidal. El segundo líquido puede formarse mediante la dispersión de las partículas del segundo pigmento nanoporoso en el tercer disolvente. Las partículas del segundo pigmento nanoporoso pueden ser las descritas para las partículas del primer pigmento nanoporoso.

**[0062]** En referencia a la figura 1, el mecanismo inferior es un ejemplo de este procedimiento. En este mecanismo, se forma un líquido inicial mediante la combinación de precursores de sílice, un colorante quimiosensible y un disolvente que incluye agua. El líquido preliminar se somete a hidrólisis para formar un sol coloidal y, a continuación, se somete a condensación y precipitación para formar partículas del pigmento nanoporoso que incluye el colorante quimiosensible en un estado inmovilizado. A continuación, se forma un líquido mediante la dispersión de las partículas del pigmento nanoporoso y un tensioactivo en un disolvente. Este líquido se deposita en un lugar sobre un sustrato y a continuación se seca para formar un aerogel de sílice. El punto formado es por lo tanto el aerogel que incluye el colorante quimiosensible.

**[0063]** En el procedimiento de formación de una matriz de sensores colorimétricos, el primer y segundo líquidos, y las mezclas utilizadas para formar los líquidos, de forma independiente pueden incluir un disolvente. Ejemplos de disolventes incluyen 1,2-diclorobenceno, diglima, metanol, 2-metoxietanol, acetato de propilenglicol metil éter, agua, y mezclas de éstos. Preferiblemente, los líquidos incluyen un disolvente que contiene una mezcla de agua y otro disolvente.

**[0064]** En el procedimiento de formación de una matriz de sensores colorimétricos, el primer y segundo líquidos, y las mezclas utilizadas para formar los líquidos, de forma independiente pueden incluir un agente tensioactivo. Un agente tensioactivo puede ser útil para mejorar la solubilidad o dispersabilidad del colorante quimiosensible en un líquido, para mejorar el control del flujo, para mejorar la uniformidad de la impresión o del color (es decir, la "nivelación"), y/o para mejorar la humectación de la superficie que se va a imprimir (es decir, "wet-out"). El tensioactivo puede ser catiónico, aniónico, zwitteriónico, o no iónico. Ejemplos de tensioactivos incluyen dodecil

sulfato de sodio (SDS) y Triton X-100, un tensioactivo de silicona GE® Silwet®, un fluorotensioactivo 3M® Novec® y mezclas de los mismos.

5 [0065] Ejemplos de materiales de partida para un cerámico incluyen materiales de partida para materiales, tales como hidroxiapatita, óxido de titanio, zirconato de plomo, titanato, alúmina, sílice, zirconia, nitrato de silicio, titanato de bario y carburo de silicio o mezclas de éstos. En un ejemplo, los materiales de partida para un cerámico de sílice pueden incluir al menos un alcoxisilano o halosilano, e incluyen un catalizador de condensación. El alcoxisilano o halosilano pueden ser, por ejemplo, tetrametoxisilano (TMOS), tetraclorosilano (TCS), metiltrimetoxisilano (MTMS), metiltriclorosilano (MTCS), octiltrimetoxisilano (OTES), feniltrimetoxisilano (PTMS) o mezclas de éstos. El catalizador de condensación puede ser, por ejemplo, un ácido, tal como ácido clorhídrico (HCl) o ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>), o una base, tal como hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH) o hidróxido de sodio (NaOH), disuelto en agua.

15 [0066] En un ejemplo específico, una mezcla inicial incluye del 5 al 50% en volumen de alcoxisilanos, 0,001 a 0,1 M de ácido clorhídrico como catalizador de condensación, un colorante quimiosensible, del 5 al 20% en volumen de agua, del 1 al 80% en volumen de disolventes y del 0,01 al 2% en peso de tensioactivo. Esta mezcla inicial puede hidrolizarse para formar un sol, depositarse sobre un sustrato, condensarse para formar un gel y secarse para formar un punto de una matriz. Alternativamente, esta mezcla inicial puede hidrolizarse para formar un sol y condensarse para formar una mezcla que incluye partículas de un pigmento nanoporoso. Estas partículas pueden entonces dispersarse en un disolvente, depositarse sobre un sustrato, y secarse para formar un punto de una matriz.

20 [0067] La deposición puede incluir una o más técnicas de impresión, tales como de chorro de tinta, estampación e impresión "dip-pin". La Figura 2 es un conjunto de imágenes de una impresora "dip-pin" ranurada para depositar líquidos sobre un sustrato. Cada uno de los líquidos se puede depositar sobre un único sustrato. Alternativamente, pueden imprimirse diferentes líquidos sobre diferentes sustratos y los sustratos individuales se ensamblan a continuación entre sí para formar la matriz.

30 [0068] Un procedimiento para fabricar una matriz de sensores colorimétricos puede incluir además depositar una pluralidad de líquidos adicionales en lugares adicionales sobre el sustrato, y convertir los líquidos adicionales en una pluralidad de puntos adicionales. Cada punto adicional incluye, independientemente, un colorante quimiosensible. Al menos uno de los puntos adicionales puede incluir un pigmento nanoporoso adicional que es diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos. Un pigmento nanoporoso adicional incluye un material nanoporoso y un colorante quimiosensible inmovilizado. El material nanoporoso y el colorante pueden ser como se ha descrito anteriormente para los materiales nanoporoso y los colorantes quimiosensibles. Preferiblemente, cada punto adicional incluye independientemente un pigmento nanoporoso adicional que es diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos. Más preferiblemente, cada punto adicional incluye, independientemente, un pigmento nanoporoso adicional, cada uno de los pigmentos nanoporosos adicionales es diferente, y cada uno de los pigmentos nanoporosos adicionales es diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos. Como se señaló anteriormente, dos pigmentos nanoporosos son diferentes si sus materiales nanoporosos componentes y/o sus colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes.

40 [0069] El procedimiento puede incluir depositar de 2 a 1.000 líquidos. Preferiblemente, el procedimiento incluye depositar de 4 a 500 líquidos. Más preferiblemente, el procedimiento incluye depositar de 8 a 250 líquidos. Más preferiblemente, el procedimiento incluye depositar de 10 a 100 líquidos. Más preferiblemente, el procedimiento incluye depositar de 16 a 72 líquidos, incluyendo de 24 a 36 líquidos. Cada líquido puede incluir un colorante diferente. Sin embargo, puede ser deseable incluir líquidos duplicados que incluyen el mismo colorante, tal como se señaló anteriormente.

50 [0070] Una matriz de sensores colorimétricos que incluye el primer y segundo puntos, cada uno incluyendo un pigmento nanoporoso diferente, se puede utilizar para análisis químicos de analitos gaseosos y líquidos. Un procedimiento para detectar un analito en una muestra incluye obtener una primera imagen de la matriz de sensores colorimétricos expuesta en las reivindicaciones en ausencia del analito, obtener una segunda imagen de la matriz de sensores colorimétricos en presencia de la muestra, y analizar la diferencia entre la primera imagen y la segunda imagen, tal como se expone en las reivindicaciones. La matriz puede utilizarse para detectar una amplia variedad de analitos, independientemente de la forma física de los analitos. La matriz se puede utilizar para detectar cualquier sustancia que emite vapor, incluyendo sustancias líquidas, sólidas o gaseosas, e incluso cuando se mezcla con otras sustancias que emiten vapor. La matriz se puede utilizar para detectar analitos disueltos en un disolvente, incluyendo analitos en agua. La matriz se puede utilizar para detectar analitos iónicos o moleculares en un disolvente, incluso cuando se mezclan con otros analitos disueltos.

60 [0071] La obtención de una imagen de una matriz de sensores colorimétricos se puede realizar con cualquier dispositivo de formación de imágenes adecuado. Ejemplos de dispositivos de imagen incluyen escáneres planos, cámaras digitales (preferiblemente, con iluminación constante o intensidad de flash reproducible), cámaras de vídeo CCD o CMOS (también preferiblemente con iluminación reproducible, tales como LED, blanco o tricolor). Puede construirse un dispositivo de mano para leer la matriz de sensores internos con capacidad informática interna (por ejemplo, un PC de bolsillo o un microprocesador insertado), una fuente de luz y una cámara de imagen.

**[0072]** Para los analitos de gas o vapor, se pasa una corriente de gas que contiene el analito a través de la matriz, y pueden obtenerse imágenes antes, durante y/o después de la exposición a la corriente de gas. Preferiblemente, se obtiene una imagen después de que se hayan equilibrado la muestra y la matriz. Si la corriente de gas no está presurizada, puede ser útil el uso de una bomba en miniatura.

**[0073]** Para los analitos disueltos en un disolvente, ya sea acuoso o no acuoso, la primera imagen se puede obtener en el aire o, preferiblemente, después de la exposición al disolvente portador puro que se utiliza de la muestra. La segunda imagen de la matriz se puede obtener después del inicio de la exposición de la matriz a la muestra. Preferiblemente se obtiene una imagen después de que se hayan equilibrado la muestra y la matriz.

