

3D PRINTING FOR DESIGNING NOVEL SAMPLE PREPARATION DEVICES IN ANALYTICAL CHEMISTRY

Enrique Javier Carrasco-Correa^{1,2,3}, Ernesto Francisco Simó-Alfonso¹, José Manuel Herrero-Martínez¹, Manuel Miró²¹ Grupo CLECEM, Dept. Química Analítica, U. de València, C/ Doctor Moliner, 50, 46100-Burjassot, València.² Grupo FI-TRACE, Dept. Química, U. de les Illes Balears, Cra. Valldemossa, km 7.5, 07122-Palma, Mallorca³ Grupo 3D-MATEC, Dept. Química Analítica, U. de València, C/ Doctor Moliner, 50, 46100-Burjassot, València.

E-mail: enrique.carrasco@uv.es

1. Introducción

La impresión 3D es una técnica de rápida evolución y revolucionaria que está cambiando el paradigma de trabajo en muchas disciplinas [1]. En este sentido, la impresión 3D ha encontrado un hueco en el área de la Química Analítica mediante la fabricación de dispositivos y plataformas de bajo coste usando una gran variedad de materiales [2].

La impresión 3D consiste en la adición de un material en capas sucesivas, lo que permite el diseño y la construcción de estructuras que no fácilmente fabricables mediante otras tecnologías más convencionales como son el fresado o la fabricación substractiva [2]. Para poder imprimir un objeto en 3D, en primer lugar, es necesario diseñar digitalmente el objeto usando un software de tipo CAD (diseño asistido por ordenador) para, posteriormente, ser transferido a un software de impresión, el cual permite establecer los parámetros de construcción. Este proceso, permite que la impresión sea fácilmente accesible a nivel mundial, ya que cualquier diseño puede ser transferido a través de la red y ser impreso de manera reproducible y rápida en cualquier parte del mundo.

En la actualidad hay muchas posibles tecnologías de impresión 3D, aunque cuatro de ellas que son las más ampliamente usadas, incluyendo el campo de la Química Analítica [1]. Estas cuatro tecnologías emplean diferentes principios y materiales para alcanzar el objeto final deseado, por lo que es necesario conocer cada una de sus características específicas para llevar a cabo la elección adecuada de las mismas. características a la hora de elegir aquella que es más adecuada para la aplicación seleccionada. Estas cuatro modalidades se denominan (i) modelado por deposición fundida (FDM, *fused deposition modelling*), (ii) estereolitografía (SLA, *stereolithography*), que incluye varias submodalidades, (iii) impresión por inyección de fotorpolímero (PIP, *photopolymer inkjet printing*) y (iv) sinterizado selectivo por láser (SLS, *selective laser sintering*).

2. Tecnologías de impresión 3D en Química Analítica

2.1. Modelado por deposición fundida

El FDM es la primera técnica que realmente se hizo accesible para todo el mundo y empezó a usarse en diversos campos. La construcción de objetos mediante esta técnica

(Fig. 1) se basa en la extrusión de un termoplástico (ácido poliláctico, acrilonitrilo butadieno estireno, entre otros), el cual es depositado sobre una plataforma en el orden para generar la estructura 3D. Es una técnica muy económica ya que, en general no necesita post-procesado, dispone de una amplia variedad de materiales, los cuales pueden imprimirse simultáneamente [1,3]. Sin embargo, tiene una serie de desventajas que limitan mucho su uso en Química Analítica, como son la baja resolución, la baja compatibilidad con disolventes orgánicos y la poca capacidad de obtener estructuras estancas a medias y altas presiones.

