

**LÍQUIDO QUE CONTIENE MARCADOR POLIMÉRICO, USO DE UN MARCADOR
POLIMÉRICO COMO HERRAMIENTA DE AUTENTIFICACIÓN, Y MÉTODO Y
DISPOSITIVO PARA DETECTAR UN MARCADOR POLIMÉRICO DISUELTO EN
UN LÍQUIDO**

5

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se encuentra de manera general en el campo de los medios para autentificar el origen y la autenticidad de un líquido, en particular un combustible líquido, y por lo tanto se relaciona con un líquido que contiene un marcador polimérico, el uso de un marcador polimérico como herramienta de autentificación, y un método y un dispositivo para detectar un marcador polimérico disuelto en un líquido.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En muchos campos técnicos y áreas comerciales, es de gran importancia verificar que un producto dado sea genuino. Los productos no genuinos (imitados) con frecuencia sufren de pobre calidad y pueden dañar la reputación del fabricante del producto genuino. También, si el producto es de relevancia para la seguridad de un dispositivo, el uso de un producto imitado puede conducir a daños de un dispositivo o accidentes.

Los líquidos a granel generalmente son más difíciles de proteger contra imitaciones que los productos sólidos, los cuales pueden ser marcados por signos, impresiones o marcas de autentificación. Pequeños volúmenes de líquidos pueden ser

embotellados en recipientes sellados específicos, los cuales pueden entonces ser marcados en consecuencia. Sin embargo, esas técnicas no están disponibles o no son practicables para líquidos que sean manejados en grandes cantidades, como combustibles. No obstante, también existe el deseo de que esos líquidos sean verificables como productos genuinos.

Esto puede ser logrado de manera general agregando una sustancia específica, también conocida como "marcador", en una pequeña cantidad. El marcador puede entonces ser detectado por alguien que desee verificar la legitimidad y autenticidad de un producto. Por ejemplo, es una práctica común agregar sustancias colorantes, como tintes, a los combustibles para marcarlos como producto de marca genuina.

Además, la impresión de color simple obtenida por esos marcadores puede ser fácilmente reproducida por falsificadores combinando ingredientes conocidos, considerando que un gran número de tintes se encuentra comercialmente disponible. Además, una verificación de identidad que va más allá de la mera inspección visual a simple vista es difícil de efectuar sobre el punto, por ejemplo en el lugar de entrega, y usualmente es necesario realizar una verificación que consume tiempo de una muestra de un líquido entregado en un laboratorio para obtener la certidumbre de que un líquido entregado es genuino.

De este modo existe la necesidad de un marcador

mejorado que sea difícil de falsificar y que pueda ser fácilmente inspeccionado por un dispositivo pequeño, por ejemplo en el lugar de entrega. Además, ese marcador preferiblemente no es visible por inspección a simple vista, de modo que se requiere un análisis químico complicado para obtener la estructura química precisa del marcador. Esto representa una dificultad adicional para los falsificadores, puesto que el equipo necesario, como RMN, HPLC, etc. típicamente no está fácilmente disponible a los falsificadores. Ese marcador además preferiblemente es detectable en cantidades muy pequeñas, de modo que la marcación puede ser efectuada de manera eficiente y barata, proporcionando a la vez además una respuesta adecuada que puede ser detectada por los dispositivos de prueba pequeños sin la necesidad de un equipo de prueba altamente sofisticado.

En el campo medicinal y biológico, las partículas poliméricas semiconductoras (pdots) han sido objeto de investigación, puesto que son interesantes como nanosondas debido a su ausencia de toxicidad, fotoluminiscencia brillante y fotoestabilidad a la luz y tasas de emisión rápidas. Ellas han sido principalmente usadas en aplicaciones biológicas, como en la proyección de imágenes y detección de fluorescencia biológica. La formación de partículas poliméricas semiconductoras (pdots), en particular aquellas que muestran fluorescencia y/o fosforescencia, es descrita en un gran número

de documentos de la técnica anterior. Estos incluyen, por ejemplo:

“Generation of Functionalized and robust Pdots...”, Yuhui et al, **Chem. Commun.**, 2012, **48**, 3161-3163;

5 “Multicolor conjugated Pdots for biological fluorescence...”, Wu, *ACS Nano*, **2008**, 2 (11), pp 2415-2423; and

“Highly fluorescent pdots for single-molecule...”, Sun et al, SPIE 8812, Biosensing and Nanomedicine VI, 881205 (11 September 2013).

10 Información adicional sobre la preparación y propiedades de varios tipos de pdots que puede encontrarse en varias patentes y solicitudes de patentes, como US 2012 0282632; US 2013 0266957; WO 2013 116614; US 2008 0146744; US 2013 0234068; y WO 2013 101902, las cuales son incorporadas
15 aquí como referencia.

En la técnica anterior, la formación y detección de una pdot es llevada a cabo usando equipo de laboratorio de mesa, el cual es grande y caro. Además, su operación puede requerir personal experto y el análisis efectuado puede consumir tiempo.
20 Esto limitó la aplicación de pdots, y de este modo se consideró que no representaban una posible solución al problema discutido anteriormente con respecto a la marcación de líquidos.

En vista de lo anterior, un objetivo de la invención es proporcionar una solución a los problemas formulados
25 anteriormente. En particular, un objetivo de la presente

invención es proporcionar un marcador para líquidos que puede ser fácilmente identificado aun cuando esté presente sólo en pequeñas cantidades, y que proporciona características de identificación únicas que pueden ser analizadas sin la
5 necesidad de equipos de laboratorio complicado, así como un líquido marcado con éste. Un objetivo más de la invención es proporcionar un líquido protegido contra falsificación mediante la inclusión de un marcador, donde el marcador no es visible a simple vista.

10 Un objetivo más de la presente invención es proporcionar una solución barata y portátil para la detección de marcadores específicos que pueden ser disueltos en un líquido a baja concentración, en particular en líquidos combustibles, como productos de petróleo refinado, incluyendo
15 gasolina, diésel, queroseno, etc. Los marcadores preferiblemente tienen una buena solubilidad en el líquido, y preferiblemente son difíciles de ser identificados, extraídos y separados.

Las soluciones propuestas preferiblemente
20 proporcionan una detección rápida y confiable de la presencia de un marcador dentro de un líquido, como combustible líquido.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los problemas y objetivos mencionados son resueltos por los siguientes puntos y como se especifica en las
25 reivindicaciones. Los aspectos y modalidades adicionales serán

evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de la invención.

1. El método para autenticar la legitimidad y/u origen de un líquido que comprende un polímero capaz de formar una partícula polimérica semiconductor (pdot), que comprende los pasos de

i. concentrar, aislar y/o extraer el polímero capaz de formar una partícula polimérica semiconductor (pdot);

ii. agregar el polímero obtenido en el paso i. para formar partículas poliméricas semiconductoras (pdots);

iii. irradiar las pdots formadas con radiación electromagnética capaz de excitar las pdots para emitir radiación electromagnética por fluorescencia y/o fosforescencia, y

iv. observar la radiación electromagnética emitida en respuesta a la irradiación excitante del paso iii.

2. El método de acuerdo con el paso 1, donde el líquido es un combustible y donde la concentración de polímero capaz de formar una partícula semiconductor es igual a o menor de 10 ppm en peso.

3. El método de acuerdo a cualquiera de los puntos 1 y 2, donde el método es implementado en un dispositivo portátil.

4. El método de acuerdo a cualquiera de los puntos 1 a 3, donde la agregación del polímero para formar pdots es

efectuada por reprecipitación usando agua y un solvente orgánico miscible en agua; o por miniemulsión usando dos o más solventes no miscibles y un tensoactivo.

5 5. El método de acuerdo a cualquiera de los puntos 1 a 4, el cual es efectuado en un dispositivo de detección de Laboratorio En Un Microcircuito o sistema microanalítico total (lab-on-chip) (427) que comprende los siguientes pasos:

a) introducir una cantidad de líquido que contiene un polímero capaz de formar una partícula polimérica
10 semiconductor (pdot), preferiblemente 10 mL o menos, en el sistema microanalítico total (lab-on-chip) (427) en una entrada (401) y vía un canal microfluídico (402);

b) analizar el fondo de la fluorescencia del líquido de un líquido introducido en una salida (425);

15 c) filtrar el líquido introducido a través de una membrana de exclusión por tamaño y/o afinidad química (410) para incrementar la concentración del polímero y para producir una mezcla A;

d) introducir en el sistema microanalítico total
20 (427) en una entrada (406) una cantidad de solvente orgánico, preferiblemente una cantidad <0.5 mL, a ser agregada a la mezcla A para disolver y extraer el polímero;

e) opcionalmente, introducir en el sistema microanalítico total (427) en una entrada (412) una cantidad
25 de un aditivo polimérico en un solvente orgánico,

preferiblemente en una cantidad <10 uL, o una solución tensoactiva en agua, por ejemplo una solución micelar, para ser agregada a la mezcla de A;

5 f) opcionalmente, homogeneizar la mezcla A así obtenida través de un canal microfluídico (411) que exhibe una estructura y/o capacidad mezclado;

g) introducir en el sistema microanalítico total (427) en una entrada (415) una cantidad de agua, preferiblemente una cantidad <10 mL, para ser agregada a la
10 mezcla A, para promover la agregación del polímero para producir las pdots;

h) calentar la mezcla A así obtenida haciéndola fluir sobre una región de calentamiento local (417), para concentrar la mezcla A evaporando el solvente orgánico;

15 i) filtrar la mezcla A así obtenida través de una membrana de exclusión por tamaño (428), para retener las pdots así formadas sobre la membrana (428);

j) opcionalmente, recolectar los solventes orgánicos y el agua libre así generados de las pdots en un reservorio (423), siendo enfriados a la vez en una placa de enfriamiento
20 local (426);

k) introducir en un sistema microanalítico total (427) en una entrada (422) una cantidad de agua, para recolectar las pdots retenidas sobre la membrana (428), para formar una
25 dispersión acuosa B que comprende las pdots y para transportar

las pdots a un colector de ópticamente transparente (419, 509) preferiblemente en forma de una dispersión acuosa B;

1) analizar la dispersión acuosa B así obtenida en el colector (419, 509) con un dispositivo de detección de fluorescencia (502), preferiblemente un espectrómetro o fotodiodo de silicón, para detectar las pdots así extraídas y producidas y para su fluorescencia.

6. El método de acuerdo a cualquiera de los puntos 1 a 5, el cual comprende adicionalmente los pasos siguientes:

iii.a. irradiar el polímero capaz de formar partículas poliméricas semiconductoras, o una solución que contiene éstas, con radiación electromagnética capaz de excitar los polímeros para emitir radiación electromagnética por fluorescencia y/o fosforescencia, y

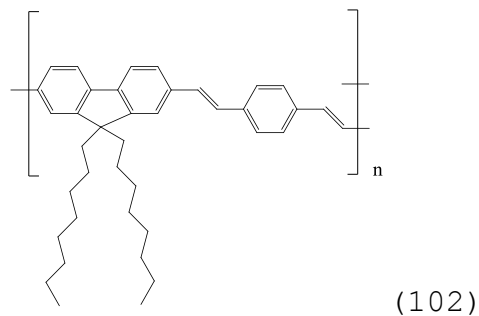
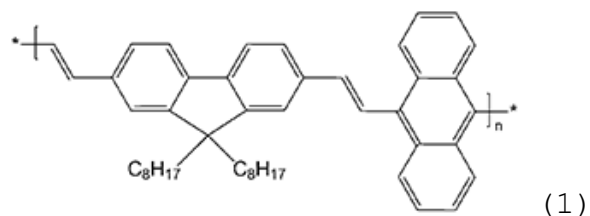
iv.a. observar la radiación electromagnética emitida en respuesta a la radiación excitante del paso iii.a.

