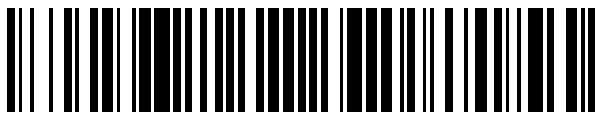




OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **3 053 309**

⑯ Número de solicitud: 202430533

⑮ Int. Cl.:

**B01J 2/04** (2006.01)

⑫

## SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑯ Fecha de presentación:

**26.06.2024**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud:

**21.01.2026**

⑯ Solicitantes:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE  
COMPOSTELA (100,00%)  
Avda das Ciencias, 6-4D  
15782 Santiago de Compostela (A Coruña) ES**

⑯ Inventor/es:

**GARCÍA GONZÁLEZ, Carlos Alberto;  
CARRACEDO PÉREZ, María y  
MAGARIÑOS FERRO, María Beatriz**

⑯ Agente/Representante:

**ELION IP, S.L.**

⑯ Título: **AEROGELES ESTÉRILES O DESINFECTADOS Y PROCEDIMIENTOS PARA SU  
PREPARACIÓN Y ESTERILIZACIÓN SIMULTÁNEA**

⑯ Resumen:

La presente divulgación se refiere a aerogeles estériles o desinfectados, p.ej., para su uso como biomateriales nanoestructurados con fines biomédicos y alimentarios. La presente divulgación también se refiere a métodos para la preparación de dichos aerogeles estériles o desinfectados.

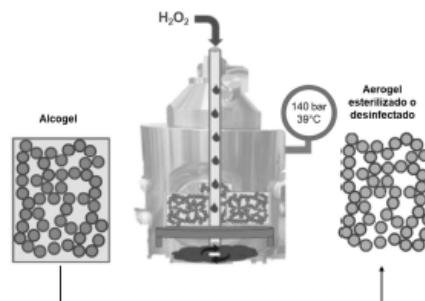


Figura 1

**DESCRIPCIÓN****AEROGELES ESTÉRILES O DESINFECTADOS Y PROCEDIMIENTOS PARA SU  
PREPARACIÓN Y ESTERILIZACIÓN SIMULTÁNEA**

5

**SECTOR DE LA TÉCNICA**

La presente divulgación se refiere a aerogeles desinfectados o estériles, p.ej., para su uso como biomateriales nanoestructurados con fines biomédicos y alimentarios. La presente 10 divulgación también se refiere a métodos para la preparación de dichos aerogeles desinfectados o estériles.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

15       Aerogeles basados en polímeros naturales son de creciente interés en el campo biomédico y alimentario debido a su biocompatibilidad, bioactividad, biodegradabilidad y, en ciertos casos, biomímesis de matriz extracelular. La porosidad alta y abierta de los aerogeles, junto con sus altas áreas específicas de superficie y sus propiedades de aislamiento térmico, son de interés, por ejemplo, para la administración de fármacos, el tratamiento de heridas, la 20 medicina regenerativa, la oncoterapia o portadores de compuestos funcionales y sustitutos de grasas en la industria alimentaria. Además, los avances recientes en la formulación de aerogeles dieron como resultado una alta versatilidad de morfologías externas, estructuras porosas y composición que proporcionan rendimientos biológicos personalizados para muchas vías de administración (oral, nasal, pulmonar, cutánea).

25

      Sin embargo, el requerimiento de esterilidad o de desinfección de los mismos es un atributo de calidad crítico que limita el uso de aerogeles en biomedicina y en alimentación. La producción de aerogeles estériles o desinfectados no es evidente debido a su compleja nanoestructura (alta mesoporosidad y tortuosidad). Algunos métodos utilizados para la 30 obtención de aerogeles estériles o desinfectados incluyen (i) el procesamiento aséptico de aerogeles a partir de precursores estériles, y (ii) la post-esterilización o post-desinfección de aerogeles. La primera opción, es decir, el procesamiento aséptico de aerogeles, da lugar a un aumento de los costes de fabricación debido a los mayores costes de compra de materias primas con esterilidad certificada o de los pretratamientos de esterilización, junto con los 35 mayores costes de procesamiento por operar en condiciones asépticas debido a su mayor

complejidad (incluido el envasado). A continuación, la opción de la esterilización o desinfección posterior de los aerogeles da lugar a un paso de procesamiento adicional que conduce a una mayor complejidad y variabilidad de resultados. Además, técnicas de esterilización convencionales (p.ej., el uso de óxido de etileno, irradiación gamma, térmica y 5 UV) no son capaces de alcanzar los niveles de esterilidad requeridos debido a problemas de penetrabilidad en las intrincadas estructuras porosas del aerogel, o no pueden preservar la integridad del aerogel en términos de propiedades físicas (texturales, mecánicas) o de composición (cambios en el peso molecular, degradación fisicoquímica) con diferentes grados de severidad.

10

Por lo tanto, hay la necesidad de desarrollar métodos de preparación de aerogeles que permitan obtener aerogeles con un nivel de esterilidad satisfactorio y que, al mismo tiempo, mantengan su nanoestructura y su identidad química.

15 **DESCRIPCIÓN GENERAL**

En este sentido, la presente divulgación se dirige a un método que permite realizar la esterilización *in situ* de aerogeles durante su producción. En la presente memoria se divulga por primera vez la producción directa de aerogeles estériles o desinfectados mediante la implementación de una tecnología de producción integrada y respetuosa con el medio 20 ambiente, mediante el uso de un fluido supercrítico, como el dióxido de carbono supercrítico (scCO<sub>2</sub>) en combinación con un agente inactivante microbiano utilizando una combinación de etapas dinámicas (con flujo de CO<sub>2</sub>) y estáticas (sin flujo).

25 Aerogeles son geles de un material sólido poroso en donde la fase dispersa es un gas y dotados de una alta mesoporosidad abierta, siendo un gel una red no fluida coloidal o polimérica que se expande a través de todo su volumen por un fluido. Los aerogeles son habitualmente producidos mediante el secado supercrítico de los geles, por ejemplo, en un proceso asistido por scCO<sub>2</sub>. El scCO<sub>2</sub> también es reconocido como un agente biocida y se ha propuesto para la esterilización de materiales termosensibles como biopolímeros, materiales 30 sensibles a degradación por hidrólisis, productos alimentarios, tejidos biológicos de implantación, fármacos, sistemas de liberación de fármacos y productos sanitarios sin impactar sobre la integridad del material y sobre las propiedades del material tras el tratamiento (ver por ejemplo los documentos de patente publicados como US 6,149,864 A, US 2007/0003432 A1, EP 1 782 839 A1, US 2009/0041620 A1, EP 1 782 839 A1, US 35 2004/0120852, US2014/0193552 A1).

Varios documentos describen el uso de fluidos supercríticos para la esterilización de materiales porosos. Por ejemplo, sin dirigirse a aerogeles, la solicitud internacional publicada como WO 2022/084569 A1 describe un sistema estéril para implantación comprendiendo una matriz polimérica termosensible que modifica su estructura en presencia de un gas comprimido o un fluido supercrítico, para dar lugar a un sólido o semisólido de porosidad superior al 60%. El documento también se dirige a un procedimiento para la preparación de dichos sistemas utilizando scCO<sub>2</sub> y peróxido de hidrogeno. Bento *et al.* (Bento, C.S.A.; Alarico, S.; Empadinhas, N.; de Sousa, H.C.; Braga, M.E.M. "Sequential scCO<sub>2</sub> Drying and Sterilisation of Alginate-Gelatine Aerogels for Biomedical Applications." *J. Supercrit. Fluids* 2022, 184, 105570, doi:10.1016/j.supflu.2022.105570) describe un proceso integrado que utiliza scCO<sub>2</sub> para el secado de alcogeles de alginato-gelatina y su esterilización para proporcionar aerogeles de alginato-gelatina para aplicaciones biomédicas. Para ello, los geles de alginato-gelatina se secaron y esterilizaron secuencialmente con scCO<sub>2</sub> en un proceso continuo y en el mismo recipiente de alta presión, por ejemplo, por medio de ciclos de presurización/despresurización. Santos Rosales *et al.* (Santos-Rosales, V.; Arda, I.; Alvarez-Lorenzo, C.; Ribeiro, N.; Oliveira, A.; García-González, C. "Sterile and Dual-Porous Aerogels Scaffolds Obtained through a Multistep Supercritical CO<sub>2</sub>-Based Approach." *Molecules* 2019, 24, 871, doi:10.3390/molecules24050871) describen la preparación de aerogeles utilizando la zeína, una familia de proteínas presentes en materiales para ingeniería de tejidos, como un porógeno de sacrificio para obtener aerogeles de almidón macroporoso e implementando un post-tratamiento de esterilización con CO<sub>2</sub> supercrítico para estos aerogeles en presencia de peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Se ha visto que la esterilización o desinfección *in situ* de aerogeles durante su producción utilizando scCO<sub>2</sub> en combinación con un agente inactivante microbiano, mediante el contacto de un liogel con scCO<sub>2</sub> en una secuencia de etapas específica, tal y como se describe en la presente memoria, da como resultado un tratamiento eficaz para obtener aerogeles con un grado de inactivación microbiana adecuado según las exigencias requeridas para aplicaciones biomédicas y alimentarias, al tiempo que se conservan las propiedades fisicoquímicas de los aerogeles.

