

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 946 809**

(51) Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)
G01N 21/75 (2006.01)
G01N 21/76 (2006.01)
G01N 21/59 (2006.01)
G01N 21/77 (2006.01)
G01N 21/78 (2006.01)
G01N 33/18 (2006.01)
G01N 21/80 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.08.2016 PCT/US2016/045420**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **09.02.2017 WO17024070**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.08.2016 E 16833831 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023 EP 3332244**

(54) Título: **Aparato, sistema y método para el ensayo de contaminantes en agua**

(30) Prioridad:

03.08.2015 US 201562200484 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.07.2023

(73) Titular/es:

**FIELD WATER TESTING, LLC (100.0%)
2347 South Orchard Place
Bountiful, Utah 84010, US**

(72) Inventor/es:

**LLOYD, CHRISTOPHER y
DUNCAN, ANDREW**

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 946 809 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

Aparato, sistema y método para el ensayo de contaminantes en agua

Antecedentes

- La detección de analitos en un líquido (por ejemplo, contaminantes en agua residual) tiene numerosas aplicaciones útiles. Por ejemplo, la detección de contaminantes en la fabricación es importante cuando la calidad del agua tiene un impacto directo sobre los materiales fabricados y cuando se someten los vertidos de agua a detección en lo que se refiere al cumplimiento de permisos. En agricultura, el agua que se destina previamente a eliminación mediante inyección se puede someter a detección con vistas a su idoneidad para su uso como agua de riego en cultivos. Con vistas a la capacidad de detección y control rápidos de macro y micro minerales de importancia alimentaria, es posible evaluar con detalle los programas de Operaciones de Alimentación Animal Concentrada ("CAFO") con el fin de garantizar una producción óptima con mínima generación de residuos. La gestión de agua y agua residual también resulta importante desde el punto de vista de la industria y las autoridades normativas implicadas en la producción y extracción de energía.
- Adicionalmente, la revolución de los métodos de fractura hidráulica y perforación horizontal ha hecho comercialmente rentables el petróleo y el gas, antes inaccesibles. Estos métodos dependen del uso y gestión de grandes cantidades de agua. La capacidad para determinar de forma rápida y precisa la calidad de agua resulta crucial para las actividades modernas de perforación, fractura y procesado de corrientes residuales en campos petrolíferos. Específicamente, es necesario la determinación de los constituyentes en agua por varios motivos:
1. Es necesario determinar la calidad de agua de partida de los acuíferos naturales que rodean al área de perforación potencial antes de que tenga lugar cualquier actividad de perforación, así como someter a control durante todo el proceso de perforación y producción, con el fin de garantizar que no se produzca contaminación cruzada de los recursos hídricos.
 2. Los metales (y otros iones inorgánicos) y componentes orgánicos han de ser compatibles con las sustancias químicas de los lodos de perforación, para optimizar los programas de perforación, reducir el coste de mantenimiento y equipamiento y cumplir los estándares ambientales durante las actividades de perforación a través de los acuíferos.
 3. Es preciso vigilar la sal, iones metálicos, aniones (especialmente boratos) y las sustancias orgánicas, para optimizar las sustancias químicas en forma de gel durante las operaciones de fractura. (Etapas de fractura deficientes provocadas por calidad de agua no gestionada pueden suponer un coste de millones de dólares durante el período de vida de un pozo petrolífero).
 4. Dependiendo de la formación geológica, se recuperan entre 3 y 11 barriles de agua por cada barril de petróleo - este agua residual se debe recoger, almacenar y eliminar de forma apropiada o reutilizar de manera óptima. La determinación exacta de metales, aniones, microorganismos y componentes orgánicos (habitualmente procedentes de la formación geológica) que normalmente están presentes, resulta crítica desde el punto de vista de la mezcla de corrientes residuales, reducción de mantenimiento debido a incrustaciones y eliminación de la corrosión de la producción del campo petrolífero y los activos de transporte y almacenamiento de residuos.
 5. La detección de componentes de agua resulta crítica para EOR (recuperación mejorada del campo petrolífero), para maximizar la recuperación de hidrocarburos y evitar el daño a la formación (especialmente cuando se generan aguas residuales y se utilizan flujos de retorno de las mismas).
- La detección crítica de agua normalmente se logra a través de una mezcla de ensayos de laboratorio certificados (para el desarrollo químico inicial del campo petrolífero y las certificaciones ambientales) y ensayos in-situ para las operaciones y gestión de aguas residuales. Los ensayos químicos in-situ en el campo petrolífero a menudo se basan en estuches e instrumentos que originalmente están desarrollados para aplicaciones de aguas municipales y aguas de pozo y adolecen de los siguientes problemas:
1. La mayoría de los estuches presentan un intervalo dinámico limitado que requiere diluciones tediosas y que se traducen en una pérdida de precisión.
 2. Muchos estuches son para valoración y precisan de cierto grado de pericia y experiencia para la obtención de resultados fiables (Incluso una vez adquirida la experiencia para llevar a cabo la prueba, los ensayos presentan problemas de exactitud debido a la variabilidad que caracteriza a los métodos cuantagotas utilizados).
 3. Durante el tiempo necesario para el ensayo exacto de contaminación cruzada fuera de las instalaciones se puede producir un impacto sustancial sobre los recursos de agua dulce.
 4. Los estuches para ensayo químico también consumen una cantidad de tiempo considerable – las diluciones, la realización de los ensayos y las tareas de limpieza entre ensayos con frecuencia requieren un tiempo crítico (especialmente durante las operaciones de fractura cuando la velocidad de análisis puede evitar etapas de

fractura fallidas).

- 5 5. Los métodos desarrollados para los acuíferos de agua potable pueden presentar interferencias que se hacen presentes en los acuíferos de campos petrolíferos (dando lugar a una pérdida de ingresos debida a resultados de ensayo de agua inexacts o nulos). Los métodos desarrollados para el control de pH presentan problemas que los hacen inexacts cuando la conductividad es extremadamente baja o moderadamente elevada.
6. Los estuches de ensayo químico que emplean instrumentos requieren formación especializada y manipulación tediosa de reactivos, así como etapas de calibración para un funcionamiento apropiado.

La detección de agua rápida, sensible e in-situ resulta también crítica para garantizar que los vertidos de agua residual cumplen con los límites contractuales y ambientales en cuanto a los requisitos de vertido en el ámbito agrícola, municipal e industrial, así como también en materia de etapa crítica en la gestión de aguas residuales.

10 El documento US 2003/058450 A1 describe un instrumento para someter a ensayo características de un fluido que incorpora un vial y un receptáculo. El vial define una cámara destinada a albergar una muestra de fluido y tiene una etapa para sellar el fluido en su interior. El receptáculo define un rebaje para albergar el vial. Múltiples diodos de emisión de luz y detectores fotovoltaicos se encuentran dispuestos en diferentes planos meridionales en el interior 15 del receptáculo. Los planos meridionales intersecan cada uno aproximadamente en el eje central de la cámara, cuando se coloca el vial dentro del rebaje. La modulación de los diodos de emisión de luz y el ajuste fino de la electrónica de proceso permiten la evaluación simultánea de características de la muestra tales como transmitancia espectral, turbidez y fluorescencia. El documento US 2002/001539 A1 describe un dispositivo y métodos para un ensayo rápido de quimioluminiscencia de superficies, con el fin de detectar la presencia de contaminación 20 microbiana. La reacción de quimioluminiscencia que es la fuente de la señal analítica en el dispositivo y el método de ensayo divulgados preferentemente está basada en un sistema de luciferasa/luciferina. El documento US 2013/330245 A1 describe un aparato de cubeta que incluye: una tapa y un cuerpo, incluyendo el cuerpo un canal para fluido dispuesto en el interior del mismo; e incluyendo la etapa al menos una abertura alineada con una parte 25 del canal para fluido, proporcionando de este modo acceso al canal para fluido en el cuerpo. El documento US 5 731 212 A divulga un dispositivo de ensayo basado en cubeta para su uso en el ensayo o análisis de una muestra de fluido. La cubeta se proporciona de manera que define al menos un conducto, en el que se introduce la muestra de fluido en el interior de diversos conductos. Se disponen los reactivos en el interior de los conductos, destinados a la mezcla con la muestra de fluido. Preferentemente, el conducto es transparente. La muestra de fluido 30 se lleva a un punto de la cubeta en el que se encuentra dispuesta bajo un detector. Se usa el detector para medir una característica de la muestra de fluido, tal como la densidad óptica, nefelometría, fluorescencia, luminiscencia química, fotoemisiones o similares. Conociendo los reactivos mezclados con la muestra y midiendo una o más características de la muestra de fluido, es posible analizar de forma exacta la muestra desde el punto de vista de numerosos ensayos.

Sumario

35 La presente solicitud se ha desarrollado en respuesta al presente estado de la técnica y, en particular, en respuesta a los inconvenientes que presenta el ensayo de líquidos para cuantificar un analito, que aún están por solucionar de forma completa por medio de las técnicas actualmente disponibles.

Según un aspecto, la invención va destinada a un sistema para detectar y cuantificar un analito en un líquido usando un ensayo químico, según la reivindicación 1.

40 Según otro aspecto, la invención va destinada a un método para detectar y cuantificar un analito en un líquido usando el sistema de la reivindicación 1, según la reivindicación 15.

Las realizaciones preferidas se definen en las reivindicaciones dependientes.

45 En la siguiente descripción, se proporcionan numerosos detalles específicos para conferir una comprensión global de las realizaciones de la materia objetivo de la presente divulgación. El experto en la técnica relevante reconocerá que la presente divulgación se puede llevar a la práctica sin una o más de las características, detalles, componentes, materiales y/o métodos específicos descritos en la presente memoria.

Las características y ventajas de la presente divulgación resultarán más evidentes a partir de la siguiente descripción.

Breve descripción de los dibujos

50 Con vistas a una fácil comprensión de las ventajas de la materia objetivo de la presente divulgación, se aporta una descripción más particular de la materia objetivo haciendo referencia a realizaciones específicas que se ilustran en los dibujos adjuntos. Comprendiendo que estos dibujos muestran únicamente realizaciones habituales de la materia objetivo de la presente divulgación, se describe y explica la materia objetivo con especificidad y detalle adicionales a través del uso de los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 es un diagrama de flujo esquemático de un método para el ensayo de agua, según una realización;

La Figura 2A es una vista en perspectiva de un vial que contiene un volumen de agua destinado a ensayo, según una realización;

La Figura 2B es una vista en corte transversal del vial de la Figura 2A, según una realización;

La Figura 2C es una vista en perspectiva de un dispositivo de espectrómetro, según una realización;

5 La Figura 3 es un diagrama de circuito esquemático para la operación del dispositivo de espectrómetro, según una realización;

La Figura 4 es un diagrama que muestra la absorbancia (longitud de onda de 770 nm) como función del porcentaje en sólidos en agua residual para diversos tamaños de microesferas de látex, según una realización;

10 La Figura 5A es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la longitud de onda para diversas concentraciones de hierro, según una realización;

La Figura 5B es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la concentración de hierro para diversas longitudes de onda, según una realización;

La Figura 6A es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la longitud de onda para diversas cantidades de sulfato, según una realización;

15 La Figura 6B es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la concentración de sulfato para diversas longitudes de onda, según una realización;

La Figura 7A es un diagrama que muestra la intensidad de fluorescencia como función de la longitud de onda para diversas cantidades de cloruro, según una realización; y

20 La Figura 7B es un diagrama que muestra la relación de fluorescencia de agua pura con respecto a agua con cloruro como función de la concentración de cloruro; y

La Figura 8 es un diagrama esquemático de una realización de un sistema para detectar y cuantificar un analito en un líquido.