7. El método de acuerdo al punto 6, el cual comprende además, un paso para comparar la radiación electromagnética emitida por el polímero observada en el paso iv.a con la radiación electromagnética emitida por las pdots observadas en el paso iv.

8. El método de acuerdo al punto 6 o al punto 7, donde el polímero irradiado en el paso iii.a que está presente en un líquido a ser evaluado por su autenticidad y/u origen, está presente en un solvente soluble en agua diferente al líquido

a ser evaluado por su autenticidad y/u origen, o está presente sin disolver sobre una superficie de soporte.

9. El método de acuerdo a cualquiera de los puntos 1 a 8, donde el polímero capaz de formar una partícula polimérica semiconductor (pdot) contiene una unidad estructural seleccionada de unidades estructurales que comprenden un radical (9,9-dioctil-2,7-divinilenfluorenilen)-alt-co-(9,10-antraceno) de fórmula (1) y unidades estructurales que comprenden un radical poli[(9,9-dioctil-2,7-divinilenfluorenilen)-alt-co-(1,4-fenileno)] de fórmula (102):



10. Un dispositivo de detección de sistema microanalítico total (427) adecuado para detectar un polímero capaz de formar una partícula polimérica semiconductor (pdot)

disuelta en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende:

5 - una primera entrada (401) y un primer canal microfluídico (402) para introducir una cantidad del líquido en el sistema microanalítico total (lab-on-chip) (427);

10 - una primera membrana (410) para recibir el líquido del primer canal microfluídico (402) vía una primera válvula (404), para filtrar el líquido para incrementar la concentración del polímero y para producir una primera mezcla (A);

15 - una segunda entrada (406) para introducir en el sistema microanalítico total (427) vía una segunda válvula (407) una cantidad de solvente orgánico a ser agregada a la primera mezcla (A), para disolver y para extraer el polímero en un canal (411);

20 - una tercera entrada (415), para introducir en el sistema microanalítico total (427) vía una tercera válvula (416) una cantidad de agua a ser agregada a la primera mezcla (A) y a la cantidad de solvente orgánico, para formar una segunda mezcla en el canal (411) y para promover en ella la agregación del polímero y para producir las pdots;

25 - opcionalmente, una región de calentamiento local (417), para calentar la segunda mezcla recibida desde el canal (411), y para concentrar la segunda mezcla evaporando el solvente orgánico;

- una segunda membrana (428), para recibir la segunda mezcla concentrada vía una cuarta válvula (420) y para filtrar la segunda mezcla concentrada para retener las pdots así formadas sobre la segunda membrana (428);

5 - una cuarta entrada (422), para introducir en el sistema microanalítico total (427) vía una quinta válvula (421) una pequeña cantidad de agua para recolectar las pdots retenidas sobre la segunda membrana (428), para formar una dispersión acuosa (B) que comprende las pdots y para
10 transportar las pdots a un colector ópticamente transparente (419, 509) preferiblemente en forma de la dispersión acuosa (B);

- un dispositivo de detección de fluorescencia (502), para analizar la dispersión acuosa (B) así obtenida en el
15 colector (419, 509), para detectar las pdots así extraídas y producidas y para su fluorescencia;

- y un controlador de sistema microanalítico total configurado para:

- operar la primera válvula (404) para permitir el
20 paso del líquido a través de la primera membrana (410) y para producir la primera mezcla (A);

- operar la segunda válvula (407) para agregar la cantidad de solvente orgánico a la primera mezcla (A);

- operar la tercera válvula (416) para agregar la
25 cantidad de agua a la primera mezcla (A);

- operar la región de calentamiento local (417) para calentar la segunda mezcla;

- operar la cuarta válvula (420) para filtrar la segunda mezcla concentrada; y para

5 - operar la quinta válvula (421) para recolectar las pdots retenidas sobre la segunda membrana (428) y para transportar las pdots al colector (419, 509).

11. El dispositivo de detección de sistema microanalítico total (427) de acuerdo al punto 10, que
10 comprende además una entrada (412) para introducir en el sistema microanalítico total (427) una cantidad de un aditivo polimérico diluido en un disolvente orgánico a ser agregado a la primera mezcla (A) para funcionalizar el polímero.

12. El dispositivo de detección de sistema
15 microanalítico total (427) de acuerdo al punto 10 o 11, donde el canal (411) está adaptado para exhibir una estructura y/o capacidad de mezclado para homogeneizar la segunda mezcla obtenida.

13. El dispositivo de detección de sistema
20 microanalítico total (427) de acuerdo con cualquiera de los puntos 10 a 12, que comprende además un reservorio (423) para recolectar los solventes orgánicos y agua libre así generados de las pdots, siendo recolectados a la vez en una placa de enfriamiento local (426).

25 14. El dispositivo de detección de sistema

microanalítico total (427) de acuerdo con cualquiera de los puntos 10 a 13, donde la primera membrana (410) es una membrana de exclusión por tamaño y/o afinidad química.

15 15. El dispositivo de detección de sistema microanalítico total (427) de acuerdo con cualquiera de los puntos 10 a 14, donde la segunda membrana (410) es una membrana de exclusión por tamaño.

10 16. El dispositivo de detección de sistema microanalítico total (427) de acuerdo con cualquiera de los puntos 10 a 15, donde el dispositivo de detección de fluorescencia (502) es un espectrómetro o fotodiodo de silicón.

17. Un sistema que comprende:

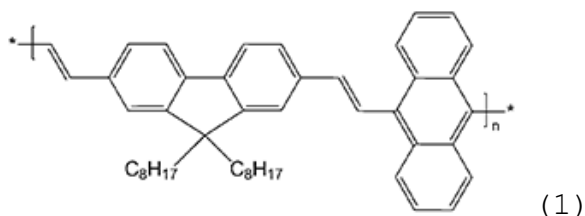
A. un dispositivo de detección de acuerdo con cualquiera de los puntos 10 a 16;

15 B. un líquido, preferiblemente un combustible;

C. un polímero capaz de formar un punto polimérico semiconductor disuelto en el combustible con una concentración igual a o menor de 10 ppm en peso, más igual a o menor de 1 ppm en peso.

20 18. El sistema de acuerdo el punto 17, donde el polímero contiene una unidad estructural derivada de [(9,9,diocetil-2,7-divinilenfluorenilen)-alt-co-(9,10-antra-ceno)] de acuerdo a lo representado por la siguiente fórmula (1):

5



BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las modalidades de la presente invención, las cuales son presentadas para comprender mejor los conceptos inventivos y que no deben ser observadas como limitantes de la invención, serán ahora descritas con referencia a las Figuras:

Figura 1: Ejemplos de precursores pdot

101: poli[(9,9-dihexilfluorenil-2,7-diilo)

102: poli[(9,9-dioctil-2,7-divinilenfluorenilen)
-alt-co-(1,4-fenileno)]

103: poli [(9,9,dioctil-2,7-divinilen-fluorenilen)-alt-co-(9,10-antraceno)]

Figura 2: Diseño del Sistema Microanalítico Total (Lab-On-Chip)

401: entrada para el combustible marcado

402: canal microfluídico

403: válvula de una vía para el análisis de fondo del combustible real

404: válvula de una vía involucrada en la fase de separación del polímero conjugado

405: válvula de una vía involucrada en la fase de extracción del polímero conjugado

406: entrada de solvente orgánico (THF para el procedimiento de precipitación, tolueno para el procedimiento de miniemulsión)

407: válvula de una vía involucrada en la fase de extracción de polímero conjugado

408: válvula de una vía involucrada en la fase de separación del polímero conjugado

409: salida de combustible con polímeros conjugados reducidos

410: membrana (exclusión por afinidad química o por tamaño)

411: canal microfluídico con estructura/capacidades de mezclado

412: entrada de aditivos (por ejemplo, 10 ppm de solución de PSMA para el procedimiento de reprecipitación, y solución tensoactiva micelar para el procedimiento de miniemulsión)

413: válvula de una vía involucrada en la fase de formación de pdot

415: entrada de agua pura

416: válvula de una vía involucrada en la fase de formación de pdot

417: placa de calentamiento local

418: válvula de una vía involucrada en la fase de recolección de pdot

419: recolección de pdots en solución acuosa

420: válvula de una vía involucrada en la fase de recolección de pdot

421: válvula de una vía involucrada en la fase de extracción de pdot (extracción de la membrana)

422: entrada de agua para la fase de extracción de pdot (extracción de la membrana)

423: salida de agua "libre" y restos de solvente orgánico dirigidos para reciclaje

424: válvula de una vía para la recuperación de solventes

425: salida de combustible no transformado, dirigidos al análisis del fondo real

426: placa de enfriamiento local

427: sustrato de microcircuito integrado

428: membrana (exclusión por afinidad química o por tamaño)

20 **Figura 3 Configuración para la detección**

501: fuente de luz (LED, láser,...)

502: espectrómetro (arreglo de dispersión de luz con unidad detectora)

503: regulador de entrada (del espectrómetro)

25 504: filtro (de paso largo, de paso de banda)

505: lente de recolección (arreglo de lente)

506: canal/tubo de flujo de entrada de la cubeta de recolección (509)

507: canal/tubo de flujo de salida de la cubeta de recolección (509)

508: tablero/plano del sistema microanalítico total

509: cubeta de recolección

510: guía de luz de irradiación

10 **Figura 4: Transferencia de Energía del Donador y el Aceptor**

La Figura describe la relación entre el intervalo de longitud de onda de excitación de un donador (λ_{1a}), el intervalo de longitud de onda de emisión de un donador (λ_{1e}), el intervalo de longitud de onda de excitación de un aceptor (λ_{2a}) y el intervalo de longitud de onda de emisión de un aceptor (λ_{2e}).