En particular, la presente divulgación se dirige a un procedimiento para la preparación y la simultánea esterilización o desinfección de un aerogel, que comprende contactar un liogel con scCO<sub>2</sub> en el interior de un autoclave, en donde contactar comprende cinco etapas en el siguiente orden:

- i) una etapa de presurización que comprende presurizar el autoclave con CO<sub>2</sub> hasta condiciones de scCO<sub>2</sub>;
- ii) una primera etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de CO<sub>2</sub>;
- 5       iii) una etapa estática que comprende mantener el autoclave a una presión de scCO<sub>2</sub> sin flujo;
- 10      iv) una segunda etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de CO<sub>2</sub>; y
- 15      v) una etapa de despresurización que comprende despresurizar el autoclave hasta presión atmosférica, obteniendo un aerogel estéril o desinfectado; en donde durante la etapa estática (iii) se introduce un agente inactivante microbiano en el autoclave bajo presión de scCO<sub>2</sub>, preferiblemente un agente inactivante microbiano seleccionado de entre peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ácido peracético, ácido acético, ácido trifluoroacético, hipoclorito sódico, dióxido de cloro, ácido bórico, cloruro de
- 20      didecildimetilamonio (DDAC por sus siglas en inglés), ácido fórmico, dicloroisocianurato de sodio, hidroperóxido terbutílico, formaldehido, glutaraldehído, agua, metanol, etanol, sales de amonio, óxido de etileno, así como fenoles, polifenoles, terpenos, aceites esenciales, derivados de glucosinolatos, alcaloides y tioles con actividad antimicrobiana, y combinaciones de ellos en mezclas, más preferiblemente el agente inactivante microbiano siendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

20      Este procedimiento no solo permite obtener aerogeles con un nivel de inactivación microbiana aceptable, incluso para las aplicaciones más exigentes, sino que también permiten obtener aerogeles sin dañar su nanoestructura e identidad química. Además, aerogeles estériles o desinfectados obtenidos con los métodos descritos en la presente divulgación han

25      demostrado tener citocompatibilidad con líneas celulares. Estos métodos, permiten, por lo tanto, utilizar aerogeles para nuevos fines biomédicos o alimentarios, por ejemplo, como andamios para ingeniería de tejidos, como portadores en formulaciones farmacéuticas o como portadores de compuestos funcionales y sustitutos de grasas en alimentos que requieren niveles de esterilización o desinfección controlados. Por lo tanto, la presente divulgación

30      también se dirige a un aerogel estéril o desinfectado obtenible por dicho procedimiento y a un aerogel estéril o desinfectado que tiene un grado controlado de inactivación microbiana, por ejemplo, SAL-6 tal y como se detalla más adelante; y al mismo tiempo tiene grados aceptables de propiedades deseables en aerogeles como, por ejemplo, porosidad, área específica de superficie, volumen específico total de poro, volumen específico de mesoporo y/o diámetro

35      medio de poro, tal y como también se detalla más adelante.

Los métodos y productos descritos en la presente memoria ofrecen una solución auspiciosa y factible desde el punto de vista tecnológico y económico que no se ha logrado hasta ahora, abriendo nuevas perspectivas en la ingeniería de aerogeles para nuevos fines biomédicos, como aerogeles como andamios para ingeniería de tejidos o como portadores en 5 formulaciones farmacéuticas, y fines alimentarios que requieren niveles de esterilización o desinfección controlados.

### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una 10 mejor comprensión de las características de la invención, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

Figura 1.- Autoclave que incluye un liogel (p.ej., un alcogel) en un procedimiento para 15 la preparación y la simultánea desinfección o esterilización de un aerogel con scCO<sub>2</sub> mediante la adición de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en el autoclave en unas condiciones de presión de scCO<sub>2</sub> y temperatura de 140 bar y 39 °C, respectivamente.

Figura 2.- Diagrama de flujo de proceso de un ejemplo de equipo que se puede utilizar 20 en un procedimiento para la preparación y la simultánea esterilización de un aerogel con scCO<sub>2</sub>. Las líneas negras gruesas permiten la adición *in situ* del agente inactivante microbiano (p.ej., H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en el autoclave presurizado. Leyenda: 1. Suministro de CO<sub>2</sub>; 2. Indicador de presión (PI, por sus siglas en inglés); 3. Enfriador; 4. Bomba de CO<sub>2</sub> (p.ej., de doble pistón); 25 5. Intercambiador de calor; 6. Válvulas (p.ej., de aguja); 7. Autoclave a presión, p.ej., aislado térmicamente y equipado con, p.ej., indicador de presión (PI), agitación magnética (M), camisa calefactora y medidor de temperatura o termopar (TI, por sus siglas en inglés); 8. Controlador e indicador de presión (PIC, por sus siglas en inglés) de válvula tipo backpressure; 9. Recipiente separador-colector; 10. Válvula (p.ej., de bola); y 11: Recipiente equipado donde 30 se precarga el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y luego se introduce.

Figura 3.- Perfiles de proceso de presión-tiempo con: (i) una etapa de presurización con scCO<sub>2</sub>; (ii) una primera etapa dinámica con un flujo de CO<sub>2</sub>; (iii) una etapa estática sin flujo; (iv) una segunda etapa dinámica con flujo de CO<sub>2</sub>; y (v) una etapa de despresurización. En la Figura 3A se ilustra un procedimiento para la preparación de aerogeles y en la Figura 35 3B se ilustra un procedimiento para la preparación de aerogeles con esterilización simultánea

(esterilización *in situ* durante la preparación del aerogel con el proceso de secado) para obtener aerogeles estériles o desinfectados con adición de  $H_2O_2$  al autoclave en el paso (iii), p.ej., bajo presión de scCO<sub>2</sub>, y con presencia de  $H_2O_2$  en el equipo con efecto inactivante microbiano también en los pasos subsiguientes (iv) y (v), si bien su presencia en estos pasos 5 subsiguientes se va reduciendo.

Figura 4.- Imágenes SEM de aerogeles de alginato (Figura 4A) y almidón (Figura 4B) obtenidos para el blanco, un ejemplo sin agente inactivante microbiano (sin  $H_2O_2$ ) preparado bajo las condiciones del ejemplo comparativo 2 (BS\_1\_0), y un ejemplo con agente inactivante 10 microbiano (con  $H_2O_2$ ) preparado bajo las condiciones del ejemplo 3e (BS\_1).

Figura 5.- Efecto de la preparación de aerogeles con esterilización simultánea en presencia un agente inactivante microbiano (p.ej.,  $H_2O_2$  en una cantidad de 3300 ppm) sobre las propiedades texturales de aerogeles de almidón, p.ej., cilindros de almidón (las tres barras 15 sólidas de la izquierda) y de alginato, p.ej., perlas de alginato (las tres barras rayadas de la derecha) obtenidos para el blanco (Blanco\_3), el ejemplo sin agente inactivante microbiano (sin  $H_2O_2$ , preparado bajo las condiciones del ejemplo comparativo 2, BS\_1\_0), y el ejemplo con agente inactivante microbiano (con  $H_2O_2$ , preparado bajo las condiciones del ejemplo 3e, BS\_1). Se representan la porosidad total ( $\epsilon$ ) (Figura 5A), el área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) 20 (Figura 5B), el volumen total específico de poro ( $V_v$ ) (Figura 5C), representado como la suma del volumen específico de macroporos ( $V_{P, \text{macro}}$ ) (color oscuro) y el volumen específico de mesoporos ( $V_{P, \text{meso}}$ ) (color claro) y el diámetro medio de poro ( $D_p$ ) (Figura 5D). Las barras agrupadas con la misma letra (a o b) denotan grupos estadísticamente homogéneos.

Figura 6.- Efecto del tiempo de exposición sobre las propiedades texturales de aerogeles estériles o desinfectados de almidón, p.ej. cilindros de almidón, (las tres barras sólidas de la izquierda) y de alginato p.ej. perlas de alginato (las tres barras rayadas de la derecha), preparados con un tiempo de duración de la etapa estática (iii) de 1 hora (1 h etapa 25 (iii) según las condiciones del ejemplo 3e, BS\_1), 2 horas (2 h etapa (iii) según las condiciones del ejemplo 3d, BS\_2) y 3 horas (3 h etapa (iii) según las condiciones del ejemplo 3f, BS\_3) incluyendo la porosidad ( $\epsilon$ ) (Figura 6A), el área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) (Figura 6B), 30 volumen específico total de poro ( $V_v$ ) (Figura 6C), representado como la suma de los volúmenes específicos de macroporos ( $V_{P, \text{macro}}$ ) (color oscuro) y mesoporos ( $V_{P, \text{meso}}$ ) (color claro), y el diámetro medio de poro ( $D_p$ ) (Figura 6D). Las barras agrupadas con la misma letra 35 (a o b) denotan grupos estadísticamente homogéneos.

