

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 955 307**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/04 (2006.01)

A01N 33/12 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.04.2018** **PCT/GB2018/050913**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.10.2018** **WO18185486**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.04.2018** **E 18720345 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023** **EP 3607080**

54 Título: **Composiciones que cambian de color**

30 Prioridad:

04.04.2017 GB 201705407

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

30.11.2023

73 Titular/es:

FRESH CHECK LTD. (100.0%)
2 Goodwin House, 1 Stanthorpe Road
London SW16 2ED, GB

72 Inventor/es:

BOND, ALEXANDER;
SIMPSON, JOHN y
PEACH, ROBERT

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 955 307 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

Composiciones que cambian de color

5 CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a composiciones, a un sustrato que comprende una composición, y a una marcador que comprende una composición. La invención tiene aplicación particular, pero no exclusiva, en la detección, reducción y/o eliminación de microorganismos, tales como bacterias. La invención también tiene una aplicación particular, pero no exclusiva, en la detección de cambios químicos, tal como el pH.

ANTECEDENTES

Los microorganismos, tales como las bacterias, suelen requerir especies metálicas (por ejemplo, hierro) para una serie de procesos biológicos. Las bacterias normalmente extraen hierro del entorno ambiental por medio de compuestos quelantes de hierro conocidos como sideróforos (por ejemplo, enterobactina). Los sideróforos segregados por bacterias tienen una alta afinidad de unión por el hierro (Fe^{3+}), y de ese modo son capaces de secuestrar el hierro ambiental. Después del secuestro, el hierro unido al sideróforo puede ser absorbido por las bacterias usando mecanismos de transporte activo.

Cromazurol S (CAS) es un agente que cambia de color que proporciona un cambio de color al unirse a y/o liberarse del hierro (azul al unirse, naranja al liberarse/en forma no unida). Debido a una alta afinidad de unión por el hierro, cuando CAS con hierro unido se expone a los sideróforos, el hierro se libera de CAS y en su lugar se une preferentemente a los sideróforos, lo que da como resultado un cambio de color en el CAS.

Los niveles de bacterias presentes en una muestra están relacionados con la cantidad de sideróforo presente en esa muestra, y la cantidad de sideróforo presente está relacionada con la cantidad de hierro que se puede secuestrar. De manera similar, el cambio de color resultante de la unión y/o liberación de hierro está relacionado con la cantidad de hierro unido y/o liberado. Por lo tanto, el cambio de color resultante de la liberación de hierro unido a CAS puede usarse para determinar la cantidad de bacterias presentes en una muestra.

Otros microorganismos adoptan técnicas similares para la captación de hierro, y otros metales pueden secuestrarse de la misma manera.

En muchos entornos, es deseable reducir o eliminar los microorganismos, y de ese modo reducir o eliminar el riesgo de infección para los organismos vivos.

La exposición de CAS a ciertos ambientes químicos también provoca la liberación de hierro, dando como resultado un cambio de color en el CAS. A modo de ejemplo, CAS puede tener una afinidad de unión por el hierro diferente cuando se encuentra en un entorno ácido que cuando se encuentra en un entorno básico.

Es deseable proporcionar una técnica mejorada con respecto a la descrita en el documento US2015056333 para reducir o eliminar microorganismos y/o para proporcionar una técnica mejorada de detección de microorganismos, y/o una técnica mejorada para detectar ciertos entornos químicos, y/o de otro modo para obviar y/o mitigar una o más de las desventajas con técnicas conocidas, ya sean identificadas aquí o de otra manera.

SUMARIO

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que comprende:

un metal, en la que el metal es hierro;

un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático;

un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol;

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo,

en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20, y

en la que el metal y el inhibidor de agregación están presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30;

opcionalmente en la que la composición es una composición pulverizable, que comprende un tensioactivo y un vehículo líquido.

Según un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un sustrato que comprende un soporte de sustrato que tiene una composición en el mismo, en el que la composición comprende:

un metal, en la que el metal es hierro;

un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático; y

un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol;

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo;

en la que el metal y el inhibidor de agregación están presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30; y

en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20.

Según un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un marcador que comprende una membrana, envolviendo la membrana una composición y un soporte, comprendiendo la composición:

un metal, en la que el metal es hierro;

un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático; y

un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol,

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo; en el que la membrana es impermeable al agente que cambia de color para evitar que pase a través de ella, en el que la membrana es permeable a los sideróforos para permitir que pasen a través de ella y entren en contacto con el agente que cambia de color, en la que el metal y el inhibidor de agregación están presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30, y en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20.

DEFINICIONES

El término "alifático", como se usa aquí, significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificado o cíclico, sustituido o no sustituido, que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático.

Como se usa aquí, la expresión "grupo alquilo" se refiere a radicales/grupos de hidrocarburo alifático saturado, tanto de cadena lineal como ramificada.

Como se usa aquí, el término "sustancialmente" pretende modificar una cualidad, de modo que una característica determinada no tenga que estar "exactamente" de acuerdo con esa cualidad. Convenientemente, este modificador puede indicar una desviación de la cualidad dada de menos de o igual a alrededor de 20%, tal como menos de o igual a alrededor de 15%, tal como menos de o igual a alrededor de 10%, tal como menos de o igual a alrededor de 5%, tal como menos de o igual a alrededor de 1%, tal como alrededor de 0%. En términos generales, se prefiere una desviación más baja. A modo de ejemplo, si una membrana se describe como sustancialmente transparente en el espectro visible, la membrana puede ser sólo alrededor de un 80% transparente en el espectro visible. Como se usa aquí, el término "metal" pretende incluir formas elementales o compuestos de metales. Como se usa aquí, la expresión "impedir el paso", aplicado a un componente en particular, pretende abarcar tanto impedir completamente el paso como impedir parcialmente el paso (por ejemplo, restringir/obstaculizar el paso), siempre que el paso no afecte materialmente las características esenciales de ese componente en particular.

A modo de ejemplo, la membrana que es impermeable al agente que cambia de color para evitar el paso del mismo puede abarcar la membrana que impide sustancialmente el paso del agente que cambia de color en la medida en que persiste una cantidad suficiente de agente que cambia de color para efectuar un cambio de color tras la unión y/o liberación del metal.

Adecuadamente, puede entenderse que "prevenir" significa que menos de o igual a alrededor del 20% del componente relevante puede pasar a través de la membrana, en base al peso (por ejemplo, medido durante un período de alrededor de 1 mes); tal como menos de o igual a alrededor del 15%, tal como menos de o igual a alrededor del 10%, tal como menos de o igual a alrededor del 5%, tal como menos de o igual a alrededor del 1%. Hablando en términos generales, se prefiere una desviación más baja, siendo el más preferido un paso de alrededor de 0%. La definición opuesta se aplica a "permitir el paso" (es decir, que abarca tanto permitir completamente como permitir parcialmente).

Como se usa aquí, las relaciones pueden definirse como intervalos de relaciones, tal como que el componente A al componente B están en una relación de alrededor de 1:1 a 5. Esto debe entenderse como que el componente B puede estar presente en un intervalo de una cantidad igual del componente A hasta cinco veces la cantidad del componente B.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Según un primer aspecto de la presente invención, se proporciona una composición que comprende:

un metal, en la que el metal es hierro;

un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático;

un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol;

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo,

en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20, y

en la que el metal y el inhibidor de agregación están presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30;

opcionalmente en la que la composición es una composición pulverizable, que comprende un tensioactivo y un vehículo líquido.