Figura 5: Ilustración de los pasos del método empleado en el Ejemplo 1

601: matraz

602: mezcla de un solvente soluble en agua y el líquido a ser evaluado por su autenticidad y/u origen

603: membrana de afinidad química

604: líquido a ser evaluado por su autenticidad y/u origen

605: solvente miscible en agua que contiene el precursor pdot (polímero)

606: mezcla de agua y solvente miscible en agua que contiene el precursor pdot

607: dispersión de pdot

Figura 6: Cambio de luminiscencia de acuerdo al

5 **Ejemplo 1**

605: espectro de emisión de luminiscencia obtenido del solvente miscible en agua que contiene el precursor pdot (polímero)

10 607: espectro de emisión de luminiscencia obtenido de la dispersión de pdots

Figura 7: Ilustración de los pasos del método empleado en el Ejemplo 2

601: matraz

15 602: mezcla de un solvente soluble en agua y el líquido a ser evaluado por su autenticidad y/u origen

603: membrana de afinidad química

604: líquido a ser evaluado por su autenticidad y/u origen

20 605: agua miscible en agua que contiene el precursor pdot (polímero)

606: mezcla de agua y solvente miscible en agua que contiene el precursor pdot

608: pdots

609: mezcla de agua y solvente miscible en agua

25 **Figura 8: Cambio de luminiscencia de acuerdo al**

Ejemplo 2

605: espectro de emisión de luminiscencia obtenido del solvente miscible en agua que contiene el precursor pdot (polímero)

5 608: espectro de emisión de luminiscencia obtenido de pdots

Figura 9: Ilustración de los pasos del método empleado en el Ejemplo 3

601: matraz

10 602: mezcla de un solvente soluble en agua y el líquido a ser evaluado por su autenticidad y/u origen

603: membrana de afinidad química

604: líquido a ser evaluado por su autenticidad y/u origen

15 605: solvente miscible en agua que contiene el precursor pdot (polímero)

606: mezcla de agua y solvente miscible en agua que contiene el precursor pdot

608: pdots

20 609: mezcla de agua y disolvente miscible en agua

610: membrana

611: polímero (precursor pdot)

Figura 10: Cambio de luminiscencia de acuerdo al Ejemplo 3

25 608: espectro de emisión de luminiscencia obtenido

de pdots

611: espectro de emisión de luminiscencia obtenido del polímero (precursor pdot)

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones de los Términos

En la presente invención, el término "que comprende" es usado de manera abierta, de modo que las características expuestas estén necesariamente presentes, y puedan estar presentes además otras características. Además, el término "que comprende" también incluye los significados más restrictivos "que consiste de" y "que consiste esencialmente de".

El término "uno o más" es usado para denotar que al menos una de las características o compuestos expuestos está presente. El término sin embargo también incluye la posibilidad de que estén presentes más de una de las características expuestas, como dos, tres, cuatro, cinco o seis.

El término "polímero" es usado para denotar una sustancia química que es formada por la reacción de una o más de la misma especie (homopolímero) o diferente (copolímero). Un polímero es formado a partir de al menos cinco, preferiblemente al menos 10 moléculas de monómero. En otra definición, un polímero en el sentido de la presente invención tiene un peso molecular promedio en peso (de acuerdo a lo medido usando cromatografía de permeación en gel usando un estándar

de poliestirol) de al menos 500, preferiblemente al menos 1,000.

En los casos de un copolímero, el copolímero puede ser un copolímero aleatorio, un copolímero de bloques o un copolímero injertado.

5 En la presente invención, todas las explicaciones se dan con respecto a las condiciones estándar (presión: 1 atmósfera, temperatura: 20 °C). En consecuencia, el término "líquido" se refiere a una sustancia que es líquida a 20 °C.

10 En la siguiente descripción, todos los valores y proporciones están en peso, a menos que se especifique algo diferente.

 El término "combustible" se relaciona con un líquido en el sentido anterior que es comúnmente usado como combustible para motores de combustión, e incluye diésel, queroseno, 15 gasolina y petróleo líquido.

 El término "hidrocarburo" es usado para denotar sustancias que consisten completamente de átomos de carbono e hidrógeno. Los ejemplos preferidos de hidrocarburos son alcanos, alquenos y compuestos aromáticos, preferiblemente aquellos que 20 tienen de 6 a 22 átomos de carbono.

Polímero capaz de formar una partícula polimérica
semiconductora (pdot)

 Un elemento esencial de la presente invención es el uso de un polímero que es capaz de formar una partícula 25 polimérica semiconductora (pdot). Este polímero también puede

ser referido de manera sinónima como un precursor pdot o un marcador polimérico.

Es necesario para la presente invención que el pdot formado por el precursor pdot exhiba fluorescencia y/o fosforescencia. Esto permite verificar la autenticidad del marcador/líquido irradiando el pdot formado con radiación de excitación y midiendo la emisión emitida por el pdot en respuesta a la radiación de excitación. Aunque éste no es estrictamente un requisito, éste es por lo tanto típicamente el caso y en consecuencia es preferible que el precursor pdot sea un material fosforescente y/o fluorescente, de manera más preferible un material fluorescente. De manera aún más preferible, el precursor pdot tiene un sistema π conjugado, deslocalizado.

El precursor pdot es un polímero que es formado a partir de uno o más monómeros. De manera más preferible, el precursor pdot es un copolímero de al menos dos monómeros, y preferiblemente además es un copolímero de bloques de dos o más (como tres o cuatro) bloques copoliméricos. De manera alternativa, el precursor pdot puede ser un copolímero injertado donde los monómeros, oligómeros o polímeros constituidos de uno o más monómeros que tienen un sistema π conjugado y que exhiben fluorescencia y/o fosforescencia son injertados sobre un polímero preformado.

En un aspecto particularmente preferido, el precursor pdot es un copolímero de dos bloques que tiene un bloque

esencialmente hidrofóbico constituido de uno o más monómeros de hidrocarburo, por ejemplo, seleccionados del grupo que consiste de etileno, propeno, buteno, hexano, octano y estireno, y un bloque copolimérico que es sustancialmente más hidrofílico.

5 Ese bloque copolimérico sustancialmente más hidrofílico puede ser preparado a partir de monómeros que tengan heteroátomos, como átomos de nitrógeno u oxígeno, y pueden ser preparados a partir de óxidos de alquilenos o dioles, como óxido de etileno u óxido de propileno, lactamas, ésteres insaturados y ácidos
10 carboxílicos, etc.

En cualquier caso, el precursor pdot necesita contener un radical fluorescente. El copolímero de bloques de este modo contiene al menos un bloque que forma un bloque polimérico semiconductor fluorescente que tiene un sistema π
15 conjugado. Éste puede ser cualquiera del bloque polimérico hidrofóbico o menos hidrofóbico, y es preferiblemente el bloque polimérico menos hidrofóbico.

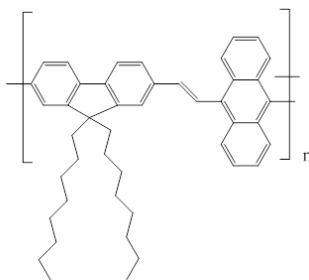
Ese copolímero de bloques que tiene un bloque hidrofóbico y uno menos hidrofóbico puede ser particularmente
20 útil como un precursor pdot si el líquido es una sustancia hidrofóbica, como un combustible, puesto que entonces el bloque copolimérico hidrofóbico derivado de, por ejemplo, uno o más monómeros de hidrocarburo proporciona solubilidad en el líquido. Además, el bloque copolimérico que forma un bloque copolimérico
25 semiconductor fluorescente que tiene un sistema π conjugado es

típicamente relativamente menos lipofílico. En consecuencia, el precursor pdot se agrega (se monta por sí mismo) en una estructura similar a una micela cuando es puesto en contacto con un solvente menos lipofílico, por ejemplo agua, agregándose por lo tanto para formar un pdot.

Cualquier polímero que tenga un sistema π conjugado puede ser usado como marcador en el combustible en tanto sea soluble/dispersable. Los polímeros/polímeros conjugados emisores de luz que pueden ser usados como precursores pdot para llevar a cabo la invención incluyen polímeros que comprenden unidades seleccionadas de las siguientes:

- poli(1,4-fenilenvinileno) (PPV) y sus derivados
- poli(1,4-fenileno) (PPP) y sus derivados
- polifluoreno (PFO) y sus derivados
- poli (tiofenos)
- polímeros que contienen nitrógeno
- poli [(9,9,dioctil-2,7-divinilen-fluorenilen)-alt-co-(9,10-antraceno)], de fórmula (103):

20



25

Preferiblemente, los polímeros sin heteroátomos como N, S son útiles para marcar combustible.

En principio, cualquier monómero que tenga un radical fluorescente puede ser usado para la producción del precursor p-dot. Esas porciones fluorescentes pueden ser seleccionadas por ejemplo de aquellos típicamente usados como emisores en aplicaciones de OLED (dispositivo de emisión de luz orgánico). La funcionalización de esos en especies polimerizables y preparación de (co)polímeros de los mismos es una tarea de rutina para el experto, puesto que puede ser empleada la química orgánica estándar.

Además, muchos polímeros que son emisores fluorescentes se encuentran comercialmente disponibles, por ejemplo, de H.W. Sands Corporation en la serie de productos OPA. Esos incluyen, por ejemplo, poli(2,5-dioctil-1,4-fenileno) coronado en el extremo con DMP (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial de OPA 1103), poli[(9,9-dihexilfluorenil-2,7-diilo)-co-(9,10-antraceno)] (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial de OPA 1871), poli[{9,9-dihexil-2,7-bis (1-ciano-vinilen)fluorenilen]-alt-co-[2,5-bis(N,N'-difenilamino)-1,4-fenileno}] (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial de OPA 2212), poli[(9,9-dihexil-2,7-(2-cianovinilen)fluorenileno)] (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial de OPA 2267),

poli(9,9-dioctilfluoren-2,7-diilo) coronado en el extremo con DMP (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial de OPA 2311), poli[(9,9-dihexilfluorenil-2,7-diilo)-co-(2,6-piridina)] (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial OPA 2347), poli[(9,9-dioctilfluorenil-2,7-diilo)-co-(4,4'-(N-(4-sec-butilfenil))difenil amina)] (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial de OPA 2617), o poli[(9,9-dihexilfluorenilen-2,7-divinilen-fluorenilen)] (disponible de H.W. Sands Corporation bajo el nombre comercial OPA 7758). La elección de un polímero o componente copolimérico fluorescente adecuado permite afinar los espectros de excitación y emisión deseados, y en consecuencia contribuye a la seguridad de la marcación, haciendo la marcación más difícil de falsificar.

El precursor pdot puede ser uno de esos o un polímero similar, o puede ser preparado acoplando esos polímeros a un bloque de copolímero sustancialmente hidrofóbico constituido de uno o más seleccionados de etileno, propeno, buteno, hexano, octano o estireno, formando un copolímero de bloques o copolímero injertado. También pueden ser empleados los métodos descritos por Kühne et al in « *Monodisperse conjugated polymer particles by Suzuki-Miyaura dispersion polymerization* » Nature Communications 3:1088.

En una modalidad de la presente invención, el precursor pdot es un polímero luminiscente conjugado

semiconductor. Los ejemplos de esos polímeros luminiscentes conjugados semiconductores son aquellos que incluyen una unidad repetida mostrada en la Figura 1. Los precursores pdot que pueden ser usados en la presente invención son descritos en la
5 US 2003/154647 A1, también incorporada aquí como referencia.

Para tener una luminiscencia eficiente, el precursor pdot preferiblemente contiene al menos 50% mol y de manera más preferible 80%mol - 90% mol de unidades repetidas que tiene un radical capaz de mostrar fluorescencia, por ejemplo, aquellas
10 expuestas anteriormente como los emisores fluorescentes expuestos más arriba.

El líquido a ser marcado con el precursor pdot típicamente contiene el precursor pdot en una cantidad de 10 ppm en peso o menos, preferiblemente 1 ppm en peso o menos,
15 y de manera más preferible 500 ppb o menos, pero 100 ppb o más, preferiblemente 200 ppb o más. Debido a la concentración/aislamiento del pdot líquido y la alta eficiencia de cuantificación y la fuerte fluorescencia y/o fosforescencia mostrada por el pdot formado por agregación (automontaje) del
20 precursor pdot, esas pequeñas cantidades son suficientes para permitir una autenticación segura.

