

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 697 824**

51 Int. Cl.:

G01N 33/84 (2006.01)

G01N 21/80 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2017** E 17158291 (9)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.09.2018** EP 3214447

54 Título: **Ensayo para determinar la concentración de una base**

30 Prioridad:

01.03.2016 DE 102016203335

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

29.01.2019

73 Titular/es:

**AXAGARIUS GMBH & CO. KG (100.0%)
Kapellenstrasse 26
52355 Düren, DE**

72 Inventor/es:

**LANGE, DOMINIK y
HOFFMANN, JÜRGEN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 697 824 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Ensayo para determinar la concentración de una base

5 La presente invención se refiere a un dispositivo para determinar la concentración de una base y en este caso, en particular, hidrógeno-carbonato, conteniendo el dispositivo un indicador del pH, un ácido sólido y una mezcla a base de un tensioactivo aniónico y uno no iónico. La invención se refiere, además, a un procedimiento para medir la concentración de la base utilizando el dispositivo de acuerdo con la invención y a un procedimiento para aumentar la sensibilidad de un dispositivo de ensayo.

10 Los dializados se emplean, por lo general, con un componente de carácter ácido (p. ej., ácido cítrico, sales tampón, glucosa) y un componente de carácter básico (p. ej., hidrógeno-carbonato, acetato, lactato), así como agua (agua de ósmosis). A diferencia de las sustancias tampón estables establecidas acetato y lactato, el uso de hidrógeno-carbonato es técnicamente problemático, dado que no se da la estabilidad en soluciones. La gran ventaja del hidrógeno-carbonato como sustancia tampón es la elevada compatibilidad fisiológica y la probabilidad escasa ligada a ello de efectos secundarios. Habitualmente, el control de preparación de los dializados tiene lugar a través de la determinación del valor del pH con ayuda de una tira de ensayo de pH.

15 La determinación adicional de la concentración de hidrógeno-carbonato continúa aumentando la seguridad para el paciente, dado que concentraciones de hidrógeno-carbonato falsas en el dializado conducen a modificaciones patológicas del sistema tampón de la sangre del paciente. Así, un dializado hiperosmolar (demasiado concentrado) puede conducir a hipernatremia y a otros trastornos electrolíticos, mientras que, por el contrario, un dializado hiposmolar (es decir, demasiado diluido) puede desencadenar una rápida hemólisis o una hiponatremia. Por lo tanto, es de importancia decisiva determinar la concentración correcta de hidrógeno-carbonato en el dializado.

20 Dispositivos y procedimientos de ensayo para la determinación de la composición del dializado son conocidos en el estado de la técnica. En este caso, por lo general, la concentración de los componentes iónicos del dializado se establece indirectamente mediante la conductividad eléctrica del dializado, basado en el hecho de que los componentes principales del dializado son electrolitos. Además, se determina también el valor del pH del dializado.

25 En este caso, es desventajoso el que los equipos utilizados para ello, tales como aparatos de medición de la conductividad y electrodos de pH de vidrio, requieren mantenimientos rutinarios y un calibrado regular con el fin de garantizar una función adecuada.

30 La medición de la conductividad presenta de manera considerable un inconveniente agravante inherente al procedimiento, en la medida en que únicamente proporciona una representación sumaria de los componentes iónicos contenidos en la solución. Así, en el caso de una conductividad correcta puede presentarse una relación falsa de hidrógeno-carbonato y ácido.

La medición del valor del pH presenta, además, como procedimiento de medición logarítmico, una sensibilidad demasiado escasa, en la medida en que solo se pueden detectar grandes variaciones de la relación de hidrógeno-carbonato y ácido como variaciones del valor del pH.

35 Como método alternativo para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato, el documento US 6.986.999 B2 (Serim Research Corp.) propone el uso de tiras de ensayo en las que una matriz de soporte contiene un ácido orgánico, un indicador del pH y un colorante inerte, y que después de sumergirlas en el dializado el cambio de color se compara con un patrón de color. Estas tiras de ensayo cubren un gran intervalo de medición de 18,5 a 74 mEq/L, fisiológicamente irrelevante y, con ello, únicamente permiten una diferenciación de 18,5 frente a 37 frente a 74 mEq/L. Con ello, son solo insuficientes para una determinación sensible y, con ello, pertinente de dializados.

40 El documento EP 1 548 443 A1 se refiere a una probeta para la determinación de una proteína de carácter ácido, comprendiendo la probeta un indicador del pH de carácter ácido y, mediante el uso adicional de un tensioactivo en la probeta, aumenta la sensibilidad al color del indicador del pH. La probeta del documento EP '443 no es adecuada para la determinación de hidrógeno-carbonato, dado que por sí misma no contiene ácido orgánico alguno y, además, enseña únicamente la combinación de un tensioactivo no iónico y de uno catiónico.

45 Por lo tanto, existe la necesidad de procedimientos y dispositivos analíticos mejorados para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato.

50 Por lo tanto, es misión de la invención mejorar un dispositivo de ensayo o bien un procedimiento de ensayo del género expuesto para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato en la medida en que al respecto se mejore al menos uno de los inconvenientes arriba mencionados.

