(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 351 482**

(21) Número de solicitud: 200901634

(51) Int. CI.:

***C08F 20/06*** (2006.01)
***C08F 220/06*** (2006.01)
***C08F 2/44*** (2006.01)
***G01N 21/76*** (2006.01)
***G01N 21/77*** (2006.01)
***G01N 21/64*** (2006.01)
***G01N 33/20*** (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN CON EXAMEN PREVIO B2

(22) Fecha de presentación: **23.07.2009**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **07.02.2011**

Fecha de la concesión: **31.08.2012**

Fecha de modificación de las reivindicaciones: **27.07.2012**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **12.09.2012**

(45) Fecha de publicación del folleto de la patente: **12.09.2012**

(73) Titular/es:
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**
**AVDA. SÉNECA 2**
**28040 MADRID, ES**

(72) Inventor/es:
**Orellana Moraleda, Guillermo;**
**Urraca Ruíz, Javier Lucas;**
**Ribeiro Dos Santos, André;**
**Mateos García, Silvia y**
**Moreno Bondi, María Cruz**

(74) Agente/Representante:
**No consta**

(54) Título: **METODO DE PREPARACIÓN DE PELÍCULAS DELGADAS PARA SENSORES QUÍMICOS ÓPTICOS.**

(57) Resumen:
Método de preparación de películas delgadas para sensores químicos ópticos.
La invención se refiere al desarrollo de películas delgadas basadas en polímeros acrílicos sobre un material transparente a la luz como sensores ópticos que contienen en el interior su interior un indicador luminiscente cuyas propiedades de emisión de luz cambian en función de la concentración de una determinada especie química presente en el medio en el que se introduce la película sensora.
Las películas se obtienen mediante polimerización térmica o fotoquímica de monómeros acrílicos en presencia de un iniciador de la polimerización y del indicador luminiscente que queda inmovilizado físicamente en la red del polímero que se forma. Las películas delgadas obtenidas pueden utilizarse para la determinación de contaminantes en aguas.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

ES 2 351 482 B2

## DESCRIPCIÓN

### Método de preparación de películas delgadas para sensores químicos ópticos

### Objeto y campo de la invención

La invención se encuadra en el campo de sensores, sondas, sistemas y métodos para la detección y cuantificación de analitos. De forma más concreta, la invención se refiere a un método de incorporación de compuestos químicos indicadores ópticos adecuados al terminal sensible de sensores químicos mediante inmovilización física de dichos indicadores en el interior de una película delgada de un material transparente a la luz basado en polímeros acrílicos .

Los sensores ópticos objeto de la presente invención son útiles, por ejemplo, para la determinación de contaminantes en aguas.

### Estado de la técnica

Actualmente se ha comprobado que dentro del proceso analítico, desde la toma de muestra hasta el análisis químico final de la misma, hay una serie de etapas que pueden influir en el resultado final. Además, en otras ocasiones, el tiempo transcurrido desde la toma de muestra y el análisis es demasiado grande para llevar a cabo acciones correctoras. Por ello, cada vez más, se están implantando sistemas de monitorización *in situ* en continuo donde la manipulación de la muestra es nula, se pueden llevar a cabo mediciones en tiempo real y se puede controlar de manera sistemática el parámetro que se desea monitorizar. Además, el uso de sensores desplegados *in situ* posibilita la toma de decisiones y actuaciones correctoras si fuera necesario.

Así, la medida en continuo de especies, compuestos o parámetros químicos ha adquirido un papel muy importante en los últimos años. El seguimiento en tiempo real de parámetros tales como la demanda biológica o química de oxígeno en ríos y otro tipo de aguas, humedad en tierra o aire o la detección de contaminantes (pesticidas, metales, antibióticos, toxinas,...) en alimentos y aguas, que finalmente a través de la

cadena trófica acaban incorporándose en productos de uso humano, se ha convertido en una necesidad para la salud humana.

Los sensores se consideran en la actualidad "los sentidos de la electrónica": ojos y oídos capaces de ver y escuchar más allá de la percepción humana; narices y lenguas electrónicas que pueden reconocer olores y sabores sin una vida de entrenamiento continuo; dispositivos táctiles capaces de discernir su composición química. Entre el vasto mundo de los sensores *químicos* (aquéllos que detectan, miden, cuantifican y/o determinan estas especies, a diferencia de los destinados a medir parámetros físicos como la presión, la aceleración, la vibración, etc.), los dispositivos *ópticos* han alcanzado preeminencia en aquellas áreas de la tecnología y la industria donde las características de la luz y de la interacción materia-luz muestran su superioridad (por ejemplo, frente a la electricidad). Entre ellas, podemos mencionar las que requieren monitorización sin contacto físico o a gran distancia, detección ultrasensible y selectiva, carencia de riesgos eléctricos o interferencias, ausencia de consumo del analito monitorizado y/o medición en espacios muy reducidos, entre otras.

La incorporación de la fibra óptica y la fibra integrada en los sensores químicos ha incrementado adicionalmente su utilidad puesto que, con ellas, la luz puede confinarse y transportarse fácilmente a largas distancias o lugares inaccesibles, multiplexarse o distribuirse, es posible utilizar moléculas indicadoras coloreadas o fluorescentes inmovilizadas en su extremo para la determinación química específica, se pueden fabricar sensores ópticos de forma masiva y establecer nuevas formas de análisis químico (interferométricas, por resonancia de plasmones superficiales, con reconocimiento supramolecular, en nanoescala, etc.).

