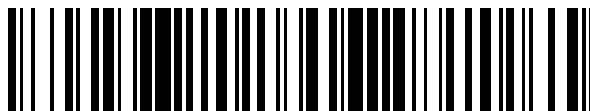


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 540 465**

21 Número de solicitud: 201300757

51 Int. Cl.:

G01N 33/50 (2006.01)

B82Y 30/00 (2011.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

03.08.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

09.07.2015

Fecha de la concesión:

14.10.2015

45 Fecha de publicación de la concesión:

21.10.2015

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (100.0%)

C/ Ancha, 16

11001 Cádiz (Cádiz) ES

72 Inventor/es:

FRANCO ROMANO , María ;

CUBILLANA AGUILERA , Laura María ;

GIL MONTERO , María Luisa Almoraima;

PALACIOS SANTANDER , José María ;

NARANJO RODRÍGUEZ , Ignacio y

HIDALGO HIDALGO DE CISNEROS, José Luis

54 Título: **Procedimiento de fabricación de materiales mediante tecnología sonogel catalizada por extractos vegetales y material obtenido por el mismo**

57 Resumen:

Nuevo procedimiento para la obtención de materiales compuestos, constituidos por una matriz silícea, mediante sonocatálisis, utilizando como catalizador un extracto de hojas de geranio (*Pelargonium Zonale*), que contiene nanopartículas de oro biosintetizadas mediante dicho extracto, siguiendo el procedimiento descrito en la adición (P201300240) solicitada a la patente ES2364914. La inclusión de las nanopartículas en el interior del material modifica la naturaleza del material reticulado y uniformiza la distribución de las nanopartículas, facilitando la incorporación de nuevos modificante en la superficie del material (cross-linking) tales como tioles, enzimas, etc.

También se reivindica en esta solicitud el uso de este material en la fabricación de sensores y biosensores amperométricos modificados, así como el uso de este material como agente bactericida.

ES 2 540 465 B2

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de fabricación de materiales mediante tecnología sonogel catalizada por extractos vegetales y material obtenido por el mismo.

5

Sector de la técnica

La presente invención describe:

- 10 1. Un método nuevo para la obtención de materiales constituidos por una matriz silíceo que incluye en su seno nanopartículas de oro biosintetizadas y grafito.
- 15 2. Un procedimiento de obtención de un material compuesto de matriz silíceo, mediante sonocatálisis, utilizando como catalizador un extracto vegetal que contiene nanopartículas de oro biosintetizadas mediante dicho extracto.
3. El uso de este material en la fabricación de sensores y biosensores amperométricos modificados.
- 20 4. El uso de este material en su utilización como bactericida.

Estado de la técnica

25 La fabricación del material objeto de la invención incluye la utilización de dos tecnologías desarrolladas en los últimos años: por un lado, la sonocatálisis aplicada a la tecnología sol-gel con la obtención de sonogeles y por otro, la síntesis de nanopartículas de oro.

30 El método sol-gel consiste básicamente en la formación de redes tridimensionales compuestas por elementos inorgánicos a través de dos reacciones químicas simultáneas: hidrólisis y condensación. La primera etapa es la hidrólisis del alcóxido precursor a baja temperatura, que puede ser catalizada por medio de un ácido o una base, obteniéndose una suspensión de partículas coloidales denominada sol, con la formación de grupos silanoles (Si-OH) y la liberación del alcohol correspondiente. La policondensación de los grupos silanoles, al irse eliminando el agua y el alcohol, forma una estructura tridimensional unida por enlaces siloxanos (Si-O-Si) denominada gel. Todo el proceso descrito se realiza a temperatura ambiente, siendo ésta una de las características del método. Las ventajas que pueden obtenerse del proceso sol-gel para la síntesis de materiales son la gran variedad de estructuras que se pueden obtener y la posibilidad de incorporar en su interior diversas especies, lo que determinan diferentes y múltiples aplicaciones.

45 La utilización de ultrasonidos de alta potencia constituye una alternativa para sintetizar geles basada en la sonocatálisis que evita el uso del disolvente y proporciona materiales con características especiales llamados "sonogeles" (Esquivias, L. and Zarzycki, J., in Current Topics on Non-Crystalline Solids, M.D. Baró and M. Clavaguera Eds., World Scientific (1986) 409) (L. Esquivias and J. Zarzycki, *Ultrastructure Processing of Advances Materials*, Ullman D.R., Ulrich D.R., Eds.; John Wiley & Sons, Inc., New York 1988, p 255).

