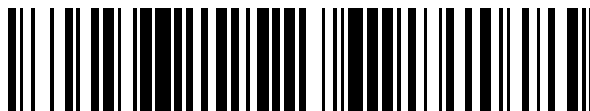


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 723 758**

21 Número de solicitud: 201830168

51 Int. Cl.:

**G01N 21/05** (2006.01)

**G01N 21/65** (2006.01)

**G01N 21/55** (2014.01)

**B01L 3/00** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

**23.02.2018**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**30.08.2019**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

**26.11.2019**

Fecha de concesión:

**16.04.2020**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**23.04.2020**

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (100.0%)  
C/ Serrano, 117  
28006 Madrid (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**SANTORO DOMINGO, Gonzalo**

74 Agente/Representante:

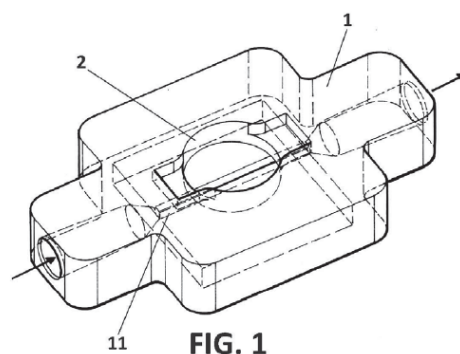
**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO**

57 Resumen:

Dispositivo microfluídico.

Se describe en este documento un dispositivo de microfluídica para SERS. Se describe un dispositivo para la realización de espectroscopía Raman aumentada por superficie o "Surface-Enhanced Raman spectroscopy — SERS" en un canal de microfluídica. Dicho dispositivo constituye una celda de material flexible y compresible, con una ventana óptica, unos adaptadores y medio de bombeo para el control del flujo a través de la celda de microfluídica. El dispositivo objeto de la invención aquí detallada hace uso de los citados adaptadores de tal manera que la ventana óptica permite el paso de luz a la vez que se puede regular el tamaño del canal de microfluídica por el que se hace pasar la solución portadora de muestra de forma continua, mediante un sistema de presión ejercida sobre las paredes del canal.



**FIG. 1**

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

ES 2 723 758 B2

**DESCRIPCIÓN**

**DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO**

**5 OBJETO DE LA INVENCION**

El objeto de la invención se enmarca en el campo técnico de la analítica.

Más concretamente, el objeto de la invención va referido a la determinación y  
10 cuantificación de sustancias en fluidos haciendo uso de medios ópticos, como es el caso de la espectroscopia, para la detección de trazas químicas en fluidos empleando como método de detección la espectroscopía Raman aumentada por superficie o “Surface-Enhanced Raman spectroscopy – SERS” en su nomenclatura anglosajona.

15 Los sectores de aplicación del dispositivo objeto de esta invención son los de química analítica, biomedicina y ciencia medioambiental. Asimismo, la presente invención tiene aplicación directa en laboratorios e industrias para el control de procesos en fase líquida.

**20 ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

En las últimas décadas, los dispositivos conocidos como “laboratorio en un chip”, o “lab-on-a-chip – LoC” en su nomenclatura anglosajona, han sufrido un desarrollo enorme a escala de laboratorio, iniciándose asimismo la comercialización de  
25 determinados productos para análisis específico de, por ejemplo, muestras de sangre o de saliva. Los dispositivos LoC combinan métodos de detección típicos de ensayos de laboratorio con sistemas de microfluídica, permitiendo la miniaturización de procesos de laboratorio, lo que presenta unas claras ventajas frente a los sistemas macroscópicos convencionales para el análisis y detección de moléculas químicas y  
30 biológicas. En primer lugar, debido al empleo de volúmenes pequeños, se reduce notablemente la cantidad de agentes químicos empleados en el análisis, así como de los residuos generados. Igualmente importante es el hecho de que el comportamiento de los líquidos en la microescala permite un gran control de las concentraciones e interacciones moleculares. Además, generalmente los dispositivos LoC presentan una  
35 alta sensibilidad, siendo capaces de detectar analitos en concentraciones típicas entre  $10^{-3}$  y  $10^{-6}$  mol/l.

En este tipo de dispositivos, aparte del diseño de los canales de microfluídica, es extremadamente importante el método de detección que se utiliza para el análisis, que idealmente debe ser no sólo altamente sensible sino lo menos invasivo posible, de manera que no se perturbe el sistema a analizar. En este sentido, la espectroscopía Raman, además de ser una técnica no destructiva, constituye una herramienta muy potente para la identificación de compuestos químicos y biológicos. Al contrario que otras técnicas que necesitan del uso de marcadores, como por ejemplo técnicas basadas en fluorescencia, la detección empleando espectroscopía Raman no necesita de una preparación especial de muestra.

10

No obstante, la espectroscopía Raman presenta una señal débil en comparación con otras técnicas ópticas de detección. Sin embargo, es posible aumentar enormemente la intensidad de la señal Raman mediante el empleo de nanoestructuras plasmónicas. Esto es debido al aumento local del campo eléctrico por un efecto de resonancia del campo eléctrico de la luz incidente y dispersada con los plasmones superficiales localizados, o “Localizad Surface Plasmon Resonance – LSRP” en su nomenclatura anglosajona, que presentan determinadas nanoestructuras. Este hecho constituye la base de la espectroscopía Raman aumentada por superficie o “Surface-Enhanced Raman spectroscopy – SERS” en su nomenclatura anglosajona. Mediante el empleo de espectroscopía SERS es posible alcanzar sensibilidades que llegan a la detección de una única molécula.

