

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 787 027**

51 Int. Cl.:

**G01N 27/333** (2006.01)

**G01N 33/487** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.04.2015** **E 18158118 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2020** **EP 3361243**

54 Título: **Membrana de detección de magnesio para el electrodo potenciométrico selectivo de iones para la medición de magnesio ionizado y métodos de uso de los mismos**

30 Prioridad:

**18.04.2014 US 201461981277 P**

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

**14.10.2020**

73 Titular/es:

**SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS INC  
(100.0%)  
511 Benedict Avenue  
Tarrytown, NY 10591, US**

72 Inventor/es:

**ZHANG, WEI y  
HORAN, KEVIN**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

**ES 2 787 027 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

Membrana de detección de magnesio para el electrodo potenciométrico selectivo de iones para la medición de magnesio ionizado y métodos de uso de los mismos

## Antecedentes

5 El uso de electrodos selectivos de iones (ISE) para determinar la presencia y cantidad de diversos analitos en muestras biológicas se ha convertido en una técnica de diagnóstico útil. De hecho, los ISE se han utilizado para detectar analitos como magnesio, sodio, potasio, calcio y cloruro, entre otros. Algunos de estos ISE a menudo se encuentran dentro de los instrumentos de diagnóstico clínico para el análisis simultáneo de una gran cantidad de analitos. Del documento WO 2010/076717 A1 se conoce el uso de un microelectrodo selectivo de iones, que actúa como un transductor a una señal eléctrica de actividad iónica específica o concentración a través del contacto sólido y una membrana selectiva de iones.

10 Los tensioactivos a menudo se incluyen en reactivos usados durante la operación de los ISE. Se pueden usar diversos tensioactivos para este fin; sin embargo, la utilidad del agente tensioactivo depende en gran medida de la membrana de detección del ISE. Por ejemplo, un tensioactivo inadecuado puede dar como resultado un cambio en el desplazamiento de la fuerza electromotriz (EMF) que no permite que el electrodo mida una cantidad biológicamente relevante de un analito.

15 Se sabe que la concentración de sal lipofílica de borato presente en una membrana de detección juega un papel importante en un electrodo potenciométrico selectivo, especialmente para un electrodo selectivo de ion magnesio ( $Mg^{2+}$ ). El nivel de borato presente en la membrana de detección modula el coeficiente de selectividad de  $Mg^{2+}$  sobre cationes interferentes tales como  $Ca^{2+}$ ,  $Na^{2+}$  y  $K^{2+}$ , basado en el número de carga del catión, la estequiometría del complejo con el ionóforo neutro y la cinética de respuesta. Para el ISE de  $Mg^{2+}$ , se ha considerado una relación molar de borato a ionóforo de 155% en moles como la formulación optimizada que proporciona el mejor patrón de selectividad. Además, el artículo de la U.E. Spichiger et al., "Critical parameters and optimization of a magnesium-selective liquid membrane electrode for application to human blood serum", en: Fresenius J. Anal. Chem. 341 (1991) 727 - 731 proporciona un estudio que concierne a la selectividad de un nuevo ionóforo de magnesio (ETH 7025) inducido en membranas de diferentes composiciones en vista de las actividades iónicas en el suero humano.

20 En cuanto al mecanismo de respuesta del ISE de Mg, hay al menos cuatro interacciones competitivas que se han identificado que interfieren con la interacción primaria del  $Mg^{2+}$  y el ionóforo (ETH5506) en la interfase membrana-muestra para los ISE de  $Mg^{2+}$  en sangre. Estas cuatro interacciones competitivas se detallan a continuación, y las causas de las interacciones, así como los diversos intentos de la técnica anterior para superarlas, se discuten en detalle a continuación.

- Mecanismo primario (PM): ETH5506 (membrana) +  $Mg^{2+}$  (ac)
- Mecanismo competitivo 1 (CM-1): ETH5506 (membrana) +  $Ca^{2+}$  (ac)
- Mecanismo competitivo 2 (CM-2): intercambio de iones por borato lipofílico (membrana, interfase)
- 35 • Mecanismo competitivo 3 (CM-3): intercambio iónico por la capa de proteína sanguínea adsorbida (interfase)
- Mecanismo competitivo 4 (CM-4): intercambio iónico por capa de adsorción de tensioactivo (interfase)

40 PM y CM-1: entre estos mecanismos, el mecanismo primario (PM) se puede diferenciar del mecanismo competitivo CM-1 ajustando la relación de borato:ionóforo. La estequiometría del ISE ETH5506 de  $Mg^{2+}$  es de 1:1 y la del ISE  $Ca^{2+}$  ETH5506 es de 1:2. Los sitios del anión de borato lipofílico en la membrana de PVC ayudan a estabilizar el ISE ETH5506 de  $Mg^{2+}$  y el ISE ETH5506 de  $Ca^{2+}$  en diferentes grados con un equilibrio eléctrico a través del límite de la fase membrana-muestra (proceso de transferencia de carga). Se ha calculado y verificado experimentalmente una relación molar óptima de borato:ETH5506 de 150% en moles (O'Donnell et al., Anal. Chim. Acta (1993) 281: 129), en la que el ISE de Mg gana el menor  $\log K^{pot}_{Mg,Ca}$  (-2) con selectividades viables contra  $Na^{+}$  y  $K^{+}$  ( $\log K^{pot}_{Mg,Na}$  (-4) y  $\log K^{pot}_{Mg,K}$  (-3)).

45 PM y CM-2: cuando se reduce la relación molar de borato:ETH5506, el ISE de Mg favorece la respuesta al  $Ca^{2+}$ . A una relación de borato:ETH5506 de 50% en moles, el ISE de Mg tiende a tener la misma sensibilidad al  $Ca^{2+}$  y al  $Mg^{2+}$  debido a las diferentes estequiometrías de  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  con ETH5506. Cuando se agrega más borato (a una relación de > 150% en moles), se observa el segundo mecanismo competitivo (CM-2), en el que el ISE de Mg tiende a convertirse en una membrana de intercambio de iones dominada por el borato lipofílico en la membrana. La respuesta de la membrana sigue la serie de Hofmeister. Los cationes monovalentes se ven favorecidos más que los cationes divalentes. Además, se pueden esperar más interferencias de  $Na^{+}$  y  $K^{+}$ .

50 PM y CM-3: muchos estudios han demostrado que las muestras de sangre tienden a coagularse y agregarse en la superficie de la membrana de PVC, formando capas delgadas de recubrimiento de plaquetas, fibrinógeno, IgG y albúmina (Espadas-Torre et al., Anal. Chem. (1995) 7: 3108-3114; Lim et al., Pure Appl. Chem. (2004) 76: 753-764;

y Surface Engineering of Blood Contacting Polymeric Biomaterials, página 231). En el mecanismo competitivo CM-3, las propiedades de intercambio iónico de dicha capa compiten con la interacción primaria (PM). Esta capa de recubrimiento de sangre es sensible al pH (Scharbert, et al., Crit. Care (2011) 15: 446) y los niveles de tensioactivo de los diversos reactivos (calibradores, lavado y QC) utilizados con el ISE. La variación del pH puede cambiar la formación de la capa y, por lo tanto, el mecanismo de intercambio de iones puede verse afectado. Para evitar que el mecanismo competitivo CM-3 se produzca en la membrana del ISE Mg, se han investigado varios enfoques, que incluyen el uso de materiales poliméricos alternativos, capas de recubrimiento de adsorción antiproteína, LbL, etc.

PM y CM-4: en los analizadores de sangre automatizados, los tensioactivos están presentes en las soluciones de calibración, enjuague y control de calidad. Muchos estudios han demostrado el impacto del tensioactivo en sensores potenciométricos, especialmente en electrodos selectivos de  $Mg^{2+}$  basados en ionóforos neutros (Malinowska et al., Anal. Chim. Acta (1999) 382: 265-275). Los tensioactivos que contienen derivados de poli(óxido de etileno), que se usan ampliamente en analizadores clínicos automatizados, han mostrado un impacto severo en el rendimiento de respuesta de los electrodos selectivos de  $Mg^{2+}$ , incluyendo los efectos de la cinética de respuesta, pendiente y selectividad. El mecanismo de dicha interferencia se explica por la partición del agente tensioactivo no iónico en la fase de la membrana y la extracción concomitante mejorada de los cationes presentes en la fase de la muestra. El proceso de partición del tensioactivo puede cambiar significativamente el patrón de selectividad y la cinética de respuesta de la membrana, que puede ser una función de los coeficientes de partición del tensioactivo en la membrana del polímero, los coeficientes de unión relativos de los iones primarios e interferentes con el tensioactivo y el ionóforo, respectivamente, y/o la concentración del tensioactivo que está presente en la secuencia de soluciones de muestra/calibración/enjuague en el sistema de detección de los analizadores automatizados. Además, la extensión del efecto del tensioactivo depende de la relación de las constantes de estabilidad de los complejos formados con cationes interferentes por el tensioactivo y el ionóforo, respectivamente. Cuanto más fuerte sea la complejación del catión interferente con el tensioactivo, y cuanto más débil sea la interacción del ion primario con el ionóforo dentro de la membrana, se puede esperar un cambio mayor en la selectividad potenciométrica de los iones. Sin embargo, el impacto del tensioactivo se puede reducir significativamente mediante el uso de diferentes tipos de tensioactivos con bajo HLB (equilibrio hidrófilo-lipófilico), tales como tensioactivos MEGA-8 y MEGA-9.

Se sabe que el borato lipófilico interactúa con tensioactivos que contienen poli(óxido de etileno) para formar un complejo. En electrodos selectivos catiónicos basados en ionóforos neutros, la presencia de borato lipófilico en la membrana de polímero puede mejorar la partición del tensioactivo y cambiar el rendimiento de respuesta de los ISE.

Por lo tanto, se desean composiciones de membranas de detección de magnesio nuevas y mejoradas para electrodos potenciométricos selectivos de iones que superen las desventajas de la técnica anterior. Es a estas membranas, así como a las composiciones, kits, dispositivos y métodos relacionados con las mismas, a las que se dirige la presente divulgación y el concepto o conceptos de la invención reivindicados.

Descripción de las diferentes vistas de los dibujos

La Figura 1 ilustra gráficamente las respuestas sin procesar de seis sensores de magnesio diferentes, cada uno de los cuales contiene una relación diferente de borato:ETH5506 (relaciones 40% en moles (0,4), 60% en moles (0,6), 80% en moles (0,8), 100% en moles (1,0), 125% en moles (1,25) y 150% en moles (1,5)) con la exposición a diferentes soluciones que contienen tensioactivos. La Figura 1A ilustra las respuestas observadas tras la exposición a las series Aa, Ab y Ac (0,0 g/L, 0,5 g/L, y 0,1 g/L, respectivamente, tensioactivo de Brij en una solución simple de  $MgCl_2$ ), mientras que la Figura 1B ilustra las respuestas observadas después de la exposición a las Series Ba, Bb y Bc (0,0 g/L, 0,5 g/L, y 0,1 g/L, respectivamente, tensioactivo de Brij en una solución electrolítica de fondo).

La Figura 2 ilustra gráficamente las gráficas de pendiente de respuesta para los seis ISE de Mg de la Figura 1A tras la exposición a la Serie Aa (0,0 g/L de tensioactivo de Brij en una solución simple de  $MgCl_2$ ).

La Figura 3 ilustra gráficamente las gráficas de la pendiente de respuesta para los seis ISE de Mg de la Figura 1A tras la exposición a la Serie Ab (0,05 g/L de tensioactivo de Brij en una solución simple de  $MgCl_2$ ).

La Figura 4 ilustra gráficamente las gráficas de pendiente de respuesta para los seis ISE de Mg de la Figura 1A tras la exposición a la Serie Ac (0,1 g/L de tensioactivo de Brij en una solución simple de  $MgCl_2$ ).

La Figura 5 ilustra gráficamente las gráficas de la pendiente de respuesta para los seis ISE de Mg de la Figura 1B tras la exposición a la Serie Ba (0,0 g/L de tensioactivo de Brij en una solución electrolítica de fondo).

La Figura 6 ilustra gráficamente gráficas de pendiente de respuesta para los seis ISE de Mg de la Figura 1B tras la exposición a la Serie Bb (0,05 g/L de tensioactivo de Brij en una solución electrolítica de fondo).

La Figura 7 ilustra gráficamente los gráficos de pendiente de respuesta para los seis ISE de Mg de la Figura 1B tras la exposición a la Serie Bc (0,1 g/L de agente tensioactivo de Brij en una solución electrolítica de fondo).

La Figura 8 ilustra gráficamente gráficos de pendiente de respuesta para los seis ISE de Mg de la Figura 1B tras la exposición a la Serie Bc(2) (0,1 g/L de tensioactivo de Brij en una solución electrolítica de fondo).

La Figura 9 ilustra gráficamente gráficos de pendiente de respuesta para el ISE de Mg con una relación de borato: ETH5506 de 80% en moles tras la exposición a las Series Aa, Ab y Ac (0,0, 0,05 y 0,1 g/L de tensioactivo de Brij, respectivamente, en soluciones simples de  $MgCl_2$ ).

5 La Figura 10 ilustra gráficamente los gráficos de pendiente de respuesta para el ISE de Mg con una relación de borato: ETH5506 de 150% en moles tras la exposición a las Series Aa, Ab y Ac (0,0, 0,05 y 0,1 g/L, de tensioactivo de Brij respectivamente, en soluciones simples de  $MgCl_2$ ).

La Figura 11 ilustra gráficamente los gráficos de pendiente de respuesta para el ISE de Mg con una relación de borato: ETH5506 de 80% en moles tras la exposición a las Series Ba, Bb, Bc y Bc(2) (0,0, 0,05, 0,1 y 0,1 g/L de tensioactivo de Brij, respectivamente, en soluciones electrolíticas de fondo).

10 La Figura 12 ilustra gráficamente los gráficos de pendiente de respuesta para el ISE de Mg con una relación de borato: ETH5506 de 150% en moles tras la exposición a las Series Ba, Bb, Bc y Bc(2) (0,0, 0,05, 0,1 y 0,1 g/L de tensioactivo de Brij, respectivamente, en soluciones electrolíticas de fondo).

