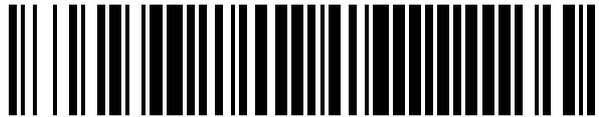


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **1 248 157**

21 Número de solicitud: 202030264

51 Int. Cl.:

C02F 1/50 (2006.01)

12

SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD

U

22 Fecha de presentación:

18.02.2020

43 Fecha de publicación de la solicitud:

02.07.2020

71 Solicitantes:

**ASOCIACIÓN DE INVESTIGACIÓN DE LAS
INDUSTRIAS CERÁMICAS A.I.C.E. (100.0%)
CAMPUS UNIVERSITARIO CARRETERA DE
BORRIOL, KM. 0.7
12004 CASTELLÓN DE LA PLANA (CASTELLÓN) ES**

72 Inventor/es:

**GÓMEZ TENA, María Pilar;
MORENO BERTO, Arnaldo;
RAMÍREZ GALLEYMORE, Paula y
ZUMAQUERO SILVERO, Eulalia**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

54 Título: **PRODUCTO BIOCIDA CON CAPACIDAD BACTERICIDA**

ES 1 248 157 U

DESCRIPCIÓN

PRODUCTO BIOCIDA CON CAPACIDAD BACTERICIDA

5 SECTOR DE LA TÉCNICA Y OBJETO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un producto biocida para desinfección de agua basado en la presencia de plata como elemento desinfectante, así como al dispositivo (un filtro) y la instalación (por ejemplo, grifo) que aloja dicho producto con el fin de
10 depurar y esterilizar el agua. Esta invención se engloba en el campo de la química y la biología, así como en aquellas áreas técnicas donde esta invención es aplicable y de interés particular, como es sobre todo el campo hospitalario y médico, así como cualquier otra área sensible de especial vulnerabilidad al contagio por infección.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El agua corriente y las instalaciones destinadas a su distribución son un potencial reservorio de bacterias, especialmente para aquellas que prefieren un ambiente húmedo para desarrollarse, tales como *Legionella pneumophila* y *Pseudomonas*
20 *aeruginosa*.

Así, el principal riesgo asociado al desarrollo de estas bacterias en instalaciones de conducción de agua son las infecciones nosocomiales o intrahospitalarias (IN), las cuales representan la complicación más común en pacientes hospitalizados, aunque se
25 clora o desinfecta el agua. En concreto, en las unidades de cuidados intensivos (UCI), estas enfermedades suponen alrededor del 21% del total de las IN hospitalarias, lo que conlleva unas importantes connotaciones económicas, asistenciales y clínicas. Los pacientes críticos que sufren una infección presentan mayores índices de mortalidad, así como estancia en UCI y hospitalaria. Concretamente, la mortalidad atribuible de las
30 neumonías asociadas a ventilación mecánica (NAVIM) alcanza un 13%, mientras que la de las bacteriemias relacionadas con catéter (BRC) un 9,4%. Las causas de la aparición de una IN son variadas: pacientes debilitados por su patología de base o proceso agudo, barreras defensivas alteradas por dispositivos invasivos, exposición a múltiples antibióticos con la consecuente presión ecológica y selección de microorganismos

multirresistentes (MMR), y finalmente, por la amenaza de transmisión cruzada y de existencia de reservorios ambientales de bacterias.

5 Existen en el campo de la técnica mecanismos y composiciones que tienen como objetivo la depuración biológica del agua. Entre estos compuestos de depuración, es ampliamente conocido el efecto biocida de la plata, un excelente desinfectante con capacidad bactericida, porque favorece la destrucción de la membrana celular y además inhibe la producción de enzimas y el proceso de replicación de ADN de las bacterias. Existen suspensiones de plata de uso ocular o distintos objetos que incluyen este elemento en su composición para evitar la proliferación de bacterias, como son 10 esmaltes de vidrio cerámico que contienen plata (EP0653161B1), los materiales de vidrio con tratamiento anti-microbiano a partir de compuestos de plata (KR20120117502A) u otros productos de sectores muy diversos (textiles). Dentro del ámbito de superficies, existen soluciones con plata para la desinfección, tales como 15 recubrimientos por plasma de superficies metálicas o baldosas con esmaltes bactericidas, pero estas soluciones no están pensadas para desinfectar (efecto activo), sino para mantener la higiene libre de bacterias de superficies o instrumental.

Entre los dispositivos relacionados con la desinfección, la idea del grifo como elemento 20 suministrador de agua a la vez que depurador y esterilizador se plantea como una solución inmediata y eficaz. Los sistemas de conducción de agua de los centros hospitalarios están especialmente diseñados y monitorizados para evitar la proliferación de *L. pneumophila* (microorganismo responsable de múltiples brotes nosocomiales y extrahospitalarios de gran impacto mediático). Sin embargo, otros patógenos como *P* 25 *aeruginosa* también han protagonizado graves brotes nosocomiales debido a la contaminación del agua corriente de centros sanitarios. Por este motivo sistemas sanitarios como el de Gran Bretaña han establecido consensos y grupos de trabajo para asegurar el correcto tratamiento del agua hospitalaria mediante un diseño adecuado de las conducciones y sifones y un saneamiento basado en la cloración y la temperatura. 30 No obstante, incluso tras el cumplimiento de estas medidas se han descrito brotes nosocomiales secundarios a la contaminación del agua corriente, especialmente en pacientes inmunológicamente vulnerables.

La presente invención trata de resolver los problemas del campo de la técnica, 35 aportando una composición que es un producto con función biocida para la desinfección

del agua, que está basado en un recubrimiento de plata, y que puede alojarse en un dispositivo conectable a una conducción de agua, como puede ser por ejemplo en la boca de salida de un grifo.

5 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Un primer objeto de la presente invención se refiere a un producto o composición biocida con capacidad bactericida para desinfección de líquidos, como puede ser preferentemente el agua, que se compone de:

- 10 - esferas de un material seleccionado entre vidrio o material vitrocerámico, de tamaño micrométrico comprendido entre 400 micras y 1200 micras,
 - recubiertas de una capa que comprende plata como agente bactericida homogéneamente distribuida sobre la superficie de la esfera;

donde la capa de recubrimiento tiene un espesor comprendido entre 2 y 15 micras y
15 está formada por dos subcapas: una subcapa superficial que comprende plata en al menos un 60% en peso del total de la composición de la subcapa; y una subcapa intermedia (también llamada de anclaje) entre la subcapa superficial y la esfera de vidrio, que comprende plata en una cantidad menor al 60% del total de la subcapa, junto a otros elementos; y donde cada esfera comprende una concentración superficial de
20 plata comprendida entre 0,5 y 10 μg de plata/ mm^2 .

La presente memoria también se refiere a las esferas de vidrio o material vitrocerámico como “esferas” o “esferas de vidrio”, por simplificación.