**[0074]** El análisis de las diferencias entre la primera imagen y la segunda imagen puede incluir la comparación cuantitativa de las imágenes digitales antes y después de la exposición al analito. Utilizando software personalizado, tal como ChemEye® (ChemSensing, Champaign, IL) o software de gráficos estándar, como Adobe® PhotoShop®, se puede obtener un mapa de diferencias restando la primera imagen de la segunda imagen. Para evitar artefactos de sustracción en la periferia de los puntos, se puede promediar el centro de cada punto.

**[0075]** Las Figuras 3A-3C son imágenes de una matriz de sensores colorimétricos que muestran la matriz antes de la exposición a una muestra (3A), después de la exposición a una muestra (3B), y un mapa de diferencias de estas dos imágenes (3C). Los datos de comparación obtenidos del mapa de diferencias incluyen cambios en los valores de rojo, verde y azul ( $\Delta RGB$ ) para cada punto en la matriz. Los cambios en las propiedades espectrales que se producen tras la exposición a un analito, y el mapa de diferencias de color resultante, pueden servir como una huella dactilar única para cualquier analito o mezcla de analitos a una concentración determinada.

**[0076]** En el caso más simple, un analito puede representarse por un único vector  $3x$  que representa los valores  $\Delta RGB$  para cada colorante, donde  $x$  es el número de colorantes, tal como se expone en la ecuación (1). Esto presupone que el equilibrio es relativamente rápido y que cualquier reacción irreversible entre analito y colorante es lenta en relación con el tiempo inicial de equilibrado.

Vector de diferencia =  $\Delta R1, \Delta G1, \Delta B1, \Delta R2, \Delta G2, \Delta B2, \dots, \Delta Rx, \Delta Gx, \Delta Bx$  (1)

**[0077]** Alternativamente, la respuesta temporal del analito puede utilizarse para realizar una identificación rápida, preferiblemente usando un "vector de apilamiento en el tiempo" ("time-stack vector") de valores  $\Delta RGB$  en función del tiempo. En la ecuación 2, se muestra un vector de apilamiento en el tiempo para una matriz de 36 colorantes en los tiempos  $m, n, y$ , finalmente,  $z$ , todos utilizando el barrido inicial como línea de base de las diferencias en los valores de rojo, verde y azul:

Vector de apilamiento en el tiempo =  $\Delta R1 m, \Delta G1 m, \Delta B1 m, \Delta R2 m, \Delta G2 m, \Delta B2 m, \Delta R36 m, \Delta G36 m, \Delta B36 m, \dots, \Delta R1 n, \Delta G1 n, \Delta B1 n, \dots, \Delta R36 m, \Delta G36 m, \Delta B36 m, \dots, \Delta R36 z, \Delta G36 z, \Delta B36 z$  (2)

**[0078]** Por consiguiente, cada respuesta de analito se puede representar digitalmente como un vector de dimensión  $3xz$ , donde  $x$  es el número de colorantes y  $z$  es el número de barridos a diferentes tiempos. La comparación cuantitativa de dichos vectores de diferencia puede realizarse simplemente mediante la medición de la distancia euclidiana en el espacio  $3xz$ . Dichos vectores se pueden tratar a continuación mediante el uso de análisis estadísticos o quimiométricos de rutina, incluyendo el análisis de componentes principales (PCA), análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) y el análisis discriminante lineal. Se prefieren los procedimientos estadísticos adecuados para datos de alta dimensionalidad. Como ejemplo, HCA examina sistemáticamente la distancia entre los vectores que representan cada colorante, formando grupos en base a las distancias multivariadas entre las respuestas de analito en el espacio multidimensional de color  $\Delta RGB$  utilizando el procedimiento de varianza mínima ("de Ward") para la clasificación [33]. A continuación, se puede generar un dendrograma que muestra el agrupamiento de los datos a partir de las distancias euclidianas entre y dentro de los vectores de analito, al igual que un árbol ancestral.

**[0079]** Un procedimiento para detectar un analito puede incluir la formación de un derivado del analito de interés. Esto puede ser útil cuando los analitos originales resultan ser relativamente no sensibles a los colorantes de la matriz. En este caso, la reacción química del analito puede formar uno o más productos que son bien detectados por los colorantes de la matriz.

**[0080]** En un ejemplo, la respuesta de las matrices a diferentes azúcares disueltos en agua puede no ser suficiente para el análisis directo. Sin embargo, la reacción de los analitos de azúcar con los ácidos bórico o bórico produce analitos secundarios que pueden ser analizados en una matriz. Sin estar ligado a ninguna teoría particular, parece que esto puede atribuirse al hecho de que diferentes hidratos de carbono tienen diferentes constantes de asociación al ácido bórico, lo que lleva a cambios en el pH de la solución [34-37].

**[0081]** En otro ejemplo, se puede oxidar parcialmente un analito antes de la obtención de la segunda imagen de la matriz de sensores colorimétricos. La oxidación parcial de un analito significa la oxidación que no convierte todos los

átomos de carbono de los analitos completamente a dióxido de carbono. Mediante la oxidación parcial de analitos, se forman nuevas mezclas de analitos parcialmente oxidados que pueden proporcionar una huella digital analítica única para la presencia de los analitos parentales. La oxidación parcial puede incluir poner en contacto el analito con un agente oxidante, tal como gas oxígeno, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, dióxido de cloro, cloro, y opcionalmente puede incluir poner en contacto el analito con un catalizador de oxidación. Preferiblemente, la fuente de oxidación está presente a una concentración o cantidad que es suficiente para dar lugar a la formación de un analito oxidado, pero que es inferior a la necesaria para oxidar completamente el analito parental completamente a dióxido de carbono. Se describe el análisis colorimétrico usando una matriz, donde el analito se oxida parcialmente, por ejemplo, en la publicación de la solicitud de patente de Estados Unidos No. 2003/0166298 A1 de Suslick et al.

**[0082]** La oxidación parcial puede formar una mezcla de alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, monóxido de carbono, y/o dióxido de carbono. Por ejemplo, una muestra que incluye un analito débilmente sensible se puede convertir en al menos un analito parcialmente oxidado que es más volátil. En un ejemplo, el hexano se puede oxidar parcialmente a analitos derivados, tales como ácido hexanoico, hexanol, hexanal, y cetonas C<sub>6</sub>. Los compuestos orgánicos más volátiles tienen típicamente una interacción más fuerte con la matriz y, por lo tanto, pueden proporcionar respuestas más intensas que los analitos parentales.

**[0083]** Una matriz de sensores colorimétricos que incluye el primer y segundo puntos, incluyendo cada uno un material nanoporoso y un colorante quimiosensible, puede utilizarse para detectar amoníaco u otros analitos en el aire exhalado. La detección de amoníaco en el aire exhalado puede ser útil en la detección de la presencia de una infección por *Helicobacter* o para el diagnóstico de la función hepática o renal. La detección colorimétrica de amoníaco en el aire exhalado se describe, por ejemplo, en la publicación de la Solicitud de Patente de Estados Unidos N° 2005/0171449 A1, con los inventores Suslick et al.

**[0084]** Una matriz de sensores colorimétricos se puede colocar en un cartucho de plástico transparente, y el cartucho se puede sellar enton para proteger la matriz del entorno ambiental. Se puede introducir una muestra gaseosa o líquida mediante la inyección de la muestra en el cartucho. Alternativamente, se puede formar una matriz de sensores colorimétricos sobre un sustrato y se puede unir una cubierta al sustrato para formar una cámara sellada que encierra la matriz y que incluye un puerto de entrada, y, opcionalmente, un puerto de salida. Los cartuchos para matrices de sensores colorimétricos se describen en la solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos N° 61/094.311 de los mismos titulares, presentada el 4 de septiembre de 2008, titulada Cartucho para matrices de sensores colorimétricos, con el inventor Kenneth S. Suslick, número de expediente ILL02-112-PRO.

**[0085]** Las matrices de sensores colorimétricos que incluyen el primer y segundo puntos, cada uno incluyendo un pigmento nanoporoso diferente, pueden tener mayor estabilidad, sensibilidad y selectividad hacia los analitos que las matrices de sensores colorimétricos convencionales. Los pigmentos nanoporosos pueden ser más estables que los colorantes en matrices de sensores colorimétricos convencionales, ya que los colorantes de los pigmentos nanoporosos están aislados en el sitio dentro de un material nanoporoso, protegiendo de las reacciones intermoleculares que pueden tener suceder a los colorantes solubilizados en solución. La pérdida del colorante en un analito líquido también se reduce o elimina.

**[0086]** Los pigmentos nanoporosos pueden proporcionar un aumento de la intensidad del color para un punto determinado en una matriz, ya que la carga del colorante en el punto no está limitada por su solubilidad. Este aumento de la intensidad de color puede proporcionar una mayor sensibilidad del sensor, ya que la magnitud del cambio en las propiedades espectrales en respuesta a un analito puede ser mayor. Las matrices de pigmentos nanoporosos también pueden tener una mejor sensibilidad que las matrices de colorantes colorimétricos convencionales. Una de las razones para este aumento de la sensibilidad puede ser que el material nanoporos actúa como preconcentrador.