15 La Figura 13 ilustra gráficamente los desplazamientos de la señal en mV entre las dos series de soluciones Bc y Bc(2) (es decir, 0,1 g/L de tensioactivo de Brij en soluciones electrolíticas de fondo) para los ISE de Mg con relaciones de borato:ETH5506 de 80% en moles y 150 molar %

20 La Figura 14 ilustra gráficamente una comparación del cambio de respuesta a la señal en mV (por el tensioactivo de Brij700) entre los dos ISE de Mg con relaciones de borato:ETH5506 de 80% en moles y 150% en moles tras la exposición a las Series Ba, Bb, Bc y Bc(2) (tensioactivo de Brij 0,0, 0,05, 0,1 y 0,1 g/L, respectivamente del tensioactivo de Brij, en soluciones electrolíticas de fondo) y tras la exposición a 0,1, 0,5, 1,0, 1,5 o 2,0 mM de ion magnesio.

#### Descripción detallada

25 Antes de explicar al menos una realización del concepto o conceptos de la invención en detalle por medio de ejemplos de dibujos, experimentación, resultados y procedimientos de laboratorio, debe entenderse que el concepto o conceptos inventivos no están limitados en su aplicación a los detalles de la construcción y la disposición de los componentes expuestos en la siguiente descripción o ilustrados en los dibujos, experimentación y/o resultados. El concepto o conceptos inventivos son capaces de otras realizaciones o de practicarse o llevarse a cabo de varias maneras. Como tal, el lenguaje utilizado en este documento debe tener el alcance y el significado más amplio posibles; y las realizaciones pretenden ser ejemplos, no exhaustivos. Además, debe entenderse que la fraseología y la terminología empleadas aquí son para el propósito de la descripción y no deben considerarse como limitantes.

30 A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos utilizados en conexión con el concepto o conceptos inventivos presentados y reivindicados tendrán los significados que comúnmente comprenden los expertos en la técnica. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos singulares incluirán los plurales y los términos en plural incluirán el singular. Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante o como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en este documento. Las técnicas y procedimientos anteriores se realizan generalmente de acuerdo con métodos convencionales bien conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente memoria descriptiva. Las nomenclaturas utilizadas en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica descritos en la presente memoria son aquellos bien conocidos y usados comúnmente en la técnica.

40 Todas las patentes, solicitudes de patentes publicadas y publicaciones no de patentes mencionadas en la especificación son indicativas del nivel de habilidad de los expertos en la técnica a la que pertenece este concepto(s) inventivo(s) actualmente divulgado y reivindicado.

45 Todas las composiciones y/o métodos divulgados y reivindicados en la presente memoria pueden realizarse y ejecutarse sin una experimentación excesiva a la luz de la presente descripción. Aunque las composiciones y métodos de este concepto o conceptos inventivos actualmente divulgados y reivindicados se han descrito en términos de realizaciones preferidas, será evidente para los expertos en la técnica que las variaciones pueden aplicarse a las composiciones y/o métodos y en las etapas o en la secuencia de etapas del método descrito en la presente memoria dentro del alcance de los conceptos inventivos tal como se definen en las reivindicaciones adjuntas.

50 Como se utiliza de acuerdo con la presente descripción, se entenderá que los siguientes términos, a menos que se indique lo contrario, tienen los siguientes significados:

55 El uso de la palabra "un" o "uno, una" cuando se usa junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la especificación puede significar "uno", pero también es coherente con el significado de "uno" o "más", "al menos uno" y "uno o más de uno". Las formas singulares "un", "uno, una" y "el, la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un compuesto" puede

referirse a 1 o más, 2 o más, 3 o más, 4 o más o más números de compuestos. El término "pluralidad" se refiere a "dos o más". El uso del término "o" en las reivindicaciones se usa para indicar "y/o" a menos que se indique explícitamente que se refiera solo a alternativas o que las alternativas sean mutuamente excluyentes, aunque la divulgación respalda una definición que se refiere solo a alternativas y "y/o". A lo largo de esta solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para el dispositivo, el método que se emplea para determinar el valor o la variación que existe entre los sujetos del estudio. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, cuando se utiliza el término "aproximadamente", el valor designado puede variar en  $\pm 20\%$  o  $\pm 10\%$ , o  $\pm 5\%$ , o  $\pm 1\%$ , o  $\pm 0,1\%$  del valor especificado, ya que tales variaciones son apropiadas para llevar a cabo los métodos descritos y tal como lo entienden las personas con experiencia normal en la técnica. Se entenderá que el uso del término "al menos uno" incluye tanto uno como cualquier cantidad mayor que uno, incluyendo, pero sin limitarse a, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 100, etc. El término "al menos uno" puede extenderse hasta 100 o 1.000 o más, dependiendo del término al cual este unido; además, las cantidades de 100/1.000 no deben considerarse limitantes, ya que los límites más altos también pueden producir resultados satisfactorios. Además, se entenderá que el uso del término "al menos uno de X, Y y Z" incluye X solo, Y solo, y Z solo, así como cualquier combinación de X, Y y Z. El uso de la terminología numérica ordinal (es decir, "primero", "segundo", "tercero", "cuarto", etc.) tiene el único propósito de diferenciar dos o más elementos y no implica ninguna secuencia, orden o importancia para uno elemento sobre otro o cualquier orden de adición, por ejemplo.

Tal como se usa en esta memoria descriptiva y reivindicación y reivindicaciones, los términos "que comprende" (y cualquier forma de que comprende, tal como "comprende"), "que tiene" (y cualquier forma de que tiene, tal como "tiene"), "que incluye" (y cualquier forma de que incluye, tal como "incluye") o "que contiene" (y cualquier forma de que contiene, tal como "contiene") son inclusivo o abiertas y no excluye elementos adicionales no enumerados o etapas de método.

El término "o combinaciones de los mismos" tal como se usa en el presente documento se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los elementos enumerados que preceden al término. Por ejemplo, "A, B, C, o combinaciones de los mismos" se entiende que incluyen al menos uno de: A, B, C, AB, AC, BC o ABC, y si el orden es importante en un contexto particular, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC o CAB. Continuando con este ejemplo, se incluyen expresamente las combinaciones que contienen repeticiones de uno o más elementos o términos, tales como BB, AAA, AAB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, y así sucesivamente. El experto en la materia entenderá que, por lo general, no existe un límite en el número de elementos o términos en cualquier combinación, a menos que sea evidente de otro modo por el contexto.

Como se usa en el presente documento, el término "sustancialmente" significa que el evento o circunstancia descrita posteriormente ocurre completamente o que el evento o circunstancia descrito posteriormente ocurre en gran medida o en cierto grado. Por ejemplo, el término "sustancialmente" significa que el evento o circunstancia descrita posteriormente ocurre al menos el 90% del tiempo, o al menos el 95% del tiempo, o al menos el 98% del tiempo.

Como se usa en este documento, la frase "asociado con" incluye tanto la asociación directa de dos porciones entre sí como la asociación indirecta de dos porciones entre sí. Ejemplos no limitativos de asociaciones incluyen la unión covalente de una porción con otra porción, ya sea por un enlace directo o a través de un grupo espaciador, unión no covalente de una porción con otra porción o bien directamente o por medio de miembros de pares de unión específicos unidos a las porciones, incorporación de una porción en otra porción tal como disolviendo una porción en otra porción o mediante síntesis, y recubrimiento de una porción sobre otra porción.

El término "purificado" como se usa en el presente documento significa que se consigue al menos un orden de magnitud de purificación en comparación con el material de partida o el material natural, por ejemplo, pero no a modo de limitación, dos, tres, cuatro o cinco órdenes de magnitud de purificación del material de partida o del material natural. De este modo, el término "purificado" tal como se utiliza en la presente memoria no significa necesariamente que el material esté 100% purificado, y por lo tanto tal término no excluye la presencia de otro u otros materiales presentes en la composición purificada.

Los términos "análogo" y "derivado" se usan en este documento indistintamente y se refieren a una sustancia que comprende el mismo esqueleto básico de carbono y la funcionalidad de carbono en su estructura como un compuesto dado, pero también puede contener una o más sustituciones en la misma. El término "sustitución" como se usa en el presente documento se entiende que se refiere a la sustitución de al menos un sustituyente en un compuesto con un residuo R. En ciertas realizaciones no limitantes, R puede incluir H, hidroxilo, tiol, un halógeno seleccionado de fluoruro, bromuro, cloruro o yoduro, un compuesto C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> seleccionado de los siguientes: alquilo lineal, ramificado o cíclico, opcionalmente sustituido, y alqueno lineal, ramificado o cíclico, en el que los sustituyentes opcionales se seleccionan de uno o más alquenalquilo, alquinilalquilo, cicloalquilo, cicloalquenalquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilo, opcionalmente sustituido heterocicloalquenalquilo, arilcicloalquilo, y arilheterocicloalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido en el que los sustituyentes opcionales se seleccionan de uno o más de alquenalquilo, alquinilalquilo, cicloalquilo, cicloalquenalquilo, arilalquilo, alquilarilo, heteroarilalquilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenalquilo opcionalmente sustituido, arilcicloalquilo y arilheterocicloalquilo, fenilo, ciano, hidroxilo, alquilo, arilo, cicloalquilo, ciano, alcoxi, alquiltio, amino, -NH(alquilo), -NH(cicloalquilo)<sub>2</sub>, carboxi y -C(O)-alquilo.

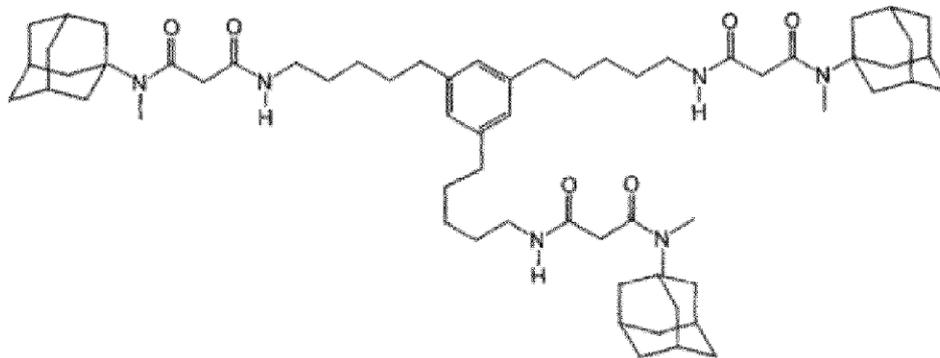
El término "muestra", como se usa en la presente memoria, se entenderá que incluye cualquier tipo de muestra biológica que pueda utilizarse de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos actualmente divulgados y reivindicados. Ejemplos de muestras biológicas que pueden utilizarse incluyen, pero no se limitan a, sangre completa o cualquier porción de la misma (es decir, plasma o suero), saliva, esputo, líquido cefalorraquídeo (CSF), piel, líquido intersticial, lágrimas, moco, orina, hisopos, combinaciones y similares.

Volviendo ahora al concepto o conceptos de la invención actualmente divulgados y reivindicados, se proporciona una membrana nueva y mejorada para detección de magnesio que presenta una estabilidad mejorada frente a las membranas de detección de magnesio existentes tras la exposición a reactivos que contienen tensioactivo. La nueva membrana de detección de magnesio se puede utilizar en el desarrollo de nuevos electrodos potenciométricos selectivos para iones adaptables para uso en laboratorio central y/o POC.

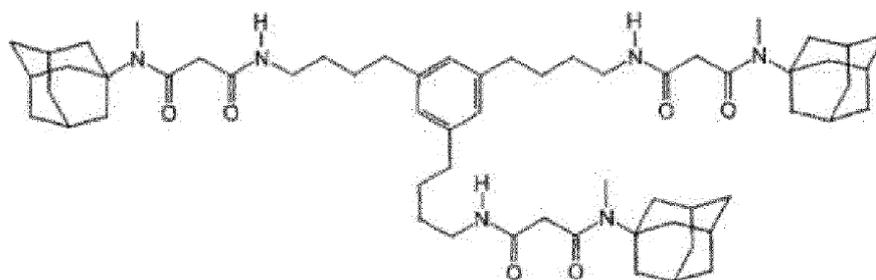
Ciertas realizaciones del concepto o conceptos de la invención divulgados actualmente y reivindicados se dirigen a una membrana para detección de magnesio para un electrodo potenciométrico selectivo de iones que detecta magnesio ionizado en una muestra biológica. La membrana de detección de magnesio puede ser una membrana convencional o una membrana plana de estado sólido. La membrana para detección de magnesio incluye un ionóforo que tiene una estructura estereoquímica tripodal, una sal de borato lipofílico y una matriz polimérica en la que están dispuestos el ionóforo y la sal de borato lipofílico. La matriz polimérica incluye un polímero y un plastificante, en donde el polímero se selecciona del grupo que consiste en poli(cloruro de vinilo), poliuretano y combinaciones de los mismos.

La sal de borato lipofílica está presente en una cantidad que proporciona una relación molar de sal de borato lipofílico con respecto al ionóforo en un intervalo de aproximadamente 60% en moles hasta aproximadamente 100% en moles. Ejemplos no limitantes de relaciones de borato:ionóforo que se pueden utilizar incluyen aproximadamente 60% en moles, aproximadamente 65% en moles, aproximadamente 70% en moles, aproximadamente 75% en moles, aproximadamente 80% en moles, aproximadamente 85% en moles, aproximadamente 90% en moles, aproximadamente 95% en moles, y aproximadamente 100% en moles. Un ejemplo particular no limitante de una relación de borato:ionóforo es aproximadamente 75% en moles.