También se describe, pero no se reivindica en la presente, una composición pulverizable, que comprende:

un metal;

un inhibidor de la agregación de metales;

un agente que cambia de color;

un tensioactivo; y

un vehículo líquido;

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo.

La composición de la presente invención es útil en aplicaciones en las que es deseable la detección y reducción y/o eliminación de microorganismos. La composición de la presente invención se puede pulverizar sobre un artículo (por ejemplo, una superficie) y se puede usar para detectar la presencia de microorganismos por medio de un cambio de color que surge de una interacción entre el agente que cambia de color, el metal y los sideróforos liberados por los microorganismos (por ejemplo, bacterias). En conjunto, el componente tensioactivo se puede usar para desinfectar las bacterias a través de disrupción (por ejemplo, ruptura) de las membranas celulares bacterianas, que están compuestas por una bicapa fosfolipídica.

La intensidad del cambio de color está relacionada con la cantidad de sideróforos presentes, y por lo tanto con los niveles de bacterias. Como resultado, un usuario de la composición de la presente invención puede determinar el nivel de desinfección requerido, por ejemplo si se debe aplicar una composición adicional y/o si se requiere una limpieza adicional (por ejemplo, limpieza mecánica, tal como frotar) para reducir y/o eliminar los microorganismos detectados.

Se apreciará, por tanto, que las composiciones de la presente invención facilitan la limpieza. En particular, podría aplicarse una pequeña cantidad de composición (por ejemplo, una ligera pulverización) a un artículo (tal como una superficie) que requiera limpiarlo, lo que indicaría si la superficie está contaminada. En el caso de que tenga lugar un

cambio de color, se puede aplicar más composición y/u otros agentes de limpieza al artículo, y/o se puede realizar una limpieza adicional. Esto puede continuar hasta que ya no se observe un cambio de color.

5 Como alternativa o adicionalmente, la composición de la presente invención puede ser útil en aplicaciones en las que es deseable la detección de ciertas sustancias químicas (por ejemplo, sustancias químicas ácidas o básicas). Como se describió anteriormente, la composición de la presente invención se puede pulverizar sobre un artículo (por ejemplo, una superficie) y se puede usar para detectar la presencia de sustancias químicas por medio de un cambio de color que surge de una interacción entre el agente que cambia de color, el metal y las sustancias químicas presentes.

10 En términos generales, la composición de la presente invención es adecuada para la detección de sustancias químicas que alteran la afinidad de unión del agente que cambia de color por el metal, de manera que se produce un cambio de color en el agente que cambia de color tras la exposición a dichas sustancias químicas.

15 El agente que cambia de color, tal como CAS (por ejemplo, CAS S), puede ser tetrabásico, con 4 restos de hidrógeno ionizables. La ionización de uno o más de dichos restos puede conducir a un cambio de color. Por lo tanto, una sustancia química capaz de lograr dicha ionización puede detectarse tras la exposición a tal agente que cambia de color. El experto en la técnica comprenderá la naturaleza de las sustancias químicas para las cuales la composición de la presente invención es adecuada para la detección.

20 El agente que cambia de color puede proporcionar un cambio de color en el espectro visible (por ejemplo, alrededor de 390 nm a 700 nm).

25 El metal y el inhibidor de la agregación de metales están presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30; opcionalmente alrededor de 1:0,5 a 7; opcionalmente alrededor de 1:0,5 a 7; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 6; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 5; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 3; opcionalmente alrededor de 1:1 a 2; opcionalmente alrededor de 1:1 a 1,5; opcionalmente alrededor de 1:1,3.

30 La cantidad de inhibidor de la agregación de metales debe ser suficiente para proporcionar la función antes mencionada para impedir, restringir o prevenir adecuadamente la agregación del metal.

35 Ciertos inhibidores de la agregación de metales se unen fuertemente a los metales (por ejemplo, hierro), y por lo tanto su presencia en niveles excesivos (es decir, más allá de los niveles requeridos para realizar su función como inhibidor de la agregación) puede ser indeseable. En particular, el exceso de tales inhibidores de la agregación de metales puede impedir la absorción del metal por los sideróforos y/o el agente que cambia de color, e impedir o prevenir de ese modo el cambio de color.

40 El metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20; opcionalmente alrededor de 1:1 a 15; opcionalmente alrededor de 1:2 a 13; opcionalmente alrededor de 1:2 a 11,5; opcionalmente alrededor de 1:2 a alrededor de 8; opcionalmente alrededor de 1:2 a 5; opcionalmente alrededor de 1:2 a 4; opcionalmente alrededor de 1:3,3.

La cantidad de agente que cambia de color debe ser suficiente para proporcionar la función antes mencionada de proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse el metal.

45 Ciertos agentes que cambian de color pueden manchar los artículos (por ejemplo, superficies) sobre los que se aplican, y por lo tanto la presencia en niveles excesivos (es decir, más allá de los niveles necesarios para realizar su función) puede ser indeseable.

50 El metal y el tensioactivo pueden estar presentes en una relación en peso de alrededor de 1:500 a 7.000; opcionalmente alrededor de 1:750 a 4.500; opcionalmente alrededor de 1:750 a 3.000; opcionalmente alrededor de 1:1000 a 1.500; opcionalmente alrededor de 1:1,200. Como se usa aquí, el peso del hierro se refiere al peso equivalente del hierro elemental (es decir, Fe) y no al peso total de un compuesto que contiene hierro (por ejemplo, FeCl_3).

55 El metal y el tensioactivo pueden estar presentes en una relación molar de alrededor de 1:25 a 240; opcionalmente alrededor de 1:25 a 200; opcionalmente alrededor de 1:25 a 150; opcionalmente alrededor de 1:25 a alrededor de 100; opcionalmente alrededor de 1:30 a alrededor de 70; opcionalmente alrededor de 1:40 a alrededor de 60; opcionalmente alrededor de 1:51.

60 El componente tensioactivo puede reducir el manchado de artículos (por ejemplo, artículos que requieren descontaminación) por el agente que cambia de color.

Las relaciones relativas del hierro, el inhibidor de la agregación de metales, el agente que cambia de color y el tensioactivo se pueden adaptar dependiendo de la aplicación.

65

Algunos tensioactivos se unen fuertemente al metal (por ejemplo, hierro) de manera similar al inhibidor de la agregación señalado anteriormente, y por lo tanto, la presencia en niveles excesivos (es decir, más allá de los niveles necesarios para realizar su función como tensioactivo para la limpieza) puede ser igualmente indeseable.

El tensioactivo puede ser bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA), un polisorbato (opcionalmente un polisorbato 80 o polisorbato 20, opcionalmente un Tween®), un etoxilato de fenol alifático (tal como Triton X-100; opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo; opcionalmente en el que el etoxilato de fenol alifático es etoxilato de octilfenol), una sulfobetaina alifática (opcionalmente en la que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en la que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 8 a 16 átomos de carbono; opcionalmente en la que la sulfobetaina alifática es lauril sulfobetaina), un bromuro de trimetilamonio alifático (opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en el que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 10 a 22 átomos de carbono, opcionalmente en el que el bromuro de trimetilamonio alifático es bromuro de miristiltrimetilamonio o bromuro de trimetiloctadecilamonio), opcionalmente en el que el tensioactivo es bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA).