20

Actualmente existen varias aproximaciones para la realización de SERS en canales de microfluídica. La más extendida consiste en la adición de nanopartículas metálicas, como por ejemplo plata u oro, al fluido que se hace circular por el canal de microfluídica. Sin embargo, en estos casos, los surfactantes empleados en la preparación y estabilización de las nanopartículas afectan al espectro SERS. Asimismo, la adición de nanopartículas distorsiona el sistema de estudio y la adsorción de las nanopartículas en las paredes del canal de microfluídica distorsiona con el tiempo la geometría del canal. Además, en general, es necesario funcionalizar las nanopartículas para que interaccionen con el analito puesto que el aumento del campo eléctrico por efecto de LPSR se produce de manera muy local, a distancias del orden de pocos nanómetros de la nanopartícula metálica.

30

Para evitar la necesidad de funcionalizar químicamente las nanoestructuras, otra aproximación empleada consiste en la fabricación de las nanoestructuras metálicas en

35

el interior del canal de microfluídica, generalmente por métodos litográficos. Sin embargo, la fabricación de nanoestructuras en el interior de un canal de microfluídica presenta grandes dificultades técnicas, así como un elevado coste. Por ello, también se han utilizado sustratos SERS sólidos de tamaño mayor que el canal de microfluídica a los que posteriormente se adhiere una celda de microfluídica. En estos casos, los sustratos SERS son fabricados por métodos más sencillos y económicos que las técnicas litográficas. Sin embargo, en ningún caso el sustrato SERS puede ser reemplazado una vez que este haya sido modificado química o morfológicamente por efecto del fluido en flujo. Dichas modificaciones disminuyen la eficiencia del sustrato SERS y, por tanto, la sensibilidad de detección, siendo necesario fabricar un nuevo dispositivo completo para recuperar la sensibilidad inicial. Además, el espectro SERS se adquiere a través de una fina capa del material de que está hecha la celda microfluídica, comúnmente polidimetilsiloxano (PDMS), con lo que el espectro SERS presenta una contribución de este material.

15

En el documento *Surface enhanced Raman spectroscopy and microfluidic platforms: challenges, solutions and potential applications* Analyst, 2017, DOI: 10.1039/C7AN00118E. I. Jahn, et al. se describe una serie de problemáticas de los sistemas microfluídicos utilizados en SERS así como las soluciones que se encuentran a día de hoy junto con sus eventuales ventajas e inconvenientes. Dentro del contenido de este documento, se encuentra descrita la problemática referida al reemplazo del sustrato en análisis SERS, así como a las técnicas litográficas en PDMS de uso común en la fabricación de plataformas microfluídicas.

20

Por otra parte, es conocido que el control del flujo en análisis espectroscópicos es de vital importancia, necesitándose un flujo laminar; en este sentido se tiene que en Zhou, Q. and T. Kim (2016). "Review of microfluidic approaches for surface-enhanced Raman scattering." *Sensors and Actuators B: Chemical* 227: 504-514, se describen los dispositivos nano o microfluídicos constituidos en un chip y destinados a metodologías que hacen uso de SERS, los denominados "lab-on-a-chip SERS (LoCSERS) o "nano-, micro-optofluidic SERS". De manera similar, en J. H. Zhou, K. N. Ren, Y. H. Zhao, W. Dai and H. K. Wu, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2012, 402, 1601-1609) se describe un dispositivo microfluídico que presenta una deformación en la pared del canal, en realidad una membrana elastomérica, que modifica la morfología del paso de muestra mediante presión deformando de esta manera la membrana haciendo que

35

contacte con los contactos del fondo del canal; consiguiendo así que las partículas

queden atrapadas para su determinación y/o cuantificación mientras el soluto sigue fluyendo por el canal.

En CN20142232065U se detalla un chip para análisis usando espectroscopia Raman  
 5 que comprende sustratos: un primer sustrato duro, un segundo sustrato duro paralelo al primer sustrato duro, y una capa metálica que está formada por un material metálico que tiene actividad SERS y que se encuentra dispuesta entre el primer sustrato y el segundo sustrato, extendiéndose desde el primer sustrato duro al segundo sustrato duro; la capa de metal comprende un grupo de columnas de metal formado por una pluralidad de columnas de metal; cada columna de metal se extiende en la dirección del espesor desde el primer sustrato duro al segundo sustrato duro. Mediante esta disposición, se forma un microcanal que permite que se analice el flujo de un líquido entre cada dos columnas de metal adyacentes en el grupo de columnas metálicas. El grupo de columnas es un grupo de columnas metálicas con superficies cilíndricas de refuerzo tridimensionales y se encuentra dispuesto en la zona de análisis del chip de tal manera que se incrementa el área de contacto de la zona de análisis y las moléculas.  
 10  
 15

En CN20141831060 se describe tanto un dispositivo microfluídico transparente para la realización de dispersión Raman como su método de producción, comprendiendo la estructura del dispositivo: un sustrato activo transparente y una capa de estructura microfluídica soportada sobre el sustrato activo transparente y varios microcanales de detección; estando los microcanales dispuestos dentro de la capa de estructura microfluídica y el microcanal de detección en comunicación con una entrada de líquido y una salida de líquido en la capa de estructura microfluídica; y estando el sustrato activo transparente y una superficie de un área correspondiente al microcanal de detección respectivamente provistos de una nanoestructura metálica dispuesta entre la entrada y la salida de líquido. La ventaja que, según este documento, aporta el dispositivo descrito, viene dada por la nanoestructura, la cual aporta consistencia en la señal de detección de dispersión en SERS y permite acortar el tiempo de detección y mejorar la relación señal / ruido SNR de la señal de detección pudiendo detectar varias sustancias simultáneamente y en tiempo real.  
 20  
 25  
 30

