



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 292 319**

(21) Número de solicitud: 200502436

(51) Int. Cl.:

**G01N 33/00** (2006.01)

**G01N 27/00** (2006.01)

(12)

## PATENTE DE INVENCION

B1

(22) Fecha de presentación: **30.09.2005**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **01.03.2008**

Fecha de la concesión: **06.05.2009**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **05.06.2009**

(55) Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**05.06.2009**

(73) Titular/es: **Universidad de Oviedo**  
**Plaza del Riego, 4 - Edificio Histórico**  
**33003 Oviedo, Asturias, ES**

(72) Inventor/es: **Costa García, Agustín;**  
**González García, María Begoña y**  
**Hernández Santos, David**

(74) Agente: **No consta**

(54) Título: **Uso de mercurio como elemento sensibilizador en determinaciones electrocatalíticas no enzimáticas con electrodos de carbono.**

(57) Resumen:

Uso de mercurio como elemento sensibilizador en determinaciones electrocatalíticas no enzimáticas con electrodos de carbono. La electrodeposición de mercurio sobre un electrodo de carbono es catalizada por oro y otros metales como depositados en la superficie del electrodo. La determinación electrocatalítica de estos metales o de sus complejos en disolución combina de manera adecuada una preconcentración de los mismos por reducción al estado fundamental sobre un electrodo de carbono, con la catálisis que estos metales ejercen sobre la reducción del mercurio en disolución. Estos dos efectos provocados sobre la superficie de un electrodo de carbono hacen que se puedan determinar concentraciones muy bajas de los citados metales en disolución.

ES 2 292 319 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

## DESCRIPCIÓN

Mercurio como elemento sensibilizador en determinaciones electrocatalíticas no enzimáticas con electrodos de carbono.

**5 Antecedentes de la invención**

La electrodeposición de metales sobre la superficie de un electrodo es el método más sencillo y más empleado para provocar procesos electrocatalíticos sobre la superficie de dichos electrodos. Muchos son los ejemplos de procesos electrocatalíticos llevados a cabo empleando electrodos modificados de este modo. En muchas ocasiones, los responsables de las propiedades electrocatalíticas de los electrodos modificados no son los metales en sí, sino derivados de éstos (por ejemplo, óxidos metálicos) que se forman en la superficie electródica.

La electrodeposición de un metal se puede conseguir aplicando un potencial adecuado durante un determinado tiempo. Sin embargo, cuando se modifican electrodos con fines electrocatalíticos la metodología empleada en la mayoría de los casos implica, después de un pretratamiento inicial del electrodo, la aplicación de sucesivos ciclos de potencial en un intervalo apropiado para la electrodeposición del metal. Así, siguiendo esta metodología para modificar un electrodo de carbono vitrificado con óxidos de molibdeno, se ha estudiado la reducción electrocatalítica del anión yodato (L. Kosminsky, M. Bertotti, *J. Electroanal. Chem.*, 1997, 471, 37). Del mismo modo electrodos de carbono vitrificado con paladio electrodepositado han sido utilizados como superficies electrocatalíticas para la determinación de ácido oxálico (I.G. Casella, C.G. Zambonin, F. Prete, *J. Chromatogr. A*, 1999, 833, 75) y óxido nitroso (B. Wang, X.L. Li, *Anal. Chem.*, 1998, 70, 2181) en medio acuoso. Diversos alcoholes (metanol, etanol, isopropanol y butanol) y azúcares (glucosa, sacarosa y lactosa) han sido oxidados electrocatalíticamente gracias a la modificación de la superficie de un electrodo de carbono vitrificado con óxido de níquel (S. Berchmans, H. Gomathi, G. Prabhakara Rao, *J. Electroanal. Chem.*, 1995, 394, 267).

Uno de los metales más utilizados en procesos electrocatalíticos es el platino. Electrodos modificados con este metal han sido utilizados para la oxidación de metanol (A.A. Mikhaylova, O.A. Khazova, V.S. Bagotzky, *J. Electroanal. Chem.*, 2000, 480, 225; Y. Takasu, H. Itaya, T. Iwazaky, R. Miyoshi, T. Ohnuma, W. Sigumoto, Y. Murakami, *Chem. Com.*, 2001, 4, 341; J. Luo, Y.B. Lou, M.M. Maye, C.J. Zhong, M. Hepel, *Electrochim. Com.*, 2001, 3, nº 4, 172) o como detector para la determinación de  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{SO}_3^{2-}$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$  y  $\text{SCN}^-$  mediante cromatografía fónica (A. Liu, L. Xu, T. Li, S. Dong, E. Wang, *J. Chromatogr. A*, 1995, 699, 39).

En otras ocasiones la electrodeposición se consigue fijando un determinado potencial y aplicándolo durante un cierto tiempo. De esta manera se modificaron electrodos de carbono vitrificado con paladio y platino, formándose una aleación de Pd-Pt en la superficie del electrodo. Estos electrodos así modificados han sido utilizados para la detección electrocatalítica de formaldehído, acetaldehido y propionaldehido mediante un análisis por inyección en flujo (J. Wang, P.V.A. Pamidi, G. Cepria, *Anal. Chico. Acta*, 1996, 330, 151).