Descripción detallada

25 La presente divulgación se ha desarrollado en respuesta al presente estado de la técnica en los procedimientos de ensayo de agua y otros fluidos. Por consiguiente, la presente divulgación se ha desarrollado para proporcionar un sistema y un método de ensayo de contaminantes en agua y otros líquidos que soluciona algunos o todos de los inconvenientes de la técnica anterior.

En la siguiente descripción, se proporcionan numerosos detalles específicos para conferir una comprensión profunda de las realizaciones de la materia objetivo de la presente divulgación.

30 Diversas realizaciones de la presente invención permiten el ensayo de analitos en muestras de agua de forma rápida en muy pocas etapas, con escasa necesidad de formación y sin necesidad alguna de reactivos líquidos susceptibles de reacción o lábiles. La detección de los analitos se logra por medio de ensayo cromogénico o de fluorescencia, iniciado por medio de reconstitución de viales pre-dosificados que contienen reactivos sólidos o liofilizados por congelación con la muestra, de manera que el analito detectado se cuantifica a través del uso de cromóforos de

35 absorción o fluorescencia generados por medio de reacción con el analito y tal y como se cuantifica por medio de un instrumento de detección capaz de convertir las señales de luz detectada en señales electrónicas. En algunas realizaciones, el analito reacciona con reactivos proporcionados en un vial pre-dosificado, determinando dicho vial pre-dosificado qué analito en particular es objeto de detección y cuantificación. Otro ejemplo de la invención emplea el ojo humano frente a un diagrama de comparación para cuantificar el cromóforo en la muestra. En otro ejemplo de

40 la presente invención, se utiliza una imagen fotográfica del vial de ensayo y se hace uso de comparación con valores de color conocidos para cuantificar el cromóforo (y con ello el analito) de la muestra. Algunas realizaciones emplean las ventajas de viales pre-dosificado y secos.

45 La Figura 1 muestra un diagrama 100 que ilustra las etapas y procesos necesarios para poner en práctica una realización de la presente invención. En la etapa 1, se usa una cantidad específica de muestra que incluye un analito para reconstituir el vial de muestra que contiene sustancias químicas secas específicas para la detección y cuantificación del analito en cuestión. Se mezcla el vial de muestra para disolver por completo el reactivo seco en la etapa 2. En la etapa 3, se coloca el vial reconstituido en una cámara óptica 824 (véase, por ejemplo, la figura 8) de un dispositivo de detección capaz de determinar una cantidad de luz transmitida a través del mismo, dispersada y emitida debido a la fluorescencia. Para cada fuente de luz, la luz es frecuencia modulada y que pasa al interior del vial de muestra. La detección de la intensidad de luz transmitida se logra usando fotodetectores directamente en la trayectoria de la fuente de luz respectiva sobre el otro lado del vial de muestra. La detección de la luz dispersada y fluorescente se logra usando un fotodetector con ángulo recto con respecto al vial de muestra. La amplificación seguida de conversión analógico-en-digital y desmodulación convierte la señal detectada en una señal digital, que se

usa para cuantificar el analito en cuestión. La reconstitución, mezcla y colocación de la muestra mezclada se precisa únicamente una vez por muestra, mientras que la modulación de frecuencia, amplificación y desmodulación de cada una de las señales de luz dispersada y luz transmitida se precisa para cada fuente de luz utilizada.

- 5 Las Figuras 2A y 2B muestran además la relación mecánica de una fuente de luz dirigida al interior de la muestra (1), luz transmitida (2) y luz dispersada y de fluorescencia (3) con respecto al vial de muestra (vistas tanto lateral como superior). Se usan fuentes de luz múltiples con diversas longitudes de onda que se deben dirigir a un fotodetector opuesto a la cámara óptica para la detección de luz transmitida (véase, por ejemplo, fotodetector 220) y un fotodetector adicional en ángulo recto con respecto al fotodetector de transmisión para la detección de señales de luz dispersada y de fluorescencia (véase, por ejemplo, fotodetector 222). La realización ilustrada en la figura 2C
10 muestra un conjunto mecánico que permite múltiples fuentes 202, 204, 206 de luz láser dirigidas con diferentes ángulos, para impactar sobre un área activa de un fotodetector individual opuesto a las fuentes; se puede apreciar la abertura 208 para el fotodetector adicional usado para detectar la fluorescencia y la dispersión. En la invención, la colocación de todas las fuentes de luz con un ángulo con respecto al detector individual opuesto permite la detección tanto de transmisión como de fluorescencia y la dispersión con únicamente dos fotodetectores, con tal de que la
15 fuente de luz se module por separado.

La Figura 3 muestra el diagrama de circuito de cómo se convierte la luz modulada de frecuencia en una señal eléctrica mediante el uso de un detector fotosensible, cuya señal se amplifica, a continuación se desmodula para producir una señal DC que se mide por medio de un convertidor de señal analógica en digital. En algunas realizaciones, la desmodulación se logra usando un desmodulador equilibrado configurado como amplificador de bloqueo.

- 20 La Figura 4 muestra la absorbancia a 770 nm en agua con cantidades variables y tamaños (\bullet 0,202 μm , \diamond 0,548 μm y Δ 1,053 μm) de microesferas de látex. Ésta muestra que la cantidad de absorbancia debida a dispersión se puede predecir para una amplia diversidad de tamaños de partícula normalmente observados en el agua residual de retroflujo de fractura hidráulica.

- 25 La Figura 5A es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la longitud de onda para diversas concentraciones de hierro. La Figura 5B es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la concentración de hierro para diversas longitudes de onda.

- 30 Las Figuras 5A y 5B muestran los espectros de absorbancia (A) de la reacción de 1,10-fenantrolina con cantidades variables de hierro. (A medida que aumenta la cantidad de hierro presente en la muestra, también lo hace la absorbancia a partir del cromóforo generado presente). Se muestra el efecto de hierro total en la muestra sobre las absorbancias calculadas a partir de las transmisiones de 460 nm (\bullet) y 525 nm (\diamond) y 770 nm (Δ) en una realización de la invención. Los valores calculados de absorbancia a 460 y 525 nm resultan útiles para determinar cuánto cromóforo está presente; el valor de absorbancia calculado a 770 nm resulta insensible al cromóforo, pero se puede usar para predecir la contribución a 460 y 525 nm de la absorbancia calculada a partir de la dispersión en la muestra.

- 35 La Figura 6A es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la longitud de onda para diversas cantidades de sulfato. La Figura 6B es un diagrama que muestra la absorbancia como función de la concentración de sulfato para diversas longitudes de onda.

- 40 Las Figuras 6A y 6B muestran los espectros de absorbancia (A) de la reacción de bario con cantidades variables de sulfato. (A medida que aumenta la cantidad de sulfato presente en la muestra, también lo hace la absorbancia debido a la dispersión a partir de los sólidos generados presentes). Se muestra efecto de sulfato en la muestra sobre las absorbancias calculadas a partir de las transmisiones de 600 nm (\diamond) y 525 nm (Δ) en una realización de la invención.

45 La Figura 7A es un diagrama que muestra la intensidad de fluorescencia como función de la longitud de onda para diversas cantidades de cloruro. La Figura 7B es un diagrama que muestra la relación de fluorescencia de agua pura con respecto a agua con cloruro, como función de la concentración de cloruro.

- Las Figuras 7A y 7B muestran los espectros de fluorescencia (A) de la interacción de quinina tamponada con cantidades variables de cloruro. (A medida que aumenta la cantidad de cloro presente en la muestra, la fluorescencia queda inactivada). B muestra el efecto de cloruro en la muestra sobre la relación calculada de la fluorescencia procedente de agua pura (F0) con respecto a muestra (F) tras excitación con luz ultravioleta (\bullet).

- 50 Las realizaciones de la presente invención describen un método y un sistema. En referencia a la Figura 8, el sistema 800 se puede diseñar para poner en práctica las realizaciones del método, para la detección y cuantificación de un analito 810 en una disolución o líquido 808, mediante reacción con un reactivo 806 o recogida de reactivos 806 que tiene como resultado un cambio de color o fluorescencia; este cambio de color o fluorescencia se puede usar para determinar posteriormente la concentración de analito 810. Este método se puede poner en práctica cuando todos los reactivos 806 necesarios para dar lugar a la detección y cuantificación se pre-dosifican y se secan en el vial de reacción 802 de manera que tenga lugar la disolución rápida cuando se reconstituyen con la muestra (por ejemplo, el líquido 808). La producción satisfactoria de los viales 802 de reacción pre-dosificados requiere que las sustancias químicas cromogénicas sean compatibles con sustancias que son susceptibles de estar presentes en la muestra y puede requerir agentes de carga, ya sea sales tamponadoras, almidones solubles, otros compuestos orgánicos que no interfieren con las sustancias químicas de reacción, sales inorgánicas no reactivas o una mezcla de los mismos.

En algunas realizaciones, si las sustancias químicas de reacción no son compatibles entre sí antes de la reacción con el analito 810, es necesario congelar estos reactivos incompatibles por separado en el vial antes de la liofilización por congelación o se pueden mantener físicamente separados en el mismo vial y posteriormente someter a liofilización por congelación de forma separada.