## **EJEMPLOS**

Ejemplo 1: Formación de una matriz de sensores colorimétricos con pigmento nanoporoso para la detección, identificación y cuantificación de VOC y TIC.

**[0087]** Se fabricó una matriz de sensores colorimétricos para la detección e identificación de compuestos orgánicos volátiles (VOC) y compuestos químicos tóxicos industriales (TIC) utilizando un precursor de material nanoporoso y colorantes químicamente sensibles. El precursor de material nanoporoso en este ejemplo fue una solución sol-gel de sílice modificada orgánicamente (ORGAMOSIL) que incluía del 5 al 50% en volumen de alcoxisilanos, del 5 al 20% en volumen de agua, del 1 al 80% en volumen de disolventes, de 0,001 a 0,1 M de ácido clorhídrico como catalizador de condensación, y del 0,01 al 2% en peso de tensioactivo. La formulación agitada se añadió a cada uno de los colorantes en la Tabla 1, y las mezclas resultantes se cargaron en un bloque de teflón que contenía pocillos cilíndricos individuales (3/8" de profundidad) para cada mezcla.

**[0088]** Se utilizó una impresora "dip-pin" ranurada flotante capaz de liberar aproximadamente 100 nL para imprimir los líquidos sobre la superficie de una membrana de PVDF hidrófoba. La matriz "dip-pin" ranurada se sumergió en el tintero con las formulaciones que rellenaban los correspondientes agujeros del tintero. A continuación, la matriz de

agujas se levantó y se presionó sobre un sustrato adecuado, produciendo una matriz impresa. Una vez impresas, las matrices se curaron a temperatura ambiente durante 48 horas.

5

Tabla 1 - Colorantes quimiosensible utilizados para el análisis de TIC

Punto #	Nombre
1	2,3,7,8,12,13,17,18-Octaetil-21H, 23H-porfina de zinc (II)
2	5,10,15,20-tetrafenil-21H, 23H-porfina de zinc
3	Tetramesitilporfirina de zinc
4	5,10,15,20-tetrakis(pentafluorofenil) -21H, 23H-porfina de zinc
5	5,10,15,20-tetrafenil-21H, 23H-porfina con cloruro de manganeso (III)
6	5,10,15,20- tetrakis(pentafluorofenil)-21H, 23H-porfirina con cloruro de hierro (III)
7	5,10,15,20-tetrafenil-21H, 23H-porfina de cobalto (II)
8	1-[4-[[4-(dimetilamino)fenil]azo]fenil] 2,2,2-trifluoro-etanona
9	perclorato de 4-[2-[4-(dimetilamino)fenil]etenil] -2,6-dimetil-pirilio
10	1- amino-4-(4-decilfenilazo)naftaleno
11	Rojo de metilo + Bu <sub>4</sub> NOH
12	Rojo de fenol + Bu <sub>4</sub> NOH
13	Rojo de cresol + Bu <sub>4</sub> NOH
14	Violeta de m-cresol + Bu <sub>4</sub> NOH
15	Azul de timol + Bu <sub>4</sub> NOH
16	Alizarina + Bu <sub>4</sub> NOH
17	Fucsina básica + Bu <sub>4</sub> NOH
18	Violeta cristal
19	Verde de bromocresol
20	Rojo de bromofenol
21	Azul de bromotimol
22	Azul negro de naftol
23	Rojo de bromopirogalol
24	Violeta de pirocatecol
25	Rojo Nilo
26	Naranja disperso #25
27	4-(4-nitrobencil)piridina + N-bencilanilina
28	Bu <sub>4</sub> NBr + azul de bromohlorofenol
29	ZnOAc <sub>2</sub> + púrpura de m-cresol + Bu <sub>4</sub> NOH
30	fucsina básica + ácido tósico
31	LiNO <sub>3</sub> + rojo de Cresol
32	HgCl <sub>2</sub> + azul de bromofenol + Bu <sub>4</sub> NOH
33	HgCl <sub>2</sub> + rojo de fenol + Bu <sub>4</sub> NOH
34	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
35	AgNO <sub>3</sub> + verde de bromocresol
36	AgNO <sub>3</sub> + rojo de fenol

Ejemplo 2: Detección, identificación y cuantificación de los TIC

10 **[0089]** Las matrices preparadas del Ejemplo 1 se cortaron a medida y se colocaron en cartuchos poliacrílicos sellados perforables. Se diluyeron los gases premezclados certificados de 16 TIC individuales usando controladores de flujo de masa digitales a su concentración de peligro inmediato para la vida o la salud (IDLH). Para cada matriz, la corriente de gas resultante se puso en contacto con la matriz en su cartucho. La imagen de cada matriz se adquirió mediante un escáner de superficie plana (V200; EPSON, Long Beach, CA) antes y durante la exposición a los TIC.

15 Se produjo un equilibrio rápido y las imágenes para el análisis se adquirieron después de dos minutos de exposición. Tras la exposición al analito, las matrices se sometieron a reacciones reversibles que dieron lugar a cambios de color bien definidos. Los valores RGB se obtuvieron en un mapa de diferencias restando la imagen anterior de la imagen posterior. Para eliminar la posibilidad de artefactos de la resta causados por adquisiciones cerca del borde del punto, sólo los centros de los puntos se incluyeron en el cálculo. Las mediciones se realizaron con Photoshop® o ChemEye®.

20

**[0090]** Se ensambló una base de datos a partir de las series por quintuplicado de los TIC a concentraciones IDLH. Los perfiles de cambio de color, que eran únicos para cada TIC, se muestran en los mapas de diferencias de color de la Figura 4.

25 **[0091]** Las diferentes concentraciones de TIC también se determinaron con la matriz de sensores colorimétricos. Para fines de ilustración, Se escogieron tres TIC (amoníaco, dióxido de azufre y cloro) a concentraciones correspondientes a sus respectivas IDLH, el nivel de exposición permisible (PEL), y las concentraciones sub-PEL, tal

como aparece en la figura 5. Las diferencias claramente identificables en los mapas de diferencias de color de la Figura 5 eran evidentes, incluso sin el análisis estadístico.

5 [0092] Para los análisis estadísticos [33] de los cambios en las propiedades espectrales, se utilizaron el análisis de componentes principales (PCA) y el análisis de agrupamiento jerárquico (HCA) para analizar la base de datos del perfil de cambio de color. El PCA proporciona una evaluación cuantitativa de la dispersión analítica de una técnica basada en su número de dimensiones independientes de varianza. Los sensores de lenguas electrónicas convencionales han mostrado sólo una selectividad limitada, lo que se cree que es debido a su relativamente bajo número de dimensiones independientes. Por lo general, sólo dos dimensiones representarán más del 95% de discriminación total en estos sensores convencionales. En cambio, hubo un nivel extremadamente alto de dispersión con las matrices de sensores colorimétricos del Ejemplo 1. Cuando el PCA se aplicó incluso a esta familia de analitos muy estrechamente relacionados, hubo 10 dimensiones necesarias para el 90% de discriminación total, tal como se indica en la gráfica de la Figura 6.

15 [0093] La Figura 7 muestra el dendrograma generado a partir del análisis de HCA de los datos para las pruebas por quintuplicado de 14 TIC a su IDLH, además de un control. Sorprendentemente, todos los TIC se agruparon con precisión sin errores o errores de clasificación en los 75 casos.

Ejemplo 3: Matriz de sensores colorimétricos para la detección e identificación de hidrato de carbono

20 [0094] Se combinaron tetrametilortosilicato (TMOS), metiltrimetoxisilano (MTMS), metanol, y agua nanopura en la relación molar de 1:1:11:5. La mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La formulación agitada se añadió a los colorantes quimiosensibles listados en la Tabla 2, y las mezclas se cargaron en un bloque que contenía pocillos cilíndricos individuales que tenían una profundidad de 3/8 de pulgada para cada mezcla. Se utilizó una impresora "dip-pin" ranurada flotante capaz de liberar aproximadamente 100 nL para imprimir los líquidos sobre la superficie de una membrana hidrófila de acetato de nitrocelulosa (Millipore, Cat No. SSWP14250, 3,0 µm). La matriz "dip-pin" ranurada se sumergió en el tintero con las formulaciones que rellenaban los correspondientes agujeros del tintero. A continuación, la matriz de agujas se levantó y se presionó sobre un sustrato adecuado, produciendo una matriz impresa. Una vez impresas, las matrices se curaron a temperatura ambiente durante 24 horas y a continuación a 65°C durante 24 horas.

