UNIVERSITAT ROVIRA i VIRGILI

Universitat Autònoma de Barcelona

DISSENY, FABRICACIÓ I AVALUACIÓ D'UN SENSOR PER A DETERMINACIÓ DE LITI EN SANG

TREBALL DE FI DE GRAU

AINHOA DE LA TORRE MONTAÑA

DIRIGIT PER LA DRA. MAGDALENA CONSTANTÍ GARRIGA

I EL DR. ANTONIO CALVO LÓPEZ

Grau de Biotecnologia

JUNY 2018

TARRAGONA

Aquest treball va ser realitzat al Grup de Sensors i Biosensors, Departament de Química, Facultat de Ciències, de la Universitat Autònoma de Barcelona (Bellaterra, Cerdanyola de Vallés).

Índex

1. Resum 1
2. Introducció 2
2.1. El liti en la salut 2
2.2. Evolució de la química analítica 3
2.3. Sensors químics 4
2.4. Potenciometria 5
2.5. Elèctrodes selectius d'ions 5
3. Hipòtesis i objectius 6
4. Mètode experimental 7
4.1. Materials i reactius 7
4.2. Fabricació 8
4.1.1. Disseny CAD 8
4.1.2. Microestructuració 9
4.1.3. Integració d'elèctrodes 9
4.1.4. Laminació per termocompressió 10
4.1.5. Inividualització i deposició de membrana 10
4.3. Muntatge experimental 11
5. Resultats i discussió 11
5.1. Optimització de les variables químiques i hidrodinàmiques del microsistema analític 11
5.1.1. Optimització en fons d'aigua 12
5.1.2 Optimització en fons de clorur de sodi 17
5.1.3 Optimització en fons de clorur de magnesi 19
5.1.4 Optimització en fons de hidrogen carbonat de sodi 24
5.2. Característiques analítiques del sistema 26
5.3. Correcció d'interferències 28
5.4. Anàlisi de mostres reals i sintètiques 30
6. Conclusió 32
7. Bibliografia 34
8. Autoavaluació 36

1. Resum

Actualment els pacients tractats amb sals de liti pateixen el risc d'un tractament inefectiu degut a l'estret rang terapèutic d'aquesta substància (0,7-1,5mM). Les sals de liti, principalment el carbonat de liti, són àmpliament usades en el tractament de desordres psicològics com la bipolaritat gràcies a ser estabilitzadores de l'estat d'ànim. La monitorització de la concentració de liti en sang es realitza amb instrumentació complexa i poc assequible. Els avenços científics en miniaturització permeten aconseguir un dispositiu que permeti l'anàlisi de liti en sang amb elevada precisió, assequible i de petit tamany.

En aquest treball es dissenya, fabrica i avalua un dispositiu analític potenciomètric basat en la tècnica d'anàlisis per injecció en flux (FIA). S'utilitza la tecnologia del copolímer d'olefina cíclica (COC) i s'incorpora un elèctrode selectiu d'ió (ESI) específic per a liti.

Es proven diverses dissolucions acondicionadores que permetin aconseguir les condicions de treball adequades. De les quatre dissolucions utilitzades (aigua MiliQ, clorur de sodi, clorur de magnesi i hidrogen carbonat de sodi), l'hidrogen carbonat permet arribar a un compromís entre tots els paràmetres avaluats. A més a més, combinat amb un cabal de 1,91ml/min i un volum d'injecció de 225µl s'aconsegueix la linealitat en el rang terapèutic. D'aquesta manera s'optimitza el temps d'anàlisi, el consum de reactius i mostra i la qualitat dels resultats obtinguts.

La problemàtica de la interferència del sodi es pot veure solucionada amb el càlcul del coeficient de selectivitat i l'equació per mesurar liti amb la correcció de la interferència de sodi. Aquest dispositiu presenta les característiques per a determinar amb precisió la concentració de liti en sang, ja que l'estudi amb mostres sintètiques i reals no dona diferencies significatives entre el valor obtingut durant l'anàlisi i el present en la mostra.

Paraules clau: sensor, liti, optimització, anàlisi de sang

2. Introducció

2.1. El liti en la salut

El liti es un element químic caracteritzat per ser el més lleuger que és sòlid a temperatura ambient. En la natura es troba en forma de dos isòtops, ^{6}Li i ^{7}Li, però també existeixen formes artificials, ^{8}Li, ^{9}Li i ^{11}Li.[1]

S'utilitza com a tractament de diversos trastorns psicològics, sobretot el desordre maníac depressiu (bipolaritat).[1] És un estabilitzador de l'estat d'ànim, tot i que el mecanisme és desconegut.[2] Principalment s'administra oralment en forma de sals de liti, sobretot de carbonat de liti, en dosis d'entre 150 i 500mg.[1]

El rang terapèutic del liti és estret i es situa entre 0,7 i 1,5 mM.[3] Concentracions inferiors impliquen que el tractament sigui inefectiu, i a concentracions superiors és tòxic. Els efectes secundaris de la intoxicació per liti són múltiples, amb una probabilitat de mort inferior al 1%. En els casos més lleus els pacients pateixen debilitat, tremolor, atàxia suau, baixa capacitat de concentració i diarrea. Una major intoxicació causa vòmits, debilitat, atàxia suau, baixa capacitat de concentració, diarrea i major tremolor respecte als casos lleus d'intoxicació. Els efectes secundaris més problemàtics, degut al seu caràcter potencialment irreversible, són de tipus neurològic, destacant la disfunció cerebel·losa.[2]

Degut a les conseqüències que presenta la intoxicació aguda per liti, és important la monitorització dels nivells d'aquest en sang dels pacients afectats en intervals curts de temps, per tal de controlar el procés d'eliminació total. Hi ha diverses tècniques que poden ser utilitzades per a fer a aquesta mesura. Inicialment es van usar l'espectrometria d'emissió de flama (FES) i l'espectrometria d'absorció atòmica de flama (FAAS).[4] Més endavant es van desenvolupar els elèctrodes selectius d'ions (ESI) específics per a liti, en el qual es basa el dispositiu que es presenta en aquest treball.

Entre els dos mètodes de flama no s'observen grans diferències, i s'escolliria el FES com a millor opció degut a ser menys costós i fàcil d'usar. A més a més, al comparar FAAS amb FAES (espectrometria d'emissió atòmica de flama) tampoc s'observen diferències significatives en referencia a precisió i exactitud.[5]

No obstant això, per tal de duu a terme aquests anàlisis es necessiten equips costosos que només són assequibles per part d'hospitals importants. Els microsistemes analítics basats en ESI són una alternativa viable que permetria disminuir els costos de l'equip, fent-lo assequible per a instal·lacions mèdiques més petites o amb menys recursos, així com permetre un nivell elevat d'automatització i autonomia, podent disposar d'un punt de control al costat del pacient; els anomenats analitzadors point-of-care (POC).

Per tant, la determinació de liti en sang mitjançant ESI és la més fàcil i precisa, tot i presentar el desavantatge de veure's afectada per la presència de interferents, ja siguin ions interferents o la selectivitat de la membrana de l'elèctrode.[4]

2.2. Evolució de la química analítica

En els últims anys la química analítica ha patit grans canvis degut als avenços científics i tecnològics. D'aquesta manera s'ha pogut aconseguir l'obtenció de resultats amb una elevada precisió i exactitud en temps real. Una de les principals causes d'aquest avanç ha sigut la capacitat d'integrar els mètodes analítics, és a dir, d'unir les diverses operacions unitàries en un únic procés analític. D'aquesta integració neixen els sistemes d'anàlisi total (TAS). Degut als diversos inconvenients que presenten, s'ha procedit a miniaturitzar els sistemes analítics, apareixent així els microsistemes d'anàlisis total (μTAS).[6]

Inicialment es va utilitzar silici com a material base per a la fabricació dels dispositius. Tot i presentar múltiples avantatges, com la fabricació en massa o la unió hermètica entre capes, els seus inconvenients van fer que disminuís el seu ús en front dels polímers. Entre aquests inconvenients trobem l'elevat cost econòmic, la impossibilitat d'obtenir estructures 3D i la necessitat d'ús de sales especialitzades (sales blanques). Els polímers, entre els que podem trobar el copolímer d' olefina cíclica (COC), es caracteritzen per una major resistència mecànica, per ser biocompatibles, per permetre l'obtenció d'estructures 3D i per la transparència del material, útil per a mètodes òptics. També són de gran ús les ceràmiques verdes, o Low Temperature Co-fired Ceramics (LTCC). Un punt fort d'aquest material és la resistència tèrmica i la capacitat d'integrar sistemes electrònics. En canvi la seva baixa biocompatibilitat i la seva elevada fragilitat en són inconvenients destacables.[7]

Per altra banda, les tècniques de flux continu, com l'anàlisi per injecció en flux (FIA), ens permeten connectar les diferents operacions unitàries del procediment entre si. Aquesta tècnica consisteix en introduir un petit volum de mostra per un canal pel que circula una dissolució portadora, la qual impulsarà la mostra cap a un detector. Durant el recorregut la mostra es barrejarà amb una o diverses dissolucions, podent-se fer si calen diferents tractaments de la mostra automàticament, de manera que hi ha una circulació continua de totes les substàncies.[6]

Les tècniques FIA ofereixen diversos avantatges respecte altres mètodes com per exemple les sondes, on s'ha de submergir contínuament l'elèctrode en la solució. Destaquen la disminució del volum de mostra utilitzat, l'augment en la quantitat de mostres analitzades per unitat de temps, la disminució del temps de residencia, la facilitat de canvi entre mostres, la reproductibilitat i la fàcil automatització.[8]

2.3. Sensors químics

Un sensor químic és un dispositiu analític amb la capacitat de generar una resposta analíticament útil a partit d'informació química. Respon de manera selectiva a un analit i per això s'utilitzen per a la mesura de paràmetres de tipus físic, químic o biològic.

S'estructura en tres parts (Figura 2.1), sent la primera l'anomenat element de reconeixement. És el responsable de generar una senyal primària com a resultat de la interacció amb l'analit concret de la mostra. La segona part és el transductor, que transforma el senyal primari generat per l'element de reconeixement en un senyal secundari. Mentre que el senyal primari pot ser de múltiples tipus, com per exemple electroquímic, òptic o tèrmic, el senyal secundari és principalment de tipus elèctric. Per últim es troba l'amplificador del senyal, que pot no ser present en tots els dispositius. Juntament amb l'amplificador es troba el processador, on el senyal secundari és processat per obtenir informació analíticament útil.[7]

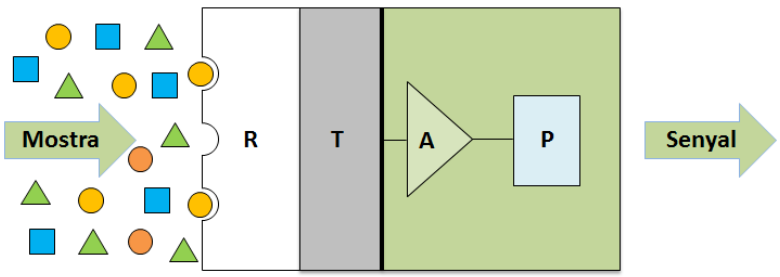


Figura 2.1. Estructura d'un sensor químic. R: receptor, T: transductor, A: amplificador, P: processador

2.4. Potenciometria

La potenciometria és una tècnica basada en la diferencia de potencial que s'estableix entre la superfície d'un elèctrode de referència i un elèctrode indicador. Cal especificar que aquesta mesura es fa sota condicions de corrent gairebé nul·les. L'elèctrode de referència es caracteritza per tenir un potencial constant i conegut, que no varia a causa de la composició de la dissolució usada. Al seu torn, el potencial de l'elèctrode indicador si varia proporcionalment amb la concentració de l'analit. Aquest potencial es pot relacionar amb la concentració de l'analit mitjançant la equació de Nernst, permetent així obtenir la concentració de l'analit en una mostra o estudiar el canvi de concentració d'aquest al llarg del temps.[7]

$$E_M = E^0 + \frac{RT}{z_i F} \cdot ln\, a_i$$

Equació 2.1.: Equació de Nernst

Podem observar a l'equació de Nernst en l'equació 2.1. **E** correspon al potencial del elèctrode (mV), $\mathbf{E^0}$ al potencial estàndard de l'elèctrode quan l'activitat de l'element electroactiu és la unitat (mV), **R** a la constant dels gasos $(8{,}314\ \mathrm{J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}})$, **T** a la temperatura (K), **F** a la constant de Faraday $(9{,}649 \cdot 10^4\ \mathrm{C \cdot mol^{-1}})$, $\mathbf{z_i}$ a la càrrega de l'anàlit i $\mathbf{a_i}$ a l'activitat de l'analit.