En particular, un combustible puede ser marcado de 500 ppb a 2 ppm con el precursor pdot. Si el combustible es marcado a 1 ppm, entonces, por ejemplo, 5 mL de combustible serán
25 usados para su autenticación. Por otro lado, si 500 ppb son

usados, entonces 10 mL de combustible serán usados para su autenticación.

Para incrementar aún más la complejidad de la solución de seguridad para marcar un líquido, puede ser proporcionado un polímero como un marcador en el combustible que tenga emisión a cierta longitud de onda en el espectro visible, como en el intervalo de 350 nm - 450 nm, 450 nm - 550 nm, o 550 nm - 650 nm.

Formación de pdot

En el uso y el método de la presente invención, el precursor pdot es separado y/o concentrado del líquido, por ejemplo, el combustible, donde está contenido en pequeñas cantidades, y entonces el precursor pdot es formado a un pdot. Esto ocurre por automontaje/agregación del polímero precursor pdot, formando un pdot. El pdot generalmente muestra una alta eficiencia de cuantificación y fluorescencia, típicamente por una transferencia de energía intrapartícula.

Después de la separación del líquido que contiene el precursor pdot, este automontaje y agregación puede ser efectuado por técnicas como la reprecipitación o miniemulsión:

a) Reprecipitación

El precursor pdot no agregado es disuelto en un disolvente orgánico total o parcialmente miscible en agua, como el tetrahidrofurano (THF, viscosidad de 0.48 cP a temperatura ambiente, temperatura de ebullición de 66 °C). También pueden

ser usados otros solventes, en tanto sean completamente o parcialmente miscibles en agua y sean capaces de disolver el precursor pdot. Los ejemplos de esos solventes incluyen éteres, como THF, dietil éter, etil metil éter, cetonas, como la acetona, metil etil cetona, y ciclohexanona, y alcoholes, como el metanol, etanol, isopropanol, butanol etc. Los solventes completamente miscibles en agua son preferidos para evitar la formación de un sistema bifásico.

Además, pueden ser agregados aditivos como polímeros hidrolizables (por ejemplo, polímeros de almidón, polímeros de ácido láctico) en una cierta cantidad (de aproximadamente 5% - 20% en peso, preferiblemente 5% en peso con respecto al peso total de la composición). Esos se coordinarán a la superficie del pdot formado y de este modo estabilizarán la nanodispersión.

Entonces, es agregada agua para modificar las propiedades de solvatación del sistema de solvente. La cantidad de agua no es crítica, pero necesita ser suficiente para modificar las propiedades de solvatación lo suficiente para lograr el automontaje/agregación del precursor del pdot para formar el pdot. Típicamente, la cantidad de agua está en el intervalo de 1:1 a 3:1, como una relación de volumen de agua: solución polimérica del precursor del pdot en por ejemplo THF.

Tras la adición de agua, la naturaleza química del precursor pdot (interacciones hidrofóbicas, apilamiento π - π)

y del aditivo polimérico opcional causan una agregación o automontaje de los polímeros. La agregación/automontaje es facilitada si el precursor pdot es un compuesto que tiene porciones hidrofóbicas y menos hidrofóbicas, como un copolímero de bloques o injertado. Las porciones hidrofóbicas se atraerán entre sí y formarán una estructura similar a una micela como las porciones hidrofóbicas presentes en el interior y la porción menos hidrofóbica (más polar) apuntando hacia el exterior.

La dispersión es entonces concentrada, típicamente calentando la dispersión (evaporación de solventes). Las pdots formadas son entonces analizadas con respecto a sus propiedades espectrales (excitación a una cierta longitud de onda λ_a , emisión a una longitud de onda diferente λ_e).

b) Miniemulsión (procedimiento estándar)

La miniemulsión usa dos disolventes no miscibles, como agua y un solvente no miscible en agua o pobremente miscible en agua. Preferiblemente, la técnica de miniemulsión también emplea un tensoactivo, por ejemplo, CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio) o SDS (dodecil sulfato de sodio), para producir una emulsión, que es agregada a la formación de la emulsión o que es previamente agregada al agua para ser mezclada con una solución del precursor pdot en un solvente no miscible en agua o pobremente miscible en agua. Los tensoactivos son típicamente solubilizados previamente en agua, con una concentración que es superior a sus concentraciones micelares

críticas (1 mM y 7 mM - 10 mM para CTAB y SDS, respectivamente).

De manera similar como se describió para la técnica de reprecipitación, en un primer paso, el precursor de pdot aislado o extraído del líquido es disuelto en un solvente, aunque
5 en este caso un solvente que no es o solo es pobremente miscible con agua. La elección del solvente no es crítica, siempre en tanto pueda disolver al precursor de pdot y pueda formar un sistema bifásico (una emulsión) con agua pura o agua que contenga algún tensoactivo. Los solventes adecuados incluyen
10 hidrocarburos alifáticos, como n-hexano o ciclohexano, hidrocarburos aromáticos, como tolueno, benceno y etil benceno, aminas aromáticas, como piridina, solventes halogenados, como diclorometano y cloroformo, y otros solventes no miscibles en agua, como acetonitrilo.

15 La solución que contiene el precursor de pdot es mezclada con agua o la solución micelar en agua para formar una dispersión. Finalmente, la dispersión obtenida es calentada para concentrar la dispersión y para remover los solventes, conduciendo a la formación de pdots por automontaje/agregación
20 del precursor de pdot. En casos donde el precursor de pdot contiene un radical hidrofóbico y uno menos hidrofóbico (o hidrofílico), como en el caso de un copolímero de bloques adecuados, la porción hidrofóbica se orientará hacia la fase oleosa de la emulsión resultante de la solución del precursor
25 de pdot en el solvente no miscible en agua o pobremente miscible

en agua, y la porción menos hidrofóbica (o hidrofílica) se orientará hacia la fase acuosa.

Los pdots formados por las técnicas anteriores muestran una fuerte emisión a cierta longitud de onda λ_e en respuesta a la excitación a diferentes longitudes de onda λ_a . Esto puede ser probado sin la necesidad de equipo grande usando el aparato y método descrito más adelante. Proporcionando el método simple para formar pdots a partir del precursor de pdot anterior y proporcionando el sistema microanalítico total adecuado y compacto descrito anteriormente, la presente invención establece de este modo medios de autenticación novedosos para la prueba en el sitio de líquido con respecto a su autenticidad.

El tamaño de los pdots formadas con los dos métodos es ligeramente diferente; para la técnica de reprecipitación, las partículas típicamente tienen diámetros de 5-200 nm, mientras que para la técnica de miniemulsión, las partículas típicamente tienen diámetros de 40 - 500 nm (dependiendo de polímero y tensoactivo en la mezcla en solución). La diferencia principal es que la técnica de reprecipitación usa dos solventes miscibles y un paso de mezclado, mientras que la miniemulsión usa dos disolventes no miscibles (solvente orgánico y agua) y un tensoactivo para producir la emulsión (la cual es preferiblemente una emulsión aceite en agua). Preferiblemente, para analizar un líquido que es un combustible, es usado el

método de reprecipitación.

Las nanopartículas poliméricas semiconductoras fluorescentes (pdots) formadas de acuerdo con la presente invención son sondas fluorescentes altamente eficientes. El
5 diámetro promedio de las pdots puede ser muy pequeño, por ejemplo, inferior a 30 nm, cuando se emplea la técnica de formación de pdot adecuada.

Además, el interior de las pdots es preferiblemente carácter hidrofóbico, para asegurar la estabilidad coloidal.
10 Esto puede ser logrado mediante la selección apropiada de la naturaleza de las unidades monoméricas del precursor de pdot, y esto asegura que una se forme una estructura fluorófora densamente empaquetada tras el automontaje/formación de pdot.

En la presente invención, las pdots son preparadas típicamente vía cualquiera de dos caminos: miniemulsión o
15 reprecipitación. Para optimizar aún más la estabilidad coloidal, la superficie de las pdots puede ser funcionalizada con un polímero como PSMA (anhídrido poli estiren-co-maleico). El papel de éste último es incrementar la carga sobre la superficie,
20 para hacer disminuir las interacciones electrostáticas entre las partículas y para incrementar de este modo la estabilidad coloidal. Puede ser usado cualquier otro copolímero que incremente la carga sobre la superficie para funcionalizar/recubrir la pdot. El agente de recubrimiento/
25 encapsulación/funcionalización deberá representar menos del

20% del precursor de pdot.

Las pdots preferiblemente pueden ser excitadas por irradiación con una longitud de onda entre 250-800 nm, preferiblemente 300-500 nm.

5 Ellas son de este modo excitables con luz visible, y la emisión puede variar sobre todo el espectro visible. Las pdots con emisión en el espectro azul exhiben una banda de emisión estrecha (FWHM de aproximadamente 20 nm), mientras que las pdots con emisión en el espectro rojo exhiben bandas de
10 emisión más amplias (FWHM de aproximadamente 100 nm). No existe restricción con respecto al color de emisión; puede ser usado cualquier tipo de pdots para llevar a cabo la invención.

Tanto las pdot finales, así como el precursor de pdot son materiales fluorescentes, dado que emiten luz (típicamente
15 en el espectro visible) tras la excitación por irradiación (típicamente en el espectro UV o visible). Además, las propiedades de excitación y emisión de las pdots y el precursor de pdot no son idénticas, puesto que la formación de la pdot por automontaje del precursor de pdot cambia la estructura
20 electrónica y/o las propiedades de emisión del material. En consecuencia, tanto la excitación como la emisión de la pdot puede ser desviada hacia el rojo (hacia longitudes de onda más largas) o desviada hacia el azul (hacia longitudes de onda más cortas) en comparación con el precursor pdot. El grado de esta
25 desviación depende, además de otras, también de tamaño y la

estructura de la pdot, y es en consecuencia influenciada por las condiciones de reacción empleadas para la formación de la pdot. Puesto que esas son típicamente desconocidas para un falsificador y no son derivables de líquido como tal, la formación de pdots y el uso de un precursor de pdot proporcionan un mejor nivel de seguridad sobre emisores de molécula pequeña, como los tintes fluorescentes.

Combinaciones de donador y emisor - Transferencia de Energía

En el uso y el método de la presente invención, también puede ser empleada una combinación de una pdot (formada a partir del precursor de pdot) con un segundo material. Para este propósito, puede ser empleado un segundo componente que sea capaz de interactuar con la pdot en el sentido de un donador o aceptor. Por lo tanto, el nivel de seguridad puede ser mejorado, debido a que un falsificador únicamente necesita identificar el precursor de pdot, sino también el segundo material agregado para reproducir la respuesta espectral (emisión) que es observada tras la irradiación con una cierta longitud de onda de excitación.