El desarrollo y fabricación de sensores optoquímicos requiere, frecuentemente, la preparación de materiales ópticos dotados de propiedades indicadoras, esto es, que posean características o propiedades tales que la interacción de la radiación luminosa con dichos materiales conduzca a un cambio medible de dichas características o propiedades (como por ejemplo, sin ser excluyente, su absorción de luz, reflexión de luz, reflectancia difusa luminosa, fluorescencia, fosforescencia, luminiscencia, índice

de refracción, etc.). La preparación de dichos materiales ópticos no es trivial pues requiere, entre otras condiciones: (i) la selección y síntesis de un polímero orgánico o inorgánico inerte capaz de incorporar una o varias moléculas indicadoras con las características mencionadas, (ii) poseer unas características mecánicas, ópticas y químicas adecuadas, (iii) mostrar suficiente permeabilidad al analito diana (compuesto químico o parámetro físico que se desea medir) evitando, simultáneamente, la pérdida o lavado del indicador óptico o la penetración de especies interferentes con la medida, (iv) la insolubilidad del material en el medio en que se realizará la medida, (v) suficiente estabilidad térmica y fotoquímica, etc.

Debido a sus propiedades de robustez y flexibilidad en la preparación, los polímeros acrílicos se han usado ampliamente en la fabricación de sensores ópticos, en especial en formato de película delgada. Dichas películas delgadas constan de diferentes polímeros sobre variados soportes como, por ejemplo, el vidrio (óxido de silicio) [Hu et al. *European Polymer Journal*, 2006, 42, 2053-2058], celulosa [Rathbone et al. Biosensors and Bioelectronics, 2005, 20, 1438-1442], metales [Versal et al. Biosensors and Bioelectronics, 2004, 20, 305-314].

En la mayoría de los casos, la molécula sensible al parámetro analítico que se desea determinar se une formando un enlace químico covalente al soporte sobre el que se quiere inmovilizar. Esto implica, en muchos casos, realizar una activación del soporte para que se puedan producir de manera eficaz reacciones químicas a través de distintos grupos funcionales tales como el grupo hidroxilo o el grupo amina. Además, en el caso específico de sensores basados en películas de polímeros, lo más habitual es modificar la estructura de la molécula sensora (también llamada "indicador"), con el fin de dotarla de uno o más dobles enlaces que permitan la unión covalente al soporte durante el proceso de polimerización, quedando así firmemente unida al soporte [Gräfe et al. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 565, 42-47, Geddes et al. *Journal of Applied Polymer Science*, 2000, 76, 603-615].

Los polímeros derivados del ácido acrílico (-C=C-CO-OH) han demostrado ser considerablemente permeables al agua debido a la naturaleza hidrofílica de dicho

grupo funcional. Así, con el objetivo de desarrollar sensores potenciométricos de humedad, se han descrito diversos sensores basados en películas delgadas de acrilatos que contienen grupos carboxilo provenientes del ácido acrílico o sus derivados (JP58167639, JP4258750, JP4270956, FR2683906, KR2004076785, KR548785). En todos estos casos la película polimérica (también llamada "membrana") actúa como capa permeable a la fase que transporta el analito que se desea analizar. Después de difundir a través de la misma, es el electrodo selectivo subyacente el que actúa como sensor. No obstante, en dicho procedimiento no se disuelve ninguna sustancia indicadora que sea sensible al analito, sino que se utiliza el polímero acrílico en forma de gel como membrana selectiva y permeable sobre la base del electrodo.

En el documento US 4,752,115 se describe un proceso para embeber indicadores fluorescentes en el seno de polímeros plastificados para el caso de la medida de oxígeno molecular mediante un dispositivo sensor. El uso de monómeros acrílicos, entre otros muchos, para la preparación de películas delgadas permite la obtención de polímeros lo suficientemente porosos para la difusión del oxígeno a través de las mismas si bien el procedimiento ahí descrito requiere de la presencia de uno o más plastificantes para su funcionamiento.

Otro método muy extendido de embeber una sustancia indicadora dentro de un material polimérico acrílico para obtener una película sensora es llevar a cabo una polimerización hasta el punto "gel" semisólido e incorporar entonces la sustancia indicadora, como describen los documentos US 6,582,658 y WO9900663. Este procedimiento por etapas es ventajoso debido a que evita disolver el indicador en la mezcla monomérica inicial, pero produce heterogeneidad en la película sensora y conlleva mayor complejidad experimental y más largos tiempos de preparación por las múltiples etapas involucradas. Con el fin de evitar dicha falta de homogeneidad, se suelen añadir otros aditivos en el punto "gel". Por ejemplo, en el documento WO9937998 se describe la utilización de copolímeros como estireno/acrilonitrilo, preparados a través de sucesivas capas de polimerización para la determinación de gases, donde el indicador se añade entre las sucesivas capas de polímero.

El documento WO8605589 describe la utilización de esta técnica para fabricar recubrimientos poliméricos de una fibra óptica mediante el proceso denominado *deep coating* (inmersión-extracción) utilizando poli(metracrilato de metilo) e incorporando el indicador sobre el polímero-gel formado, presentando los mismos inconvenientes mencionados anteriormente.