En la presente invención se utiliza mercurio como elemento sensibilizador para la determinación de metales o complejos de los mismos en disolución o bien como marcas de biomoléculas. En este sentido cabe mencionar el método desarrollado por Costa y colaboradores (D. Hernández Santos, M.B. González García, A. Costa García, *Electrochim. Acta*, 2000, 46, 607; D. Hernández Santos, M.B. González García, A. Costa García, *Electroanalysis*, 2000, 12, nº 18, 1461) en el que electrodos de pasta de carbono son modificados, o bien con oro coloidal por adsorción, o con oro en disolución que ha sido reducido en la superficie del electrodo. Este oro metálico cataliza la reducción de plata en el electrodo. Una diferencia importante con respecto a la mayoría de los casos de electrocatalálisis es que, en este caso, dicha electrocatálisis se utiliza para determinar la concentración del modificador (oro metálico) y no de la especie que sufre el proceso catalítico (plata). Este procedimiento ha sido aplicado al seguimiento de la reacción estreptavidina-biotina, empleando oro coloidal como marca (M.B. González García, A. Costa García, *Biosensors & Bioelect.*, 2000, 15, nº 11-12, 663). En cuanto a la utilización de mercurio como sensibilizador, no se ha encontrado ningún trabajo publicado anteriormente que aluda a este hecho.

En la patente de Costa y colaboradores ES2102970 se reivindican electroensayos de determinación de oro en disolución y de oro en partículas independientemente de que sean o no marcas utilizadas en electroinmunoensayos de reconocimiento biológico.

55

### Descripción de la invención

La presente invención es de aplicación a la cuantificación de metales en disolución utilizando mercurio como elemento sensibilizador. Se basa en que la presencia de estos metales en el electrodo hace que el potencial de reducción del mercurio (en una disolución amoniacal) se desplace hacia potenciales menos positivos. Esto hace que se disponga de un intervalo de potenciales en los cuales sólo se electrodepositará mercurio en el electrodo si existe metal en la superficie del mismo. La redisolución de este mercurio electrodepositado a un potencial comprendido dentro de este intervalo, da lugar a un proceso anódico cuya intensidad de pico está directamente relacionada con la cantidad de metal presente en la superficie del electrodo.

Estos metales pueden estar en disolución o actuando como agente de marcaje de reactivos inmunológicos, hebras de ADN o cualquier otro reactivo que intervenga en ensayos de afinidad. Generalmente se encuentran en forma fónica

o formando distintos complejos y para poder determinarlos voltamperométricamente con un electrodo de carbono es necesario depositarlos previamente en su superficie aplicando un potencial adecuado durante un tiempo determinado.

Los electrodos de carbono que se pueden utilizar son electrodos de pasta de carbono, de carbono vitrificado, 5 electrodos serigrafiados de carbono (screen-printed de carbono) o ultramicroelectrodos. Para que los ensayos sean reproducibles es conveniente tratar la superficie electródica. Para ello se prepara electroquímicamente la superficie del electrodo de carbono aplicando un potencial oxidante fijo (superior a +1.25 V) o intensidad constante muy positiva durante un tiempo determinado en una disolución de ácido sulfúrico.

10 La deposición del metal o complejo metálico en la superficie del electrodo puede realizarse siguiendo metodologías conocidas consistentes generalmente en introducir el electrodo en la muestra en la que se quiere determinar el metal en disolución y aplicar los potenciales convenientes para que ese metal o complejo metálico en disolución se concentre sobre el electrodo en forma de metal en su estado elemental. El potencial aplicado depende del metal y del complejo metálico.

15 En algunos casos para que la catálisis sea efectiva y reproducible es necesario llevar a cabo una etapa de oxidación después de la deposición del metal. Esta etapa se lleva a cabo sometiendo al electrodo a un potencial oxidante superior a +1.30 V o bien a una intensidad constante positiva en una disolución de ácido sulfúrico. Esta etapa da lugar a la formación de óxidos de metal que son responsables de la catálisis del mercurio. Además, evita que el mercurio se deposite directamente en el electrodo cuando la deposición de los metales en el electrodo exige potenciales muy reductores donde se generan una atmósfera reducida que cataliza la deposición posterior de los elementos sensibilizadores en el electrodo. Si bien, esta etapa en algunos casos se puede suprimir. Un ejemplo de ello será descrito más adelante.

20 25 El recubrimiento del metal por mercurio metálico se lleva a cabo partiendo de una disolución amoniacaal  $2.10^{-4}$  M de mercurio (II) y aplicando un potencial de reducción adecuado. Las partículas de metal depositadas previamente favorecen la reducción de mercurio en disolución normalmente en la forma  $(\text{NH}_3\text{-Hg-NH}_3)^{2+}$  a mercurio elemental ( $\text{Hg}^0$ ) debido a que el metal en estado elemental cataliza la reducción de mercurio al desplazar los potenciales de deposición del mismo hacia potenciales más positivos. Se provoca una electrorreducción a potenciales en los que el mercurio no se reduce si no existen partículas de metal en el electrodo.