El tensioactivo puede ser un polisorbato (opcionalmente, un polisorbato 80 [es decir, monooleato de polioxietilen (20) sorbitán] o polisorbato 20, opcionalmente un Tween®), un etoxilato de fenol alifático (tal como Triton X-100; opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo; opcionalmente en el que el etoxilato de fenol alifático es etoxilato de octilfenol), una sulfobetaina alifática (opcionalmente en la que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en la que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 8 a 16 átomos de carbono; opcionalmente en la que la sulfobetaina alifática es lauril sulfobetaina), un bromuro de trimetilamonio alifático (opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en el que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 10 a 22 átomos de carbono, en el que opcionalmente el bromuro de trimetilamonio alifático es bromuro de miristiltrimetilamonio o bromuro de trimetiloctadecilamonio).

Ciertos tensioactivos pueden unirse al metal y, de ese modo, dificultar o evitar la absorción del metal por el agente que cambia de color y/o el sideróforo. Por lo tanto, el tensioactivo se puede escoger para que tenga una menor afinidad de unión al metal que el agente que cambia de color y/o el sideróforo. Los sideróforos tienen una afinidad de unión por el hierro, K_d , de más de alrededor de 10^{30} M^{-1} .

Adecuadamente, el tensioactivo se puede escoger de modo que la afinidad de unión del sideróforo sea al menos alrededor de 10 veces mayor que la del tensioactivo; opcionalmente al menos alrededor de 50 veces mayor; opcionalmente al menos alrededor de 100 veces mayor; opcionalmente al menos alrededor de 1.000 veces mayor; opcionalmente al menos alrededor de 10.000 veces mayor; opcionalmente al menos alrededor de 100.000 veces mayor. En términos generales, se prefiere una mayor afinidad de unión relativa del agente que cambia de color y/o del sideróforo (con respecto al tensioactivo).

No se cree que los tensioactivos de polisorbato interactúen con el agente que cambia de color (tal como CAS, por ejemplo CAS S).

El vehículo líquido puede ser agua. El agua puede ser útil en la destrucción de las membranas celulares bacterianas a través de la formación de una emulsión que comprende lípidos derivados de la bicapa fosfolipídica.

El vehículo líquido puede estar presente en un nivel de alrededor de 50 ml a 1000 ml por alrededor de 1 g de los otros componentes en la composición (es decir, 1 g se refiere al peso total del metal, el inhibidor de la agregación de metales, el agente que cambia de color y el tensioactivo); opcionalmente alrededor de 100 ml a 800 ml por alrededor de 1 g; opcionalmente alrededor de 200 ml a 550 ml por alrededor de 1 g; opcionalmente alrededor de 375 ml por alrededor de 1 g.

El vehículo líquido puede estar presente alternativamente a un nivel de alrededor de 50 ml a 2.000 ml por alrededor de 0,1 g de los otros componentes en la composición (es decir, 0,1 g se refiere al peso total del metal, el inhibidor de la agregación de metales, el agente que cambia de color y el tensioactivo); opcionalmente alrededor de 200 ml a 1.600 ml por alrededor de 0,1 g; opcionalmente alrededor de 250 ml a 1.100 ml por alrededor de 0,1 g; opcionalmente alrededor de 300 ml a 500 ml por alrededor de 0,1 g.

Diluir la composición usando un vehículo líquido puede ser útil para reducir las manchas por la composición. La dilución también puede ayudar a producir un cambio de color visible.

También se describe, pero no se reivindica en la presente, una composición, que comprende:

un metal;

un inhibidor de la agregación de metales; y

un agente que cambia de color;

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirlo y/o liberarlo, y en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 15.

5 Dicha composición puede ser útil en un marcador que cambia de color para detectar la presencia y/o el nivel de sideróforos, y, por extensión, de microbios.

10 El metal y el agente que cambia de color pueden estar presentes en una relación molar de alrededor de 1:2 a 13; opcionalmente alrededor de 1:2 a 11,5; opcionalmente alrededor de 1:2 a alrededor de 8; opcionalmente alrededor de 1:2 a 5; opcionalmente alrededor de 1:2 a 4; opcionalmente alrededor de 1:3,3. Tal composición puede ser útil para incorporarla a un marcador, y/o puede ser útil como composición *per se* para la detección de microorganismos y/o sustancias químicas, como se explica aquí.

15 El metal y el agente que cambia de color pueden estar presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20, opcionalmente alrededor de 1:2,5 a 17,5; opcionalmente alrededor de 1:5 a alrededor de 15; opcionalmente alrededor de 1:7,5 a 12,5; opcionalmente alrededor de 1:10. Tal composición puede ser útil para incorporarla a una toallita, y/o puede ser útil como composición *per se* para la detección de microorganismos y/o sustancias químicas, como se explica aquí.

20 El metal y el inhibidor de la agregación pueden estar presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 7; opcionalmente alrededor de 1:0,5 a 7; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 6; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 5; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 3; opcionalmente alrededor de 1:1 a 2; opcionalmente alrededor de 1:1 a 1,5; opcionalmente alrededor de 1:1,3. Tal composición puede ser útil para incorporarla a un marcador, y/o puede ser útil como composición *per se* para la detección de microorganismos y/o sustancias químicas, como se explica aquí.

25 El metal y el inhibidor de la agregación pueden estar presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 27,5; opcionalmente alrededor de 1:0,75 a 25; opcionalmente alrededor de 1:5 a 25; opcionalmente alrededor de 1:10 a 25; opcionalmente alrededor de 1:15 a 25; opcionalmente alrededor de 1:17,5 a 22,5; opcionalmente alrededor de 1:20. Tal composición puede ser útil para incorporarla a una toallita, y/o puede ser útil como composición *per se* para la detección de microorganismos y/o sustancias químicas, como se explica aquí.

30 Las relaciones relativas del hierro, el inhibidor de la agregación de metales y el agente que cambia de color pueden adaptarse según la aplicación.

35 La composición puede comprender además un vehículo líquido (opcionalmente agua). La inclusión de un vehículo líquido puede facilitar la aplicación de la composición a un marcador.

40 El vehículo líquido puede estar presente a un nivel de alrededor de 50 ml a 200 ml por alrededor de 1 g de los otros componentes en la composición (es decir, 1 g se refiere al peso total del metal, el inhibidor de la agregación de metales y el agente que cambia de color); opcionalmente alrededor de 75 ml a 150 ml por alrededor de 1 g; opcionalmente alrededor de 85 ml a 130 ml por alrededor de 1 g; opcionalmente alrededor de 100 ml por alrededor de 1 g.

45 Dicha composición puede ser una composición pulverizable, que comprende un vehículo líquido. Las composiciones pulverizables pueden ser útiles en el caso de que sea deseable la detección de microorganismos y/o ciertas sustancias químicas (por ejemplo, sustancias químicas ácidas o básicas). Como se describió anteriormente, la composición de la presente invención se puede pulverizar sobre un artículo (por ejemplo, una superficie) y se puede usar para detectar la presencia de microorganismos y/o sustancias químicas por medio de un cambio de color que surge de una interacción entre el agente que cambia de color, el metal y las sustancias químicas presentes.

50 En el caso de que la composición sea una composición pulverizable, el vehículo líquido puede estar presente a un nivel de alrededor de 50 ml a 2.000 ml por alrededor de 0,1 g de los componentes metal, inhibidor de la agregación de metales y agente que cambia de color; opcionalmente alrededor de 200 ml a 1.600 ml por alrededor de 0,1 g; opcionalmente alrededor de 250 ml a 1.100 ml por alrededor de 0,1 g; opcionalmente alrededor de 300 ml a 500 ml por alrededor de 0,1 g.

