(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 134 122**

(21) Número de solicitud: 009602182

(51) Int. Cl.[6]: G01N 21/64

C09K 11/06

(12) PATENTE DE INVENCION B1

(22) Fecha de presentación: **16.10.1996**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **16.09.1999**

Fecha de concesión: **16.02.2000**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **01.04.2000**

(45) Fecha de publicación del folleto de patente: **01.04.2000**

(73) Titular/es:
Universidad Complutense de Madrid
Rectorado, Avda de Séneca, 2
28040 Madrid, ES

(72) Inventor/es: **Orellana Moraleda, Guillermo; García Fresnadillo, David; Moreno Bondi, María Cruz; Marazuela Lamata, María Dolores; Knapp Bjerén, Carlos y Castro, Ana María**

(74) Agente: **No consta**

(54) Título: **Sensor óptico para detergentes.**

(57) Resumen:
Sensor óptico para detergentes.
Dispositivo óptico capaz de determinar, de forma continua e in situ, la concentración de detergentes, tensioagentes o surfactantes ("analitos") contenidos en una muestra líquida. Dicho dispositivo utiliza como material sensible ciertos complejos metal-orgánicos luminiscentes [como por ejemplo, el bis(1,10-fenantrolina-(4,7-di(fenilsulfonato)) (5-octadecanamida-1,10-fenantrolina)rutenato(II) disódico], cuya intensidad, tiempo de vida (i.e. el inverso de la constante de velocidad) y/o anisotropía (polarización) de la emisión de luz visible aumentan en presencia de concentraciones crecientes de dichos analitos presentes en dicha muestra. Se describe asimismo la adaptación de dicho dispositivo sensor óptico a la monitorización de detergentes en medio acuoso mediante el empleo de un sistema de fibra óptica combinado con la inmovilización de dichos compuestos luminiscentes en una matriz polimérica adecuada. La sensibilidad de dicho dispositivo a los distintos detergentes (catiónicos, aniónicos y neutros) es función de la estructura del indicador luminiscente utilizado, del procedimiento de inmovilización del mismo y de la naturaleza de la muestra y el(los) analito(s).

ES 2 134 122 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art° 37.3.8 LP.

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. C/Panamá, 1 – 28036 Madrid

DESCRIPCION

Sensor óptico para detergentes.

Campo técnico al que se refiere la invención

La presente invención, según se expresa en el enunciado de esta memoria descriptiva, se refiere a sensores, sondas, sistemas, materiales y métodos para la detección y medida de la concentración de un analito químico disuelto o suspendido en una muestra líquida, a través de la variación de los parámetros que caracterizan la luminiscencia de ciertos compuestos químicos (tales como algunos compuestos de coordinación de ligandos poliazaheterocíclicos con metales de transición, como por ejemplo el rutenio o el osmio) cuya intensidad y cinética de la emisión de fluorescencia o fosforescencia (en general, luminiscencia) se modifican en presencia de determinadas especies químicas tales como, en este caso, detergentes, tensioagentes o surfactantes.

Estado de la técnica. Antecedentes

La tendencia actual, en áreas tales como el medioambiente, los procesos industriales, la biotecnología, la medicina, o la bioquímica clínica, por citar algunas, está dirigida hacia la utilización de sensores, sondas o dispositivos de medida capaces de monitorizar in situ, de manera reversible, continua y en tiempo real, la concentración de especies químicas o parámetros físicos ("analitos") relevantes en dichas áreas. En este sentido, los sensores o sondas ópticas (ésto es, aquéllos que basan su capacidad de medida en la variación de alguna propiedad de la radiación luminosa en función de la cantidad o concentración de analito) presentan innegables ventajas frente a los sensores eléctricos, electrónicos o mecánicos convencionales; entre otras, pueden mencionarse:

- Ausencia de riesgos o interferencias eléctricas.
- Facilidad de miniaturización.
- No presentan consumo del analito.
- Permiten la cuantificación del analito sin contacto físico entre el sensor en sí y el dispositivo instrumental de medida.
- Pueden diseñarse dispositivos para analitos que no pueden ser analizados por métodos distintos a los ópticos, o es muy difícil su determinación por otros métodos.
- Pueden ser competitivos o superiores en coste, robustez, tenacidad, estabilidad o sensibilidad.