2.5. Elèctrodes selectius d'ions

Els elèctrodes selectius d'ions o ESI són elèctrodes selectius típicament utilitzats en potenciometria. Els ESI de membrana polimèrica estan formats per membranes permselectives que incorporen un portador mòbil, l'element de reconeixement o ionòfor, dissolt en un solvent específic.[7] Una membrana permselectiva és aquella que només permet el pas d'un ió concret, en aquest cas el liti.[9] El ionòfor té la capacitat

d'interaccionar amb l'analit present a la mostra de manera selectiva i reversible, generant un potencial de membrana. Degut a que aquest tipus de membrana no són específiques, en alguns casos poden ser permeables a substàncies presents en la dissolució que no són l'analit d'interès, els anomenats interferents.[7]

Les membranes polimèriques estan compostes per diferents elements: el ionòfor, el polímer i el plastificant. També pot afegir-se un additiu en els casos en que sigui necessari, ja que millora la selectivitat en front de possibles interferents presents en la mostra.

El ionòfor és l'encarregat de reconèixer i interaccionar amb l'analit present en la mostra. Hi ha dos famílies de ionòfors, diferenciades per al seva càrrega: ionòfors neutres i ionòfors carregats. En el primer cas trobem ionòfors caracteritzats per crear complexos carregats d'alta selectivitat solubles en el medi orgànic de la membrana. Poden ser neutres o sintètics. En el cas dels ionòfors carregats, aquests formen parells iònics que poden ser extrets al medi orgànic de la membrana.

El polímer és el responsable de formar una matriu que actuï com a suport sòlid per als diversos components de la membrana. Destaca per la elevada estabilitat mecànica i química. S'usa principalment el clorur de polivinil (PVC) com a polímer.

Un plastificant adequat ha de poder solubilitzar els diversos components de la membrana, tenir una viscositat i una constant dielèctriques apropiades i ha de ser químicament inert i estable.

Per últim, l'additiu permet reduir el temps de resposta de l'elèctrode, estabilitza els complexos de càrrega gracies a que la seva càrrega és contraria a la de l'analit, augmenta la sensibilitat de l'ionòfor i disminueix la resistència elèctrica de la membrana.[6]

3. Hipòtesis i objectius

L'objectiu principal és el disseny, construcció i avaluació d'un dispositiu analític per a la determinació de liti en sang de pacients tractats amb aquesta substància. En concret es tracta d'un microsistema potenciomètric que usa la tècnica FIA.

Aquest dispositiu permetria la determinació de liti en sang en tot tipus d'hospitals o centres mèdics gracies a la disminució del cost, tant de l'equip com de reactius i mostra, així com la disminució del temps d'anàlisi. A més a més, no requeriria l'ús per part de personal especialitzat.

En ordre d'assolir l'objectiu principal s'hauran de complir diversos objectius parcials, entre els que s'inclouen la fabricació del dispositiu, l'optimització del mateix per tal de que s'ajusti al rang terapèutic del liti i solucionar els possibles problemes d'interferents.

Per tant, la hipòtesi principal es que aquest dispositiu es capaç de determinar la concentració de liti amb exactitud.

4. Mètode experimental

4.1. Materials i reactius

S'utilitza la tecnologia de polímers fent servir el COC com a substrat per a crear el dispositiu que ens permeti la mesura de liti en sang. Aquest polímer presenta múltiples característiques que el fan ser la millor opció, entre les que es troben el baix cost, la simplicitat del procés de fabricació i la elevada resistència química front gran quantitat de base, àcids i dissolvents polars. El COC és en concret un copolímer format per unitats d'etilè i norbornè.

La característica més atractiva d'aquest material és la possibilitat de formular les diferents capes amb proporcions diferents dels monòmers, cosa que implica que cada capa presenta una temperatura de transició vítria (Tg) diferent, amb una relació lineal entre tant per cent de norbonè i Tg. Això permet que les capes amb Tg més baixes serveixin de capes segellants, ja que es tornen viscoses a una Tª inferior, mentre que les capes amb Tg superior s'utilitzen com a capes estructurals on es mecanitzen tots els motius del disseny. D'aquesta manera s'eviten els problemes que experimenten altres materials a causa de la necessitat d'utilitzar substàncies segellants o segellat tèrmic del mateix material.

En concret el dispositiu es fabrica amb diverses plaques de COC comprades a l'empresa TOPAS Advanced Polymers (Florence, KY, USA). S'usen 2 tipus de placa: Topas 5013 de

1mm de gruix i Topas 8007 de 25µm de gruix, la primera s'utilitza com a capa estructural y la segona com a capa segellant.

El suport conductor de l'ESI consisteix en una pasta de screenprinting de grafit Electrodag PE407A de la casa Acheson. La pasta de Ag/AgCl C2030812D3 per fabricar l'elèctrode de referència, prové de la casa Gwent group.

Els reactius usats per a les múltiples dissolucions han sigut comprats a l'empresa Sigma Aldrich (Alemania). En concret s'utilitza KCl, LiCl, NaCl, $MgCl_2$ i $MgHPO_4$. També s'usa $NaHCO_3$ (Panreac). Per a la preparació de les dissolucions s'usa aigua MiliQ.

4.2. Fabricació

El procés de fabricació del dispositiu s'estructura en 5 etapes, sent la primera el disseny del dispositiu amb el software CAD, la segona la microestructuració, la tercera la integració dels elèctrodes, la quarta la laminació per termocompressió i per últim la individualització dels dispositius i la deposició de la membrana, obtenint així el dispositiu final.

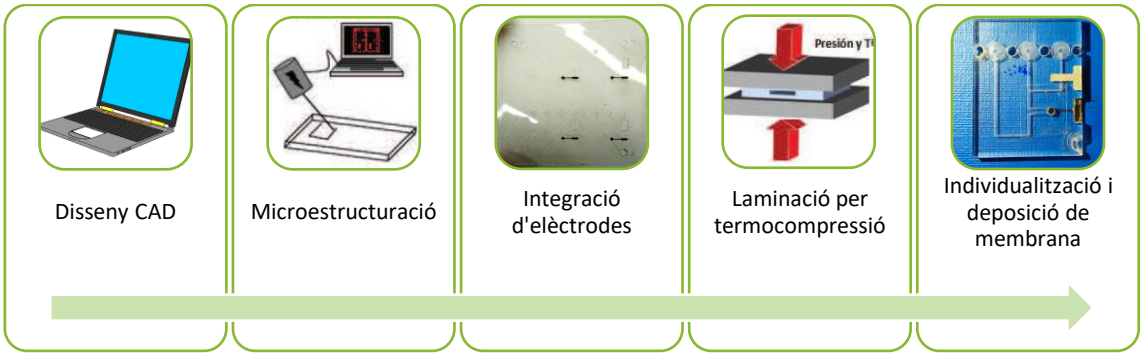


Figura 4.1. Esquema general del procés de fabricació d'un dispositiu analític mitjançant COC

4.1.1. Disseny CAD

Els software de disseny CAD permet elaborar el disseny de les múltiples capes del dispositiu de forma independent. S'utilitza un disseny de cinc capes, utilitzant les que presenten menor Tg com a capa intermitja per a segellar les altres tres capes estructurals. D'aquesta manera s'obté un dispositiu tridimensional (Figura 4.2.). Degut a que es tractarà d'un sistema modular també es dissenya un mesclador.

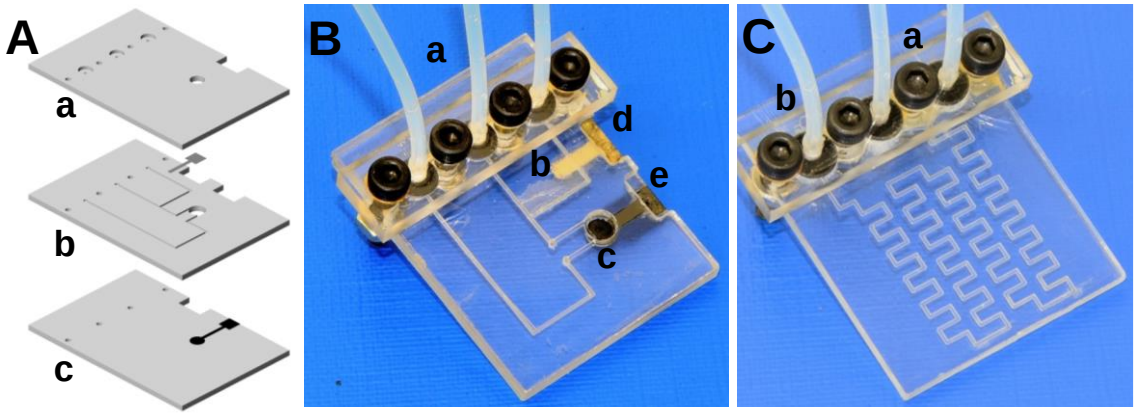


Figura 4.2. A) Disseny del mòdul de detecció de liti format per 3 capes de COC de 1mm d'espessor: (a) capa superior que conté les entrades i l'elèctrode de referència serigrafiat; (b) capa intermèdia que conté la fluídica; (c) capa inferior que conté dipositat el suport conductor de grafit sobre el qual es diposita la membrana de PVC; Entre cada capa hi ha una capa segellant B) Imatge real del mòdul de detecció: (a) connectors fluídics; (b) elèctrode de referència de Ag/AgCl; (c) càmera de detecció amb l'elèctrode selectiu d'ió liti; (d) i (i) connectors elèctrics dels respectius elèctrodes. C) Imatge real del mòdul de mescla: (a) entrades que es barregen; (b) canal de sortida resultant de la mescla.

4.1.2. Microestructuració

Les tècniques de microestructuració permeten la generació d'estructures i motius en el substrat, com són els microcanals o la càmera de detecció. Hi ha diverses tècniques que es poden utilitzar, però la més usada per a prototipat ràpid de COC és el microfresat. Consisteix en l'ús d'una eina de tall com una fresa o una broca per transferir el disseny en el substrat. Aquesta eina elimina part del substrat per poder construir els motius específics.

Els dos mòduls fabricats, mescla i detecció, contenen uns canals microfluídics de 0,4 x 0,3 mm. La cambra de detecció on es troba l'ESI té un diàmetre de d'1,8 mm. Aquests elements es van mecanitzar en les capes de COC amb una microfresadora de control numèric per computadora (CNC) LPKF Protomat C100/HF.