Tabla 2 – Colorantes quimiosensibles utilizados para el análisis de azúcares y edulcorantes

Punto #	Nombre
1	azul de bromofenol
2	azul de tetrabromofenol
3	3', 3'', 5', 5''-tetrayodofenosulfonaftaleína
4	azul de bromoclorofenol
5	verde de cromocresol
6	rojo de clorofenol
7	rojo de bromofenol
8	púrpura de bromocresol
9	azul de bromoxilenol
10	rojo de fenol
11	púrpura de m-cresol
12	sal tetrasódica de naranja de xilenol
13	rojo de bromopirogalol
14	amarillo de metilo
15	rojo Congo
16	naranja de metilo

35 Ejemplo 4: Detección, identificación y cuantificación de azúcares y edulcorantes.

40 [0095] Las matrices de sensores colorimétricos descritos en el Ejemplo 3 se ensayaron frente a 15 azúcares diferentes (incluyendo monosacáridos y disacáridos), edulcorantes artificiales y alcoholes de azúcar. Los analitos fueron D-(-)-fructosa, D-(+)-galactosa, D-(+)-glucosa, β-lactosa, maltitol, D-manitol, D-(+)-manosa, D-(+)-Melibiosa, L-ramnosa, D-(-)-ribosa, sacarina, sorbitol, sacarosa, xilitol, D-(+)-xilosa. Cada analito se disolvió en tampón de fosfato 1 mM a pH 7,4, con 5 mM de ácido 3-nitrofenilborónico añadido. La concentración de cada analito, a excepción de la sacarosa, fue de 25 mM, y la concentración de sacarosa fue de 150 mM.

45 [0096] Para cada analito, la matriz se colocó en un cartucho perforable, y el cartucho se colocó sobre un escáner fotográfico plano Epson V200. Se obtuvo una primera imagen con la matriz se expone a una solución tampón en blanco. La solución tampón se extrajo y se inyectó una solución de analito de azúcar. Después de un retraso de 5 minutos, la matriz se volvió a escanear con el fotoescáner de superficie plana. El retraso aseguraba el equilibrio completo de la matriz, ya que el 90% del equilibrio se producía en menos de un minuto. La Figura 8 es un gráfico del

tiempo de respuesta de una matriz de sensores colorimétricos para los azúcares y edulcorantes, tal como se representa por el cambio en la distancia euclidiana con el tiempo.

[0097] Usando los procedimientos del Ejemplo 2, se obtuvieron mapas de diferencias para cada analito, se ensambló una base de datos a partir de series por quintuplicado de los analitos de azúcar, y se realizó el análisis estadístico. Los perfiles de cambio de color, que eran únicos para cada analito, se muestran en los mapas de diferencias de color de la Figura 9. La Figura 10 muestra el dendrograma de HCA generado a partir del análisis HCA de los datos. Sorprendentemente, todos los hidratos de carbono se identificaron con precisión y se identificaron uno contra el otro sin errores o sin errores de clasificación en los 80 casos.

#### Ejemplo 5: Estudio de la concentración de D-glucosa

[0098] Además de la alta discriminación, la alta sensibilidad a los hidratos de carbono es esencial para la mayoría de aplicaciones prácticas. Por ejemplo, el intervalo fisiológico de las concentraciones de glucosa es de aproximadamente 2 mM a aproximadamente 50 mM; la glucosa en plasma en ayunas normal (FPG) es de aproximadamente 5 mM y el umbral de la diabetes es por encima de 7 mm. Además, las concentraciones de glucosa en diabéticos 2 horas después de una prueba de tolerancia oral a la glucosa están por encima de 11,1 mm [38].

[0099] El límite de detección (LOD) de la matriz de sensores colorimétricos del Ejemplo 3 se determinó poniendo en contacto las matrices con muestras que contienen concentraciones de 1 mM, 5 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 100 mM, y 200 mM de D-glucosa en una solución tampón en blanco. Los perfiles de concentración se construyeron mediante la representación de la distancia euclidiana total del cambio de color de la matriz frente a la concentración de D-glucosa. La respuesta global de la matriz, tal como se mide por la diferencia euclidiana total frente a la concentración de D-glucosa, se muestra en la Figura 11. El límite inferior de detección (LOD) de la matriz, definida como 3x la señal con respecto al ruido, fue <1 mM.

#### Ejemplo 6: Experimento de ciclado con D-glucosa

[0100] Mientras que las matrices de sensores colorimétricos del Ejemplo 3 eran baratos, desechables, y pensados para un solo uso, muchas de las reacciones que tienen lugar eran, de hecho, reversibles. Por lo tanto, la reutilización de las matrices se examinó mediante la exposición de las matrices a una solución tampón en blanco utilizando un sistema de flujo de 20 ml/min, la obtención de una primera imagen, y a continuación el ciclado al mismo tampón infundido con 25 mM de D-glucosa, seguido de tampón plano de nuevo. Este proceso se repitió durante tres ciclos completos. Debido al volumen muerto y los tiempos de mezcla en el aparato de flujo, el equilibrio completo requirió aproximadamente 6 minutos. El tiempo de respuesta intrínseca de la matriz en ausencia del volumen muerto fue de menos de 30 segundos. Sorprendentemente se observó una buena capacidad de reutilización, tal como se muestra en el gráfico de la Figura 12.

## **REFERENCIAS**

### **[0101]**

1. Gardner, J. W.; Bartlett, P. N. *Electronic Noses: Principles and Applications*; Oxford University Press: New York, 1999.
2. Albert, K. J.; Lewis, N. S.; Schauer, C. L.; Sotzing, G. A.; Stitzel, S. E.; Vaid, T. P.; Walt, D. R. *Chem. Rev.* 2000, 100, 2595.
3. Lewis, N. S. *Accts. Chem. Res.* 2004, 37, 663-672.
4. Johnson, B. A.; Leon M. J. *Comp. Neurol.* 2007, 503, 1-34.
5. Anslyn E. V. *J. Org. Chem.* 2007, 72, 687-699.
6. Anand, V.; Kataria, M.; Kukkar, V.; Saharan, V.; Choudhury, P.K. *Drug Discovery Today* 2007, 12,257-265.
7. Toko, K. *Biomimetic Sensor Technology*; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 2000.
8. Suslick, K. S.; Bailey, D. P.; Ingison, C. K.; Janzen, M.; Kosal, M. A.; McNamara III, W. B.; Rakow, N. A.; Sen, A.; Weaver, J. J.; Wilson, J. B.; Zhang, C.; Nakagaki, S. *Quimica Nova* 2007, 30, 677-681.
9. Suslick, K. S. *MRS Bull.* 2004, 29, 720-725.
10. Suslick, K. S.; Rakow, N. A.; Sen, A. *Tetrahedron* 2004, 60, 11133-11138.
11. Wang, J.; Luthy-Schulten, Z. A.; Suslick, K. S., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003, 100, 3035-3039.
12. Rakow, N. A.; Suslick, K. S., *Nature* 2000, 406, 710-713.
13. Rakow, N. A.; Sen, A.; Janzen, M.C.; Ponder, J.B.; Suslick, K.S. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2005, 44, 4528-4532.
14. Janzen, M. C.; Ponder, J. B.; Bailey, D. P.; Ingison, C. K.; Suslick, K. S. "Colorimetric Sensor Arrays for Volatile Organic Compounds" *Anal. Chem.* 2006, 78, 3591-3600.
15. Zhang, C.; Suslick, K. S., *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 11548-11549.
16. Zhang, C.; Bailey, D. P.; Suslick, K. S., *J. Agric. Food Chem.* 2006, 54, 4925-4931.
17. Zhang, C.; Suslick, K. S. *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55, 237-242.
18. Suslick, K. S.; Rakow, N. A. "Colorimetric Artificial Nose Having an Array of Dyes and Method for Artificial Olfaction" patente de Estados Unidos 6,368,558; April 9, 2002.
19. Suslick, K. S.; Rakow, N. A.; Sen, A. "Colorimetric Artificial Nose Having an Array of Dyes and Method for Artificial Olfaction: Shape Selective Sensors" patente de Estados Unidos 6,495,102 B1; Dec. 17,2002.