55 La composición puede comprender además un tensioactivo. El metal y el tensioactivo pueden estar presentes en una relación en peso de alrededor de 1:500 a 7.000; opcionalmente alrededor de 1:750 a 4.500; opcionalmente alrededor de 1:750 a 3.000; opcionalmente alrededor de 1:1000 a 1.500; opcionalmente alrededor de 1:1,200.

60 El tensioactivo puede ser bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA), un polisorbato (opcionalmente un polisorbato 80 o polisorbato 20, opcionalmente un Tween®), un etoxilato de fenol alifático (tal como Triton X-100; opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo; opcionalmente en el que el etoxilato de fenol alifático es etoxilato de octilfenol), una sulfobetaína alifática (opcionalmente en la que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en la que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 8 a 16 átomos de carbono; opcionalmente en la que la sulfobetaína alifática es lauril sulfobetaína), un bromuro de trimetilamonio alifático (opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en el que el grupo alifático tiene una

65

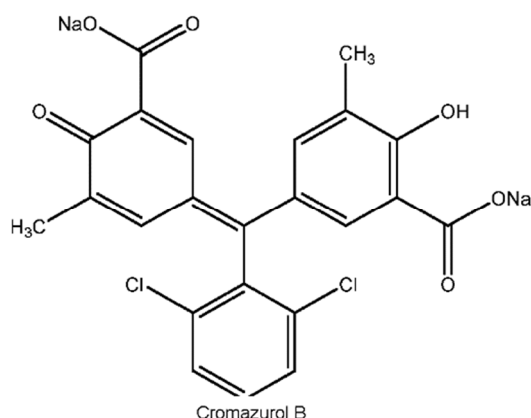
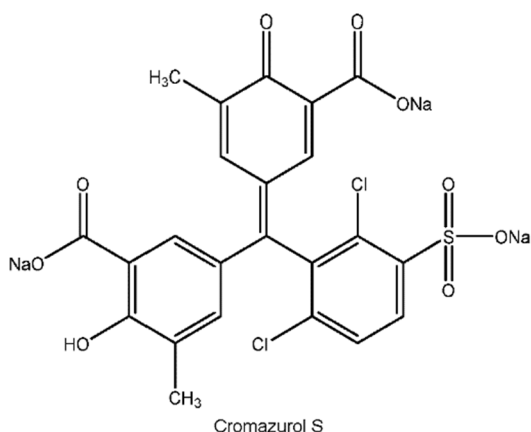
longitud de cadena lineal de 10 a 22 átomos de carbono, opcionalmente en el que el bromuro de trimetilamonio alifático es bromuro de miristiltrimetilamonio o bromuro de trimetiloctadecilamonio), opcionalmente en el que el tensioactivo es bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA).

5 El metal y el tensioactivo pueden estar presentes en una relación molar de alrededor de 1:25 a 240; opcionalmente alrededor de 1:25 a 200; opcionalmente alrededor de 1:25 a 150; opcionalmente alrededor de 1:25 a alrededor de 100; opcionalmente alrededor de 1:30 a alrededor de 70; opcionalmente alrededor de 1:40 a alrededor de 60; opcionalmente alrededor de 1:51.

10 A continuación se exponen las características del primer aspecto de la presente invención.

El metal es hierro; opcionalmente hierro (III); opcionalmente FeCl_3 ; tal como FeCl_3 hidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

15 El agente que cambia de color es un cromazurol (tal como cromazurol S o cromazurol B). También se describen aquí, pero no se reivindican en la presente, casos en los que el agente que cambia de color es un tanino. El agente que cambia de color puede ser cromazurol S (CAS). Los compuestos de cromazurol forman un color azul al unirse con el hierro, y se colorean de naranja en ausencia de hierro.



20 Los taninos son una clase de compuestos polifenólicos, tales como vescalagina, castalagina [isómero (33beta) de vescalagina], penta-O-galoil-beta-D-glucosa.

25 Se apreciará que los compuestos de cromazurol pueden existir en diferentes formas isoméricas y/o formas de sal, particularmente como resultado de la conjugación en los compuestos. Todas estas formas están previstas aquí.

El inhibidor de la agregación es un bromuro de trimetilamonio alifático; opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en el que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 12 a 22 átomos de carbono; tal como alrededor de 14 a 18 átomos de carbono.

30 El inhibidor de la agregación puede ser bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA). HDTMA es particularmente útil en el contexto de aplicaciones de limpieza (por ejemplo, una composición pulverizable), ya que HDTMA también proporciona un efecto antimicrobiano.

35 HDTMA también puede comportarse como un tensioactivo. En el contexto de la presente invención, cuando están presentes tanto un inhibidor de la agregación de metales tensioactivo (por ejemplo, HDTMA) como un tensioactivo, debe entenderse que el inhibidor de la agregación de metales define un componente diferente al componente tensioactivo. En otras palabras, el tensioactivo y el inhibidor de la agregación de metales son entidades químicas diferentes.

40 HDTMA se une fuertemente al metal (por ejemplo, hierro), y por tanto su presencia en niveles excesivos (es decir, más allá de los niveles necesarios para realizar su función como inhibidor de la agregación), tal como los niveles necesarios para proporcionar un efecto tensioactivo (de limpieza) suficiente, puede ser indeseable. En particular, el exceso de HDTMA puede impedir la absorción del metal por los sideróforos, e impedir o evitar de ese modo el cambio de color. Las mismas consideraciones pueden aplicarse a otros inhibidores de la agregación de metales.

45 Según un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un sustrato que comprende un soporte de sustrato que tiene una composición en el mismo, en el que la composición comprende:

50 un metal, en la que el metal es hierro;

un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático; y

un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol;

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo;

en la que el metal y el inhibidor de agregación están presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30; y

en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20.

También se describe aquí, pero no se reivindica en la presente, un sustrato que comprende un soporte de sustrato que tiene una composición en el mismo, en el que la composición comprende:

un metal;

un inhibidor de la agregación de metales; y

un agente que cambia de color;

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo.

El sustrato de la presente invención es útil en aplicaciones en las que es deseable la detección de microorganismos. El sustrato de la presente invención puede frotarse sobre un artículo (por ejemplo, una superficie) y se puede usar para detectar la presencia de microorganismos por medio de un cambio de color que surge de una interacción entre el agente que cambia de color, el metal y los sideróforos liberados por los microorganismos (por ejemplo, bacterias).

Como alternativa o adicionalmente, el sustrato de la presente invención puede ser útil en aplicaciones en las que es deseable la detección de ciertas sustancias químicas (por ejemplo, sustancias químicas ácidas o básicas).

La intensidad del cambio de color está relacionada con la cantidad de sideróforos, y de ese modo, relacionada con los niveles de bacterias. La intensidad del cambio de color está relacionada alternativa o adicionalmente con la cantidad de sustancias químicas presentes. Como resultado, un usuario del sustrato de la presente invención puede determinar el nivel de microorganismos y/o sustancias químicas presentes en el sustrato de la presente invención.

El soporte de sustrato puede ser un material no tejido, tal como un material fibroso (opcionalmente papel o tela).

El soporte de sustrato puede comprender celulosa, poliéster, lignina, proteína, acrílico, nailon, aramida, poliuretano, alginato, y/o mezclas de los mismos (tales como fibras lignocelulósicas). El soporte de sustrato puede comprender fibras de celulosa, poliéster, lignina y/o mezclas de las mismas (tales como fibras lignocelulósicas), opcionalmente en el que el soporte de sustrato comprende celulosa.