- 5 La cuantificación de los cromóforos o fluoróforos resultantes se logra mediante el empleo de un sistema capaz de medir la cantidad de transmitancia y la fluorescencia a partir de la mezcla reconstituida (por ejemplo, una disolución líquida de muestra) en el vial 802. El aparato (por ejemplo, el dispositivo de detección 804) incluye dos o más fuentes de luz 822 (que se lleva a la práctica de forma óptima usando diodos LASER o diodos de emisión de luz (LEDs) que se dirigen de forma mecánica al área activa de al menos dos fotodetectores 812); al menos uno de estos fotodetectores 812 se debería orientar para medir la transmisión a través de la muestra de diversas fuentes de luz y al menos uno de los otros fotodetectores 812 se puede orientar mecánicamente con un ángulo suficientemente grande para medir la fluorescencia y la dispersión. (La absorbancia debida a la muestra procedente de cada fuente de luz se puede calcular comparando los viales de muestra reconstituidos con una disolución que no contiene el analito).
- 10 En la invención, las fuentes de luz 822 se modulan a niveles de energía y frecuencia fijos y la cantidad de luz posterior transmitida, dispersada y sometida a fluorescencia se convierte en una señal eléctrica mediante el uso de detectores fotosensibles 812. La señal se amplifica y desmodula para producir una señal de corriente continua (DC) que se mide por medio de un convertidor de señal analógica en digital (ADC); la desmodulación de la señal DC se logra usando un desmodulador equilibrado configurado a modo de amplificador de bloqueo. Finalmente, la concentración de analito en la disolución original se calcula a partir de la contribución a las señales detectadas y desmoduladas procedentes del cromóforo o fluoróforo resultante, de la que se ha sustraído la contribución de dispersión. A continuación, se proporcionan detalles adicionales de las realizaciones divulgadas.
- 15 La detección y cuantificación de cada analito en la muestra se logra por medio de reacción del analito de la muestra con reactivos secos del vial de muestra, lo cual da lugar a un cromóforo, un fluoróforo o ambos, determinándose las cantidades de dichos cromóforos o fluoróforos por medio de la cantidad de analito en cuestión. Se utiliza la cuantificación de dichos cromóforos o fluoróforos para cuantificar la cantidad de analito presente en la muestra.
- 20 La cuantificación de la absorción o los cromóforos de fluorescencia generados mediante reacción con el analito se puede lograr usando un instrumento de detección capaz de convertir las señales de luz detectadas en señales electrónicas. Dicho instrumento de detección es capaz de detectar tanto absorbancia (por medio de medición de la transmisión y la posterior conversión de esta medición en absorción por comparación del resultado esperado de una muestra de agua pura sometida a ensayo con los viales de ensayo) y fluorescencia. Dicho instrumento se construye usando componentes mecánicos y óptimos para proporcionar luz a los viales de muestra de manera reproducible y componentes electrónicos capaces de detectar la luz transmitida, dispersada o debida a la fluorescencia procedente de la muestra. Estas funciones se logran a través del uso de tres subsistemas; fuentes de luz, detectores y un sistema de control.
- 25 En un ejemplo de la invención se produce luz por medio de fuentes 822 de luz en estado sólido, tales como diodos de emisión de luz o láser de diodos. Para reducir el efecto de ruido y luz ambiental, se modulan las fuentes de luz 822 a una frecuencia fija. Para compensar los cambios de eficacia de fuente de luz con la temperatura, se puede usar un sistema óptico de retroalimentación para controlar el rendimiento de la fuente de luz y ajustar la corriente de accionamiento según se deseé. La luz procedente de las fuentes se dirige a través de la muestra a un detector fotosensible 812 que mide la transmisión. Un segundo detector 812, que mira a la muestra con un ángulo, mide la dispersión y la fluorescencia. La parte de detector del sistema consiste en tres etapas: un fotosensor 814, un amplificador 816 de ganancia variable y un desmodulador 818. La etapa de fotosensor convierte la luz en señal de tensión. A continuación, se amplifica esta señal en la etapa de ganancia variable. Se puede ajustar la ganancia de esta etapa para ampliar el intervalo dinámico del sistema y maximizar el intervalo de muestras que se puede medir con el sistema. Tras la amplificación, la señal se desmodula para producir la señal DC, que se mide por medio de los convertidores de señal analógica en digital en el sistema de control 820. La desmodulación de la señal se logra utilizando un desmodulador equilibrado configurado a modo de amplificador de bloqueo. Este diseño permite una anchura de banda muy estrecha. Estrechando la anchura de banda, se reduce de forma significativa el ruido térmico, que es proporcional a la raíz cuadrada de la anchura de banda. Esto también permite un mayor rechazo de la interferencia procedente de las fuentes de frecuencias fijas.
- 30 El uso de fuentes de luz moduladas también reduce significativamente la interferencia procedente de la luz ambiental. Los componentes electrónicos del sistema se controlan por medio de un microcontrolador intercalado. El sistema se puede operar en dos modos diferentes: un modo "autónomo" o un modo "remoto" en el que el usuario interacciona con el dispositivo a través de un dispositivo de computación conectado por una interfaz electrónica. En el modo "autónomo", el sistema controla la entrada por parte del usuario de los parámetros de medición, recogida de la transmisión, dispersión y mediciones de fluorescencia, análisis de los datos recogidos y presentación de los resultados al usuario. En el modo "remoto", este sistema controla la recepción de comandos procedentes del dispositivo de computación conectado, recogida de la transmisión, dispersión y mediciones de fluorescencia, así como la transmisión de los datos recogidos de vuelta al dispositivo de computación conectado.
- 35 Aunque la presente invención se ha diseñado para reducir el número de etapas y utensilios de laboratorio
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

necesarios para lograr aspectos de control químico, el experto en la técnica apreciará que los ejemplos descritos en la presente memoria se pueden llevar a la práctica de forma adicional junto con una unidad de autoalimentación. Mediante la automatización de la colocación, movimiento y posicionamiento de los viales de ensayo pre-dosificados, debería ser posible eliminar las etapas de carácter humano durante el proceso de evaluación.

- 5 El experto en la técnica apreciará que el uso de modulación de frecuencia en la detección tanto de transmisión como de fluorescencia de la luz transmitida y de fluorescencia elimina la señal de fondo asociada al instrumento. La utilización bien de métodos procedentes de diseño de circuito electrónico o bien la solución matemática a la parte real de la Transformada de Fourier de la señal detectada de inicio (con la constante ajustada a cero) procedente de la luz con modulación de frecuencia usada bien para la transmisión o bien para la excitación de fluorescencia, permite al usuario eliminar la parte de cualquier señal detectada que surja de los componentes electrónicos del instrumento. (Para la fluorescencia esto requiere que la modulación de frecuencia sea significativamente menor que el tiempo de vida de fluorescencia del estado excitado de las especies fluorescentes). Esto tiene como resultado que la señal detectada esté compuesta por una reducción en la transmisión, que es el resultado de la absorción de especies químicas en la muestra resultantes de la generación de cromóforos en el ensayo químico y procedentes de la dispersión por parte de materiales microscópicos ya presentes en la muestra. La luz transmitida se puede convertir en valores de absorbancia usando la ecuación Absorbancia = $\log(T_0/T)$ en la que T_0 es la transmisión observada para agua pura cuando se usa en el ensayo y T es la transmisión obtenida cuando se usa la muestra. La conversión de la transmisión en absorbancia permite el cálculo de la contribución de la señal procedente de la luz dispersada, teniendo presente que se conoce o se puede estimar el tamaño de las partículas de dispersión, especialmente si los valores de absorbancia de la muestra se recogen a valores más bajos de energía (longitud de onda más elevada). El hecho de tener en cuenta las partes de la señal procedentes del instrumento de detección y de la dispersión permite al que pone en práctica la invención usar valores predeterminados procedentes del cromóforo o fluoróforo en el ensayo, eliminando de este modo la necesidad de un blanco de muestra para cada muestra, eliminando el coste y las manipulaciones adicionales asociadas al mismo.
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- En un ejemplo de la presente invención, resulta útil emplear la detección y el cálculo de numerosas longitudes de onda de luz usada para detectar los cromóforos que resultan de los ensayos rápidos para cualquier analito concreto, variando dichas longitudes de onda desde ultravioleta a infrarrojo próximo. La detección de diversas longitudes de onda tiene al menos tres ventajas principales: (1) permite el uso del instrumento con una diversidad más amplia de ensayos químicos, cada uno detectable a través de la absorción de diferentes longitudes de onda de energía lumínica, (2) la detección de luz de infrarrojo próximo permite al usuario compensar cualquier dispersión procedente de minerales o microbios presentes en la muestra, y (3) la detección de múltiples longitudes de onda permite el uso de análisis multivariante para determinar mejor la concentración exacta de analito en el ensayo usado en la muestra. Adicionalmente, se pueden emplear diversos algoritmos (incluyendo redes neuronales y similares) para aumentar la exactitud tanto de la detección como de la cuantificación de los analitos en los ensayos químicos mediante el uso de estas longitudes de onda múltiples.

La invención usa reactivos liofilizados por congelación para los ensayos químicos. Esto permite evitar el uso de reactivos líquidos, que son susceptibles de descomposición a temperaturas elevadas o la congelación a las temperaturas reducidas que normalmente se encuentran en el campo. El uso de reactivos liofilizados por congelación permite que los ensayos sean almacenados durante períodos de tiempo prolongados y bajo condiciones que resultarían perjudiciales para el ensayo que utiliza reactivos disueltos.

El uso de reactivos sólidos o liofilizados por congelación también permite la presencia de todos los reactivos necesarios para llevar a cabo el ensayo en un vial individual; esto resulta especialmente útil si los diversos reactivos reaccionan entre sí bien lentamente o bien con un efecto perjudicial sin presencia del analito. Por medio de mezcla y liofilización por congelación de los reactivos de forma rápida o a temperaturas reducidas, en ocasiones es posible minimizar el efecto que estas reacciones secundarias tienen sobre el rendimiento del ensayo. En muchos casos, es preferible congelar los reactivos incompatibles por separado para evitar su reacción bien antes de la liofilización por congelación o bien para la liofilización por congelación de los mismos en diferentes zonas del vial, evitando que entren en contacto en estado líquido y de este modo se produzca reacción. La presente invención permite que todos los reactivos necesarios estén presentes cuando se reconstituye el ensayo en estado líquido por medio de la muestra, lo cual permite reducir el número de etapas necesarias para completar el ensayo a simplemente reconstitución de los reactivos con la muestra, mezcla y determinación de la concentración mediante el uso del instrumento de detección de absorbancia o fluorescencia. Adicionalmente, se apreciará por parte del experto en la técnica que la práctica de las realizaciones de la presente invención reducen en gran medida el número de etapas necesarias para llevar a cabo un ensayo de valoración, en el que se añaden cantidades conocidas de una disolución normalizada que contiene los reactivos necesarios hasta alcanzar el punto final, de manera que la concentración de analito se calcula a partir de la cantidad de agente de valoración añadido, pero la realización del ensayo requiere las etapas adicionales asociadas a dicha valoración.

En un ejemplo de la presente invención los reactivos químicos usados en el ensayo cromogénico o de fluorescencia se escogen de manera que sean compatibles con el tipo de muestra acuosa. Por ejemplo, el retroflujo y las aguas de formación producidas recuperadas en las operaciones de fractura hidráulica procedentes de muchas formaciones geológicas son susceptibles de presentar niveles elevados de metales alcalinotérreos, que son susceptibles de formar precipitados por incrustación si se exponen a las condiciones de pH elevado de determinados ensayos. De

este modo, resulta preferido tener en cuenta las reacciones perjudiciales que podrían tener lugar entre los componentes químicos del ensayo y las especies químicas que son susceptibles de formar precipitados o contener especies químicas que concurren de forma natural y que absorben o experimentan fluorescencia en una zona que interfiere con los cromóforos o fluoróforos generados durante el ensayo. De este modo, en un ejemplo de la invención, la elección de las especies químicas usadas en el ensayo se escoge de manera que sean compatibles con lo que es probable que esté presente en la muestra acuosa.