Actualmente, no existen dispositivos de microfluídica para SERS que permitan un emplazamiento fácil de sustratos SERS en el canal de microfluídica así como su reemplazo una vez que la eficiencia del mismo se vea disminuida. Esto supondría una  
 35

ventaja para la reutilización del sistema microfluídico sin necesidad de fabricar el dispositivo completo. Asimismo, un fácil emplazamiento del sustrato SERS en el canal de microfluídica permite la utilización de sustratos optimizados para la detección de la molécula deseada sin necesidad de fabricar un dispositivo completo para cada molécula, es decir, utilizando un mismo sistema microfluídico es posible cambiar el sustrato SERS por uno con las características morfológicas y optoelectrónicas más adecuadas para el análisis requerido. Por otro lado, es deseable que el espectro SERS no presente ninguna contribución de los materiales en que está fabricado el dispositivo, por lo que el uso de ventanas ópticas supone una clara ventaja.

## DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En un aspecto del objeto de la invención se tiene un dispositivo para la detección de trazas químicas en fluidos, empleando como método de detección la espectroscopia Raman aumentada por superficie o "Surface-Enhanced Raman Spectroscopy – SERS" en su nomenclatura anglosajona.

El dispositivo objeto de la invención es reutilizable y polivalente, dado que, entre otras características, permite un fácil emplazamiento de sustratos SERS en el canal de microfluídica y, además, ser utilizado en distintos ensayos que hagan uso de distintas longitudes de onda ( $\lambda$ ), ya que presenta una ventana óptica reemplazable. Asimismo, el dispositivo aquí descrito presenta una serie de características que permiten solucionar algunos, si no todos, los problemas anteriormente citados no solucionados mediante las propuestas conocidas en el arte previo y de gran necesidad en el campo técnico de aplicación del objeto de la invención, gracias a la inclusión en el dispositivo de un par de paredes del conducto de paso de muestra que se encuentran enfrentadas (preferiblemente ubicadas en los laterales de dicho conducto) y que están fabricadas en un material flexible que permite ejercer presión sobre las mismas, de tal manera que el paso de fluido definido por el conducto sufra modificaciones en cuanto a su geometría.

El dispositivo objeto de la invención está principalmente compuesto por los siguientes elementos:

a) Celda de microfluídica.

b) Ventana óptica desmontable, lo cual permite llevar a cabo distintos ensayos usando radiación electromagnética a distintas longitudes de onda simplemente reemplazando la ventana por una cuyas características ópticas permitan llevar a cabo el análisis con la longitud de onda requerida.

5

c) Medios de bombeo, como puede ser una bomba de jeringa.

d) Uno o varios adaptadores.

10 e) Sustrato sólido reemplazable, que se encuentra alojado en la parte inferior de la celda de microfluídica de manera accesible en el interior de un adaptador que rodea la celda de microfluidica; permitiendo su reposición o reemplazo para continuar análisis o cambiar de tipo de sustrato según el análisis a llevar a cabo.

15 La celda de microfluídica, en adelante celda, constituye preferentemente una única pieza, preferentemente fabricada en polidimetilsiloxano (PDMS) u otro material flexible y compresible, donde se acoplan tanto los dispositivos de entrada y salida del fluido como el sustrato SERS sólido y la ventana óptica. La parte central de la celda presenta una ranura estrecha que, junto con el sustrato SERS sólido y la ventana óptica,  
20 conforman el canal de microfluídica. El sustrato SERS sólido se coloca en la parte inferior de la celda, mientras que, en la parte superior, se sitúa la ventana óptica, permitiendo el acceso de la radiación electromagnética a la solución portadora de la muestra. Cada uno de los orificios laterales presenta el tamaño adecuado a los conectores que se usen para la entrada y salida del fluido. Estos conectores se  
25 conectan por medio de tubos flexibles a una jeringa (u otro dispositivo de dispensación de líquidos) y el flujo que circula por el canal se controla con una bomba de jeringa (u otro medio de bombeo). El flujo de solución portadora de la muestra que discurre por el canal de microfluídica debe ser laminar, para asegurar un enfoque correcto del láser utilizado para realizar espectroscopía Raman. Por tanto, los valores de flujo  
30 empleados dependen de la densidad y viscosidad del fluido, así como del tamaño del canal, que, en el dispositivo objeto de esta invención, es regulable.

Para garantizar el correcto sellado del canal de microfluídica evitando fugas del líquido y para la realización de espectroscopía SERS, la celda se introduce en un  
35 adaptador principal, preferentemente de metal u otro material rígido. Dicho adaptador principal se compone de dos partes que constituyen un macho y una hembra. El

macho se encuentra en la parte inferior y presenta un resalte con el mismo tamaño y forma que el sustrato SERS sólido, mientras que la hembra (parte superior del adaptador) presenta un rebaje con el mismo tamaño y forma que aquellos de la celda de microfluídica. Ambas partes se ensamblan mediante unos primeros medios de fijación regulable definidos preferentemente en la hembra de manera que, una vez que la celda, el sustrato SERS y la ventana óptica están colocados entre las dos partes del adaptador, se ejerce presión sobre la celda sellando el canal de microfluídica. La parte superior del adaptador presenta una ranura en la misma posición que el canal de microfluídica que permite iluminar el canal con un láser para realizar espectroscopía SERS.