4.1.3. Integració d'elèctrodes

Al final del procés anterior obtenim les diverses capes del dispositiu amb els motius mecanitzats. A continuació es procedeix a afegir la pasta de grafit i l'elèctrode de plata. La pasta de grafit funciona com a transductor i de contacte elèctric, mentre que l'elèctrode de plata és l'elèctrode de referència del dispositiu. S'utilitza la tècnica de serigrafiat, ja que és l'alternativa de menor cost, més ràpida i senzilla. Consisteix en usar una malla que conté el disseny desitjat en negatiu i a través de la qual es fa passar la pasta del material específic que es vol dipositar. Un cop aplicada la pasta es deixa assecar.

4.1.4. Laminació per termocompressió

Un cop obtingudes les tres capes que formaran el dispositiu amb tots els elements que en formen part integrats, és necessari unir totes les capes en un únic dispositiu. Com ja s'ha comentat amb anterioritat, el COC permet la formulació de les capes amb diferents Tg, de manera que la capa amb menor Tg actua com a capa de segellat entre les altres. Amb l'aplicació de pressió i temperatura superiors a la Tg d'aquesta capa es pot aconseguir un bon segellat sense provocar deformacions o obturacions dels canals. A la Figura 4.3. s'observa una de les capes que formaran el dispositiu abans de passar pel procés de termocompressió.

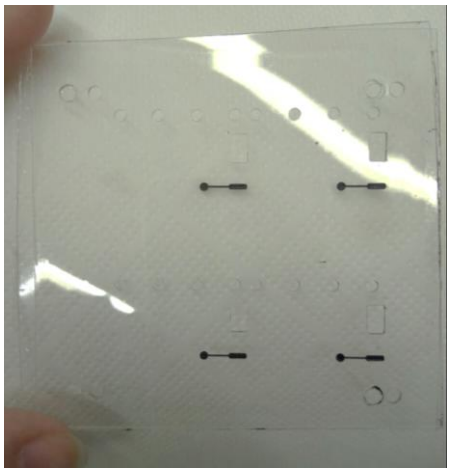


Figura 4.3. Capa del dispositiu abans del procés de termocompressió en la que s'observa l'elèctrode de grafit

S'usa una premsa hidràulica de compressió (Francisco Camps, Granollers, Spain). Aquesta consta de dues plaques d'acer que s'escalfen fins a la temperatura de 100ºC i una pressió de 4atm.

4.1.5. Inividualització i deposició de membrana

Per últim cal obtenir els dispositius individuals, ja que els dissenys generats per CAD inclouen més d'un dispositiu. Principalment s'utilitzen microfressadores. Els microanalitzadors construïts tenen unes dimensions aproximades de 33,8mm x 26,6mm x 2,6mm i pesen 2,2g. Al seu torn, el mesclador té unes dimensions de 26,6mm x 25,6mm x 1,6mm i pesa 1,4g.

Per tal de que l'elèctrode de grafit esdevingui un ESI cal dipositar la membrana selectiva per a l'analit específic, en aquest cas el liti. La composició de la membrana es mostra a la Taula 4.1., i va ser optimitzada en estudis anteriors[10]. Un cop feta la deposició és

necessari acondicionar els elèctrodes durant 8h en una solució de LiCl 0,1M, temps establert segons l'experiència del grup.

Tabla 4.1. Composició de la membrana de liti en % en pes

Membrana de liti	
Reactius	**Composició (% en pes)**
PVC	32,8
2-nitrofenil octil éter	64,7
K-TpClB	0,4
Lithium Ionophore III	2,6

4.3. Muntatge experimental

El muntatge experimental es basa en una bomba peristàltica, una vàlvula rotatòria de 6 vies, el microsistema modular analític i un potenciòmetre (Figura 4.4.). La bomba peristàltica permet propulsar les quatre solucions a través dels tubs de tefló fins a la vàlvula rotatòria. La mesura del potencial es fa mitjançant un potenciòmetre (TMI) que registre les dades en un ordinador mitjançant l'ús d'un software específic.

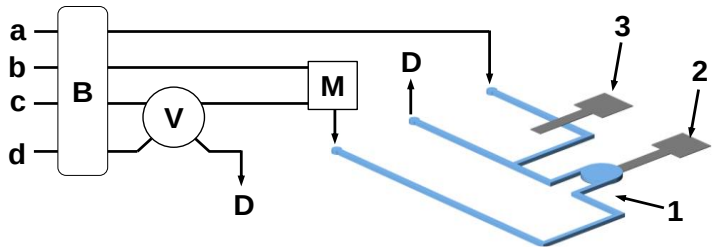


Figura 4.4. Muntatge experimental: (a) dissolució acondicionadora; (b) H2O MiliQ; (c) dissolucions estàndard de Li+; (d) KCl 0.1 M; (B) bomba peristàltica de quatre canals; (V) vàlvula rotatòria de sis vies; (M) mòdul de mescla; (D) residus; (1) càmera de detecció; (2) ESI de Li+; (3) elèctrode de referència.

5. Resultats i discussió

5.1. Optimització de les variables químiques i hidrodinàmiques del microsistema analític

Per tal d'obtenir un microanalitzador que serveixi en un futur per a l'anàlisi de liti en sang necessitem que presenti unes determinades característiques. Entre elles es troben principalment que la línia base sigui estable, cosa que s'aconsegueix ajustant la força

iònica i el pH, que el temps d'anàlisi, així com el consum de mostra i de reactius, siguin lo menors possible, i que hi hagi linealitat en el rang terapèutic.

Totes aquestes característiques dependran dels diferents paràmetres químics i hidrodinàmics del sistema analític. A continuació es mostrarà l'efecte que té sobre les característiques analítiques paràmetres com el cabal i el volum d'injecció així com la concentració dels diferents reactius i l'efecte dels interferents.

5.1.1. Optimització en fons d'aigua

En estudis anteriors es va avaluar la resposta de la membrana selectiva, arribant a la conclusió de que la utilitzada és la que permet obtenir millors resultats en les condicions de treball. [10] A més a més, la utilització de KCl com a dissolució auxiliar per a mantenir el potencial de l'elèctrode de referencia constant, també va ser descrita com la millor opció.[11] Especificar que durant aquest procés s'han utilitzat diversos sensors de liti amb les mateixes característiques.

La optimització en fons d'aigua permet orientar sobre quines són les millors condicions de treball respecte al cabal i el volum d'injecció (variables hidrodinàmiques). En el cas del volum d'injecció es van injectar triplicats de patrons de clorur de liti de concentració 0.1mM, 1mM i 10mM. La dissolució auxiliar usada va ser clorur de potassi 0,1M i el cabal es va establir en 1,36ml/min de manera arbitrària, tenint en compte l'experiència del grup d'investigació. En la figura 5.1. es mostren els resultats obtinguts, on es pot observar que les altures de pic són majors amb un volum d'injecció major. Tant un volum de 225µl com de 500µl donen valors similars.

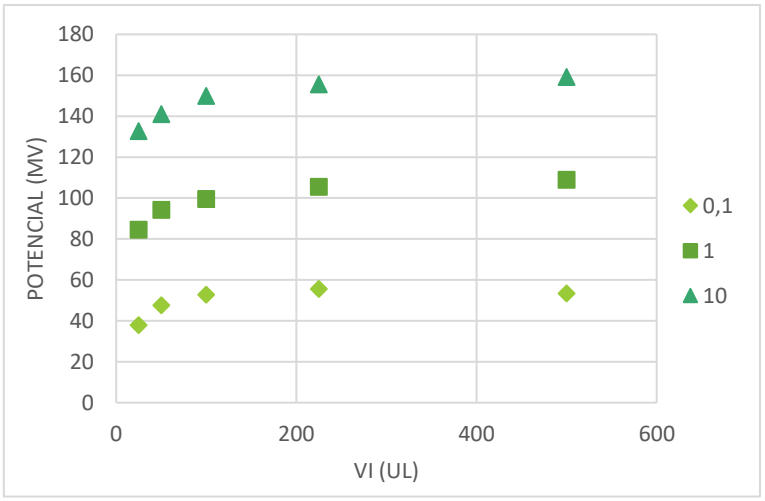


Figura 5.1. Optimització del volum d'injecció amb cabal de 1,36ml/min, on es representen les altures de pic (potencial) front el volum d'injecció (µl)

Si observem la pendent de les equacions derivades d'aquests calibrats (figura 5.2) podem concloure que en el rang entre 0,1mM i 10mM només obtenim linealitat per al volum d'injecció 500µl. Tot i així, el volum d'injecció 225µl presenta una recta que s'apropa a la linealitat, i degut a que el rang terapèutic es situa entre 0,7 i 1,5mM, aquest volum d'injecció podria ser l'adequat. D'aquesta manera es podria arribar a un compromís entre rang lineal, consum de reactius i mostra, i temps d'anàlisi. Un menor volum d'injecció implica menor temps d'anàlisi i per tant menor consum de reactius i mostra, i com s'ha esmentat amb anterioritat, és un dels objectius que es vol aconseguir.

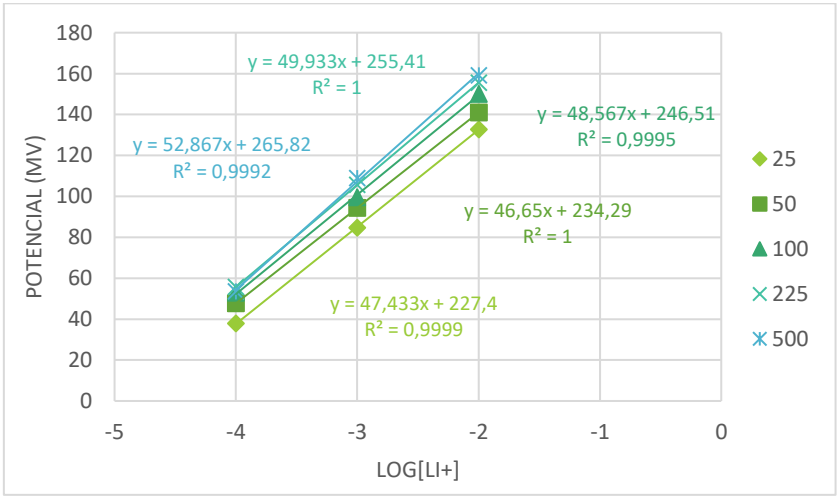


Figura 5.2. Rectes de calibrat resultants de la optimització del volum d'injecció amb cabal de 1,36ml/min

A continuació es duu a terme la optimització del cabal. Degut a que durant la optimització del volum d'injecció es va veure que els millors resultats s'obtenien amb

500µl és aquest el volum fixat. Es realitza el mateix procediment que en el cas anterior, amb els mateixos patrons i dissolució auxiliar. Els resultats es mostren a la Figura 5.3., on destaquen els cabals de 1,36ml/min i 4,08ml/min. El problema és que a cabals molt alts és difícil la detecció de concentracions baixes, i a cabals baixos el problema es l'elevat temps d'anàlisi.

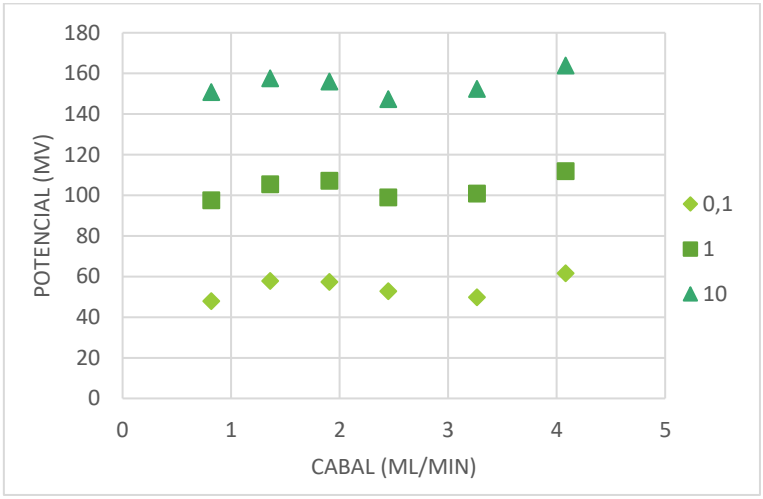


Figura 5.3. Optimització del cabal amb volum d'injecció de 500µl, on es representa les altures de pic (potencial) front el cabal (ml/min)

En la Figura 5.4. es mostra que el cabal de 4,08ml/min, 3,27ml/mini 0,82ml/min són lineals en el rang establert (amb el pendent que marca la llei de Nernst). Similarment al cas anterior, el cabal de 1,36ml/min i 1,91ml/min podrien ser lineals en el rang terapèutic. Per aquesta raó es procedeix a fer calibrats individuals amb les dades obtingudes.