Figura 7.- Efecto del tiempo de agitación sobre las propiedades texturales de aerogeles estériles o desinfectados de almidón, p.ej., cilindros de almidón, (las tres barras sólidas de la izquierda) y de alginato, p.ej., perlas de alginato (las tres barras rayadas de la derecha), incluyendo un ejemplo sin agitación (preparado según las condiciones del ejemplo 3k, N\_1), 5 un ejemplo con agitación en la etapa (iii) (preparado según las condiciones del ejemplo 3h, B\_1) y un ejemplo con agitación en las etapas (iii) y (iv) (preparado según las condiciones del ejemplo 3e BS\_1), dichas propiedades incluyendo la porosidad ( $\varepsilon$ ) (Figura 7A), el área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) (Figura 7B), volumen específico total de poro ( $V_v$ ) (Figura 7C), representado como la suma de los volúmenes específicos de macroporos ( $V_{P, \text{macro}}$ ) (color 10 oscuro) y mesoporos ( $V_{P, \text{meso}}$ ) (color claro), y el diámetro medio de poro ( $D_p$ ) (Figura 7D). Las barras agrupadas con la misma letra (a o b) denotan grupos estadísticamente homogéneos.

Figura 8.- Estudios de viabilidad celular, expresados en porcentaje, determinada después de 24 y 48 h de contacto con formulaciones de aerogeles de almidón, p.ej., cilindros 15 de almidón, (barras sólidas, Figura 8A) y de alginato, p.ej., perlas de alginato (barras rayadas, Figura 8B), preparados con el ejemplo comparativo 2 (BS\_1\_0) y el ejemplo 3e (BS\_1).

## DESCRIPCIÓN DETALLADA

En particular, la presente divulgación se dirige a un procedimiento para la preparación 20 y la simultánea esterilización o desinfección de un aerogel, que comprende contactar un liogel con scCO<sub>2</sub> en el interior de un autoclave, en donde contactar comprende cinco etapas en el siguiente orden:

- i) una etapa de presurización que comprende presurizar el autoclave con CO<sub>2</sub> hasta condiciones de scCO<sub>2</sub>;
- 25 ii) una primera etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de CO<sub>2</sub>;
- iii) una etapa estática que comprende mantener el autoclave a una presión de scCO<sub>2</sub> sin flujo;
- 30 iv) una segunda etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de CO<sub>2</sub>;
- v) una etapa de despresurización que comprende despresurizar el autoclave hasta presión atmosférica, obteniendo un aerogel estéril o desinfectado;
- en donde durante la etapa estática (iii) se introduce un agente inactivante microbiano en el autoclave bajo presión de scCO<sub>2</sub>, preferiblemente un agente inactivante microbiano 35 seleccionado de entre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ácido peracético, ácido acético, ácido trifluoroacético, hipoclorito

sódico, dióxido de cloro, ácido bórico, DDAC, ácido fórmico, dicloroisocianurato de sodio, hidroperóxido terbutílico, formaldehído, glutaraldehído, agua, metanol, etanol, sales de amonio, óxido de etileno, así como fenoles, polifenoles, terpenos, aceites esenciales, derivados de glucosinolatos, alcaloides y tioles con actividad antimicrobiana, y combinaciones 5 de ellos en mezclas, más preferentemente el agente inactivante microbiano siendo  $H_2O_2$ .

La preparación y la simultánea esterilización o desinfección de un aerogel, se entiende como la esterilización o desinfección *in situ* del aerogel durante su preparación.

10 En la presente memoria, se entiende desinfección como un proceso que reduce la cantidad de microorganismos presentes en un aerogel resultando en un aerogel desinfectado y se entiende esterilización como un proceso que elimina la totalidad de microorganismos de un aerogel, resultando en un aerogel estéril. En particular, el nivel de desinfección o esterilidad de un aerogel se describe en detalle más abajo.

15 Se ha observado que una esterilización o desinfección simultánea a la preparación de un aerogel tal y como se describe en la presente memoria, ventajosamente disminuye los pasos necesarios para la obtención de un aerogel estéril o desinfectado y al mismo tiempo permite obtener aerogeles con un gran nivel de esterilidad sin dañar significativamente la 20 nanoestructura y la identidad química del aerogel.

En particular, un gel se entiende aquí, como en el estado del arte, como una red coloidal no fluida o red polimérica que se expande en todo su volumen por un fluido.

25 Un aerogel se entiende, como se indica más arriba, como un gel, preferiblemente dotado de una alta mesoporosidad abierta, en el que el fluido es un gas. El gas presente en el aerogel tal y como se describe en la presente memoria puede ser aire,  $CO_2$ , una atmósfera controlada o un gas inerte.

30 Un liogel se entiende aquí, como en el estado del arte, como un gel donde el fluido es un líquido. El líquido puede ser un disolvente, por ejemplo, seleccionado de entre etanol, acetona, metanol, dimetilsulfóxido, dietiléter, etilmethylcetona, isopropanol, y mezclas de los mismos, más preferiblemente el disolvente siendo etanol.

Un alcogel se entiende aquí, como en el estado del arte, como un liogel en el que el líquido es un disolvente que comprende predominantemente o puede consistir en un alcohol o una mezcla de alcoholes. El alcohol puede estar preferiblemente seleccionado de entre, por ejemplo, etanol, metanol e isopropanol más preferiblemente el alcohol puede ser etanol.

5

En varias realizaciones, un gel, por ejemplo, un liogel (como un alcogel) o un aerogel, comprende un material polimérico. El material polimérico puede seleccionarse, por ejemplo, de entre polímeros orgánicos, polímeros inorgánicos y combinaciones de estos, opcionalmente con adiciones. Un material polimérico con adiciones se refiere a, por ejemplo, 10 un material polimérico con adiciones de partículas y/o fibras de naturaleza cerámica, polimérica, metálica, biológica o un material polimérico compuesto como, p.ej., tipo sándwich.

En varias realizaciones los polímeros orgánicos se pueden seleccionar de entre polisacáridos, resorcinol-formaldehído; poliuretano; proteínas; polinucleótidos; y mezclas de 15 los mismos.

En varias realizaciones los polímeros inorgánicos se pueden seleccionar de entre sílice, carbono y mezclas de los mismos.

20 En varias realizaciones el material polimérico puede ser preferiblemente un polímero orgánico y más preferiblemente es un polisacárido. En varias realizaciones particulares un polisacárido puede seleccionarse de entre alginato, almidón, quitosano y/o derivados celulósicos, todavía más preferiblemente de entre alginato y almidón y aún más preferiblemente el material polimérico es alginato o almidón.

25

El liogel puede tener cualquier forma adecuada para la aplicación final del aerogel resultante. A modo de ejemplo, el liogel (p.ej., el alcogel) puede tener forma de cilindros (también referidos como monolitos) y/o perlas, por ejemplo, cilindros de almidón o perlas de alginato.

30

En un método descrito en la presente memoria, un aerogel se obtiene a partir de un liogel y más particularmente a partir de un alcogel.

35 Un liogel (p.ej., un alcogel) puede estar disponible comercialmente o puede prepararse por métodos conocidos en la técnica. Brevemente, se puede preparar un liogel, por ejemplo,

un alcogel, disolviendo un material polimérico en un disolvente, por ejemplo, que comprende un alcohol, tal y como se detalla más arriba. También se puede obtener un alcogel de otro liogel, disolviendo un material polimérico en un primer disolvente, por ejemplo, agua, acetona, etanol, acetonitrilo o disoluciones salinas acuosas (como hidróxido de potasio y tiourea en agua) o de dimetilsulfóxido (como bromuro de litio en DMSO), para proporcionar un primer gel donde el fluido es dicho primer disolvente (por ejemplo, un hidrogel donde el fluido es agua), opcionalmente se pueden llevar a cabo etapas intermedias de envejecimiento en disoluciones intermedias dotadas de sales o agentes químicos de entrecruzamiento, y subsiguientemente intercambiar el primer disolvente por un segundo disolvente. El segundo disolvente puede 5 comprender un disolvente cualquiera (distinto del primer disolvente) para proporcionar un segundo gel que es un liogel, o más en particular puede comprender, por ejemplo, un alcohol para proporcionar un segundo gel que es un alcogel. El intercambio de disolventes se puede 10 realizar sumergiendo el primer gel en el segundo disolvente, por ejemplo, de manera secuencial con mezclas intermedias de ambos disolventes o de manera directa en el segundo 15 disolvente, y separar el gel del disolvente. Para obtener el liogel, p.ej., el alcogel, si hace falta, se puede repetir el proceso de sumergir el gel en el segundo disolvente y separarlo del disolvente, una o más veces, preferiblemente dos veces. Para la preparación de un alcogel, el disolvente que comprende un alcohol (p.ej., el segundo disolvente) puede comprender un 20 alcohol o consistir en un alcohol o en una mezcla de alcoholes, tal y como se describe más arriba para el alcogel.

Un método descrito en la presente memoria comprende contactar un liogel con scCO<sub>2</sub> en el interior de un autoclave, que comprende el liogel.

25 Un autoclave adecuado para un método tal y como se describe en la presente memoria preferiblemente es un recipiente en cuyo interior se trabaja a presión superior a la atmosférica y está adaptado para mantener un fluido bajo presión y para modificar y mantener la temperatura dentro del autoclave. Ejemplos de autoclaves adecuados incluyen, por ejemplo, un recipiente de presión de acero inoxidable o de Hastelloy con cierre metálico o polimérico 30 compatibles con alta presión y presencia de CO<sub>2</sub>, disolventes y agentes inactivantes microbianos. Dicho autoclave ha de disponer al menos de un puerto para la entrada y salida de CO<sub>2</sub>.