Adicionalmente a dichos primeros medios de fijación regulables definidos en la hembra, los cuales como ya se ha indicado están adaptados para sellar el canal; se dispone de unos segundos medios de fijación regulables destinados a permitir ejercer presión sobre un adaptador auxiliar alojado en el hueco de la celda, donde dichos segundos medios de fijación regulables a su vez permiten poder ejercer presión sobre la ventana óptica y por tanto localmente sobre la celda. Dicho adaptador auxiliar se utiliza para variar el tamaño del canal de forma continua y, para evitar dañar la ventana óptica por la presión ejercida, estando preferentemente fabricado en un material que no raye ni dañe la ventana, preferentemente de politetrafluoroetileno (PTFE), que es quien ejerce la presión sobre la ventana. Asimismo, dicho adaptador auxiliar posee una ranura en la misma posición que el canal de microfluídica, que permite iluminar el canal con un láser para realizar espectroscopía SERS.

Por último, el control continuo de la geometría del canal de microfluídica permite el ajuste de las condiciones de flujo, asegurando que en el canal el flujo sea de tipo laminar y, por tanto, asegurando el correcto enfoque óptico tanto de la luz incidente como de la dispersada por efecto SERS.

## **DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

Figura 1. Muestra un esquema de la celda de microfluídica de PDMS.

Figura 2. Muestra vistas superior, inferior y lateral de la celda de microfluídica de PDMS.

5      Figura 3. Muestra un esquema de las partes inferior y superior del adaptador metálico para sellar el canal de microfluídica.

Figura 4. Muestra la celda de microfluídica montada en el adaptador para sellar el canal de microfluídica.

10      Figura 5a y 5b. Respectivamente muestran: Figura 5a. una sección de la celda de microfluídica montada en el adaptador para sellar el canal de microfluídica. Figura 5b. vista donde se aprecian: el adaptador auxiliar, los segundos medios de presión regulable, la ventana óptica y el sustrato sólido.

15      Figura 6. Muestra microfotografías del canal de microfluídica en el adaptador para sellar el canal de microfluídica obtenidas a través de una ventana óptica emplazada en la parte superior de la celda de microfluídica.

20      Figura 7. Muestra un dibujo del dispositivo acoplado en un microscopio Raman.

Figura 8. Muestra una microfotografía del láser enfocado en el sustrato SERS sólido en la celda de microfluídica con un flujo de 0.5 ml/min de una disolución de bencenotiol en agua a una concentración de  $10^{-5}$  moles/l.

25      Figura 9. Muestra los espectros SERS obtenidos en la celda de microfluídica con un flujo de 0.5 ml/min de una disolución de bencenotiol en agua a una concentración de  $10^{-5}$  moles/l.

## 30      **REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION**

En una realización preferente del objeto de la invención, se tiene un dispositivo que, acoplado en un microscopio Raman, permite llevar a cabo análisis de muestras mediante SERS, u otra técnica de espectroscopía óptica, y que comprende una celda  
35      (1) de microfluídica (preferentemente de material flexible y compresible), con una ventana óptica (a) que preferiblemente se encuentra fijada de manera desmontable, y

unos adaptadores (3, b), y que adicionalmente se equipa con un equipo de dispensación de fluidos, que puede ser una bomba de jeringa.

5 A la vista de las figuras, se describe a continuación un ejemplo del modo de realización preferente del dispositivo objeto de esta invención, así como su uso para la detección de bencenotiol en una disolución acuosa a una concentración  $10^{-5}$  mol/l. Para ello se hace uso de una celda (1) de microfluídica como la que se muestra esquemáticamente en las Figuras 1 y 2. Dicha celda (1) se fabrica preferentemente en polidimetilsiloxano (PDMS) y comprende un canal (11) de microfluídica de sección  
10 preferiblemente cuadrada de 1 mm de lado. Como ventana óptica (a), se hizo uso de una ventana circular de sílice fundida de 1 mm de espesor y 10 mm de diámetro. Como sustrato (5) SERS sólido, se emplearon nanoestructuras de plata que fueron depositadas mediante "sputtering" en vacío sobre un filme fino de PDMS soportado sobre un trozo silicio de  $18 \times 18$  mm<sup>2</sup> y 0.5 mm de espesor. El tiempo de depósito fue  
15 de 7.5 minutos a un ritmo de depósito de 1 nm/min.

Un adaptador (3) principal, que comprende un macho (32) y una hembra (31), se emplea para sellar el canal (11) de microfluídica mediante presión ajustable mediante unos primeros medios de fijación regulables (331). El canal (11) queda definido entre  
20 dos paredes laterales de PDMS generando así dicho canal (11) junto con una pared superior correspondiente a la ventana óptica (a) y una pared inferior correspondiente al sustrato (5) SERS sólido. Este adaptador (3) macho-hembra tiene, asimismo, a la vista de lo anterior, la función de sellar la celda (1) de microfluídica para evitar fugas; para ello, mediante los primeros medios de fijación regulables (331) y haciendo uso de  
25 presión mecánica controlada usando preferentemente ocho tronillos de métrica seis, se fijan de forma homogénea macho (32) y hembra (31), preferiblemente mediante una llave dinamométrica, evitando así fugas.