Así como las ventajas derivadas, en su caso, de la utilización de fibra óptica para la fabricación de los mismos (medición remota, mayor densidad de información transportada, versatilidad, multiplexación, etc).

No obstante, la aplicación práctica de tales dispositivos requiere superar las limitaciones que se derivan de la naturaleza de la medida óptica que emplean y de la necesidad, en muchos casos, de utilización de moléculas indicadoras sensibles al analito objetivo: interferencia de la luz ambiental, fotodescomposición, lavado o pérdida del indicador, necesidad de transporte de masa de la muestra a la fase indicadora, intervalo dinámico reducido en algunos casos, etc.

Esencialmente, un dispositivo que emplea un sensor óptico (denominado a veces en la literatura "optodo" u "optrodo") está constituido por una fuente luminosa, un sistema (en su caso) de selección de la(s) longitud(es) de onda de la radiación incidente y/o emergente en el/del terminal sensible, un detector fotónico y el extremo, terminal o fase sensible propiamente dicho. El componente clave del dispositivo es, normalmente, la capa reactiva, dispuesta de manera adecuada en el terminal o cámara de medida del mismo, la cuál contiene el compuesto químico (indicador) cuyas propiedades ópticas se modifican por la interacción con el analito de interés.

Actualmente, un método convencional para la cuantificación de detergentes iónicos es la valoración potenciométrica de los mismos mediante electrodos sensibles a iones (N. Buschmann y R. Schulz, Tenside Surfactants Detergents 1993, 30, 18-23; U. Denter, H.-J. Buschmann y E. Schollmeyer, Tenside Surf Det. 1991, 28, 333). Este procedimiento electroquímico no puede utilizarse para monitorizar dichos analitos en continuo, dada la necesidad de llevar a cabo una valoración por adición de un reactivo, está sujeto a la interferencia de otros iones presentes en la muestra, utiliza frecuentemente reactivos tóxicos que deben desecharse tras el análisis, no es aplicable a la determinación de tensioagentes neutros y sus resultados están sujetos a variación en función del electrodo sensible utilizado y su pre-acondicionamiento anterior a la medida. Inconvenientes análogos presenta el método patrón ASTM Designation D4251-88 para la determinación de detergentes aniónicos, el cuál utiliza un electrodo selectivo a nitrato para detectar el punto final de una valoración por precipitación.

Asimismo, los surfactantes iónicos se determinan frecuentemente mediante un método fotométrico (absorción o emisión de luz) de extracción a un disolvente orgánico del par iónico formado por tales analitos y un contra-ión apropiado, seguido de cuantificación óptica del mismo. Así, para determinar detergentes aniónicos se emplea la extracción de los mismos con azul de metileno (S.R. Epton, Trans. Faraday Soc. 1948, 44, 226; "German standard methods for the examination of water, waste water and sludge" DIN 38409, partes 20 y 23; UNE 77-054-83) o con la pareja de indicadores bromuro de diimidio/azul disulfina (V.M. Reid, G.F. Longman y E. Heinerth, Tenside Surf 1967, 4, 292; Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft (Hrsg.): Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen, Zweiphasentitration von Tensiden H-III 1982, 10, Wissenschaftliche Verlagsgeselischaft Stuttgart). Para la cuantificación de detergentes catiónicos se utiliza el método de extracción de J.T. Cross (Analyst 1965, 90, 315). Sin embargo, todos estos métodos fotométricos de extración adolecen, como así señala la mencionada norma UNE, de que si se busca una determinación directa de cualquiera de los detergentes individuales activos frente al contra-ión utilizado, in-