35 Un método descrito en la presente memoria puede comprender, antes de contactar el liogel con el scCO<sub>2</sub>, introducir el liogel (p.ej., un alcogel) en el interior del autoclave o preparar

el liogel en el interior del autoclave. Preferiblemente el liogel puede estar situado dentro de una bolsa de esterilización.

En varias ejecuciones, el liogel que se va a contactar con el scCO<sub>2</sub> se puede introducir 5 en el interior de un autoclave. Preferiblemente el liogel puede estar situado dentro de una bolsa de esterilización. Por ejemplo, el liogel se puede introducir en una bolsa de esterilización y esta puede termosellarse o autosellarse. Bolsas de esterilización adecuadas para un método tal y como se describe en la presente memoria pueden ser comerciales. A modo de ejemplo, se pueden utilizar bolsas de esterilización termosellables y autosellables de papel (como papel 10 de uso médico) y/o material polímerico (como poliéster polipropileno, PET, o polipropileno shutterless (CPP) entre otros), que pueden estar disponibles comercialmente, p.ej., de MEDIPACK AG, Sendal SI o Soplaril Hispania. El liogel puede haberse obtenido comercialmente o preparado anteriormente (p.ej., como se describe anteriormente) y se puede introducir en el interior de un autoclave, por ejemplo, por un conducto de entrada o con 15 el autoclave abierto, preferiblemente con los geles separados sin que se apilen.

En varias ejecuciones el liogel se puede preparar en el interior del autoclave. A modo de ejemplo, el liogel se puede preparar en el interior del autoclave a partir de un primer liogel mediante un intercambio de disolvente o a partir de un material polimérico y un disolvente, por 20 ejemplo, tal y como se describe más arriba. De esta forma el liogel ya está presente en el autoclave para su subsiguiente contacto con scCO<sub>2</sub>, pudiéndose evitar así el paso de preparar el liogel separadamente e introducirlo en el autoclave. En este caso, es necesario preservar un entorno estéril al abrir el autoclave y al empaquetar el material estéril.

25 Un método descrito en la presente memoria comprende contactar el liogel con scCO<sub>2</sub>. scCO<sub>2</sub> se refiere a CO<sub>2</sub> que se encuentra en condiciones de temperatura y presión superiores a las de su punto crítico, también referidas como condiciones supercríticas, y en las que el fluido, en este caso el CO<sub>2</sub> posee propiedades entre las de un gas y las de un líquido. El punto crítico del CO<sub>2</sub> se encuentra a una presión de 7,39 MPa (presión crítica) y a una temperatura 30 de 31,1 °C (temperatura crítica). Así que las condiciones supercríticas del CO<sub>2</sub> son una presión superior de 7,39 MPa y una temperatura superior a 31,1 °C.

En un procedimiento descrito en la presente memoria, la temperatura del autoclave puede ser de 31,1 a 70 °C, preferiblemente de 33 a 60 °C, y más preferiblemente de 35 a 50

°C. En varias ejecuciones la temperatura del autoclave es de 37 a 41 °C, y más preferiblemente alrededor de 39°C.

En un procedimiento descrito en la presente memoria la presión del autoclave puede 5 ser de al menos 74 bar (es decir 7,4 MPa), en particular al menos 85 bar (es decir 8,5 MPa), y más en particular de al menos 110 bar (es decir 11 MPa).

Contactar el liogel con scCO<sub>2</sub> se realiza generalmente dentro del autoclave que comprende el liogel. En varias ejecuciones el autoclave puede comprender un exceso de 10 disolvente (preferiblemente el mismo disolvente que el del liogel) en el fondo del autoclave. La presencia de un exceso de disolvente puede evitar, p.ej., una evaporación prematura del disolvente en el liogel.

Contactar el liogel con scCO<sub>2</sub> comprende cinco etapas en un orden específico.

15 La primera etapa es una etapa de presurización (i) que comprende presurizar el autoclave con CO<sub>2</sub> hasta condiciones de scCO<sub>2</sub>. Presurizar el autoclave se puede realizar añadiendo CO<sub>2</sub> dentro del autoclave, por ejemplo, por un conducto de entrada, y si hace falta, calentar el autoclave hasta que se consigan condiciones supercríticas para el CO<sub>2</sub> o de la mezcla supercrítica del CO<sub>2</sub> con el disolvente del liogel (en particular una presión superior de 7,39 20 MPa y una temperatura superior a 31,1 °C), presurizándose así el autoclave con scCO<sub>2</sub>. Para la presurización el flujo de entrada de CO<sub>2</sub> puede ser de 0,25 a 25 g/min por cada 100 mL de volumen de autoclave, preferiblemente de 0,5 a 20 g/min, más preferiblemente de 1 a 15 g/min, todavía más preferiblemente de 2 a 10 g/min, y aún más preferiblemente de 5 a 7 g/min.

25 En ejecuciones particulares, presurizar el autoclave se puede realizar hasta llegar a una presión determinada. Por ejemplo, se puede presurizar el autoclave hasta una presión de 80 a 180 bar (es decir 10 – 18 MPa), preferiblemente de 110 a 150 bar (es decir 11 – 15 MPa), y más preferiblemente alrededor de 120 bar (es decir 12 MPa).

30 El autoclave se puede mantener bajo presión con flujo de CO<sub>2</sub> o sin flujo. Por ejemplo, cuando el autoclave tiene una determinada presión, dicha presión se puede mantener con flujo de CO<sub>2</sub> permitiendo la entrada de CO<sub>2</sub> dentro del autoclave, por ejemplo, a través de un canal de entrada, y la salida de CO<sub>2</sub> del autoclave a través del autoclave, por ejemplo, a través de un canal de salida, particularmente, de manera que el flujo de entrada de CO<sub>2</sub> y el flujo de

salida de scCO<sub>2</sub> sea el mismo. Por otro lado, el autoclave se puede mantener bajo presión sin flujo, por ejemplo, cerrando los flujos de entrada y de salida del autoclave.

En un método descrito en la presente memoria, el CO<sub>2</sub> que entra en el autoclave puede

5 entrar en condiciones no supercríticas y encontrar condiciones supercríticas en el interior del autoclave. Por lo tanto, a pesar de que el CO<sub>2</sub> de entrada puede encontrarse también en alguna realización en condiciones supercríticas, se refiere generalmente a un flujo de entrada de CO<sub>2</sub>. Por el contrario, el CO<sub>2</sub> que se encuentra en el autoclave y que sale del autoclave en un flujo de salida se encontrará generalmente en condiciones supercríticas y, por lo tanto, en

10 10 la presente memoria se refiere generalmente al flujo de salida de scCO<sub>2</sub>. Por otro lado, las etapas con o sin flujo se refieren generalmente a un flujo de CO<sub>2</sub>, sin especificar la condición supercrítica de dicho CO<sub>2</sub>.

Después de presurizar el autoclave, contactar el liogel (p.ej. alcogel) con scCO<sub>2</sub> se

15 15 puede realizar alternando una primera etapa dinámica (ii) con flujo de CO<sub>2</sub>; una etapa estática (iii) sin flujo; y una segunda etapa dinámica (iv) con flujo de CO<sub>2</sub>. En particular,

ii) una primera etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de CO<sub>2</sub>;

iii) una etapa estática que comprende mantener el autoclave bajo presión de scCO<sub>2</sub> sin

20 20 flujo; y

iv) una segunda etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de CO<sub>2</sub>.

En algunas realizaciones particulares la etapa estática (iii) y/o la segunda etapa

25 25 dinámica (iv) puede realizarse bajo agitación, preferiblemente ambas etapas pueden realizarse bajo agitación. La agitación se puede impartir, por ejemplo, utilizando medios de agitación como un agitador magnético, por ejemplo un agitador magnético comercial como IKA RCT basic S000. El nivel de agitación aplicado puede ser de 100 a 1500 rpm, en particular de 200 a 1200 rpm, más en particular de 400 a 900 rpm, y todavía más en particular de 500 a

30 30 800 rpm, y preferiblemente alrededor de 700 rpm.

En algunas realizaciones el flujo de CO<sub>2</sub> en dicha primera etapa dinámica (ii) y/o dicha segunda etapa dinámica (iv) puede ser de 0,25 a 25 g/min por cada 100 mL de volumen de autoclave, preferiblemente de 0,5 a 20 g/min, más preferiblemente de 1 a 15 g/min, todavía

35 35 más preferiblemente de 2 a 10 g/min, y aún más preferiblemente de 5 a 7 g/min. Estos flujos

de CO<sub>2</sub> permiten extraer gran parte del disolvente del gel durante la etapa dinámica (ii) y el disolvente restante y el aditivo inactivante microbiano durante la etapa dinámica (iv). Los valores de flujo son los adecuados para que se renueve el CO<sub>2</sub> al menos tres veces en el autoclave.

5

En varias ejecuciones, en la primera etapa dinámica (ii) y/o la segunda etapa dinámica (iv) el autoclave se puede mantener a una presión de, por ejemplo, 80 a 180 bar (es decir 10 – 18 MPa), preferiblemente de 110 a 130 bar (es decir 11 – 13 MPa), y más preferiblemente alrededor de 120 bar (es decir 12 MPa).