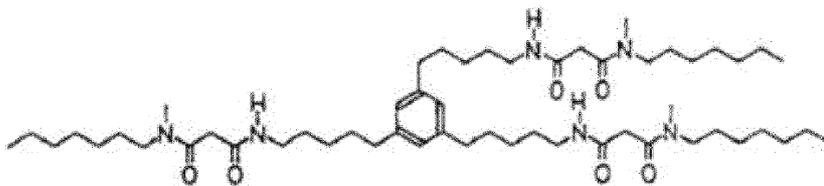
Cualquier ionóforo que tenga una estructura estereoquímica tripodal que se conoce o se contempla de otro modo dentro de la técnica y es capaz de funcionar de acuerdo con la presente descripción cae dentro del alcance del concepto o conceptos de la invención actualmente divulgados y reivindicados. En una realización, el ionóforo puede tener al menos un grupo funcional imida malónico. Los ejemplos no limitantes de ionóforos que se pueden utilizar de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos actualmente divulgados y reivindicados incluyen ionóforos representados por cualquiera de las estructuras de Fórmulas I-IV:



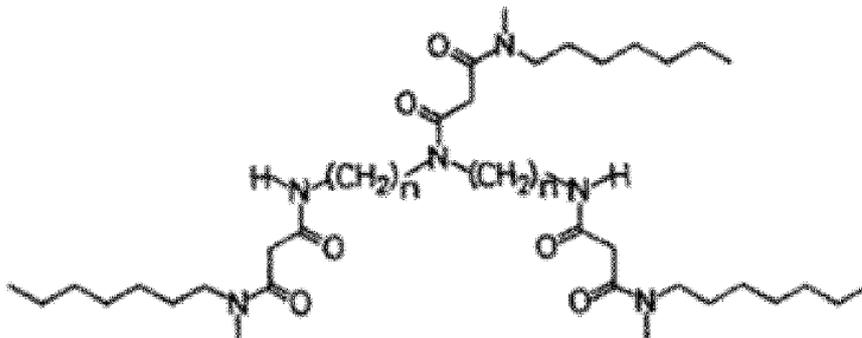
Fórmula I



Fórmula II



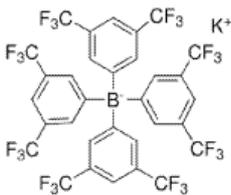
Fórmula III



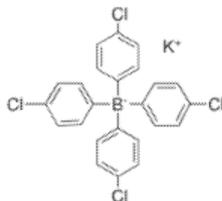
Fórmula IV

- 5 En la Fórmula IV, n está en el intervalo de aproximadamente 6 a aproximadamente 8. Los ionóforos representados por cualquiera de las estructuras de Fórmulas I-III son conocidos en la técnica por las designaciones de producto ETH5506, ETH5504, ETH3832, respectivamente. Cuando n es 6 en la Fórmula IV, el ionóforo se conoce por la designación de producto ETH5282; cuando n es 8 en la Fórmula IV, el ionóforo se conoce por la designación de producto ETH7025. "ETH" denota la versión alemana del Instituto Federal Suizo de Tecnología (Eidgenössische Technische Hochschule).

Cualquier sal de borato lipofílico conocida o bien contemplada dentro de la técnica y capaz de funcionar como se describe en la presente memoria puede utilizarse de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos actualmente divulgados y reivindicados. Los ejemplos no limitantes de sales de borato lipofílico que se pueden utilizar en este documento incluyen las siguientes:



- 15 Tetrakis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de potasio o tetrakis[3,5-bis(trifluorometil)fenil]borato de sodio; y

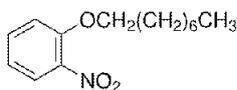


Tetrakis(4-clorofenil)borato de potasio.

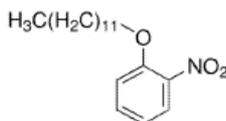
- 20 El polímero que se utiliza como parte de la matriz polimérica, de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos actualmente divulgados y reivindicados se selecciona del grupo que consiste en poli(cloruro de vinilo), poliuretano y combinaciones de los mismos.

Cualquier plastificante conocido o bien contemplado dentro de la técnica y capaz de funcionar como se describe en este documento se puede utilizar como parte de la matriz polimérica, de acuerdo con el concepto o conceptos

inventivos actualmente divulgados y reivindicados. Los ejemplos no limitantes de plastificantes que pueden utilizarse en este documento incluyen los siguientes:

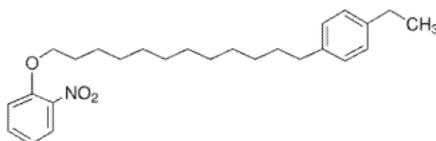


2-Nitrofenil octil éter, y



5

2-Nitrofenil dodecil éter, y



[12-(4-Etilfenil)dodecil]2-nitrofenil éter.

10

Otra realización del concepto o conceptos de la invención divulgados y reivindicados se dirige a un electrodo potenciométrico selectivo de iones que detecta magnesio ionizado en una muestra biológica. El electrodo potenciométrico selectivo de iones comprende cualquiera de las membranas de detección de magnesio descritas o bien contempladas en el presente documento anteriormente.

15

Otra realización del concepto o conceptos de la invención divulgados y reivindicados se dirige a un método para medir un nivel de ion magnesio presente en una muestra biológica. En el método, cualquiera de los electrodos potenciométricos selectivos de iones descritos o bien contemplados se pone en contacto con una muestra biológica, y se mide un nivel de ion magnesio presente en la muestra biológica usando el electrodo potenciométrico selectivo de iones.

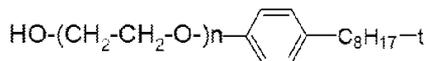
20

El método puede incluir además la etapa de poner en contacto el electrodo potenciométrico selectivo de iones con un reactivo que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno). El tensioactivo de poli(óxido de etileno) se puede utilizar a cualquier concentración que permita que el tensioactivo y el electrodo potenciométrico selectivo de iones funcionen de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos divulgados y reivindicados. Un ejemplo no limitante de una concentración de tensioactivo de poli(óxido de etileno) que cae dentro del alcance de los conceptos de la invención divulgada y reivindicada es menos de aproximadamente 100 mg/L.

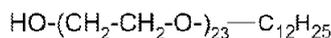
25

Se pueden utilizar cualesquiera tensioactivos de poli(óxido de etileno) conocidos o bien contemplados en la técnica y capaces de funcionar como se describe en este documento de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos actualmente divulgados y reivindicados. Los ejemplos no limitantes de tensioactivos de poli(óxido de etileno) que pueden utilizarse de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos divulgados y reivindicados se representan mediante las estructuras de las Fórmulas V-VII.

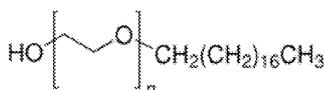
30



Fórmula V



Fórmula VI



Fórmula VII

35

En la Fórmula V, n está en el intervalo de aproximadamente 9 a aproximadamente 10; en la Fórmula VII, n es aproximadamente 100. Un ejemplo no limitante de un tensioactivo representado por la estructura de Fórmula V (por ejemplo, t-octilfenoxipolietoxietanol) se vende bajo el nombre comercial TRITON<sup>MR</sup> X-100 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Un ejemplo no limitante de un tensioactivo representado por la estructura de Fórmula VI (por ejemplo, polioxietileno 23, lauril éter) es conocido en la técnica por la designación de producto Brij-35. Un ejemplo no limitante

de un tensioactivo representado por la estructura de Fórmula VII (en donde n es aproximadamente 100) es el tensioactivo no iónico de polioxietileno (100) estearil éter, que es conocido en la técnica por la designación de producto Brij-700 (CAS No. 9005-00-9). Ejemplos particulares no limitantes de los tensioactivos representados por la estructura de Fórmula VII se describen en la patente de los Estados Unidos No. 8.496.900, concedida a Zhang et al., el 30 de julio de 2013.

Todavía otra realización del concepto o conceptos de la invención divulgados y reivindicados en la actualidad incluye un kit que contiene cualquiera de los electrodos potenciométricos selectivos de iones descritos más arriba, y uno o más reactivos que comprenden un tensioactivo de poli(óxido de etileno) como se define en la reivindicación 7. El reactivo o reactivos pueden ser uno o más reactivos de calibración, uno o más reactivos de lavado, o uno o más reactivos de control de calidad, o cualquier combinación de los anteriores.

Además, el kit puede contener también otro reactivo o reactivos para llevar a cabo cualquiera de los métodos particulares descritos o bien contemplados en este documento. La naturaleza de estos reactivos adicionales dependerá del formato de ensayo particular, y su identificación está dentro de los conocimientos de un experto en la técnica.

Los componentes/reactivos pueden disponerse cada uno en contenedores/compartimentos separados del kit, o diversos componentes/reactivos pueden combinarse en uno o más contenedores/compartimentos del kit, dependiendo de la naturaleza competitiva de los componentes/reactivos y/o la estabilidad de los componentes/reactivos. El kit puede incluir además otros reactivos empacados por separado para realizar un ensayo. Las cantidades relativas de los diversos componentes/reactivos en los kits pueden variar ampliamente para proporcionar concentraciones de los componentes/reactivos que optimizan sustancialmente las reacciones que necesitan producirse durante los procedimientos de ensayo y además optimizan sustancialmente la estabilidad/sensibilidad de un ensayo. Se pueden incluir controles positivos y/o negativos con el kit. El kit puede incluir además un conjunto de instrucciones escritas que explican cómo usar el kit. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, el kit puede incluir instrucciones para enjuagar, calibrar y/u operar el electrodo potenciométrico selectivo de iones. Un kit de esta naturaleza se puede utilizar en cualquiera de los métodos descritos o bien contemplados en la presente memoria.

### Ejemplo

Se proporciona un ejemplo a continuación. Sin embargo, debe entenderse que el concepto o conceptos de la invención divulgados y reivindicados no está limitado en su aplicación a la experimentación específica, los resultados, y los procedimientos de laboratorio descritos a continuación en el presente documento. Por el contrario, el ejemplo se proporciona simplemente como una de varias realizaciones y se pretende que sirva como ejemplo, no exhaustivo.

Materiales y métodos:

Reactivos: se diseñó una matriz de reactivo para probar: (1) el efecto electrolítico de fondo del tensioactivo Brij700 sobre el ISE de Mg (en el que el tensioactivo está presente en soluciones simples de  $Mg^{2+}$  y en soluciones electrolíticas de fondo que contienen  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$ ); y (2) diferentes niveles del agente tensioactivo Brij700 en soluciones simples (0, 0,05, 0,10 g/L). La serie de soluciones Aa a Ac probó el impacto del tensioactivo Brij en el ISE de Mg en soluciones simples de  $Mg^{2+}$ , mientras que la serie de soluciones Ba a Bc probó el impacto del tensioactivo Brij en el ISE de Mg en un fondo electrolítico fijo.

Membranas: Se prepararon seis membranas de ISE de Mg con diferentes relaciones de borato a ETH5506 en % en moles: 40% en moles; 60% en moles; 80% en moles; 100% en moles; 125% en moles; y 150% en moles. El peso total de la membrana se dirigió a 400 mg con 2% en peso de ETH5506. Las membranas se prepararon siguiendo el método de preparación convencional. La solución interna de electrolito en los electrodos Philips Body era de  $MgCl_2$  1 mM;  $CaCl_2$  1,0 mM; NaCl 150 mM; pH 7,4.

Mediciones: los electrodos de ISE de Mg se acondicionaron durante 24 horas antes de la medición. El electrodo de Ag/AgCl saturado se usó como electrodo de referencia. EMF16 se usó para la adquisición de datos. Después del contacto con las soluciones con Brij (Ac), los electrodos se enjuagaron intensamente sin usar solución Brij (Ba).

Resultados y discusión:

La Figura 1 muestra la respuesta sin procesar de los seis electrodos con diferentes relaciones de borato:ionóforo en la matriz de la solución. En las series Aa, Ab y Ac de solución sencilla de  $MgCl_2$  (Figura 1A), no se observaron derivaciones de mV significativas a través de las seis formulaciones de electrodos diferentes. Además, no se observó una diferencia significativa con respecto a la deriva, la pendiente y la cinética del mV para las seis formulaciones de electrodos diferentes. La pendiente de respuesta de las series Aa, Ab y Ac se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1: Matriz para probar el impacto en ISE de Mg a partir de Brij700 y/o fondo de electrolito

Soluciones simples de Mg <sup>2+</sup>	A1	A2	A3	A4	A5
tMg (mM)	0,1	0,5	1,0		
a (g/L de Brij)	0	0	0	0	0
b (g/L de Brij)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
c (g/L de Brij)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Soluciones Mg <sup>2+</sup> con Na <sup>+</sup> y Ca <sup>+</sup> fijos	B1	B2	B3	B4	B5
tMg (mM)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
tCa (mM)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
NaCl (mM)	150	150	150	150	150
pH	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
MOPS (mM)	20	20	20	20	20
a (g/L de Brij)	0	0	0	0	0
b (g/L de Brij)	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
c (g/L de Brij)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10

5 En las series Ba, Bb y Bc de solución de fondo de electrolito (Figura 1B), se observó una gran diferencia entre las seis formulaciones sensoras diferentes. Los sensores con relaciones de borato:ionóforo de 125% en moles y 150% en moles mostraron un alto nivel de deriva de mV en soluciones con bajo nivel de Mg<sup>2+</sup> y alto nivel de Brij700. Los sensores con relaciones de borato:ionóforo de 125% en moles y 150% en moles mostraron un efecto de reversibilidad o de arrastre más lento cuando se alternó la solución de prueba de alta a baja. Los sensores con una relación de borato:ionóforo de 40% en moles tenían una pendiente de respuesta degradada en comparación con la pendiente observada con los sensores que tienen una relación de borato:ionóforo > 60% en moles. Entre las formulaciones de sensor con relaciones de borato:ionóforo de 60% en moles a 100% en moles, el sensor con 80% en moles exhibió la mejor pendiente de respuesta en series de soluciones de diversos niveles de tensioactivos (mostrados en la Tabla 2). A una concentración de tensioactivo (Brij700) de 0,05 g/L (es decir, la concentración presente en reactivos actuales), el sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 80% en moles produjo una pendiente de 13,81 mV/d (sin corrección del coeficiente de selectividad).