25 El grosor de las capas se midió con un microscopio electrónico de barrido (MEB), mientras que la concentración de plata en la capa (y subcapas) de recubrimiento se midió mediante un microscopio electrónico acoplado a un dispositivo EDAX (ME-EDAX).

30 En base al efecto biocida y bactericida de la plata, el producto objeto de la presente invención funciona como un dispositivo desinfectante de líquidos debido a la liberación de plata por la lixiviación producida por el contacto entre las esferas y el flujo del líquido, como puede ser el agua.

35 En efecto, las esferas, al estar en contacto con el agua u otro líquido, son capaces de liberar iones plata de la capa de recubrimiento, primero de la subcapa superficial, donde

se concentra la mayor parte de la plata, y, una vez que ésta ha desaparecido completamente, de la subcapa intermedia, y lixiviarlos cuando el agua está de forma masiva en contacto con la superficie de las esferas recubiertas. Una vez que los iones plata son liberados en el seno del líquido, estos son capaces de actuar como agente bactericida. Cuanto mayor es el tiempo de contacto entre las esferas recubiertas de plata y el líquido, mayor es también la lixiviación de los iones de plata, actuando sobre el líquido que lo circunda. Cuando el líquido arrastra los iones de plata, estos también puede actuar de agente bactericida para evitar la creación de biofilms en los puntos de uso, ya que cuando pasa el líquido a través de los conductos y dispositivos de distribución que contienen la composición de esferas recubiertas, arrastra los iones plata con él.

De manera preferida, la capa de recubrimiento presenta un espesor de entre 4 y 10 micras, incluidos ambos límites. También preferentemente, la subcapa superficial que está principalmente compuesta de plata presenta un grosor de entre 0,2-2 micras, más preferentemente entre 1-2 micras, incluidos ambos límites.

En cuanto a la composición de esta subcapa superficial, de manera más preferida la cantidad de plata que contiene es de al menos el 80% en peso del total de la composición de la capa de recubrimiento, es decir, se puede afirmar que la subcapa superficial está compuesta de plata.

En lo que concierne a la concentración superficial de plata en la capa de recubrimiento, de manera preferida está comprendida entre 2 y 10 μg de plata/ mm^2 , más preferentemente aún entre 2 y 7 μg de plata/ mm^2 . La concentración de plata en la superficie de la esfera es tolerable para consumo humano, una vez liberada y lixiviada por acción del agua a esterilizar. Debe considerarse que cualquier valor por debajo de 0,1 mg de plata por litro de agua es una cantidad tolerable para consumo humano por la Agencia de Protección Medioambiental y por la Organización Mundial de la Salud. Por ejemplo, 10 gramos del producto que se describe, que contienen unas 8500-9000 esferas y que son utilizadas para desinfectar en medio litro de agua, representan una cantidad de 0,04 mg de plata por litro. Más preferentemente, la concentración de plata superficial en cada esfera es de 5 μg plata/ mm^2 por esfera.

La plata se encuentra así concentrada en la capa de recubrimiento de la microesfera, sobre todo en la subcapa superficial (y en menor medida en la subcapa intermedia) y no en la masa o centro de la esfera, como ocurre en otras composiciones similares de vidrios con plata, donde la plata está inerte y no tiene ningún efecto en el líquido con el que entra en contacto la composición. Esto favorece, por un lado, la disponibilidad de la plata para desinfección debido a su mayor disponibilidad para su lixiviación. Este es uno de los principales factores diferenciadores del producto con respecto a otras soluciones de vidrios con plata. A igualdad de concentración global en estas esferas y en otras composiciones de vidrio y plata, la presente invención presenta en superficie una concentración en plata mucho más alta, como se aprecia en la Figura 9.

Por otro lado, además de la zona externa de la capa del recubrimiento, que es muy rica en plata, dicho recubrimiento dispone también de una zona intermedia entre la esfera y la subcapa superficial, que se configura como el núcleo de la capa que recubre la esfera, que es también rica en plata pero en menor cantidad que la subcapa superficial. Esta división estructural de la capa de recubrimiento también hace diferente esta invención a otras soluciones existentes, tales como los recubrimientos con plasma, ya que se ha visto que se mejora el anclaje de la capa superior formada de plata. Esa consecuencia es muy ventajosa: aunque la esfera tuviera una alta disponibilidad de plata en superficie, si dicha plata no estuviera retenida en parte en la capa de recubrimiento de la esfera, se lixiviaría completamente de forma muy rápida. Sin embargo, al estar en parte anclada o retenida a la subcapa intermedia, la liberación de iones plata es más lenta y por tanto, efectiva en el tiempo. Además, cuando la subcapa superficial se lixivia totalmente, la subcapa intermedia, ahora en la parte superficial de la esfera, libera la plata que contiene, alargando más aún en el tiempo el efecto bactericida de las esferas.

Estas subcapas, además de plata, también contienen otros elementos, que actúan de soporte de la estructura de las subcapas. Así, de manera preferida, la capa de recubrimiento comprende uno o más de los elementos seleccionados dentro del grupo compuesto por: carbono, oxígeno, sodio, magnesio, aluminio, silicio, calcio y cualquier combinación de todos ellos. En las imágenes de microscopía electrónica de barrido realizadas, se observa que la subcapa superficial de la capa de recubrimiento está formada fundamentalmente de plata (Figura 4), y se encuentra anclada a las microesferas de material vítreo mediante una zona o capa intermedia (inmediatamente

inferior a la otra y que se interpone entre la parte superior de la capa y la esfera de vidrio), que comprende plata además de otros componentes

5 Por ejemplo, la subcapa intermedia presenta una cantidad alta de silicio, oxígeno y sodio, siendo menor la de plata (ver Figura 6), mientras que la subcapa superficial presenta una concentración de plata alta, mucho mayor que la de la subcapa intermedia así como del resto de componentes que conforman la estructura de dicha subcapa superficial, como carbono, oxígeno y silicio (ver Figura 5). Las Figuras 5 y 6 muestran los patrones de difracción de rayos X de ambos materiales.

10

En cuanto al diámetro de las esferas, en una realización particular, éstas presentan un diámetro de entre 400-600 micras, incluidos ambos límites; en otra realización, el diámetro de las esferas está comprendido entre 700 y 1200 micras, incluidos ambos límites; y en otro caso particular, el diámetro de las esferas está preferentemente
15 comprendido entre 1000 micras (1 mm) y 1200 micras, incluidos ambos límites, por lo que podría ser más preferentemente aún de 1000 micras. En una realización concreta de la invención, las esferas son de vidrio de borosilicato; en este caso concreto, el diámetro más preferido de las esferas es de 1 milímetro.

20 Debido al tamaño de las microesferas, se puede afirmar que 1 gramo de producto biocida contiene unas 850 microesferas.