El soporte de sustrato puede comprender pulpa, lana, seda, yute, lino, ramio, sisal, bagazo, fibras de plátano, cáñamo, lino, pelo de camello, kenaf, y/o mezclas de los mismos.

El sustrato puede ser absorbente. El sustrato puede ser capaz de absorber al menos alrededor de 1 vez su peso (en base al peso total del sustrato) en líquido, tal como al menos alrededor de 2 veces su peso, tal como al menos alrededor de 3 veces su peso, tal como al menos alrededor de 5 veces su peso en líquido. El sustrato puede ser capaz de absorber entre alrededor de 1-10 veces su peso (en base al peso total del sustrato) en líquido, tal como entre alrededor de 2-8 veces su peso, tal como entre alrededor de 3-7 veces su peso en líquido.

El sustrato puede ser una toallita, tal como una toallita para superficies o una toallita personal (por ejemplo, para bebés); una toalla de papel; o un pañuelo desechable (tal como un pañuelo higiénico o facial). El sustrato puede ser una toallita para superficies.

La composición puede ser como se define anteriormente en el primer aspecto de la presente invención.

El sustrato se puede humedecer (es decir, con líquido). El sustrato se puede humedecer con agua. El sustrato se puede humedecer con alrededor de 0,1 a 10 veces su peso (en base al peso total del sustrato) de líquido, tal como alrededor de 0,25 a 7,5 veces su peso de líquido, tal como alrededor de 0,5 a 5 veces su peso de líquido, tal como alrededor de 1 a 5 veces su peso de líquido.

Según un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un marcador que comprende una membrana, envolviendo la membrana una composición y un soporte, comprendiendo la composición:

un metal, en la que el metal es hierro;

un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático; y

un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol,

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo; en el que la membrana es impermeable al agente que cambia de color para evitar que pase a través de ella, en el que la membrana es permeable a los sideróforos para permitir que pasen a través de ella y entren en contacto con el agente que cambia de color, en la que el metal y el inhibidor de agregación están presentes en una relación molar de alrededor de 1:0,5 a 30, y en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de alrededor de 1:1 a 20.

También se describe aquí, pero no se reivindica en la presente, un marcador que comprende una membrana, envolviendo la membrana una composición y un soporte, comprendiendo la composición:

un metal;

un inhibidor de la agregación de metales; y

un agente que cambia de color,

en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo; en el que la membrana es impermeable al agente que cambia de color para evitar que pase a través de ella, y en el que la membrana es permeable a los sideróforos para permitir que pasen a través de ella y entren en contacto con el agente que cambia de color.

El marcador de la presente invención se puede usar para indicar si los microbios (por ejemplo, bacterias) están presentes y/o están por encima de un cierto nivel. El marcador se puede usar en aplicaciones de alimentos y/o bebidas, para determinar si el alimento y/o la bebida son seguros o no para el consumo.

A modo de ejemplo, el marcador se puede proporcionar dentro de un recipiente sellado que contenga carne. Con el tiempo, las bacterias presentes en la carne se multiplicarán, y eventualmente la carne se volverá tóxica. A medida que las bacterias se multiplican, la cantidad de sideróforos presentes aumentará. Los sideróforos migrarán a través de la membrana, entrarán en contacto con el agente que cambia de color, secuestrarán el metal, y harán que se libere del agente que cambia de color. Una vez que la cantidad de sideróforos alcance un cierto nivel, esto provocará un cambio visible en el color del agente que cambia de color, indicando que la carne ya no es segura para comer.

La permeabilidad de la membrana evita que el agente que cambia de color se filtre fuera del marcador, lo que puede causar contaminación y/o decoloración (por ejemplo, de alimentos y/o bebidas que se pueden proporcionar cerca del marcador, tal como en un recipiente en el que se va a aplicar el marcador). Ciertos agentes que cambian de color pueden ser tóxicos, y por lo tanto puede ser deseable evitar el paso de esta manera para evitar que los materiales tóxicos lixivien del marcador (que luego pueden entrar en contacto con alimentos y/o bebidas cerca del marcador). Como alternativa o adicionalmente, ciertos agentes que cambian de color pueden causar otros efectos indeseables, por ejemplo tinción, cambios de sabor, etc., y por lo tanto, dicha permeabilidad de la membrana puede proporcionar ventajas a este respecto.

La permeabilidad de la membrana garantiza que los sideróforos (por ejemplo, a medida que son liberados por las bacterias presentes en los alimentos y/o bebidas proporcionados cerca del marcador) puedan atravesar la membrana para ponerse en contacto con el agente que cambia de color.

La membrana puede ser impermeable al metal y/o al inhibidor de la agregación de metales para evitar el paso a través de la misma. Al igual que con el agente que cambia de color, los metales y/o los inhibidores de la agregación de metales pueden causar de manera similar contaminación y/o decoloración.

El marcador puede estar configurado para aplicarse a un recipiente de comida y/o bebida (tal como mediante unión, por ejemplo adhesión, opcionalmente en forma de una pegatina, o sujetándolo de otro modo).

El marcador puede configurarse de manera que la membrana sea permeable para permitir el paso de los sideróforos a través de sólo una parte de la membrana, tal como una porción de la membrana para colocarla frente a un alimento y/o bebida, en los casos en que el marcador se aplique a un recipiente para alimentos y/o bebidas; y/o una porción de la membrana que recubre el soporte (permitiendo así el paso al soporte). El resto de la membrana puede sellarse

sustancialmente, evitando sustancialmente que los componentes de la composición y/o los materiales ambientales atraviesen la membrana.

La composición en el marcador puede ser como se define anteriormente en el primer aspecto de la invención.

La membrana puede ser sustancialmente transparente en el espectro visible.

La membrana puede ser una membrana de exclusión por tamaño; dimensionada opcionalmente para evitar el paso de especies (por ejemplo, uno o más componentes de la composición, tal como el agente que cambia de color), al tiempo que permite el paso de sideróforos.

Una membrana de exclusión por tamaño puede comprender poros que se dimensionan para permitir o restringir el paso de especies que tienen pesos moleculares de tamaños variables.

La membrana de exclusión por tamaño puede comprender poros dimensionados para evitar el paso de especies que tienen un peso molecular de alrededor de 1 kilodalton o más; opcionalmente alrededor de 2 kilodaltons o más; opcionalmente alrededor de 4 kilodaltons o más; opcionalmente alrededor de 6 kilodaltons o más; opcionalmente alrededor de 8 kilodaltons o más; opcionalmente alrededor de 10 kilodaltons o más; opcionalmente alrededor de 12 kilodaltons o más; opcionalmente alrededor de 15 kilodaltons o más. Se ha encontrado inesperadamente que las membranas de exclusión por tamaño con poros dimensionados para evitar el paso de componentes que tienen pesos por encima de los intervalos indicados, y en consecuencia para permitir el paso de componentes de menor peso, pueden no obstante bloquear tales componentes de menor peso (por ejemplo, el agente que cambia de color tal como CAS) para que no pasen a través de la membrana. Se apreciará que el uso de una membrana de exclusión por tamaño configurada para permitir el paso de especies de alto peso molecular significa que el tamaño de poro en esas membranas es relativamente grande. Se apreciará además que seleccionar una membrana de exclusión por tamaño con un tamaño de poro grande puede ser útil para facilitar el paso de los sideróforos a través de la membrana.