Tabla 2: Pendientes de ISE de Mg en la matriz de la solución para estudiar el impacto de Brij700 en ISE de Mg

Borato %	40%	60%	80%	100%	125%	150%
Aa	22,35	26,42	26,78	26,29	26,42	25,51
Ab	25,51	26,42	26,32	26,23	26,46	25,98
Ac	26,99	25,17	25,21	25,07	25,13	24,37
Ba	7,45	12,79	14,69	13,38	16,78	17,17
Bb	10,06	12,97	13,81	14,22	18,40	20,67
Bc	10,56	13,74	13,43	13,68	12,26	16,59
Bc (2)	9,70	13,26	12,92	12,61	10,39	15,06
* Estas pendientes no se corrigen con el coeficiente de selectividad, y las concentraciones no se corrigen con las actividades.						

15

Las Figuras 2-8 muestran los diagramas de pendiente de respuesta de los seis sensores en las diferentes series de soluciones. En la serie de soluciones simples de Aa, Ab y Ac, no se observó ninguna diferencia obvia con la adición

de tensioactivo; el sensor con 40% en moles mostró cierta variación de mV y de pendiente en soluciones bajas de  $[Mg^{2+}]$  (A5a, A5b, A5c). Este resultado implica que el CM-4 inducido por tensioactivo probablemente no esté asociado a la interacción Brij700-  $Mg^{2+}$  en la solución o en la interfaz de la membrana.

5 En la serie de soluciones de fondo de electrolito de Ba, Bb y Bc, se observaron diferencias obvias entre los seis sensores con relaciones variables de borato:ionóforo. Los límites de detección de todos los sensores se elevaron debido a las interferencias observadas con  $Ca^{2+}$  (1,0 mM) y  $Na^+$  (150 mM). En el extremo bajo de  $[Mg^{2+}]$  de las soluciones (B5a, B5b y B5c), las cinéticas se asociaron con la relación borato:ionóforo, donde las membranas con altas relaciones de borato:ionóforo (y por lo tanto altas concentraciones de borato) tendieron a tener respuestas más lentas. A medida que aumentaron los niveles de Brij700 en la serie de soluciones, las membranas con altas relaciones de borato:ionóforo (125% en moles y 150% en moles) mostraron una desviación de mV positiva y la reversibilidad de alta  $[Mg^{2+}]$  a baja  $[Mg^{2+}]$  se degradó. Las membranas con relaciones de borato:ionóforo de 60% en moles a 100% en moles no mostraron una variación significativa de las señales y las pendientes de respuesta con niveles crecientes de Brij700 de 0,00 a 0,05 a 0,1 g/L. El sensor con la relación borato:ionóforo de 40% en moles exhibió una respuesta estable de mV pero tenía una pendiente degradada (sensibilidad). Combinando las observaciones de la serie de soluciones A, es probable que la interferencia del CM-4 con las membranas con altas relaciones de borato:ionóforo sea impulsada por el tensioactivo - $Ca^{2+}$  y  $Na^+$  en la interfaz de la membrana del sensor. Investigaciones previas con espectroscopía de impedancia y cálculo teórico indicaron una delgada capa de tensioactivo en la interfaz de la membrana de PVC/borato que funciona como un intercambiador de iones. Con este modelo, los cationes monovalentes se verían favorecidos sobre los cationes divalentes, y se favorecería  $Ca^{2+}$  sobre  $Mg^{2+}$ . En la "relación óptima de borato:ionóforo de 150% en moles" de la técnica anterior, el tensioactivo puede incluso penetrar en la membrana y actuar como un intercambiador de iones más fuerte que compite con la interacción  $Mg^{2+}$ -ETH5506. Esto eventualmente podría cambiar la reversibilidad de la respuesta del ISE de Mg.

Entre estas formulaciones de sensores, se eligió la relación de borato:ionóforo a 80% en moles basándose en su estabilidad en el tensioactivo y su sensibilidad a  $Mg^{2+}$ .

25 En la serie de soluciones de  $MgCl_2$  puro, no hay diferencia entre la membrana que contiene una formulación de relación de borato:ionóforo de 80% en moles y la membrana que contiene una formulación con relación de borato:ionóforo de 150% en moles; como se muestra en las Figuras 9 y 10, ambas mostraron pendientes de respuesta idénticas (25-26 mV/Dec sin corrección de actividad).

30 En la serie de soluciones de fondo sin tensioactivo (serie Ba), el sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 150% en moles presentó una pendiente de respuesta más alta que el sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 80% en moles (17,2 mV/Dec frente a 14,7 mV/Dec). Tal diferencia recibió contribución por la diferencia de selectividad frente a  $Ca^{2+}$  (0,01 frente a 0,5), así como a  $Na^+$  (muy baja). En la serie de soluciones de fondo con Brij700 (serie Bb y serie Bc), el tensioactivo Brij700 causó un gran impacto en el sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 150% en moles con respecto a su estabilidad en mV (especialmente en el extremo inferior de  $\sim 0,5$  mM), reversibilidad y cinética de respuesta (Figura 12). Sin embargo, como se ve en la Figura 11, no se observó un impacto significativo para el sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 80% en moles.

40 Como se muestra en las Figuras 13-14, la comparación del sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 150% en moles con el sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 80% en moles indicó que el sensor de 150% de borato:ionóforo tenía mejor rendimiento de respuesta en la serie de soluciones sin agente tensioactivo Brij700. Sin embargo, dicho rendimiento se degradó cuando estaba presente el agente tensioactivo Brij 700. Por el contrario, el sensor que tiene una relación de borato:ionóforo de 80% en moles tenía menos sensibilidad y selectividad que la observada para el sensor de 150% en moles. Sin embargo, el punto positivo de dicho sensor es su respuesta estable en presencia de Brij700 en solución. Esta estabilidad ayuda al proceso de calibración del ISE de Mg al proporcionar resultados estables. La pendiente y la selectividad compensadas se pueden corregir con un algoritmo (basado en la selectividad y la compensación).

45 Por lo tanto, las formulaciones de membrana con relaciones de borato:ionóforo en un intervalo de aproximadamente 60% en moles a aproximadamente 100% en moles caen dentro del alcance del concepto o los conceptos de la invención divulgados y reivindicados, basados en los resultados y análisis anteriores, con la formulación de la membrana de aproximadamente una relación de borato:ionóforo de 80% en moles (ETH5506) que presenta una formulación de membrana óptima (pero no limitante).

50 Por lo tanto, de acuerdo con el concepto o conceptos inventivos divulgados y reivindicados, se ha proporcionado una membrana para detección de magnesio, así como kits que la contienen y métodos de uso de la misma, que satisfacen plenamente los objetivos y ventajas establecidos aquí más arriba.

**REIVINDICACIONES**

1. Una membrana de detección de magnesio para un electrodo potenciométrico selectivo de iones que detecta el magnesio ionizado en una muestra biológica, comprendiendo la membrana:

un ionóforo que tiene una estructura estereoquímica tripodal;

5 una sal de borato lipofílico, en la que la sal de borato lipofílico está presente en una cantidad que proporciona una relación molar de sal de borato lipofílico respecto al ionóforo en un intervalo de aproximadamente 60% en moles a aproximadamente 100% en moles; y

una matriz polimérica en la que están dispuestos el ionóforo y la sal de borato lipofílico,

10 en la que la matriz polimérica comprende un polímero y un plastificante, en la que el polímero se selecciona del grupo que consiste en poli(cloruro de vinilo), poliuretano y combinaciones de los mismos.

2. Un electrodo potenciométrico selectivo de iones que detecta magnesio ionizado en una muestra biológica, comprendiendo el electrodo potenciométrico selectivo de iones una membrana de detección de magnesio para un electrodo potenciométrico selectivo de iones que detecta magnesio ionizado en una muestra biológica, comprendiendo la membrana:

15 un ionóforo que tiene una estructura estereoquímica tripodal;

una sal de borato lipofílico, en la que la sal de borato lipofílico está presente en una cantidad que proporciona una relación molar de sal de borato lipofílico a ionóforo en un rango de aproximadamente 60% en moles a aproximadamente 100% en moles; y

una matriz polimérica en la que se disponen el ionóforo y la sal de borato lipofílico,

20 en la que la matriz polimérica comprende un polímero y un plastificante, en la que el polímero se selecciona del grupo que consiste en poli(cloruro de vinilo), poliuretano y combinaciones de los mismos.

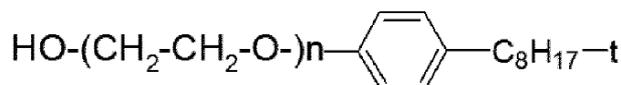
3. Un método, que comprende las etapas de:

poner en contacto el electrodo potenciométrico selectivo de iones de la reivindicación 2 con una muestra biológica; y

25 medir un nivel de iones de magnesio en la muestra biológica utilizando el electrodo potenciométrico selectivo de iones.

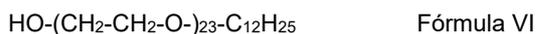
4. El método de la reivindicación 3, que comprende además la etapa de poner en contacto el electrodo potenciométrico selectivo de iones con un reactivo que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno).

30 5. El método de la reivindicación 4, que comprende además la etapa de poner en contacto el electrodo potenciométrico selectivo de iones con un reactivo que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno), en el que el tensioactivo de poli(óxido de etileno) está representado por la fórmula V:

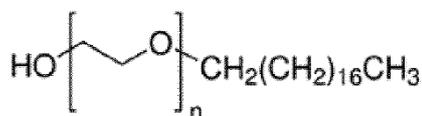


**Fórmula V**

en la que n está en el rango de 9 a 10, o por la Fórmula VI:



, o por la Fórmula VII:



**Fórmula VII**

35

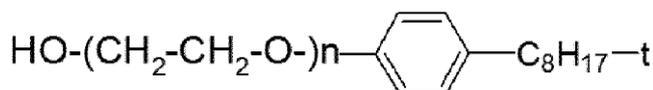
en la que n es 100.

6. El método de la reivindicación 4 o 5, en el que la concentración del tensioactivo de poli(óxido de etileno) es inferior a 100 mg/L.

7. Un kit que comprende:

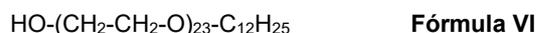
el electrodo potenciométrico selectivo de iones de la reivindicación 2; y

5 al menos un reactivo que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno) en el que el tensioactivo de poli(óxido de etileno) está representado por la fórmula V:

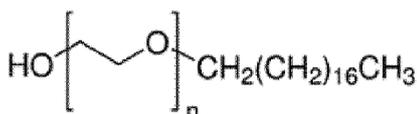


**Fórmula V**

en la que n está en el rango de 9 a 10, o por la Fórmula VI:



10 , o por Fórmula VII:



**Fórmula VII**

en la que n es 100.

8. El kit de la reivindicación 7, en el que el al menos un reactivo que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno) es uno o más reactivos de calibración.

15 9. El kit de la reivindicación 8, que comprende además al menos un reactivo adicional que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno), en el que el al menos un reactivo adicional es un reactivo de lavado, un reactivo de control de calidad y otro reactivo de calibración.

10. El kit de cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que el al menos un reactivo es uno o más reactivos de control de calidad.

20 11. El kit de la reivindicación 10, que comprende además al menos un reactivo adicional que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno), en el que el al menos un reactivo adicional es un reactivo de lavado, un reactivo de calibración y otro reactivo de control de calidad.

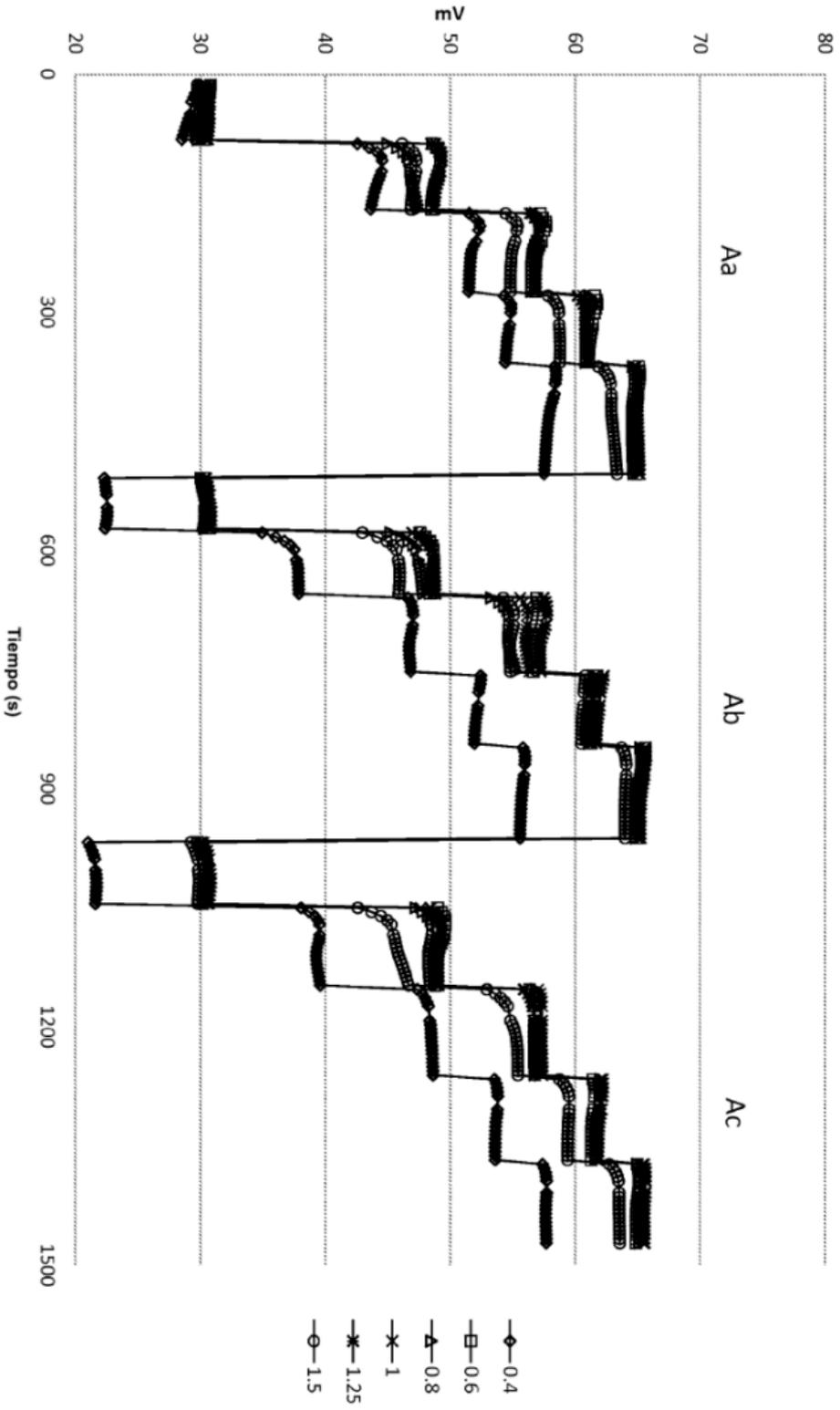
12. El kit de la reivindicación 7, en el que el reactivo es uno o más reactivos de lavado.