20. Suslick, K. S.; Rakow, N. A.; Sen, A.; McNamara, W. B. III; Kosal, Margaret E. "Colorimetric artificial nose having an array of dyes and method for artificial olfaction" solicitud de patente de Estados Unidos 20030143112; July 21, 2003.
- 5 21. Suslick, K. S.; Rakow, N. A.; Sen, A. "Siloxo porpyhrins and metal complexes thereof" U.S. PatentAppl. 20030129085; July 10, 2003.
22. Suslick, K. S. "Colorimetric artificial nose having an array of dyes and method for artificial olfaction" U.S. Patent Appl. 20030166298; Sept. 4, 2003.
23. Suslick, K. S.; Rakow, N. A.; Sen, A.; McNamara, W. B. III; Kosal, Margare E. "Colorimetric Artificial Nose having an Array of Dyes and Method for Artificial Olfaction" patente de Estados Unidos 7,261,857; 28 agosto, 2007.
- 10 24. Zaggout, F. R., J. Dispersion Sci. Technol. 2005, 26, 757-761.
25. Rottman, C.; Ottolenghi, M.; Zusman, R.; Lev, O.; Smith, M.; Gong, G.; Kagan, M. L.; Avnir, D., Mater. Lett. 1992, 13, 293-298.
26. Zusman, R.; Rottman, C.; Ottolenghi, M.; Avnir, D., J. Non-Cryst. Solids 1990, 122, 107-109.
27. Kowada, Y.; Ozeki, T.; Minami, T., J. Sol-Gel Sci. Technol. 2005, 33, 175-185.
- 15 28. Zaggout, F. R.; El-Nahhal, I. M.; Qaraman, A. E.-F. A.; Al Dahoudi, N., Mate. Lett. 2006, 60, 3463-3467.
29. Villegas, M. A.; Pascual, L., Thin Solid Films 1999, 351, 103-108.
30. Laitinen, H. A. Chemical Analysis (McGraw-Hill: New York, 1960)
31. Murphy, C. J. et al. Chem. Commun. 2008, 544-557.
32. Suslick, K. S. et al. Acc. Chem. Res. 2005, 38, 283-291.
- 20 33. Hasswell, S., Practical Guide To Chemometrics; Dekker: NY, 1992.
34. Lee, J. W.; Lee, J.-S.; Chang, Y.-T., Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 2006, 45, 6485-6487.
35. Dowlut, M.; Hall, D. G., J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 4226-4227.
36. Yan, J.; Springsteen, G.; Deeter, S.; Wang, B., Tetrahedron 2004, 60, 11205-11209.
37. James, T. D.; Sandanayake Samankumara, K. R. A.; Shinkai, S., Angew. Chem., Int. Ed. Engl. 1996, 35, 1911-1922.
- 25 38. Larson, P. R.; Kronenberg, H. M.; Melmed, S.; Polonsky, K. S. (eds.) Williams Textbook of Endocrinology, 10th ed. Saunders: Philadelphia, 2003.

## REIVINDICACIONES

1. Matriz de sensores colorimétricos, que comprende:  
un sustrato;
- 5 un primer punto sobre el sustrato, que comprende un primer pigmento nanoporoso; comprendiendo el primer pigmento nanoporoso un primer material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible inmovilizado; y un segundo punto sobre el sustrato, que comprende un segundo pigmento nanoporoso; comprendiendo el segundo pigmento nanoporoso un segundo material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible inmovilizado; en la que el primer pigmento nanoporoso difiere del segundo pigmento nanoporoso en que el primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes; y
- 10 en la que el primero y segundo pigmentos nanoporosos son de reacción cruzada entre sí con respecto a al menos un analito, de manera que los cambios en las propiedades espectrales que se producen tras la exposición de la matriz de sensores a al menos un analito se pueden utilizar para fabricar un mapa de diferencias de color que sirve como una huella dactilar única para dicho al menos un analito a una concentración determinada, en la que el mapa de diferencias de color muestra las diferencias de color entre las imágenes de la matriz antes y después de la exposición a una muestra.
- 15 2. Matriz de sensores colorimétricos, según la reivindicación 1, en la que el primer colorante quimiosensible inmovilizado comprende un colorante insolubilizado por el primer material nanoporoso.
- 20 3. Matriz de sensores colorimétricos, según la reivindicación 2, en la que el colorante se selecciona del grupo que consiste en un colorante ácido-base de Lewis, una porfirina sensible a la estructura, un colorante sensible al pH, un colorante solvatocrómico, un colorante vapocrómico, un colorante sensible al redox y un colorante sensible a iones metálicos;
- 25 en la que el colorante se selecciona entre:
- (i) un colorante ácido-base de Lewis seleccionado del grupo que consiste en un colorante que contiene un ion metálico, un colorante que contiene boro, un colorante que contiene ácido borónico, y un colorante que comprende un heteroátomo accesible que tiene un par de electrones solitario;
- (ii) un colorante que contiene un ion metálico seleccionado del grupo que consiste en una metaloporfirina, un complejo de salen, una clorina, una porfirina "bis-pocket", y una ftalocianina;
- 30 (iii) una porfirina sensible a la estructura seleccionada del grupo que consiste en tetrakis(2,4,6-trimetoxifenil)-porfirina, una sililéter-metaloporfirina y una porfirina "bis-pocket" sustituida con siloxilo; o
- (iv) un colorante sensible al pH seleccionado del grupo que consiste en un colorante ácido de Brønsted y un colorante básico de Brønsted;
- 35 o en la que el colorante es sensible a al menos una interacción química seleccionada del grupo que consiste en la interacción ácido-base de Lewis, la interacción ácido-base de Brønsted, la unión a ligando, complejación  $\pi$ - $\pi$ , enlaces de hidrógeno, polarización, oxidación/reducción y coordinación de metales.
- 40 4. Matriz de sensores colorimétricos, según la reivindicación 1, en la que el primer colorante quimiosensible inmovilizado comprende un pigmento quimiosensible, tal como un pigmento poroso; o en la que el primer colorante quimiosensible inmovilizado comprende una nanopartícula quimiosensible, en la que la nanopartícula quimiosensible se selecciona del grupo que consiste en un sólido de porfirina nanoporoso, una nanopartícula semiconductor y una nanopartícula metálica.
- 45 5. Matriz de sensores colorimétricos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el primer y segundo materiales nanoporosos son el mismo.
- 50 6. Matriz de sensores colorimétricos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el primer y segundo materiales nanoporosos son diferentes.
7. Matriz de sensores colorimétricos, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además una pluralidad de puntos adicionales sobre el sustrato, comprendiendo cada punto de la pluralidad, independientemente, un colorante quimiosensible.
- 55 8. Matriz de sensores colorimétricos, según la reivindicación 7, en la que al menos un punto de la pluralidad comprende un pigmento nanoporoso adicional, diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos; en la que cada punto de la pluralidad comprende, independientemente, un pigmento nanoporoso adicional, diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos; en la que cada pigmento nanoporoso adicional de la pluralidad es diferente.
- 60 9. Procedimiento de fabricación de una matriz de sensores colorimétricos, según la reivindicación 1, que comprende:
- (i) depositar un primer líquido en un primer lugar sobre un sustrato,
- (ii) depositar un segundo líquido en un segundo lugar sobre un sustrato,
- (iii) convertir el primer líquido en un primer punto sobre el sustrato, y
- 65 (iv) convertir el segundo líquido en un segundo punto sobre el sustrato;

- en el que el primer punto comprende un primer pigmento nanoporoso que comprende un primer material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible inmovilizado; y  
 el segundo punto comprende un segundo pigmento nanoporoso que comprende un segundo material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible inmovilizado;
- 5 el primer pigmento nanoporoso difiere del segundo pigmento nanoporoso en que el primer y segundo colorantes quimiosensibles inmovilizados son diferentes; y  
 el primero y segundo pigmentos nanoporosos son de reacción cruzada entre sí con respecto a al menos un analito, de manera que los cambios en las propiedades espectrales que se producen tras la exposición de la matriz de  
 10 sensores a al menos un analito se pueden utilizar para fabricar un mapa de diferencias de color que sirve como una huella dactilar única para dicho al menos un analito a una concentración determinada, en el que el mapa de diferencias de color muestra las diferencias de color entre las imágenes de la matriz antes y después de la exposición a una muestra.
- 15 10. Procedimiento, según la reivindicación 9, en el que el primer líquido comprende un primer precursor de material nanoporoso y un primer colorante quimiosensible, y en el que la conversión del primer líquido en un primer punto comprende la solidificación del primer precursor de material nanoporoso para formar el primer material nanoporoso; en el que la solidificación comprende condensar el primer precursor de material nanoporoso para formar un gel y secar el gel para formar el primer material nanoporoso.
- 20 11. Procedimiento, según la reivindicación 10, en el que el primer precursor de material nanoporoso se selecciona del grupo que consiste en un polímero, un prepolímero, precursores de cerámicos, o mezclas de los mismos; o en el que el primer precursor de material nanoporoso comprende materiales de partida para un cerámico que han sido al menos parcialmente hidrolizados.
- 25 12. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en el que el primer líquido comprende además un disolvente y/o un tensioactivo.
- 30 13. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 9-12, que comprende además la formación del primer líquido mediante la combinación de ingredientes que comprenden materiales de partida para un cerámico, un disolvente, y el primer colorante quimiosensible para formar una primera mezcla, y la hidrólisis de la primera mezcla para formar un sol.
- 35 14. Procedimiento, según la reivindicación 9, en el que el primer líquido comprende una primera suspensión coloidal que comprende un primer disolvente y partículas del primer pigmento nanoporoso, y, opcionalmente, un tensioactivo; y en el que la conversión del primer líquido en un primer punto comprende secar la primera suspensión coloidal.
- 40 15. Procedimiento, según la reivindicación 14, que comprende además formar el primer líquido mediante la dispersión de las partículas del primer pigmento nanoporoso en el primer disolvente.
- 45 16. Procedimiento, según la reivindicación 15, que comprende además la formación de las partículas del primer pigmento nanoporoso mediante:  
 la combinación de ingredientes que comprenden materiales de partida para un cerámico, un segundo disolvente y el primer colorante quimiosensible para formar una primera mezcla;  
 la hidrólisis de la primera mezcla para formar un sol; y  
 la condensación del sol para formar una segunda mezcla que comprende las partículas del primer pigmento nanoporoso.
- 50 17. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 14-16, en el que el segundo líquido comprende una segunda suspensión coloidal que comprende un tercer disolvente y partículas del segundo pigmento nanoporoso, y la conversión del segundo líquido en un segundo punto comprende secar la segunda suspensión coloidal.
- 55 18. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 9-16, en el que el segundo líquido comprende un segundo precursor de material nanoporoso y un segundo colorante quimiosensible, y en el que la conversión del segundo líquido en un segundo punto comprende solidificar el segundo precursor de material nanoporoso para formar el segundo nanoporoso material.
- 60 19. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 9-18, en el que la deposición del primer y segundo líquidos comprende impresión de chorro de tinta, estampación o impresión "dip-pin".
- 65 20. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 9-19, en el que el primer y segundo colorantes quimiosensibles se seleccionan, independientemente, del grupo que consiste en un colorante quimiosensible, un pigmento quimiosensible y una nanopartícula quimiosensible; en el que al menos uno del primer y segundo colorantes quimiosensibles comprende un colorante quimiosensible seleccionado del grupo que consiste en un colorante ácido-base de Lewis, una porfirina sensible a la estructura, un colorante sensible al pH, un colorante solvatocrómico, un colorante vapocrómico, un colorante sensible al redox y un colorante sensible a iones metálicos;