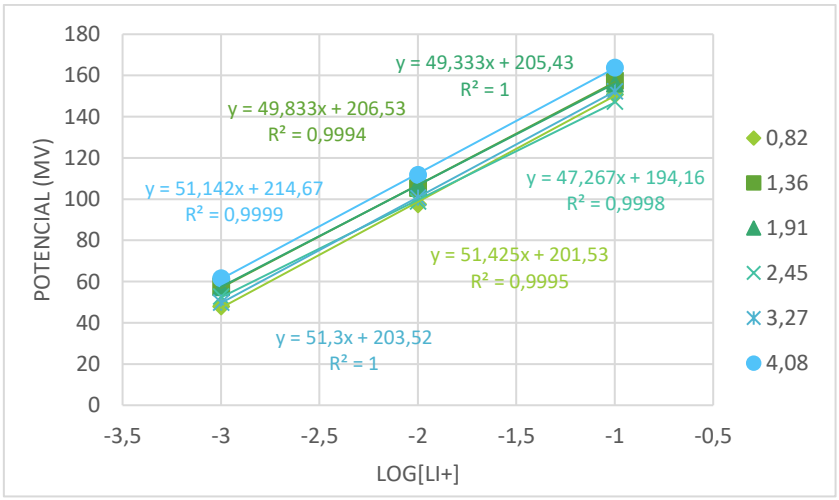


Figura 5.4. Rectes de calibrat resultants de la optimització del cabal amb volum d'injecció de 500µl

Els millors resultats optimitzant les variables hidrodinàmiques s'han obtingut amb els cabals de 1,36ml/min, 3,27ml/min i 4,08ml/min i els volum d'injecció 225 i 500µl, així que es comença realitzant un calibrat complert a 1,36ml/min i 500µl. S'usa la dissolució auxiliar de clorur de potassi i es fan dos injeccions de cada patró. Els resultats es mostren a continuació a la Figura 5.5.

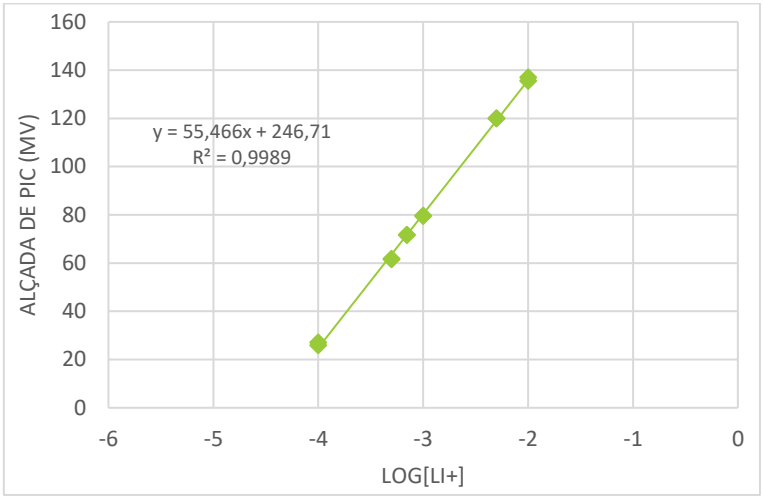


Figura 5.5. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de aigua MiliQ, cabal de 1,36ml/min i volum d'injecció de 500µl

Com ja s'havia vist durant les optimitzacions, sota aquestes condicions la linealitat s'observa en tot el rang, des de 0,1mM a 10mM. Tot i així, el temps d'anàlisi és elevat, així com el consum de mostra i reactius, ja que el patró més baix requereix 4 minuts per tornar a la línia base, i el més alt 8 minuts.

Per aquestes raons es duu a terme un calibrat amb el volum d'injecció de 225µl i mantenint el cabal de 1,36ml/min. Com s'observa a la Figura 5.6. el rang de linealitat és inferior al calibrat anterior, ja que en aquest cas és entre 0,5mM i 10mM. Aquest interval de linealitat s'ajusta més a les condicions reals en les quals volem mesurar el liti. A més a més, al baixar el volum d'injecció també disminueix el consum de mostra i de reactius. Tot i així, encara es requereix un elevat temps d'anàlisi, amb un temps de 3 minuts per al patró de menor concentració i 6 minuts per al major.

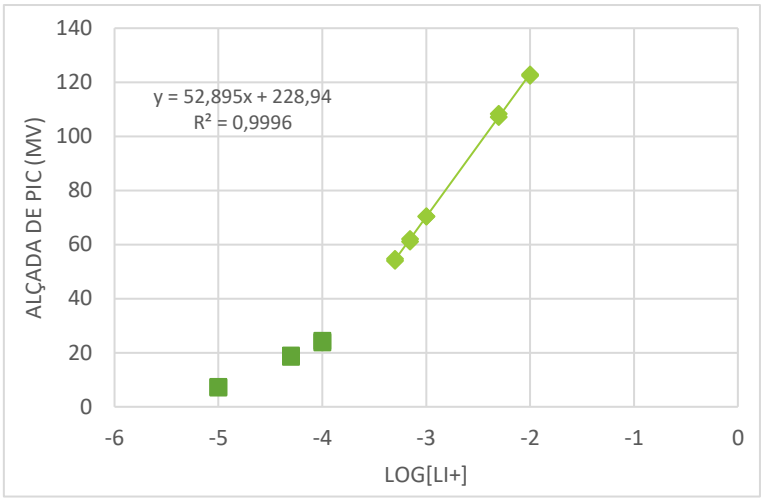


Figura 5.6. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de aigua MiliQ, cabal de 1,36ml/min i volum d'injecció de 225µl

A continuació es prova a augmentar el cabal a 4,08ml/min, amb 500µl, per tal de veure si es soluciona el problema del temps d'anàlisi. Els resultats es mostren a la figura 5.7. S'aconsegueix disminuir el temps d'anàlisi, a més de mantenir-se la linealitat des de 0,1mM.

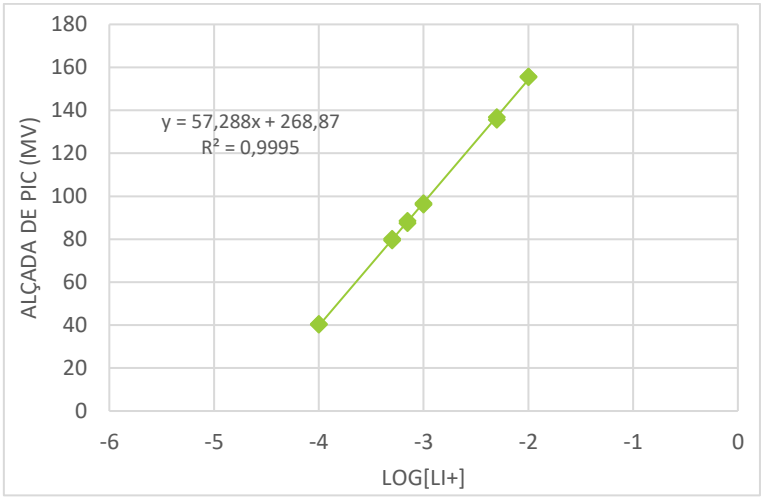


Figura 5.7. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de aigua MiliQ, cabal de 4,08ml/min i volum d'injecció de 500µl

Durant els diversos calibrats amb fons d'aigua s'havia observat la presència de pre-pics, que en aquestes condicions adquireixen alçades molt elevades. A la Figura 5.8. es mostra el calibrat corresponent a la Figura 5.7., on s'aprecien els pre-pics. Aquest fet es deu a la poca força iònica de l'aigua usada com a fons, i dificulta l'anàlisi. Per aquesta raó es

decideix canviar el fons a una dissolució amb sals. En primera opció es farà servir una dissolució de clorur de sodi.

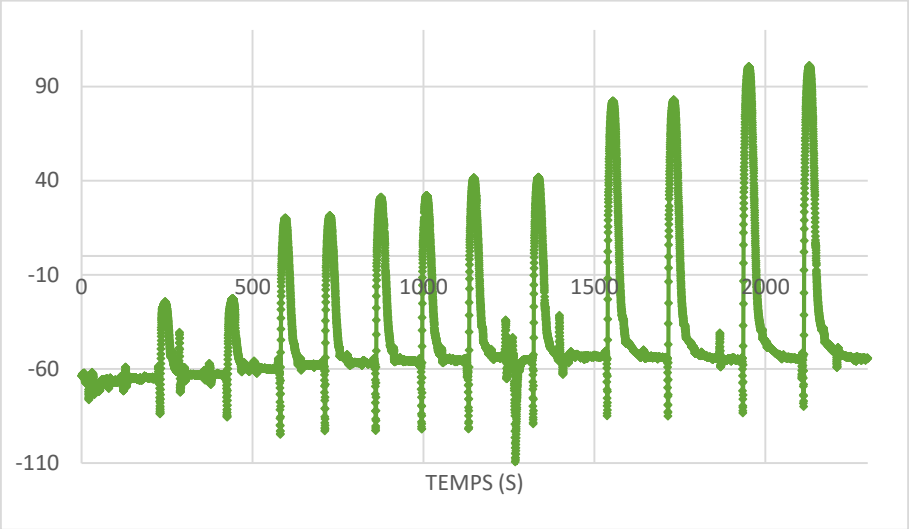


Figura 5.8. Calibrat amb solució acondicionadora de aigua MiliQ, cabal de 4,08ml/min i volum d'injecció de 500µl

5.1.2 Optimització en fons de clorur de sodi

Es decideix utilitzar aquesta dissolució com a dissolució acondicionadora perquè el sodi és el principal interferent de la membrana utilitzada en aquest sensor, i així es pot analitzar com es comporta el dispositiu en unes condicions més similars a les de la sang. A més a més, d'aquesta manera es manté la força iònica elevada i quan s'injectin els patrons o les mostres no s'observaran pre-pics deguts a un canvi brusc en aquest paràmetre. Es faran dos calibrats complerts amb un fons de 0,07M (meitat de la concentració plasmàtica de sodi en humans) i 0,15M (concentració plasmàtica de sodi) respectivament.

En el primer cas s'utilitza com a dissolució acondicionadora NaCl 0,07M i es mantenen el volum d'injecció en 500µl i el cabal en 1,36ml/min per poder comparar amb el cas anterior en el que s'usava com a fons l'aigua en les mateixes condicions. La Figura 5.8. mostra que es perd la linealitat en l'interval corresponent al rang terapèutic, ja que la linealitat comença a 5mM. La pèrdua de linealitat en aquest cas és causa de la interferència per sodi, ja que les alçades de pic són molt inferiors a les observades en fons d'aigua.