Se describe a continuación un método de preparación y obtención del producto biocida con capacidad bactericida definido anteriormente, en cualquiera de sus variantes, que
25 está formado por microesferas de vidrio o material vitrocerámico recubiertas con una capa que comprende plata. El método comprende las siguientes etapas:

- a) mezclar, mediante rotación, las microesferas y una suspensión acuosa de un compuesto de plata seleccionado entre plata coloidal o nitrato de plata (AgNO_3), siendo la concentración de plata en la suspensión de entre 0,5%-1,0% de plata
30 (preferentemente 0,6%); y donde la mezcla se realiza en una proporción en peso de microesferas y de suspensión acuosa de plata comprendida entre 1:1 y 1:4 (más preferentemente de 1:2);
- b) simultáneamente, someter la mezcla a un tratamiento térmico de evaporación gradual del líquido de la mezcla, a una temperatura comprendida entre 45° y

90°C (preferentemente 65°C), hasta que se evapora el líquido y conseguir un producto sólido intermedio formado por las microesferas recubiertas de plata; y

- c) someter a tratamiento térmico de calcinación las microesferas recubiertas de plata, a una temperatura comprendida entre 600°C-700°C, a una velocidad de calentamiento gradual comprendida entre 5°C y 50°C, siendo preferentemente de entre 20-25°C/min.

Las fuentes de plata seleccionadas para formar el recubrimiento son las que permiten que dicho elemento, tras el proceso de fabricación, quede formando parte de la capa de recubrimiento homogénea, sobre todo en su parte o subcapa superficial. Generalmente, se conoce como plata coloidal a una suspensión líquida de nanopartículas de plata. En una realización preferida, la capa de recubrimiento que es de plata coloidal está formada por nanopartículas de plata metálica cargada eléctricamente en forma de átomos.

La velocidad de rotación está comprendida preferentemente entre 20 y 100 rpm, medida con un tacómetro digital. Gracias a la rotación aplicada a la mezcla durante la aplicación del tratamiento térmico, se consigue al final obtener un producto sólido formado por las microesferas que están recubiertas todas ellas y de forma homogénea por la capa que contiene plata.

En un ejemplo ilustrativo, el tratamiento térmico se lleva a cabo con una lámpara infrarrojos, y se controla la temperatura de la mezcla con un dispositivo diseñado para tal fin, como un termopar.

Gracias a la etapa final de tratamiento térmico de calcinación, y tras haber recubierto las microesferas con el compuesto de plata, se consigue que dicho recubrimiento quede más integrado en la estructura del vidrio o material vitrocerámico, al formarse una subcapa intermedia donde se funden los elementos de la fuente de plata y los elementos del vidrio o material vitrocerámico, que hace de transición hacia la subcapa superficial de plata. De este modo, el efecto bactericida es más duradero en el tiempo (se ralentiza la liberación por lixiviación) cuando las microesferas se ponen en contacto con el agua a desinfectar. Efectivamente, como se ha explicado anteriormente, la capa está formada por diferentes elementos, entre los que resalta la plata, por su importancia para el objeto de esta invención, pero también otros que proceden o bien del compuesto

utilizado como fuente de plata como de la propia microesfera. La plata, gracias a este tratamiento, se concentra principalmente en la parte superior de la capa de recubrimiento, mientras que restos de plata se combinan con otros elementos en la zona más próxima de la capa a la microesfera.

5

La temperatura máxima de calcinación más preferida es de 650°C.

Otro objeto de la presente invención consiste en un filtro desinfectante de líquido, especialmente de agua, que comprende un recipiente que aloja como elemento filtrante las microesferas de vidrio o material vitrocerámico recubiertas de plata antes descritas, en cualquiera de sus variantes.

Asimismo, es objeto de protección un difusor o aireador de grifos que aloja en su interior un filtro desinfectante de agua como el descrito anteriormente, donde el elemento filtrante está formado por las microesferas recubiertas de plata. En una realización preferida, este difusor comprende un filtro desinfectante donde el elemento filtrante es una cantidad de 10 gramos de esferas recubiertas de plata como las descritas aquí.

El grifo que incorpora este producto biocida permite esterilizar el agua en puntos específicos de interés por el riesgo potencial que puede suponer el agua contaminada, como son las zonas especialmente vulnerables o sensibles: UCIs, unidades de quemados y de trasplante de órganos, hematología, etc.

Otro objeto de protección es el uso de la composición antes descrita, en cualquiera de sus variantes, como agente biocida con capacidad bactericida en líquidos, preferiblemente de agua. Asimismo, este uso se extiende al efecto bactericida en conductos y dispositivos de distribución de líquidos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

30

La Figura 1 muestra imágenes con microscopio electrónico (escala x10.000) de dos microesferas recubiertas de plata de acuerdo con la presente invención. Se ha empleado la técnica de microscopía electrónica de barrido. A la izquierda, sección de una microesfera recubierta de plata que ha sido obtenido a partir de plata coloidal como fuente de dicho elemento y, a la derecha, sección de una microesfera con capa de plata

35

formada a partir de plata iónica (nitrato de plata). En gris, se observa el vidrio, y en blanco, la capa de plata). Se puede apreciar en la Figura 1 que la plata se concentra en la superficie de las microesferas, en forma de recubrimiento, mostrándose la plata por la presencia del color más blanquecino. Se puede apreciar en ambas imágenes una
5 zona más oscura correspondiente a la base utilizada para realizar el recubrimiento, una zona intermedia de mayor concentración de plata al acercarse a la superficie y una parte brillante superficial cuya composición se corresponde prácticamente con plata.

La Figura 2 muestra imágenes con microscopio electrónico (escala x10.000) de dos
10 microesferas recubiertas de compuesto de plata de acuerdo con la presente invención. Se ha empleado la técnica de microscopía electrónica de barrido. A la izquierda, superficie de una microesfera cubierta con plata que se ha obtenido a partir de plata coloidal y, a la derecha, sección de una microesfera con capa de plata formada a partir de plata iónica (nitrato de plata). Con esta imagen se puede comprobar que la plata que
15 contienen estas microesferas se concentra en la superficie, lo que las hace más efectivas como desinfectantes que otras soluciones existentes de esmaltes con plata. El recubrimiento superior está anclado a las microesferas de vidrio mediante una capa intermedia con plata además de otros elementos, lo cual también lo hace diferente a otras soluciones existentes, tales como los recubrimientos con plasma, ya que se
20 mejora el anclaje de la capa superior.

La Figura 3 muestra una esfera de vidrio en sección transversal en el MEB (x1000 y x10000 aumentos) después de someterse a lixiviado, con una subcapa intermedia o de anclaje (delgada línea gris en la superficie de la esfera), sobre la que no hay subcapa
25 superficial de plata porque ha sido completamente arrastrada por el agua.

La Figura 4 muestra una esfera de vidrio en sección transversal en el MEB (x1000 y x10000 aumentos) antes del lixiviado, recubierta con una subcapa de plata que aparece en color blanco brillante, sobre una capa gris que es la subcapa intermedia que la
30 sostiene.

La Figura 5 muestra el patrón de difracción de rayos X de la subcapa superficial de plata de la capa de recubrimiento, donde se observa la alta presencia de plata y la menor aparición de otros elementos.
35

La Figura 6 muestra el patrón de difracción de rayos X de la subcapa intermedia de la capa de recubrimiento, donde se observa una baja presencia de plata y una mayor presencia y diversidad de otros elementos que configuran la estructura de dicha subcapa.