Sumario de la invención

Este problema se resuelve conforme a la invención debido a que se proporciona un dispositivo de ensayo para la determinación de la concentración de una base, conteniendo el dispositivo de ensayo una matriz de soporte, que comprende lo siguiente:

- a) al menos un ácido que es sólido a temperatura ambiente;
- b) al menos un indicador del pH con un punto de viraje entre el valor del pH del ácido sólido y de la base a determinar; y
- c) una mezcla a base de al menos un tensioactivo aniónico y al menos un tensioactivo no iónico.

5 El dispositivo de ensayo de acuerdo con la invención reúne varias ventajas decisivas con respecto a los dispositivos de ensayo conocidos del estado de la técnica.

10 Tal como han comprobado los autores de la invención, la presencia de una mezcla a base de tensioactivo aniónico y no iónico conduce a un aumento significativo de la sensibilidad del procedimiento de medición. Así, pueden determinarse de manera sencilla las concentraciones de hidrógeno-carbonato que se diferencian solo en 5 unidades de mEq/L (es decir, por ejemplo, 25; 30; 35, 40 y 45 mEq/L). Con ello, por vez primera se pueden detectar de manera inequívoca variaciones clínicamente relevantes en la concentración de hidrógeno-carbonato.

Además, la adición de una mezcla de tensioactivos permite un estrechamiento en el intervalo de medición al intervalo de medición fisiológica/clínicamente relevante de 25 a 45 mEq/L de hidrógeno-carbonato.

15 La medición que resulta de ello representa una mejora decisiva en la analítica del dializado, dado que posibilita por vez primera y de una manera sencilla y directa una medición muy sensible de la composición del dializado. Esto es posible debido al hecho de que los otros componentes del dializado no perturban, en su concentración habitual, al procedimiento de ensayo de acuerdo con la invención.

20 Dado que el dispositivo de ensayo se basa en una rápida reacción de ácido-base con detección directa del color, dicho dispositivo representa un procedimiento de detección directo y muy rápido. Además, el dispositivo de ensayo de acuerdo con la invención se puede utilizar e interpretar de manera sencilla y no requiere de aparatos de medición adicionales. Precisamente en el día a día clínico, esto aumenta la confianza, dado que un usuario puede llevar a cabo, sin una formación técnica o médica, una detección visual rápida y fiable.

El dispositivo de ensayo permite una determinación selectiva, es decir, orientada únicamente a sustancias de carácter básico.

25 El dispositivo de ensayo presenta también una estabilidad suficiente y tampoco requiere refrigeración alguna en el caso de utilizar los reactivos habituales.

30 Mediante la elección de sustancias constitutivas adecuadas, la robustez del dispositivo de ensayo permite una determinada variabilidad de la muestra a analizar (p. ej., no es necesario un tratamiento previo de la muestra) y/o de otros parámetros físicos definidos durante el proceso de medición y, a pesar de ello, proporciona resultados reproducibles y estandarizables.

Cumple, además, por consiguiente, todos los requisitos que debe cumplir un dispositivo de ensayo o bien un procedimiento de ensayo clínicamente empleado y, por lo tanto, también es validable.

El dispositivo de ensayo puede fabricarse de forma sencilla y, además, económica con sustancias usuales en el comercio.

35 El dispositivo de ensayo puede integrarse sin una complejidad adicional en los sistemas de ensayo ya establecidos.

El experto en la materia puede recurrir, en relación con los componentes individuales, a una pluralidad de sustancias químicas y, de esta forma, adaptar el dispositivo de manera preestablecida a la base a determinar en cada caso. En particular, la elección del ácido sólido y del indicador del pH, permiten una aplicación a diferentes bases.

40 Además, mediante una modificación preestablecida de la cantidad de reactivos de detección se puede ajustar el intervalo de medición de la concentración.

Descripción detallada de la invención

45 El dispositivo de ensayo se basa en una titulación del ácido presente con la base a determinar. El indicador del pH, el cual se encuentra con su punto de viraje por encima del valor del pH del ácido, pero por debajo del valor del pH de la base a determinar, puede indicar el aumento del valor del pH que resulta mediante la reacción ácido-base a través de un correspondiente viraje del color. El color final del indicador puede evaluarse con métodos diferentes. En la forma más sencilla, se compara con un color correspondiente en una tarjeta de colores estándar, en la que los distintos valores de color se asocian a determinadas concentraciones de base o a valores del pH, correspondientemente determinados.

50 Dado que el dispositivo de ensayo se basa en la titulación elevada del ácido sólido predeterminado, puede emplearse para la determinación de todas las bases imaginables y, por consiguiente, puede emplearse para todos los compuestos que reaccionan de forma alcalina.

Así, junto a bases neutras tales como NH_3 o aminas, con ayuda del dispositivo de ensayo pueden determinarse en su concentración bases aniónicas, tales como el anión hidrógeno-carbonato, bases catiónicas, tales como el $[\text{Al}^{3+}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]$, bases monovalentes, tales como hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, bases divalentes tales como el hidróxido de calcio o formadores de bases, tales como óxido de calcio, óxido de bario o metales alcalinos.