Asimismo, se tiene un adaptador auxiliar (b) que se puede utilizar para variar el  
30 tamaño del canal (11) de microfluídica y que preferentemente está fabricado en politetrafluoroetileno (PTFE). Dicho adaptador auxiliar (b) cumple una doble función, por un lado, distribuye de forma más homogénea la presión ejercida por los primeros medios de fijación regulables (331) y, por otro lado, protege la ventana óptica (a) frente a daños provocados por la hembra del adaptador principal (31), una vez se ejerza  
35 presión sobre la celda (1) mediante los primeros medios de fijación regulables (331). Además, el adaptador auxiliar (b) posee una ranura en la misma posición que el canal

(11) de microfluídica, ranura que permite iluminar el canal con un láser para realizar espectroscopía SERS, u otro tipo de fuente para realizar cualquier otro tipo de espectroscopía óptica.

5 Mediante unos segundos medios de fijación regulables (332) que atraviesan la hembra (31) se procede a ejercer presión controlada sobre el adaptador auxiliar (b) alojado en el hueco (2) de la celda (1), de tal manera que se puede ejercer presión sobre la ventana óptica (a) y, por tanto, localmente sobre la celda (1). Mediante estos segundos  
10 medios de fijación regulables (332), fue posible regular el tamaño del canal (11) de microfluídica de forma continua entre 1 mm y 0.1 mm. En la Figura 6 se muestran microfotografías del canal (11) con distintos tamaños.

Una vez ensamblados, la celda (1) de microfluídica, la ventana óptica (a), el segundo adaptador (b) y el sustrato (5) SERS sólido, una vez fijado el adaptador (3), se tiene un  
15 resultado como el que se muestra en la Figura 3; donde la hembra (31), que se ubica en la parte superior del dispositivo, presenta una ranura (34) que queda ubicada alineada en la misma posición que el canal de microfluídica (11).

Como conectores para la entrada y salida del fluido, se emplearon adaptadores Luer macho cónicos a conectores de manguera estriados de 3/32 de pulgada de diámetro  
20 fabricados en polipropileno. Los conectores de manguera estriados se conectaron a tubos de silicona flexibles de 3/32 de pulgada de diámetro interior y 5/32 de pulgada de diámetro exterior. Uno de estos tubos se acopló a una jeringa de plástico de 10 ml. Dicha jeringa se colocó en una bomba de jeringa modelo NE-300 de la marca New Era  
25 Pump Systems, Inc. para controlar el flujo a través del dispositivo.

El dispositivo completo ensamblado se colocó sobre la plataforma de un microscopio Raman modelo InVia Reflex de la marca Renishaw como se muestra en la Figura 7. Para el enfoque del láser, se utilizó un objetivo de magnificación 50 con una apertura  
30 numérica de 0.35. La longitud de onda del láser empleado es de 514.5 nm. El flujo de la disolución de bencenotiol en agua a una concentración de  $10^{-5}$  mol/l fue de 0.5 ml/min y se monitorizó la región espectral correspondiente al modo de tensión del enlace carbono-carbono del bencenotiol, que aparece a  $1574\text{ cm}^{-1}$ . Dicha región espectral se monitorizó de forma continua cada 25.6 segundos, como se muestra en la  
35 Figura 9.

## REIVINDICACIONES

1. Dispositivo microfluídico, que comprende:

- 5 a. una celda (1) de microfluídica, que comprende al menos una entrada de flujo y al menos una salida de flujo,
- b. un canal (11) de microfluídica, definido en la celda (1), entre la entrada de flujo y la salida de flujo, y por el cual discurre la muestra en una solución portadora,
- c. un sustrato (5) SERS sólido ubicado en el interior de la celda (1), y
- 10 d. una ventana óptica (a) alojada en un hueco (2) de la celda (1) y destinada a permitir la iluminación de la solución portadora por parte de una radiación electromagnética,

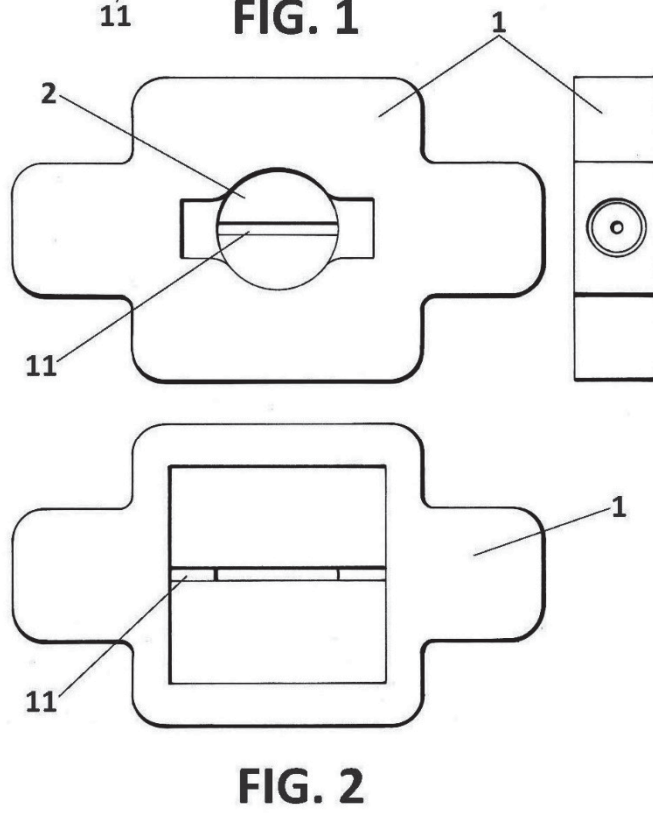
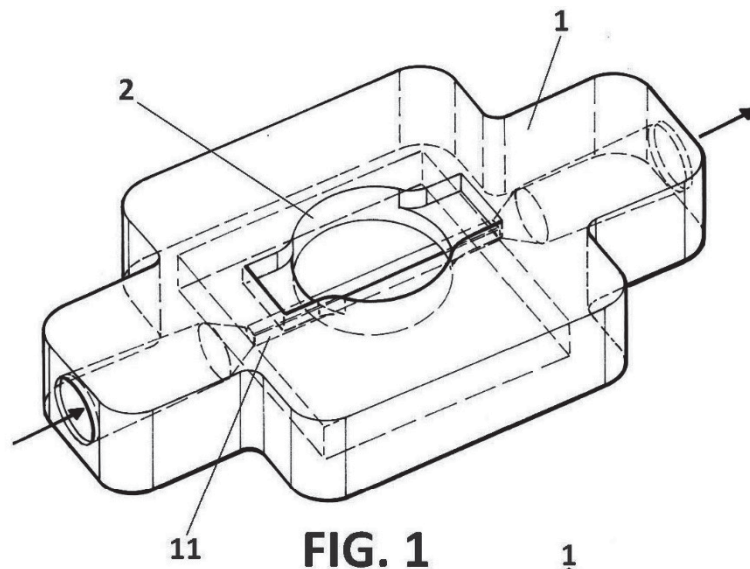
estando el dispositivo caracterizado por que comprende adicionalmente:

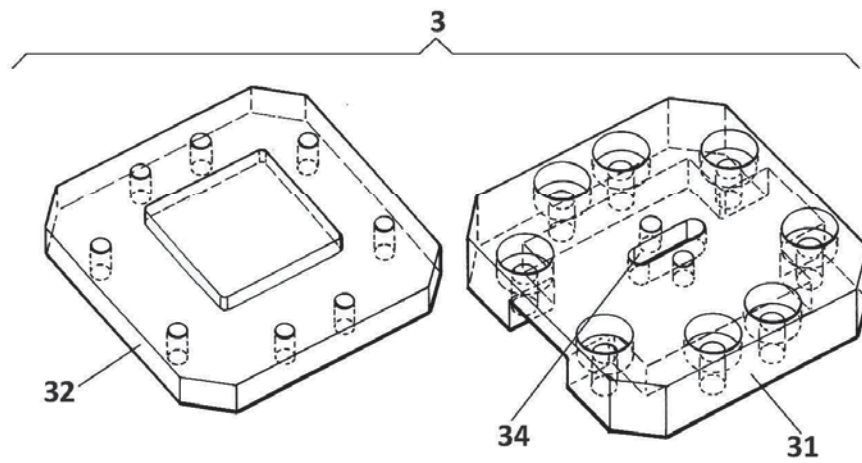
- e. un adaptador principal (3) que comprende:
  - 15 i. una hembra (31), ubicada sobre la celda (1), y que a su vez comprende una ranura (34) destinada a permitir el paso de luz a través de la hembra (31), estando la hembra (31) ubicada de tal manera que la posición de la ranura (34) permite el paso de luz a través de la ventana (a) de la celda (1),
  - 20 ii. un macho (32) ubicado debajo de la celda (1),
  - iii. unos primeros medios de fijación regulables (331) destinados a unir el macho (32) y la hembra (31), sellando la celda (1) de microfluídica para evitar fugas, y
  - 25 iv. unos segundos medios de fijación regulables (332), que atraviesan la hembra (31), y que están adaptados para ejercer presión controlada sobre un adaptador auxiliar (b) alojado en el hueco (2) de la celda (1), donde el adaptador auxiliar (b) se encuentra configurado para transmitir a la ventana óptica (a) y, por tanto, localmente sobre la celda (1), la presión recibida de
  - 30 los segundos medios de fijación regulables (332).

2. Dispositivo según la reivindicación 1, caracterizado por que los segundos medios de fijación regulables (332) están configurados para regular tamaño del canal (11) a través de la presión controlada.

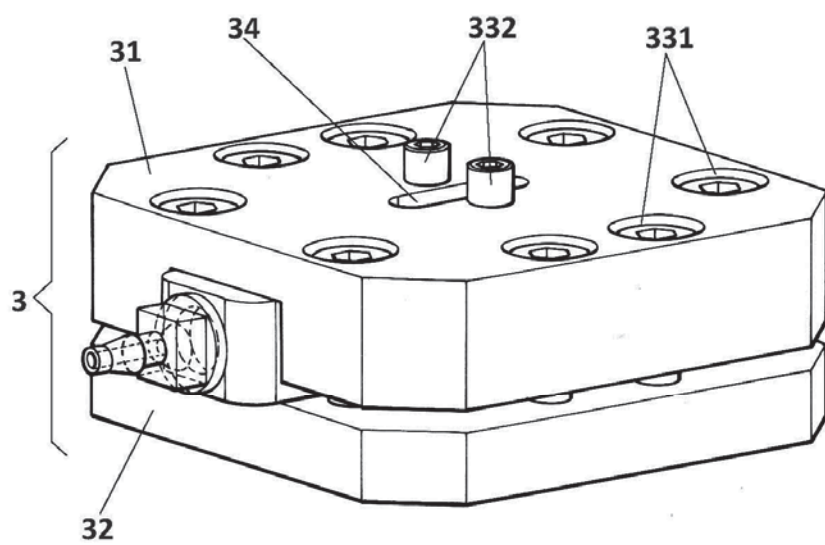
35

3. Dispositivo según reivindicación 1 caracterizado porque el adaptador auxiliar (b) se encuentra adicionalmente configurado para proteger la ventana (a).
- 5 4. Dispositivo según reivindicación 1 caracterizado porque la ventana (a) se encuentra fijada de manera desmontable.
5. Dispositivo según reivindicación 1 caracterizado porque el sustrato (5) se encuentra fijado de manera desmontable.
- 10