50 En las últimas décadas, las nanopartículas metálicas y muy especialmente las de oro, han sido ampliamente utilizadas en diversos tipos de sensores y biosensores. Las AuNPs

tienen la capacidad de producir la inmovilización de biomoléculas reteniendo su bioactividad, esta es una de las mayores ventajas para su utilización en biosensores. Debido a sus inusuales propiedades, el papel de las nanopartículas de oro ha sido múltiple, destacando entre otros la inmovilización y el marcado de biomoléculas (Y. Zhuo, R. Yuan, Y. Q. Chai, D. P. Tang, Y. Zhang, N. Wang, X. L. Li, Q. Zhu, *Electrochem Commun.*, 7 (2005) 355) (D. T. Nguyen, D.-J. Kim, K.-S. Kim *Micron*, 42 (2011) 207), la catálisis de reacciones (J. Ftouni, M. Penhoat, J. S. Girardon, A. Addad, E. Payen, C. Rolando, *Chem. Eng. J.* 227 (2013) 103), la mejora de la transferencia electrónica directa (S. Liu, D. Leech, H. Ju, *Anal. Lett.*, 36 (2003) 1), la funcionalización de su superficie mediante entrecruzamiento (E. Chow, T. R. Gengenbach, L. Wiczorek, B. Raguse, *Sensors Act. B: Chem.*, 143 (2010) 704) (P. V. Baptista, G. Doria, P. Quaresma, M. Cavadas, C. S. Neves, I. Gomes, P. Eaton, E. Pereira, R. Franco *Prog. Mol. Biol Transl.*, 104 (2011) 427), etc. Por otro lado también son destacables las propiedades bactericidas y antimicrobianas de las nanopartículas (R. Guerra, E. Lima, A. Guzmán *Microp. Mesop. Mat.* 170 (2013) 62), que en este caso se encuentran potenciadas por la presencia de las biomoléculas que provienen del extracto vegetal con el que han sido sintetizadas.

Descripción de la invención

El objeto de esta solicitud de patente lo constituye un procedimiento nuevo para la obtención de materiales constituidos por una matriz silíceas que incluyen en su seno nanopartículas de oro biosintetizadas y grafito, los materiales obtenidos por el citado procedimiento y los usos del mismo.

En este procedimiento se utiliza la sonocatálisis, basada en el empleo de ultrasonidos de alta potencia sobre la mezcla precursora alcóxido-agua. En la fase inicial se obtiene un sol, utilizando como catalizador un extracto vegetal que contiene nanopartículas de oro biosintetizadas mediante dicho extracto, siguiendo el procedimiento descrito en la adición (P201300240) solicitada a la patente ES2364914. Posteriormente se añade grafito de alta pureza y grado espectroscópico, obteniendo, tras el proceso de gelificación y secado, un material compuesto sonogel

Como se ha apuntado anteriormente, la introducción de nanopartículas de oro en el interior del material sonogel se lleva a cabo utilizando como catalizador del proceso una disolución de nanopartículas de oro en el extracto vegetal que se ha utilizado para su síntesis. El valor de pH de las nanopartículas de oro, impide la gelificación del material Sonogel, por tanto su introducción en el interior del mismo no es viable. Las nanopartículas introducidas en la síntesis del Sonogel utilizando como vehículo el extracto vegetal con el que han sido obtenidas, tienen un pH más ácido (entre 2,20 y 2,30) que permite la síntesis del Sonogel. Por otro lado, mediante el procedimiento presentado, incluyendo la nanopartículas en el proceso previo a la insonación, las nanopartículas quedan distribuidas uniformemente en el seno del material, haciendo que su superficie sea fácilmente renovable conservando su composición, estructura y propiedades.

Las nanopartículas de oro incluidas en el interior del material se han sintetizado siguiendo el procedimiento descrito en la adición (P20 1300240) solicitada a la patente ES2364914 (L.M. Cubillana Aguilera, M. Franco Romano, M.L.A. Gil Montero, I. Naranjo Rodríguez, J.L. Hidalgo Hidalgo de Cisneros and J.M. Palacios Santander, *Ultrason. Sonochem.*, 18 (20 11) 789). Este procedimiento permite sintetizar nanopartículas de oro partiendo de una disolución acuosa de un oxoácido u oxisal de oro, utilizando extracto de geranio

(*Pelargonium Zonale*) como agente reductor y estabilizador, mediante la utilización de ultrasonidos de alta potencia.

5 El procedimiento de fabricación de materiales mediante tecnología sonogel catalizada por extractos vegetales propuesto comprende al menos las siguientes etapas:

- Mezcla de metiltrimetoxisilano (MTMOS) con una disolución coloidal de nanopartículas de oro sintetizadas a partir de extractos vegetales.
- 10 • Insonación de la mezcla anterior durante 10 segundos y obtención del sol.
- Adición de grafito de alta calidad y grado espectroscópico.
- Rellenado del molde o del capilar (en el caso de sensores).
- 15 • Secado durante un tiempo mínimo de cuatro horas y obtención del material sonogel.