5 De manera preferida, el dispositivo de ensayo se emplea para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato.

En el caso de la aplicación para la determinación de hidrógeno-carbonato, el dispositivo de ensayo permite la medición en un estrecho intervalo de medición de 25-45 mEq/L de hidrógeno-carbonato, y también un escalonamiento más preciso de la reacción de color con valores de la escala que se diferencian solo en 5 mEq/L, y
10 preferiblemente corresponden a 25, 30, 35, 40 y 45 mEq/L de hidrógeno-carbonato.

De manera considerable, en el día a día clínico, los dializados se producen mediante máquinas de diálisis que, mediante una aportación controlada de un concentrado de diálisis, producen un dializado con una concentración objetivo de 37 ± 2 mmol/l (mEq/L) de hidrógeno-carbonato. El presente procedimiento de medición está establecido, por lo tanto, de manera óptima a esta concentración de hidrógeno-carbonato. Teniendo en cuenta los parámetros de la máquina, en el caso de las máquinas de diálisis del estado de la técnica se puede contar con concentraciones de hidrógeno-carbonato divergentes en un intervalo de aprox. 25 hasta aprox. 45 mEq/L, es decir, exactamente el
15 intervalo que es cubierto por el dispositivo de ensayo de acuerdo con la invención.

En otra forma de realización, el dispositivo de ensayo prevé el uso de al menos un colorante inerte. Este colorante inerte está ajustado al indicador del pH y a su viraje del color y, mediante una coloración de fondo constante, permite una mejor detección del viraje del color. Así, en el caso de un indicador del pH que vira de azul a verde es ventajoso el uso de un colorante inerte amarillo.
20

El colorante inerte se ha de proporcionar de acuerdo con la invención en la misma medida que el indicador del pH. Esto puede realizarse de múltiples maneras, tales como, p. ej.:

(a) El colorante inerte puede ser aplicado sobre el propio soporte o bien ser proporcionado por un soporte de color.
25

(b) El colorante inerte puede ser incorporado en la matriz del soporte.

(c) La propia matriz del soporte puede estar configurada en color.

(d) El dispositivo de ensayo puede presentar debajo de la matriz de soporte además una capa coloreada separada.

30 De manera preferida, se emplea exactamente un colorante inerte. Sin embargo, también pueden emplearse dos, tres o aun más colorantes inertes con el fin de alcanzar aquí un colorido óptimo para el sistema.

De manera particularmente preferida, en este caso la matriz de soporte contiene exactamente un colorante inerte.

En una forma de realización de la invención, el al menos un colorante inerte se elige del grupo que contiene tartrazina, amarillo neozapón y amarillo de nitrazina, siendo el colorante inerte preferiblemente amarillo de nitrazina.

35 El ácido sólido del dispositivo de ensayo sirve para la reacción con la base a determinar y permite, mediante la variación del valor del pH, su cuantificación. En la medida en que se presente en forma de un sólido, no se volatiliza, sino que permanece en forma de sólido en la matriz de soporte y permite una formulación estable a largo plazo.

Convenientemente, en el caso del ácido se trata de un ácido bien soluble en la solución líquida a determinar, de modo que la solución de ensayo añadida disuelve inmediatamente el ácido sólido y, con ello, posibilita una reacción ácido-base eficiente. Dado que la mayoría de las soluciones de ensayo representan soluciones de ensayo acuosas, se prefieren, por consiguiente, ácidos bien hidrosolubles, tales como ácidos orgánicos.
40

En el caso de la determinación de un anfolito de carácter básico tal como lo representa, por ejemplo, el anión hidrógeno-carbonato, el ácido debería presentar un valor pKa que se encuentre aproximadamente una unidad por debajo del valor pKa del anfolito.

45 En una forma de realización preferida, en el caso del ácido se trata de una sustancia fisiológicamente inocua.

En una forma de realización de la invención, el al menos un ácido sólido se elige del grupo que contiene ácido cítrico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido málico, ácido glicólico, ácido malónico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido ascórbico, ácido amidosulfúrico, ácido bórico, ácido difosfórico y ácido fosfónico.

50 De manera particularmente preferida, en el caso del ácido se trata de ácido tartárico.

Para la determinación de bases débiles con un valor pK_B de 7,5 a 9, tal como, por ejemplo, para el hidrógeno-carbonato, se prefiere que el al menos un ácido presente un valor pK_s entre 2,9 y 5,6.

De manera preferida, se emplea exactamente un ácido. No obstante, también pueden emplearse dos, tres o aún más ácidos con el fin de detectar de manera óptima, p. ej., una base multivalente con valores de pK_B diferentes.

5 De acuerdo con la invención, el dispositivo de ensayo presupone la presencia de al menos un indicador del pH.

Para la determinación de bases débiles con un valor pK_B de 7,5 a 9 se prefiere que el al menos un indicador del pH presente un punto de viraje entre $pH = 3,8$ y $pH = 7,6$. De manera particularmente preferida, en este caso se utiliza azul de bromofenol.