En detalle, la pdot formada a partir del precursor de pdot presente en el líquido puede actuar como un donador. Esto significa que la irradiación de excitación (de una fuente de luz) en una región de longitud de onda λ_{1a} , en la cual la pdot puede ser excitada, es absorbida por la pdot. La pdot

transfiere entonces la energía de excitación por una transferencia de energía sin radiación (FRET, de Transferencia de Energía de Resonancia de Förster) o radiante en una región de longitud de onda λ_{1e} (región de longitud de onda de emisión del donador, es decir, la $\dot{p}$ en este caso) a una segunda especie fluorescentes que actúa como aceptora. La aceptora tiene una región de longitud de onda de excitación λ_{2a} que se superpone con la región de longitud de onda λ_{1e} , y por lo tanto es excitada para emitir en la región de longitud de onda λ_{2e} . En la presente, los intervalos de longitud de onda λ_{1e} y λ_{2a} deben superponerse para permitir una transferencia de energía del donador (la $\dot{p}$) al aceptor, mientras que los intervalos de emisión respectivos λ_{1e} del donador ($\dot{p}$) y λ_{2e} del aceptor típicamente no se superponen, y están en regiones de longitud de onda diferentes (véase la Figura 3).

En consecuencia, empleando esa una combinación de componentes, es posible para autenticar un material irradiando la combinación de $\dot{p}$ como donador y un aceptor en una región de longitud de onda λ_{1a} , y observar si o no ocurre emisión en una región de longitud de onda λ_{2e} . Esto proporciona medios de autenticación particularmente útiles si el aceptor es agregado al dispositivo de autenticación y no forma parte del líquido (por ejemplo, el combustible), puesto que la naturaleza del tinte aceptor no es derivable del líquido como tal.

Por otro lado, la pdot formada a partir del precursor de pdot puede por supuesto también actuar como aceptor. En este caso, puede ser agregado un tinte donador (o pdot) en el dispositivo de autenticación (es decir, el Sistema Microanalítico Total), seguido por la observación de si o no ocurre una emisión de la pdot en el líquido tras la excitación del donador agregado. En este caso, la longitud de onda de emisión del donador agregado debe superponerse con un intervalo de longitud de onda de excitación de la pdot aceptora.

Método de Autenticación y Dispositivo para el Mismo

El método de autenticación para autenticar la autenticidad y/u origen de un líquido de la presente invención comprende los siguientes pasos:

i. concentrar, aislar y/o extraer un polímero capaz de formar una partícula polimérica semiconductor (pdot) presente en el líquido a ser probado por su autenticidad y/u origen;

ii. agregar el polímero obtenido en el paso i. para formar puntos poliméricos semiconductores (pdots);

iii. irradiar las pdots formadas con radiación electromagnética capaz de excitar las pdots para emitir radiación electromagnética por fluorescencia y/o fosforescencia, y

iv. observar la radiación electromagnética emitida en respuesta a la irradiación de excitación del paso iii.

En la presente, la radiación electromagnética observada en el paso iv. sirve como indicación de la autenticidad y/u origen del líquido. Si la radiación electromagnética observada se conforma a un parámetro que es definido como
5 indicativo de la autenticidad y/u origen del líquido (como la longitud de onda pico, forma del espectro, relación de intensidad relativa de emisión a ciertas longitudes de onda, etc.), puede tomarse una decisión en cuanto a la autenticidad y/u origen del líquido. El tipo exacto y/o los valores y/o
10 intervalos exactos del parámetro usado para propósitos de autenticación e indicativos de la autenticidad y/u origen correcto pueden ser seleccionados por un experto en la técnica como una medida de rutina, de manera similar como en otros métodos de autenticación bien establecidos que dependen de
15 materiales luminiscentes como marcadores de, como tintes fluorescentes.

La retención en sí de la pdot formada sobre la membrana de exclusión por tamaño (428, 603) puede indicar la autenticidad, puesto que los tintes luminiscentes convencionales no serían
20 retenidos/detenidos por la membrana. La medición de la luminiscencia de las pdots retenidas sobre la membrana de exclusión por tamaño pueden indicar en primer lugar, que las pdots están presentes sobre la membrana y en segundo lugar puede proporcionar un parámetro definido como indicativo de la
25 autenticidad del líquido. Una primera indicación de la presencia

de la pdot sobre la membrana de exclusión por tamaño no necesariamente requiere un espectro de emisión altamente resuelto, y puede de este modo adaptarse muy bien a una detección por medio de un dispositivo manual.

5 Sí o no la radiación electromagnética observada en el paso iv se conforma al parámetro seleccionado indicativo de la autenticidad y/u origen del líquido depende de la naturaleza química y construcción de la pdot y precursor de pdot. En consecuencia, puesto que el precursor de pdot es complejo de
10 sintetizar y un precursor de pdot específico usado como un marcador para un líquido auténtico es difícil de reproducir exactamente, el precursor de pdot, respectivamente la pdot formada, es difícil de falsificar. Además de otros, si es usado un equipo que tenga suficiente sensibilidad para el paso iv,
15 la radiación observada en el paso iv. puede ser distinguible aún por pequeñas variaciones en la pdot y el precursor de pdot, como diferentes densidades de porciones luminiscentes (por ejemplo, fluorescentes y/o fosforescentes) en la pdot o precursor pdot, lo cual influenciará la intensidad de la
20 irradiación observada en el paso iv. También, el peso molecular o distribución de peso molecular puede, para ciertas pdots y precursores de pdot, influenciar la intensidad y/o forma del espectro de la radiación electromagnética observad en el paso iv. Puesto que la ingeniería inversa es altamente compleja y
25 con frecuencia imposible para los polímeros en ausencia de

conocimiento acerca de las condiciones de síntesis exactas empleadas durante la preparación del precursor de pdot "auténtico", en particular en comparación moléculas pequeñas como tintes fluorescentes, el método de la presente invención
5 puede proporcionar un mejor nivel de seguridad sobre métodos de autenticación convencionales que dependen de marcadores de moléculas pequeña como tintes fluorescentes.

El método de autenticación de la presente invención depende, en la modalidad anterior, de la radiación
10 electromagnética observada en el paso tapa iv, como la emitida por la pdot formada. En esta modalidad, las propiedades luminiscentes del precursor de pdot son tales que no son un parámetro que sea usado para propósitos de autenticación. Sin embargo, como ya mencionó anteriormente, la formación de pdot
15 conduce a diferentes propiedades electrónicas de la pdot, por ejemplo, propiedades de emisión tras la excitación como una cierta longitud de onda, en comparación con el precursor de pdot. Por ejemplo, la formación de pdot conduce a una desviación hacia el rojo o desviación hacia el azul (es decir, hacia
20 longitudes de onda más largas o más cortas) del pico máximo de emisión observado.

En una modalidad, este cambio en las propiedades puede ser usado como un elemento adicional en el método de autenticación de la presente invención. En consecuencia, en
25 esa modalidad, el método de la presente invención comprende

adicionalmente los pasos de

iii.a. irradiar el polímero capaz de formar un
partículas poliméricas semiconductoras, o una solución que as
contenga, con radiación electromagnética capaz de excitar los
5 polímeros para emitir radiación electromagnética por
fluorescencia y/o fosforescencia, y

iv.a. observar la radiación electromagnética emitida
en respuesta a la irradiación de excitante del paso iii.a.

Efectuar esos pasos adicionales permite entonces
10 comparar a emisión observada de la pdot en el paso iv. Con la
emisión observada del precursor de pdot en el paso iv.a. Los
resultados de esta comparación dependen, por un lado, de la
naturaleza química del precursor de pdot analizado (o material
que lo contenga) como se describió anteriormente, pero por otro
15 lado también de la naturaleza química e identidad de la pdot
(o un material que la contenga). Finalmente, respectivamente
las diferencias observadas en la comparación, no dependen
únicamente de la especie química usada como precursor de pdot,
sino también de las condiciones de reacción empleadas para la
20 formación del a pdot, como la miniemulsión y la precipitación
anteriores, la elección del solvente para la extracción del
precursor de pdot, y posiblemente otras condiciones de proceso.

El resultado de una comparación de la emisión en los
pasos anteriores iv y iv.a de este modo no únicamente dependen
25 del tipo de precursor de pdot (el cual posiblemente puede ser

derivado de una muestra de líquido auténtico por análisis), sino también de las condiciones exactas usadas para la formación en la pdot. Aunque la primera puede ser conocida podría ser analizada por un falsificador, la última únicamente
5 sería conocida por el fabricante auténtico y/o la autoridad que efectúe el métodos. Aún si un falsificador pudiera por algún medio obtener conocimiento acerca de las condiciones empleadas en la formación de la pdot, representa un desafío adicional para un falsificador no únicamente imitar la emisión de
10 luminiscencia observada en el paso iv, si no también imitar la emisión luminiscente en el paso iv.a. Las modalidades proporcionan por lo tanto un nivel de seguridad adicional.

La emisión en el paso iv.a. del precursor del pdot puede ser observada antes de la formación de la pdot, y puede
15 entonces ser almacenada (por ejemplo en una computadora) para la comparación posterior con la emisión observada en la emisión iv. Después de la formación de la pdot (después de la observación de la emisión en el paso iv y iv.a obtenida de la misma muestra de líquido antes y después del material de pdot).
20 De manera alternativa, la muestra de líquido a ser probada por su autenticidad puede ser repartida en dos muestras, y únicamente una de las submuestras es sometida a la formación de pdot. Las submuestras pueden entonces ser analizadas simultáneamente (en paralelo) o posteriormente, y uno puede
25 entonces comparar la emisión del precursor de pdot obtenida en

el paso iv.a con la emisión observada en el paso iv (después de concentrar, aislar, y/o extraer el precursor de pdot y la agregación/formación de pdot) y el uso del resultado de la comparación como un medio para indicar la autenticidad y/u
5 origen del líquido probado. Las modalidades específicas de las diferentes maneras para la preparación de la muestra para comparar la emisión observada en el paso iv y en el paso iv.a son ilustradas los ejemplos y las Figuras 4a a 9.

La diferencia identificada en la comparación de la
10 emisión observada en el paso iv y en el paso iv.a (causada por la pdot y el precursor de pdot, respectivamente) es usada como criterio para evaluar la autenticidad y/u origen del líquido no está limitada particularmente y puede ser seleccionada libremente por el experto. En una modalidad, la diferencia es
15 la intensidad de la emisión observada a cierta longitud de onda. En otra modalidad, la diferencia es la longitud de onda del pico máximo de emisión (desviación hacia el azul o desviación hacia el rojo para el paso iv en la comparación con el paso iv.a). El criterio sin embargo también puede ser más complejo, como
20 una diferencia en las relaciones de intensidad de emisión a longitudes de onda definidas (por ejemplo 450 y 600 nm) para la emisión observada paso iv y en el paso iv.a.

En una modalidad de la presente invención, el método es implementado en un dispositivo portátil. En lo siguiente son
25 usados los siguientes términos como sinónimos: MEMS (Sistemas

Microelectromecánicos), LOC (Laboratorio en un microcircuito),
µTAS (Sistemas Microanalíticos Totales).

De acuerdo con una modalidad de la presente invención,
se propone un método para detectar en un dispositivo de detección
5 del sistema microanalítico total o laboratorio en un
microcircuito (427) un marcador polimérico (precursor de
pdot) disuelto en un líquido, preferiblemente por un combustible
que comprende los siguientes pasos:

(i) separación de un precursor de pdot de un líquido,
10 como un combustible, en un LOC (laboratorio en un
microcircuito);

(ii) formación de pdots (automontaje o agregación
de precursores de pdots) en LOC;

(iii) detección automática (*in-situ*) de
15 fluorescencia de pdots y reporte de datos.