5

La Figura 7 muestra los resultados del experimento de lixiviación en discontinuo descritos en el Ejemplo 2, representando la plata solubilizada en mg/L en relación con el número de extracciones. La línea con el símbolo cuadrado representa las microesferas denominadas R-Ag1; la línea con el símbolo circular representa las microesferas denominadas R-Ag2; y la línea con el símbolo triangular representa las microesferas denominadas R-Ag3, siendo R-Ag1, 2 y 3 tres experimentos diferentes de recubrimientos. Tras ser lavadas las microesferas para eliminar el exceso de plata no anclado, las mismas bolas se sometieron a diferentes experimentos de lixiviación de 15 minutos. Tal y como se advierte en los experimentos, las microesferas son capaces de lixiviar plata significativamente durante los diferentes experimentos y de forma prácticamente constante, lo que verifica que las bolas son activas y son capaces de lixiviar con cada carga diferente de agua nueva.

La Figura 8 muestra los resultados del experimento de lixiviación en continuo descritos en el Ejemplo 2, representando la plata solubilizada en mg/L en relación con el tiempo. La línea con el símbolo cuadrado representa las microesferas denominadas R-Ag4; la línea con el símbolo circular representa las microesferas denominadas R-Ag5; y la línea con el símbolo triangular representa las microesferas denominadas R-Ag6. En estos experimentos a diferencia de los llevados a cabo en la figura 3, después de lavar las microesferas para eliminar el exceso de plata no anclado, se mantiene la misma suspensión líquida y se registra la variación de plata con el tiempo. Con esta figura se aprecia que la plata del recubrimiento no está anclada de forma permanente, sino que es capaz de lixiviarse en una suspensión acuosa. Si aumenta el tiempo de lixiviación, aumenta la cantidad de plata que se desprende al medio hasta llegar a un valor asintótico, es decir, pasado un determinado tiempo ya no se sigue lixiviando más plata, se llega al equilibrio. Aún a tiempos largos, la concentración lixiviada es tal que no supone un riesgo para la salud, ya que tras el paso de agua, esta concentración sufre una dilución.

La Figura 9 muestra una gráfica con los resultados del recuento de células viables de *Pseudomonas aeruginosa* en agua estéril a tiempo 0 y tras la exposición a esferas cubiertas con plata obtenidas a partir de plata coloidal o con nitrato de plata durante 5, 30 y 60 minutos. En negro se muestra el recuento en la prueba control, el rayado fino las recubiertas con plata procedente de nitrato de plata y las barras punteadas, las esferas recubiertas de plata procedente de plata coloidal.

La Figura 10 muestra una gráfica con los resultados del recuento de células viables de *Staphylococcus aureus* en agua estéril a tiempo 0 y tras la exposición a esferas cubiertas con plata obtenidas a partir de plata coloidal o con nitrato de plata durante 5, 30 y 60 minutos. En negro se muestra el recuento en la prueba control, el rayado fino las recubiertas con plata procedente de nitrato de plata y las barras punteadas, las esferas recubiertas de plata procedente de plata coloidal.

La Figura 11 muestra una gráfica con los resultados del recuento de células viables de *Candida albicans* en agua estéril a tiempo 0 y tras la exposición a esferas cubiertas con plata obtenidas a partir de plata coloidal o con nitrato de plata durante 5, 30 y 60 minutos. En negro se muestra el recuento en la prueba control, el rayado fino las recubiertas con plata procedente de nitrato de plata y las barras punteadas, las esferas recubiertas de plata procedente de plata coloidal.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Preparación de productos biocidas de acuerdo con la presente invención partiendo de esferas de diferente diámetro y compuestos de plata diferentes para el recubrimiento

1.1. Materiales

Para el producto de soporte de la plata, se seleccionaron diferentes materiales vítreos en forma de esfera (microesferas) suministrado por Sigma Aldrich:

- d) *Glass beads* (G1152). Perlas de vidrio con tamaño de esfera en el intervalo de 710 micras a 1180 micras;
- e) *Glass beads* (G9268). Perlas de vidrio con tamaño de esfera en el intervalo de 425 micras a 600 micras; y
- f) *Borosilicate solid-glass beads* (Z273619-1EA). Perlas de vidrio de borosilicato con tamaño de esfera aproximado de 1 mm.

Para los compuestos de plata, se seleccionaron concretamente dos diferentes para preparar disoluciones y recubrir las microesferas, suministradas por Sigma-Aldrich: nitrato de plata (AgNO_3) y plata coloidal.

- 5 Se prepararon suspensiones en base acuosa a partir de ambos compuestos de plata por separado.

1.2. Procedimiento de aplicación de recubrimientos bactericidas

10 Se diseñó un equipamiento experimental para que la aplicación de los recubrimientos de plata en las esferas fuera lo más homogénea posible, antes de proceder a la siguiente etapa de tratamiento térmico: el mecanismo consistía en verter la suspensión del compuesto de plata (nitrato de plata o plata coloidal) en un recipiente junto con las esferas de material vítreo, y generar un movimiento rotatorio dentro del mismo, y a su vez someter la mezcla a tratamiento térmico suave de entre 45°C y 90°C , en este caso
15 concreto 65°C , para evaporar la suspensión de forma gradual. Para ello, se utilizaron lámparas de infrarrojo, midiendo la temperatura a la que se encontraba el interior del recipiente con la mezcla mediante un termopar. De esta forma, se consiguió producir sobre todas las esferas un recubrimiento homogéneo, bien de partículas de plata o bien de nitrato de plata según el material de partida.

20 Para optimizar la aplicación del recubrimiento se estudiaron variables como: la concentración de las suspensiones, la cantidad de microesferas a recubrir, la velocidad de rotación aplicada a la mezcla, el tipo de disolvente (acuoso u orgánico) así como la temperatura de evaporación del disolvente. Las concentraciones

25 Se evaluaron los recubrimientos obtenidos utilizando suspensiones con diferentes concentraciones 100 – 10000 mg/L, siendo las más concentradas, superiores a 500 mg/L, las más efectivas para obtener buenos recubrimientos, siendo concentraciones de 6000 mg/L las que aportan las mejores condiciones. En la relación en peso
30 microesferas/suspensión, se probaron diferentes relaciones 1:1 a 1:10, siendo la óptima la 1:2 relación de peso microesferas:suspensión líquida. Por su parte, la velocidad de rotación se ajustó para que hubiera un movimiento continuo de las microesferas y optimizar así el recubrimiento de la superficie esférica de las microesferas. Asimismo, se evaluó si la suspensión utilizada para realizar el recubrimiento era óptima en base
35 acuosa u orgánica, siendo la de base acuosa la óptima para realizar los recubrimientos.