Sin desear estar limitados por la teoría, se entiende que la membrana de exclusión por tamaño puede impedir el paso de ciertas especies cargadas (por ejemplo, el agente que cambia de color, tal como CAS), en cierto modo independientemente del tamaño de poro de la misma. Las membranas cargadas pueden repeler co-iones que tienen la carga del mismo signo que la de la membrana mediante una fuerza de repulsión eléctrica. Una membrana cargada puede rechazar iones mucho más pequeños que los radios de los poros de la membrana, pero no moléculas de soluto que no portan carga eléctrica de un tamaño similar. Normalmente, las membranas están cargadas negativamente. Esto permite el transporte de sideróforos, que generalmente se supone que no tienen carga, pero bloquea el transporte de CAS, que tiene carga eléctrica negativa.

La membrana puede comprender celulosa y/o celulosa benzoilada.

El soporte puede proporcionar una estructura de soporte para contener los componentes de la composición.

El soporte puede estar desecado. Un soporte desecado puede ser útil para proporcionar un gradiente de concentración y promover así la migración de los sideróforos a través de la membrana. El soporte desecado puede proporcionar un mayor impulso para la absorción de agua y, por lo tanto, del sideróforo bacteriano. Esto puede dar una mayor área de captación para el marcador.

Adecuadamente, el soporte desecado puede tener un contenido de líquido (por ejemplo, agua) menor que alrededor de 20% en una base en peso; opcionalmente menor que alrededor de 15%; opcionalmente menor que alrededor de 10%; opcionalmente menor que alrededor de 5%; opcionalmente menor que alrededor de 2,5%; opcionalmente alrededor del 0%.

En aplicaciones que implican un soporte desecado, la composición puede aplicarse convenientemente al soporte como un líquido, y el soporte se puede desecar posteriormente.

El soporte se puede seleccionar de agar, alcohol polivinílico, cloruro de polivinilo, gelatina, celulosa, pectina, polímero de etileno-alcohol vínfico, poliuretano, poliestireno, geles de metoxil pectina, gel de fibra de trigo/almidón modificado, goma gelana acílica (opcionalmente una goma gelana con alto contenido de acilo, tal como Kelcogel® con alto contenido de acilo), un polisacárido sulfatado lineal (tal como carragenina).

El marcador puede ser para uso con alimentos y/o bebidas. Los artículos de alimentos o bebidas tienen requisitos particulares desde una perspectiva de salud y seguridad, particularmente con respecto a la toxicidad. Por lo tanto, la idoneidad para el uso en este sentido debe entenderse como que el marcador cumple con tales requisitos.

También se describe aquí, pero no se reivindica en la presente, un recipiente para alimentos y/o bebidas que comprende un marcador según el tercer aspecto.

Las características descritas anteriormente con respecto al primer, segundo y/o tercer aspecto de la presente invención también representan características de cada uno de los demás aspectos de la presente invención (y *vice versa*), sujeto a una incompatibilidad técnica que impediría tal combinación de características. Además, será evidente para el experto en la técnica que las ventajas expuestas anteriormente con respecto al primer, segundo y/o tercer aspecto de la presente invención también son ofrecidas por cada uno de los demás aspectos de la presente invención (de nuevo y *vice versa*).

La invención se describirá ahora con más detalle, sólo a modo de ejemplo, con referencia a los ejemplos y la figura que se acompañan, en los que:

La Figura 1 muestra un espectro de emisión para CAS a pH variable.

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Se prepararon disoluciones madre de composiciones según la presente invención mezclando las siguientes disoluciones:

Disolución madre A:

- ☐ 50 ml de una disolución que comprende 0,06 g de CAS en 50 ml de H₂O;
- ☐ 9 ml de una disolución que comprende 0,0027 g de FeCl₃ hidratado (FeCl₃·6H₂O) en 10 ml de HCl 10 mM;
- ☐ 8 ml de una disolución que comprende 0,0146 g de HDTMA en 8 ml de H₂O; y
- ☐ 33 ml de una disolución que comprende 2 g de Tween® 80 en 33 ml de H₂O;

Disolución madre B:

- ☐ 50 ml de una disolución que comprende 0,06 g de CAS en 50 ml de H₂O;
- ☐ 9 ml de una disolución que comprende 0,0081 g de FeCl₃ hidratado (FeCl₃·6H₂O) en 10 ml de HCl 10 mM;
- ☐ 8 ml de una disolución que comprende 0,0146 g de HDTMA en 8 ml de H₂O; y
- ☐ 33 ml de una disolución que comprende 2 g de Tween® 80 en 33 ml de H₂O;

Se diluyeron 10 ml de cada disolución madre con 90 ml de agua para proporcionar composiciones para uso como spray de limpieza.

Se diluyeron 10 ml de cada disolución madre con 10 ml de agua para proporcionar composiciones para uso en un marcador. Las composiciones se pueden añadir al marcador mezclándolas con el soporte (por ejemplo, agar) a una temperatura de alrededor de 40°C.

Ejemplo 2

Se realizó una serie de ensayos para investigar el efecto de coloración del aumento de la relación molar de hierro con respecto a CAS S (FeCl₃ hidratado (FeCl₃·6H₂O) a CAS S). Los resultados fueron los siguientes:

- ☐ 1:0,0099 [1000x] - Azul
- ☐ 1:0,099 [100x] - Azul
- ☐ 1:0,485 [50x] - Azul
- ☐ 1:0,99 [10x] - Azul
- ☐ 1:9,9 [1x] - Azul
- ☐ 1:19,8[0,5x] - Rojo
- ☐ 1:99 [0,1x] - Rojo
- ☐ 1:198 [0,05x] - Rojo

Se obtuvo un color azul intenso con una relación de 1:3,3.

Ejemplo 3

La disolución madre B se diluyó por un factor de dos para producir una disolución para el ensayo de visibilidad. La disolución se realizó entonces a las siguientes diluciones, con la visibilidad cualitativa resultante:

- ☐ 1x - azul oscuro, se ven muy pocos cambios a naranja con bacterias
- ☐ 2x - azul oscuro, todavía es difícil ver cambios a naranja con bacterias
- ☐ 5x - azul oscuro a medio, añadiendo bacterias, puede ver visiblemente un gris y naranja
- ☐ 10x - azul medio, la mezcla con bacterias muestra un color naranja transparente
- ☐ 20x - azul casi transparente, color naranja difícil de ver debido a la alta transparencia
- ☐ 50x - casi completamente transparente con un toque azul

El ensayo se realizó en un tubo falcon de 50 ml, con cada dilución a un volumen de 10 ml. Se añadió a cada dilución 1 ml de bacterias OD 1 (células BL21 (DE3) de *E-coli* y cultivadas hasta una densidad óptica de 1 según se determina usando UV-VIS) en agua, hasta un volumen final de 11 ml. Las diluciones se colocaron a un volumen de 1 ml en botes de pesaje blancos.

Ejemplo 4

El ensayo de membrana se realizó con un tubo de diálisis de MWCO de 10 kDa. El tubo de diálisis se cortó hasta 10 cm de longitud para formar un cilindro de tubo abierto en ambos extremos. Después de atar un extremo del tubo de diálisis, se añadió la formulación hasta un volumen total de 5 ml, y entonces se ató el segundo extremo para evitar cualquier fuga de la formulación desde los extremos del tubo.