10 Para la determinación de un anfolito tal como hidrógeno-carbonato con un valor pK_s de 10,4 y un valor pK_B de 7,5, se prefiere que el al menos un indicador del pH presente un punto de viraje menor que $pH = 4,6$ y, preferiblemente, de entre 3,0 y 4,6. De manera particularmente preferida, en este caso se utiliza azul de bromofenol.

En otra forma de realización de la invención, el al menos un indicador del pH se elige del grupo que contiene azul de bromofenol, naranja de metilo, azul de tetrabromofenol, rojo Congo, verde de bromocresol, tornasol y rojo fenol.

15 En función del ácido presente y de la base a determinar, también pueden emplearse indicadores del pH totalmente diferentes, y el experto en la materia puede elegir estos con ayuda de los valores de pH, pK_s y pK_B presentes, de manera preestablecida a partir de la amplia paleta de los indicadores disponibles.

De manera preferida, se emplea exactamente un indicador del pH. No obstante, también pueden emplearse dos, tres o aún más indicadores del pH con el fin de configurar todavía más amplio el intervalo de medición del valor del pH.

20 La mezcla de acuerdo con la invención de diferentes clases de tensioactivos es decisiva para la analítica mejorada del presente procedimiento de medición y se basa en la mezcladura de tensioactivos no iónicos y aniónicos.

En una forma de realización, el al menos un tensioactivo no iónico se elige del grupo que contiene etoxilatos de alcoholes grasos (FAEO), tales como Brij35, propoxilatos de alcoholes grasos (FAPO), alquilglucósidos, tales como Tween20, alquilpoliglucósidos (APG), etoxilatos de octilfenol y Nonidet P40.

25 En una forma de realización preferida, el tensioactivo no iónico es Nonidet P40.

En una forma de realización, el al menos un tensioactivo aniónico se elige del grupo que contiene dodecilsulfato de sodio, dodecilsulfato de amonio, lauriletersulfato de sodio (SLES), miristiletersulfato de sodio, dioctilsulfosuccinato de sodio, perfluorooctanosulfonato (PFOS), perfluorobutananosulfonato y alquilbencenosulfonatos lineales.

En una forma de realización preferida, el tensioactivo aniónico es dodecilsulfato de sodio.

30 En otra forma de realización de la invención, la relación molar entre el tensioactivo aniónico y el no iónico oscila entre 10:1 y 1:1, preferiblemente entre 5:1 y 1:1, de manera particularmente preferida entre 4:1 o bien 3:1 y 1:1 y, de manera particularmente preferida, entre 2:1 y 1:1.

De manera especial, la relación molar se encuentra en este caso entre 2:1 y 1,5:1 y muy especialmente en 1,6:1.

35 En una forma de realización, en la matriz de soporte se presenta de forma inmovilizada un reactivo de detección, o varios reactivos de detección o incluso todos los reactivos de detección.

En una forma de realización de la invención, el dispositivo de ensayo está configurado como tira de ensayo o cinta de ensayo o está realizado de manera que puede ser incorporado en un sistema de ensayo integrado.

40 La tira de ensayo puede fabricarse a partir de una pluralidad de materiales. Se prefieren en este caso materiales resistentes al agua tales como materiales sintéticos. En este caso, la tira de ensayo se compone preferiblemente de poli(cloruro de vinilo) o polietileno.

En otra forma de realización, el dispositivo de ensayo puede presentar matrices de soporte adicionales.

Mediante una o varias matrices de soporte adicionales, que están orientadas asimismo para la determinación de la concentración de la base, pueden cubrirse diferentes intervalos de medición.

45 Convenientemente, las matrices de soporte adicionales pueden configurarse también para la determinación de otros analitos objetivo.

Así, el dispositivo de ensayo utilizable para el análisis del dializado puede contener, junto a una matriz de soporte para la determinación de hidrógeno-carbonato, también una matriz de soporte para la determinación del contenido de glucosa y/o del valor del pH. Matrices de soporte y reactivos de detección correspondientes son conocidos por el experto en la materia.