En el documento WO9737210 se describen inmovilizaciones no covalentes de indicadores fluorescentes en distintos polímeros como plexiglas, PVC, poliestireno, policarbamatos, latex, teflón, o en resinas poliestirénicas de intercambio iónico, para la determinación de oxígeno mediante desactivación de la fluorescencia del indicador por el analito. La principal desventaja de este tipo de inmovilización es el sangrado del indicador cuando se sumerge la película polimérica indicadora en un medio líquido, por lo que las medidas están restringidas a fase gaseosa.

Carlson et al. (ACS Symposium series 2007, 957, 107-118) han descrito una técnica de atrapamiento no covalente del indicador en un polímero acrílico que consiste en disolver un complejo fosforescente de osmio en dicho polímero preformado, monitorizando la presión parcial de oxígeno molecular en la fase gaseosa con la película sensible resultante. Las desventajas de este procedimiento es que está limitado a muy pocos tipos de polímeros acrílicos e indicadores (el indicador ha de ser soluble en ellos), siendo por tanto poco versátil para conseguir las características analíticas deseadas para el sensor objetivo.

Otro tipo de soporte polimérico que se ha usado frecuentemente para la fabricación de sensores ópticos son los denominados materiales "sol-gel", particularmente los de tipo silíceo. Dichos materiales son muy versátiles en cuanto a composición se refiere y pueden ser utilizados como soporte para contener sustancias indicadoras sensibles a una especie determinada a través de su atrapamiento físico en la red tridimensional que forma su interior. El principal problema de dichos materiales radica en la disminución continua de su tamaño de poro hasta llegar a ser inservibles a menos que se sometan a un calentamiento superior a los 800 °C, lo que destruiría el indicador, por lo que su tiempo de vida útil suele ser corto y la respuesta al analito variable

durante dicho periodo. Además, resulta difícil encontrar un adecuado balance entre el tamaño de poro y la retención del indicador que evite su lavado a la fase líquida. Para evitar este inconveniente, se han funcionalizado indicadores con grupos siloxano o macromoléculas para su incorporación al polímero inorgánico sol-gel durante su formación (P. J. Skrdla et al., *Applied Spectroscopy* **1999**, *53*(7), 785-791; T. Suratwala, et al. *Chemistry of Materials* **1998**, *10*(1), 199-209; ibid. *Chemistry of Materials* **1998**, *10*(1), 190-198; D. Avnir et al., "Organo-silica sol-gel materials", en "Chemistry of Organic Silicon Compounds", Vol. 2, Parte 3, Rappoport, Z. y Apeloig, Y. Editores, Wiley, Chichester, UK, 1998, 2317-2362). Sin embargo, la funcionalización química de moléculas indicadoras con grupos siloxano es un procedimiento laborioso y los compuestos resultantes no siempre gozan de la suficiente estabilidad química (por ejemplo, a la humedad). Otras veces la afinidad de los materiales sol-gel hacia sistemas hidrofílicos es limitada, por lo que se han utilizado polímeros con grupos carboxilo (derivados del ácido acrílico) para recubrir el material sol-gel (US4801655, US6562424).

A la vista del estado de la técnica se comprueba que existe actualmente la necesidad imperiosa de disponer de un procedimiento de preparación de materiales ópticos dotados con propiedades indicadoras (también llamados sensores) que sea suficientemente versátil, sencillo, rápido, barato, eficaz y robusto.

Por ello, la presente invención se refiere al desarrollo de películas delgadas basadas en polímeros acrílicos extendidas sobre un material transparente a la luz (como vidrio o plástico) como sensores ópticos, mediante la inmovilización física, en el interior de dicha película delgada, de una sustancia absorbedora de luz y/o luminiscente (indicador) cuyas propiedades de absorción y/o emisión de luz cambian en función de la concentración de una determinada especie química (analito).

Esta nueva composición y el procedimiento de preparación de películas sensoras cuyas propiedades de absorción y/o emisión cambian en presencia de una determinada especie química diana o analito, que descubre la presente invención, presentan

múltiples propiedades ventajosas frente a otros materiales conocidos hasta la fecha con similares aplicaciones analíticas. Estas propiedades son:

- **Facilidad y rapidez de preparación**. Las películas sensoras pueden obtenerse a través de etapas sencillas en un corto periodo de tiempo.
- **Versatilidad superior**. Se permite el uso de muy diferentes indicadores ya que no están sometidos a ninguna transformación química previa a su utilización. Además, se pueden configurar diferentes soportes y sistemas de medida en función de la aplicación deseada.
- **Robustez**. Las películas sensoras delgadas no se disuelven en el medio de medida del analito diana ni se despegan del soporte.
- **Transparencia**. Las películas sensoras permiten el paso de la luz a su través, posibilitando la interacción de la luz con las moléculas sensibles al analito (indicador) embebidas en dichas películas.
- **Homogeneidad**. El indicador se encuentra homogéneamente distribuido en el interior de la película sensora.
- **Estabilidad**. Evitan la pérdida del indicador por lavado al medio en el que se encuentra el analito diana.
- **Bajo coste**. Los componentes de las películas sensoras son baratos y el procedimiento de preparación sólo requiere la aplicación de calor.
- **Rápida respuesta** a los cambios de concentración del analito diana en el medio de medida, permitiendo la monitorización de dicho analito en tiempo real.