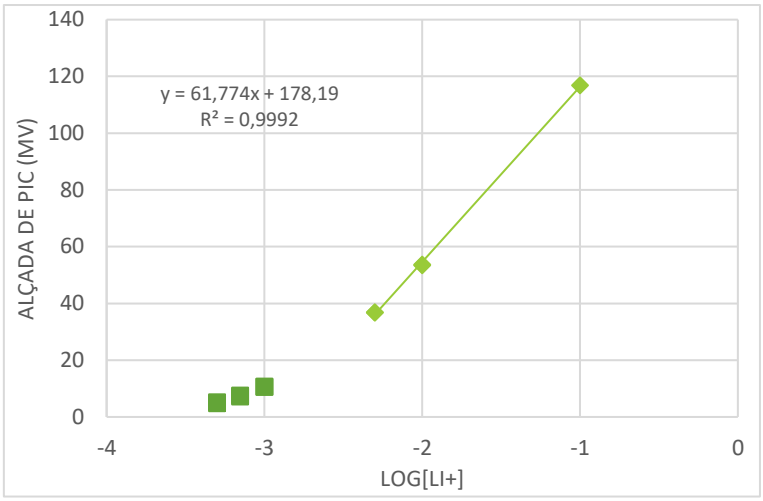


Figura 5.8. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de sodi 0,07M, cabal de 1,36ml/min i volum d'injecció de 500µl

Repetim el calibrat, canviant la dissolució acondicionadoraa a NaCl 0,15M i pujant el cabal a 1,91ml/min per a que el temps d'anàlisi sigui més ràpid. Com mostra la Figura 5.9. la linealitat comença encara a concentracions més altes, a 10mM. Això confirma que la presència del sodi és la causant de la pèrdua de la linealitat en el rang terapèutic.

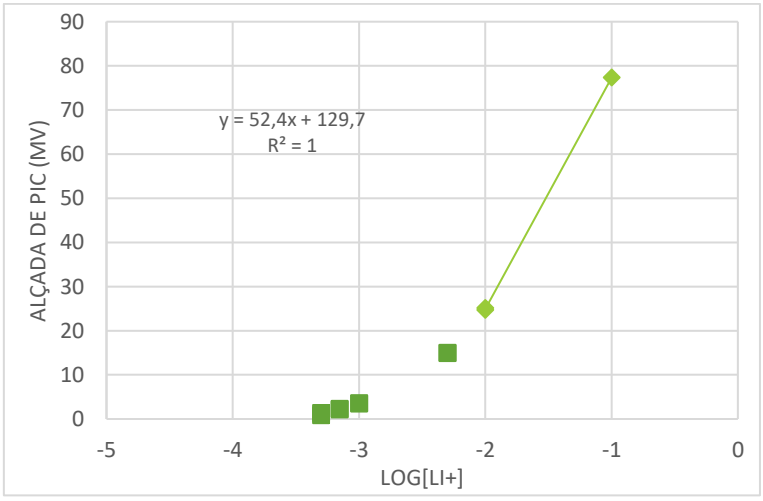


Figura 5.9. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de sodi 0,15M, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 500µl

Els calibrats en fons de clorur de sodi ens permeten arribar a la conclusió de que el sodi és un gran interferent en aquest tipus de membrana. Tot i així, la no presència de pre-pics indica que una solució amb major força iònica que l'aigua permet la desaparició dels pre-pics.

5.1.3 Optimització en fons de clorur de magnesi

Es decideix provar amb una dissolució de clorur de magnesi, ja que el magnesi és menys interferent que el sodi, i té més força iònica que l'aigua.[12] S'inicien els calibrats amb una solució de concentració 0,01M. Es prova a mantenir el cabal en 1,91ml/min, i es segueix amb el volum d'injecció de 500µl. A la Figura 5.10. veiem que el rang lineal comença en 0,1mM i amb una pendent similar al valor que marca l'equació de Nernst. La presència de pre-pics és superior a la observada amb la dissolució acondicionadora de clorur de sodi, però molt inferior a la observada en fons d'aigua. A més a més, les alçades de pic augmenten respecte a les observades amb clorur de sodi, encara distant però de les observades en aigua.

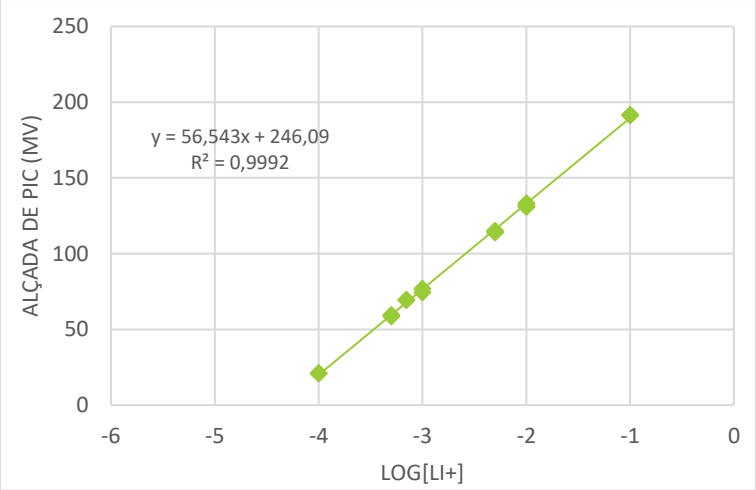


Figura 5.10. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi 0,01M, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 500µl

Ja que els nous resultats són satisfactoris, es prova a disminuir el volum d'injecció a 100µl, mantenint el cabal a 1,91ml/min, amb la intenció de reduir el temps d'anàlisi. Amb el volum d'injecció de 500µl es requereixen almenys 3 minuts, arribant als 7 minuts per als patrons de major concentració. L'interval de linealitat comença a 5mM, molt lluny del rang terapèutic (Figura 5.11.).

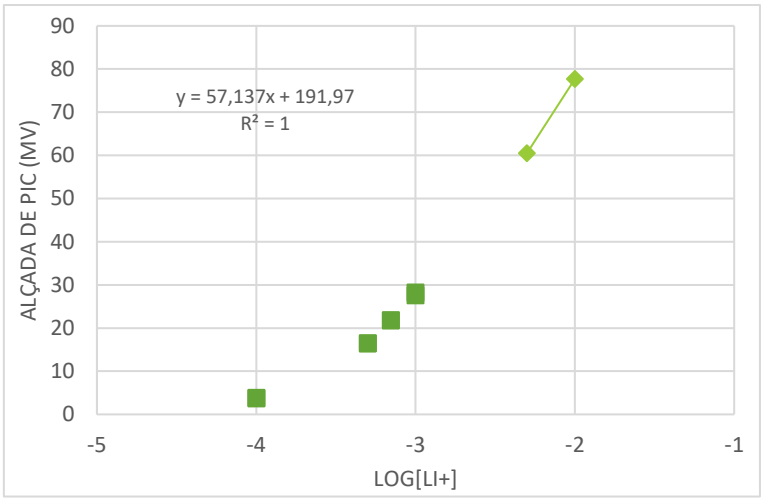


Figura 5.11. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi 0,01M, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 100µl

Per aquesta raó es redueix la concentració de clorur de magnesi a $1 \cdot 10^{-3}$M, per disminuir el possible efecte interferent que pugi tenir el magnesi i així aconseguir tenir el rang terapèutic dins del rang lineal. Conseqüentment disminuirà el temps d'anàlisi, fet que es tradueix en la reducció de la quantitat de reactiu i mostra usats. Així, es torna a provar amb el volum d'injecció de 100µl, baixant el cabal a 1,36ml/min per tal de compensar les variables. En aquest cas veiem en la Figura 5.12. que la pendent de la recta no s'ajusta al valor que marca l'equació de Nernst, però si s'observa linealitat des de 0.5mM.

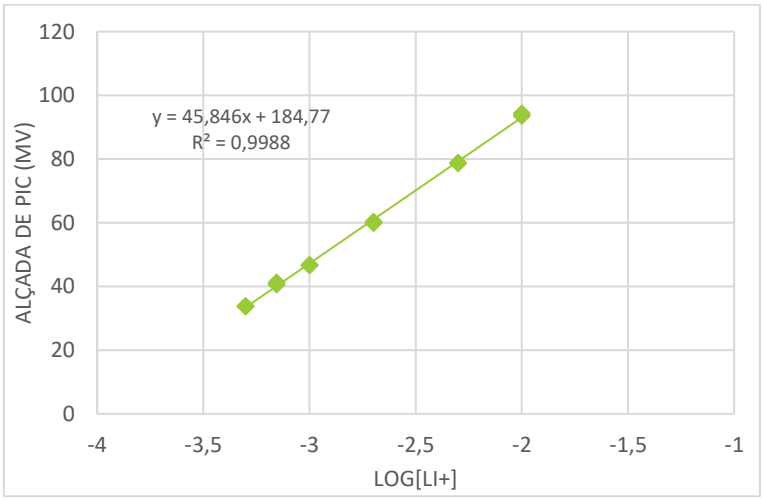


Figura 5.12. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi $1 \cdot 10^{-3}$M, cabal de 1,36ml/min i volum d'injecció de 100µl

Per comprovar que aquest canvi de pendent es deu a la menor concentració de clorur de magnesi es disminueix encara més la concentració, fins a $1 \cdot 10^{-4}$M. Efectivament, com

mostra la Figura 5.13., el pendent és inferior a l'esperat, i en aquest cas la linealitat comença a 1mM, valor de concentració que es situa a meitat del rang terapèutic.

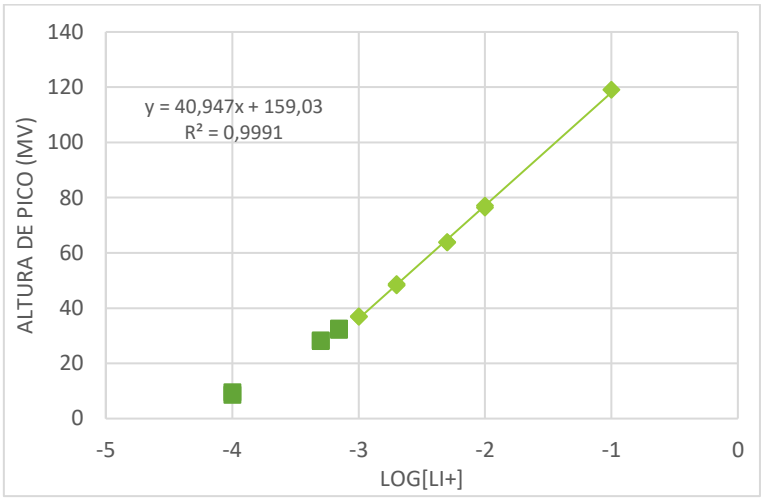


Figura 5.13. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi $1 \cdot 10^{-4}$M, cabal de 1,36ml/min i volum d'injecció de 100µl

Per últim es prova si la raó podria ser el baix volum d'injecció, així que es torna als 500µl. Els resultats es mostren a la Figura 5.14. El pendent de la recta torna a ser més similar al que marca l'equació de Nernst, a més de tenir linealitat des de 0,5mM, tot i que el valor de pendent és massa baix.