- Así, la determinación del valor del pH puede tener lugar a través de un indicador del pH y la determinación de la glucosa mediante una oxidación utilizando la enzima glucosa oxidasa (GOD; EC 1.1.3.4) bajo formación de peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno se reduce entonces en agua en una reacción de color dispuesta a continuación. Esta reacción de color es catalizada mediante una peroxidasa (POD) - la mayoría de las veces peroxidasa de rábano picante (EC 1.11.1.7) - . De manera correspondiente, el sistema de ensayo se denomina también "ensayo GOD/POD".
- La matriz de soporte de acuerdo con la invención es convenientemente de un material que permite el paso de líquidos. De acuerdo con la invención, en este caso se trata particularmente de materiales porosos que succionan preferiblemente el líquido y, de esta forma, hacen reaccionar una cantidad definida de líquido con los reactivos de detección.
- El experto en la materia conoce del estado de la técnica numerosos materiales y estructuras que son adecuados como matriz de soporte y puede elegir estos de manera preestablecida en función del enfoque del ensayo.
- En una forma de realización de la invención, la matriz de soporte se elige del grupo que contiene papel de filtro, materiales de velo, fibras de vidrio, material polimérico poroso a base de polisulfona, poliéster, nilón, nitrocelulosa, PVDF y policarbonato.
- En una forma de realización preferida, en el caso de la matriz de soporte se trata de un papel de filtro. Papeles de filtro son económicos y fuertemente absorbentes y pueden proveerse de manera sencilla de los reactivos de ensayo (mediante impregnación y subsiguiente secado).
- En una forma de realización, la matriz de soporte está constituida en una capa, de modo que todos los reactivos de detección están contenidos en esta capa. En una forma de realización alternativa, la matriz de soporte puede estar constituida por dos o más capas. Las distintas capas pueden presentar de esta forma, por ejemplo, una capacidad de succión o bien capacidad de absorción diferente para líquidos, de modo que la muestra líquida puede ser absorbida de manera preestablecida y puede evitarse también un sangrado de la matriz de soporte. Además, esto permite una separación en el espacio de los distintos reactivos de detección, de modo que se pueden utilizar reactivos de detección química/físicamente no compatibles, o la muestra líquida que penetra desde el exterior puede reaccionar al atravesar las distintas capas secuencialmente con los reactivos de detección.
- Además, la matriz de soporte puede presentar también una zona denominada como "Waste-Pad" ("almohadilla de desecho"), que absorbe el líquido que atraviesa la matriz de soporte. En esta zona puede estar prevista, p. ej., una esterilla absorbente, o bien un velo, un papel secante o de filtro, o similar.
- La configuración de la matriz de soporte puede tener lugar en forma y profundidad de manera que resulte una pequeña columna de cromatografía en la que se puedan separar los componentes de la muestra eventualmente perturbadores.
- En una forma de realización particular, la invención proporciona un dispositivo de ensayo para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato, comprendiendo la matriz de soporte lo siguiente:
- a) ácido tartárico
 - b) amarillo de nitrazina
 - c) azul de bromofenol
 - d) dodecilsulfato de sodio
 - e) Nonidet P40
- En una forma de realización particularmente preferida, la matriz de soporte antes mencionada se aplica sobre una tira de ensayo.
- En un segundo aspecto, la invención proporciona un procedimiento de ensayo para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato en una muestra líquida utilizando el dispositivo de ensayo de acuerdo con la invención, que comprende las siguientes etapas:
- a) impregnación de la matriz de soporte con la muestra líquida, preferiblemente mediante inmersión en la muestra;
 - b) separación de material de muestra en exceso de la matriz de soporte, preferiblemente mediante extracción de la tira de ensayo de la muestra;
 - c) opcionalmente, una incubación de la tira de ensayo durante al menos 5 segundos, preferiblemente a la temperatura ambiente;

d) comparación del índice de color de la matriz de soporte con un patrón de color.

En una forma de realización preferida, la muestra líquida es un dializado.

En un tercer aspecto, la invención se refiere al uso de una mezcla a base de al menos un tensioactivo aniónico y al menos un tensioactivo no iónico para el aumento de la sensibilidad de un procedimiento de análisis inducido por la matriz de soporte.

En este caso, se prefiere emplear los tensioactivos aniónicos y no iónicos y las correspondientes relaciones molares precedentemente divulgadas.

En una forma de realización preferida, en el caso de este procedimiento de análisis inducido por la matriz de soporte se trata de un procedimiento que se basa en una reacción ácido-base y concierne, de manera particularmente preferida, a una matriz de soporte que comprende al menos un ácido, al menos un indicador del pH y eventualmente un colorante inerte.

Definiciones

Por un "dispositivo de ensayo" se entienden en el marco de la presente invención todos los ensayos ligados a soporte para fines médicos y no médicos. En el caso de estos ensayos ligados a soporte, los reactivos de detección están embutidos en la matriz de soporte de un soporte que es puesta en contacto con la muestra líquida. La reacción de muestra líquida y reactivos conduce, en el caso de la presencia del analito objetivo, es decir, en este caso la base, a una señal detectable, por ejemplo una señal eléctricamente mensurable o a un viraje del color que puede evaluarse visualmente o con ayuda de un aparato, por ejemplo por fotometría de transmisión, fotometría de reflexión o fotometría de fluorescencia.

Por "bases" se han de entender, de acuerdo con la invención, todas las sustancias químicas que en solución en agua a 25°C proporcionan un valor del pH de $> 7,0$. Éstas pueden ser, junto a bases neutras tales como NH_3 , bases aniónicas, tales como el anión hidrógeno-carbonato, bases catiónicas, tales como $[\text{Al}^{3+}(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})_5]$, bases monovalentes, tales como hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, bases divalentes, tales como el hidróxido de calcio, o formadores de bases, tales como óxido de calcio, óxido de bario o metales alcalinos.

De acuerdo con la invención, por un "ácido sólido" se ha de entender un ácido que, a temperatura ambiente, se presenta en un estado agregado sólido. Éste puede ser tanto un ácido orgánico como un ácido inorgánico.