10

En algunas realizaciones, la etapa estática (iii) que comprende mantener el autoclave bajo presión sin flujo de CO<sub>2</sub>, puede comprender mantener el autoclave bajo una presión de scCO<sub>2</sub> de 80 a 180 bar, preferiblemente de 130 a 150 bar, más preferiblemente por encima de 135 bar y todavía más preferiblemente alrededor de 140 bar.

15

En varias ejecuciones la presión del autoclave en la primera etapa dinámica (ii) y en la segunda etapa dinámica (iv) puede ser inferior a la presión del autoclave en la etapa estática (iii). Por ejemplo, en varias ejecuciones particulares, la presión en la primera etapa dinámica (ii) y en la segunda etapa dinámica (iv) puede ser de alrededor 120 bar y la presión en la etapa 20 estática puede ser de alrededor de 140 bar.

En otras ejecuciones la presión puede ser la misma en la etapa estática (iii) y en ambas etapas dinámicas (ii) y (iv). Por ejemplo, la presión en todas las etapas (ii), (iii) y (iv) puede ser de alrededor 140 bar.

25

Como se indica más arriba, la presión del autoclave en la etapa estática (iii) puede ser superior a la presión del autoclave en la primera etapa dinámica (ii). En algunas realizaciones, la etapa estática (iii) puede comprender aumentar la presión del autoclave, por ejemplo, añadiendo CO<sub>2</sub> al autoclave sin flujo de salida o a un flujo de salida inferior al de entrada, para, 30 a continuación, pasar a ausencia de flujos de entrada y de salida y mantener así la presión en el autoclave. La entrada de CO<sub>2</sub> sin salida de scCO<sub>2</sub> o un flujo de salida inferior al de entrada resultan en un aumento de la presión del autoclave.

Como también se indica más arriba, la presión del autoclave en la etapa estática (iii) 35 puede ser superior a la presión del autoclave en la segunda etapa dinámica (iv). En algunas

realizaciones, la segunda etapa dinámica (iv) puede comprender disminuir la presión del autoclave, por ejemplo, dejando salir un flujo de scCO<sub>2</sub> del autoclave, sin flujo de entrada, o con un flujo de entrada de CO<sub>2</sub> en el autoclave que es inferior al flujo de salida del autoclave. La salida de scCO<sub>2</sub> sin entrada de CO<sub>2</sub> o con un flujo de salida de scCO<sub>2</sub> superior al flujo de 5 entrada de CO<sub>2</sub> resulta en un descenso de la presión del autoclave.

Mantener el autoclave bajo presión con un flujo de CO<sub>2</sub>, en la primera etapa dinámica (ii) y/o en la segunda etapa dinámica (iv), se puede conseguir una vez el autoclave tiene la presión deseada mediante, por ejemplo, la entrada en el autoclave de un flujo de entrada de 10 CO<sub>2</sub> igual al flujo de salida de scCO<sub>2</sub>.

En un método descrito en la presente memoria, durante la etapa estática (iii) se introduce un agente inactivante microbiano en el autoclave bajo presión de scCO<sub>2</sub>.

15 Preferiblemente, un agente inactivante microbiano puede ser seleccionado de entre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ácido peracético, ácido acético, ácido trifluoroacético, hipoclorito sódico, dióxido de cloro, ácido bórico, DDAC, ácido fórmico, dicloroisocianurato de sodio, hidroperóxido terbutílico, formaldehido, glutaraldehído, agua, metanol, etanol, sales de amonio, óxido de etileno, así como fenoles, polifenoles, terpenos, aceites esenciales, derivados de 20 glucosinolatos, alcaloides y tioles con actividad antimicrobiana, y combinaciones de ellos en mezclas, más preferiblemente el agente inactivante microbiano siendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se ha observado que el uso de dichos agentes inactivantes microbianos, y de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en particular, ventajosamente resulta en aerogeles con buenas propiedades de inactivación microbiana y 25 de nanoestructura e identidad química. Además, se ha observado que el uso de estos agentes inactivantes microbianos, y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en particular, resulta en aerogeles que no presentan citotoxicidad y, por lo tanto, una buena biocompatibilidad.

El agente inactivante microbiano puede añadirse en una cantidad de 10 a 6000 ppm con respecto al volumen del autoclave, en particular (mg) de agente inactivante microbiano 30 por cada litro (l) de volumen del autoclave, preferiblemente de 250 a 5750 ppm, más preferiblemente de 600 a 5500 ppm. Se ha observado que estas cantidades contribuyen a proporcionar aerogeles estériles o desinfectados y al mismo tiempo no afectan adversamente a la citotoxicidad de los aerogeles obtenidos, ni a la nanoestructura ni la identidad química.

En algunas realizaciones, en la etapa estática (iii) se puede añadir el agente inactivante microbiano en disolución o en forma sólida junto con una corriente de CO<sub>2</sub> u otro fluido a presión en la parte inferior del autoclave, preferentemente junto con CO<sub>2</sub> a través de un tubo alimentador que tiene su salida en la parte inferior del autoclave. Un ejemplo de un autoclave

- 5 adaptado para la introducción del agente inactivante microbiano (por ejemplo, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a la parte inferior del autoclave se puede observar en la Figura 1. En ciertas ejecuciones específicas, dicho tubo alimentador puede disponer a su salida de una boquilla de diámetro conocido para pulverizar el agente inactivante microbiano. Otras configuraciones para la adición del agente inactivante microbiano serían posibles, preferiblemente, evitando el contacto físico directo de
- 10 la entrada de dicho agente con los geles presentes en el autoclave.

En algunas realizaciones, la primera etapa dinámica (ii) puede tener una duración de 0,25 a 5 horas, preferiblemente de 0,5 a 4 horas, más preferiblemente de 1 a 3 horas, y todavía más preferiblemente alrededor de 2 horas. Se ha observado que una etapa de una duración

15 dentro de estos rangos. Estos rangos favorecen la correcta obtención de nanoestructuras porosas dependiendo del flujo de CO<sub>2</sub> de entrada empleado y del tamaño del aerogel estéril o desinfectado a preparar.

En algunas realizaciones, la etapa estática (iii) puede tener una duración de 0,25 a 5 horas, preferiblemente de 0,5 a 4 horas, y más preferiblemente de 1 a 3 horas. Se ha observado que una etapa de una duración dentro de estos rangos. Estos rangos contribuyen a la obtención de nanoestructuras y un nivel de inactivación microbiana aceptables para una mayoría de aplicaciones de interés. El tiempo exacto de duración puede variar en función de la naturaleza y dimensiones del aerogel a preparar y de la naturaleza y cantidad del agente

20 inactivante microbiano empleado.

En algunas realizaciones, la segunda etapa dinámica (iv) puede tener una duración de 0,25 a 4 horas, preferiblemente de 0,5 a 3 horas, más preferiblemente de 1 a 2 horas, y todavía más preferiblemente alrededor de 1,5 horas. Se ha observado que una etapa de una duración

30 dentro de estos rangos contribuye a la obtención de nanoestructuras porosas y niveles de inactivación microbiana aceptables para una mayoría de aplicaciones de interés, así como a eliminar el agente inactivante microbiano. Los tiempos exactos pueden variar dependiendo del flujo de salida de scCO<sub>2</sub> utilizado específicamente.

Después de la segunda etapa dinámica (iv), un procedimiento descrito en la presente memoria comprende una etapa de despresurización (v) que comprende despresurizar el autoclave hasta presión atmosférica, obteniendo un aerogel estéril o desinfectado.

5 Presión atmosférica se refiere a la presión que es la presión ambiente en el lugar donde se encuentra el autoclave. Por ejemplo, a nivel del mar, presión atmosférica puede ser de alrededor 1 bar (es decir alrededor de 0,1 MPa).

10 La etapa de despresurización (v) se puede realizar, a una velocidad de despresurización de, por ejemplo, de 0,5 a 5 bar/min (es decir de 0,05 a 0,5 MPa/min), preferiblemente de 0,75 a 4 bar/min (es decir de 0,075 a 0,4 MPa/min), y de 1 a 3 bar/min (es decir de 0,1 a 0,3 MPa/min). La presión del autoclave al final de la etapa de despresurización se corresponde a la presión atmosférica (p.ej. alrededor de 1 bar, es decir 0,1 MPa).

15 Al final del procedimiento, el aerogel estéril o desinfectado puede comprender CO<sub>2</sub> como fluido. El aerogel estéril o desinfectado puede ponerse en contacto con aire y/o almacenarse en, por ejemplo, una atmósfera controlada, por ejemplo, en una atmósfera inerte. Almacenar el aerogel estéril o desinfectado en una atmósfera inerte puede, por ejemplo, realizarse colocando el aerogel en un recipiente bajo presión de un gas inerte como el 20 nitrógeno. Dependiendo del tiempo y el tipo de atmósfera con la que el aerogel esté en contacto el fluido del aerogel puede cambiar de CO<sub>2</sub> a otros gases como aire o nitrógeno.