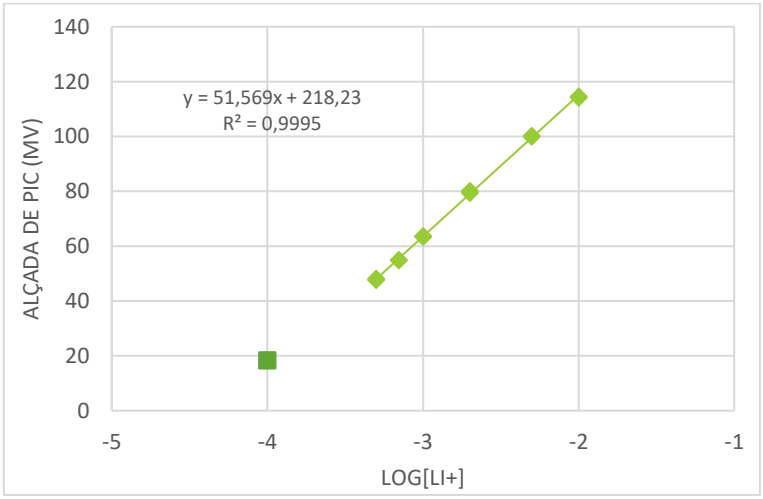


Figura 5.14. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi $1 \cdot 10^{-4}$M, cabal de 1,36ml/min i volum d'injecció de 500µl

Analitzant els resultats obtinguts s'arriba a la conclusió de que els dispositius tenen un període de funcionament òptim, a partir del qual el seu rendiment disminueix. Per aquesta raó es canvia el dispositiu a un de nou i es realitza una prova en les condicions

que teòricament eren les millors: 225µl i 1,91ml/min. Els bons resultats (Figura 5.15.) en porten a realitzar un calibrat complert, amb triplicats per a cada patró.

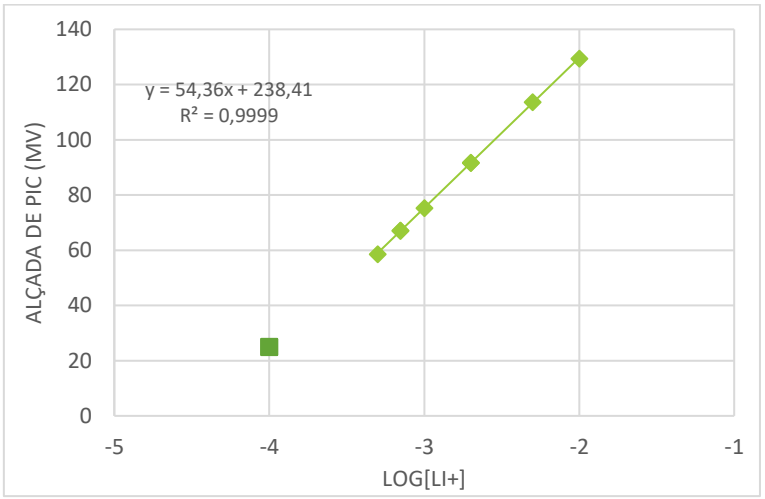


Figura 5.15. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi $1 \cdot 10^{-4}$M, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

A la Figura 5.16. podem observar que el pendent de la recta és similar al que marca l'equació de Nernst, a més de tenir linealitat des de 0,5mM i una R^2 gairebé de 1. A la Figura 5.17. es troba el calibrat corresponent. Els patrons de menor concentració requereixen un temps d'anàlisi de 3 minuts, mentre que el dels superiors és de 5 minuts. Aquest valors de temps milloren respecte als obtinguts amb anterioritat, i s'assimilen a les condicions que es pretén obtenir, amb el menor temps d'anàlisi possible. A més a més, el fet de disminuir el volum d'injecció de 500µl a 225µl permet aconseguir un menor consum de mostra i reactius.

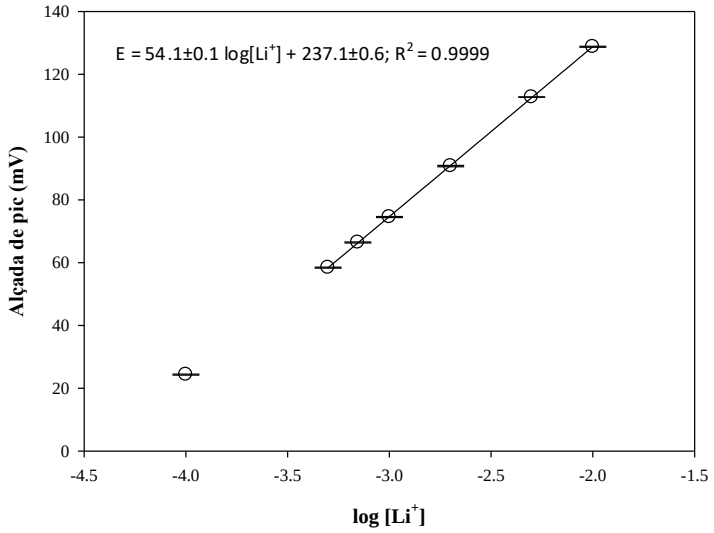


Figura 5.16. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi 1·10^{-4}M, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

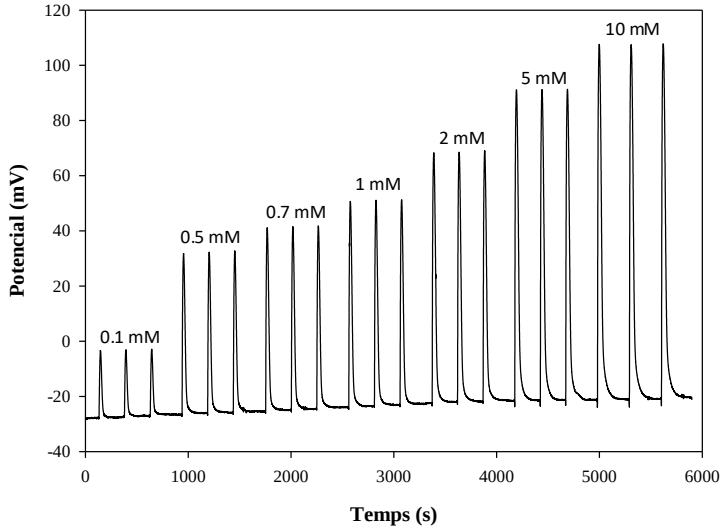


Figura 5.17. Calibrat amb solució acondicionadora de clorur de magnesi 1·10^{-4}M, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

Tot i haver obtingut bons resultats amb les optimitzacions realitzades, la dissolució acondicionadora és una bona ajustadora de la força iònica però no del pH. Donat que un petit canvi en el pH de la mostra pot suposar un canvi en l'alçada de pic i tenint en ment l'estret rang terapèutic de l'analit, es decideix provar com a dissolució acondicionadora el tampó carbonat. Al ser el tampó present a la sang permetrà treballar en situacions més similars a les reals. A més a més, s'ajustarà el pH a 7,4, corresponent al pH de la sang.

5.1.4 Optimització en fons de hidrogen carbonat de sodi

La concentració d'aquest tampó a la sang és de 28mM, així que es fa un calibrat en aquestes condicions. A més a més es mantenen el volum d'injecció de 225µl i el cabal de 1,91ml/min degut als bons resultats obtinguts amb l'anterior solució acondicionadora. Com veiem a la Figura 5.17. la linealitat comença a una concentració de 2mM, fora del rang terapèutic.

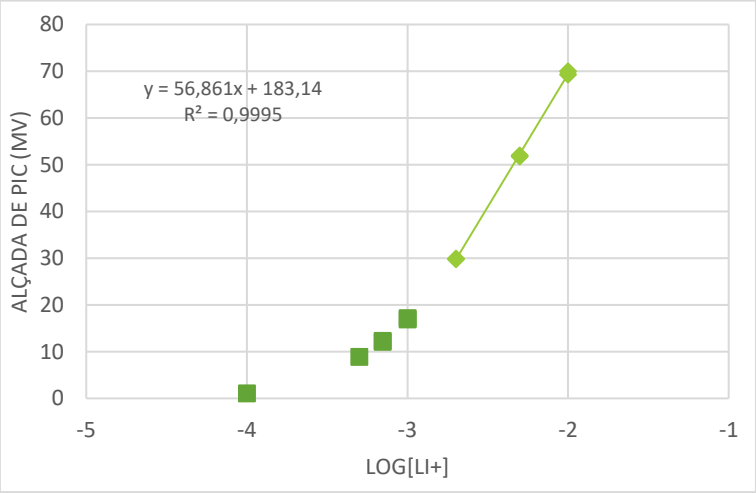


Figura 5.17. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de carbonat de sodi 28mM, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

Per aquesta raó es disminueix la concentració de la solució acondicionadora a la meitat (14mM). Tot i la disminució de concentració respecte la present a la sang, es creu que la seva capacitat tamponadora fa que sigui millor opció que el clorur de magnesi. Podem observar (Figura 5.18.) que en comparació a la concentració de 28mM la linealitat comença abans, a una concentració de 1mM, però encara no s'adapta al rang terapèutic.

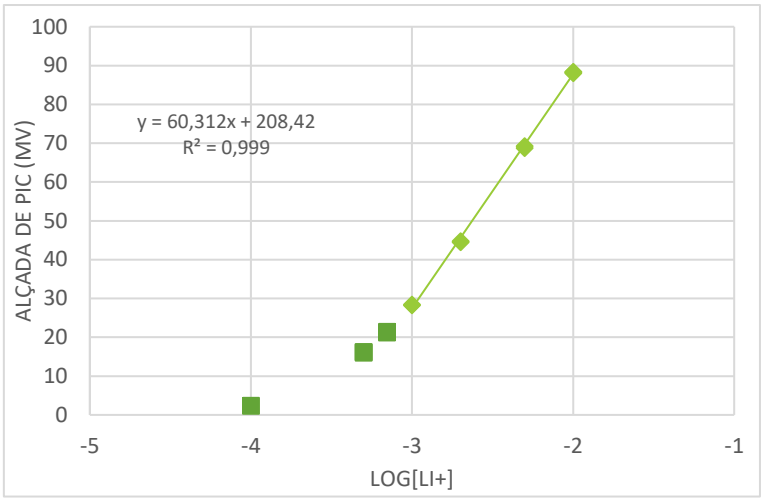


Figura 5.18. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de carbonat de sodi 14mM, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

Es torna a disminuir la concentració, en aquest cas fins a 7mM. Aquesta concentració implica una linealitat des de 0,5mM, i un pendent, que tot i ser superior al que marca l'equació de Nernst, encara es troba dintre d'un rang acceptable.

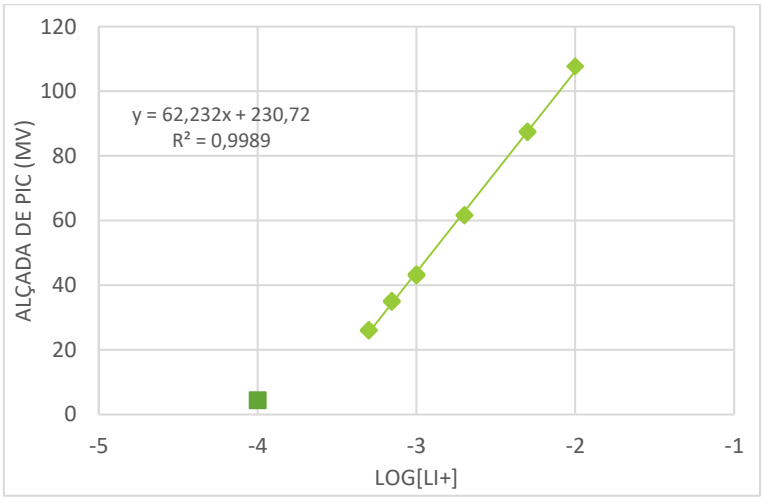


Figura 5.19. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de carbonat de sodi 7mM, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

Si es comparen els resultats amb els obtinguts amb la solució acondicionadora de clorur de magnesi, veiem que en tots dos cassos el rang lineal s'inicia en 0,5mM, a més de que la pendent de la recta és similar a la que marca l'equació de Nerst i tenir una R^2 molt propera a 1. Per altra banda, no s'observen pre-pics que podrien alterar la magnitud dels

pics. Tot i així, es perd altura de pic al usar el hidrogen carbonat de sodi com a solució acondicionadora.