25 13. El kit de la reivindicación 12, que comprende además al menos un reactivo adicional que comprende un tensioactivo de poli(óxido de etileno), en el que el al menos un reactivo adicional es un reactivo de calibración, un reactivo de control de calidad y otro reactivo de lavado.

14. El kit de la reivindicación 7, que comprende además instrucciones para enjuagar, calibrar y operar el sensor de iones de magnesio.

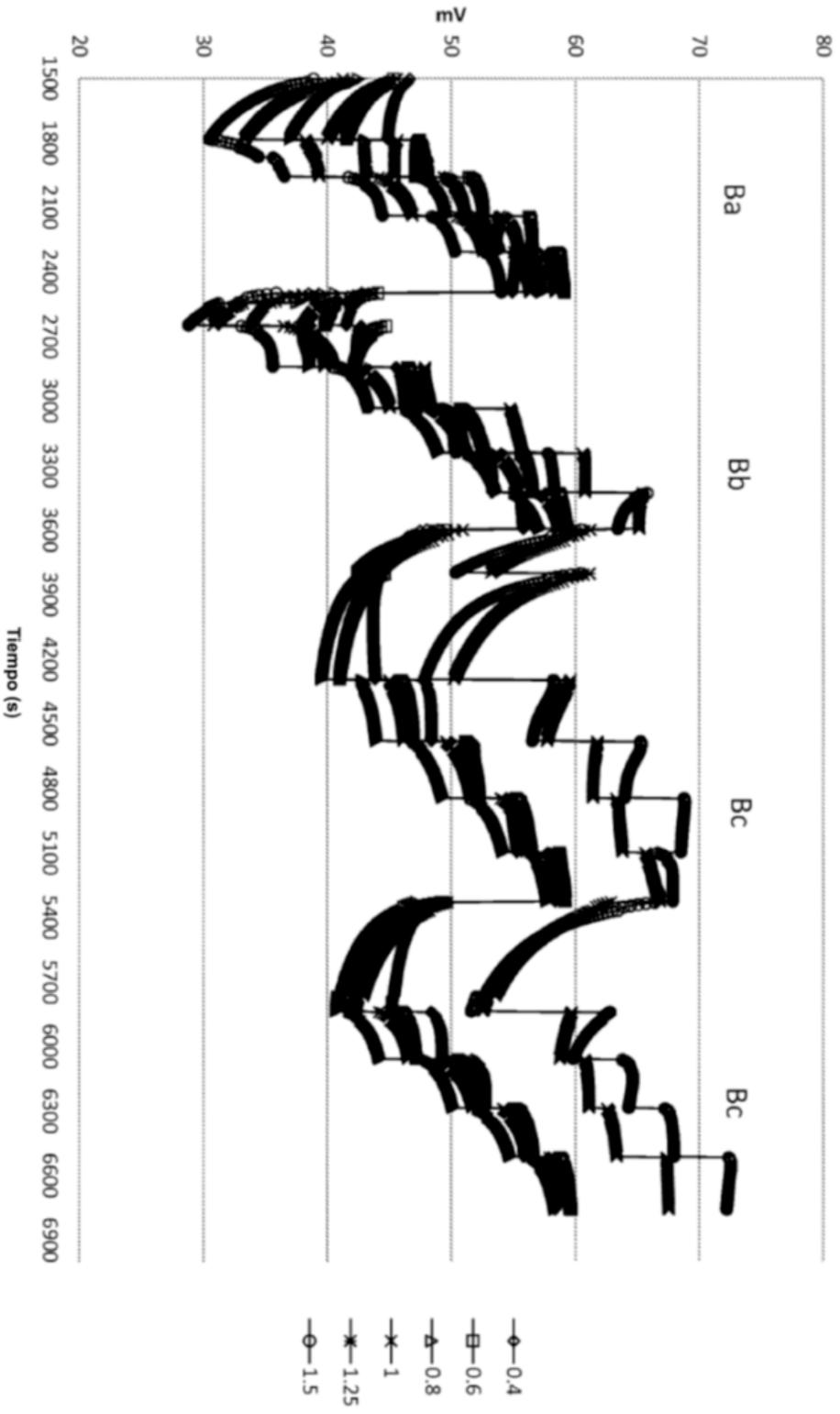
30 15. El kit de la reivindicación 7, en el que la concentración del tensioactivo de poli(óxido de etileno) en el al menos un reactivo es inferior a 100 mg/L.