25 Se ha observado que un aerogel obtenible por un procedimiento descrito en la presente memoria tiene un grado de esterilización o desinfección que es aceptable para la mayoría de las aplicaciones. En particular, se puede ajustar el procedimiento de preparación para obtener aerogeles adecuados para aplicaciones que requieren un elevado grado de desinfección, por ejemplo, requiriendo grados de esterilización o para obtener aerogeles adecuados para aplicaciones que no requieren esterilización, por ejemplo, para las que determinados grados de desinfección son suficientes.

30

Por ejemplo, un producto estéril se puede definir (tal y como se establece en la norma española UNE 556, que se corresponde a la norma europea EN 556) como un producto en donde la probabilidad de supervivencia de un microorganismo no es mayor que una entre un millón (menor que  $1\times10^{-6}$ ) y esta expresión es lo que internacionalmente se conoce como 35 Nivel SAL (por sus siglas en inglés "Security Assurance Level") de  $10^{-6}$  o de -6, también

referido como Nivel SAL-6. Niveles SAL superiores, es decir niveles de supervivencia todavía inferiores, por ejemplo, SAL-7 (menores que  $1\times10^{-7}$ ), SAL-8 (menores que  $1\times10^{-8}$ ), etc., también denotan esterilidad.

5        El nivel de esterilización o desinfección puede determinarse frente a distintos organismos. Dependiendo del método de esterilización o desinfección utilizado hay microorganismos que son más resistentes que otros y por los que el mismo nivel SAL (p. ej., SAL-6) puede conseguirse con más dificultad. Por ejemplo, el nivel de esterilización o desinfección obtenido con un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria,  
10      se puede evaluar frente a esporas de un microorganismo seleccionado de entre *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus atrophaeus* y/o *Bacillus pumilus*.

15       A modo de ejemplo, es conocido que la bacteria *B. pumilus* es el estándar de esterilización por radiación (ver, por ejemplo, ISO 11137-1:2006) y es el microorganismo más resistente a un tratamiento de esterilización como un método de esterilización supercrítica como el que se describe en la presente memoria. Por lo tanto, *B. pumilus* se puede utilizar como bioindicador (BI) para esterilizaciones en condiciones supercríticas y un nivel de esterilización SAL-6 frente a *B. pumilus*, se puede considerar como el nivel de esterilización más alto verificado que se puede conseguir con procedimientos del tipo que se describe en la  
20      presente memoria. *B. stearothermophilus* se conoce como el BI estándar de esterilización por vapor (ver, por ejemplo, ISO 17665-1:2006) y *B. atrophaeus* como el BI estándar de esterilización por óxido de etileno (ver, por ejemplo, ISO 11135:2014).

25       Por lo tanto, un nivel SAL-6, o superior, frente a uno o más de estos microorganismos denota un buen nivel de esterilización.

30       El nivel de desinfección o esterilización de un aerogel se puede determinar por métodos conocidos en el arte. Por ejemplo, el nivel SAL puede ser determinado midiendo la turbidez y/o el número de unidades formadoras de colonias (CFUs por sus siglas en inglés).  
35      En particular, se pueden colocar tiras de esporas secas de un bioindicador en el autoclave junto con un liogel y someterse a las mismas condiciones para la preparación y esterilización o desinfección del aerogel. Al final del proceso, para determinar el nivel de inactivación microbiana respecto al bioindicador testado, se puede evaluar el crecimiento bacteriano a partir de las tiras de esporas sujetas al procedimiento, y compararlo al nivel de crecimiento de tiras que no han sido sujetas al procedimiento (control positivo) y al nivel de crecimiento de

medio de crecimiento sin esporas (control negativo). Por ejemplo, si después de incubar las tiras de esporas sujetas al procedimiento (y los controles positivo y negativo) a una temperatura adecuada para el crecimiento del bioindicador evaluado, durante unos días, por ejemplo, siete días, el nivel de supervivencia del bioindicador no es mayor que una entre un 5 millón (menor que  $1 \times 10^{-6}$ ) se puede considerar que el procedimiento ha conseguido un nivel SAL-6 frente a dicho microorganismo, y los aerogeles obtenidos con el mismo también. Como se indica más arriba, el nivel de supervivencia se puede determinar por medida de turbidez, por ejemplo, por densidad óptica y/o por medida del número de unidades formadoras de 10 colonias (CFUs por sus siglas en inglés), por ejemplo, por siembra en medio de cultivo en placa.

Consecuentemente, la presente memoria también se dirige a un aerogel estéril, por ejemplo, obtenible por un procedimiento descrito en la presente memoria. Dicho aerogel estéril puede tener un grado SAL-6 o superior frente a *B. stearothermophilus*, a *B. atrophaeus* y/o a 15 *B. pumilus*, preferentemente al menos frente a *B. stearothermophilus*, más preferentemente también frente a *B. atrophaeus* y todavía más preferentemente también frente a *B. pumilus*.

La presente memoria también se dirige a un aerogel desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento descrito en la presente memoria. Dicho aerogel desinfectado 20 puede tener, típicamente, un grado SAL inferior a SAL-6 para uno o más de entre *B. stearothermophilus*, *B. atrophaeus* y *B. pumilus*. Por ejemplo, un aerogel desinfectado puede tener un al menos un grado SAL-1, por ejemplo, de un grado SAL-1 hasta un grado SAL-5, en particular al menos un grado SAL-2, SAL-3 o SAL-4, frente a *B. stearothermophilus*, *B. atrophaeus* y/o *B. pumilus*, preferentemente al menos frente a *B. stearothermophilus*, 25 preferentemente también frente a *B. atrophaeus* y más preferentemente también frente a *B. pumilus*.

También se observó que aerogeles estériles o desinfectados obtenidos mediante un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, pueden tener un bajo de nivel 30 de citotoxicidad lo que implica una buena citocompatibilidad. Por lo tanto, dichos aerogeles estériles o desinfectados pueden ser particularmente útiles para aplicaciones donde una citocompatibilidad es importante, como en aplicaciones biomédicas.

En particular, se observó que dichos aerogeles estériles o desinfectados pueden tener 35 un nivel de viabilidad celular de al menos 70%, según la norma UNE-EN ISO 10993-5:2009,

preferiblemente superior al 90%. El nivel de viabilidad celular se puede medir por métodos conocidos en el arte. Por ejemplo, se pueden incubar muestras de dichos aerogeles estériles o desinfectados con células de interés. La temperatura de incubación puede ser, por ejemplo, de 30 a 45 °C, en particular de 36 a 39 °C y más en particular alrededor de 37 °C, al ser la 5 temperatura fisiológica. El tiempo de incubación puede ser, por ejemplo, de 6 a 96 h, en particular de 12 a 72 h, y más en particular de 24 a 48 h. Las células utilizadas pueden ser células que se puedan encontrar en contacto con los aerogeles en su aplicación final o células representativas de las mismas que se puede esperar que reaccionen de la misma manera o de una manera similar. En algunos ejemplos, se pueden utilizar fibroblastos, como células de 10 líneas celulares NIH-3T3, NCTC clone 929, BALB/3T3 clone A31, MRC-5, WI-38, Vero Cells, BHK-21 o V-79-379A. Después de la incubación con los aerogeles, la viabilidad de las células se puede determinar utilizando, por ejemplo, el ensayo de resazurina que mide la función mitocondrial de células activas metabólicamente, tal y como describen, p.ej., Iglesias-Mejuto 15 *et al.* (Iglesias-Mejuto, A., Magariños, B., Ferreira-Gonçalves, T., Starbird-Pérez, R., Álvarez-Lorenzo, C., Pinto-Reis, C., Ardao, I., García-González, C.A. “Vancomycin-loaded methylcellulose aerogel scaffolds for advanced bone tissue engineering.” *Carbohydrate Polymers* 2024, 324, 121536 doi: 10.1016/j.carbpol.2023.121536)

20 Sin estar ligados a ninguna teoría, se propone que la secuencia de pasos (i) a (v) de un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria puede contribuir a obtener un aerogel con un bajo nivel de residuos tóxicos, como residuos de agente inactivante microbiano. Por ejemplo, la cantidad de agente inactivante microbiano presente en un aerogel estéril o desinfectado obtenido por un procedimiento descrito en la presente memoria puede estar por debajo de 500 ppm, con respecto el peso total del aerogel, en particular por debajo 25 de 100 ppm, más en particular por debajo de 25 ppm y todavía más en particular por debajo de 10 ppm. Por lo tanto, la presente memoria también se dirige a un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento descrito en la presente memoria, que además tiene una cantidad de agente inactivante microbiano por debajo de 500 ppm, en particular por debajo de 100 ppm, más en particular por debajo de 25 ppm y todavía más en 30 particular por debajo de 10 ppm.

35 Se ha observado que un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria resulta en aerogeles estériles o desinfectados que tienen una nanoestructura adecuada. Una nanoestructura adecuada se entiende como una nanoestructura equivalente a la de un aerogel no estéril o desinfectado, en particular que no ha estado sometido a un proceso de

esterilización o desinfección, es decir preparado en condiciones similares, por ejemplo, mediante secado supercrítico, sin estar sujeto a condiciones de esterilización. A modo de ejemplo, un aerogel estéril o desinfectado obtenido por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria (incluyendo las etapas (i)-(v)) puede tener una

5 nanoestructura equivalente a un aerogel obtenido por un procedimiento que incluye etapas equivalentes a las (i)-(v) pero en condiciones que no resultan en un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo sin utilizar un agente inactivante microbiano en la etapa estática (iii), o un procedimiento que en vez de tener dos etapas dinámicas (i) y (iv) y una etapa estática (iii) comprende simplemente una sola etapa dinámica.