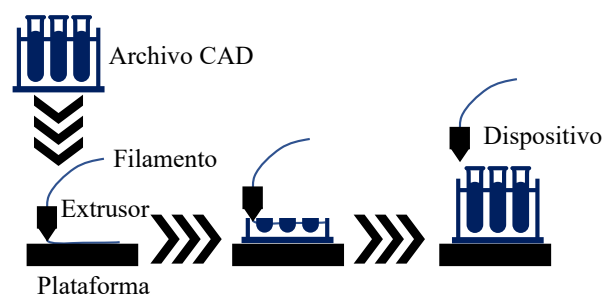


Fig. 1. Esquema del proceso de impresión 3D con FDM. Reproducido con permiso de Elsevier [4].

2.2. Estereolitografía

Otra técnica de impresión 3D que se ha expandido rápidamente es la denominada estereolitografía que engloba varios submodos en función de cómo se realice la construcción del objeto. En general, la SLA consiste en emplear un haz de luz (láser, proyector) para polimerizar capa a capa una resina líquida polimerizable que va generando el objeto final (Fig. 2) [5]. El sistema que presenta la mayor resolución, y el coste más elevado, en estas técnicas es la SLA de baja fuerza que emplea un láser y realiza la fotorpolimerización punto a punto y capa a capa. Por otro lado, si se utiliza un proyector para realizar la polimerización se pueden distinguir dos formas de trabajo: (i) procesado digital por luz y (ii) SLA con máscara. En el primer caso, el proyector proyecta solo

los píxeles que van a fotopolimerizarse en la capa en cuestión, mientras que en el segundo caso hay una máscara que bloquea aquellos píxeles que no se van a fotopolimerizar en esa capa. En cualquier caso, estas modalidades presentan una serie de ventajas comunes como son: superficies menos rugosas que FDM, posibilidad de materiales transparentes, fácil mecanizado, alta compatibilidad con disolventes orgánicos, alta resolución y posibilidad de realizar piezas estancas a presiones medias o incluso elevadas. Sin embargo, el coste de estas impresoras suele ser mayor, es necesario un post-procesado para terminar de curar la pieza, hay más limitación de materiales, y actualmente no se puede realizar impresión en modo multimaterial.

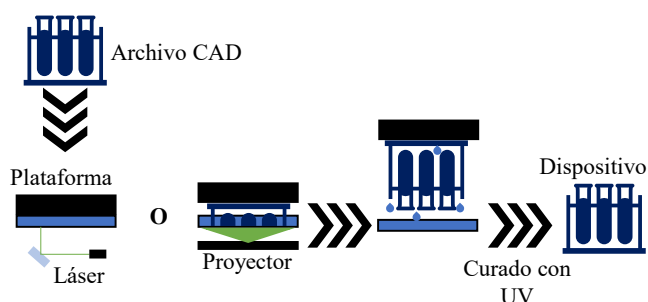


Fig. 2. Esquema del proceso de impresión 3D con SLA. Reproducido con permiso de Elsevier [4].

2.3. Impresión por inyección de fotopolímero

Otra técnica interesante para ser aplicada en el área de Química Analítica es la PIP, que también puede ser nombrada como PolyJet (Stratasys®) o Multi&ProJet (3D Systems®). En este caso, se emplean las mismas resinas que en SLA pero su formato (mezcla FDM y SLA) permite el modo multimaterial, incluyendo una resina soporte que puede eliminarse fácilmente una vez terminado el objeto (Fig. 3) [6]. Pese a las ventajas que aporta estas características (iguales que SLA pero además ofrece la posibilidad de trabajar en multimaterial), su alto coste, largo post-procesado, así como la dificultad de eliminar los soportes solubles hace que esta tecnología resulte menos atractiva para la preparación de prototipos en el área de la preparación de muestra.

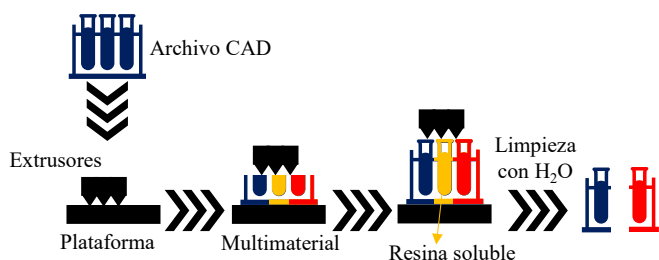


Fig. 3. Esquema del proceso de impresión 3D con PIP. Reproducido con permiso de Elsevier [4].