terfieren en la determinación todas las demás especies que dan la reacción (e.g. para los surfactantes aniónicos, interfieren los sulfatos orgánicos, sulfonatos, carboxilatos y fenoles, entre otras especies que forman complejos con azul de metileno); además, las sustancias anfifílicas de carga opuesta a las determinadas con el método utilizado originarán interferencias negativas, al competir con el contra-ión por el detergente analizado (e.g. para los surfactantes aniónicos, interfieren los cianatos inorgánicos, cloruros, nitratos y tiocianatos, entre otras especies que forman pares iónicos con azul de metileno). Además, las sustancias orgánicas, como las aminas, que compiten con el azul de metileno u otros indicadores en el proceso de extracción pueden conducir a resultados analíticos por defecto; las sustancias coloreadas presentes en la muestra y extraíbles por el disolvente orgánico interferirán en la determinación óptica según el grado de absorbancia o de luminiscencia que presenten a la longitud de onda analítica utilizada. Más aún, la naturaleza extractiva de tales métodos fotométricos los hace considerablemente lentos e inaplicables al análisis de dichos detergentes in situ, de forma contínua y en tiempo real, e impide la determinación de los surfactantes o tensioagentes neutros (no iónicos).

Por otra parte, el método habitual para el análisis de los detergentes no iónicos es la cromatografía líquida de alta eficacia o "cromatografía HPLC". La naturaleza de este método de análisis, impide su utilización en continuo y en tiempo real para la monitorización y dificulta considerablemente su aplicación al análisis in situ de dichos analitos.

En la bibliografía científico-técnica se describe una amplia variedad de indicadores inmovilizados en soportes poliméricos orgánicos o inorgánicos, materiales y métodos adecuados para la construcción de terminales sensibles, sensores, sondas o dispositivos que permiten la cuantificación de analitos por métodos ópticos [O. S. Wolfbeis (ed.), Fiber-Optic Chemical Sensors and Biosensors, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA (1991)]. Sin embargo, ninguno de los dispositivos ópticos descritos en la bibliografía científica hasta el momento permite la cuantificación de detergentes, a excepción del método óptico descrito por Z. M. Shakhsher y W.R. Seitz (Anal. Chem. 1990, 62, 1758-1762), el cuál sólo es válido para la determinación de surfactantes catiónicos (pues se basa en el desplazamiento espectral que provoca la formación de pares iónicos entre el indicador fluorescente inmovilizado y el analito) y utiliza indicadores ópticos completamente distintos a los que se refiere la presente invención.

Otro método de análisis de agentes de lavado, siempre que éstos emitan fluorescencia, es el que describe la patente WO 9 316 225 (Henkel). Sin embargo, este método óptico carece de generalidad al ser válido exclusivamente para el análisis de detergentes con fluorescencia propia (una minoría entre todos los conocidos), ya que no utiliza indicador alguno.

Por otra parte, los quelato-complejos de rutenio(II) que contienen ligandos poliaazaheterocíclicos se han utilizado recientemente como materiales luminiscentes para la fabricación de sensores ópticos para diversos analitos, notablemente oxígeno, pH y dióxido de carbono (O. S. Wolfbeis (ed.), Fiber-Optic Chemical Sensors and Biosensors, CRC Press, Boca Raton, Florida, EEUU (1991); J. R. Lakowicz (ed.), Topics in Fluorescence Spectroscopy, Vol. 4, Plenum Press, New York, EEUU (1994); Patente Española ES 2 023 593), pero nunca detergentes como es el objeto de la presente invención. Estos compuestos exhiben características únicas que los hacen muy convenientes para el desarrollo y fabricación de sensores de fibra óptica: una intensa absorción desde la región ultravioleta a la región visible del espectro electromagnético (típicamente entre 190 y 550 nm), un gran desplazamiento entre la absorción y la emisión de luminiscencia (más de 150 nm), estados excitados de vida bastante larga (típicamente de 0,05 a 6 microsegundos en disolución acuosa a temperatura ambiente), carga global del ión complejo positiva, nula o negativa en función de los grupos funcionales iónicos que posean los ligandos quelatantes que los integran y una apreciable fotoestabilidad. Además, se puede conseguir un ajuste fino de las propiedades del estado fundamental y del estado excitado de los mismos mediante una cuidadosa selección de los ligandos quelatantes heterocíclicos que se utilizan en su preparación.