En el marco de la invención, por un "indicador del pH" se ha de entender una sustancia que, en función del valor del pH, modifica su color.

De acuerdo con la invención, por un "colorante inerte" se ha de entender un colorante que, al menos en el intervalo de pH de acuerdo con el ensayo (es decir, entre el valor del pH del ácido dispuesto y el valor del pH de la base a determinar) no modifique su color o lo haga solo de manera no esencial y, por consiguiente, posibilite un fondo contrastante del color permanente.

Por "selectividad" se entiende la capacidad de determinadas sustancias de seleccionar de una pluralidad de posibilidades ofrecidas para la reacción, una preferida. La elección exclusiva se designa como especificidad.

Como "sensibilidad" se designa la magnitud de la variación en la respuesta de una señal de medición, dividida por la modificación de la magnitud desencadenante (p. ej., la concentración del analito objetivo). La sensibilidad de un método analítico corresponde a la pendiente de la curva de calibrado.

De acuerdo con la invención, las expresiones a diferenciar de la "precisión del sistema" (precisión de medición) y de la "precisión del método" se definen como sigue: la precisión de medición es una medida de las oscilaciones que son provocadas por el dispositivo de ensayo o por el aparato de análisis propiamente dicho que trabaja con el mismo. Se determina mediante el análisis múltiple (p. ej., séxtuplo) de un patrón. La exigencia de la precisión de medición depende del aparato de análisis. Por el contrario, la precisión del método describe la dispersión aleatoria de los resultados del análisis. Se determina mediante una realización múltiple (la mayoría de las veces séxtuple) del análisis completo, es decir, desde el pesaje a través de la preparación de la muestra hasta la medición y el resultado (seis pesajes de muestra reales).

La "estabilidad" del dispositivo de ensayo contiene estabilidad al almacenamiento, estabilidad bajo influencias físicas tales como, p. ej., calor, luz, sollicitación mecánica.

La "exactitud" es una medida de la desviación del valor de medición del valor correcto (a veces denominado valor "verdadero") en virtud de un error sistemático. La exactitud se determina, en general, mediante la comparación con un patrón de referencia o de trabajo (comparación nominal/real), la comparación con un método independiente, en la medida de lo posible validado, o mediante la denominada intensificación ("enriquecimiento" de una muestra). Si en el caso de determinadas muestras no se puede aplicar ninguno de los tres métodos, como criterio de exactitud puede ser válido lo siguiente: la selectividad está comprobada, la linealidad está presente y la recta del calibrado pasa por el punto cero.

El "límite de detección" es la concentración (cantidad) mínima del analito en la muestra que puede todavía ser determinada cualitativamente (decisión si/no). El "límite de determinación" es la concentración (cantidad) mínima del analito en la muestra que puede ser determinada cuantitativamente con una precisión y exactitud dadas. El modelo matemático en el que se fundamenta y los métodos de determinación se describen en la norma DIN 32645.

- 5 El "límite de captación" indica la concentración (cantidad) que puede ser detectada con una probabilidad de 50%. Por consiguiente, el límite de captación puede ser considerado de manera simplificada como el límite de detección doble.

Ejemplos de realización

1. Fabricación de un dispositivo de ensayo de hidrógeno-carbonato

- 10 Se prepara una solución de ensayo de acuerdo con la siguiente receta:

| Sustancias constitutivas | Cantidad |
|----------------------------|----------|
| ácido tartárico | 0,50 g |
| amarillo de nitrazina | 0,10 g |
| azul de bromofenol | 0,03 g |
| 15 dodecilsulfato de sodio | 0,15 g |
| Nonidet P40 | 0,20 g |
| etanol | 15 mL |
| agua | 85 mL |

- 20 Un trozo de papel de filtro se impregna con esta solución y se seca durante 45 segundos a 320 °C. Con ayuda de la almohadilla de ensayo secada se producen tiras de ensayo. Las tiras de ensayo se componen de una tira de PVC de 5,5 x 95 mm de tamaño como soporte, sobre la que se fija en cada caso, con ayuda de un adhesivo de fusión, una almohadilla de ensayo de 5,5 x 5 mm de tamaño.

2. Ensayo de una solución de ensayo con contenido en hidrógeno-carbonato

- 25 Con el fin de determinar la sensibilidad del dispositivo de ensayo, las tiras de ensayo se sumergieron en una solución de dializado (citrato/bicarbonato) que contenía 25; 30; 35, 40 o 45 mEq/L de hidrógeno-carbonato. Al cabo de 5 segundos, las tiras de ensayo se retiraron de la solución de ensayo y se esperó durante 10-15 segundos hasta que había finalizado el desarrollo del color. Los resultados representados en la tabla siguiente demuestran que las tiras de ensayo muestran, con una concentración creciente de hidrógeno-carbonato, una transición de color de verde a azul y, en este caso, en virtud del color, permiten una clara diferenciación entre las distintas concentraciones de hidrógeno-carbonato de 25; 30; 35, 40 y 45 mEq/L.