Para muestras de bajo volumen, la cantidad de reactivos necesaria para llevar a cabo el ensayo normalmente es bastante baja. Cuando se someten a liofilización por congelación pequeñas cantidades de materiales orgánicos e inorgánicos, con frecuencia se asocian de forma estrecha con la superficie del vial o cristalizan y exhiben reluctancia para disolverse de forma rápida, aumentando de este modo el tiempo y esfuerzo requeridos para llevar a cabo el ensayo. Por tanto, es preferible añadir otros materiales a la mezcla de ensayo de forma que cuando se someten a co-secado los reactivos con dichos materiales, ambos se disuelvan de forma rápida y se evite por un lado una asociación demasiado estrecha con el vial y por otro, la cristalización. En los ensayos cromogénicos tradicionales, se añade una pequeña cantidad de muestra a un gran volumen de disolución, de manera que el pH y la conductividad se controlen con precaución, con el fin de que la cantidad de analito se pueda calcular de forma exacta a partir de la cantidad de cromóforo.

En un ejemplo de la presente invención, es necesario proporcionar suficiente agente tamponador para controlar el pH y la conductividad de la muestra; este agente tamponador con frecuencia se puede usar como material co-secado con los reactivos para garantizar una rápida reconstitución. Es importante, no obstante, escoger agentes tamponadores que sean compatibles con los reactivos de ensayo y los componentes presentes en la muestra. Adicionalmente, se pueden usar sales o fibras de celulosa solubles a tal fin. Las fibras de celulosa solubles de masa molecular elevada tales como arabinogalactanos que no interfieren con el ensayo resultan útiles para tal fin, ya que se pueden añadir sin rebajar demasiado el punto de congelación de la mezcla, lo que haría que la liofilización por congelación resultase difícil. Alternativamente, se puede usar una sal de cloruro potásico (que no modifica el pH de la disolución) para tal fin, así como también para aumentar la fuerza iónica de la disolución de ensayo final (cuando sea deseable). En un ejemplo de la invención, la elección del agente de carga usado para el co-secado con las sustancias químicas de análisis se basa en la capacidad tamponadora necesaria con respecto a la muestra y la compatibilidad química de dicho agente de carga con el ensayo.

La detección de calcio en agua y agua residual resulta útil con vistas a determinar el potencial de incrustación, la idoneidad para irrigación (sodicidad) y determinar qué tipo y concentración de aditivos se requieren para uso en campo petrolífero (entre otras aplicaciones). El experto en la técnica apreciará que se pueden poner en práctica en la presente invención numerosas sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia apropiadas para la detección y cuantificación de calcio, dependiendo los métodos escogidos del intervalo deseado de detección de calcio, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas.

Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de colorantes de clorofosfonazo o arsenazo, en los que cualquier calcio presente en la muestra reacciona con el colorante y produce un cromóforo, en el que es posible determinar la concentración de calcio a partir de la concentración de cromóforo generado. Por medio del control de pH a través del suministro de suficientes sustancias químicas tamponadoras para dar respuesta a la capacidad tamponadora esperada de la muestra, todos los metales alcalinotérreos se detectan a valores de pH neutros o elevados; magnesio (el segundo metal alcalino téreo más prevalente) no forma complejos con estos cromóforos a valores de pH bajos. Las concentraciones relativas de bario, estroncio y radio son pequeñas en relación con calcio en las muestras naturales, por lo que sus respectivas contribuciones a la señal de calcio son despreciables. Se pueden usar fluoróforos tales como calceína y clorotetraciclina para detectar calcio con excitación ultravioleta a valores de pH de aproximadamente 8 y 7, respectivamente. El experto en la técnica apreciará que la detección y cuantificación de la dureza (metales alcalino téreos totales medidos en miligramos por litro de carbonato cálcico) se podría lograr mediante la realización de detección de calcio con la sustancia química apropiada a un valor de pH en el que calcio, magnesio, bario, estroncio y radio sean todos detectados.

La detección de boro en agua y agua residual resulta útil con vistas a determinar el potencial de interferencia en la formación química de gel durante la fractura (junto con la idoneidad del agua para otras aplicaciones). Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de boro que se pueden poner en práctica con la presente invención, dependiendo la elección de los métodos del intervalo de detección de concentración deseada de boro, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de azometina-H, cloruro amónico y ácido ascórbico, donde cualquier boro presente en la muestra reacciona con los reactivos produciendo un cromóforo, en el que la concentración de boro se puede determinar a partir de la concentración del cromóforo generado. Se controla el pH mediante adición de suficiente ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (y su sal sódica) para dar respuesta a la capacidad tamponadora esperada de la muestra. Se pueden usar fluoróforos tales como 2,3-DNHS para detectar boro con excitación ultravioleta.

La detección de pH en agua y agua residual resulta útil con vistas a la determinación del potencial de interferencia en la formación química de gel durante la fractura junto con la idoneidad del agua para otras aplicaciones industriales, de vertido y agrícola. El control de pH resulta especialmente difícil cuando la muestra tiene

- conductividad extremadamente baja o moderadamente elevada, ya que se optimiza la detección electroquímica tradicional para disoluciones diluidas que contienen únicamente sales inorgánicas. Existen sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia que se pueden usar para la determinación de pH que se pueden poner en práctica con la presente invención, dependiendo la elección de estos métodos del intervalo deseado de determinación de pH, el pH y la presencia de materiales interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de un indicador universal neutralizado y sal (cloruro potásico), en el que el pH se determina por medio de análisis multivariante de las cantidades relativas de colores presentes. Se añade cloruro potásico para solucionar cualesquiera intervalos esperados en los valores de pKa de las sales de indicador, ya que los efectos de salinidad sobre las transiciones de pKa son menores a concentraciones salinas elevadas. Se pueden utilizar indicadores fluorescentes frente a pH, tales como eosina amarillenta y eosina azulada, a valores bajos de pH.
- La cuantificación de la alcalinidad en agua y agua residual resulta útil con vistas a la determinación del Índice de Saturación de Langelier (útil en la determinación del potencial de incrustación o corrosión) junto con la idoneidad de agua para otras aplicaciones industriales, de vertido y agrícolas. Esto se logra mediante la adición de una cantidad conocida de muestra a una cantidad conocida de ácido débil que se ha tamponado a un pH de 4,2; se pueden usar las mismas sustancias colorimétricas o fluorométricas empleadas para la determinación de pH con el fin de determinar el pH resultante y, de este modo, se puede calcular la cantidad de alcalinidad total (hidróxido y carbonato) a partir de la curva de calibración previamente determinada. En un ejemplo de la presente invención, se usa ácido cítrico ya que actúa como tampón sobre el intervalo de pH más útil para el presente ensayo, pero la elección de un ácido débil y la concentración usada del mismo se deberían escoger dependiendo del intervalo deseado de determinación de alcalinidad total, el pH y la presencia de materiales interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos consiste en la utilización de un indicador universal y sal (cloruro potásico), en el que se determina el pH por medio de análisis multivariante de dichas cantidades relativas de colores presentes. Se pueden usar diferentes cantidades de ácido débil para producir ensayos que tienen intervalos más grandes o más pequeños de alcalinidad total.
- La determinación de cloruro en agua y agua residual con vistas a la estimación de los sólidos totales disueltos como sal más prevalente en agua residual es cloruro sódico. Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de cloruro que se pueden emplear en la presente invención, escogiéndose los métodos dependiendo del intervalo deseado de detección de la concentración de cloruro, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos es la utilización de sulfato de quinina, en el que cualquier cloruro presente en la muestra inactiva la fluorescencia procedente de quinina, de manera que es posible determinar la concentración de cloruro (y otros haluros de las tierras raras) a partir del grado de inactivación, en comparación con una disolución de agua pura cuando se excita con luz ultravioleta. El pH se controla por medio de adición de suficiente ácido sulfámico y citrato de sodio, para solucionar la capacidad tamponadora que cabe esperar para la muestra.
- La determinación de cobre en agua y agua residual resulta útil con vistas a la cuantificación de este micronutriente con fines agrícolas y para verificar su presencia para actividad biocida. Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de cobre que se pueden usar en la presente invención, dependiendo los métodos escogidos del intervalo deseado de detección de concentración de cobre, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de calceína, en la que cualquier cobre presente en la muestra inactiva la fluorescencia procedente de calceína, en el que la concentración de cobre se puede determinar a partir del grado de inactivación, en comparación con una disolución de agua pura cuando se excita con luz ultravioleta. El pH se controla por medio de la adición de suficiente ácido cítrico y citrato de sodio, para dar respuesta a la capacidad tamponadora que cabe esperar para la muestra.
- La determinación de cromo hexavalente en agua y agua residual resulta útil con vistas a la determinación de la idoneidad para vertido o eficacia de regímenes de tratamiento. Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas o de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de cromo hexavalente que se pueden usar en la presente invención, dependiendo los métodos escogidos del intervalo deseado de detección de concentración de cromo hexavalente, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de 1,5-difenilcarbazida, en el que cualquier cromo hexavalente que está presente en la mezcla reacciona con los reactivos produciendo un cromóforo, en el que la concentración de dicho cromo hexavalente se puede determinar a partir de la concentración del cromóforo generado. El pH se controla mediante la adición de suficiente ácido sulfámico tamponado para dar respuesta a la capacidad tamponadora de la muestra.
- La detección de hierro en agua y agua residual resulta útil con vistas a la determinación del potencial de interferencia en la formación química de gel durante la fractura, la tendencia a formar incrustaciones y para aguas destinadas a otras aplicaciones industriales y agrícolas. Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de hierro que se pueden usar en la presente invención, dependiendo el método escogido del intervalo deseado de detección de concentración de hierro, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de ácido 5-sulfosalícílico o 1,10-fenantrolina, donde cualquier hierro presente en la muestra reacciona con los reactivos produciendo un cromóforo, en el que se puede determinar la concentración de hierro a partir de la concentración del

cromóforo generado. La separación entre hierro divalente, trivalente y total se determina por medio de pH, lo que se controla por medio de adición de ácido cítrico suficiente (y su sal de sodio) para dar respuesta a la capacidad tamponadora esperada de la muestra.