2.4. Sinterización selectiva por láser

La SLS es la técnica de impresión 3D más diferente con respecto a las habituales. Este tipo de tecnología es capaz de imprimir metal, eso polímeros orgánicos, y se basa en el sinterizado del material en polvo que se deposita sobre un soporte sólido (Fig. 4) [7]. Este tipo de impresoras presenta muy buenas resoluciones de impresión, alta compatibilidad con disolventes y se puede trabajar a altas presiones. Sin embargo, aunque se pueden construir, tanto diseños abiertos como cerrados con canales, estos últimos son muy difíciles de limpiar adecuadamente, ya que es complejo eliminar el polvo del material no sinterizado dentro de los canales. Además, son difíciles de mecanizar y su coste de adquisición es elevado.

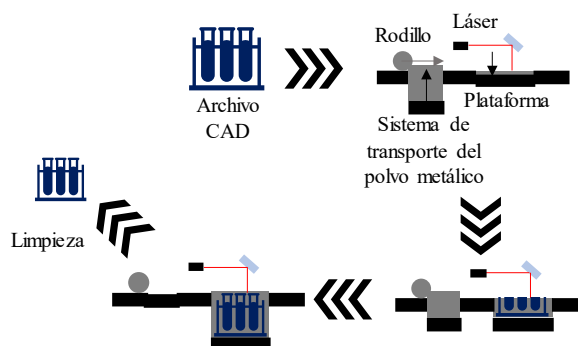


Fig. 4. Esquema del proceso de impresión 3D con SLS. Reproducido con permiso de Elsevier [4].

3. Aplicación de la impresión 3D en preparación de muestra

En los últimos años, la impresión 3D ha ido ganando importancia en el área de la Química Analítica, especialmente en la preparación de muestra, debido a sus múltiples ventajas para preparar nuevos dispositivos con características exclusivas que no podrían ser obtenidos mediante otras técnicas, o su coste o tiempo de procesado serían inviables para estudiar sus características. Es por ello, que han aparecido diferentes *artículos de revisión* que describen esta tecnología y su aplicación dentro de esta área [1, 6, 8-12]. Cabe destacar uno de los primeros trabajos en los cuales se ha empleado la impresión 3D en la preparación de muestras concretamente, Su y colaboradores emplearon la impresión 3D de tipo SLA para fabricar en 2015 un preconcentrador selectivo para la extracción de metales (Mn, Ni, Zn, Cu, Cd y Pb) y la eliminación del efecto matriz de las sales presentes en el agua de mar previo a ICP-MS [13]. Con el objetivo de maximizar la eficacia de extracción, se evaluó el efecto de la geometría de los canales de extracción, utilizándose cuboides ordenados (Fig. 5) para mejorar el mezclado

del líquido, junto con la presencia de grupos acrilato en la propia resina de impresión que actuaban como intercambiadores de cationes.

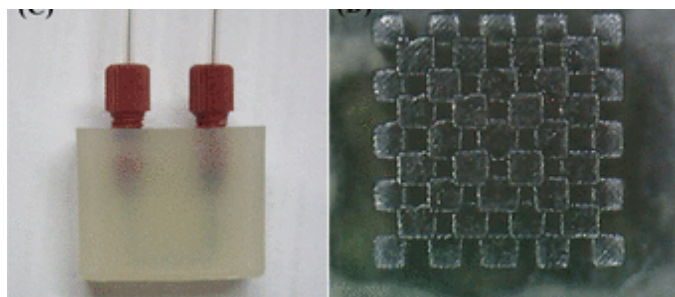


Fig. 5. Fotografías de las piezas impresas en 3D para la extracción selectiva de metales. En la izquierda se muestra el sistema completo y en la derecha se muestran los cuboides ordenados. Reproducido con permiso de ACS [13].