- Posteriormente, las microesferas recubiertas con plata coloidal o con nitrato de plata fueron sometidas posteriormente a un tratamiento térmico de calcinación, a una temperatura comprendida entre 600°C y 700°C en un horno de laboratorio a una
- 5 velocidad de calentamiento de 25°C/min , que es una de las temperaturas preferidas en la presente invención y aplicable a toda la descripción aquí aportada, para que el recubrimiento quedara más integrado en el vidrio y el efecto bactericida fuera más duradero con el tiempo cuando las microesferas se encuentren dentro del grifo.
- 10 Con el fin de optimizar la temperatura máxima de este tratamiento térmico de calcinación de las microesferas recubiertas, se realizó un ensayo de fusión de las mismas utilizando un microscopio de calefacción para determinar las temperaturas características de reblandecimiento, semiesfera y fusión. Se concluyó así que las microesferas “Glass beads 710-1180 micras” tenían un comportamiento mejor frente al
- 15 anclaje de la plata y creación del recubrimiento que las microesferas “Borosilicate solid glass beads”, ya que eran más fundentes y se generaba mejor la capa de plata. Por este motivo, se seleccionaron las microesferas “Glass beads 710-1180 micras” como preferidas para realizar las tareas de recubrimiento.
- 20 Tras realizar diferentes pruebas experimentales, se concluyó que las condiciones óptimas para el tratamiento térmico de calcinación era una temperatura máxima de 650°C, que fue la que se aplicó en este experimento.

Ejemplo 2: Estudio de liberación de plata por lixiviación al aplicar las microesferas al agua para desinfección

25 Se prepararon tres tipos diferentes de microesferas recubiertas, según las condiciones antes descritas en el Ejemplo 1:

- Tipo 1, llamado R-Ag1: material vítreo con recubrimiento basado en plata coloidal. Concentración de plata de 2 µgAg/mm².

30

- Tipo 2, llamado R-Ag2: material vítreo con recubrimiento basado en nitrato de plata. Concentración de plata de 2 µgAg/mm².
- Tipo 3, llamado R-Ag3: material vítreo con recubrimiento basado en nitrato de plata. Concentración de plata de 7 µgAg/mm².

Estas microesferas tenían un tamaño medio de 1mm de diámetro, es decir una superficie de unos 3 mm².

Análisis de lixiviación en discontinuo

5 Para llevar a cabo el estudio de lixiviación en discontinuo, se dejaron reposar en un recipiente 25 ml de agua con 10 gramos del producto (entre 8500 y 9000 esferas), durante 15 minutos.

10 Los resultados obtenidos, que se muestran en la figura 3, confirman que las microesferas son activas lixiviando plata, que es el agente bactericida y lo hacen de forma contralada y homogéneamente. Un deficiente anclaje hubiera hecho que las lixivaciones no fueran homogéneas con el tiempo y disminuyera con éste. Un anclaje muy fuerte e integrado en el vidrio hubiera hecho que la lixiviación de plata fuera prácticamente nula.

15

Análisis de lixiviación en continuo

En el análisis en continuo, cuyos resultados se muestran en la Figura 4, se evaluó la cantidad de plata que pasaba a la fase líquida para ejercer su efecto bactericida con el tiempo. Es decir, se mezcló agua (500 ml) con las microesferas de plata y se registró la
20 cantidad de plata con el tiempo hasta un máximo de 24 horas. Durante las primeras horas aumentó ligeramente la concentración, pero pasadas 8 horas se mantuvo la concentración prácticamente invariable. Esta concentración no suponía una concentración excesiva.

25 Los resultados obtenidos, que se muestran en la Figura 4, confirman que las microesferas son capaces de lixiviar cationes de plata con capacidad bactericidas, pero alcanzando un máximo que apenas varía con el tiempo (se llega al equilibrio).

Ejemplo 3: Estudio de la capacidad de desinfección en agua del producto objeto de la presente invención

30 Se evaluó la actividad de 10 gramos de composición bactericida, formada por las microesferas recubiertas con una capa de plata, formada a partir de plata coloidal o de Nitrato de plata, sobre células planctónicas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* en agua destilada estéril.

35

Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente, en botellas de 0,5 litros sometidas a agitación magnética. Los tiempos de exposición fueron 5, 30 y 60 minutos.

Se cuantificó el número de células viables en el agua al inicio del experimento (tiempo 0) y posteriormente se añadió al agua 10 gramos de composición de microesferas recubiertas de plata, obtenidas a partir de plata coloidal o de Nitrato de plata según el ensayo. Como control se utilizó una botella de 0,5 litros con 10 gramos de esferas de vidrio, sin recubrimiento, sometidas a la misma velocidad de agitación vorticial, tiempo y temperatura que los ensayos con microesferas recubiertas de plata.

Los resultados se muestran en las siguientes tablas, así como en las Figuras 7, 8 y 9:

Tabla 1. Recuentos de células viables de *Pseudomonas aeruginosa* recuperadas del agua destilada a tiempo 0 y tras la exposición a esferas recubiertas de plata preparadas a partir de plata coloidal y de nitrato de plata

Tiempo (min)	Log ₁₀ ufc/ml		
	Control	Nitrato de Plata	Plata coloidal
0	4,87	5,30	4,28
5	4,96	4,80	0,00
30	4,99	0,00	0,00
60	4,86	0,00	0,00

Tabla 2. Recuentos de células viables de *Staphylococcus aureus* recuperadas del agua destilada a tiempo 0 y tras la exposición a esferas recubiertas de plata preparadas a partir de plata coloidal y de nitrato de plata

Tiempo (min)	Log ₁₀ ufc/ml		
	Control	Nitrato Plata	Ag coloidal
0	4,84	4,55	5,16
5	4,99	4,77	4,83
30	4,81	4,69	3,93
60	5,18	4,28	3,16

Tabla 3. Recuentos de células viables de *Candida albicans* recuperadas del agua destilada a tiempo 0 y tras la exposición a esferas recubiertas de plata preparadas a partir de plata coloidal y de nitrato de plata

5	Tiempo (min)	Log ₁₀ ufc/ml		
		Control	Nitrato Plata	Ag coloidal
	0	3,84	3,93	4,12
	5	3,93	3,76	4,05
	30	3,81	3,67	1,85
	60	3,84	3,11	1,00

10 Tal y como se desprende, las microesferas de acuerdo con la presente invención poseen una actividad bactericida tanto para *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* como para *Candida albicans*. No obstante, el efecto es mayor para *Pseudomonas aeruginosa*, seguido de *Candida albicans* y por último el menor efecto bactericida se aprecia para *Staphylococcus aureus*. Si se compara el efecto bactericida
 15 de los recubrimientos de origen plata iónica y plata coloidal, se observa que parece ser más efectivo el recubrimiento de plata coloidal.

Por tanto, las microesferas de vidrio poseen un efecto bactericida en contacto con disoluciones inoculadas con *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y
 20 *Candida albicans*, siendo más efectivos sobre *Pseudomonas aeruginosa*, y observando que la plata del recubrimiento realizado a partir de plata coloidal es también más efectivo.