- 5 La detección de sulfato en agua y agua residual resulta útil con vistas a la determinación del potencial de formación de incrustaciones de barita y otros metales alcalinotérreos, con idoneidad para aguas de aplicaciones de vertido y agrícolas. Existen numerosas sustancias colorimétricas y de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de sulfato que se pueden usar en la presente invención, dependiendo el método escogido del intervalo deseado de detección de concentración de boro, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de hidróxido de bario ácido o violurato de bario, en el que cualquier sulfato presente en la muestra reacciona con los reactivos produciendo bien un precipitado que absorbe y dispersa la luz o bien un cromóforo, en el que se puede determinar la concentración de sulfato a partir de la concentración del precipitado o cromóforo generado. El pH se controla mediante la adición de suficiente anhídrido maleico y citrato de sodio para dar respuesta a la capacidad tamponadora esperada de la muestra.
- 10 La detección de sulfato en agua y agua residual resulta útil con vistas a la determinación del potencial de formación de incrustaciones, tendencia corrosiva e idoneidad del agua para vertido y otros usos. Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de sulfuro que se pueden utilizar en la presente invención, dependiendo el método escogido del intervalo deseado de detección de la concentración de sulfuro, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos es la utilización de ácido 6,6'-dinitro-3,3'-ditribenzoico tamponado, en el que cualquier sulfuro presente en la muestra reacciona con los reactivos dando lugar a un cromóforo, en el que la concentración de sulfuro se puede determinar a partir del cromóforo generado. Alternativamente, el sulfuro se puede hacer reaccionar con N,N-dimetil-p-fenildiamina en presencia de cloruro de hierro para producir un cromóforo; se puede tamponar con ácido sulfámico lo que tiene como resultado la formación de azul de metileno que se puede usar para la cuantificación del sulfuro.
- 15 La detección de compuestos orgánicos volátiles o semi-volátiles miscibles (VOCs) en agua y agua residual resulta útil con vistas a la determinación del potencial de interferencia en la formación química de gel durante la fractura, así como la idoneidad para agua destinada a otras aplicaciones o vertido. Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas o de fluorescencia usadas para la detección y cuantificación de VOCs que se pueden utilizar en la presente invención, dependiendo los métodos escogidos del intervalo deseado de detección de la concentración de VOCs, el pH y la presencia de iones interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es el uso de un colorante solvatocromático tamponado como N,N-dimetilindanilina, en el que cualquier VOC (tal como acetona, alcoholes y similares) presente en la muestra se asocia con los reactivos produciendo un cromóforo, en el que se puede determinar la concentración de VOC a partir de la concentración del cromóforo generado. El pH se controla mediante adición de suficientes sales tamponadoras para dar respuesta a la capacidad tamponadora esperada de la muestra.
- 20 La detección de los microorganismos viables en agua y agua residual resulta útil con vistas a determinar el potencial de corrosión inducida por microorganismos, inundación y otras operaciones mejoradas de recuperación en campo petrolífero, así como la idoneidad de agua destinada a otras aplicaciones o vertido. Existen numerosas sustancias químicas colorimétricas y de fluorescencia usadas para la detección y estimación de la concentración microbiana que se pueden utilizar en la presente invención, dependiendo los métodos escogidos del intervalo deseado de detección de contenido microbiano, el pH y la presencia de biocidas interferentes u otras sustancias químicas. Un ejemplo de estos métodos químicos es la utilización de un precursor de colorante metabólico tamponado tal como resulina, en el que la actividad metabólica (y de este modo los microorganismos viables capaces de metabolizar el precursor de colorante) presente en la muestra produce un cromóforo cuando se excita con luz verde, en el que se puede determinar la concentración de microbios a partir de la concentración del cromóforo generado si se incuba a la temperatura correcta y durante el tiempo apropiado. Se controla el pH por medio de adición de suficientes sales tamponadoras para dar respuesta a la capacidad tamponadora esperada de la muestra y se pueden añadir otros nutrientes necesarios a la mezcla de reacción. El experto en la técnica apreciará que se puede introducir el nivel deseado de especificidad en la identificación de especies microbianas escogiendo un precursor cromogénico que se metaboliza únicamente por parte del reino, géneros, género, especies o subespecies de interés.
- 25 El experto en la técnica también apreciará que los principios explicados en la presente divulgación se pueden aplicar a fluidos diferentes de agua. Por ejemplo, se pueden emplear disoluciones de extracto de muestras sólidas que disuelven analitos en la fase fluida, o se pueden analizar otros fluidos tales como orina usando la misma metodología, con la condición de que los cromóforos o fluoróforos utilizados para detectar el analito en cuestión no exhiban una absorción o fluorescencia similar a la de la muestra. También se pueden analizar líquidos orgánicos usando la misma metodología: con disoluciones orgánicas es necesario que el vial sea compatible con la disolución, el líquido orgánico sea bastante transmisor de la luz en las regiones de energía utilizadas por los cromóforos, y que los cromóforos o fluoróforos utilizados para detectar el analito en cuestión no exhiban absorción o fluorescencia similar a la del líquido orgánico.
- 30 En resumen, la presente divulgación se refiere a un sistema y un método de detección y cuantificación de un analito en disolución por medio de reacción con un reactivo o reactivos que tiene como resultado un cambio de color y/o

fluorescencia. La concentración de analito se puede relacionar con la cantidad de cambio de color o fluorescencia.

Con respecto a los reactivos y el vial pre-dosificado:

Todos los reactivos necesarios para completar la reacción se proporcionan en forma de sólidos liofilizados por congelación y pre-dosificados que se disuelven de forma rápida tras la adición de la muestra líquida.

- 5 Los reactivos liofilizados por congelación pueden contener suficientes agentes tamponadores que superen la capacidad tamponadora de la muestra, teniendo como resultado un intervalo de pH definido para la reacción.

Los reactivos liofilizados por congelación pueden contener (si fuese necesario) un agente de carga que no interfiera con el ensayo químico para evitar la cristalización de dichos reactivos o evitar la formación en exceso de asociaciones con las paredes del vial en el cual tiene lugar la reacción.

- 10 El agente de carga puede ser una sal no reactiva, sustancias tamponadoras, un hidrato de carbono u otra sustancia orgánica que no interfiera con la reacción, un almidón soluble de alto peso molecular si no se desea una disminución de punto de congelación, o una mezcla de sales, sustancias tamponadoras, almidones solubles y otros materiales orgánicos que no interfieran con las sustancias químicas de detección de analito.

- 15 Los reactivos, si son químicamente incompatibles entre sí antes de la reacción con el analito, se pueden congelar por separado en el vial de reacción antes de la liofilización por congelación o se pueden mantener físicamente aparte y proceder a la liofilización por congelación de forma separada;

Los reactivos liofilizados por congelación usados en el ensayo cromogénico o de fluorescencia se escogen de forma que sean compatibles con el tipo de muestra acuosa;

Con respecto a la detección y cuantificación de los cromóforos y fluoróforos:

- 20 Las fuentes de luz usadas para las fuentes de excitación de transmisión y fluorescencia pueden ser diodos de emisión de luz, diodos de láser o cualquier otro tipo de fuente de luz.

Las fuentes de luz usadas para las fuentes de excitación de transmisión pueden incluir al menos una fuente que emita a una longitud de onda que sea sensible a la presencia del cromóforo.

- 25 Las fuentes de luz usadas para las fuentes de excitación de fluorescencia pueden incluir al menos una que excite el fluoróforo usado para la detección.

Las fuentes de luz usadas para las fuentes de excitación de transmisión o fluorescencia pueden incluir al menos una que emita luz a una longitud de onda para determinar la cantidad de dispersión de la muestra.

Las fuentes de luz usadas para la transmisión se pueden montar físicamente de manera que sus haces pasen a través de la muestra antes de incidir de forma directa en el fotodiodo.

- 30 Las fuentes de luz usadas para la fluorescencia se pueden montar mecánicamente de manera que el fotodiodo de detección esté con un ángulo que permita minimizar la señal de transmisión.

Las fuentes de luz se pueden modular a una frecuencia fija y a niveles de energía controlados y predefinidos.

- 35 La luz transmitida, dispersada y sometida a fluorescencia se puede convertir en una señal eléctrica por medio del uso de detectores fotosensibles cuyas señales se amplifican y posteriormente se demodulan para producir una señal DC que se mide por medio de un convertidor de señal analógica en digital, en el que la desmodulación se logra usando un desmodulador equilibrado configurado a modo de amplificador de bloqueo.

La concentración de analito en la disolución se puede calcular a partir de la contribución a la señales detectadas y desmoduladas procedentes del cromóforo o fluoróforo resultante, de la cual se ha sustraído la contribución de dispersión.

- 40 En determinados casos de la presente memoria descriptiva, cuando se “acopla” un elemento a otro elemento, el acoplamiento puede ser directo o indirecto. Acoplamiento directo se define como un elemento acoplado a, y en cierto contacto, con otro elemento. Acoplamiento indirecto se puede definir como un acoplamiento entre dos elementos que no están en contacto directo entre sí, pero que tienen uno o más elementos adicionales entre los elementos acoplados. Además, tal y como se usa en la presente memoria, la fijación de un elemento a otro elemento puede incluir la fijación directa y la fijación indirecta. Adicionalmente, tal y como se usa en la presente memoria, “adyacente” no necesariamente denota contacto. Por ejemplo, un elemento puede ser adyacente a otro elemento sin estar en contacto con ese elemento.

Las realizaciones descritas se deben considerar en todos los aspectos únicamente como ilustrativas y no restrictivas. El alcance de la invención, por tanto, viene indicado por las reivindicaciones adjuntas, más que por la descripción anterior.

REIVINDICACIONES

1. Un sistema (800) para detectar y cuantificar un analito (810) en un líquido (808) usando un ensayo químico, comprendiendo el sistema (800):
 - 5 un vial (802) pre-dosificado individual que comprende uno o más reactivos pre-dosificados (806) dispuestos en el vial (802) pre-dosificado individual, en el que el uno o más reactivos pre-dosificados (806) comprenden reactivos (806) sólidos liofilizados por congelación pre-dosificados configurados para llevar a cabo el ensayo, en el que el vial (802) pre-dosificado individual está configurado para recibir y albergar un volumen del líquido (808) que comprende el analito (810), en el que el uno o más reactivos pre-dosificados (806) se pueden disolver en el volumen del líquido (808) para formar una disolución líquida de muestra que comprende cromóforos o fluoróforos, en el que el uno o más reactivos pre-dosificados (806) están configurados para reaccionar con el analito (810) con el fin de dar lugar a cromóforos o fluoróforos;
 - 10 un dispositivo de retención (804) que comprende una cámara óptica (824) configurada para retener el vial (802) pre-dosificado individual, comprendiendo el dispositivo de retención (804);
 - 15 una pluralidad de fuentes de luz (822), estando configurada cada fuente de luz para dirigir luz hacia la disolución líquida de muestra del vial (802) pre-dosificado individual y siendo modulada a una frecuencia fija;
 - 20 dos detectores fotosensibles (812) que consisten en un primer detector fotosensible (812, 220) ubicados en la cámara óptica (824) opuesta a al menos una de la pluralidad de fuentes de luz (822) y configurados para detectar luz transmitida a través de la disolución líquida de muestra y un segundo detector fotosensible (812, 222) ubicado en ángulo recto con respecto al primer detector fotosensible (812, 220) y configurado para detectar fluorescencia y dispersión a partir de la disolución líquida de muestra; y
 - 25 un sistema de control (820), en el que el sistema de control (820) está configurado para cuantificar el analito (810) en la disolución líquida de muestra.
 - 30 2. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que la cuantificación del analito (810) se lleva a cabo mediante cuantificación de los cromóforos o fluoróforos en la disolución líquida de muestra.
 - 35 3. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que el primer detector fotosensible (812, 220) comprende un fotosensor (814) configurado para convertir una señal de luz procedente de la pluralidad de fuentes de luz (822) en señal de tensión, un amplificador (816) configurado para amplificar la señal de tensión, y un desmodulador equilibrado (818) configurado como amplificador de bloqueo para convertir la señal de tensión en una señal de corriente continua.
 - 40 4. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que el sistema de control (820) comprende un convertidor de señal analógica en digital para medir la señal de corriente continua.
 - 45 5. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que el sistema de control (820) está configurado para operar en modo autónomo, en el que el sistema de control (820) comprende un microcontrolador intercalado configurado para manipular la entrada de los parámetros de medición por parte del usuario, la recogida de la transmisión, fluorescencia y las mediciones de dispersión, el análisis de los datos recogidos y la visualización de los resultados por parte del usuario.
 - 50 6. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que el sistema de control (820) está configurado para operar en modo remoto, en el que el sistema de control (820) comprende un microcontrolador intercalado configurado para manipular la recepción de comandos procedentes de un dispositivo de computación conectado, la recogida de la transmisión, dispersión y mediciones de fluorescencia, y la transmisión de los datos recogidos de vuelta al dispositivo de computación conectado.
 - 55 7. El sistema (800) de la reivindicación 5, en el que al menos una de la pluralidad de fuentes de luz (822) está configurada para emitir luz a una longitud de onda apropiada para detectar una cantidad de dispersión de luz provocada por el analito (810) en la disolución líquida de muestra.
 - 60 8. El sistema (800) de la reivindicación 2, en el que la cuantificación de los cromóforos o fluoróforos comprende sustraer la contribución de la cantidad detectada de dispersión.
 - 65 9. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que los reactivos (806) pre-dosificados liofilizados por congelación y pre-dosificados se someten por separado a liofilización por congelación antes de combinarse en el vial (802) pre-dosificado individual.
 - 70 10. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que los reactivos (806) sólidos liofilizados por congelación y pre-dosificados se someten a liofilización por congelación en zonas separadas del vial (802) pre-dosificado individual.
 - 75 11. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que los reactivos (806) sólidos liofilizados por congelación y pre-dosificados se mezclan en forma líquida y se someten a liofilización por congelación de manera suficientemente

rápida para minimizar las reacciones secundarias de los reactivos (806) entre sí.