La membrana con la formulación se puso en leche a temperatura ambiente durante 24 horas. Los resultados se compararon con la adición de 5 ml de volumen total directamente a la leche, y también se compararon con respecto a un control que comprendía la membrana llena con 5 ml de agua. No se produjo ningún cambio de color observable en la leche cuando se usó la membrana. La formulación dentro de la membrana cambió de color de azul a naranja, lo que indicó que aún era posible la detección de sideróforos.

Ejemplo 5

A continuación se proporciona una composición ejemplar adecuada para su inclusión en un sustrato, tal como una toallita para superficies.

	Peso (g)	Masa molar	Moles
Cromazurol S	0,03	605,28	4,96E-04
cloruro de hierro (III) hexahidratado	0,00135	270,3	4,99E-05
bromuro de (1-hexadecil)trimetilamonio	0,0365	364,45	1,00E-03

0,0008475 g de la composición se mezclaron con 12,25 ml de agua, y después se doparon en una toallita de celulosa de 10x10 cm.

Ejemplo 6

Se realizó un experimento para demostrar el efecto del pH sobre el color de las composiciones según la presente invención. Se preparó una serie de composiciones que tienen un pH entre 0,8 y 12,8, según el siguiente procedimiento.

Se prepararon disoluciones preparatorias con un pH entre 0,8 y 6,8 a partir de una disolución madre que comprendía ácido clorhídrico (1 ml, 37%) en agua destilada (50 ml), y entonces se diluyó con suficiente agua destilada adicional para producir disoluciones que tienen un nivel de pH 0,3 unidades menor que la prevista para las composiciones finales para el ensayo (por ejemplo, cuando se pretendía que la composición final para el ensayo tuviera un pH de 1,8, entonces la disolución preparatoria se preparó diluyendo la disolución madre con más agua destilada hasta un pH de 1,5).

Se prepararon disoluciones preparatorias con un pH entre 7,8 y 12,8 a partir de una disolución madre que comprendía hidróxido de sodio (0,4 g) en agua destilada (50 ml), y entonces se diluyó con más agua destilada para producir disoluciones que tienen un nivel de pH 0,3 unidades mayor que el previsto para las composiciones finales para el ensayo.

5

A continuación, las disoluciones preparatorias se diluyeron 1:1 (volumen) con una composición mezclada con agua preparada según el Ejemplo 5, para producir composiciones finales para el ensayo que tenían el pH deseado.

Se observó que las composiciones finales (sin amortiguar) para el ensayo tenían la coloración que se indica en la siguiente tabla.

10

pH	Color
0,8	Rojo
1,8	Azul
2,8	Azul
3,8	Azul
4,8	Azul
5,8	Azul
6,8	Azul
7,8	Azul
8,8	Azul
9,8	Azul
10,8	Naranja
11,8	Amarillo
12,8	Verde

Se realizó un estudio de absorbancia de luz (espectrofotómetro Nanodrop 2000, 0,1 mm de paso óptico) en las composiciones finales para el ensayo para determinar la absorbancia de CAS a 458 nm ($\lambda_{\max}$ absorción para CAS S) a pH variable entre 1 y 13. Los resultados se muestran en la Figura 1.

15

REIVINDICACIONES

1. Una composición, que comprende:

- 5 un metal, en la que el metal es hierro;
 un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático;
 un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol;
 en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse
 10 y/o liberarse del mismo,
 en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de 1:1 a 20, y
 en la que el metal y el inhibidor de la agregación están presentes en una relación molar de 1:0,5 a 30.

2. La composición según la reivindicación 1, en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de:

- (a) 1:2 a 13; opcionalmente 1:2 a 11,5; opcionalmente 1:2 a 8; opcionalmente 1:2 a 5; opcionalmente 1:2 a 4; opcionalmente 1:3,3; o
 20 (b) 1:2,5 a 17,5; opcionalmente 1:5 a 15; opcionalmente 1:7,5 a 12,5 opcionalmente 1:10.

3. La composición según la reivindicación 1 o 2, en la que el metal y el inhibidor de la agregación están presentes en una relación molar de:

- (a) 1:0,5 a 7; opcionalmente 1:0,75 a 6; opcionalmente 1:0,75 a 5; opcionalmente 1:0,75 a 3; opcionalmente 1:1 a 2; opcionalmente 1:1 a 1,5; opcionalmente 1:1,3; o
 25 (b) 1:0,75 a 27,5; opcionalmente 1:0,75 a 25; opcionalmente 1:5 a 25; opcionalmente 1:10 a 25; opcionalmente 1:15 a 25; opcionalmente 1:17,5 a 22,5; opcionalmente 1:20.

4. La composición según cualquier reivindicación anterior, en la que la composición es pulverizable, que comprende un vehículo líquido, opcionalmente en la que:

- (a) el vehículo líquido es agua; y/o
 (b) el vehículo líquido está presente a un nivel de 50 ml a 1.000 ml por 0,1 g de los componentes metal, inhibidor de la agregación de metales y agente que cambia de color; opcionalmente 100 ml a 800 ml por 0,1 g; opcionalmente 125 ml a 550 ml por 0,1 g opcionalmente 150 ml a 250 ml por 0,1 g.
 35

5. La composición según cualquier reivindicación anterior, que comprende además un tensioactivo, opcionalmente en la que:

- (a) el metal y el tensioactivo están presentes en una relación en peso de 1:500 a 7.000; opcionalmente 1:750 a 4.500; opcionalmente 1:750 a 3.000; opcionalmente 1:1.000 a 1.500 opcionalmente 1:1.200; y/o
 (b) el tensioactivo es bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA), un polisorbato (opcionalmente un polisorbato 80 o polisorbato 20), un etoxilato de fenol alifático (tal como Triton X-100; opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo; opcionalmente en el que el etoxilato de fenol alifático es etoxilato de octilfenol), una sulfobetaina alifática (opcionalmente en la que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en la que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 8 a 16 átomos de carbono; opcionalmente en la que la sulfobetaina alifática es lauril sulfobetaina), un bromuro de trimetilamonio alifático (opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en el que el grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 10 a 22 átomos de carbono, opcionalmente en el que el bromuro de trimetilamonio alifático es bromuro de miristiltrimetilamonio o bromuro de trimetiloctadecilamonio), opcionalmente en la que el tensioactivo es bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA); y/o
 45 (c) el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de 1:1 a 15, opcionalmente 1:2 a 13; opcionalmente 1:2 a 11,5; opcionalmente 1:2 a 8 opcionalmente 1:2 a 5; opcionalmente 1:2 a 4; opcionalmente 1:3,3.
 50
 55

6. La composición según cualquier reivindicación anterior, en la que el metal es hierro (III); opcionalmente FeCl_3 , opcionalmente FeCl_3 hidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

7. La composición según cualquier reivindicación anterior, en la que el agente que cambia de color es cromazurol B.

8. La composición según cualquier reivindicación anterior, en la que el agente que cambia de color es cromazurol S (CAS).

9. La composición según cualquier reivindicación anterior, en la que el inhibidor de la agregación es un bromuro de trimetilamonio alifático; opcionalmente en el que el grupo alifático es un grupo alquilo, opcionalmente en el que el

grupo alifático tiene una longitud de cadena lineal de 12 a 22 átomos de carbono; tal como 14 a 18 átomos de carbono, opcionalmente en el que el inhibidor de la agregación es bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HDTMA).