REIVINDICACIONES

1. Un producto biocida con capacidad bactericida para desinfección de líquidos, que se compone de:

- 5
- esferas de un material seleccionado entre vidrio o material vitrocerámico, de tamaño micrométrico comprendido entre 400 micras y 1200 micras,
 - recubiertas de una capa que comprende plata como agente bactericida homogéneamente distribuida sobre la superficie de la esfera;

10 donde la capa de recubrimiento tiene un espesor comprendido entre 2 y 15 micras y está formada por dos subcapas: una subcapa superficial que comprende plata en al menos un 60% en peso del total de la composición de la subcapa; y una subcapa intermedia entre la subcapa superficial y la esfera, que comprende plata en una cantidad menor al 60% del total de la subcapa, junto a otros elementos; y donde cada esfera comprende una concentración superficial de plata comprendida entre 0,5 y 10 μg de plata/ mm^2 .

15

2. El producto biocida de la reivindicación 1, donde la capa de recubrimiento presenta un espesor de entre 4 y 10 micras, incluidos ambos límites.

20 3. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, donde la subcapa superficial presenta un grosor de entre 0,2-2 micras, incluidos ambos límites.

4. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la subcapa superficial presenta un contenido de plata de al menos el 80% en peso del total de la composición de la capa de recubrimiento.

25

5. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la concentración superficial de plata en la capa de recubrimiento está comprendida entre 2 y 10 μg de plata/ mm^2 .

30

6. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde la capa de recubrimiento comprende uno o más de los elementos seleccionados dentro del grupo compuesto por: carbono, oxígeno, sodio, magnesio, aluminio, silicio, calcio y cualquier combinación de todos ellos.

35

7. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde las esferas presentan un diámetro de entre 400-600 micras, incluidos ambos límites.

5 8. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde las esferas presentan un diámetro de entre 700-1200 micras, incluidos ambos límites.

9. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde las esferas presentan un diámetro comprendido entre 1000-1200 micras, incluidos ambos límites.

10

10. El producto biocida según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la capa de recubrimiento de plata se obtiene a partir de un material de partida seleccionado entre plata coloidal y nitrato de plata.