Es un objetivo de la presente invención el proporcionar compuestos químicos y materiales luminiscentes cuya emisión se incrementa en proporción a la concentración de detergentes, surfactantes o tensioagentes presentes en una muestra líquida, para su uso en sensores ópticos para tales especies químicas.

Otro objetivo es el proporcionar métodos para mejorar la sensibilidad a dichos analitos y posibilitar la inmovilización de los compuestos luminiscentes en soportes poliméricos orgánicos o inorgánicos para construir sensores ópticos para detectar y cuantificar dichos analitos.

Otro objetivo más es el proporcionar un sensor de fibra óptica basado en medidas de intensidad, tiempo de vida (cinética) de emisión y/o anisotropía (polarización) de luminiscencia, capaz de medir in situ y en contínuo la concentración de detergentes, surfactantes o tensioagentes en una muestra líquida.

Descripción detallada de la invención

La presente invención revela la construcción de un nuevo tipo de sensor que permite determinar ópticamente la concentración de compuestos detergentes (también denominados genéricamente surfactantes o tensioagentes) presentes en una muestra líquida. De acuerdo a una de las maneras posibles de realizarlo, el sensor óptico consiste en un compuesto luminiscente sensible a dichos analitos elegido, preferiblemente, entre la familia de compuestos de coordinación de Ru(II) con ligandos poliazaheterocíclicos, inmovilizado física, electrostática o químicamente a un soporte polimérico orgánico o inorgánico adecuado. El compuesto luminiscente inmovilizado puede fotoexcitarse utilizando longitudes de onda comprendidas, preferiblemente, entre 220 y 550 nm y, por consiguiente, puede emplearse también con fibras ópticas comerciales a fin de construir un terminal sensible de fibra óptica capaz de ser

introducido directamente en el seno de una fase líquida en donde se desea determinar la concentración de analito(s).

Los compuestos químicos luminiscentes utilizados en la presente invención preferiblemente poseen, al menos, un ligando heterocíclico quelatante y como máximo tres de ellos, unidos a un átomo metálico central, preferiblemente Ru(II), aunque pueden emplearse otros metales de transición tales como osmio(II), cromo(III), rodio(III), renio(V), etc. Cuando se les expone a la luz ultravioleta o visible, dichos compuestos luminiscentes emiten radiación visible centrada en una banda. Cuando se disponen los mismos unidos a una matriz polimérica adecuada, bien sea por incorporación física (por ejemplo, adsorción, disolución o atrapamiento), imnovilización electrostática (interacción iónica) o anclaje covalente a dicha matriz, dichos compuestos luminiscentes muestran una significativa sensibilidad a la presencia de compuestos de naturaleza anfifílica (detergentes, surfactantes o tensioagentes) en una fase líquida, de manera que se puede llevar a cabo la detección y cuantificación de tales analitos mediante el correspondiente calibrado del dispositivo apropiado, ésto es, de la representación de la variación de la intensidad, tiempo de vida (el inverso de la constante de velocidad de desactivación de su estado excitado) y/o anisotropía (grado de polarización o despolarización) de la luminiscencia de dichos compuestos inmovilizados, en función de la concentración de dichos detergentes.

Como puede verse, la presente invención muestra, frente a otras descritas al exponer el estado de la técnica y antecedentes, las siguientes diferencias esenciales:

1) La más importante es que, a diferencia de los procedimientos disponibles actualmente basados en la extracción con indicadores colorimétricos o en valoraciones electroanalíticas, que no permiten la determinación del analito in situ y/o en contínuo, la presente invención utiliza como principio de medida la emisión de luminiscencia del estado electrónico excitado de las especies indicadoras (complejos metálicos de rutenio(II) con ligandos quelatantes políazaheterocíclicos) utilizadas en la construcción del dispositivo sensible. Puesto que el incremento que producen los detergentes sobre la luminiscencia del indicador soportado, debido a la interacción física mutua, es prácticamente instantánea, el principio de medida desarrollado permite la monitorización del analito de manera contínua. Además, la naturaleza óptica de la medida lo hace inmune a la interferencia de los campos o descargas eléctricas, al contrario que los dispositivos electroquímicos mencionados.