El dispositivo, fue fácilmente adaptado a un sistema fluidoico y acoplado a un ICP-MS lo que permitió analizar los metales anteriormente mencionados, obteniéndose unos excelentes límites de detección ($0.3-18 \text{ ng L}^{-1}$), y elevados factores de preconcentración (11-108) y recuperaciones (83-110%).

Aunque en el área de la preparación de muestra, la impresión 3D de tipo SLA ha sido la más empleada, no ha sido la única. Por ejemplo, FDM se ha empleado para hacer algunos sistemas separativos muy interesantes. Por ejemplo, una impresora de tipo multimaterial se ha usado para crear un dispositivo que permite la medición *in situ* de fármacos mediante fluorescencia (material transparente), emplear transporte electrocinético mediante el empleo de un termoplástico conductor, usar termoplásticos que actúan como membranas de eliminación de macromoléculas y/o como sistema de preconcentración, así como un diseño que permite la separación electroforética de fármacos en fluidos biológicos (Fig. 6) [14].

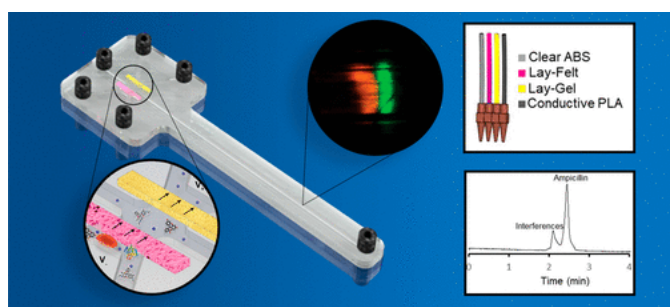


Fig. 6. Dispositivo impreso en 3D usando FDM, así como los distintos materiales y ejemplo de la separación electroforética de compuestos fluorescentes y un ejemplo de la separación electroforética de ampicilina en una muestra biológica. Reproducido con permiso de ACS [14].

Estos dispositivos permiten tratar muestras biológicas de manera directa y determinar ampicilina con límites de detección menores a 2 mg L^{-1} en menos de 3 min.

Cabe destacar que cada día aparecen nuevos diseños llevados a cabo con impresión 3D en el área de la Química Analítica, con especial hincapié en el tratamiento de muestra.

4. Líneas de investigación con impresión 3D de los grupos de investigación implicados en estos trabajos

En los grupos de investigación CLECEM y 3D-MATEC (Universitat de València) y FI-TRACE (Universitat de les Illes Balears) se lleva varios años trabajando en sistemas de impresión 3D para distintas aplicaciones en Química Analítica. Principalmente se centran en el uso de SLA del tipo de baja fuerza para desarrollar nuevos dispositivos que presenten prestaciones novedosas y que puedan ser modificados para proveerles de altas selectividades. Por ello se han preparado sistemas de impresión 3D fácilmente acoplables con sistemas automatizados [5], modificados con nanomateriales [5] o incluso con moléculas altamente selectivas como los anticuerpos [15]. Por otro lado, la investigación en impresión 3D podría dividirse en dos líneas principales de trabajo: (i) desarrollo de soportes adaptados a las necesidades de los procesos analíticos y (ii) plataformas (multi)funcionales diseñadas para ser modificados con otros materiales/reactivo y que sirvan como sistemas de preparación de muestra. Estas líneas de trabajo se encuentran incluidas en proyectos tanto nacionales (PID2020-117676RB-C33 y PID2021-1254590B-I00) como autonómicos (CIGE/2021/117).