## Descripción de la invención

Método de preparación de películas delgadas para sensores químicos ópticos

La invención se refiere al desarrollo de películas delgadas basadas en polímeros acrílicos sobre un material transparente a la luz (vidrio o plástico, por ejemplo) como sensores químicos ópticos, mediante la inmovilización física, en el interior de la película delgada, de una sustancia absorbedora de la luz y/o luminiscente (indicador)

cuyas propiedades de absorción y/o emisión de luz cambian en función de la concentración de una determinada especie química.

Se puede definir la polimerización como un proceso a través del cual unos reactivos (monómeros), generalmente de bajo peso molecular, se agrupan químicamente entre sí, dando lugar a una molécula de gran tamaño llamada polímero cuyas características físico-químicas son diferentes a las del monómero de partida.

Los polímeros acrílicos se obtienen a partir de la polimerización, por reacciones de adición, de diferentes monómeros dotados de la agrupación química –C=C-CO-, solos o en combinación de varios de ellos o con otros monómeros que no presentan tal agrupación. Dichos monómeros son, principalmente, ésteres de los ácidos acrílicos y metacrílicos con diferentes alcoholes o amidas de los ácidos acrílicos y metacrílicos con diferentes aminas.

Estos polímeros acrílicos se pueden clasificar en duros y blandos según las características de rigidez, dureza y elasticidad que presenta el material una vez formado. Los polímeros acrílicos duros son materiales cuya temperatura de gelificación es superior a los 70 °C. Su estructura se caracteriza por la presencia de grupos voluminosos que impiden su movilidad (arilo, metilo) y cadenas alifáticas cortas. Son considerados polímeros duros los derivados del metacrilato de metilo, ácido metacrílico, estireno, etc. Los polímeros blandos, por el contrario, poseen estructuras móviles y plásticas. El componente alcohol del éster acrílico o metacrílico es generalmente de cadena larga y lineal. Pertenecen a este grupo los acrilatos de etilo, propilo, butilo, hexilo, dodecilo, etc.

Cualesquiera que sea su grado de dureza, los monómeros acrílicos pueden ser polimerizados en distintas condiciones y cada tipo de proceso determina qué clase de polímero se obtiene.

En la presente invención, las películas sensoras, que contienen atrapadas en su interior moléculas indicadoras sensibles al analito diana, se preparan mediante un

procedimiento de polimerización térmica o fotoquímica de los monómeros precursores en presencia de dicha molécula sensible, en presencia de ciertos aditivos y utilizando un disolvente adecuado.

Para ello, se prepara una disolución mezclando monómeros acrílicos y un compuesto iniciador de la polimerización en un disolvente adecuado, agitando hasta total disolución. A la mezcla anterior se añade el indicador luminiscente. La disolución resultante se deposita sobre un soporte transparente previamente activado y se procede entonces a la polimerización térmica o fotoquímicamente iniciada.

La molécula sensible al analito no reacciona con los monómeros acrílicos ni con el soporte al no poseer grupos funcionales capaces de unirse a los monómeros, sino que queda atrapada firmemente en la película sensora, gracias al entrecruzamiento del polímero formado en el proceso de polimerización alrededor de dicha molécula sensible y a las interacciones entre la molécula sensible y la red de polímero, de manera extraordinariamente más sencilla que si la incorporación de dicha molécula sensible se realiza sobre el polímero pre-formado y sin necesidad de modificación química de la molécula sensible que permita su unión química al monómero reactivo o al polímero formado.

De esta forma se obtienen películas aptas para la fabricación de sensores ópticos capaces de detectar y cuantificar especies químicas en fase gaseosa, líquida o semilíquida, evitando así el problema de pérdida de indicador por lavado y/o la incompatibilidad de dicho indicador con el medio en el que se encuentra el analito diana (como por ejemplo insolubilidad, inestabilidad química,...).

La molécula sensible al analito puede ser, por ejemplo, un complejo de Ru(II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelantes, que queda atrapado firmemente en el interior de la película sensora gracias al entrecruzamiento del polímero formado y a las interacciones entre la molécula sensible y la red de polímero, de manera extraordinariamente más sencilla que si la incorporación de dicha molécula sensible se realiza sobre el polímero pre-formado y sin necesidad de modificación química de la

molécula sensible que permita la unión química al monómero reactivo o al polímero formado.

La composición de la mezcla de monómeros en los que queda embebido el indicador tras la polimerización como, por ejemplo, la metacrilamida (MAM), el ácido metacrílico (MMA), el metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA), la metilenbisacrilamida (MBAA) y/o un diacrilato de polietilenglicol (PGDA), juega un papel crítico facilitando la entrada del analito diana al interior de la película resultante e impidiendo la salida de dicho indicador. Por ello, se hace necesario utilizar una mezcla adecuada de monómeros, aditivo y molécula indicadora, que posean una solubilidad suficiente en el disolvente seleccionado, interacción apropiada con la molécula indicadora y formen una red de polímero suficientemente entrecruzada para impedir la salida del indicador pero no la entrada y salida del analito diana. Sólo así es posible llevar a cabo la aplicación analítica de las películas sensoras.

Los sensores que utilizan las películas obtenidas mediante el procedimiento descrito pueden emplearse en aplicaciones de alta tecnología de monitorización industrial o medioambiental.

**Descripción de las figuras**

En la figura 1 se representa la estructura del indicador luminiscente sensible a cobre(II) $[Ru(phen)_2(iip)]^{2+}$.