30 35 El potencial de reducción electrocatalítica de mercurio es función del metal depositado en el electrodo. La cantidad de mercurio depositado sobre el electrodo está relacionada con la cantidad de metal previamente depositado. A continuación se lleva a cabo la redisolución anódica de mercurio elemental a mercurio (II) en la misma disolución amoniacaal. Se obtiene un proceso anódico cuya intensidad de pico está relacionada con la concentración de metal en disolución.

### Ejemplo de realización de la invención

40 La eficacia del procedimiento se ilustra adicionalmente mediante el siguiente ejemplo que no pretende ser limitativo de su alcance.

#### Ejemplo 1

Muestra la catálisis que el oro convenientemente depositado sobre electrodos de pasta de carbono muestra sobre la 45 electrodeposición de mercurio. La metodología consta de las siguientes etapas:

- Adecuación de la superficie electródica. Para ello se activa el electrodo aplicando un potencial de +1.50 V (vs. electrodo de referencia Ag/AgCl) durante 2 minutos en una disolución 0.1 M de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

- Deposición del oro en la superficie del electrodo. Esta etapa se realiza sumergiendo el electrodo en una disolución 50 del oro o complejo del mismo y se aplica un potencial de +0.00 V durante 5 minutos.

- Recubrimiento del oro con mercurio. Se lleva a cabo partiendo de una disolución amoniacaal  $2.10^{-4}$  M de mercurio (II) y aplicando un potencial de reducción de -0.13 V durante 1 minuto. Las partículas de oro depositadas previamente en la superficie del electrodo permiten la reducción de mercurio en disolución normalmente en la forma  $(\text{NH}_3\text{-Hg-NH}_3)^{2+}$  a mercurio elemental ( $\text{Hg}^0$ ) a este potencial. En ausencia de oro no se reduce mercurio en el electrodo a este potencial.

- A continuación se lleva a cabo la redisolución anódica de mercurio elemental a mercurio (II) en la misma disolución amoniacaal de idéntica forma a la descrita en el ejemplo anterior. Se obtiene un proceso anódico a +0.08 V cuya intensidad de pico está relacionada con la concentración de oro iónico en disolución.

Siguiendo este procedimiento se ha observado que el oro metálico depositado sobre un electrodo de carbono 60 cataliza la electrorreducción de mercurio (II) sobre el electrodo. El desplazamiento del potencial de reducción del mercurio es considerable.

65 El mercurio puede ser utilizado como elemento sensibilizador para la determinación de aquellos metales que una vez depositados sobre la superficie del electrodo den lugar a un desplazamiento del potencial del proceso de reducción del mercurio.

# ES 2 292 319 B1

## REIVINDICACIONES

1. Uso de mercurio como elemento sensibilizador en determinaciones electrocatalíticas no enzimáticas con electrodos de pasta de carbono para la cuantificación de oro y otros metales.

5 2. Uso de mercurio como elemento sensibilizador en determinaciones electrocatalíticas no enzimáticas, según la reivindicación anterior, **caracterizadas** porque utilizan oro y otros metales o un complejo de los mismos como marcas necesarias para la cuantificación de otras moléculas.

10 3. Uso de mercurio como elemento sensibilizador en determinaciones electrocatalíticas no enzimáticas, según las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizadas** porque utilizan electrodos de carbono vitrificado, electrodos serigrafiados de carbono o ultramicroelectrodos distintos al electrodo de pasta de carbono para obtener la señal analítica.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA

- (11) ES 2 292 319  
(21) N° de solicitud: 200502436  
(22) Fecha de presentación de la solicitud: **30.09.2005**  
(32) Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

- (51) Int. Cl.: **G01N 33/00** (2006.01)  
**G01N 27/00** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	HAN CHERN, LOH; AHMAD, M.; TAIB, M. N.; "Electrochemical Sensor for the Lead Determination: Development and Characterisation" Sensors and the International Conference on new Techniques in Pharmaceutical and Biomedical Research, 2005 Asian Conference on Kuala Lumpur, Malaysia 05-07 Sept.2005, Piscataway, NJ, USA, IEE. 05.09.2005 páginas 118-126; apartados 2.5-3	1-3
A	HERRERO, E. et al. "Electrodeposition dynamics: electrochemical and X-Ray scattering studies" Electrochimica Acta 11.01.1998 Vol.4, páginas 983-992; apartado 3.	1-3
A	ROMANEKO, S.V.; LARINA, L.N. "A choice of optimal surface modifier of carbon electrodes for mercury determination by stripping voltammetry" Journal of Electroanalytical Chemistry. 01-09-2005 [Available on line 28 Julio 2005] Vol.583, páginas 155-161; todo el documento.	1-3

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia  
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría  
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita  
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud  
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe 01.02.2008	Examinador V. Balmaseda Valencia	Página 1/1
--	-------------------------------------	---------------