5. Ejemplos de impresión 3D y preparación de muestra

Dentro de los trabajos realizados en el grupo, caben destacar dos artículos recientes centrados en la segunda línea de trabajo que permite el desarrollo de dispositivos modificables que actúen, no solo como mero soporte, sino también como sistemas de extracción.

5.1. Sistema de extracción en fase sólida automatizado

En este trabajo [5], se propuso el uso de SLA por primera vez para la fabricación de dispositivos fluidoicos en combinación con anclaje covalente de un polímero monolítico orgánico poroso a la pared del canal interior (Fig. 7). Además, se consiguió su combinación con un sistema de inyección en flujo manejado por un *software* programable que permitió realizar un sistema totalmente automatizado de extracción en fase sólida, limpieza e inyección en HPLC.

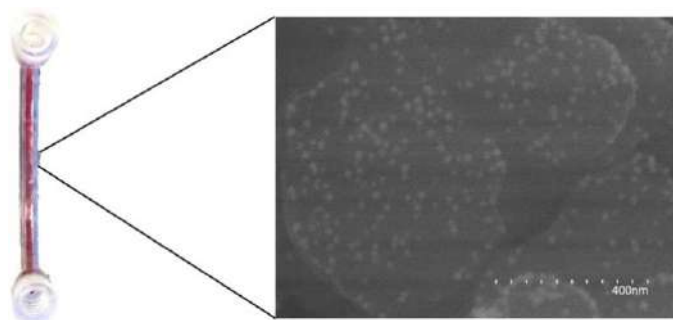


Fig. 7. Dispositivo impreso en 3D con un polímero monolítico poroso anclado en la pared interior del canal fluido y modificado con nanopartículas de Au para la extracción de contaminantes emergentes y micrografía SEM donde se observan dichas nanopartículas (puntos blancos) sobre el polímero. Reproducido con permiso de ElSevier [5].

Los dispositivos 3D fabricados actuando como columnas de extracción fueron diseñados para tolerar altas presiones de trabajo y poder trabajar con volúmenes elevados de muestra. En primer lugar, se desarrolló una metodología para el anclaje covalente de un polímero orgánico poroso basado en glicidil metacrilato, que posteriormente fue modificado con amoníaco y nanopartículas de Au. Todos los pasos fueron ensayados para la extracción de contaminantes emergentes (ácido 4-hidroxibenzóico, metilparabeno, fenilparabeno, bisfenol A y triclosan) y se demostró que el soporte polimérico decorado con nanopartículas de Au proporcionaba mejores retenciones de estos analitos debido a la mayor superficie específica y a las interacciones dador-aceptor entre los grupos hidroxilo (citrato presente en la superficie de las nanopartículas de Au) y los anillos aromáticos (contaminantes). En concreto, se encontraron recuperaciones en el rango de 73 al 92% tanto en muestras de agua como en saliva. Además, los dispositivos mostraron alta capacidad de carga (2 mg g^{-1}), elevado volumen de ruptura (10 mL), buena reproducibilidad pieza a pieza ($<9\%$ RSD) y bajo volumen de elución necesario (0.2 mL). El sistema completo y optimizado se empleó para la extracción, limpieza de matriz y determinación de triclosán en muestras de saliva y se observó que solo eran necesarios 200 μL de muestra para poder cuantificar el contaminante.

5.2. Sistema de extracción en fase sólida mediante inmunofinidad

El desarrollo de nuevos dispositivos específicos para preparación de muestra empleando impresión 3D es el punto central de este trabajo [15]. Se demuestra que la impresión de tipo SLA de baja fuerza es capaz de diseñar unos dispositivos de tipo copa giratoria (Fig. 8) como plataforma de inmunoextracción de diclofenaco que evita etapas tediosas, como la evaporación previa detección en sistemas *stir-bar sorptive microextraction*. El empleo de un soporte con una cavidad semiesférica modificada con un anticuerpo monoclonal anclado covalentemente permitió conseguir factores de preconcentración muy elevados.