12. El sistema (800) de la reivindicación 1, en el que los reactivos (806) sólidos liofilizados por congelación y pre-dosificados comprenden además un agente de carga seleccionado para no interferir con la reacción producida entre las sustancias químicas de detección de los reactivos (806) y el analito (810), y evitar la cristalización de los reactivos (806) y la asociación excesiva de éstos con las paredes del vial (802) en el cual tiene lugar la reacción.

5 13. El sistema (800) de la reivindicación 12, en el que el agente de carga comprende una o más sales no reactivas y/o almidones solubles.

14. El sistema (800) de la reivindicación 13, en el que el uno o más almidones solubles tienen un peso molecular suficientemente elevado para minimizar la disminución de punto de congelación de la disolución líquida de muestra.

10 15. Un método para detectar y cuantificar un analito (810) en un líquido (808) usando el sistema (800) de la reivindicación 1, comprendiendo el método:

formar una disolución líquida de muestra insertando un volumen del líquido (808) que comprende el analito (810) en el interior del vial (802) pre-dosificado individual retenido en la cámara óptica (824),

15 hacer reaccionar el analito (810) y el uno o más reactivos pre-dosificados (806) para dar lugar a los cromóforos o fluoróforos,

dirigir luz procedente de la pluralidad de fuentes de luz (822) hacia la disolución líquida de muestra, y

detectar la luz transmitida a través de la disolución de muestra líquida mediante el uso del primer detector fotosensible (812, 220), y detectar la fluorescencia y la dispersión mediante el uso del segundo detector fotosensible (812, 222),

20 en el que el analito (810) y el uno o más reactivos pre-dosificados (806) permanecen dentro del vial pre-dosificado (802) durante las etapas de reacción, direccionamiento de la luz y detección de las señales de luz, y

cuantificar el analito (810) en la disolución líquida de muestra mediante el uso del sistema de control (820).

16. El método de la reivindicación 15, en el que la cuantificación del analito (810) comprende detectar y cuantificar los cromóforos o fluoróforos en la disolución líquida de muestra.

25 17. El método de la reivindicación 16, en el que al menos una de la pluralidad de fuentes de luz (812) está configurada para emitir una longitud de onda de luz apropiada para detectar la dispersión de la luz por parte del analito (810) en la disolución líquida de muestra.

18. El método de la reivindicación 17, que además comprende convertir la luz detectada seleccionada entre transmisión, fluorescencia o dispersión en una señal eléctrica.

30 19. El método de la reivindicación 18, en el que la conversión de la luz detectada en señal eléctrica comprende convertir la luz detectada seleccionada entre transmisión, fluorescencia o dispersión en señal de tensión, amplificar la señal de tensión y desmodular la señal de tensión amplificada para producir una señal de corriente continua.

35 20. El método de la reivindicación 19, en el que la cuantificación del analito (810) en la disolución líquida de muestra está basada en las señales detectadas, amplificadas y desmoduladas procedentes de los cromóforos o fluoróforos de los cuales se ha sustraído la contribución de la dispersión detectada.