La novedad de la invención que se presenta reside en los siguientes aspectos principales:

- 20 • Inclusión de nanopartículas de oro en el interior de la estructura del sonogel, ° utilizando como vehículo el extracto vegetal con el que se han obtenido, lo que simultáneamente modifica la naturaleza del material reticulado y uniformiza la distribución de las nanopartículas.
- 25 • Utilización de un extracto vegetal en la sonocatálisis del sonogel, confiriendo un carácter más ecológico al proceso mediante la sustitución del ácido mineral por un catalizador bioorgánico.
- 30 • Renovación de la superficie del material sin que se produzca un cambio en sus propiedades.
- Facilidad para incorporar nuevos modificantes en la superficie del material mediante entrecruzamiento (cross-linking) tales como tioles, enzimas, etc.
- 35 • Disminución de los tiempos de gelificación y secado del material.

En el caso de la utilización para la fabricación de electrodos, aumento de la superficie de respuesta, la sensibilidad electroquímica y disminución de la corriente capacitiva con respecto a otros materiales de electrodo.

Modo de realización de la invención

Aparatos, materiales y reactivos

45 La insonación se llevó a cabo con un generador de ultrasonidos de alta potencia SONICATOR 4000 (Misonix Inc., Farmingdale, NY), que opera a 20 kHz con una potencia máxima de 600 W y está equipado con una punta de titanio de media pulgada de diámetro. Aunque la potencia máxima de salida del instrumento es de 600 W, en ningún momento, durante el proceso, se llegan a alcanzar potencias superiores a los 25 W.

Se utilizaron los siguiente reactivos:

- Metiltrimetilsiloxano (MTMOS) (Merck).
- 5 • Grafito de grado espectroscópico (GMBH).
- Disolución coloidal de nanopartículas de oro en extracto de hojas de geranio (*Pelargonium Zonale*) utilizado para su síntesis, siguiendo el procedimiento descrito en la adición solicitada a la patente P201000284.

10

Procedimiento de preparación del material

15

a) En un recipiente de vidrio se adicionan 600 μL de metiltrimetoxisilano (MTMOS) y 50 μL de una disolución coloidal de nanopartículas de oro, sintetizadas a partir del extracto de hojas de geranio (*Pelargonium Zonale*), según el procedimiento descrito en la adición (P201300240) solicitada a la patente ES2364914.

20

b) A continuación, protegido por una camisa de agua con el fin de dispersar la energía sobrante suministrada, se introduce en el recipiente la sonda del generador de ultrasonidos, de forma que la punta quede levemente introducida en la muestra, y se procede a la insonación durante 10 segundos, comunicándole una energía de $0.083 \text{ J}\cdot\text{mL}^{-1}$.

25

c) Como resultado de la hidrólisis se obtiene la fase sol, a la que se le añaden 600 mg de grafito, homogeneizando el conjunto. Posteriormente, comienza el proceso de gelificación. En este momento, el material adopta cualquier forma deseada con la utilización de un molde o bien se puede utilizar para la obtención de electrodos, rellenando capilares de vidrio.

30

d) El proceso de secado es de al menos cuatro horas.

Aplicación industrial

35

Actualmente, la investigación científica encaminada hacia la fabricación de nuevos materiales presenta una elevada demanda. En este caso, la incorporación de nanopartículas de oro biosintetizadas puede dar lugar a diversas aplicaciones. Estas aplicaciones pueden llevarse a cabo tanto mediante el empleo directo del material en sí, como para la fabricación de sensores y biosensores adaptados a una amplia gama de muestras de interés de muy diverso tipo: biológico, agroalimentario, medioambiental, y un amplio etcétera. En este caso, además, la incorporación de nanopartículas metálicas mediante un proceso de biosíntesis podría permitir la aplicación del material fabricado como bactericida, con el valor añadido que el extracto de geranio pueda aportar de forma sinérgica.