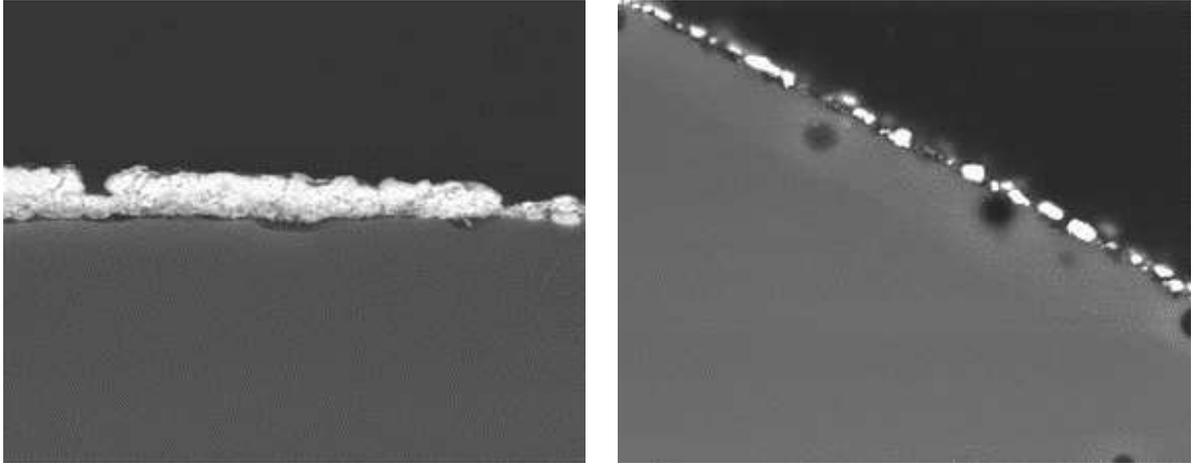


FIG. 1

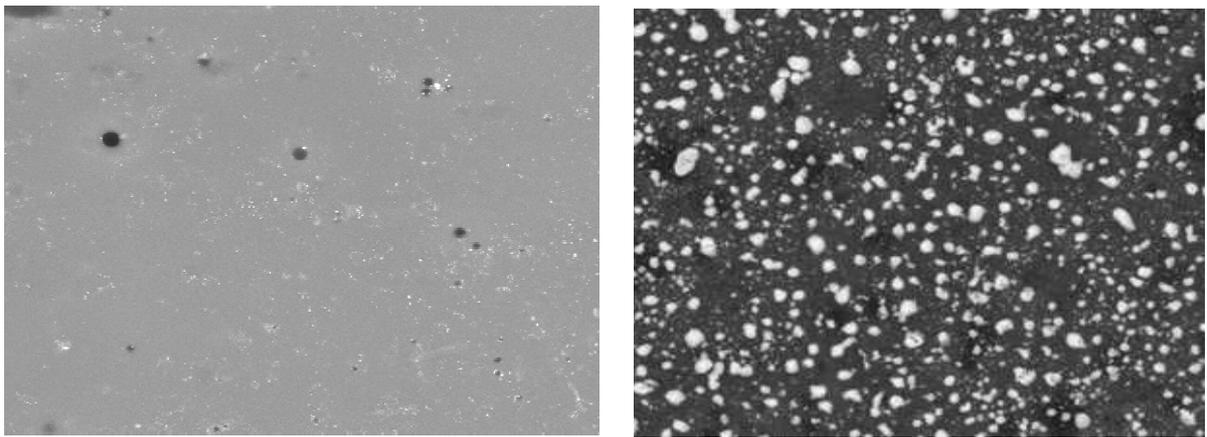


FIG. 2

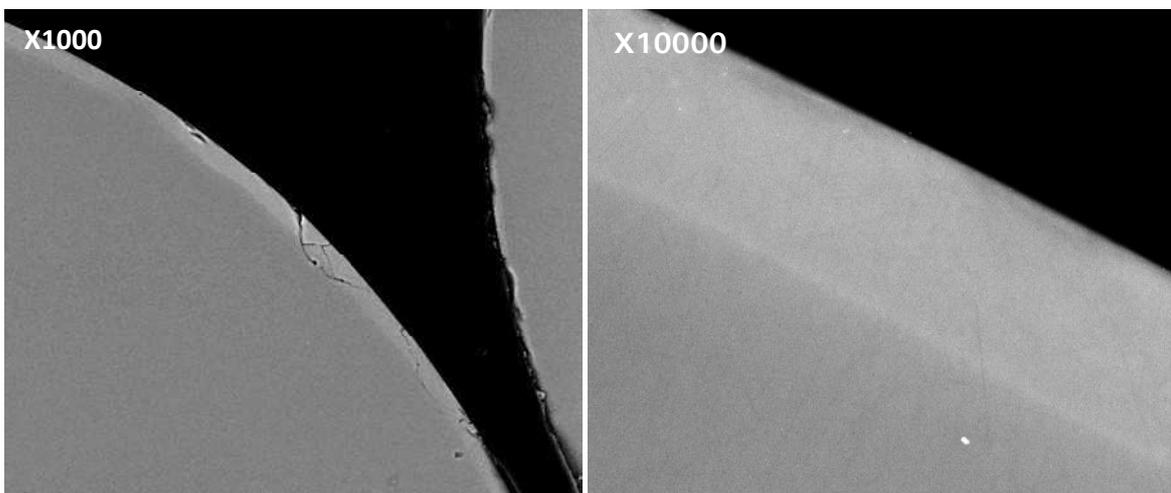


FIG. 3

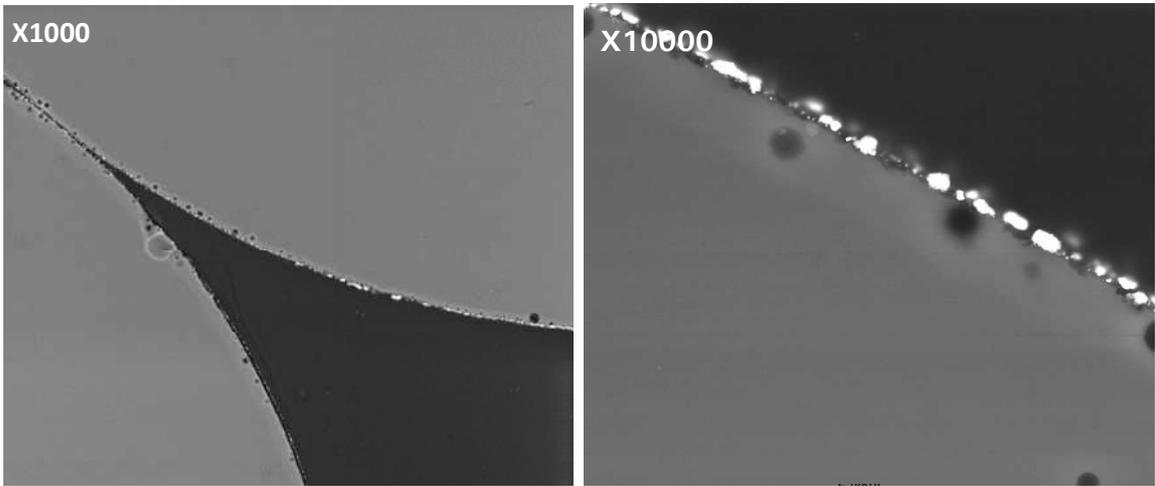


FIG. 4

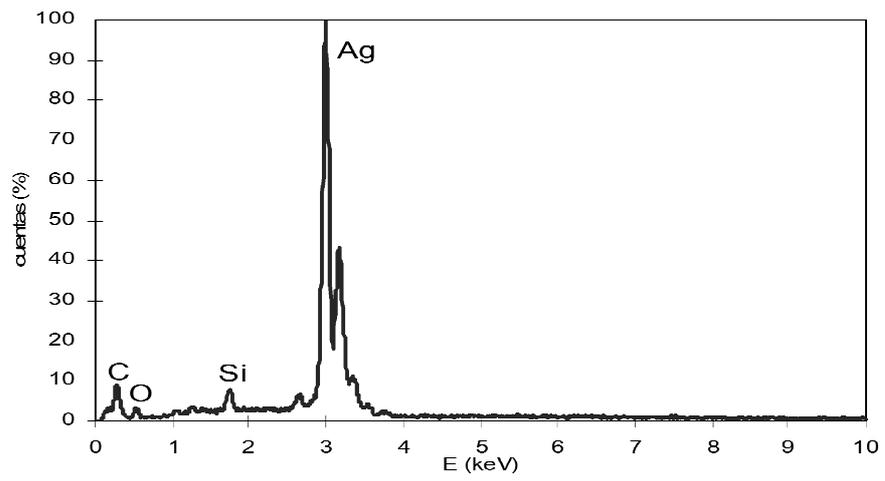


FIG. 5

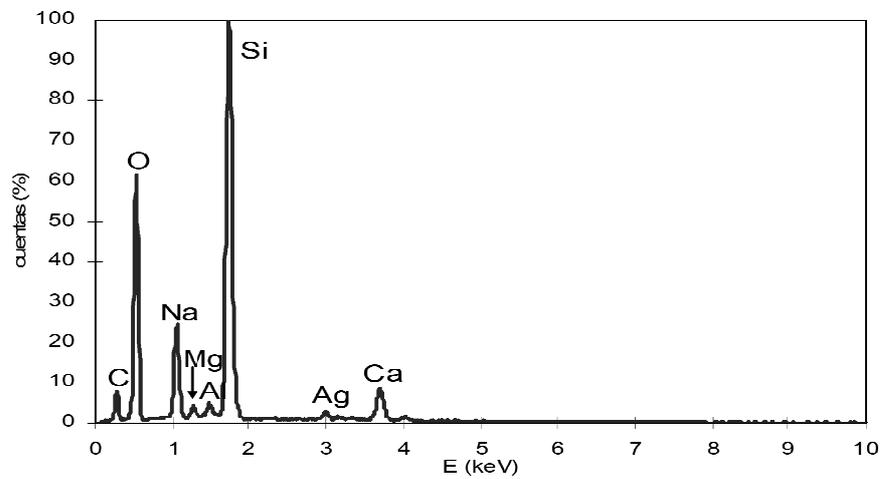