El método puede ser empleado en forma de lotes
analizando una muestra del líquido, pero también puede ser
empleado de manera semicontinua o continuamente. Ese también
puede ser adaptado como una medición de control de calidad de
20 línea.

Para lograr la formación de pdots en el LOC (es decir,
el automontaje/agregación de los polímeros precursores de pdot),
los procedimientos estándar para la formación de pdot empleados
en la técnica anterior tuvieron que ser modificados. En efectos,
25 varios pasos comunes de formación de pdots, descritos en la

literatura (por ejemplo, burbujeo de N₂, sonicación), no pueden ser efectuados en LOC. La presente invención resuelve esos problemas mediante las técnicas de formación de pdot desarrolladas por la presente invención y descritas anteriormente (miniemulsión o reprecipitación).

Para suprimir o eliminar la fluorescencia del fondo del combustible, así como para evitar que las pdots se contaminen con moléculas laterales (es decir, evitar el pliegue incompleto del precursor) generalmente es preferible separar los precursores de pdot del combustible en el LOC. En este caso, no únicamente la presencia, sino también la cantidad del precursor de pdot en una muestra a ser analizada (por ejemplo 10 o 1 ml), de acuerdo a lo representado por ejemplo la intensidad de emisión observada de la pdot formada tras la excitación, proporcionan medios de autenticación.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se proporciona un método para detectar en un dispositivo de detección del sistema microanalítico total o laboratorio en un microcircuito (427) un marcador polimérico (precursor de pdot) disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende los siguientes pasos:

1. Separación en el sistema microanalítico total de un Laboratorio en un microcircuito precursores de un líquido, como el combustible líquido, para suprimir la fluorescencia de fondo así como para evitar la contaminación de las pdots

(nanopartículas poliméricas semiconductoras fluorescentes) de moléculas laterales. Este paso también puede ser considerado como una concentración de los precursores de pdots de combustible para la formación adicional de pdots en el microcircuito.

2. Formación por lotes, continua o semicontinua de pdots en el sistema microanalítico total o Laboratorio en un microcircuito;

3. Detección de fluorescencia de pdots tras la excitación, preferiblemente efectuada en un modo continuo, automático, en línea, *in-situ* (preferiblemente sin inspector);

4. Opcional y preferiblemente, control de la cinética de formación de pdots (fluorescencia de pdots contra tiempo y adición de reactivos) y uso de esos parámetros para la autenticación (análisis cualitativo y cuantitativo).

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se propone un método para detectar sobre un dispositivo de detección del sistema microanalítico total o laboratorio en un microcircuito (427) un marcador polimérico (precursor de pdot) disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, donde las gotitas de combustible que contienen el marcador son inyectadas al LOC.

Un diseño de LOC especial al igual que la adición de algunos reactivos químicos específicos en un microcircuito permite la formación de pdots, los cuales son recolectados en

un colector ópticamente transparente en el "exterior" del microcircuito, desde donde es detectada la luminiscencia.

En la entrada del LOC, el precursor de pdot fluorescente no agregado está presente en un líquido, preferiblemente un medio hidrofóbico (combustible). En la salida del microcircuito, la pdot automontada (agregada) está presente en una solución o dispersión acuosa, lo cual permite propiedades luminiscentes mejoradas que pueden ser desviadas hacia el rojo o desviadas hacia el azul en comparación con el precursor de pdot, como se explicó anteriormente.

La detección automática (semicontinua o continua, en línea *in-situ*) de la fluorescencia de pdots (análisis cualitativo y cuantitativo con control cinético) puede ser efectuada usando un detector acoplado con LOC. Los resultados del análisis del marcador pueden entonces ser enviados periódicamente a un sistema de control central.

Para separar los precursores de otros componentes orgánicos en el combustible, el microcircuito contiene medios que son adecuados para este propósito. Estos son preferiblemente una membrana de exclusión por tamaño y/o afinidad química, por ejemplo una membrana de PDMS (polidimetil siloxano). Esa membrana permite que pasen las moléculas pequeñas, como el hexano; sin embargo retiene moléculas más grandes como los precursores de pdots. Ese paso permite preconcentrar los precursores. En consecuencia, es posible agregar muy pequeña

de los precursores en el combustible (menos de 1 ppm).

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, es propuesto un método para detectar sobre un dispositivo de detección de laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) un precursor de pdot disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende los siguientes pasos:

- Introducir una pequeña cantidad de fluido marcado, preferiblemente menor de 10 ml, en el laboratorio en un microcircuito (427) en la entrada (401) y vía un canal microfluídico (402).

Puede ser agregado un canal al LOC que contenga un marcador que actuará como un aceptor de energía de la luz emitida del primer marcador de líquido (la pdot), transformando además esa luz gracias al montaje de microcircuito, como se discutió anteriormente, y se ilustra en la Figura 3.

El segundo marcador (aceptor) también puede ser un polímero semiconductor/conjugado, pero no necesariamente. Ese también puede ser un tinte orgánico convencional, o cualquier tipo de marcador luminiscente hidrofóbico. Es crucial tener una superposición espectral entre la emisión del primer polímero semiconductor (donador de energía) y la excitación de un segundo marcador (aceptor de energía). Esos dos componentes pueden ser considerados como llave y cerradura, y únicamente el acoplamiento apropiado da la respuesta auténtica.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se propone un método para detectar sobre un dispositivo de detección del laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) un marcador polimérico disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende los siguientes pasos:

- Analizar la fluorescencia de fondo del líquido marcado introducido en la salida (425).

Algunos componentes del combustible son fluorescentes. Esta fluorescencia "fondo" puede enmascarar los compuestos blanco (pdots), haciendo la detección altamente selectiva y sensible difícil. Es posible superar (al menos parcialmente) este problema:

- Afinando la emisión de las pdots a la región con bajo fondo de fluorescencia (para diésel y gasolina, las emisiones a longitudes de onda > 550 nm son preferibles), y/o separar dentro del LOC físicamente los precursores de pdots fluorescentes del resto del combustible y analizando únicamente los primeros.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se propone un método para detectar en un dispositivo de detección de laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) un marcador polimérico (precursor de pdot) disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende el siguiente paso:

- filtrar el líquido marcado introducido a través de una membrana de exclusión por tamaño y/o afinidad química (410), por ejemplo una membrana de PDMS (polidimetil siloxano) para concentrar el polímero y para producir una mezcla A.

5 De acuerdo con una modalidad de la invención, el LOC incluye una sección de separación en la entrada del combustible marcado en el microcircuito. La separación es lograda con una membrana, como una membrana mesoporosa para exclusiones por tamaño o una membrana de PDMS para exclusión por afinidad química.
10 Por ejemplo, una membrana de PDMS exhibe diferente permeabilidad hacia diferentes especies hidrofóbicas, como hexano, tolueno o polímeros semiconductores. Esta puede separar eficientemente algunos de los componentes de los precursores de Pdots para ser transferidos adicionalmente al LOC para la formación de Pdot.

15 Otra posibilidad (alternativa a una membrana) es usar fuerzas centrífugas, para segregar moléculas grandes de otros componentes de combustible. Preferiblemente es usada la membrana y el enfoque de exclusión por tamaño.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención,
20 se propone un método para detectar en un dispositivo de detección de laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) un marcador polimérico (precursor de pdot) disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende el siguiente paso:

25 - Introducir en el laboratorio en un microcircuito

o sistema microanalítico total (427) en una entrada (415) una pequeña cantidad de agua, preferiblemente una cantidad de < 10 ml, a ser agregada a la mezcla A, para promover el automontaje del polímero y para formar pdots.

5 Para lograr la formación de pdots en LOC (es decir, el automontaje de precursor de pdot), pueden ser usados dos procedimientos, miniemulsión o reprecipitación, como se describió anteriormente. Para ambos procedimientos, el LOC comprende canales de microfluídicos apropiados 402 y cámaras
10 donde se mezclan y reacción los reactivos. La red de canales puede ser obtenida arreglando una capa fotopolimérica o por micromaquinación de sustratos de silicón, vidrio o plástico.

 El combustible fluye hacia el canal alcanzando hacia áreas de reacción y detección (las cuales también pueden ser
15 obtenidas en la misma cámara). Las propiedades superficiales de humectación y antihumectación ayudan al movimiento por flujo dentro del circuito hidráulico.

 El LOC 427 puede ser realizado en vidrio, plástico o de cuarzo, para tener la posibilidad de efectuar el análisis
20 fluorescente. En general, también se proporciona un controlador de laboratorio en un microcircuito sistema microanalítico total es configurado para controlar cualquiera de los elementos de LOC para implementar y efectuar cualquier modalidad del método como parte de la presente descripción. De manera más específica,
25 el controlador de LOC puede ser configurado para operar una o

más de las válvulas y/o elementos mencionados anteriormente para efectuar las etapas del análisis sobre el LOC. Deberá notarse, sin embargo, que no todos los pasos y etapas como se menciona en los ejemplos de la presente son necesarios para implementar una modalidad de la presente invención. En particular, las etapas de (a) hacer pasar el líquido a través de la membrana (410) y de producir una primera mezcla (A); (b) agregar una cantidad de solvente orgánico a la primera mezcla (A); (c) agregar una cantidad de agua a la primera mezcla (A); (d) calentar la segunda mezcla; (e) filtrar la segunda mezcla concentrada; y (f) recolectar y transportar las pdots puede ser suficiente para alcanzar las ventajas de las modalidades de la presente invención.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se propone un método para detectar en un dispositivo de detección de laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) un marcador polimérico (precursor de pdot) disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende los siguientes pasos:

- concentración de los precursores de pdot en el combustible;
- extracción o disolución de los precursores de pdot de una membrana con un solvente apropiado (por ejemplo, THF para la reprecipitación, por ejemplo tolueno para la miniemulsión),
- formación de pdot;

- concentración de pdots;
- recolección de pdots.

Con referencia al LOC 427 en la Figura 2, las cinco diferentes fases pueden ser así descritas y llevadas a cabo.

5 El siguiente es meramente un ejemplo de cómo puede ser llevado a cabo el método, y pueden ser usados otros arreglos con la presente invención.

Fase 1: concentración de marcadores en combustible

Las válvulas 405, 407 son cerradas, la válvula 404
10 es abierta. Los precursores de pdot y los elementos pesados de combustibles son capturados en la membrana.

Fase 2: extracción de los precursores de pdot de la membrana con el solvente apropiado

Las válvulas 404, 405 son cerradas, las válvulas 407,
15 408 son abiertas para purgar el combustible de regreso hacia la membrana. Entonces la válvula 408 es cerrada, la válvula 405 es abierta.

Fase 3: reprecipitación

El controlador LOC abre las válvulas 413, 416, 418,
20 420.

Fase 4: concentración de pdots de solvente + agua

El controlador de LOC cierra la válvula 418, y se abre la válvula 424.

Fase 5: extracción de pdots de la membrana

25 El controlador de LOC cierra la válvula 420 y 424,

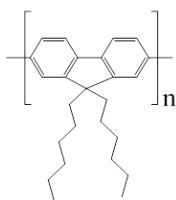
y abre las válvulas 418 y 421.