**Respuesta sin procesar de diversas relaciones de borato/ionóforo en series Aa, Ab y Ac en solución**



**FIGURA 1A**

**Respuesta sin procesar de diversas relaciones de borato:ionóforo en series Ba, Bb y Bc en solución**



**FIGURA 1B**

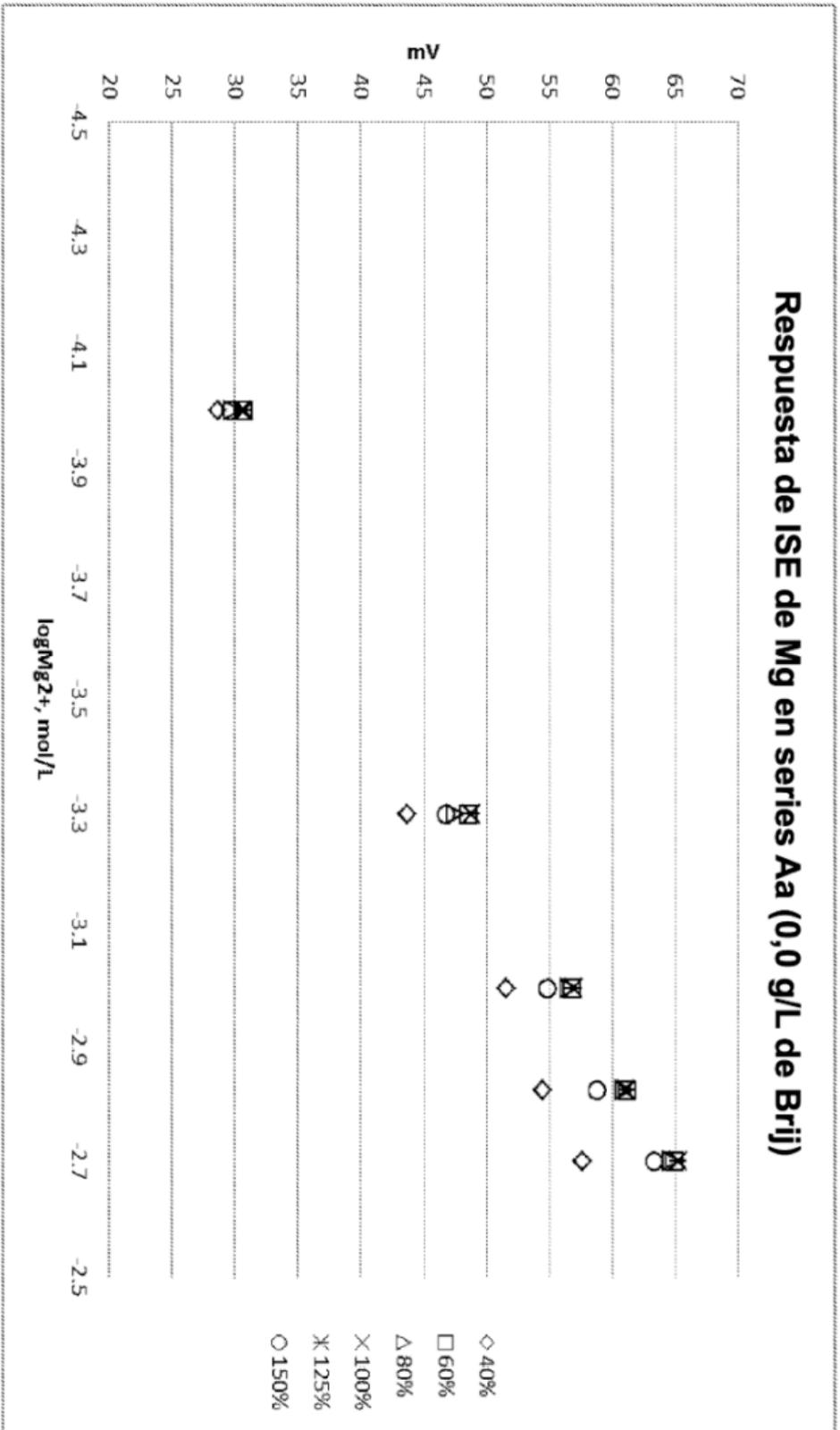


FIGURA 2

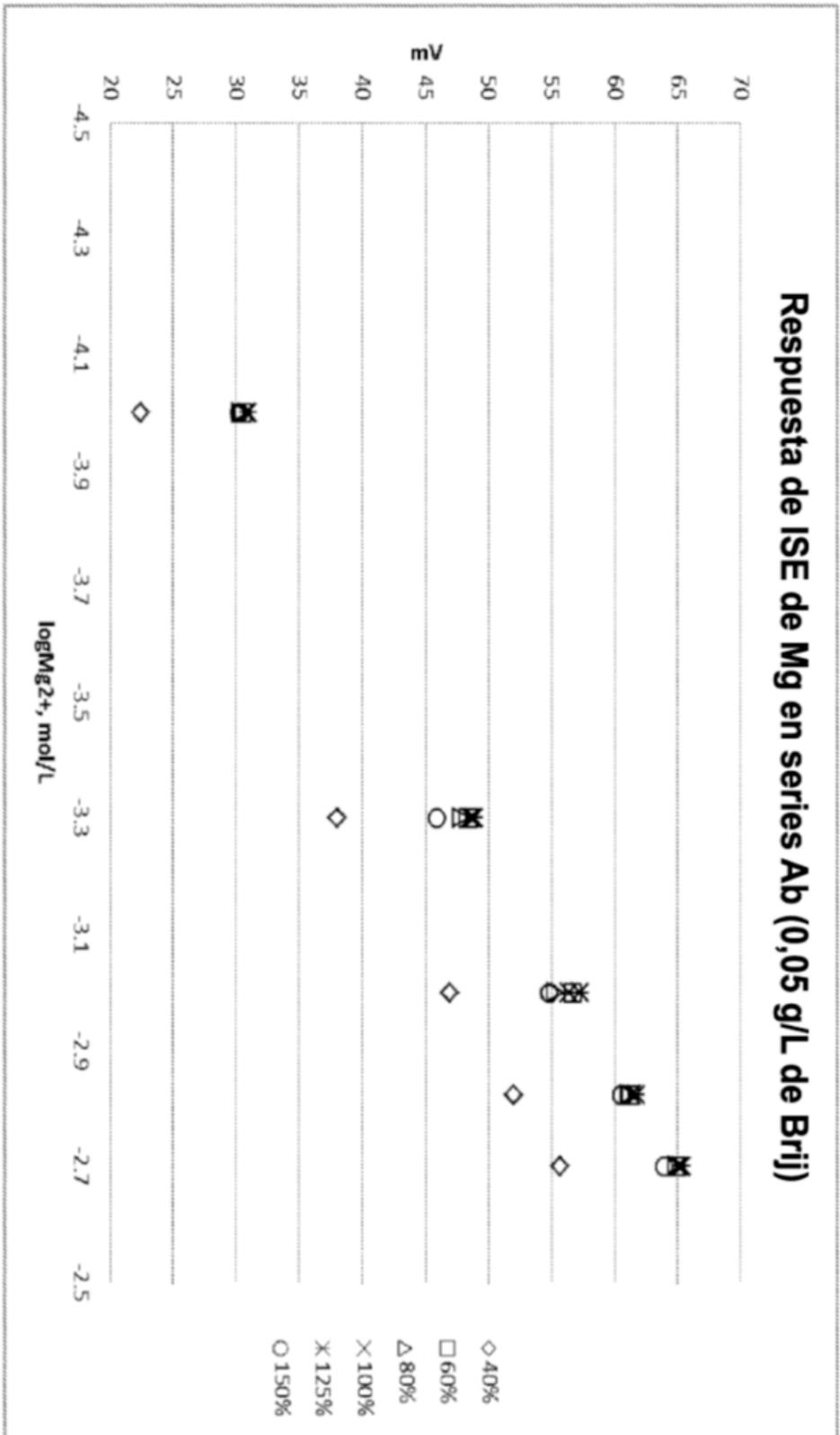


FIGURA 3