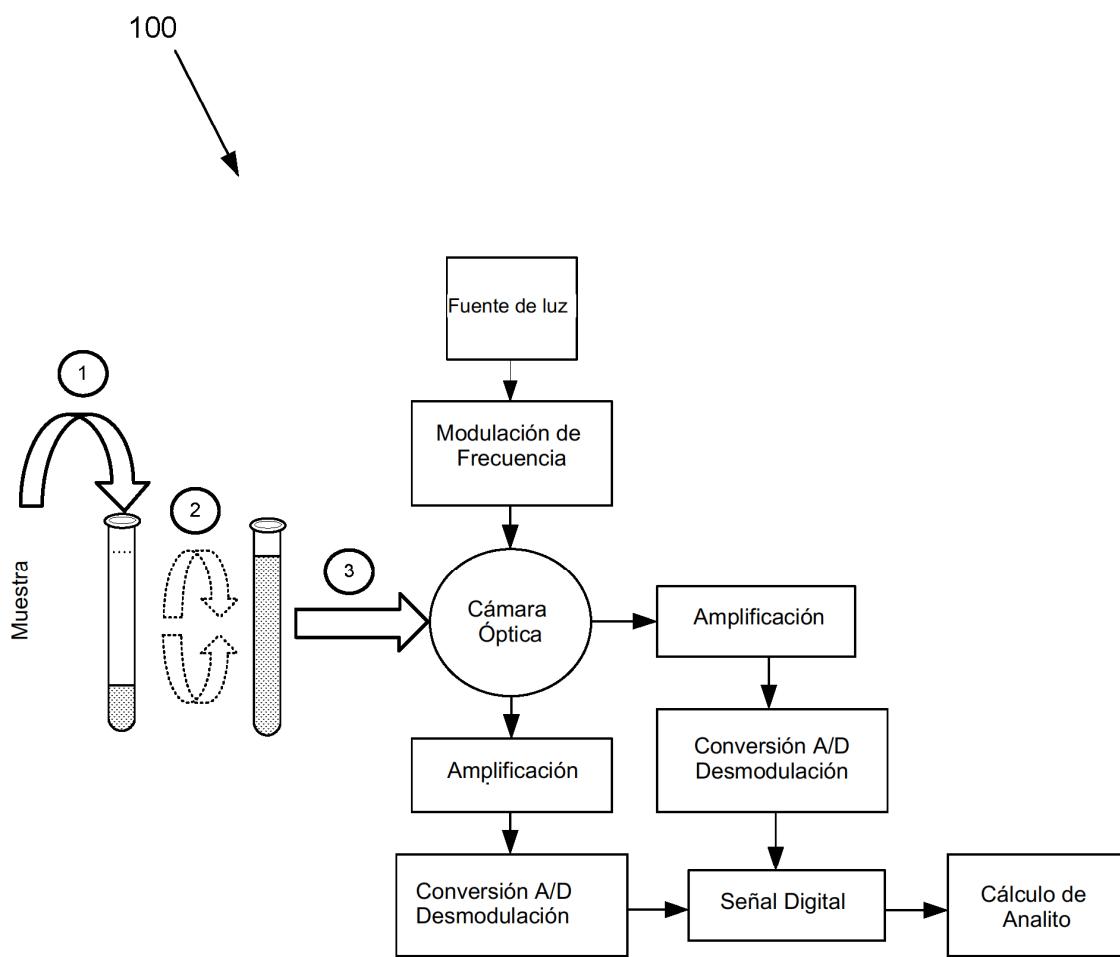


Fig. 1

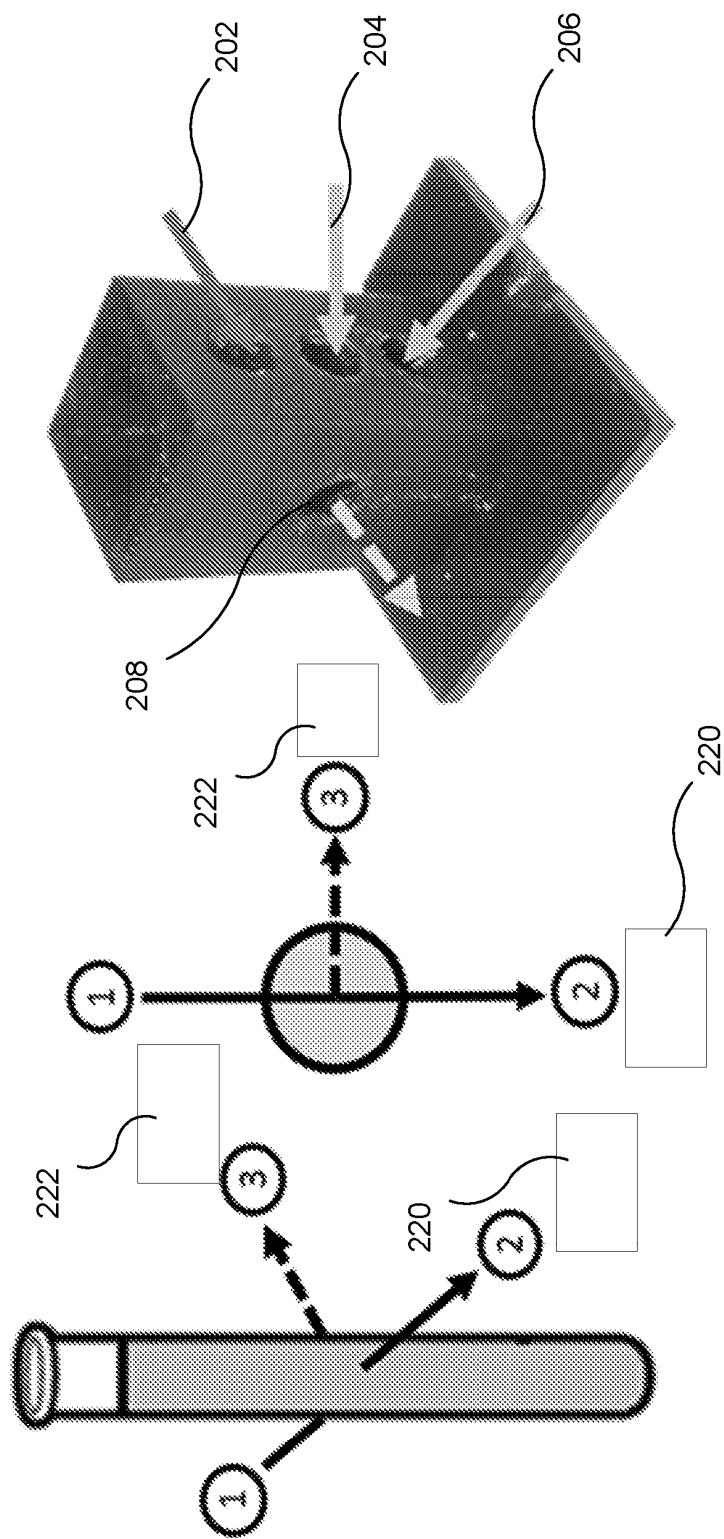


Fig. 2A

Fig. 2B

Fig. 2C

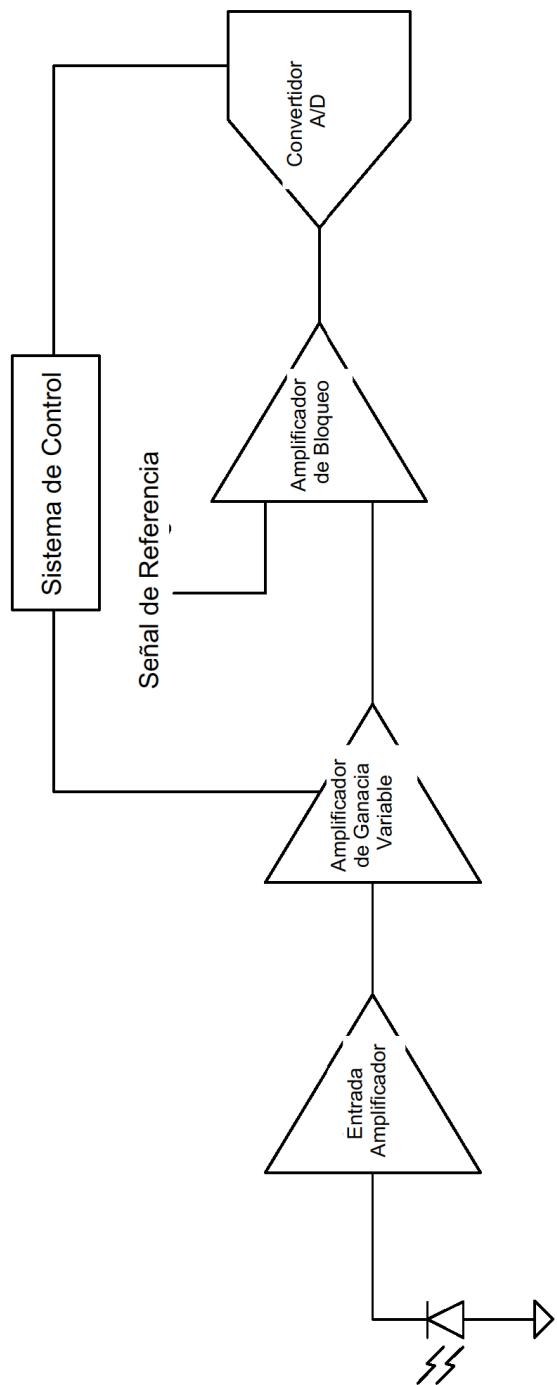


Fig. 3

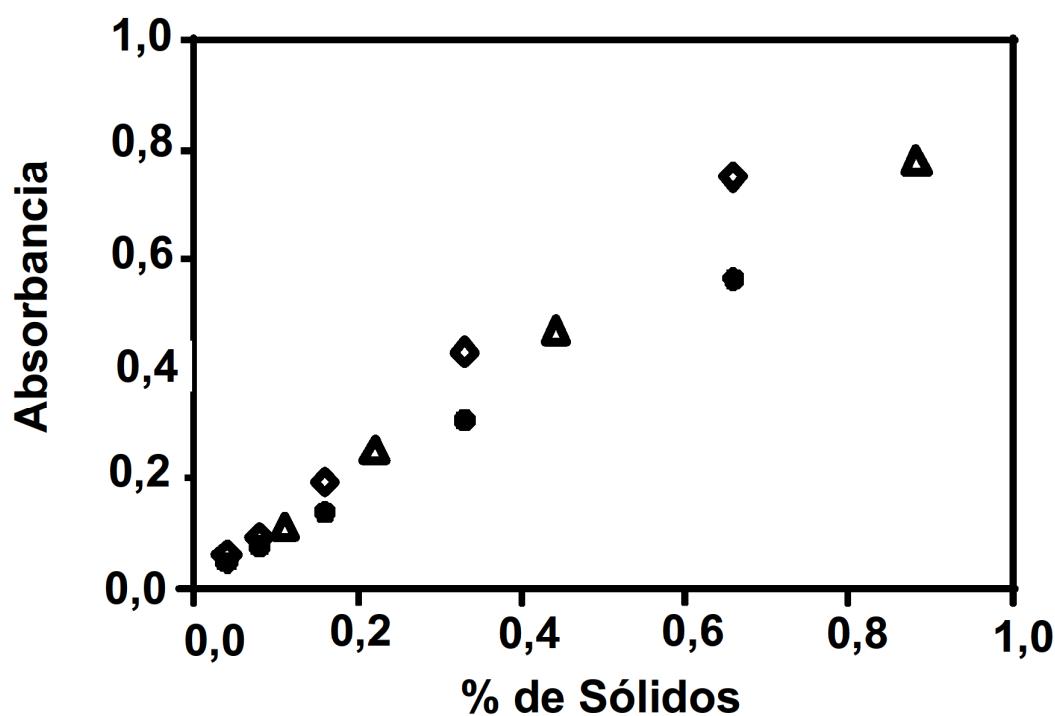


Fig. 4

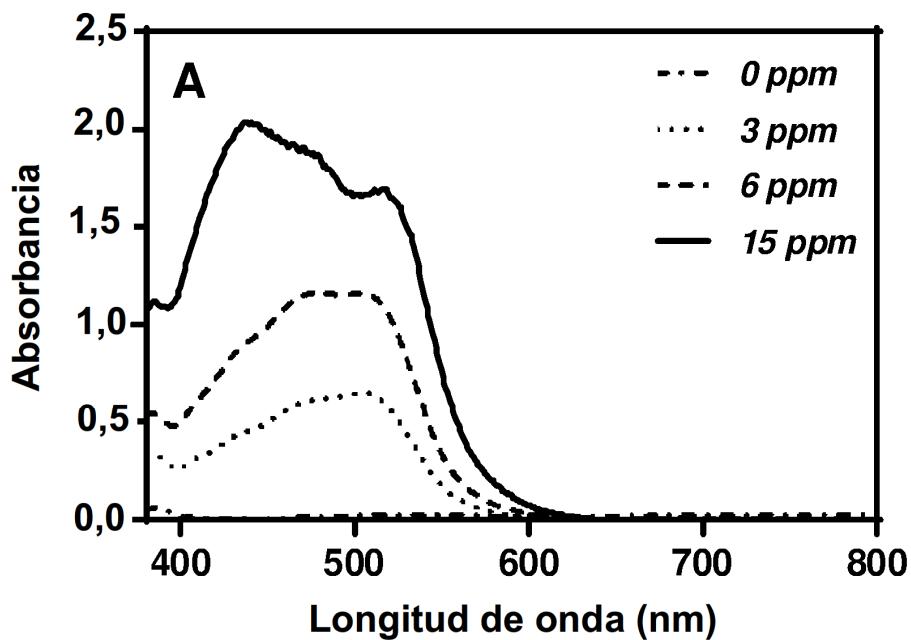


Fig. 5A