Durante el proceso la válvula 403 está siempre cerrada, excepto para recolectar combustible del fondo.

Preferiblemente se lleva a cabo el enjuague de todo
5 el circuito.

Con referencia al LOC 427 en la Figura 2, el método de la invención también puede ser así descrito y llevado a cabo en un ejemplo de trabajo de la invención:

En este Ejemplo, el combustible es marcado con 1 ppm
10 del polímero conjugado poli
[(9,9-dihexil-2,7-fluorenil-2,7-diilo)] de fórmula (101):



15

101

Al inicio, todas las válvulas son cerradas. Son introducidos 6 ml de combustible al microcircuito en la entrada 401 y vía el canal microfluídico 402.

20 Primero, solo la válvula 403 es abierta, y 1 ml del combustible marcado introducido se hace pasar a través del canal 402. El fondo de combustible real es analizado en la salida 425. La válvula 403 es cerrada.

En un segundo paso las válvulas 404 y 408 son abiertas,
25 y 5 ml del combustible marcado se deja pasar a través de la

membrana de PDMS 410. El combustible con una concentración reducida de polímeros conjugados es recolectada en la salida 409.

Entonces, la válvula 404 es cerrada y la válvula 407 es abierta y se hace fluir 1 ml de THF hacia la salida 409 vía la entrada 406 para purgar el volumen muerto detrás de la membrana 410.

Entonces, la válvula 408 es cerrada y la válvula 405 es abierta, y son introducidos 0.1 ml de THF en el microcircuito vía la entrada 406. La válvula 407 es cerrada.

Sigue el cierre de la válvula 405 y abertura de la válvula 413. A través de la entrada 412, son introducidos 2 ul de PSMA en THF (la concentración de la solución es de 10 ppm). Entonces se cierra la válvula 413.

La mezcla pasa a través del canal 411 donde es homogeneizada. La válvula 416 es abierta y son introducidos aproximadamente 0.3 ml de agua vía la válvula de entrada 415. La válvula 416 es cerrada.

La mezcla fluye sobre una región de calentamiento local 417. Ese paso de calentamiento es opcional. Entonces las válvulas 420 y 424 son abiertas, mientras que las válvulas 418 y 421 son cerradas. El THF y agua "libre" son recolectados en el reservorio 423, mientras son enfriados en la placa de enfriamiento local 426, y dirigidos al reciclaje.

La membrana de exclusión por tamaño 428 retiene las

pdots formadas. Las válvulas 424 y 420 son cerradas, y la válvula 421 es abierta. Es introducida agua pura vía la entrada 422. La válvula 418 es abierta, las pdots son recolectadas vía el colector 419.

5 La válvula 421 es cerrada y, finalmente, la válvula 418 es cerrada cierra y la solución es analizada.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, se propone un método para detectar en un dispositivo de detección de laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) un precursor de pdot disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende los siguientes pasos:

10

- Analizar la dispersión acuosa así obtenida B en el colector (419, 509) con un dispositivo de detección de fluorescencia (502), preferiblemente un espectrómetro o fotodiodo de silicón, para detectar las pdots así extraídas y producidas y su fluorescencia.

15

Una vez que las pdots son formadas y acumuladas o fluyen continuamente en una cubeta 509 desde el tubo de entrada 506 y un tubo de salida 507 y separadas del combustible, por lo tanto, en solución acuosa, pueden ser detectadas por fluorescencia usando los siguientes pasos (véase la Figura 2):

20

- Excitación de luz en una longitud de onda adecuada en el intervalo de 300 - 500 nm. La fuente de excitación 501 puede ser un Diodo Emisor de Luz (LED) con un espectro de emisión

25

relativamente amplio (típicamente de 20 - 30 nm de ancho de banda) o un láser, preferiblemente un diodo láser (LD) el cual tiene un espectro de emisión estrecho.

• La excitación con luz 501 es dirigida y concentrada hacia la zona de detección (cubeta 509), para irradiar tanto como sea posible toda la acumulación de volumen, donde fueron recolectadas las pdots. La guía del haz de luz puede ser efectuada de manera clásica usando un arreglo de lentes, pero para el LOC 508, donde la cubeta es relativamente pequeña (en la escala mm o menor) y de forma típicamente paralelepípeda o cuboide, se prefiere una guía de luz de fibra óptica 510. La guía de luz 510 puede ser de sección transversal rectangular para ajustarse a la sección transversal de la cubeta 509 y, en consecuencia optimizar la eficiencia de acoplamiento de luz. La guía de luz puede ser formada directamente sobre el laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total 508 y ser una parte integral del éste, localizándose la fuente de luz 501 (LED o LD) fuera del LOC 508, preferiblemente sobre el borde (véase la Figura 3). Esto permite que el tablero de LOC 508 sea desechable, en tanto la fuente de luz se conserve. En una modalidad preferida, la guía de luz es ahusada para permitir una mejor eficiencia de acoplamiento sobre el lado de la fuente de luz.

• La detección de la emisión de fluorescencia de los pdots excitadas usando una lente o arreglo de lentes de

recolección de luz 505, localizado fuera del plano de LOC 508, el cual concentra los haces de luz fluorescente sobre un detector. Un filtro de paso largo adecuado 504 es colocado ya sea en la parte frontal de la lente o en la parte frontal del detector para cortar la luz difractada elástica de la fuente de irradiación.

- El detector también puede ser equipado con un filtro de paso de banda 504 afinado al espectro de emisión de la pdot para favorecer aún más la detección de su fluorescencia con respecto a cualquier otra fluorescencia de fondo o difracción elástica. Esto hace al detector específicamente sensible a la emisión de la pdot y permite la autenticación por la discriminación.

- El detector en sí puede ser un fotodiodo de silicón (PD) simple con un amplificador electrónico. En caso de que la concentración de pdots sea baja y en consecuencia la señal de fluorescencia también, puede ser usado un fotodiodo de avalancha (APD) o un tubo Fotomultiplicador compacto como detector.

- En una modalidad preferida, puede ser usado un espectrómetro óptico compacto 502 para efectuar un análisis espectral de la emisión de fluorescencia de pdot. Esto tiene la ventaja de permitir la detección de diferentes espectros de fluorescencia de pdot y discriminar uno de otro, en el caso de que sean usadas diferentes firmas espectrales de pdot para marcar diferentes líquidos (combustibles). El dispositivo

puede por lo tanto ser visto como un detector de fluorescencia multipropósito, con la capacidad de identificar diferentes firmas espectrales y en consecuencia identificar el tipo de líquido (combustible) sea analizado. Pueden ser usados
5 algoritmos adecuados para permitir la discriminación de diferentes firmas espectrales de pdots de cualquier elemento falsamente marcado o etiquetado y de la fluorescencia de fondo de la forma firma e intensidad de la firma espectral.

- El espectrómetro compacto 502 puede ser de un tipo
10 de rejilla plana o un llamado espectrógrafo de campo plano que usa rejilla holográfica corregida por aberración o cualquier otro tipo de arreglo de espectrómetro compacto pueda proporcionar suficiente resolución espectral (típicamente 15 nm BW). En cualquier caso, el detector en el espectrómetro está
15 compuesto de un arreglo de fotodiodo lineal (PDA) o un dispositivo acoplado por carga (CCD) o un semiconductor de Óxido de Metal Complementario (CMOS). El detector se caracteriza porque cada elemento sensible a la luz (pixel) proporciona una señal eléctrica correspondiente a un radical dado del espectro
20 de luz que permite la medición de la fluorescencia espectral dependiendo de la longitud de onda de las pdots. Cuando se use un espectrómetro, el sistema de recolección de luz de fluorescencia es particular dado que la geometría de la cubeta puede ser ajustada a la ranura de entrada 503 del espectrómetro
25 502. La relación de aspecto de la cubeta 509 puede entonces ser

diseñada para equipararse a la relación de aspecto de la ranura de entrada del espectrómetro 503 para optimizar la eficiencia de recolección de luz.

• En todas las modalidades anteriores, puede ser obtenida una medición de intensidad de fluorescencia cuantitativa mediante la calibración apropiada del detector usando diferentes concentraciones conocidas de la pdot.

El control de la cinética de formación de pdots (fluorescencia de pdots contra tiempo y adición de reactivos) y uso de esos parámetros para la autenticación (análisis cualitativo y cuantitativo del marcador) pueden ser efectuados gracias a la formación en línea y detección in situ.

En una modalidad, la presente invención proporciona un dispositivo de detección de laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) adecuado para detectar un polímero capaz de formar un punto polimérico semiconductor (pdot) disuelto en un líquido, preferiblemente un combustible, que comprende:

- una entrada (401) y un canal microfluídico (402) para introducir una cantidad de líquido en el laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427);

- una salida (425) para analizar la fluorescencia de fondo del líquido del líquido introducido;

- una membrana de exclusión por tamaño y/o afinidad química (410) para filtrar el líquido marcado introducido para

incrementar la concentración del polímero y para producir una mezcla A;

5 - una entrada (406) para introducir en el laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) una cantidad de solvente orgánico a ser agregada a la mezcla A para disolver y extraer el polímero conjugado;

10 - opcionalmente, una entrada (412) para introducir en el líquido en el laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) una cantidad de un aditivo polimérico diluido en un solvente orgánico a ser agregado a la mezcla A para funcionalizar el polímero;

 - opcionalmente, un canal microfluídico (411) que exhibe la estructura y/o la capacidad mezclado para homogeneizar la mezcla A así obtenida;

15 - una entrada (415) para introducir en el laboratorio en un microcircuito o sistema microanalítico total (427) una cantidad de agua, para ser agregada a la mezcla A, para promover la agregación del polímero y para producir las pdots;

20 - opcionalmente, una región de calentamiento local (417) para calentar la mezcla A así obtenida, concentrar la mezcla A evaporando del solvente orgánico;

25 - una membrana (428), por ejemplo membrana de exclusión por tamaño, para filtrar la mezcla así obtenida A, para retener las Pdots así formadas sobre la membrana (428);

- opcionalmente, un reservorio (423) para recolectar los solventes orgánicos y agua libre generados de los Pdots, mientras se enfría en una placa de enfriamiento local (426);

- una entrada (422) para introducir en el laboratorio en un microcircuito (427) una pequeña cantidad de agua, para recolectar las pdots retenidas sobre la membrana (428), para formar una dispersión acuosa B que comprende las pdots y para transportar las pdots a un colector ópticamente transparente (419, 509) preferiblemente en forma de una dispersión acuosa B;

- un dispositivo de detección de fluorescencia (502), preferiblemente un espectrómetro o fotodiodo de silicón, para analizar la dispersión acuosa B así obtenida en el colector (419, 509), para detectar las Pdots así extraídas y producidas y su fluorescencia.

Ejemplo 1

Una modalidad del método de la presente invención se ilustra en las Figuras 5 y 6:

3 ml de un combustible marcado son introducidos en un matraz 601. Al matraz se agregan 3 ml de solvente miscible con agua en el cual el marcador es soluble, como THF, para formar la mezcla 602 (véase la Figura 5a). El matraz es típicamente agitado fuertemente para asegurar el mezclado de la muestra y el solvente. El modo de agitación no está limitado; y puede ser usado cualquiera de manualmente, mecánicamente, con un agitador

magnético, o ultrasónico.