A mode de resum, podem extreure de l'optimització de les variables químiques i hidrodinàmiques que les condicions òptimes per a arribar a un compromís entre tots el paràmetres avaluats és utilitzar un cabal de 1,91ml/min, un volum d'injecció de 225µl, y una dissolució acondicionadora de hidrogen carbonat de sodi 7mM a pH 7,4. D'aquesta manera s'optimitza el consum de reactius, el temps d'anàlisi, les característiques de resposta y la qualitat dels resultats obtinguts.

5.2. Característiques analítiques del sistema

Per tal d'obtenir els paràmetres analítics del sistema es duu a terme un calibrat per triplicat amb les condicions òptimes. El rang lineal és de 0.5 a 10 mM de Li+ i el LD és 0.2 mM Li+ (Figura 5.20. i Figura 5.21.).

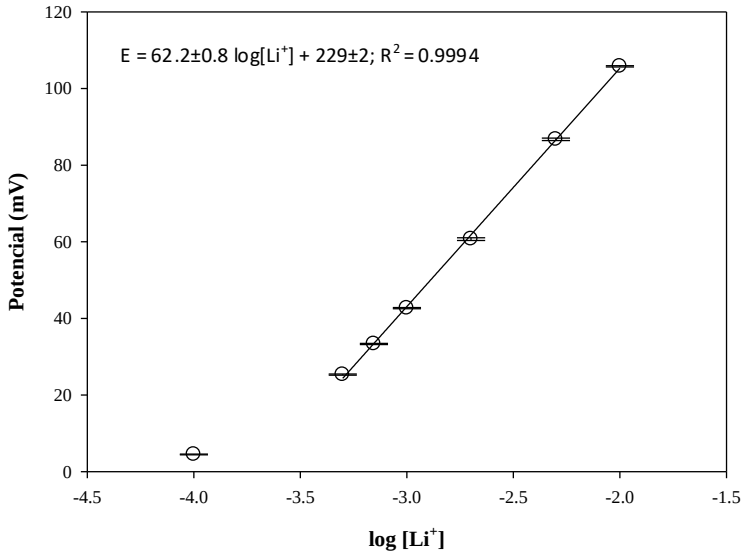


Figura 5.20. Recta de calibrat amb solució acondicionadora de carbonat de sodi 7mM, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

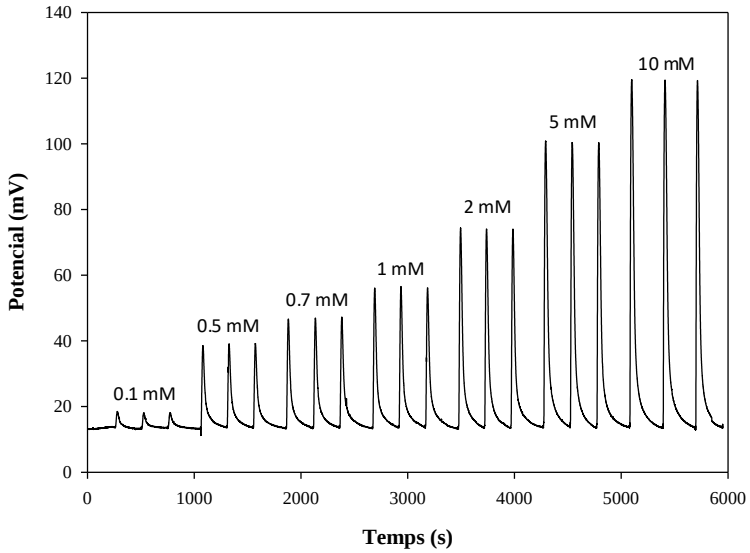


Figura 5.21. Calibrat amb solució acondicionadora de carbonat de sodi 7mM, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

A continuació es duen a terme els assajos de repetibilitat i reproductibilitat sota les condicions determinades durant la optimització de les variables químiques i hidrodinàmiques.

L'estudi de repetibilitat (Figura 5.22.) consisteix en l'anàlisi d'una mostra concreta un número determinat de vegades, per tal d'estudiar l'error entre els resultats.[13] En concret s'usa un patró de 1mM de liti que s'analitza 10 vegades seguides. Els CV% obtingut és de 1,5, valor que es troba dins d'un rang acceptable.

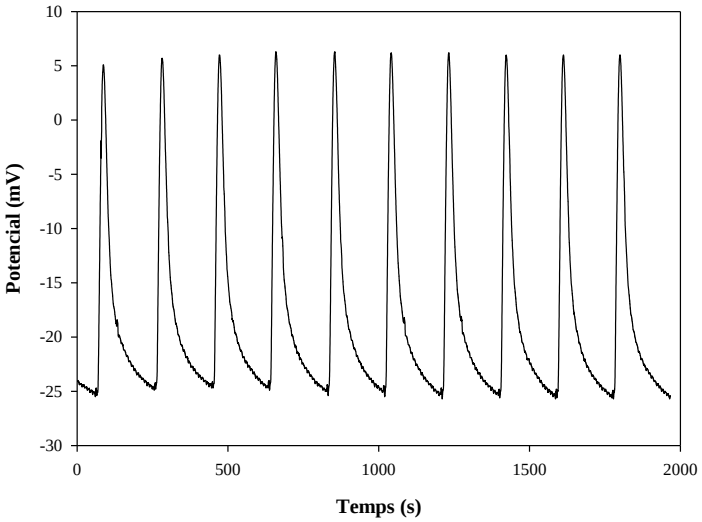


Figura 5.22. Estudi de repetibilitat

Al seu torn, l'estudi de reproductibilitat consisteix en duu a terme el mateix calibrat durant diferents dies, mitjançant diferents aparells o per diferents persones.[13] En aquest cas es decideix realitzar l'anàlisi en dies diferents. En concret es farà 3 dies diferents, deixant un dia de diferència entre els dos primers calibrats, i tres dies entre el segon i tercer calibrat. Observem a la Figura 5.23. que la diferència entre els dia 1 i el 2 és gairebé nul·la, amb rectes molt similars. En canvi, el dia 5 la recta varia considerablement, amb una disminució del 5% en l'ordenada a l'origen. Tot i així, el pendent es manté constant. El rang lineal també es veu lleugerament afectat. Caldria seguir estudiant les raons d'aquest canvi tan dràstic, ja que si el canvi és només a l'ordenada a l'origen es pot corregir ràpidament mitjançant calibracions periòdiques d'un sol patró.

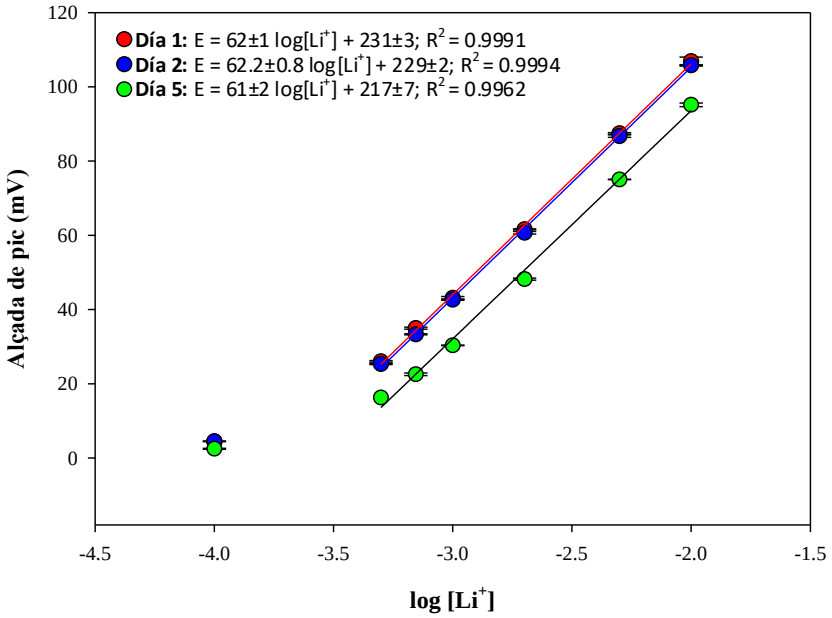


Figura 5.23. Estudi de reproductibilitat

5.3. Correcció d'interferències

Com ja s'ha explicat amb anterioritat, la principal interferència de la membrana utilitzada per al sensor de liti és el sodi. Per aquesta raó es calcula el coeficient de selectivitat, un paràmetre que serveix per establir la influència de les interferències en la resposta potenciomètrica. Cal dir que aquesta constant depèn de les condicions de treball, no és una constant termodinàmica, i per això resulta molt útil per comparar resultats en unes condicions de treball específiques.

Per determinar-lo es poden usar dos metodologies: el mètode de les dissolucions separades i el mètode de les dissolucions mesclades. S'escull el segon mètode perquè és el que millor reprodueix les condicions reals en les que es trobarà l'analit. Es basa en mesurar el potencial de l'elèctrode en una dissolució que presenta una activitat fixa de l'ió interferent, en aquest cas el sodi, i una activitat variant de l'ió principal, en aquest cas el liti.[14]

En les condicions en que l'activitat de l'ió principal és baixa el potencial només respondrà a l'activitat de l'ió interferent. Es pot obtenir el valor de l'activitat d'un punt (a_A) mitjançant el punt A d'intersecció entre la línia extrapolada de la part nerstiana i la línia horitzontal d'interferència (Figura 5.24.).

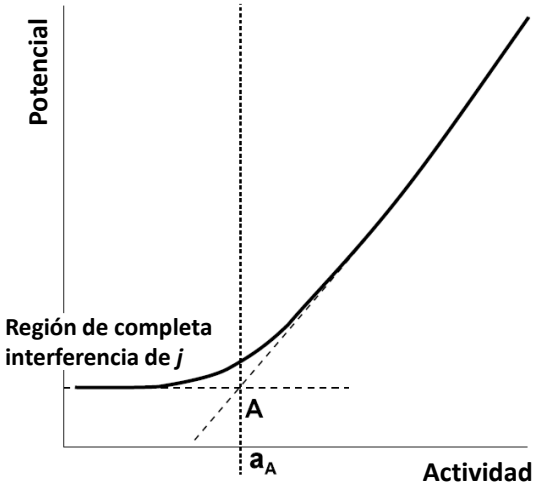


Figura 5.24. Metodologia de determinació de $K_{i,j}^{pot}$

Posteriorment mitjançant la Equació 5.1. es pot calcular la $K_{i,j}^{pot}$, on *aj* és l'activitat de l'ió interferent i z_i i z_j les càrregues de les espècies involucrades.

$$K_{i,j}^{pot} = \frac{a_A}{a_j^{\frac{z_i}{z_j}}}$$

Equació 5.1.

Es realitza un calibrat amb patrons de liti amb fons de clorur de sodi de concentració 0,15M, ja que aquesta és la concentració de sodi esperada en sang. Els resultats es mostren a continuació (Figura 5.25.).