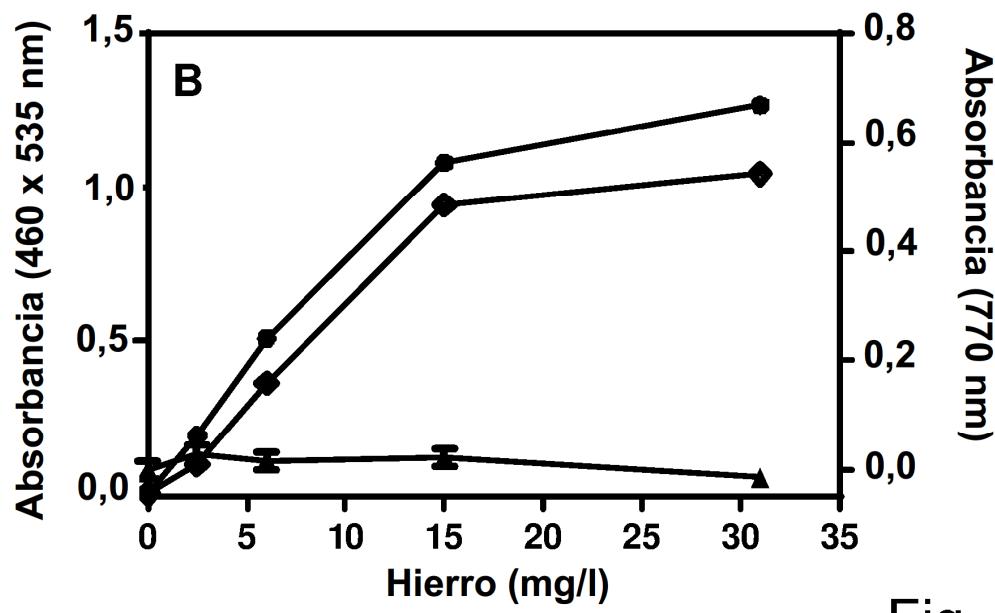


Fig. 5B

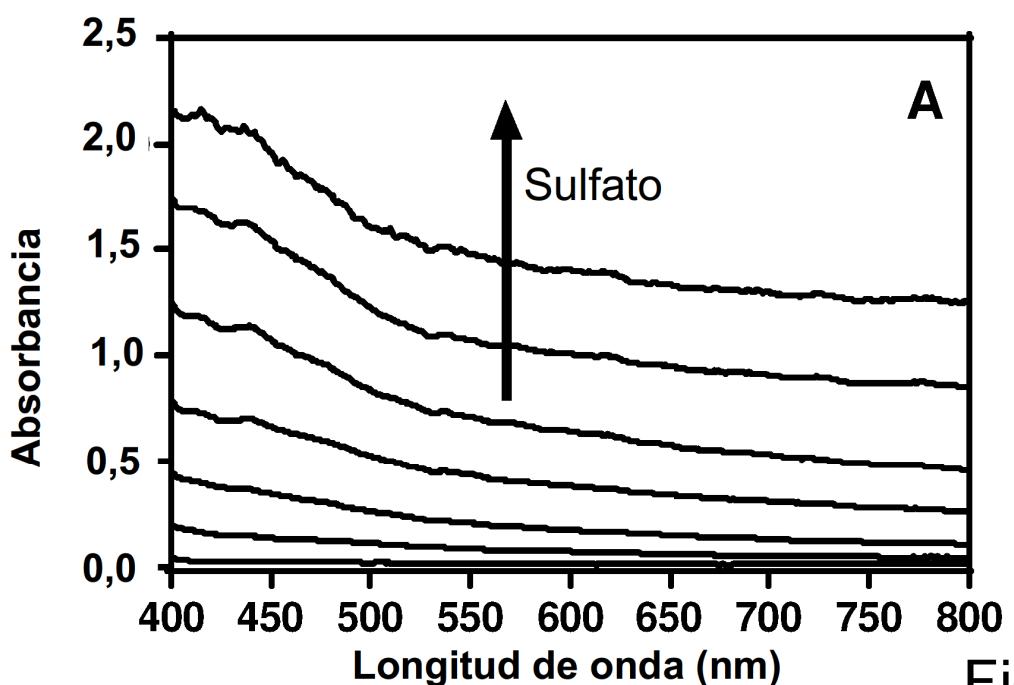


Fig. 6A

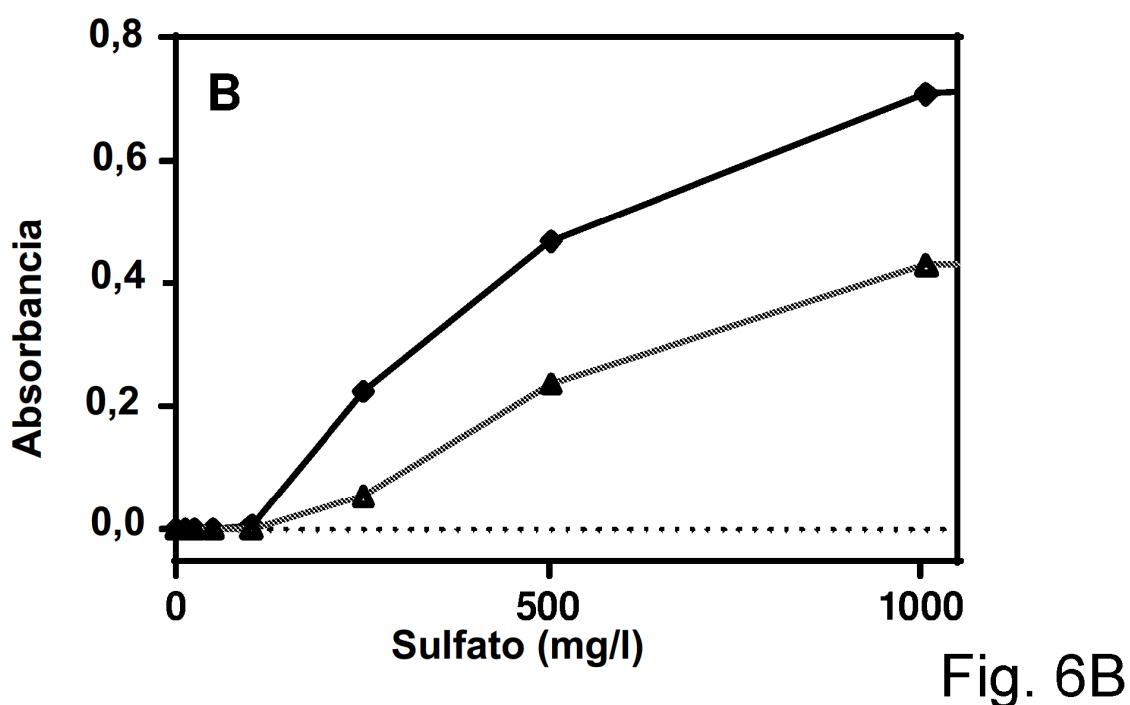
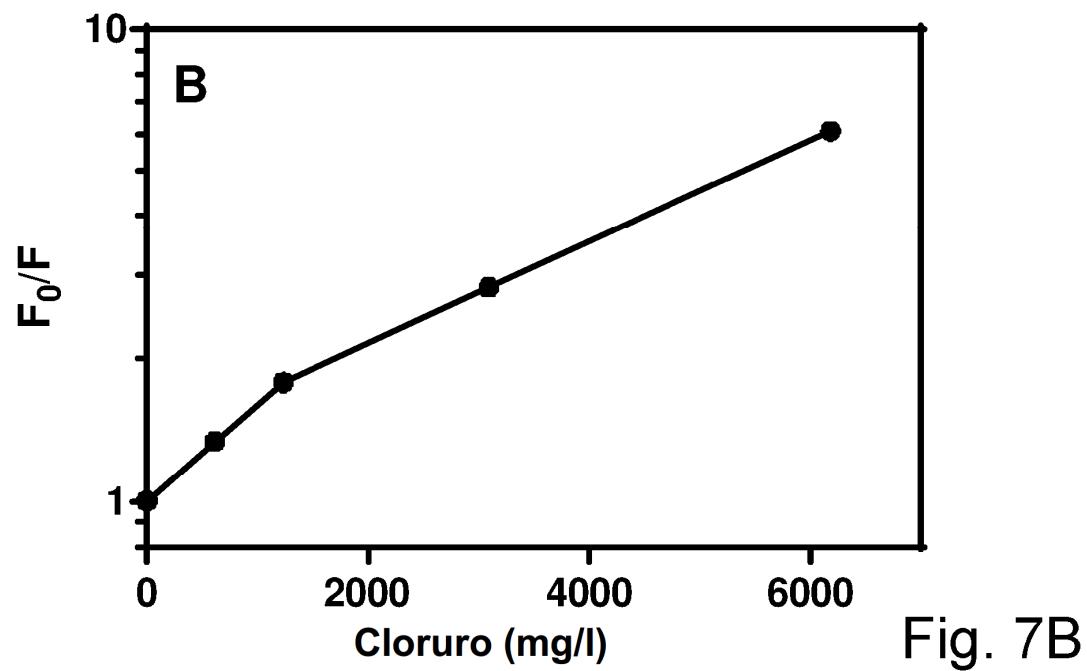
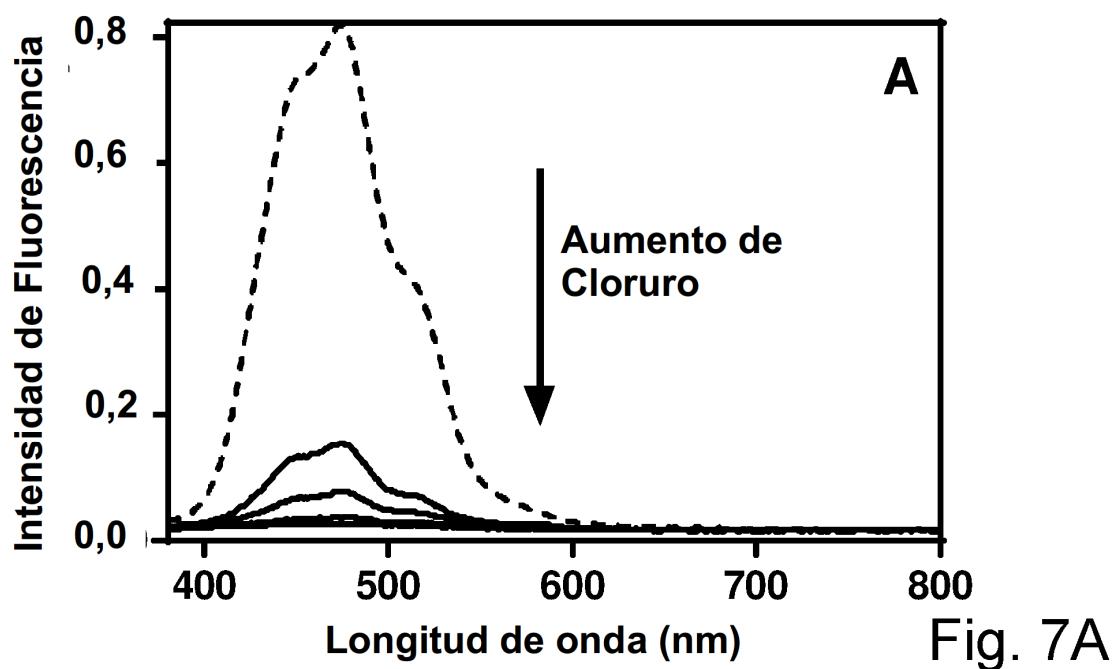


Fig. 6B



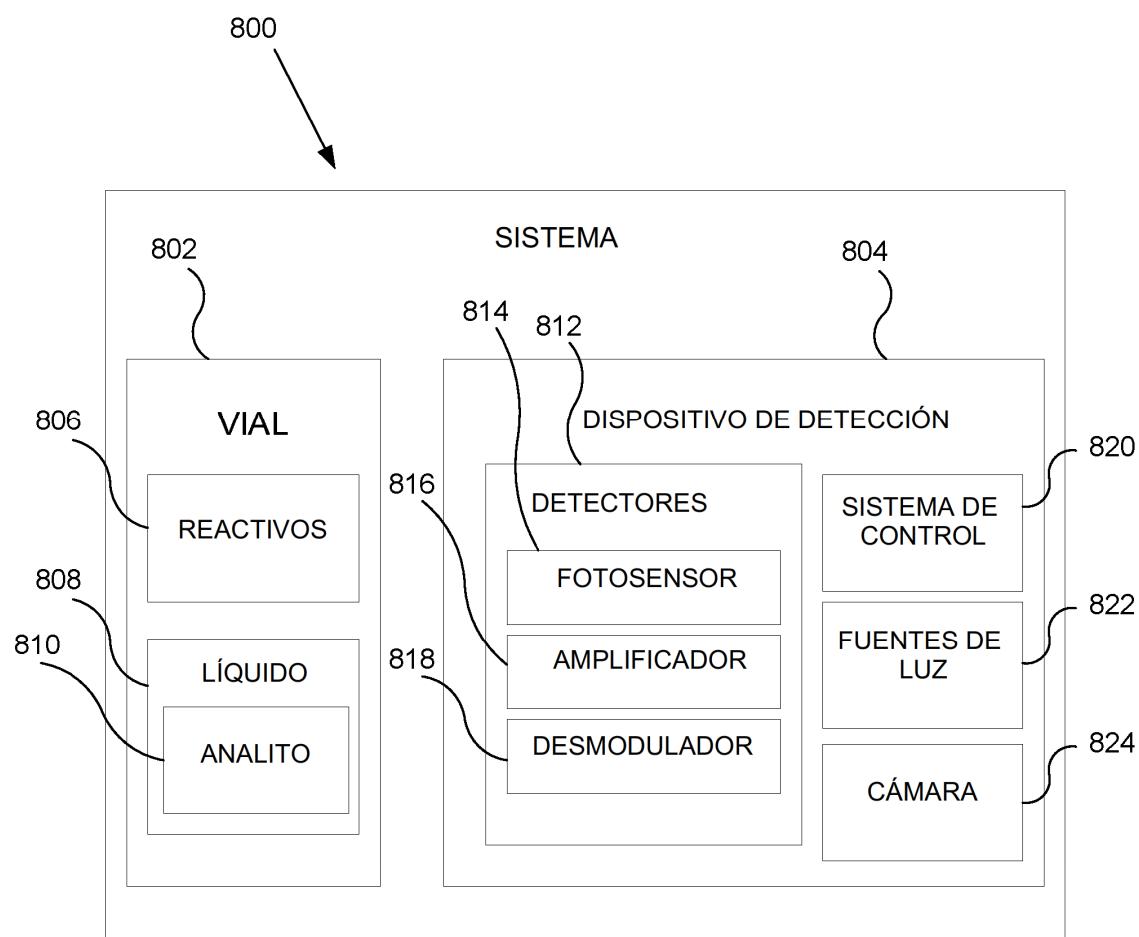


Fig. 8