o en el que al menos uno del primer y segundo colorantes quimiosensibles comprende un colorante quimiosensible sensible a al menos una interacción química seleccionada del grupo que consiste en la interacción ácido-base, unión a ligando, complejación  $\pi$ - $\pi$ , enlaces de hidrógeno, polarización, oxidación/reducción y coordinación de metales.

- 5 21. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 9-20, que comprende además:  
depositar una pluralidad de líquidos adicionales en puntos adicionales sobre el sustrato, y  
convertir los líquidos adicionales en una pluralidad de puntos adicionales;  
en el que cada punto de la pluralidad comprende, independientemente, un colorante quimiosensible.
- 10 22. Procedimiento, según la reivindicación 21, en el que al menos un punto de la pluralidad comprende un pigmento nanoporoso adicional, diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos;  
en el que cada punto de la pluralidad comprende, independientemente, un pigmento nanoporoso adicional, diferente del primer y segundo pigmentos nanoporosos; en el que cada pigmento nanoporoso adicional de la pluralidad es diferente.
- 15 23. Procedimiento para detectar un analito en una muestra, que comprende:  
obtener una primera imagen de la matriz de sensores colorimétricos, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en ausencia del analito,  
obtener una segunda imagen de la matriz de sensores colorimétricos en presencia de la muestra, y  
20 analizar una diferencia entre la primera imagen y la segunda imagen.
24. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la muestra comprende un gas, un líquido, tal como agua, o una sustancia que emite vapor.
- 25 25. Procedimiento, según la reivindicación 24, en el que el líquido comprende un disolvente y un analito, y en el que la obtención de la primera imagen se lleva a cabo cuando la matriz de sensores colorimétricos está en contacto con el disolvente.
- 30 26. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones 23-25, en el que la obtención de la segunda imagen se lleva a cabo después de que se hayan equilibrado la muestra y la matriz de sensores colorimétricos.



FIGURA 1

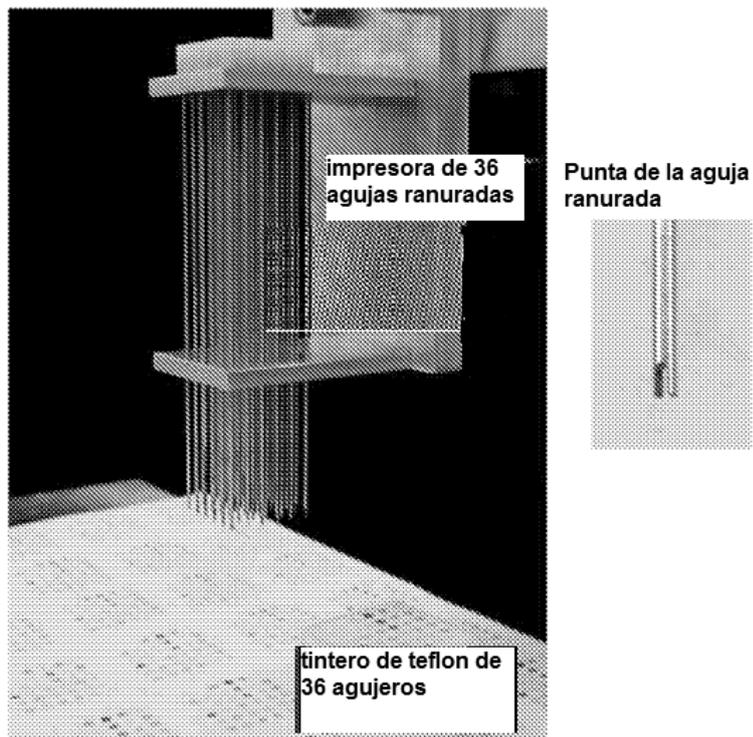
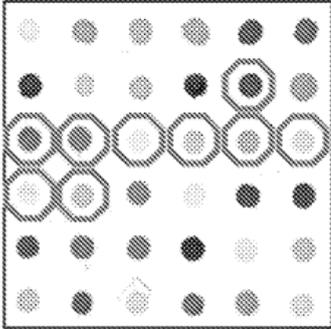


FIGURA 2

Antes de la exposición



Los pigmentos que cambian de color, la mayoría en este ejemplo, están encerrados en gris

FIGURA 3A

Después de la exposición

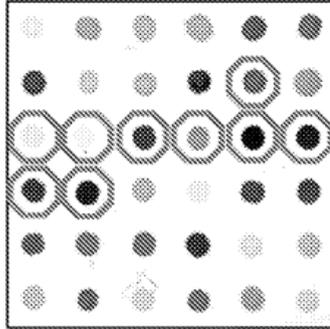
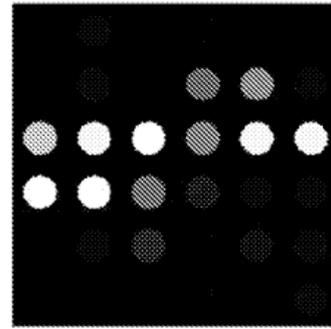