40

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento de fabricación de materiales mediante tecnología sonogel catalizada por extractos vegetales **caracterizado** porque dicho extracto presenta un pH comprendido entre 2,20 y 2,30, que actúa como vehículo para la introducción en el sonogel de nanopartículas de oro biosintetizadas, permitiendo la gelificación del material sonogel.
- 10 2. Procedimiento de fabricación de materiales mediante tecnología sonogel catalizada por extractos vegetales, según reivindicación 1, que comprende al menos las siguientes etapas:
- 15 • Mezcla de metiltrimetoxisilano (MTMOS) con una disolución coloidal de nanopartículas de oro sintetizadas a partir de extractos vegetales.
 - Insonación de la mezcla anterior durante 10 segundos y obtención del sol.
 - Adición de grafito de alta calidad y grado espectroscópico.
 - 20 • Rellenado del molde o del capilar (en el caso de sensores).
 - Secado durante un tiempo mínimo de cuatro horas y obtención del material sonogel.
- 25 3. Procedimiento de fabricación de materiales mediante tecnología sonogel catalizada por extractos vegetales según reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado** porque el extracto vegetal empleado es preferentemente extracto de hojas de geranio (*Pelargonium Zonale*).
- 30 4. Material obtenido mediante el procedimiento descrito en reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** por estar constituidos por una matriz sílicea que incluye en su interior nanopartículas de oro biosintetizadas y grafito.
- 35 5. Material obtenido mediante el procedimiento descrito en reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque la inclusión de las nanopartículas de oro modifica la naturaleza del material reticulado, quedando inmovilizadas en su interior con una distribución uniforme, dotándolo de su bioactividad.
- 40 6. Material obtenido mediante el procedimiento descrito en reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado** porque la inclusión de nanopartículas de oro en el interior del material, permite la incorporación de agentes modificantes en la superficie del material "cross-linking" tales como tioles, enzimas, etc.
- 45 7. Uso del material según reivindicaciones 1-6, para la construcción de sensores y biosensores amperométricos modificados.
8. Uso del material según reivindicaciones 1-6 como agente bactericida.



②① N.º solicitud: 201300757

②② Fecha de presentación de la solicitud: 03.08.2013

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N33/50** (2006.01)
B82Y30/00 (2011.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	AJAERO, Chukwuemeka, et al. Comparative study of the electrocatalytic activity of different types of gold nanoparticles using Sonogel-Carbon material as supporting electrode. Sensors and Actuators B: Chemical, 2012, vol. 171, p. 1244-1256; apartado 2.	1-8
A	FENG, Qingliang, et al. Synthesis of the multi-walled carbon nanotubes-COOH/graphene/gold nanoparticles nanocomposite for simple determination of Bilirubin in human blood serum. Sensors and Actuators B: Chemical, 17 de julio 2013 [online], vol. 185, p. 337-344; apartado 2.2.	1-8
A	ZHANG, YuJie, et al. High-conductivity grapheme nanocomposite via facile, covalent linkage of gold nanoparticles to graphene oxide. Chinese Science Bulletin, 2012, vol. 57, no 23, p. 3086-3092; apartado 1.2-1.4.	1-8
A	SHANKAR, S. Shiv, et al. Bioreduction of chloraurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes. Journal of Materials Chemistry, 2003, vol. 13, no 7, p. 1822-1826; Experimental Details.	1-8

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
04.07.2014

Examinador
V. Balmaseda Valencia

Página
1/4

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

B82Y, 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, XPESP, NPL, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 04.07.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-8	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-8	SI
	Reivindicaciones	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	AJAERO, Chukwuemeka, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, vol. 171, p. 1244-1256	2012
D02	FENG, Qingliang, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, vol. 185, p. 337-344.	17 Julio 2013 [online]
D03	ZHANG, YuJie, et al. Chinese Science Bulletin, vol. 57, no 23, p. 3086-3092.	2012
D04	SHANKAR, S. Shiv, et al. Journal of Materials Chemistry, vol. 13, no 7, p.1822-1826.	2003

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

El objeto de la presente invención es un procedimiento de fabricación de materiales mediante tecnología sonogel catalizado por extractos vegetales y material obtenido por el mismo.

En el documento D01 se estudia la actividad electrocatalítica de diferentes nanopartículas de oro utilizando una material sonogel-carbono como electrodo soporte. Dichas nanopartículas se obtienen por el método Turkevitch y por ultrasonidos de alta potencia y se depositan sobre el electrodo sonogel carbono mediante la técnica de "drop casting" (apartado 2).

El documento D02 describe la síntesis de un nanocomposite formado por nanopartículas de oro, grafeno y nanotubos de carbono multipared funcionalizados con grupos -COOH para la determinación de bilirrubina en suero sanguíneo.

Se obtienen las nanopartículas de oro in-situ sobre la superficie de un composite formado por el grafeno y la nanotubos de carbono multipared (apartado 2.2).

En el documento D03 se estudia la alta conductividad de un material formado por un nanocomposite de grafeno al que se unen covalentemente nanopartículas de oro. Dicho material se obtiene a partir de la mezcla de óxido de grafeno y las nanopartículas de oro en dimetilsulfóxido y la aplicación de ultrasonidos (apartados 1.2-1.4).

El documento D04 describe la síntesis de nanopartículas de oro basada en el uso de hojas de geranio (Experimental Details).

Se considera que los documentos D01-D04 constituyen el estado de la técnica más cercano. Ninguno de estos documentos divulga un procedimiento de obtención de un material mediante sonogel catalizada por un extracto vegetal que presenta un pH=2,20-2,30. Así como tampoco un material que comprenda una matriz sílice que incluya en su interior nanopartículas de oro biosintetizadas y grafito.

Así el objeto de las reivindicaciones 1-8 es, con referencia a los documentos citados, nuevo e implica actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1)