FIG. 6

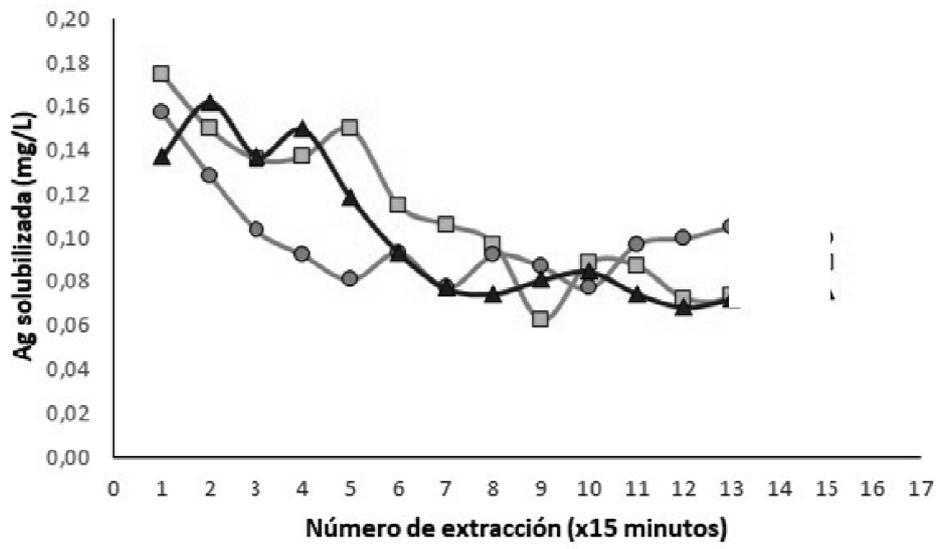


FIG. 7

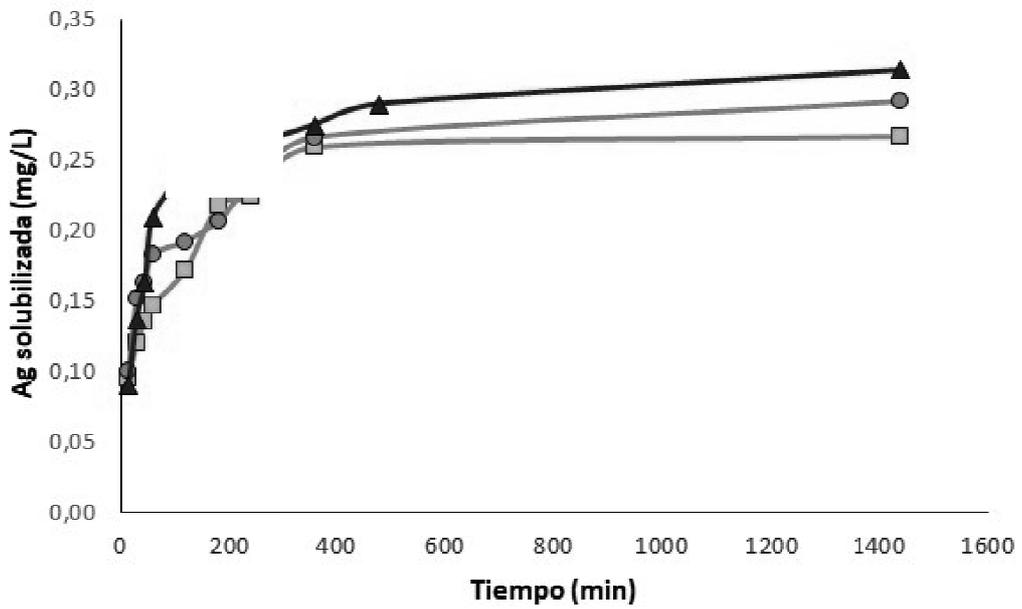


FIG. 8

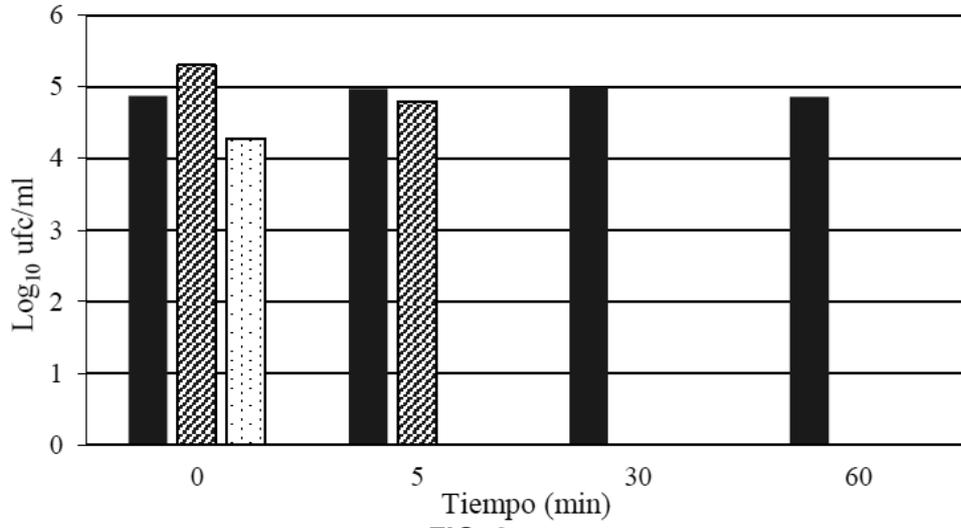


FIG. 9

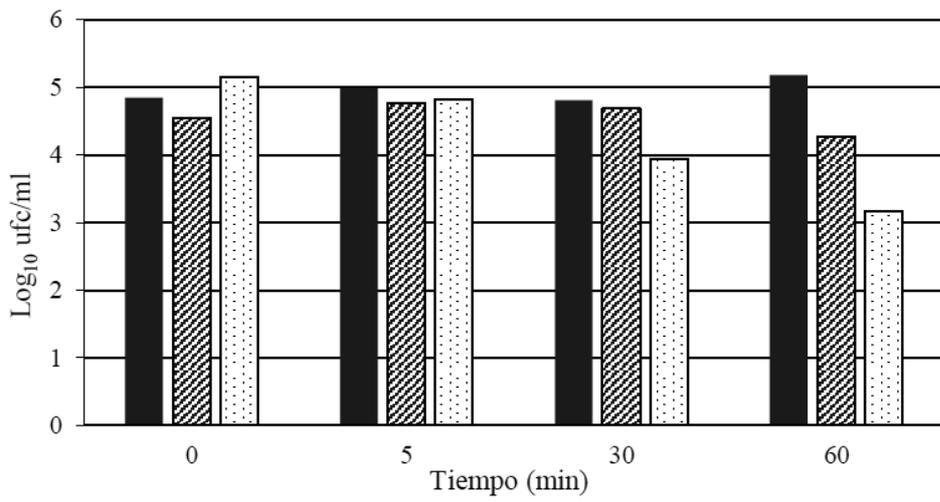


FIG. 10

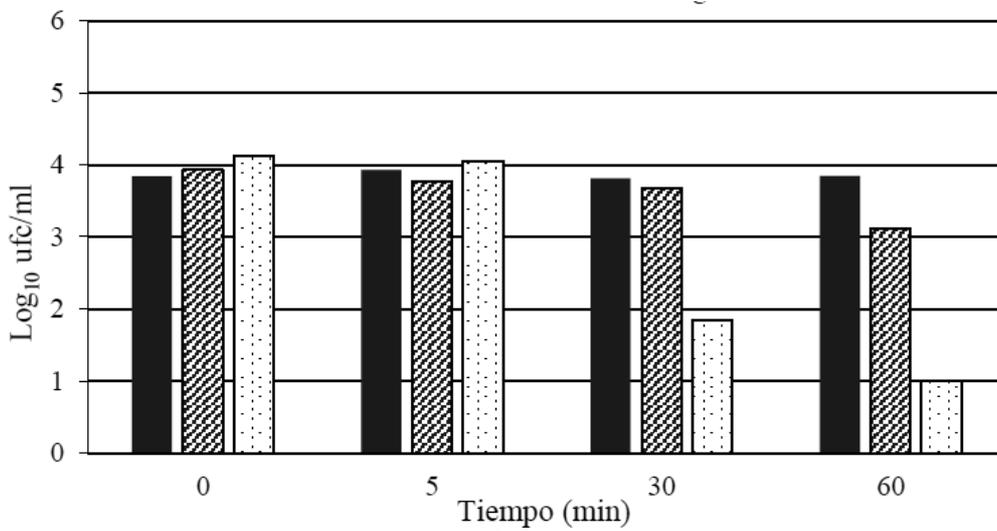


FIG. 11