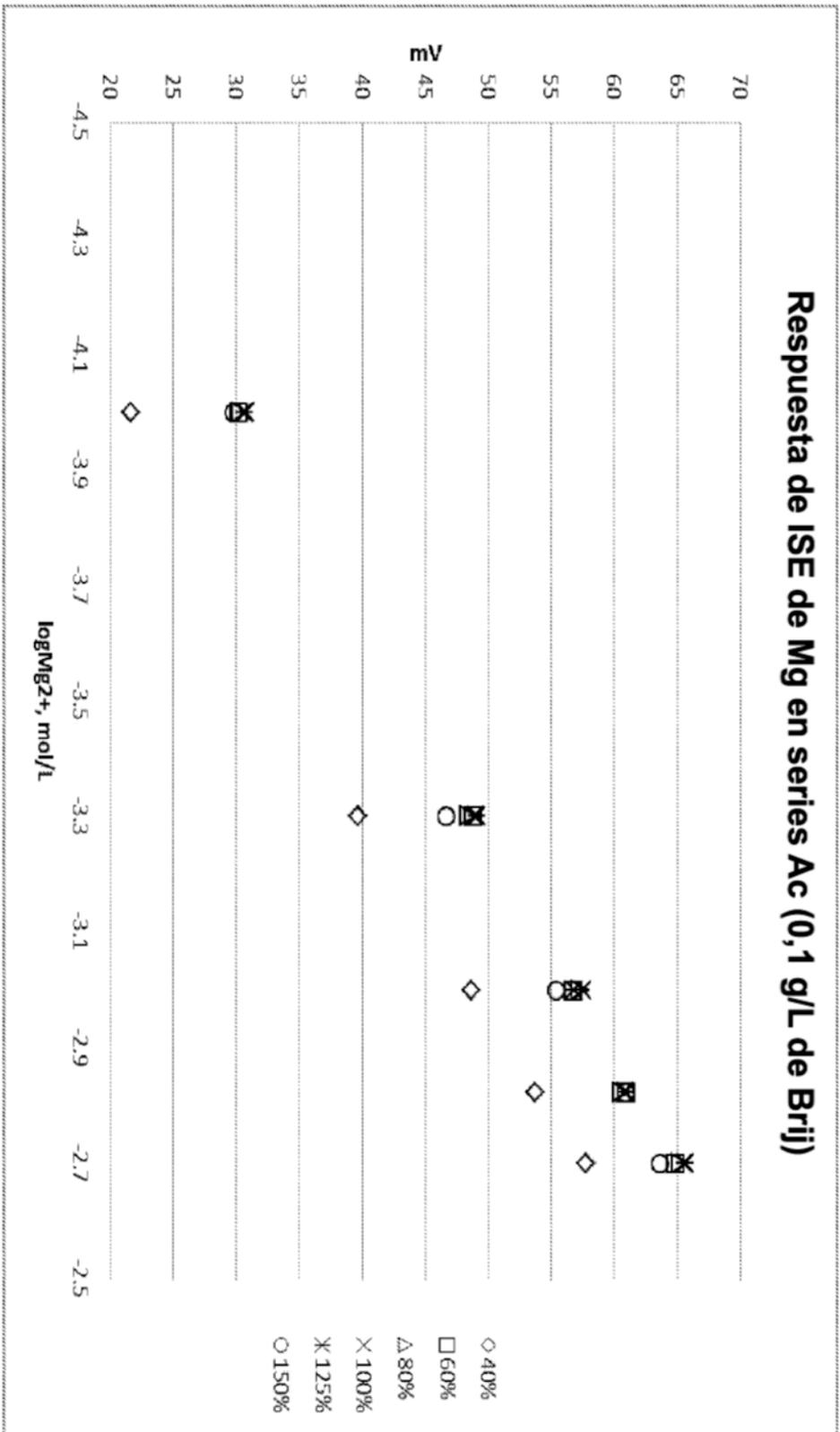


FIGURA 4

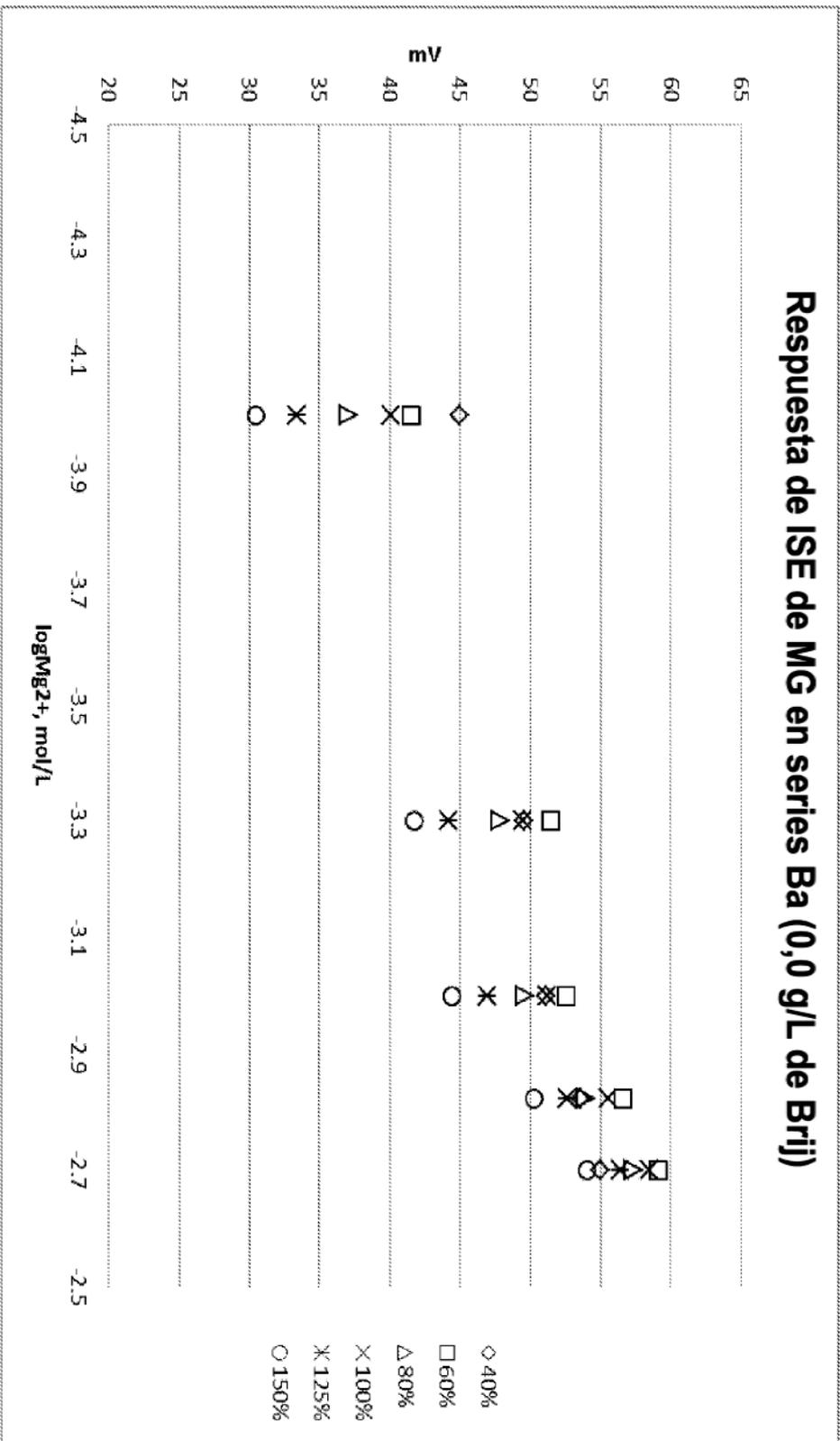


FIGURA 5

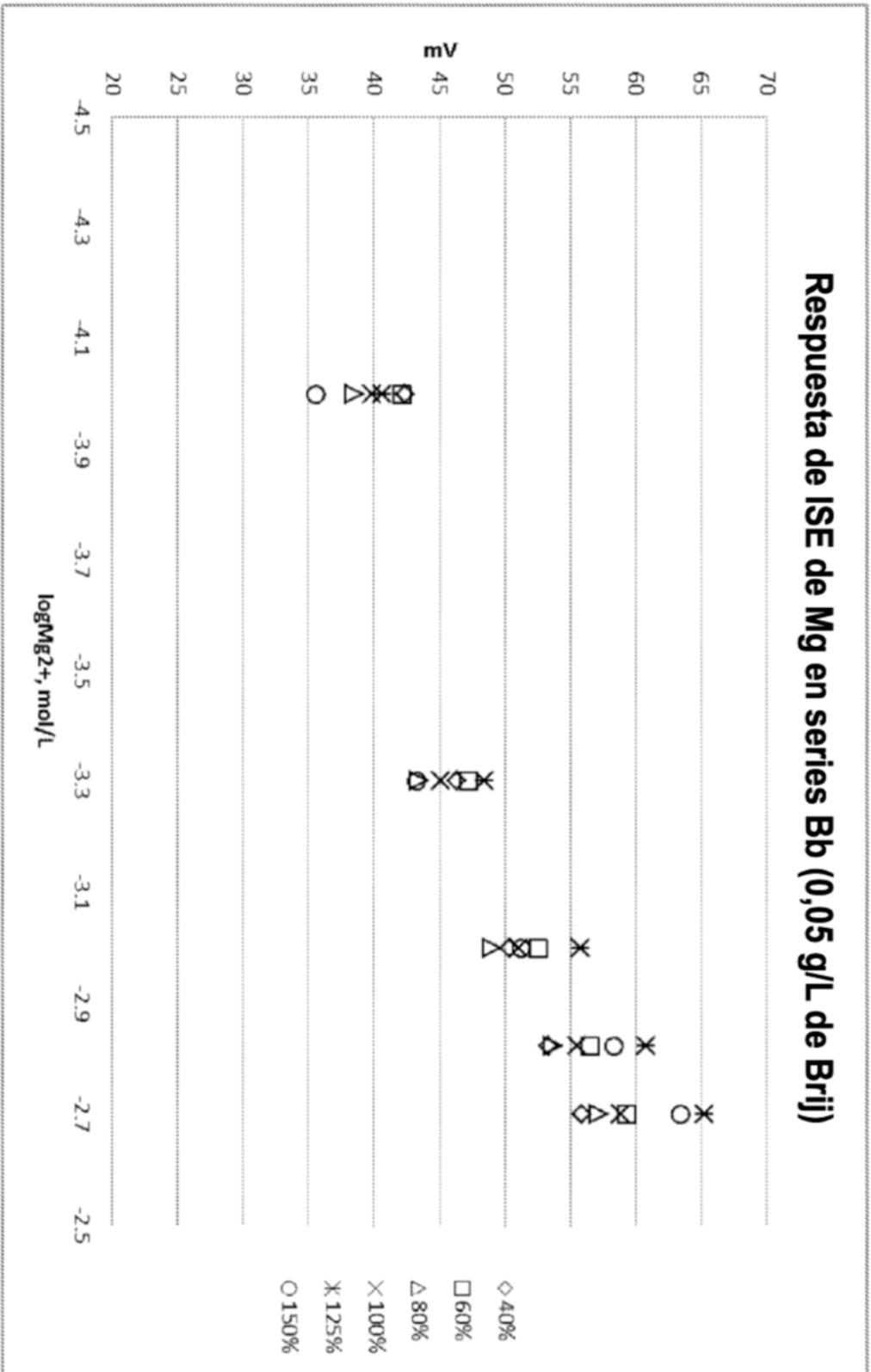


FIGURA 6

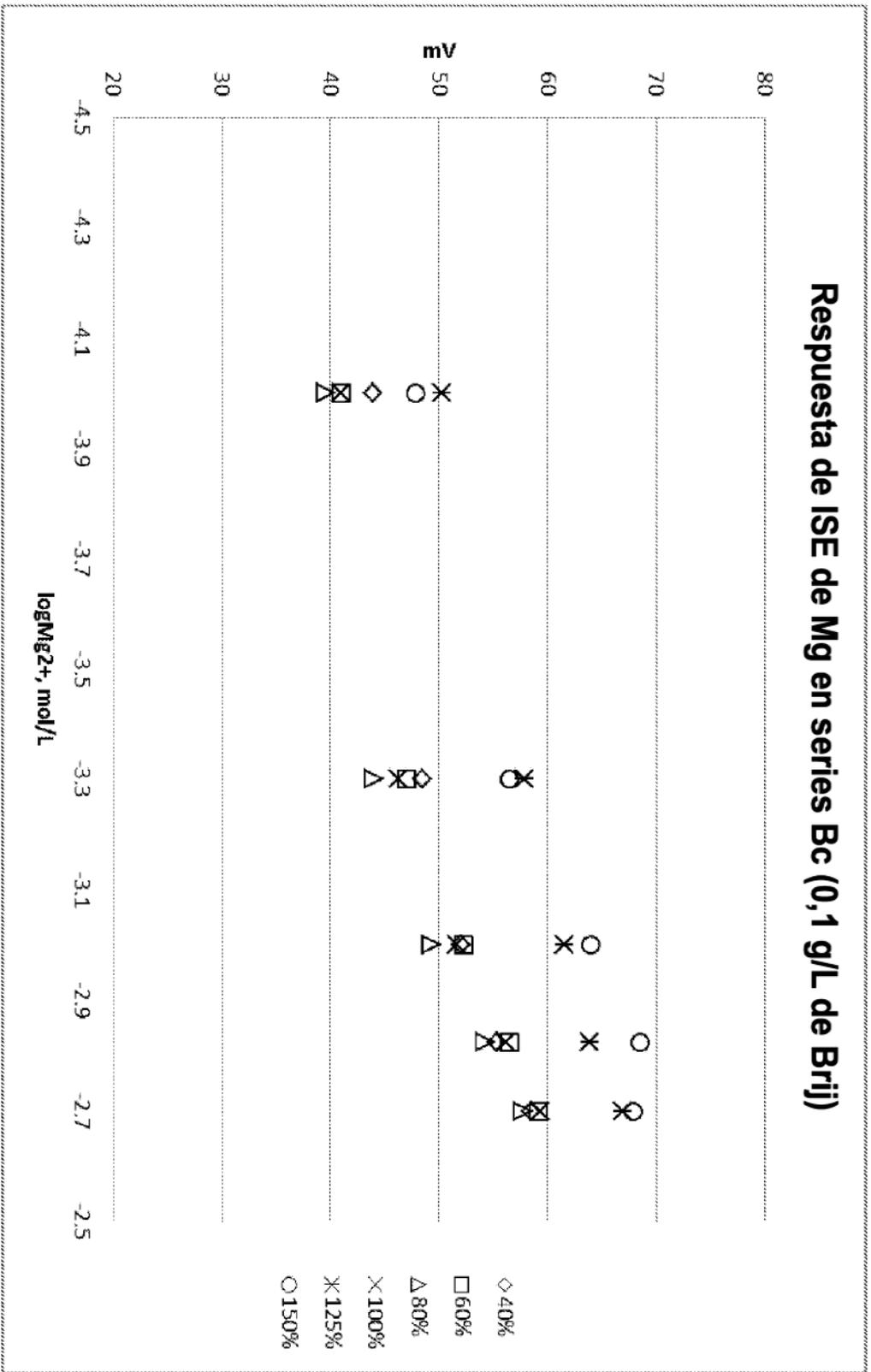


FIGURA 7

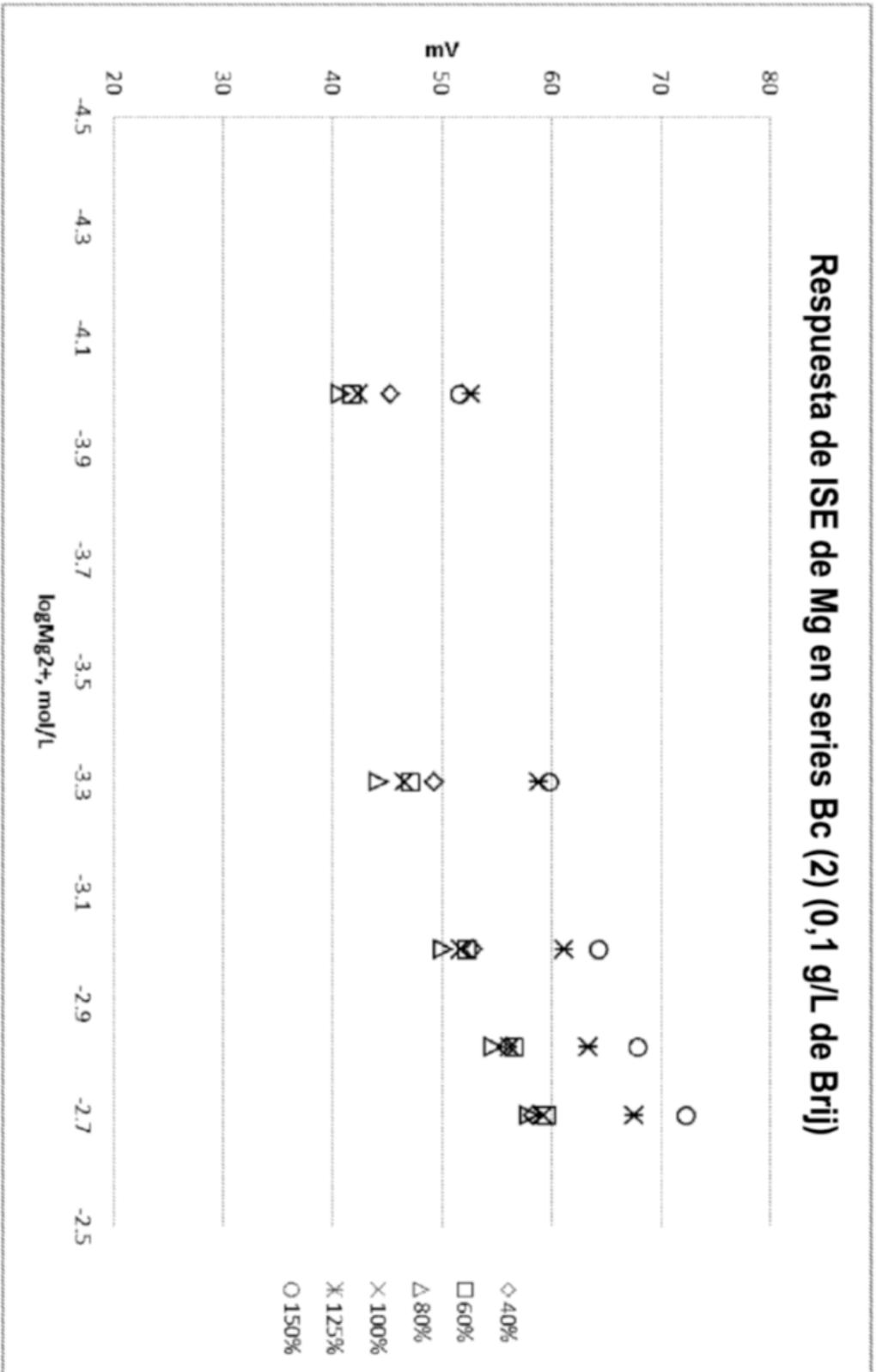


FIGURA 8

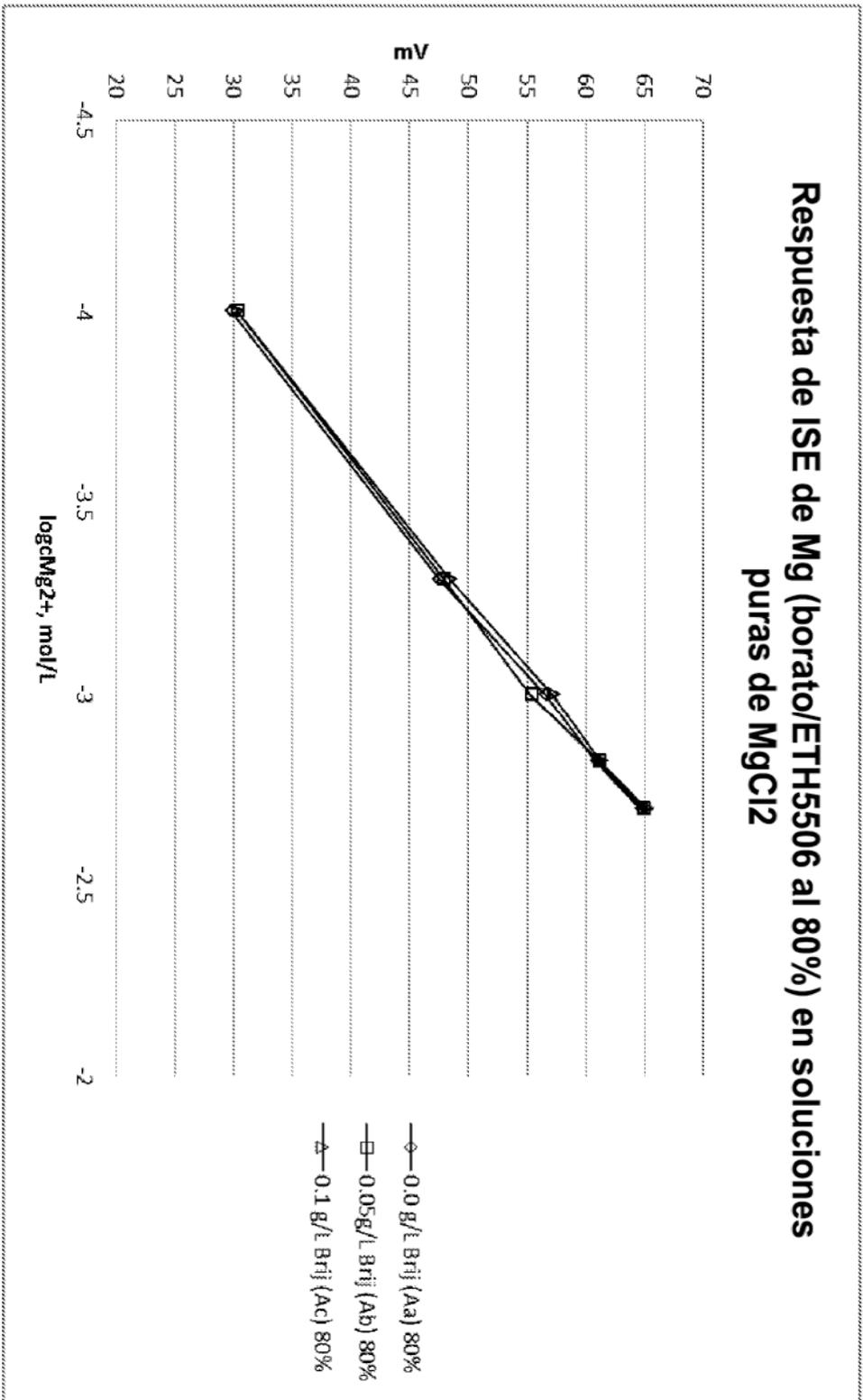
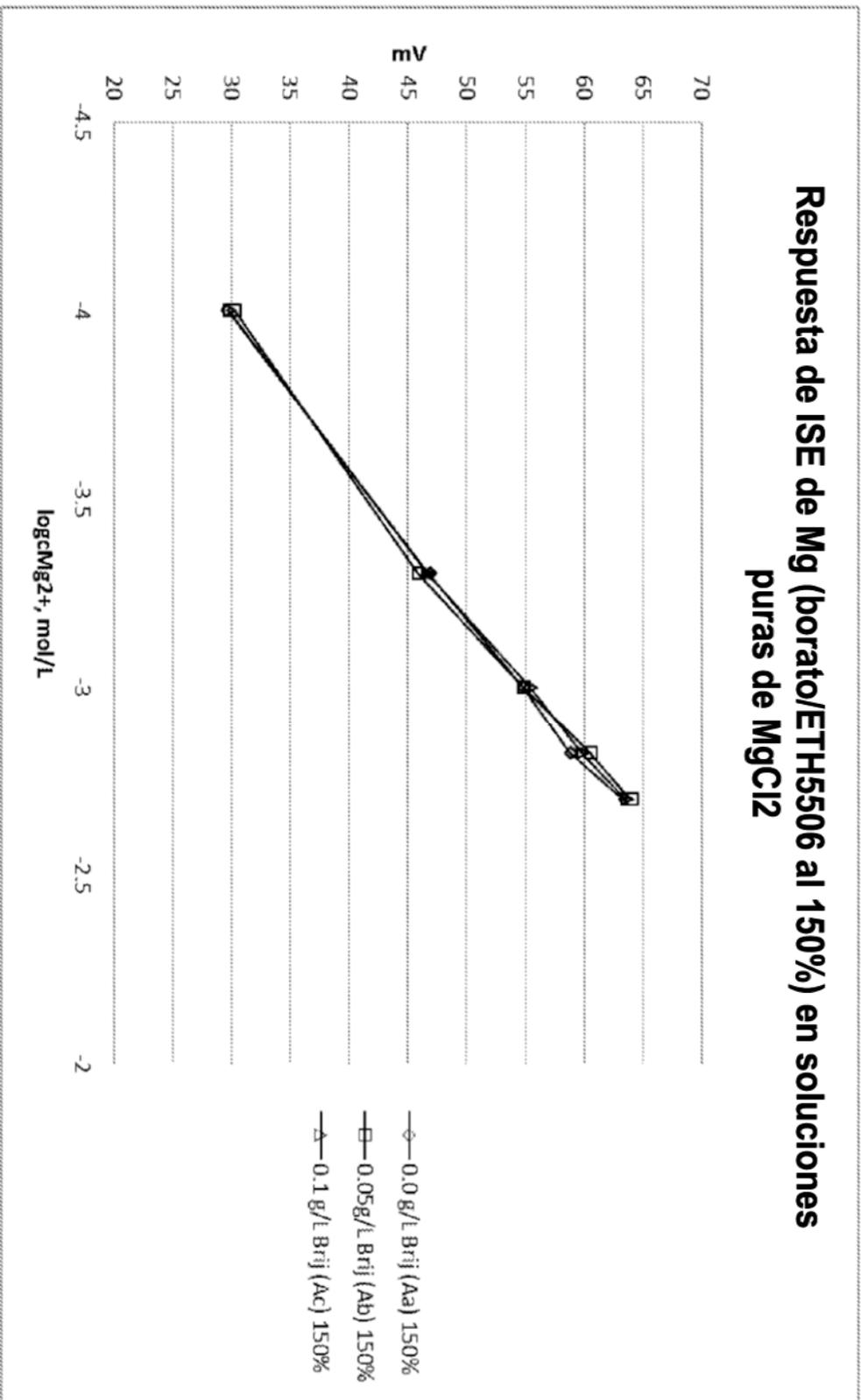