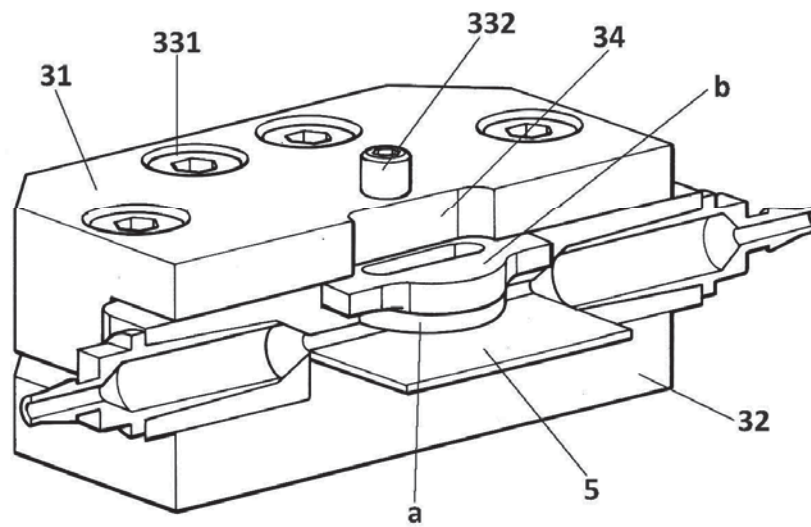




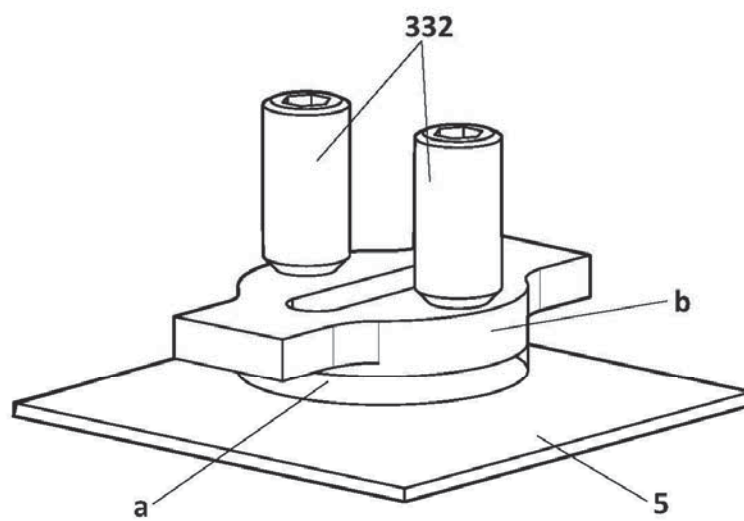
**FIG. 3**



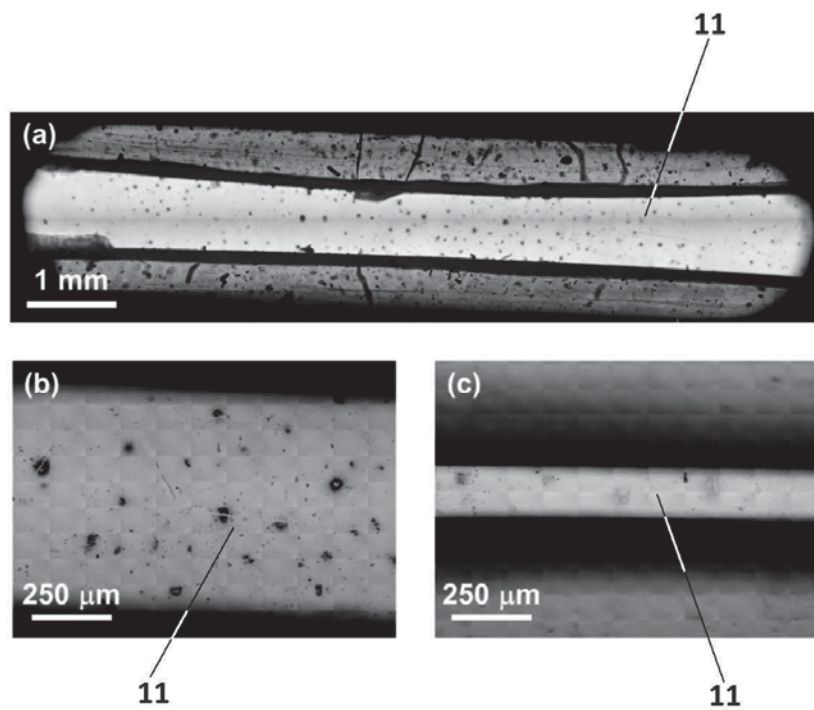
**FIG. 4**



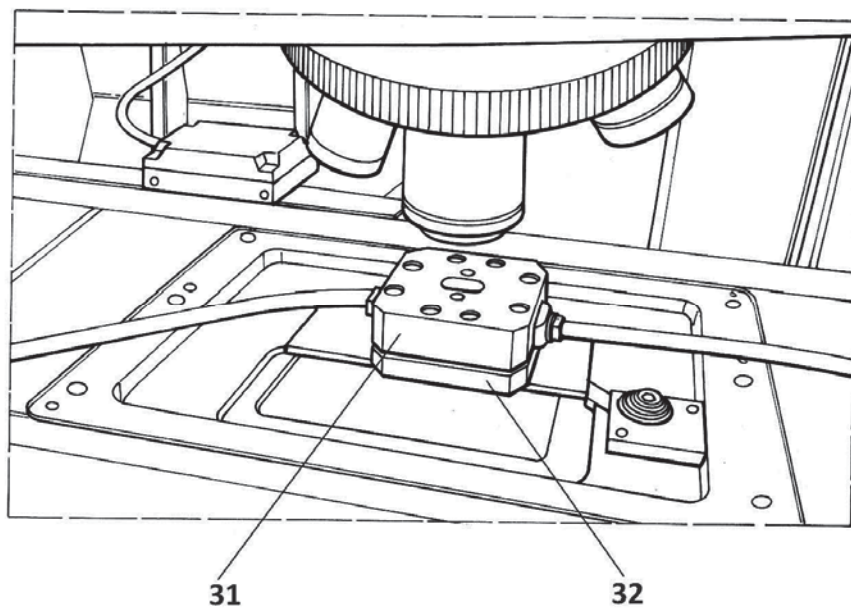