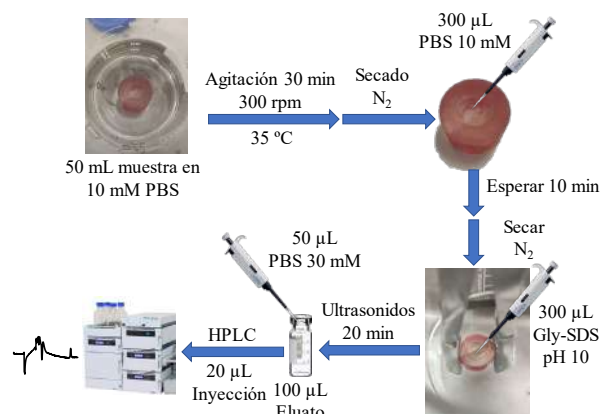


Fig. 8. Imagen del protocolo de preparación de muestra de diclofenaco en aguas residuales usando el dispositivo impreso en 3D de tipo copa giratoria modificado con un anticuerpo monoclonal. Reproducido con permiso de Springer [15].

El dispositivo impreso se aplicó a la extracción de diclofenaco en aguas residuales con buenos resultados. En condiciones experimentales optimizadas, se encontró un límite de detección de 108 ng L^{-1} comparable con otras metodologías que emplean discos giratorios, pero necesitan etapas de evaporación previas a su inyección en HPLC-MS, mientras que en el dispositivo desarrollado se evita ese paso y se determina mediante HPLC-UV. Esto se consigue gracias a que los buenos factores de preconcentración (mayores de 83) y recuperaciones cercanas al 100%. Además, el coste de los dispositivos realizados, incluso teniendo un anticuerpo anclado, resultó económico (16 €/pieza).

6. Conclusiones

La impresión 3D es una técnica que todavía está buscando su espacio en el campo científico, y en especial en la Química Analítica. En la actualidad, la mayor parte de las aportaciones de la impresión 3D ha sido como meros soportes. Sin embargo, empiezan a aparecer estudios en los que ya no actúan como un simple soporte, sino que ofrecen características de funcionalidad únicas que no podrían conseguirse con otras técnicas. Por tanto, aún queda mucho camino que recorrer con la impresión 3D en el mundo de la Química Analítica.

En este sentido, la facilidad de crear nuevas estructuras y dispositivos mediante impresión 3D y de ser fácilmente modificables y adaptables en el propio laboratorio a las necesidades del proceso analítico, para así conferir nuevas características y propiedades fisicoquímicas las cuales pueden ofrecer una ventaja significativa respecto a otras técnicas de fabricación. Por lo tanto, es de esperar que en los próximos años que la cantidad de artículos relacionados con

impresión 3D y preparación de muestra aumenten exponencialmente. No solamente eso, sino que estas tecnologías pueden proporcionar nuevas ideas en otras áreas como son los sistemas separativos o en el desarrollo de sensores, de manera que se puede estar creando una nueva vertiente investigadora que provea de nuevas herramientas versátiles, fácilmente adaptables y asequibles para cualquier persona en cualquier lugar del mundo.

7. Agradecimientos

Manuel Miró y Enrique J. Carrasco-Correa agradecen a la Agencia Estatal de Investigación (AEI/10.13039/501100011033) y al Ministerio de Ciencia e Innovación (MCIN) por el proyecto PID2020-117686RB-C33.

Enrique J. Carrasco-Correa, Ernesto Fco. Simó-Alfonso y José Manuel Herrero-Martínez también agradecen por el Proyecto PID2021-1254590B-I00 a la AEI y al MCIN.

Enrique J. Carrasco-Correa también agradece a la Generalitat Valenciana por la concesión del proyecto CIGE/2021/117.

