

REIVINDICACIONES

1. Fluorocromo de moléculas conjugadas para detección de Hg^{+2} **que comprende** [bis(dietilamino)-3-oxospiro[isoindolina-1,9'-xanten]-2-il)imino)-6-hydroxi-3H-xanten-9-yl) ácido benzoico.
2. Proceso para preparar el fluorocromo de moléculas conjugadas para detección de Hg^{+2} de la reivindicación 1 **que comprende:**
 - a) disolver entre el 10 y 15% (p/v) de hidracida de rodamina B - $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{O}_2$ y entre el 7 y 12% (p/v) de fluoresceína sódica - $\text{C}_{20}\text{H}_{10}\text{Na}_2\text{O}_5$ en disolvente CH_2Cl_2 : MeOH entre el 75 y 85% (p/v) en proporción 2:1.5, con atmósfera de argón;
 - b) agitar e incubar a una temperatura entre 50°C y 80°C por entre 18 y 30 horas;
 - c) descartar el disolvente y se obtiene el compuesto [bis(dietilamino)-3-oxospiro[isoindolina-1,9'-xanten]-2-il)imino)-6-hydroxi-3H-xanten-9-yl) ácido benzoico;donde la sonda conformada por este compuesto final detecta Hg^{+2} bajo la luz UV y/o luz natural en dos picos observables que están en la longitud de onda 510-530 nm y 565-585 nm y funciona en pH neutro y básico.
3. Proceso para preparar el fluorocromo de la reivindicación 2 **caracterizado porque** la atmósfera de argón se logra por 99.9% (1.66 Kg/m^3) de argón a temperatura ambiente.
4. Proceso para preparar el fluorocromo de la reivindicación 2 **caracterizado porque** la temperatura empleada en el paso b) es de 60°C .
5. Proceso para preparar el fluorocromo de la reivindicación 2 **caracterizado porque** el descarte del disolvente de la etapa c) se realiza por vacío.

6. Proceso para preparar el fluorocromo de moléculas conjugadas de la reivindicación 2 **caracterizado porque** la hidracida de rodamina B **se obtiene de:**
- a) preparar solución de clorhidrato de rodamina 0.417 mmol y trietilamina 1.25 mmol en 60% de etanol anhidro, en atmósfera de argón;
 - b) añadir hidrato de hidracina 2,09 mmol e incubar en atmósfera de argón;
 - c) enfriar la mezcla, filtrar y eliminar disolvente;
 - d) añadir 75% diclorometano a la mezcla resultante y lavar con agua desionizada;
 - e) secar la fase orgánica con 30% Na₂SO₄ anhidro y purificar compuesto resultante.
7. Proceso para preparar el fluorocromo de moléculas conjugadas de la reivindicación 2 **caracterizado porque** la fluoresceína sódica **se obtiene por:**
- a) disolver fluoresceína 0.5 mmol y bicarbonato de sodio 0.5 mmol en 80% (p/p) de dimetilsulfóxido;
 - b) incubar a temperatura entre 120 y 180°C, enfriar;
 - c) colocar mezcla en solución clorhídrica 2M a T°ambiente;
 - d) extraer la solución anterior con 70% (p/v) diclorometano,
 - e) recoger la fase del diclorometano y eliminar el disolvente de la solución resultante, lavar con agua desionizada;
 - f) recoger el precipitado resultante y disolver en 70% (p/v) diclorometano y secar sobre Na₂SO₄ anhidro;
 - g) eliminar el diclorometano y se obtiene la fluoresceína sódica.
8. Proceso para detectar Hg⁺² con el fluorocromo de la reivindicación 1 **que comprende:**
- a) mezclar [bis(dietilamino)-3-oxospiro[isoindolina-1,9'-xanten]-2-il) imino)-6-hidroxi-3H-xanten-9-yl) ácido benzoico en una concentración de 100 ppm en agua desionizada;

- b) agregar muestra biológica a ensayar en agua desionizada en una proporción 14:100 e incubar a T° ambiente durante 2 horas;
- c) realizar detección de Hg^{+2} en medio acuoso y longitudes de onda entre 490 y 650 nm por fluorescencia con luz UV.

- 9. El proceso para detectar Hg^{+2} con el fluorocromo de la reivindicación 8 **caracterizado porque** la detección de Hg^{+2} de la etapa c) también se puede realizar en medio acuoso y luz natural por percepción visual de color, siendo positiva si hay variación de color de la solución a diferentes grados de rojo, o negativa si se mantiene el color naranja de la solución.
- 10. El proceso para detectar Hg^{+2} con el fluorocromo de la reivindicación 8 **caracterizado porque** la detección de Hg^{+2} de la etapa c) también se puede realizar en medio acuoso por escala colorimétrica en espectrofotometría.
- 11. El proceso para detectar Hg^{+2} con el fluorocromo de la reivindicación 8 **caracterizado porque** la escala colorimétrica o fluorescente es reactiva a partir de una concentración mínima de 0.5 ppm y máxima de 10000 ppm de Hg^{+2} presente en la muestra biológica.
- 12. El proceso para detectar Hg^{+2} con el fluorocromo de la reivindicación 8 **caracterizado porque** la muestra biológica puede ser seleccionada de tejido muscular, branquial, conectivo, renal, pulmonar, hepático, estomacal o epitelial de organismos acuáticos.