| mEq/L de bicarbonato | Color de la reacción |
|----------------------|----------------------|
| 25 | verde |
| 30 | turquesa claro |
| 35 | turquesa |
| 35 40 | azul turquesa |
| 45 | azul |

3. Examen comparativo con respecto a la influencia de tensioactivos sobre la sensibilidad del papel de ensayo

- 40 Partiendo de la receta base recogida en el Ejemplo 1 que comprende indicador del pH, colorante inerte y ácido, se prepararon cuatro papeles de ensayo de la siguiente forma:

1. Sin tensioactivo

Sustancias constitutivas Cantidad

| | | |
|---|-----------------------|--------|
| | ácido tartárico | 0,50 g |
| | amarillo de nitrazina | 0,10 g |
| 5 | azul de bromofenol | 0,03 g |
| | etanol | 15 mL |
| | agua | 85 mL |

2. Tensioactivo no iónico

Sustancias constitutivas Cantidad

| | | |
|----|-----------------------|--------|
| 10 | ácido tartárico | 0,50 g |
| | amarillo de nitrazina | 0,10 g |
| | azul de bromofenol | 0,03 g |
| | Nonidet P40 | 0,20 g |
| | etanol | 15 mL |
| 15 | agua | 85 mL |

3. Tensioactivo aniónico

Sustancias constitutivas Cantidad

| | | |
|----|-------------------------|--------|
| | ácido tartárico | 0,50 g |
| | amarillo de nitrazina | 0,10 g |
| 20 | azul de bromofenol | 0,03 g |
| | dodecilsulfato de sodio | 0,15 g |
| | etanol | 15 mL |
| | agua | 85 mL |

4. Combinación a base de un tensioactivo no iónico y uno aniónico

Sustancias constitutivas Cantidad

| | | |
|----|-------------------------|--------|
| | ácido tartárico | 0,50 g |
| | amarillo de nitrazina | 0,10 g |
| | azul de bromofenol | 0,03 g |
| | dodecilsulfato de sodio | 0,15 g |
| 30 | Nonidet P40 | 0,20 g |
| | etanol | 15 mL |
| | agua | 85 mL |

35 Con el fin de determinar la sensibilidad de los papeles de ensayo, las tiras de ensayo se sumergieron en una solución de dializado (citrato/bicarbonato) que contenía 25; 30; 35, 40 o 45 mEq/L de hidrógeno-carbonato. Al cabo de 5 segundos, las tiras de ensayo se retiraron de la solución de ensayo y se esperó durante 10-15 segundos hasta que había finalizado el desarrollo del color. Para evaluar la capacidad de rendimiento de los distintos papeles de ensayo, las respectivas reacciones de color se evaluaron visualmente y se establecieron las denominaciones de color para las correspondientes concentraciones.

Resultados:

En la siguiente Tabla se representan los colores de la reacción en función de la concentración de hidrógeno-carbonato y de los aditivos de tensioactivos.

Tabla 1: Resultados del ensayo de la medición comparativa

| Receta | Hidrógeno-carbonato (mEq/L) | | | | |
|--|-----------------------------|-------------------------|----------|---------------|------|
| | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 |
| Sin tensioactivo | verde | verde-turquesa | turquesa | azul-turquesa | azul |
| Tensioactivo no iónico | verde | verde-turquesa | turquesa | azul-turquesa | azul |
| Tensioactivo aniónico | verde | verde-turquesa | turquesa | azul-turquesa | azul |
| Tensioactivo no iónico y tensioactivo aniónico | amarillo-verde claro | amarillo-turquesa claro | turquesa | azul-turquesa | Azul |

5

Conclusión:

La combinación especial a base de un tensioactivo no iónico y uno aniónico desplaza la reacción de color en el intervalo de concentraciones de 25 y 30 mEq/L de hidrógeno-carbonato a tonos de color más amarillos. Por consiguiente, la sensibilidad del papel de ensayo aumenta, dado que se posibilita una diferenciación más acusada a concentraciones más elevadas (a partir de 35 mEq/L).

10

Las tonalidades más claras y más amarillas en el intervalo de 25 y 30 mEq/L de hidrógeno-carbonato generan, referido a la serie de color global de 25 a 45 mEq/L, una serie de color mejor diferenciada en conjunto.

La invención se representa, además, en el siguiente dibujo y se describe en lo que sigue.

Muestra:

15

La Fig. 1 muestra un dispositivo de ensayo configurado como tira de ensayo con una tira de material sintético 2 como soporte, sobre la cual está fijada una matriz de soporte 3. La matriz de soporte contiene los reactivos de detección necesarios para la determinación que, de manera preferida, son un ácido orgánico, un indicador del pH y una mezcla a base de un tensioactivo aniónico y no iónico.

Lista de símbolos de referencia

20

- 1 dispositivo de ensayo
- 2 varillitas de material sintético
- 3 matriz de soporte

Variantes adicionales de la invención y su ejecución resultan para el experto en la materia a partir de la divulgación precedente, las figuras y las reivindicaciones.