10

En varias realizaciones un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, puede tener características de, por ejemplo, porosidad, área específica de superficie, volumen específico total de poro, y/o diámetro medio de poro similares o equivalentes a la de un aerogel que no ha sido

15 sometido a un proceso de esterilización.

20 1:

$$\varepsilon(\%) = \left( \frac{V_p}{V_T} \right) \times 100 \quad (1)$$

El  $V_p$  de una muestra de aerogel puede determinarse de la diferencia entre el volumen total del sólido del aerogel ( $V_s$ ) y el  $V_T$  de la muestra.

25

El volumen específico total de poro ( $V_p$ ) y la porosidad ( $\varepsilon$ ) también pueden determinarse a partir de la densidad aparente o densidad envolvente del aerogel ( $\rho_i$ ) y de la densidad real del aerogel ( $\rho_{esq}$ ). El término densidad aparente ( $\rho_i = \rho_{app}$ ) puede utilizarse, por ejemplo, refiriéndose a cilindros de aerogel, como cilindros de almidón, y el término densidad envolvente ( $\rho_i = \rho_{env}$ ) puede utilizarse, por ejemplo, refiriéndose a perlas de aerogel. La densidad aparente o envolvente ( $\rho_i$ ) puede determinarse midiendo las dimensiones y el peso de los aerogelos. La densidad real ( $\rho_{esq}$ ) puede determinarse, por ejemplo, usando un picnómetro como un picnómetro de helio en condiciones de temperatura y presión de, por ejemplo, 25 °C y 1,01 bar.

35

La porosidad se puede calcular en % mediante la ecuación 2:

$$\varepsilon(\%) = \left(1 - \frac{\rho_i}{\rho_{esq}}\right) * 100 \quad (2)$$

Un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, puede tener una porosidad ( $\varepsilon$ ) de más del 65 preferiblemente de más del 75 %, más preferiblemente de más del 78 %, todavía más preferiblemente de más del 80 %. La porosidad puede ser determinada por picnometría de helio y medida de peso y volumen, en particular, por ejemplo, a partir de las densidades aparente o envolvente ( $\rho_i$ ) y real ( $\rho_{esq}$ ) del aerogel con la ecuación 2.

10

El volumen específico total de poro ( $V_v$ ) puede expresarse en  $\text{cm}^3/\text{g}$  y calcularse mediante la ecuación 3:

$$V_v(\text{cm}^3/\text{g}) = \left(\frac{1}{\rho_i} - \frac{1}{\rho_{esq}}\right) \quad (3)$$

15

En caso de ausencia de microporosidad en el aerogel, el volumen específico total de poro se corresponde a la suma del volumen específico de los mesoporos y los macroporos del aerogel. Como es conocido en el arte, macroporos son poros de un tamaño mayor de 50 nm, mesoporos son poros de un tamaño de 2 a 50 nm y microporos son poros de un tamaño inferior a 2 nm. El volumen específico de mesoporos ( $V_{P, \text{meso}}$ ), que se puede determinar, por ejemplo, por el método de Barrett-Joyner-Halenda (BJH) en el rango de poros entre 2 y 50 nm y el volumen específico de macroporos ( $V_{P, \text{macro}}$ ) se puede calcular, por ejemplo, por diferencia entre  $V_v$  y  $V_{P, \text{meso}}$ .

20

Un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, puede tener un volumen específico de mesoporo ( $V_{P, \text{meso}}$ ) de más de  $0,3 \text{ cm}^3/\text{g}$ , preferiblemente de más de  $0,6 \text{ cm}^3/\text{g}$ , que puede estar determinado por análisis de adsorción-desorción de nitrógeno con el método Barrett-Joyner-Halenda (BJH).

30

Un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, puede tener un volumen específico total de poro ( $V_v$ ) de más de  $2 \text{ cm}^3/\text{g}$ . Pudiendo ser el  $V_v$  determinado, por ejemplo, a partir de las densidades aparente o envolvente ( $\rho_i$ ) y real ( $\rho_{esq}$ ) del aerogel con la ecuación 3.

El área específica de superficie de un aerogel puede definirse como el área de superficie sólida por unidad de masa y puede determinarse por métodos conocidos como el método de Brunauer–Emmett–Teller (BET) y expresarse como el Área BET ( $A_{BET}$ ) en unidades de  $m^2/g$ , tal y como describen, p.ej., Sing *et al.* (Sing, K. S. W., Everett, D.H., Haul, R. A. 5 W., Moscou, L., Pierotti, R. A., Rouquérol, J., Siemieniewska, T. "Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity" *Pure and Applied Chemistry* 1985, 57, 4, doi: 10.1351/pac198557040603). Brevemente,  $A_{BET}$  se obtiene a partir de la rama de adsorción de la isoterma del análisis de adsorción-desorción de nitrógeno, en el rango de presiones relativas entre 0,05 y 0,30, empleando la ecuación de 10 BET. El tiempo de desgasificación al vacío, previo al análisis de la muestra, así como la temperatura a la que se lleva a cabo dicha desgasificación, pueden influir en la medida. Por ejemplo, la temperatura de desgasificación empleada para los aerogeles de almidón puede ser de 60°C durante, p.ej., al menos 18 h, mientras que los aerogeles de alginato se pueden desgasificar durante el mismo tiempo a, por ejemplo, 40°C. Un aerogel estéril o desinfectado, 15 por ejemplo, obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, puede tener un área específica de superficie de más de 50  $m^2/g$  determinada por el método BET, preferiblemente de más de 80  $m^2/g$ .

El diámetro medio de poro ( $D_p$ ) de un aerogel puede definirse como el diámetro efectivo del cuerpo de un poro o de su cuello y puede expresarse como el valor medio del diámetro de poro de los poros presentes en una muestra en nanómetros (nm). El diámetro medio de poro puede ser de 1 a 400 nm, preferiblemente de 2 a 50 nm. El diámetro medio de poro puede medirse por métodos conocidos como el método de Barrett-Joyner-Halenda (BJH) 20 de la rama de desorción de la isoterma del análisis de adsorción-desorción de nitrógeno, tal y como describen, p.ej., Sing *et al.* El tiempo de desgasificación al vacío previo al análisis de la muestra, así como la temperatura a la que se lleva a cabo dicha desgasificación, pueden influir 25 en la medida. Esto puede ser debido a la presencia de gases y vapores adsorbidos al material previo al ensayo o a la degradación térmica del material en caso de emplearse una temperatura excesiva (Sing *et al.*). Por ejemplo, la temperatura de desgasificación empleada 30 para los aerogeles almidón puede ser de 60°C durante al menos, p.ej., 18h, mientras que los aerogeles de alginato se pueden desgasificar durante al mismo tiempo a, p.ej., 40°C.

Un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, puede tener un diámetro medio de poro ( $D_p$ ) de 35 más de 4 nm.

En varias realizaciones particulares un aerogel estéril o desinfectado, por ejemplo, obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria, puede tener:

- una porosidad ( $\epsilon$ ) de más del 65 % preferiblemente de más del 75 %, más preferiblemente de más del 78 %, todavía más preferiblemente de más del 80 %;

5 - una área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) de más de 50 m<sup>2</sup>/g, preferiblemente de más de 80 m<sup>2</sup>/g; y/o

- un volumen específico de mesoporo ( $V_{P, \text{meso}}$ ) de más de 0,3 cm<sup>3</sup>/g, preferiblemente de más de 0,6 cm<sup>3</sup>/g.

10 Como se indica más arriba, el grado de esterilización de tal aerogel estéril tiene al menos un grado de SAL-6 frente a *B. stearothermophilus*, preferiblemente frente a *B. atrophaeus* y más preferiblemente frente a *B. pumilus*.

15 En vista a lo expuesto, la presente memoria también se dirige, particularmente, a un aerogel estéril que puede comprender alginato y/o almidón que puede tener un grado de esterilización de SAL-6 frente a *B. stearothermophilus*, preferiblemente frente a *B. atrophaeus* y más preferiblemente frente a *B. pumilus* y al menos una de las siguientes características:

- una porosidad ( $\epsilon$ ) de más del 65 %, preferiblemente de más del 75 %, más preferiblemente de más del 78 %, todavía más preferiblemente de más del 80%;

20 - una área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) de más de 50 m<sup>2</sup>/g, preferiblemente de más de 80 m<sup>2</sup>/g; y/o

- un volumen específico de mesoporo ( $V_{P, \text{meso}}$ ) de más de 0,3 cm<sup>3</sup>/g, preferiblemente de más de 0,6 cm<sup>3</sup>/g.