FIGURA 3B

Mapa de diferencias



P	-	R	
después		antes	
G	-	G	
después		antes	
B	-	B	
después		antes	

FIGURA 3C

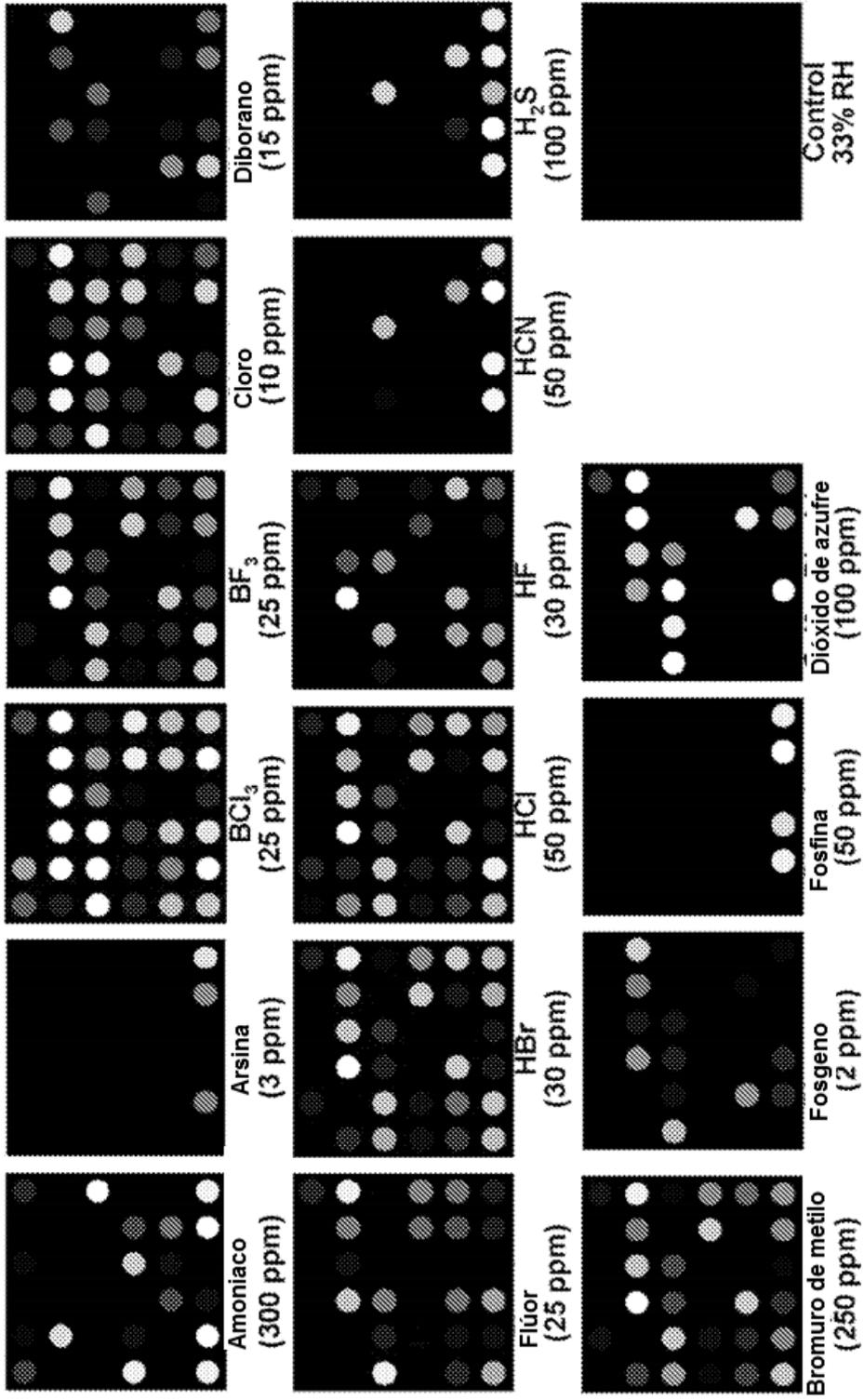


FIGURA 4

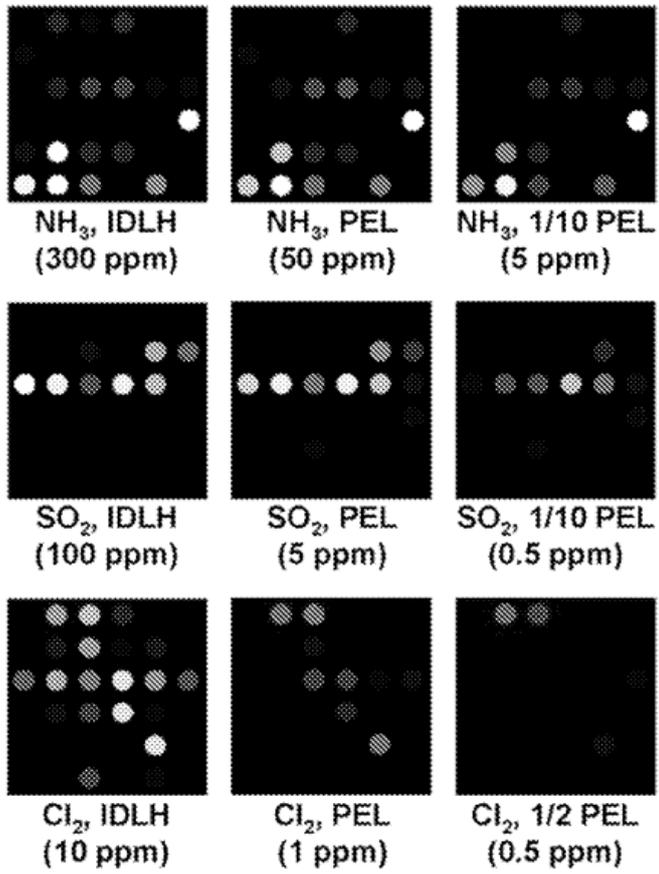


FIGURA 5

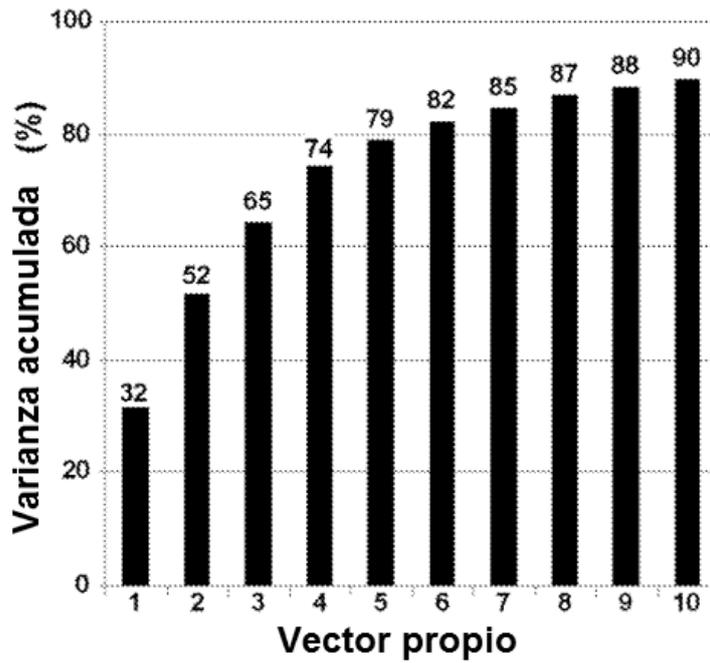


FIGURA 6