10. Un sustrato que comprende un soporte de sustrato que tiene una composición en el mismo, en el que la composición comprende:

un metal, en la que el metal es hierro;
un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático; y
un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol;
en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo;
en la que el metal y el inhibidor de la agregación están presentes en una relación molar de 1:0,5 a 30; y
en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de 1:1 a 20.

11. El sustrato según la reivindicación 10, en el que el soporte de sustrato:

(a) es un material no tejido, opcionalmente un material fibroso, tal como papel o tela; y/o
(b) comprende celulosa, poliéster, lignina, proteína, acrílico, nailon, aramida, poliuretano, alginato, y/o mezclas de los mismos (tales como fibras lignocelulósicas); opcionalmente en el que el soporte de sustrato comprende celulosa, poliéster, lignina, y/o mezclas de los mismos (tales como fibras lignocelulósicas), opcionalmente en el que el soporte de sustrato comprende celulosa; y/o
(c) comprende pulpa, lana, seda, yute, lino, ramio, sisal, bagazo, plátano, cáñamo, lino, pelo de camello, kenaf, y/o mezclas de los mismos.

12. El sustrato según la reivindicación 10 u 11, en el que el soporte de sustrato:

(a) es absorbente; y/o
(b) es una toallita, tal como una toallita para superficies o una toallita personal (por ejemplo, para bebés); una toalla de papel; un papel tisú (tal como un papel higiénico o tisú facial), opcionalmente en el que el sustrato es una toallita para superficies; y/o
(c) se humedece.

13. El sustrato según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que la composición es según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

14. Un marcador que comprende una membrana, envolviendo la membrana una composición y un soporte, comprendiendo la composición:

un metal, en la que el metal es hierro;
un inhibidor de la agregación de metales, en la que el inhibidor de la agregación de metales es un bromuro de trimetilamonio alifático; y
un agente que cambia de color, en la que el agente que cambia de color es un cromazurol,
en la que el metal se puede unir al agente que cambia de color para proporcionar un cambio de color al unirse y/o liberarse del mismo; en el que la membrana es impermeable al agente que cambia de color para evitar que pase a través de ella, en el que la membrana es permeable a los sideróforos para permitir que pasen a través de ella y entren en contacto con el agente que cambia de color, en la que el metal y el inhibidor de agregación están presentes en una relación molar de 1:0,5 a 30, y en la que el metal y el agente que cambia de color están presentes en una relación molar de 1:1 a 20.

15. El marcador según la reivindicación 14, en el que:

(a) la composición es según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9; y/o
(b) la membrana puede ser impermeable al metal y/o al inhibidor de la agregación de metales, para evitar el paso a través de la misma; y/o
(c) la membrana es una membrana de exclusión por tamaño; opcionalmente dimensionada para evitar el paso de uno o más componentes de la composición (tal como el agente que cambia de color); y/o
(d) la membrana de exclusión por tamaño está dimensionada para evitar el paso de especies de peso molecular de 1 kilodalton o más; opcionalmente 2 kilodaltons o más; opcionalmente 4 kilodaltons o más; opcionalmente 6 kilodaltons o más; opcionalmente 8 kilodaltons o más; opcionalmente 10 kilodaltons o más; opcionalmente 12 kilodaltons o más; opcionalmente 15 kilodaltons o más; y/o
(e) la membrana comprende celulosa o celulosa benzoilada; y/o
(f) el soporte está desecado; y/o
(g) el soporte se selecciona de agar, alcohol polivinílico, cloruro de polivinilo, gelatina, celulosa, pectina, polímero de etileno-alcohol vinílico, poliuretano, poliestireno, geles de metoxil pectina, gel de fibra de

trigo/almidón modificado, goma gelana acílica (opcionalmente una goma gelana con alto contenido de acilo), un polisacárido sulfatado lineal (tal como carragenina); y/o
(h) el marcador es para uso con alimentos y/o bebidas.

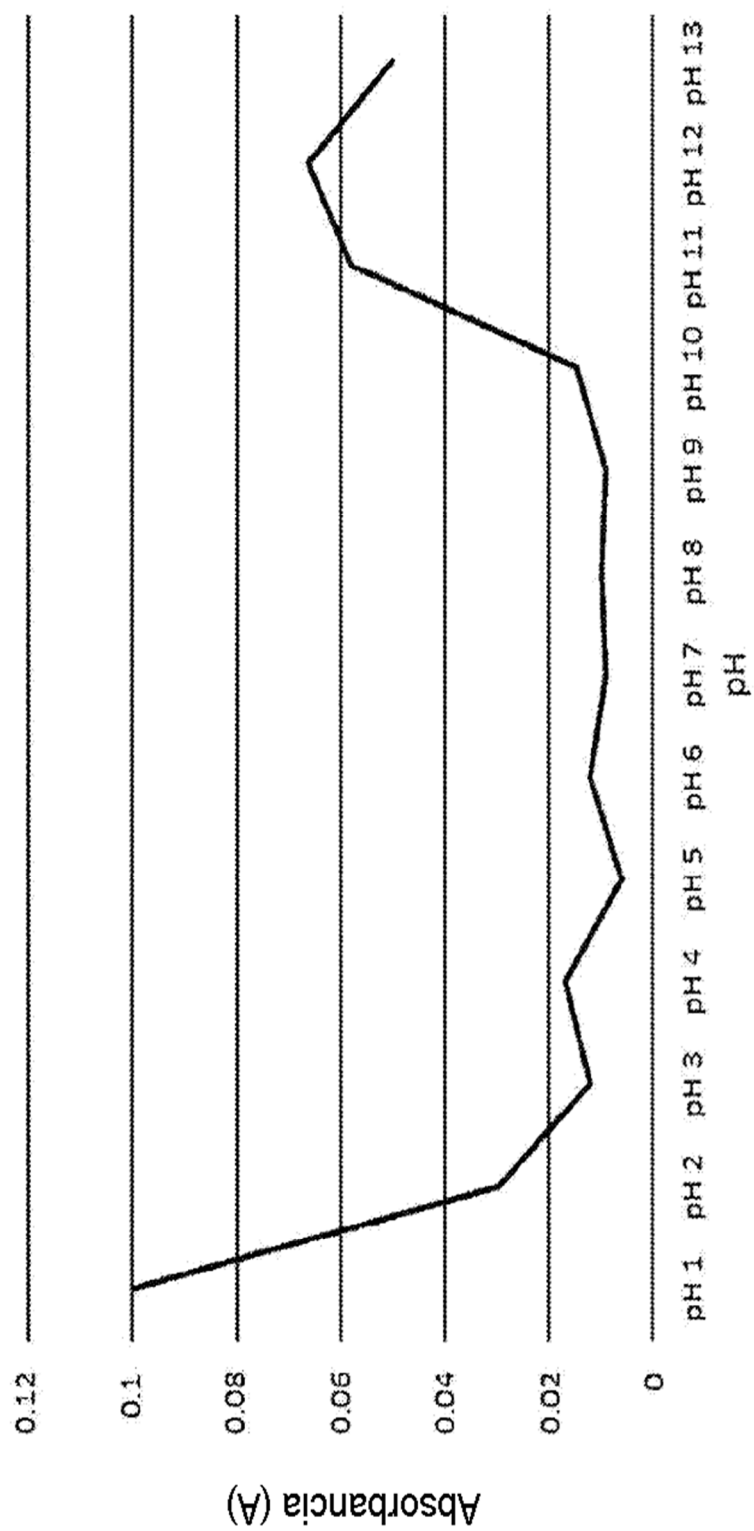


Figura 1