2) El empleo de la luminiscencia como propiedad medible del indicador permite utilizar simultánea o alternativamente la intensidad de emisión, el tiempo de vida (la cinética) o la anisotropía (polarización) de la misma como principio de medida, lo que incrementa la sensibilidad y selectividad del dispositivo óptico sensible frente a los analitos en cuestión.

3) La utilización de complejos de coordinación metal-heterociclos diferentemente substituidos e inmovilizados en un soporte polimérico, para la construcción del presente dispositivo óptico de medida permite realizar un ajuste preciso de las propiedades ópticas y analíticas del indicador sensible, a las características de utilización requeridas para la medida concreta, mediante la preparación de otros compuestos relacionados en los que se varíe el número y la naturaleza del(de los) ligando(s) y/o los sustituyentes que integran dichos compuestos, así como la matriz polimérica que se utiliza para inmovilizar los mismos.

4) Este dispositivo sensible permite realizar la excitación luminosa en una región del espectro electromagnético mucho más ancha (como mínimo 190-550 nm) que los descritos hasta la fecha para los analitos mencionados, con la consecuente versatilidad de funcionamiento (fuentes de iluminación, fibras ópticas en su caso, etc.).

5) La utilización de dichos complejos metálicos luminiscentes permite conseguir una separación (en términos de longitud de onda) entre la luz de excitación y la luz emitida muy superior a la que se consigue con los dispositivos descritos hasta la fecha, con la consiguiente (mayor) simplicidad y economía de construcción de los mismos.

6) La sencillez de construcción, componentes y operación del dispositivo aquí descrito supera a muchos de los sistemas y métodos descritos hasta la fecha para tal fin.

Ejemplo

Expuestas hasta aquí las características distintivas de la presente invención, se ilustra a continuación una de las maneras posibles de llevarla a cabo.

De acuerdo a uno de los aspectos de la invención, se describen complejos metálicos luminiscentes cuya emisión aumenta de intensidad, ralentiza la cinética de su extinción y/o varía su polarización en presencia de substancias detergentes, surfactantes o tensioagentes. Dichos complejos metálicos exhiben la suficiente sensibilidad a tales analitos presentes en una muestra líquida, tanto si dichos complejos se encuentran en disolución, como en forma sólida o inmovilizados, atrapados, depositados, adsorbidos o anclados electrostática o covalentemente a una matriz o soporte polimérico/a, orgánica o inorgánica, adecuada.

Dichos complejos metálicos luminiscentes se excitan electrónicamente, preferiblemente por absorción de luz, para producir un estado excitado capaz de emitir radiación luminosa visible. La sensibilidad a los detergentes, surfactantes o tensioagentes resulta de la interacción de dichos analitos con dichos complejos luminiscentes, durante el tiempo que dura el estado excitado de los mismos, con la consiguiente variación en las propiedades de la emisión luminiscente de dichos complejos metálicos.

Dichos complejos luminiscentes contienen como metal, preferiblemente, rutenio(II) enlazado químicamente a ligandos poliazaheterocíclicos provistos o no de substituyentes, pudiendo dichos complejos estar constituídos por ligandos heterocíclicos iguales o diferentes. Preferiblemente, dichos complejos luminiscentes contienen dos ligandos 1,10-fenantrofina-4,7-di(fenilsulfonato) disódico, abreviadamente s2d (por ejemplo, el comercializado por Sigma-