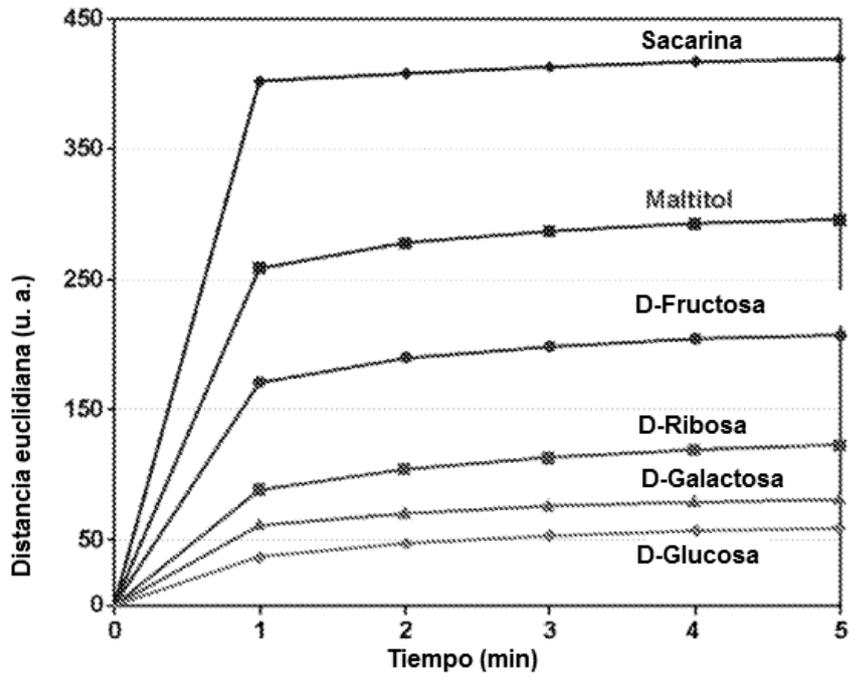


FIGURA 8

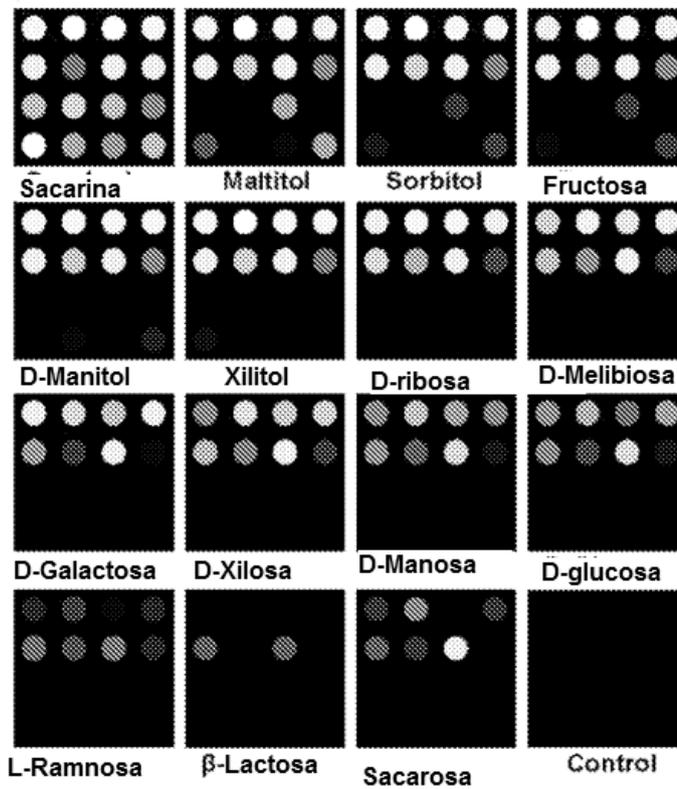


FIGURA 9

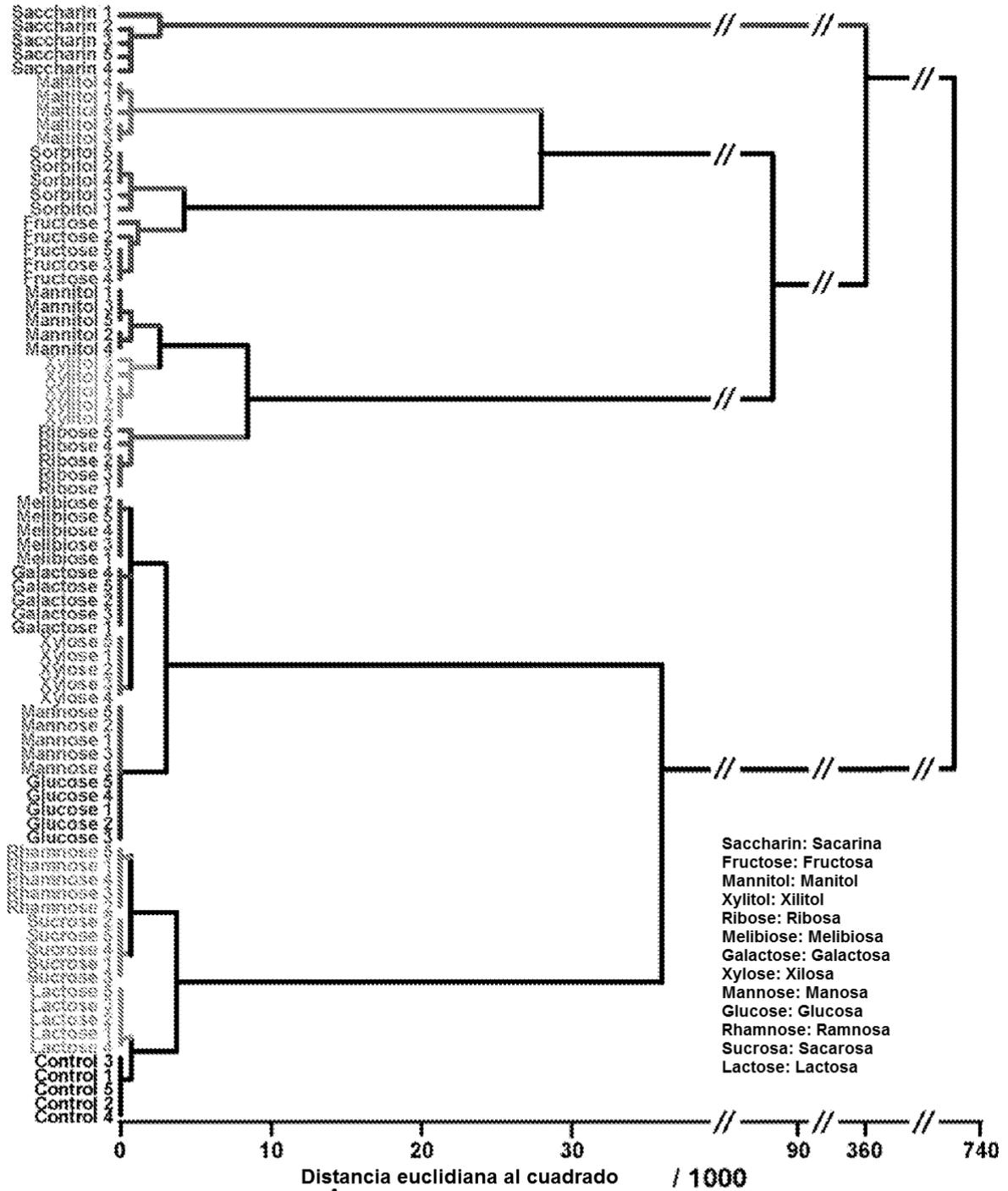


FIGURA 10

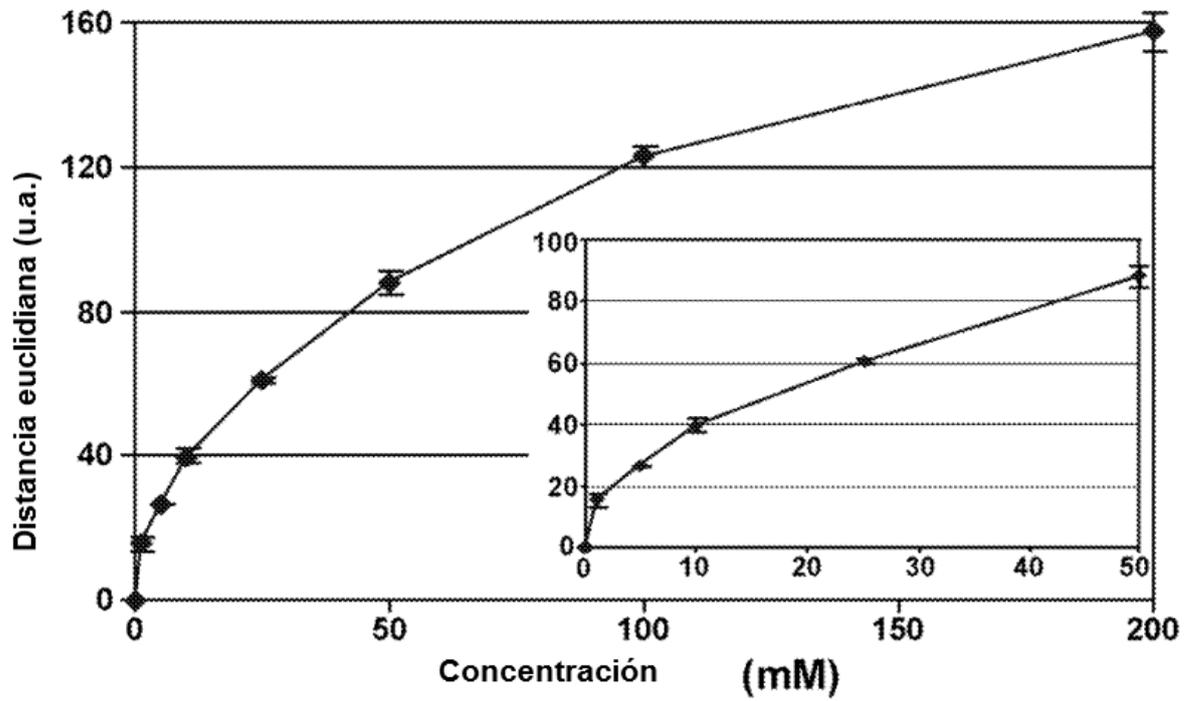


Figura 11

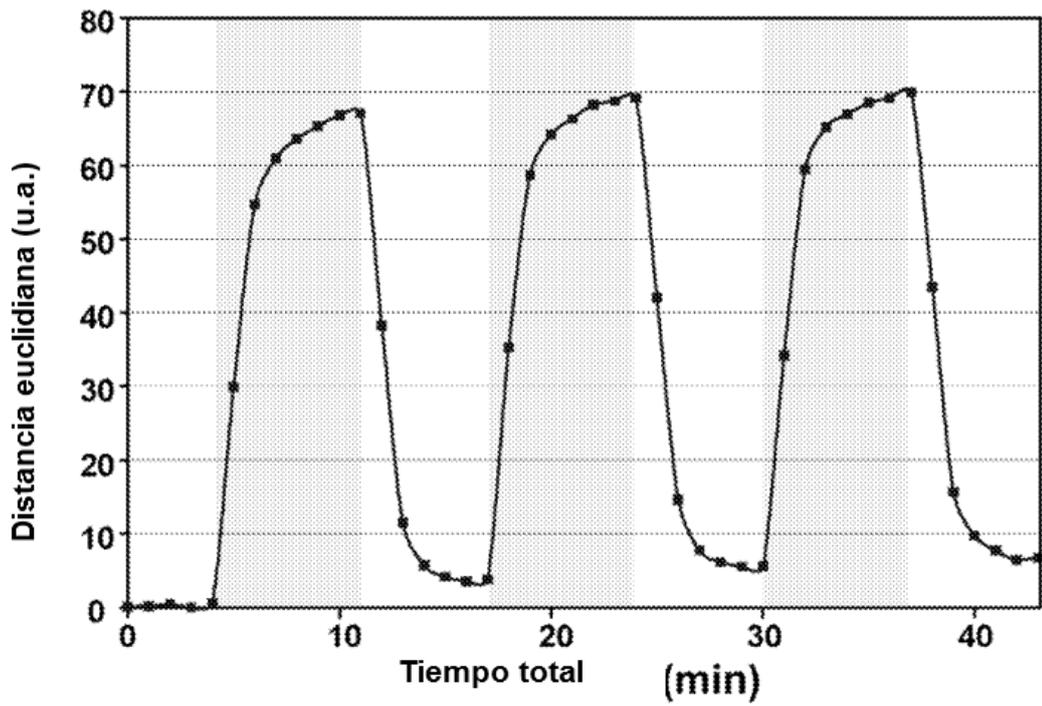


Figura 12