Entonces, la solución se hace pasar a través de una membrana de afinidad química, en particular una membrana hidrofílica 603, como una membrana de nylon con una porosidad de aproximadamente 0.2 micrómetros. El líquido orgánico, como el combustible, 604 tiene baja afinidad por la membrana de nylon y en consecuencia, no cruzar la membrana 603, sino que permanece sobre la parte superior de la membrana 603.

Por el contrario, el solvente miscible en agua 605 (que ahora contiene el polímero de fórmula (102), tiene buena compatibilidad con la membrana hidrofílica 603 y cruza la membrana junto con el polímero no agregado, véanse las Figuras 5 b) y c). La porosidad de la membrana 603 es seleccionada para permitir el paso a su través de la mayoría de los polímeros no agregados.

En esta modalidad, la solución 605 es dividida en dos partes. La primera parte es recolectada en una cubeta, y la luminiscencia de la misma es medida. La segunda parte es transferida a un matraz, y son agregados 6 ml de agua para formar la mezcla 606 (véase la Figura 5d). La mezcla es agitada 606, y nuevamente el modo de agitación no está limitado. En esta etapa, el polímero se agrega y forma la dispersión 607 de partículas poliméricas 607 (pdots) dispersadas en agua (véase la Figura 5e). La dispersión 607 es transferida a una cubeta y es medida la luminiscencia.

En esta modalidad, la luminiscencia de 605 y 607 es comparada. En una modalidad, el líquido es considerado genuino si el pico máximo medido para el pdot en la dispersión 607 se desvió hacia longitudes de onda más largas en comparación con el pico máximo medido para el polímero no agregado (precursor de pdot) en la solución 605, por ejemplo en 10 nm o más, como se muestra en la Figura 6.

En una modalidad alternativa, la longitud de onda pico obtenida del PDOT en la dispersión 607 puede desviarse hacia longitudes de onda más cortas, y un líquido puede ser considerado genuino si el pico máximo medido para la pdot en la dispersión 607 se desvía hacia longitudes de onda más cortas en comparación con el pico máximo medido para el polímero no agregado en la solución 605 en 10 nm o más.

En la modalidad anterior también ilustrada en las Figuras 5 y 6, la solución 605 es dividida en dos partes, y la luminiscencia del precursor de pdot (polímero) y de pdot (polímero agregado) es medida por separado, y posiblemente simultáneamente. De manera alternativa, puede medirse la luminiscencia del polímero (precursor de pdot) en la solución 605 antes de la agregación/formación de pdot, y medir posteriormente la luminiscencia de la PDOT en la dispersión 607 después de que se haya formado. Comparando la luminiscencia medida para la pdot en la dispersión 607 con la luminiscencia (almacenada) del polímero (precursor de PDOT) en el líquido 605,

nuevamente puede tomarse la decisión en cuanto a la autenticidad del líquido, como expuso anteriormente.

La longitud de onda de excitación usada para medir los espectros de emisión de los precursores de pdot y pdots, como se muestra en la Figura 6, 8 y 10, es de 435 nm. La excitación es proporcionada por el monocromador de excitación de un espectrofluorómetro usando una lámpara de arco de xenón. La excitación con un LED azul también es adecuada, por ejemplo un LED azul centrado en 450 nm con FWHM de 20 - 50 nm.

10 Ejemplo 2

Otra modalidad del método de la presente invención se ilustra en las Figuras 7 y 8:

De manera similar al Ejemplo 1, se introducen 3 ml de un combustible marcado en un matraz 601. Al matraz se agregan 3 ml de solvente miscible en agua en el cual el marcador es soluble, como THF, para formar la mezcla 602 (véanse las Figuras 7 a) y b)).

El matraz es agitado. El modo de agitación no está limitado y puede ser seleccionado adecuadamente, como de manualmente, mecánicamente, con agitador magnético, o ultrasónicamente. Entonces, la solución se hace pasar a través de una membrana de afinidad química 603, como una membrana hidrofílica 603, por ejemplo una membrana de nylon con una porosidad de aproximadamente 0.2 micrómetros (véase la Figura 7c). El líquido orgánico como el combustible 604 tiene pobre

afinidad con la membrana de nylon y en consecuencia, no cruzan la membrana 603, sino que permanece sobre la parte superior de la membrana 603.

Por otro lado, la solución del solvente miscible en
5 agua 605 que ahora contiene el polímero de fórmula (102)
(precursor de pdot) es compatible con la membrana hidrofílica
603 y atraviesa la membrana, incluyendo el polímero (precursor
de pdot). La porosidad de la membrana 603 es seleccionada para
permitir el paso a su través de la mayoría de los polímeros no
10 agregados.

En esta modalidad, la solución 605 es dividida en dos
partes. La primera parte es transferida a una cubeta, y la
luminiscencia de la misma es medida. La segunda parte es
transferida a un matraz al cual se agregan 6 ml de agua para
15 formar la mezcla 606 (véase la Figura 7d). La mezcla es agitada
606, sin limitación sobre el modo de agitación, conduciendo a
la precipitación y agregación de las partículas poliméricas
(pdots).

La mezcla 606 es filtrada a través de una membrana
20 de exclusión por tamaño, por ejemplo una membrana de nylon con
una porosidad de aproximadamente 0.2 micrómetros. El polímero
agregado (pdots) 608 es retenido sobre la parte superior de la
membrana 603, mientras que la mezcla 609 de agua y solvente
miscible con el agua pasa a través de la membrana (véase la Figura
25 7e).

La membrana 603 con las pdots aisladas 608 es recuperada, y la luminiscencia de las pdots es medida. Aquí, la membrana 603 sirve como soporte para las dots 608 cuya luminiscencia es medida.

5 Entonces, la luminiscencia medida para el polímero (precursor de pdot) en la solución de 605 y para el pdot 608 es comparada. El combustible es considerado genuino si existe una diferencia predeterminada entre las luminiscencias medidas. Esta medida puede por ejemplo ser la del pico máximo medido para
10 la emisión luminiscente de pdot 608 desviada hacia longitudes de onda más grandes en comparación con el pico máximo medido en la emisión de luminiscencia del polímero (precursor de pdot) en la solución 605, por ejemplo, en 10 nm o más, como se muestra en la Figura 8.

15 La diferencia del pico máximo también puede ser mayor de 10 nm, como de 20, 30, o 50 nm, como se ilustra en la Figura 8. Esto permite usar un dispositivo que tenga una resolución espectral menor para determinar la autenticidad del líquido.

Ejemplo 3:

20 Otra modalidad del método de la presente invención se ilustra en las Figuras 9 y 10:

 Nuevamente, son introducidos 3ml de un combustible que tiene al menos un precursor de pdot de un matraz 601. Al matraz son agregados 3ml de un solvente miscible en agua en el
25 cual es soluble el precursor de pdot como THF, para formar la

mezcla 602 (véase la Figura 9a)

El matraz es agitado, donde el modo de agitación no está limitado y es seleccionado de manualmente, mecánicamente, con un agitador magnético, o ultrasónicamente. Entonces la solución se hace pasar a través de una membrana de afinidad química, en particular la membrana hidrofílica 603, como una membrana de nylon con una porosidad de aproximadamente de 0.2 micras (ver Figura 9b). El combustible 604 tiene una baja afinidad a la membrana, y en consecuencia no cruza la membrana 603 si no que permanece sobre la parte superior de la membrana 603. Por otro lado, el solvente miscible en agua solvente 605 que contiene el precursor de pdot tiene una buena compatibilidad con la membrana hidrofílica 603 y cruza la membrana junto con el polímero.

Entonces, en esta modalidad, la solución 605 que contiene el precursor de pdot es dividida en dos partes (véase la Figura 9 d) y e)) La primer aparte es filtrada directamente a través de una membrana de exclusión por tamaño 610 con una porosidad de aproximadamente 0.2 o 0.1 micrómetros. La porosidad en la membrana es seleccionada para retener trazas de polímero no agregado. La membrana 610 con trazas de precursor de pdot (polímero) 611 es recuperada, y la luminiscencia del polímero no agregado 611 es medida.

La segunda parte es transferida a un matraz al cual se agregan 6ml de agua, para formar por lo tanto la mezcla 606

(véase la Figura 9e). La mezcla 606 es agitada, donde el modo de agitación no está limitado, para precipitar y agregar por lo tanto el precursor de pdot para formar las pdots.

La mezcla 606 es entonces filtrada a través de una
5 membrana de exclusión por tamaño 603, por ejemplo una membrana de nylon con una porosidad de aproximadamente 0.2 micrómetros (véase Figura 9f). Las pdots 608 son retenidas sobre la parte superior de la membrana 603, mientras que la mezcla 609 de agua y solvente miscible en agua pasa a través de la membrana.

10 La membrana 603 con pdots 608 es recuperada y la luminiscencia de las pdots es medida. Aquí, la membrana 603 sirve como un soporte sobre la cual son depositadas las pdots 608 cuya luminiscencia es medida.

Entonces, la luminiscencia obtenida del polímero 611
15 y de las pdots 608 es comparada (véase la Figura 10). El combustible es considerado genuino si se satisface un criterio predeterminado, por ejemplo que el pico máximo de la luminiscencia medida de las pdots 608 se desvíe hacia longitudes de onda más largas (o más cortas) en comparación al pico máximo
20 de la luminiscencia medida del polímero 611 en 10 nm o más, como se muestra en la Figura 10.

Los métodos de autenticación descritos en los
ejemplos 1, 2 y 3 pueden ser obtenidos en un matraz como se
representa en las Figuras 5, 7 y 9, pero también pueden ser
25 obtenidos en un laboratorio en un microcircuito o sistema

microanalítico total como se representa en la Figura 11.

Para el Ejemplo 1 (Figura 5), el LOC correspondiente opera como sigue.

- i. todas las válvulas del LOC 710 son cerradas
- 5 ii. el combustible marcado es introducido vía la entrada 701 y el canal 702
- iii. el THF es introducido vía la entrada 705 controlada con la válvula 706
- iv. la membrana de afinidad química 709 separa el
10 combustible del THF y polímeros no agregados
- v. el combustible es removido vía la salida 707 controlada por la válvula 708
- vi. la solución de polímeros no agregados en THF es recolectada en 704 y la luminiscencia de los polímeros no
15 agregados es medida
- vii. la válvula 711 es abierta y la solución de polímeros no agregados entra a la región de mezclado 712
- viii. opcionalmente, pueden ser introducidos algunos aditivos poliméricos de tensoactivos vía la entrada 713
20 controlada con la válvula 714
- ix. el agua es introducida vía 715 controlada con la válvula 716 y comienzan a formarse las pdots
- x. las válvulas 717 y 719 son abiertas y las pdots son retenidas sobre la membrana de exclusión por tamaño 718
- 25 xi. las válvulas 717 y 719 son cerradas y las 722 y

723 son abiertas

xii. el agua es introducida vía la entrada 721 y la dispersión en agua de las pdots recolectadas sobre la salida 724.

- 5 xii. la luminiscencia de las pdots recolectadas en agua es medida y comparada con la luminiscencia de polímeros no agregados.