Aldrich Química, Alcobendas, Madrid), y un ligando de marcada hidrofobícidad, tales como la 5-tetradecananiida-1,10-fenantrolina (abreviadamente, tdap) o la dipirido[3,2-a:2'3'-c]fenazina (abreviadamente, dppz). La 5-tetradecanamida-1,10-fenantrolina se puede sintetizar, por ejemplo, utilizando el procedimiento de D.H.R. Barton et al. (J. Chem. Soc. (C) 1971, 3540-3550) a partir de la 5-amino-1,10-fenantrolina (pudiendo a su vez esta última ser preparada a partir de 5-nitro-1,10-fenantrolina comercial suministrada por Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid, por reducción con hidrazina siguiendo por ejemplo el método descrito por R. Nasielski-Hinkens et al., J. Heterocycl. Chem. 1980, 17, 873-876). El ligando dipirido[3,2-a:2'3'-c]fenazina puede sintetizarse, por ejemplo, mediante el procedimiento descrito por A.E. Friedrnan et al. J. Am. Chem. Soc. 1990, 112, 4960.

Dichos complejos luminiscentes de rutenio(II) pueden prepararse, por ejemplo, a partir del complejo $Ru(s2d)_2Cl_2{}^{4-}$ (preparado a su vez a partir del trieloruro de rutenio hidratado comercial suministrado por Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid y s2d, siguiendo por ejemplo el procedimiento descrito por B.P. Sullivan et al. Inorg. Chem. 1978, 17, 3334-3341) y el ligando adicional tdap o dppz, de acuerdo al método de síntesis de complejos metálicos heterolépticos análogos descrito por E.V. Dose y L. Wilson, Inorg. Chem. 1978, 17, 2660-2666. Preferiblemente, dichos complejos metálicos se anclan químicamente de manera covalente a dicho soporte polimérico para construir el terminal sensible de un sensor óptico para dichos analitos químicos.

Preferiblemente, el método de inmovilización covalente de dichos complejos luminiscentes de Ru(II) con dichos ligandos poliazaheterocíclicos utiliza vidrio poroso dotado de grupos funcionales amino (tal como el que suministra por ejemplo, Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid, denominado "aminopropyl glass" producto número G5019). Alternativamente, es posible utilizar otros vidrios porosos no aminados (tales como el vidrio de poro controlado o "CPG", o vidrio de poro controlado "diol" o "CPG-glyceryl", suministrados entre otros fabricantes por Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid, o la lámina de vidrio poroso Vycor o "Vycor Porous Glas"® fabricado y suministrado por Corning, Nueva York, EEUU) y proceder a la introducción de grupos amino en su estructura siguiendo por ejemplo el procedimiento descrito por H.H. Weetall, "Covalent Coupling Methods for Inorganic Support Material", en S.P. Colowick y N.O. Kaplan (eds.) "Methods in Enzymology" Vol. 44 (Immobilized Enzymes), Academic Press, Nueva York, EEUU, 1976; pp. 134-149.

Una de las maneras posibles de llevar a cabo el procedimiento de inmovilización covalente de un complejo luminiscente de Ru(II) provisto de grupos sulfonato en alguno de sus ligandos poliazaheterocíclicos (como, por ejemplo, el s2d), tales como los descritos más arriba, al soporte polimérico, tal como uno de los vidrios aminados descritos más arriba, es la siguiente: se mezclan 0,02 g de $Na2[Ru(s2d)_2(tdap)]$ con 0,07 g de pentabromuro de fósforo (como por ejemplo el comercializado por Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid) y se aisla el sistema bajo atmósfera de argon. Transcurridos 15 minutos, se añaden gota a gota 30 mL de N,N-dimetilfonnarnida anhidra (abreviadamente "DMF", como por ejemplo la comercializada por Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid). La disolución resultante se calienta a reflujo durante 1 hora, enfriándola después con un baño de hielo hasta llegar a 0°C. Entonces se añade, gota a gota, una disolución de 10 mL de DMF anhidra conteniendo 0,05 g de trifluormetanosulfonato de plata (como por ejemplo el comercializado por Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid). Se deja agitar la mezcla durante 30 minutos y posteriormente se trasvasa la misma, haciéndola pasar a través de un filtro de poli(tetrafluoroetileno) (por ejemplo, el que fabrica y vende Millipore, EEUU, referencia Millex-FGS, tamaño de poro 0,2 μm, ø29 mm), hasta otro matraz que contiene una suspensión de 0,25 g de partículas de vidrio de poro controlado, funcionalizado con grupos amino según el producto o procedimiento descrito más arriba, en 10 mL de DMF anhidra y 15 μL de piridina anhidra (como por ejemplo la comercializada por Sigma-Aldrich Química, Alcobendas, Madrid), enfriado a la temperatura de 0°C y bajo atmósfera de argon. La suspensión resultante se deja agitar durante 1 hora a baja temperatura y después a temperatura ambiente durante 12 horas adicionales. Pasado este tiempo, se filtran las partículas de vidrio ya teñidas (con el complejo metálico anclado covalentemente a la superficie de las mismas) y se lavan varias veces con DMF hasta observar ausencia de color en los líquidos de lavado. Idéntico procedimiento de lavado se repite sucesivamente con agua, metanol y acetona. Las partículas de color naranja se secan a presión reducida durante 1 hora obteniéndose así el vidro de poro controlado unido covalentemente al complejo $[Ru(s2d)_2(tdap)]^{2-}$. Un procedimiento similar conduce al complejo $[Ru(s2d)_2(dppZ)]^{2-}$ químicamente unido al soporte de vidrio poroso.