La figura 2 muestra la respuesta típica de una película luminiscente sensora de cobre en aguas dentro del intervalo de concentraciones de 0,01 a 1 mM. La regeneración tras cada una de las medidas de cobre(II) se lleva a cabo con AEDT 0,1 M.

En la figura 3 se representa una curva de calibrado típica obtenida con fluorímetro comercial utilizando una película acrílica que contiene $[Ru(phen)_2(iip)]^{2+}$ inmovilizado en dicha película como indicador luminiscente sensible al cobre presente en aguas.

**Modo de realización de la invención**

La realización de la presente invención se ilustra mediante el siguiente ejemplo que no es limitativo de su alcance.

**Ejemplo**

Este ejemplo se refiere a la preparación de películas sensibles para la fabricación de sensores químicos ópticos para la determinación de cobre en aguas.

Para la preparación de la disolución de monómeros que formará la película de polímero en la que queda inmovilizado el indicador, se pesaron 3 mg del iniciador de la polimerización térmica (2,2-azobis-(2,4-dimetilvaleronitrilo), ABDV) y se disolvieron en 200 μL de dimetilsulfóxido (DMSO). Sobre la solución anterior se añadieron los monómeros MAM (20 mg) HEMA (20 μL), MBAA (15 μL), PGDA (80 μL del que comercializa Sigma-Aldrich con la referencia 47562) y se agitó hasta total disolución. A continuación, sobre la disolución obtenida, se añadieron 2 mg del indicador luminiscente $[Ru(phen)_2(iip)]^{2+}$ (donde *phen* e *iip* representan los ligandos quelatantes 1,10-fenantrolina y 2-(1H-imidazol-2-il)-1*H*-imidazo[4,5-*f*]-1,10-fenantrolina, respectivamente) que fue preparado, a partir de $[Ru(phen)_2Cl_2]$ y el ligando *iip*, según el procedimiento descrito por Rillema, D.P. et al. ***Inorg. Chem.*** **1993**, *22*, 1617-1622; a su vez, el ligando *iip* se preparó a partir de imidazol-2-carboxaldehido y 1,10-fenantrolina-5,6-diona según el procedimiento descrito por Liu, J.-G. et al., ***Inorg. Biochem.*** **1999**, *76*, 265-271.

Para la formación de las películas sensoras se depositaron, a temperatura ambiente, 3 μL de disolución de los monómeros que contiene el complejo de Ru(II) sobre un soporte de vidrio previamente activado (utilizando, por ejemplo, el método descrito por Gräfe en Gräfe et al. *Analytica* ***Chimica Acta*** **2006**, 565, 42-47). La disolución depositada se cubrió inmediatamente con un disco de 9 mm de diámetro Mylar® (cortados, por ejemplo, de una lámina de 115 μm de espesor de dicho material como

la comercializada por Goodfellow, Bad Nauheim D-61213, Alemania) para controlar el espesor final y homogeneizar la misma y, seguidamente, se calentó a 50 °C durante 30 minutos en una estufa de laboratorio para efectuar la polimerización.

Las medidas de cobre en agua se realizaron preparando patrones de agua con distinto contenido en cloruro de cobre(II), que se colocaron en un recipiente cerrado y termostatizado a la temperatura de medida deseada mediante circulación exterior de agua a través de una camisa de vidrio conectada a un recirculador termostático. La película indicadora soportada sobre el disco de vidrio se cubrió con una malla de nylon (de 20 μm de abertura, unos 2 cm de diámetro y 50 μm de espesor) y se colocó en el extremo terminal de la fibra óptica del equipo Optosen® (fabricado y comercializado por Grupo Interlab, S.A.) mediante el dispositivo *ad hoc* suministrado por el fabricante. El terminal sensible con la configuración indicada se introdujo entonces dentro de la muestra de agua termostatizada a la temperatura elegida (por ejemplo,20 °C) monitorizando la señal analítica que proporciona el equipo Optosen® hasta estabilización de la misma.

La señal analítica (desfase de la luminiscencia que proviene de la película sensible que contiene el indicador situada en el extremo de la fibra óptica conectada al equipo de medida) en función del contenido en cobre de la muestra se ha representado en la figura 2. En todos los casos fue necesario regenerar el sistema de medida utilizando una disolución de AEDT (ácido etilendiaminoetraacético) 0,1 M para poder recuperar la señal hasta la línea base tras su exposición al cobre(II). Las medidas de todas las concentraciones de cobre en las muestras se llevaron a cabo en tampón fosfato a pH 7.

Como puede apreciarse en al figura 2, la película sensible al cobre contenido en agua presenta sorprendentemente una rápida respuesta a los cambios de concentración de cobre en el intervalo de concentraciones de 0,01 a 1 mM y permite realizar una determinación in situ y en tiempo real, permite el análisis desatendido y remoto, sin presencia de operador alguno.

Las películas indicadoras sensibles a la presencia de cobre en aguas, que contienen el indicador luminiscente, mostraron una disminución de la intensidad de luminiscencia a medida que aumentaba la concentración de cobre presente en la muestra.

A partir de medidas como las ejemplificadas en la figura 2 se determinaron las curvas de calibrado en función de la concentración de cobre presente en la muestra, uno de cuyos ejemplos recoge la figura 3. Como puede observarse, el intervalo de medida de la película sensora fabricada fue de $2 \times 10^{-6}$ mol/L a $2 \times 10^{-4}$ mol/L de cobre(II), con un límite de detección de $5 \times 10^{-7}$ mol/L del metal. La curva de calibrado resultó permanecer constante después de, al menos, 150 ciclos de medida para diferentes concentraciones de cobre.