**FIG. 5a**



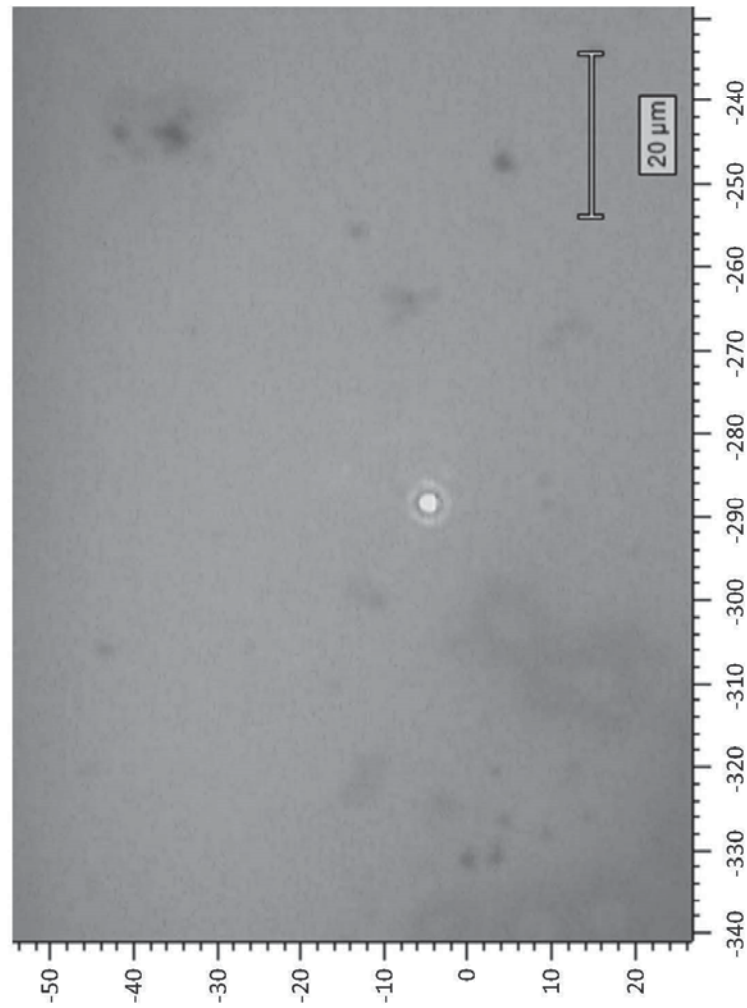
**FIG. 5b**



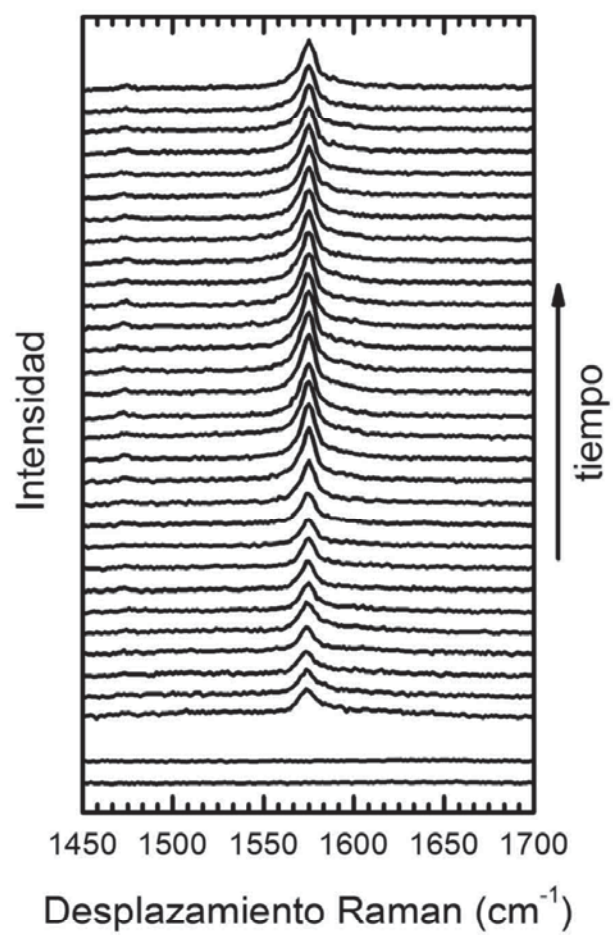
**FIG. 6**



**FIG. 7**



**FIG. 8**



**FIG. 9**