25

Términos utilizados en las reivindicaciones tales como “comprenden”, “presentan”, “incluyen”, “contienen” y similares no excluyen otros elementos o etapas. El uso del artículo indeterminado no excluye una pluralidad. Un dispositivo individual puede realizar las funciones de varias unidades o bien dispositivos mencionados en las reivindicaciones. Los símbolos de referencia indicados en las reivindicaciones no han de considerarse como limitaciones de los medios y etapas empleados.

30

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo de ensayo para la determinación de la concentración de una base, que contiene una matriz de soporte, que comprende:
 - a) al menos un ácido que es sólido a temperatura ambiente;
- 5 b) al menos un indicador del pH con un punto de viraje entre el valor del pH del ácido sólido y de la base a determinar; y
- c) una mezcla a base de al menos un tensioactivo aniónico y al menos un tensioactivo no iónico.
2. Dispositivo de ensayo según la reivindicación 1, caracterizado por que la base a determinar se elige del grupo que contiene hidrógeno-carbonato, hidróxido de sodio, amoníaco y aminas, siendo preferiblemente hidrógeno-carbonato.
- 10 3. Dispositivo de ensayo según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que la matriz de soporte presenta adicionalmente al menos un colorante inerte.
4. Dispositivo de ensayo según la reivindicación 3, caracterizado por que el al menos un colorante inerte se elige del grupo que contiene tartrazina, amarillo neozapón y amarillo de nitrazina, siendo el colorante inerte preferiblemente amarillo de nitrazina.
- 15 5. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el al menos un ácido sólido se elige del grupo que contiene ácido cítrico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido ftálico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido málico, ácido glicólico, ácido malónico, ácido glutárico, ácido adípico, ácido ascórbico, ácido amidosulfúrico, ácido bórico, ácido difosfórico y ácido fosfónico, presentando preferiblemente un valor pKs entre 2,9 y 5,6, y de manera particularmente preferida es ácido tartárico.
- 20 6. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el al menos un indicador del pH presentan un valor pKs entre 3,8 y 7,6, y se elige preferiblemente del grupo que contiene azul de bromofenol, naranja de metilo, azul de tetrabromofenol, rojo Congo, verde de bromocresol, tornasol y rojo fenol, y de manera particularmente preferida azul de bromofenol.
- 25 7. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el al menos un tensioactivo no iónico se elige del grupo que contiene etoxilatos de alcoholes grasos (FAEO), tales como Brij35, propoxilatos de alcoholes grasos (FAPO), alquilglucósidos, tales como Tween20, alquilpoliglucósidos (APG), etoxilatos de octilfenol, Nonidet P40, y preferiblemente es Nonidet P40.
- 30 8. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que el al menos un tensioactivo aniónico se elige del grupo que contiene dodecilsulfato de sodio, dodecilsulfato de amonio, lauriletersulfato de sodio (SLES), miristiletersulfato de sodio, dioctilsulfosuccinato de sodio, perfluorooctanosulfonato (PFOS), perfluorobutanosulfonato, alquilbencenosulfonatos lineales, y preferiblemente es dodecilsulfato de sodio.
- 35 9. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la relación molar entre el tensioactivo aniónico y el no iónico oscila entre 10:1 y 1:1, preferiblemente entre 5:1 y 1:1, de manera particularmente preferida entre 2:1 y 1:1, de manera particularmente preferida la relación molar se encuentra entre 2:1 y 1,5:1 y especialmente en 1,6:1.
- 40 10. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que está configurado como tira de ensayo o cinta de ensayo o puede ser incorporado en un sistema de ensayo integrado.
11. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizado por que la matriz de soporte es un material poroso que permite el paso de líquidos y preferiblemente se elige del grupo que contiene papel de filtro, materiales de velo, fibras de vidrio, material polimérico poroso a base de polisulfona, poliéster, nilón, nitrocelulosa, PVDF y policarbonato, y de manera particularmente preferida es papel de filtro.
- 40 12. Dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato, caracterizado por que es una tira de ensayo con una matriz de soporte, que comprende lo siguiente:
 - 45 a) ácido tartárico
 - b) amarillo de nitrazina
 - c) azul de bromofenol
 - d) dodecilsulfato de sodio
 - e) Nonidet P40.

13. Procedimiento de ensayo para la determinación de la concentración de hidrógeno-carbonato en una muestra líquida con un dispositivo de ensayo según una de las reivindicaciones precedentes, que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) impregnación de la matriz de soporte con la muestra líquida, preferiblemente mediante inmersión en la muestra;
- b) separación de material de muestra en exceso de la matriz de soporte, preferiblemente mediante extracción de la tira de ensayo de la muestra;
- c) opcionalmente, una incubación de la tira de ensayo durante al menos 5 segundos, preferiblemente a la temperatura ambiente;
- 10 d) comparación del índice de color de la matriz de soporte con un patrón de color,
- en donde la muestra líquida es preferiblemente un dializado.

14. Uso de una mezcla a base de al menos un tensioactivo aniónico y al menos un tensioactivo no iónico para el aumento de la sensibilidad de un procedimiento de análisis inducido por la matriz de soporte, en donde se utiliza preferiblemente una mezcla según una de las reivindicaciones 7 a 9.

Figura 1