El dispositivo general de medida óptica con la fase indicadora así preparada, está constituido por un sistema de iluminación (preferiblemente una lámpara de wolframio-halógeno, una lámpara de xenon, un diodo emisor de luz azul, una lámpara pulsada de nitrógeno o una fuente de iluminación láser de longitud de onda adecuada para ser absorbida por el complejo metálico, preferiblemente entre 390 y 550 nm) y un sistema de detección de la luz emitida por el complejo luminiscente anclado en el extremo del dispositivo sensor (e.g. un tubo fotomultiplicador Hamarnatsu R-928 de Hamamatsu Photonics España, Barcelona, o un dispositivo de carga acoplada CCD tal como el modelo Instaspec IV fabricado por ORIEL, Connecticut, EEUU). La señal eléctrica que produce el detector fotónico, convenientemente amplificada, se cuantifica mediante un sistema de medida analógico o digital, y dicha cantidad se correlaciona con la concentración de detergente(s), surfactante(s) o tensioagente(s) presente(s) en la muestra líquida en la que se introduce el terminal sensible, mediante un calibrado apropiado.

Preferiblemente, la luz procedente de dichas fuentes de iluminación se dirige al extremo de entrada de un haz bifurcado de fibras ópticas de sílice fundida, distribuidas al azar en el extremo común, como por ejemplo los fabricados y comercializados por Fiberguide Industries, New Jersey, EEUU. Si se utiliza una de las funtes de luz policromática mencionadas, la radiación incidente se hace pasar preferiblemente a través de un filtro de banda ancha de 400 nm antes de ser introducida en la fibra óptica. La radiación incidente se conduce por el haz de fibras ópticas hasta el extremo común en el que se encuentra uno de los complejos metálicos luminiscentes mencionados más arriba (por ejemplo, el $[Ru(s2d)_2(tdap)]^{2-}$) anclado covalentemente a un vidrio poroso como el descrito más arriba. Los analitos en cuestión (detergentes, surfactantes y/o tensioagentes), presentes en la muestra líquida en la que se introduce dicho terminal sensible unido al extremo común del haz de fibras ópticas, interaccionan con dicho complejo metálico luminiscente excitado anclado al soporte polimérico y provocan un aumento de su intensidad de emisión, de su tiempo de vida de emisión y/o de la anisotropía (polarización) de su luminiscencia.

Dicha radiación luminosa emitida por el complejo metálico excitado se conduce al detector fotónico mencionado más arriba, mediante el ramal de salida del haz de fibras ópticas que constituye el dispositivo óptico, y se hace atravesar preferiblemente un filtro de corte de 570 nm antes de incidir sobre dicho detector fotónico.

La medida de la anisotropía (polarización) de la luminiscencia con el dispositivo óptico descrito requiere el empleo de fuentes de luz polarizada linealmente (e.g. láseres de emisión polarizada) o fuentes de luz no polarizada y dispositivos polarizadores de las radiaciones luminosas de excitación y emisión (tales como los comercializados por Edinburgh Instruments, Edimburgo, Reino Unido).