**Reivindicaciones**

1. Método de preparación de películas delgadas que contienen indicadores absorbedores de luz y/o luminiscentes atrapados en su interior para la determinación de analitos que comprende:
   (a) preparación de una disolución que contiene una mezcla de monómeros acrílicos, un iniciador de la polimerización y una molécula sensible al analito que no posea grupos capaces de unirse químicamente a los monómeros ni al soporte sobre el que se fabrica la misma,
   (b) deposición la disolución obtenida a temperatura ambiente sobre un soporte transparente previamente activado y
   (c) polimerización térmica o fotoquímica con formación de una red de polímero altamente entrecruzada donde queda atrapada físicamente la molécula sensible.

2. Método de preparación de películas delgadas que contienen indicadores atrapados en su interior para la determinación de analitos, según reivindicación 1, donde los monómeros acrílicos son metacrilamida (MAM), ácido metacrílico (MAA), metacrilato de 2-hidroxietilo (HEMA) y los entrecruzantes metilenbisacrilamida (MBAA) y/o diacrilato de polietilenglicol (PGDA) en proporciones variables.

3. Método de preparación de películas delgadas que contienen indicadores atrapados en su interior para la determinación de analitos, según reivindicaciones anteriores, donde el disolvente que contiene la mezcla de polimerización es dimetilsulfóxido.

4. Método de preparación de películas delgadas que contienen indicadores atrapados en su interior para la determinación de analitos, según reivindicaciones anteriores, donde el iniciador de la polimerización térmica o fotoquímica es azobisdimetildivaleronitrilo (ABDV)

5. Método de preparación de películas delgadas que contienen indicadores atrapados en su interior para la determinación de analitos, según reivindicaciones anteriores, donde la molécula sensible que actúa como indicador luminiscente, cuyas propiedades ópticas cambian en presencia del analito, es un complejo de Ru(II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelantes.

6. Método de preparación de películas delgadas que contienen indicadores atrapados en su interior para la determinación de analitos, según reivindicación 1, donde el soporte transparente es vidrio o plástico.