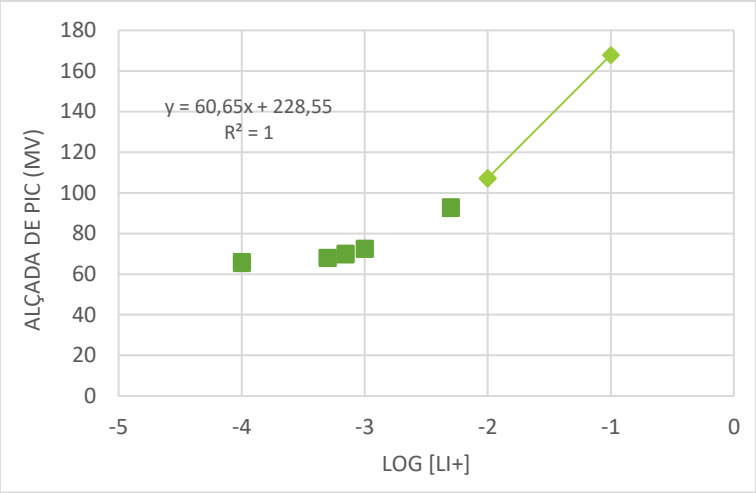


Figura 5.25. Recta de calibrat amb patrons amb fons de sodi 0,15M, solució acondicionadora de carbonat de sodi 7mM, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció de 225µl

A partir d'aquest calibrat s'obté el valor del coeficient de selectivitat, que és 0.0138. Aplicant l'equació de Nikolskii-Einsmann, finalment s'obté l'equació per mesurar liti amb la correcció de la interferència de sodi (Equació 5.2.):

$$\mathrm{E} = 62.2 \pm 0.8 \log\{[\mathrm{Li+}] + 0.0138[\mathrm{Na+}]\} + 229 \pm 2;\ \mathrm{R2} = 0.9994$$

Equació 5.2.

5.4. Anàlisi de mostres reals i sintètiques

Per concloure la part experimental s'utilitzaran mostres sintètiques i reals amb concentració coneguda de sodi per validar el funcionament del dispositiu. Les mostres sintètiques consisteixen en patrons de LiCl de concentració ascendent amb fons de NaCl 0,15M i preparats amb aigua MiliQ. Els resultats mostren que no hi ha diferències significatives comparant el valor afegit i l'obtingut (Taula 5.1. i Figura 5.26.). El valor del pendent de l'equació de la Figura 5.26., així com que la ordenada a l'origen passi per 0, són els que ens indiquen que no hi ha diferencies significatives.

Tabla 5.1. Comparació dels valors de concentració de liti obtinguts durant el calibrat i els valors afegit (valor real), així com el % de recuperació, en mostres sintètiques

Concentració de Li+			
Mostra	**Valor obtingut (mM)**	**Valor afegit (mM)**	**% de recuperació**
1	0.45 ± 0.02	0,5	-10
2	0.6 ± 0.1	0,7	-9
3	0.9 ± 0.0	1	-10
4	4.2 ± 0.2	2	-16
5	8.7 ± 0.3	5	-13
6	99.3 ± 0.0	10	-1

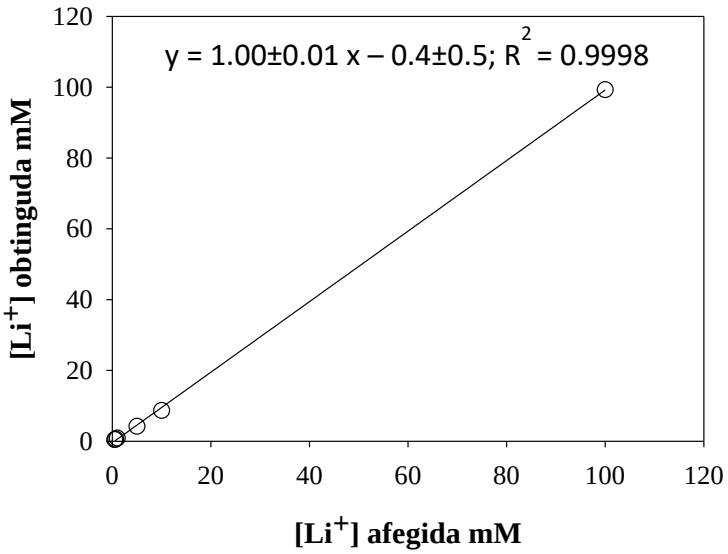


Figura 5.26. Comparació dels valors de concentració de liti obtinguts durant el calibrat i els valors afegits (valor real)

Les mostres reals utilitzades corresponen a sèrum humà dopat amb 1mM de liti, ja que les mostres no contenien liti de forma natural. En concret es van analitzar 4 sèrums diferents sota les condicions d'anàlisi determinades durant la optimització. Els resultats es mostren a la Taula 5.2..

Tabla 5.2. Comparació dels valors de concentració de liti obtinguts durant el calibrat i els valors afegit (valor real), així com el % de recuperació, en mostres reals de sèrum

Concentració de liti			
Sèrum	**Valor obtingut (mM)**	**Valor real (mM)**	**% de recuperació**
1	0.8 ± 0.4	1	-23
2	0.7 ± 0.1	1	-32
3	0.7 ± 0.2	1	-32
4	1.1 ± 0.2	1	12

Com es pot observar, no hi ha diferencies significatives segons el test t aparellat (paired t-test), ja que el valor de t_{cal} és inferior al de t_{tab}: t_{calc}=1.850; t_{tab}= 2.353.

6. Conclusió

El disseny, construcció i avaluació d'un dispositiu analític per a la determinació de liti en sang han sigut l'objectiu principal d'aquest treball. S'ha aconseguit fabricar un microsistema analític potenciomètric basat en la tècnica FIA usant com a base la tecnologia del COC. Com a resultat s'obté un dispositiu compacte i de petites dimensions que permeti analitzar mostres de sang de pacients tractats amb sals de liti.

Un dels objectius secundaris que es plantejava era la optimització del dispositiu per tal que s'adaptés al rang terapèutic del liti (0,7-1,5mM). A més a més es buscava l'estabilitat de la línia base, mitjançant l'ajust del pH i la força iònica, i la reducció del temps d'anàlisi i de consum total de mostra i reactius. La combinació de dissolució acondicionadora de clorur de magnesi $1 \cdot 10^{-4}$M, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció 225µl permetien complir amb gairebé tots els objectius parcials. Tot i així, la falta d'ajust del pH de la dissolució acondicionadora va provocar que s'hagués de provar amb una altra opció.

La solució escollida va ser hidrogen carbonat de sodi, degut a que el tampó carbonat és el que està present en la sang, i ens permetria assolir unes condicions més similars a les reals. A més d'aconseguir l'ajust del pH, aquesta dissolució també complia la resta d'objectius parcials. En aquestes condicions, el temps d'anàlisi es reduïa fins a 4 minuts.

Per tant, la dissolució acondicionadora de hidrogen carbonat de sodi 7mM, cabal de 1,91ml/min i volum d'injecció 225µl proporcionen les condicions òptimes d'assaig.

Una altra conclusió que s'ha extret durant el procés ha sigut que els dispositius tenen un temps de vida òptim, a partir del qual el seu rendiment disminueix. Tot i no haver-se determinat amb exactitud, s'ha comprovat aquest patró en diversos dispositius.

El principal problema al que es va fer front durant el procés experimental va ser que la membrana usada es veu afectada per la presència de sodi, així com altres interferents. Aquesta substància es troba present en la sang, i per tant es necessari corregir la interferència del sodi. Per aquesta raó es va fer un assaig per calcular el coeficient de selectivitat, que és 0,0138, i l'equació per mesurar liti amb la correcció de la interferència de sodi. Tant les mostres sintètiques com les reals no van donar diferencies significatives entre el valor obtingut durant l'anàlisi i el valor que s'havia afegit a les mostres. Tot i que es necessària l'anàlisi d'un major nombre de mostres, els resultats obtinguts permeten concloure que el dispositiu és apte per a l'anàlisi de sang de pacients tractats amb sals de liti.

Com a alternativa al procés de correcció d'interferències realitzat en aquest treball es proposa afegir un mòdul més al sistema que consisteixi en un dispositiu per a determinació de sodi. D'aquesta manera es podria corregir la interferència de sodi directament.

7. Bibliografia

1. Wietelmann, U. & Steinbild, M. Lithium and Lithium Compounds. *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.* 1–38 (2014). doi:10.1002/14356007.a15_393.pub2

2. Gitlin, M. Lithium side effects and toxicity: prevalence and management strategies. *Int. J. Bipolar Disord.* **4,** 27 (2016).

3. Metzger, E., Dohner, R., Simon, W., Vonderschmitt, D. J. & Gautschi, K. Lithium/sodium ion concentration ratio measurements in blood serum with lithium and sodium ion selective liquid membrane electrodes. *Anal. Chem.* **59,** 1600–3 (1987).

4. Santo, C. E. do E. & Carvalho, T. M. de J. P. Determination of serum lithium: comparison between atomic emission and absorption spectrometry methods. *J. Bras. Patol. e Med. Lab.* **50,** 12–19 (2014).

5. Aliasgharpour, M. & Hagani, H. Evaluation of lithium determination in three analyzers: flame emission, flame atomic absorption spectroscopy and ion selective electrode. *N. Am. J. Med. Sci.* **1,** 244–6 (2009).

6. López, A. C. Desarrollo y caracterización de un microsistema analítico , basado en la tecnología LTCC , con detección potenciométrica simultánea de nitrato y potasio en muestras de agua tratada. (2011).

7. Calvo López, A. Diseño, construcción y evaluación de analizadores miniaturizados para su aplicación aeroespacial, medioambiental, alimentaria, biomédica e industrial. (2017).

8. Růžička, J. & Stewart, J. W. B. Flow injection analysis. *Anal. Chim. Acta* **79,** 79–91 (1975).

9. Costa, J. M. (Josep M. . *Diccionario de química física*. (Díaz de Santos, 2005).

10. Canalias Comuñas, X. Desenvolupament d ' un sensor de liti per a la seva determinació en sang. (2017).

11. Calvo-López, A., Puyol, M., Casalta, J. M. & Alonso-Chamarro, J. Multi-parametric polymer-based potentiometric analytical microsystem for future

manned space missions. *Anal. Chim. Acta* **995,** 77–84 (2017).

12. Allen, J. P. *Biophysical Chemistry.* (John Wiley & Sons, 2009).

13. What is the Difference Between Repeatability and Reproducibility? Labmate Online. Available at: https://www.labmate-online.com/news/news-and-views/5/breaking-news/what-is-the-difference-between-repeatability-and-reproducibility/30638. (Accessed: 17th June 2018)

14. Buck, R. P. & Stover, F. S. Potentiometric selectivity coefficients of liquid ion-exchange membranes for univalent and divalent ions. *Anal. Chim. Acta* **101,** 231–238 (1978).

8. Autoavaluació

Vaig escollir realitzar les pràctiques curriculars del grau, i per tant el treball de fi de grau, en un tema que no s'hagués aprofundit molt durant la carrera, però que em cridés l'atenció. Al final em vaig decidir pel camp dels biosensors, ja que incorpora un component tecnològic i un biològic, i vaig ser acceptada al Grup de Sensors i Biosensors de la Universitat Autònoma de Barcelona.

Inicialment es volia fer un biosensor, però degut a que el grup estava treballant un projecte d'un sensor per a determinació de liti en sang, i el concepte m'agradava, es va decidir que aquest seria el meu treball.

Inicialment, i degut a que mai havia treballat amb sensors, no coneixia les bases per al seu funcionament. Aquesta estada m'ha permès familiaritzar-me amb la tècnica d'anàlisi per injecció en flux i la potenciometria. He guanyat coneixements en el camp dels sensors químics, tant des de la besant teòrica com experimental.

Tots els resultats obtinguts havien de ser tractats mitjançant rectes de calibrat, que tot i haver sigut usades múltiples vegades al llarg de la carrera, m'ha permès aprofundir en la seva construcció. A més a més, he pogut millorar la meva capacitat d'avaluació de les dades, per saber identificar quan els resultats eren satisfactoris o no, a més de poder raonar les causes d'aquest resultats en el cas de no ser els indicats.

Principalment aquest treball m'ha donat la oportunitat de redactar un article científic en el que he hagut d'aplicar tots els coneixements adquirits durant l'estància, i així permetrem millorar la meva capacitat crítica.