Las medidas de intensidad de emisión de luminiscencia, de tiempo de vida (cinética) de emisión de luminiscencia y/o anisotropía (polarización) de la emisión de luminiscencia se realizan con el dispositivo descrito más arriba, para distintos valores de la concentración de detergente(s), surfactante(s) o tensioagente(s) a medir en la muestra líquida, con lo que el dispositivo sensor óptico queda calibrado.

REIVINDICACIONES

1. Sensor óptico para detergentes presentes en una muestra líquida, cuyo funcionamiento se basa en la medida del aumento que provocan dichos analitos en la intensidad, tiempo de vida y/o polarización de la emisión de complejos metálicos luminiscentes inmovilizados en un soporte polimérico y en contacto, directo o indirecto, con la muestra a medir.

2. Sensor óptico para detergentes, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la cuantificación de dichos analitos puede realizarse de manera continua e in situ.

3. Sensor óptico para detergentes, según las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado** porque la sensibilidad a dichos analitos es función de la estructura del complejo metálico luminiscente utilizado, del procedimiento de inmovilización del mismo al soporte polimérico y de la naturaleza de la muestra analizada.

4. Sensor óptico para detergentes, según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque dicho complejo metálico luminiscente indicador está constituido por ciertos metales de transición enlazados químicamente a ciertos ligandos poliazaheterocíclicos quelatantes, pudiendo estar éstos provistos o no de substituyentes químicos en su estructura.

5. Sensor óptico para detergentes, según las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque dicho complejo metálico luminiscente indicador está físicamente atrapado, adsorbido, disuelto o químicamente unido de forma electrostática o covalente a dicho soporte polimérico.

6. Sensor óptico para detergentes, según las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado** porque su utilización para determinar dichos analitos comprende:

(i) la exposición de la muestra al complejo metálico luminiscente sensible, que se encuentra inmovilizado al soporte polimérico;

(ii) que dicho(s) analito(s) contenido(s) en la muestra se ponga(n) en contacto con el material luminiscente;

(iii) la medida del aumento de la luminiscencia, de su tiempo de vida de emisión o de la polarización de la misma provocada por el(los) analitos;

(iv) el uso de la(s) medida(s) así obtenida(s) para determinar la concentración de dicho(s) analito(s) en dicha muestra.

7. Sensor óptico para detergentes, según las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado** porque el complejo metálico luminiscente inmovilizado en el soporte polimérico adecuado, puede disponerse en el extremo distal de una fibra óptica para realizar la medida óptica a través de ella. La iluminación de excitación llega al extremo sensible a través de la(s) fibra(s) óptica(s) y retorna, por la(s) misma(s) u otra(s), la luminiscencia producida por el complejo luminiscente inmovilizado al dispositivo convencional de medida.

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) ES 2 134 122

(21) N.° solicitud: 9602182

(22) Fecha de presentación de la solicitud: **16.10.96**

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl.^{6}:** G01N 21/64, C09K 11/06

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ZIAD M. SHAKHSHER AND W. RUDOLF SEITZ. Optical Detection of Cationic Surfactants Based on Ion Pairing with an Environment-Sensitive Fluorophor. Anal. Chem. 1990. 62, 1758-1762.	1-7
A	WO 9410553 A (OPTEX BIOMEDICAL INC.) 11.05.1994, página 1, línea 32 - página 2, línea 8; página 3, líneas 2-30; página 11, líneas 21-33; reivindicaciones 1-4,7,10.	1-7
A	US 4379848 A (YEAW) 12.04.1983, columna 1, líneas 15-24; columna 3, líneas 3-7.	1-7
A	ES 2023593 A (UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID) 16.01.1992, resumen; reivindicaciones 1,2.	1-7

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

[×] para todas las reivindicaciones
[ ] para las reivindicaciones n°:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
18.05.99	S. González Peñalba	1/1