8. Referencias

- [1] E. J. Carrasco-Correa, E. F. Simó-Alfonso, J. M. Herrero Martínez, M. Miró. The emerging role of 3D printing in the fabrication of detection systems. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 136 (2021) 116177.
- [2] C. D. Crowe, A. K. Hendrickson-Stives, S. L. Kuhn, J. B. Jackson, C. D. Keating, Designing and 3D Printing an Improved Method of Measuring Contact Angle in the Middle School Classroom. *J. Chem. Ed.* 98 (2021) 1997-2004.
- [3] F. Li, N. P. Macdonald, R. M. Guijt, M. C. Breadmore. Increasing the functionalities of 3D printed microchemical devices by single material, multimaterial, and print-pause-print 3D printing. *Lab Chip*, 19 (2019) 35-49.
- [4] H. Martínez-Pérez-Cejuela, E. J. Carrasco-Correa, A. Moga, M. Vergara-Barberán, M. Beneito-Cambra, M. J. Lerma-García, E. F. Simó-Alfonso, J. M. Herrero-Martínez. Reticular framework materials in miniaturized and emerging formats in analytical chemistry. *J. Chromatogr. A*, 21 (2022) 463092.
- [5] E. J. Carrasco-Correa, D. J. Cocovi-Solberg, J. M. Herrero Martínez, E. F. Simó-Alfonso, M. Miró. 3D printed fluidic platform with in-situ covalently immobilized polymer monolithic column for automatic solid-phase extraction. *Anal. Chim. Acta*, 1111 (2020) 40-48.
- [6] D. J. Cocovi-Solberg, P. J. Worsfold, M. Miró. Opportunities for 3D printed millifluidic platforms incorporating on-line sample handling and separation. *Trac Trends Anal. Chem.*, 108 (2018) 13-22.
- [7] A. M. Tohill, M. Partridge, S. W. James, R. P. Tatam. Fabrication and optimisation of a fused filament 3D-printed microfluidic platform. *J. Micromech. Microeng.*, 27 (2017) 035018.
- [8] P. N. Nesterenko. 3D printing in analytical chemistry: current state and future. *Pure App. Chem.*, 92 (2020) 0206.
- [9] G. I. J. Salentijn, P. E. Oomen, M. Grajeski, E. Verpoorte. Fused Deposition Modeling 3D Printing for (Bio)analytical Device Fabrication: Procedures, Materials, and Applications. *Anal. Chem.* 89 (2019) 7053-7061.
- [10] M. J. Beauchamp, G. P. Nordin, A. T. Woolley. Moving from millifluidic to truly microfluidic sub-100- μm cross-section 3D printed devices. *Anal. Bioanal. Chem.* 409 (2017) 4311-4319.
- [11] D. J. Cocovi-Solberg, M. Rosende, M. Michalec, M. Miró. 3D Printing: The Second Dawn of Lab-On-Valve Fluidic Platforms for Automatic (Bio)Chemical Assays. *Anal. Chem.* 91 (2019) 1140-1149.
- [12] F. Li, M. R. Ceballos, S. K. Balavandy, J. Fan, M. M. Khataei, Y. Yamini, F. Maya. 3D Printing in analytical sample preparation. *J. Sep. Sci.*, 43 (2020) 1854-1866.
- [13] C.-K. Su, P.-J. Peng, Y.-C. Sun. Fully 3D-Printed Preconcentrator for Selective Extraction of Trace Elements in Seawater. *Anal. Chem.* 87 (2015) 6945-6950.
- [14] F. Li, N. Macdonald, R. M. Guijt, M. C. Breadmore. Multimaterial 3D Printed Fluidic Device for Measuring Pharmaceuticals in Biological Fluids. *Anal. Chem.* 91 (2019) 17858-1763.
- [15] E. J. Carrasco-Correa, J. M. Herrero-Martínez, E. F. Simó-Alfonso, D. Knopp, M. Miró. 3D printed spinning cup-shaped device for immunoaffinity solid-phase extraction of diclofenac in wastewaters. *Microchim. Acta*, 189 (2022) 173.