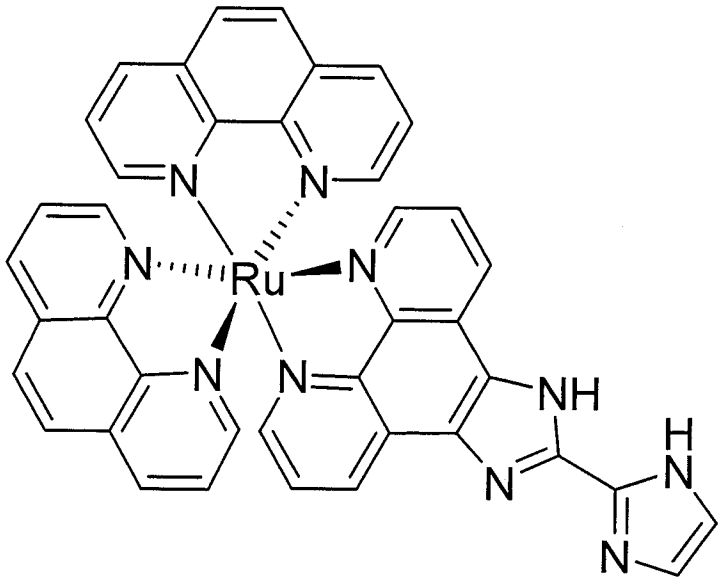


Figura 1

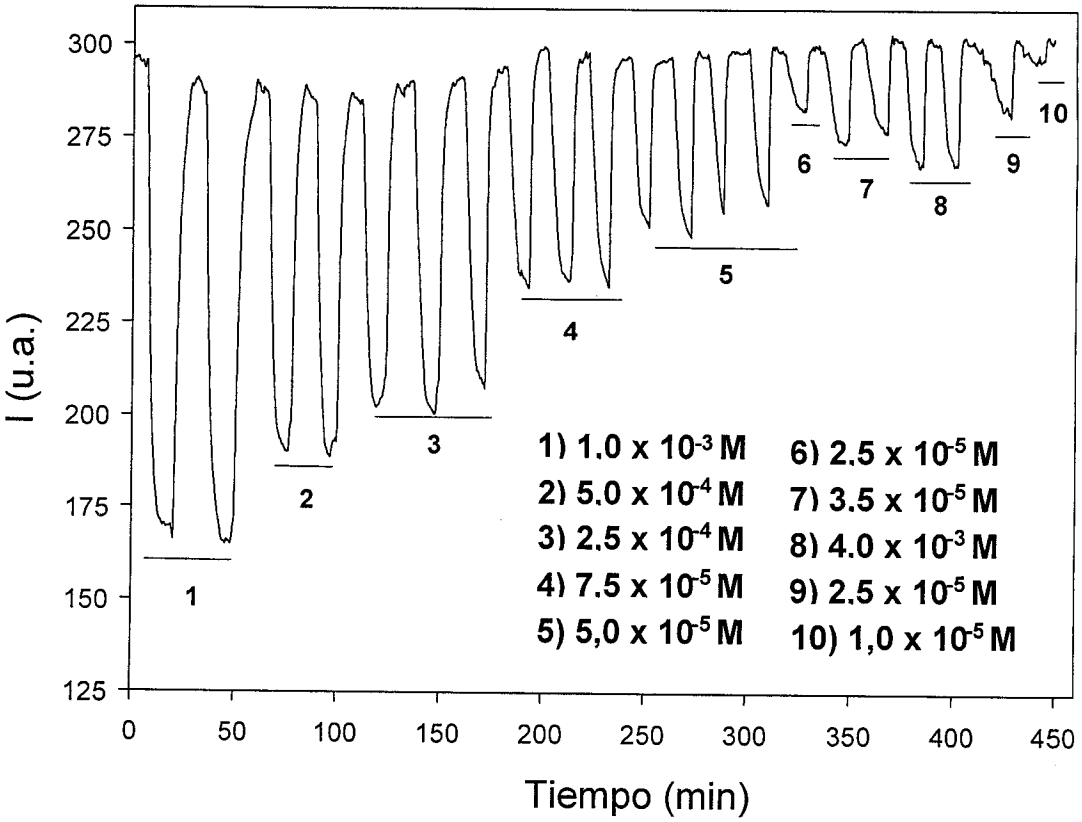
I (u.a.)
Tiempo (min)
300
275
250
225
200
175
150
125
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
1) 1.0 x 10-3 M
2) 5.0 x 10-4 M
3) 2.5 x 10-4 M
4) 7.5 x 10-5 M
5) 5,0 x 10-5 M
6) 2.5 x 10-5 M
7) 3.5 x 10-5 M
8) 4.0 x 10-3 M
9) 2.5 x 10-5 M
10) 1,0 x 10-5 M

Figura 2

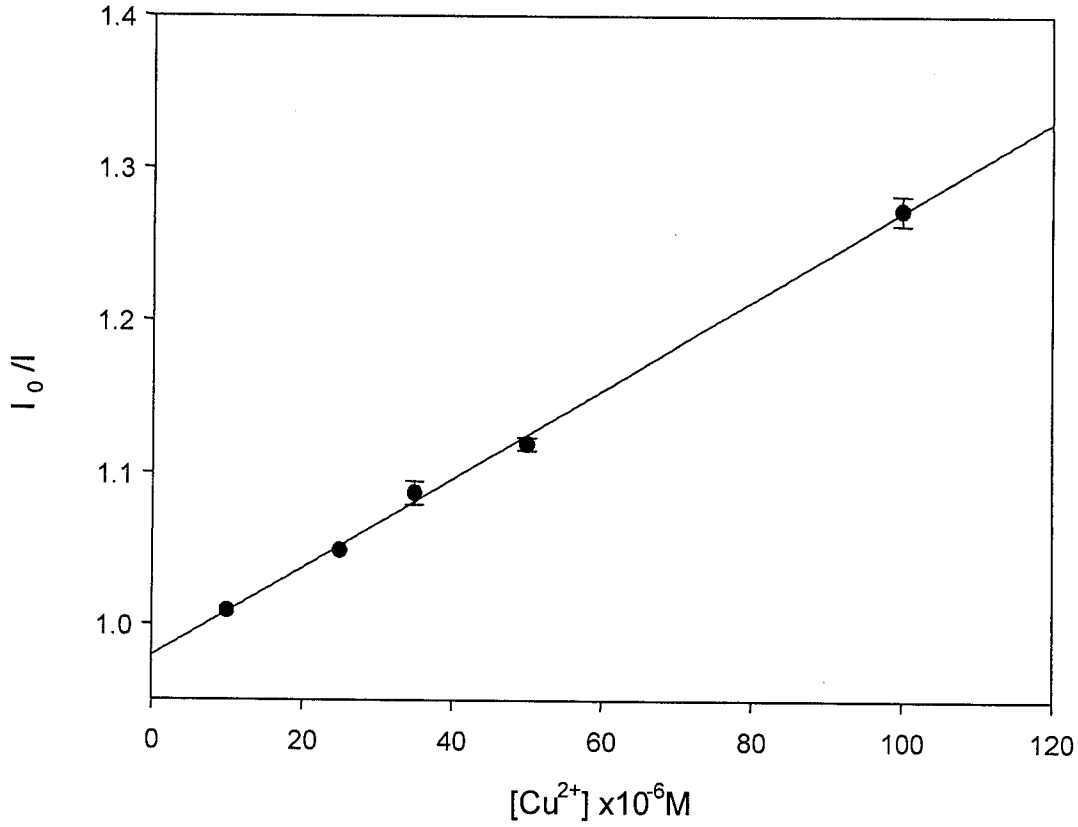


Figura 3

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud:200901634

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 23.07.2009

(32) Fecha de prioridad:

# INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) **Int. Cl. :** Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|---|---|---|
| X | G. DI MARCO et al., "Luminescent Ru(II)-polypyridine complexes in poly-2-hydroxyethylmethacrylate matrices as oxygen sensors", Adv. Mater., 1995, vol. 7, nº 5, páginas 468-471. | 1-9 |
| X | WO 9803856 A1 (NOVARTIS AG) 29.01.1998, páginas 3,9,10, ejemplos B14-B28; reivindicaciones 1-6,9,21,23-28. | 7-9 |
| X | H. M. ROWE et al., "Metal ion sensors base on a luminescent Ruthenium (II) complex: The role of polymer support in sensing properties", Applied Spectroscopy, 2002, vol. 56, nº 2, páginas 167-173. | 7-10 |
| A | J. CHEN et al., "A facile approach for cupric ion detection in aqueous media using polyethyleneimine/PMMA core-shell fluorescent nanoparticles", Nanotechnology, 2009, vol. 20, páginas 365502 (7pp). | 1-10 |
| A | ES 2134122 B1 (UNIV. COMPLUTENSE MADRID) 16.09.1999, columna 4, líneas 50-60; columna 6, líneas 59-62; reivindicaciones 1-5. | 1-10 |
| A | T. MAYR et al., "Dual life time referenced optical sensor membrane for the determination of copper (II) ions", Anal. Chim. Acta, 2002, vol. 462, nº 1, páginas 1-10. | 1-10 |

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** | **Examinador** | **Página** |
|---|---|---|
| 16.12.2010 | E. Davila Muro | 1/4 |

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

***C08F20/06*** (01.01.2006)
***C08F220/06*** (01.01.2006)
***C08F2/44*** (01.01.2006)
***G01N21/76*** (01.01.2006)
***G01N21/77*** (01.01.2006)
***G01N21/64*** (01.01.2006)
***G01N33/20*** (01.01.2006)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C08F, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.12.2010

**Declaración**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)** | Reivindicaciones | 2-4,8,9 | **SI** |
| | Reivindicaciones | 1,5-7,10 | **NO** |
| **Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)** | Reivindicaciones | | **SI** |
| | Reivindicaciones | 1-10 | **NO** |

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación | Fecha Publicación |
|---|---|---|
| D01 | G. DI MARCO et al., Adv. Mater., 1995, vol. 7, nº5, páginas 468-471 | |
| D02 | WO 98/03856 A1 (NOVARTIS AG) | 29.01.1998 |
| D03 | H. M. ROWE et al., Applied Spectroscopy, 2002, vol. 56, nº 2, páginas 167-173 | |

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La invención se refiere a un método de preparación de películas poliméricas basadas en monómeros acrílicos que contienen en su interior indicadores absorbedores de luz y/o luminescentes que responden a la presencia de una determinada especie química. Se preparan mediante polimerización térmica o fotoquímica de monómeros acrílicos en presencia del iniciador de polimerización y del indicador luminescente, en particular se utilizan complejos de Ru (II) con ligandos poliazaheterocíclicos quelantes. La invención también se refiere a las películas poliméricas acrílicas que contienen indicadores atrapados físicamente en su interior, y a la utilización de las mismas como sensores ópticos para la determinación de iones cobre en aguas.

El documento D01 divulga unas matrices poliméricas de poli-2-hidroxietilmetacrilato (PHEMA) y su monómero 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) en distintas proporciones, y que contienen complejos de Ru (II), en concreto $[Ru(bpy))_3]^{2+}$, como indicadores luminescentes inmovilizados en su interior. Se utilizan en forma de películas sobre un soporte plástico como sensores para determinar concentraciones de oxígeno (ver páginas 468, 470 parte experimental).

El documento D02 divulga la preparación de una composición que comprende un indicador luminescente y una película polimérica permeable al oxígeno. El polímero puede ser un copolímero poliestireno-acrilonitrilo o un homopolímero de acrilato, metacrilato, acrilamida o metacrilamida o un copolímero de estos monómeros con monómeros olefínicos, y el compuesto luminescente es un complejo de Pt(II) con ligandos porfirinas (ver ejemplos B14-B28). La composición se aplica sobre un soporte transparente, traslúcido u opaco, preferentemente vidrio inorgánico o plástico, que puede ser activado previamente para mejorar la adhesión. Esta composición se utiliza para preparar sensores ópticos que permiten determinar la cantidad de oxígeno en una muestra.

El documento D03 divulga un sensor óptico para detección de oxígeno y/o Cu (II) que consta de un soporte polimérico y un complejo luminescente de Ru (II), en concreto $Ru(Ph_2phen)_2$ (4-cyclam$CH_2$ (4´-Me)bpy)$^{2+}$, inmobilizado en él. El componente polimérico puede ser un siloxano cíclico entrecruzado con óxido de polietileno, o un polímero ternario de óxido de polietileno, polidimetilsiloxano y 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA).

En consecuencia, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1,7 y 10, así como las dependientes 5 y 6 no presentan novedad ni actividad inventiva con respecto a lo divulgado en los documentos D01, D02 y D03 (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).

La preparación de las películas poliméricas acrílicas con el indicador luminescente atrapado en su interior de acuerdo con las reivindicaciones 2-4,8-9 difiere de lo conocido según los documentos D01-D03 únicamente en los monómeros acrílicos concretos utilizados (MAM, MAA, MBAA, PGDA) y en la naturaleza del complejo de Ru (II) sensible al analito ($[Ru(bpy))_3]^{2+}$ o $Ru(Ph_2phen)_2$ (4-cyclam$CH_2$ (4´-Me)bpy)$^{2+}$ en lugar de $[Ru(phen)_2(iip)]^{2+}$). Estas variantes operativas así como el disolvente e iniciador de la polimerización utilizados se consideran dentro del alcance de la práctica habitual seguida por el experto en la materia. Consecuentemente, el objeto de las reivindicaciones dependientes 2-4,8,9 se considera que carecen de actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986).