FIGURA 9

**Respuesta de ISE de Mg (borato/ETH5506 al 150%) en soluciones puras de MgCl2**



**FIGURA 10**

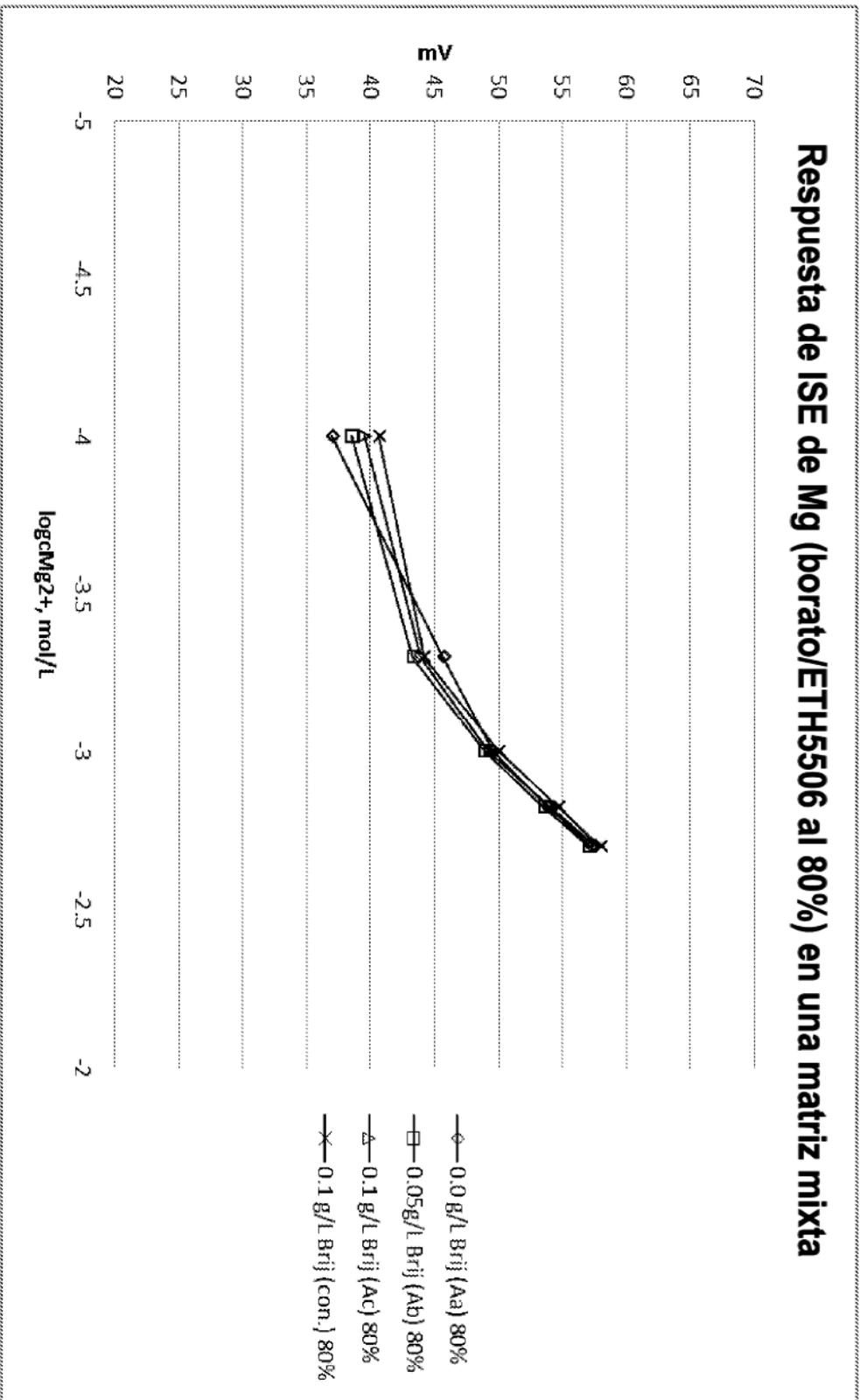
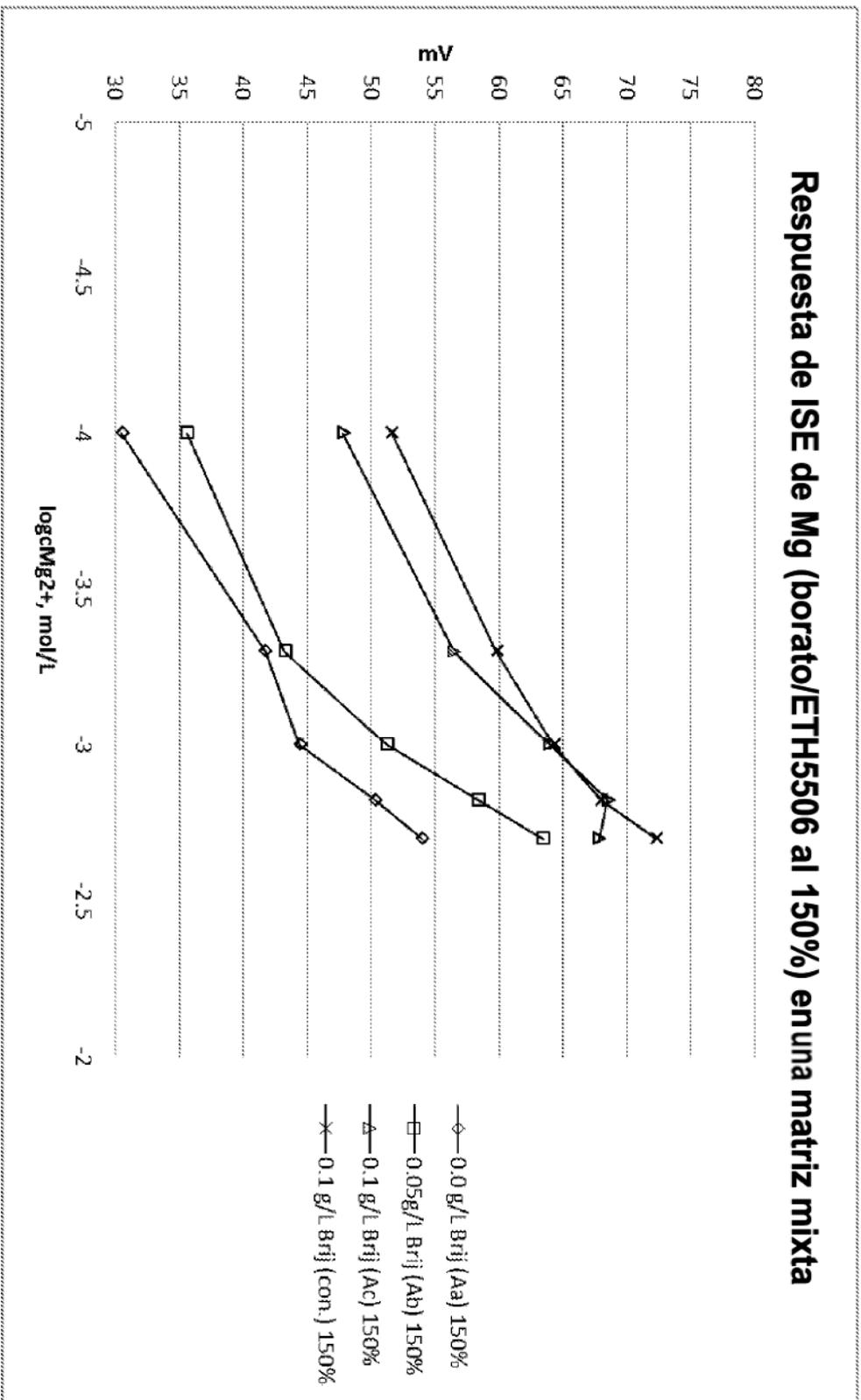


FIGURA 11



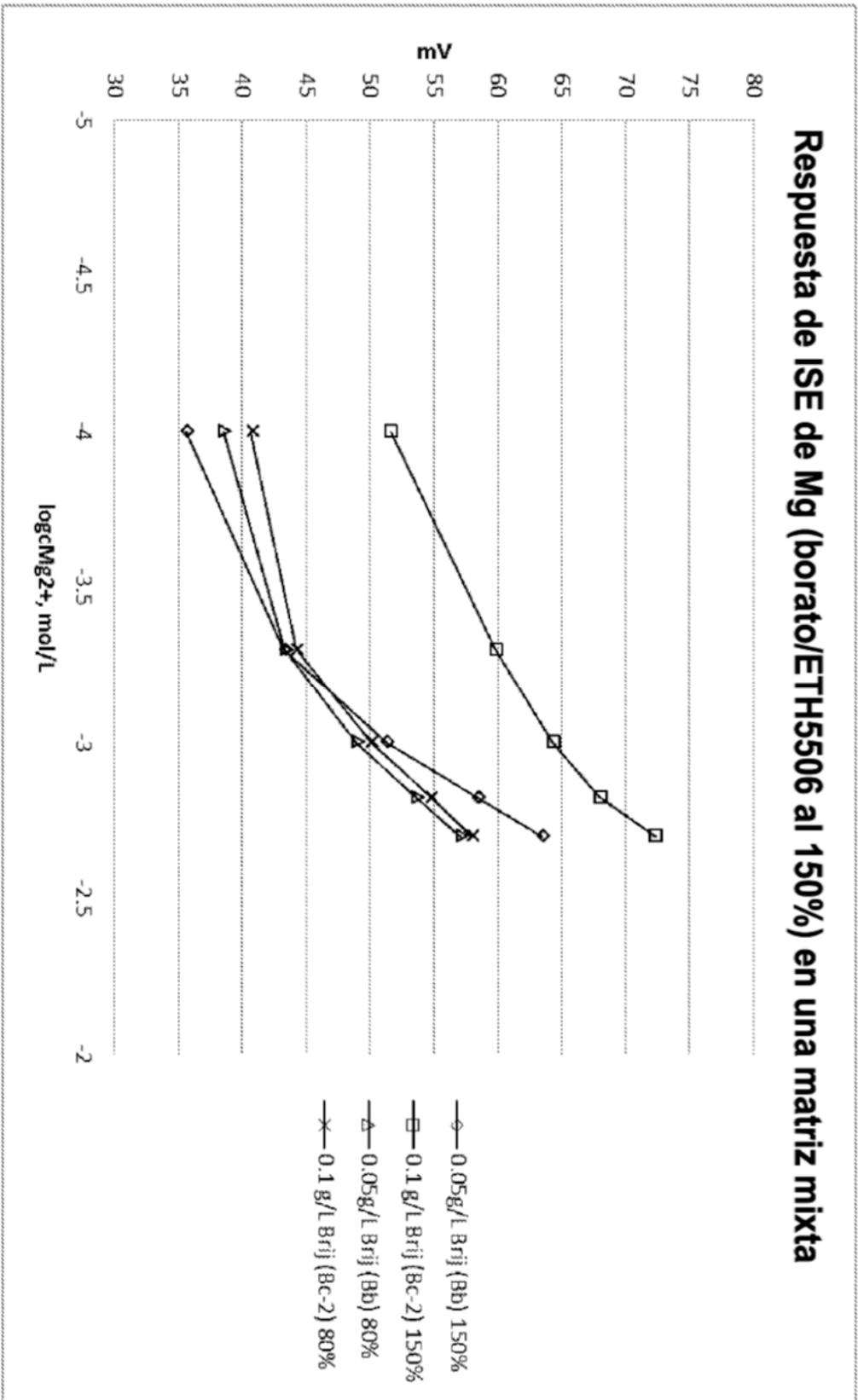
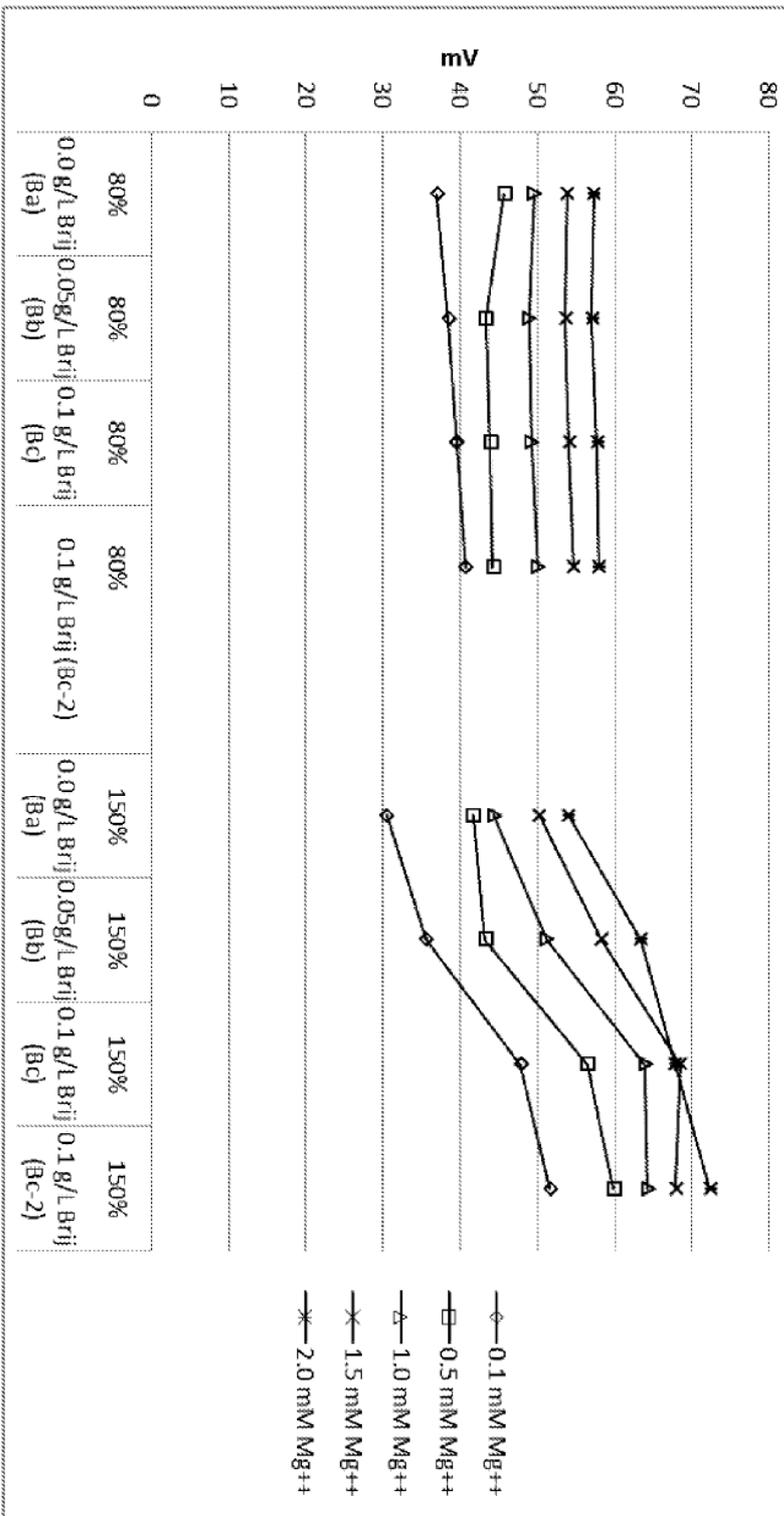


FIGURA 13

**Comparación del cambio de la señal de respuesta (variando Brij700):  
Relación de borato en 80% y 150%**



**FIGURA 14**