25 Dicho aerogel estéril también puede ser obtenible por un procedimiento tal y como se describe en la presente memoria.

30 Aerogeles estériles o desinfectados descritos en la presente memoria, por ejemplo, obtenibles con procedimientos tal y como se describen en la presente memoria, que pueden disfrutar de las características de ausencia controlada de microorganismos y de nanoestructura detalladas aquí arriba, son particularmente adecuados para las aplicaciones más exigentes en cuanto a nivel de inactivación microbiana. Por lo tanto, la presente memoria también se dirige al uso de dichos aerogeles estériles o desinfectados para aplicaciones biomédicas y/o alimentarias, como, por ejemplo, en ingeniería de tejidos, como portadores en

formulaciones farmacéuticas, cosméticas o en alimentos, así como sustitutos de grasas en la industria alimentaria.

En este texto, las palabras "comprende", "incluye" y sus variantes (como 5 "comprendiendo", "incluyendo", etc.) no deben interpretarse de forma excluyente, es decir, no excluyen la posibilidad de que lo descrito incluya otros elementos, pasos, etc.

Por otra parte, la invención no está limitada a las realizaciones concretas que se han 10 descrito sino abarca también, por ejemplo, las variantes que pueden ser realizadas por el experto medio en la materia (por ejemplo, en cuanto a la elección de materiales, dimensiones, componentes, configuración, etc.), dentro de lo que se desprende de las reivindicaciones.

Realizaciones particulares de procedimientos y productos tal y como se describen en la presente memoria se detallan en los siguientes ejemplos sin limitarse a ni por ellos.

15

## **EJEMPLOS**

### **Materiales**

20 Una sal sódica de ácido algínico de algas pardas (con una relación de ácido gulurónico/ácido manurónico de 70/30 y un peso molecular (MW) de 403 kDa) fue suministrado por Sigma Life Science (Irvine, Reino Unido).

25 El almidón de maíz nativo (con un contenido de amilosa del 52,6%) fue proporcionado por Roquette Frères S.A. (Lestrem, Francia).

El cloruro de calcio anhídrico ( $\text{CaCl}_2$ , >99% de pureza) y el etanol absoluto ( $\text{EtOH}$ , >99,9% de pureza) fueron proporcionados por Scharlab (Barcelona, España) y VWR (Radnor, PA, EE.UU.), respectivamente.

30

El  $\text{CO}_2$  (99,8% de pureza) fue suministrado por Nippon Gases (Madrid, España) y el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) al 30% (v/v) por Sigma-Aldrich (Madrid, España).

35 El agua se purificó mediante ósmosis inversa (resistividad > 18  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ , Milli-Q, Millipore®, Madrid, España).

Indicadores biológicos de esterilidad: tiras de esporas de *B. pumilus* (ATCC 27142) ( $10^6$  esporas/tira) y tiras de esporas de *B. stearothermophilus* (ATCC 7953) ( $10^6$  esporas/tira) se compraron a Sigma-Aldrich (Madrid, España), mientras que las tiras de esporas de *B. atropphaeus* (línea celular 9372) ( $2,4 \times 10^6$  esporas/tira) se obtuvieron de Crosstex International (Rush, NY, EE.UU.).

Caldo de soja tripticasa (TSB) y medio agar de soja triptocaseína (TSA) se compraron a BIOKAR Diagnosis (Pantin, Francia).

10 Para los análisis texturales de adsorción-desorción se utilizó nitrógeno ultrapuro ( $N_2 > 99\%$  de pureza) suministrado por Nippon Gases (Madrid, España).

#### **Ejemplo 1: Preparación de alcogeles**

15 Perlas de hidrogel de alginato se prepararon mediante gelificación iónica externa utilizando el método de goteo, según describen Remuiñán-Pose, *et al.* (Remuiñán-Pose, P.; López-Iglesias, C.; Iglesias-Mejuto, A.; Mano, J.F.; García-González, C.A.; Rial-Hermida, M.I. Preparation of Vancomycin-Loaded Aerogels Implementing Inkjet Printing and Superhydrophobic Surfaces. *Gels* **2022**, *8*, 417, doi:10.3390/gels8070417). Brevemente, el  
20 polvo de alginato se disolvió en agua destilada con agitación magnética (300 rpm) durante una noche para obtener una concentración final de 2,0 % (p/v) basado en el peso de alginato y el volumen total de agua. A continuación, se transfirieron 20 mL de la disolución de alginato a una jeringa con un diámetro de boquilla de 2 mm para la formación de las perlas de alginato dejándola caer en un baño de 50 mL de disolución de  $CaCl_2$  de 150 mM desde una altura de  
25 20 cm y a un flujo constante de 1,4 mL/min utilizando una bomba de jeringa (AL-1000, World Precision Instruments, Sarasota, FL, EE.UU.). Después de 2 h de envejecimiento en disolución de  $CaCl_2$ , las partículas de gel se sumergieron en EtOH para el intercambio de disolventes.

30 Cilindros de hidrogel de almidón se obtuvieron por gelificación térmica en moldes, según describen Santos-Rosales *et al.* (ver referencia anterior). Brevemente, se prepararon dispersiones acuosas de almidón al 8% (p/v) basado en el peso de almidón y el volumen total de agua y se sometieron a un tratamiento térmico a 121 °C y 1,1 bar durante 20 min para la disolución del almidón. Después de dosificar las soluciones de almidón en moldes cilíndricos  
35 (6 cm de altura y 12 mm de diámetro), se realizó la gelificación del almidón. Los geles de

almidón se almacenaron a 4 °C durante 48 h para retrogradación y luego se sumergieron en EtOH y cortaron en cilindros de 3,5 mm de longitud.

En ambos casos, se realizaron dos pasos consecutivos de intercambio directo de 5 disolventes con una frecuencia de 24 h para sustituir el agua por EtOH en la estructura del gel.

**Ejemplo 2 (comparativo): Producción de aerogeles no estériles por secado supercrítico**

10 Los alcogeles de almidón y alginato preparados de acuerdo con el ejemplo 1 se sometieron a un tratamiento de secado supercrítico para obtener aerogeles. Brevemente, los alcogeles empapados de EtOH se colocaron en una autoclave de 100 mL (TharSFC, Pittsburgh, PA, EE.UU.; representado a modo de ejemplo como el ítem 7 de la Figura 2), se añadió un exceso de EtOH en el fondo del autoclave y, subsiguentemente, se pusieron en 15 contacto con scCO<sub>2</sub>. Las muestras de gel fueron previamente encerradas en bolsas de esterilización y termoselladas, ya que pruebas preliminares (no mostradas) confirmaron que el secado en dichas bolsas no tuvo un impacto en la estructura porosa interna de los aerogeles. Se utilizaron bolsas de esterilización termosellables para autoclave (Soplaril Hispania, Barcelona, España) que se llenaron con los alcogeles de alginato y de almidón y 20 luego se termosellaron.

Seguidamente se llevó a cabo un proceso de secado supercrítico (sin agente inactivante microbiano) a 39 °C en cinco etapas consecutivas de regímenes diferentes como se muestra, a modo ilustrativo, en la Figura 3A (ensayo Blanco\_1): una etapa (i) de 25 presurización con CO<sub>2</sub> hasta condiciones de scCO<sub>2</sub> de 120 bar; una etapa (ii) con un primer régimen dinámico (o una primera etapa dinámica) a 120 bar con un flujo de CO<sub>2</sub> de 7 g/min, de 2 h; una etapa (iii) con un régimen estático a 135 bar en presencia de scCO<sub>2</sub>, sin flujo de CO<sub>2</sub>, de 1 h; una etapa (iv) con un segundo régimen dinámico (o una segunda etapa dinámica) 30 a 120 bar con un flujo de CO<sub>2</sub> de 5 g/min, de 1,5 h; y una última etapa (v) de despresurización en la que el autoclave se despresurizó a una velocidad de 1 bar/min hasta alcanzar la presión atmosférica.

El efecto del incremento de la velocidad de despresurización fue comparado entre los 35 ensayos Blanco\_1 y Blanco\_3 en los cuales se despresurizó el autoclave a 1 bar/min y 3 bar/min, respectivamente.

**Ejemplo 3:** Esterilización *in situ* durante la producción de aerogel

Para la preparación y la simultánea esterilización de un aerogel, también referida como la esterilización *in situ* del aerogel durante su producción o preparación, se siguió el proceso 5 descrito para el ejemplo 2 con las cinco etapas descritas, pero con modificaciones en la velocidad de despresurización, en las condiciones de la etapa estática (iii), y en la adición de un agente inactivante microbiano ( $H_2O_2$ ). Este proceso se ilustra en la Figura 3B. Por un lado, la velocidad de despresurización se incrementó de 1 bar/min a 3 bar/min. En la etapa estática 10 (iii), la presión se incrementó 5 bar, hasta 140 bar, y la duración de la etapa (iii) se varió en distintos ensayos siendo de 1 a 3 h dependiendo del ensayo. Por otra parte, al inicio de esta etapa (iii) se añadió  $H_2O_2$  en diferentes concentraciones (1700-5000 ppm). La inyección del 15 aditivo fue a través de una nueva línea implementada en el sistema (líneas negras gruesas en la Figura 1), que permitió la adición del agente inactivante microbiano una vez que la autoclave ya estaba bajo presión (de  $CO_2$ ). Para mejorar la homogeneización del  $H_2O_2$ , se evaluó el efecto de agitación a 700 rpm solo durante la etapa (iii) (ensayo B\_1) o durante las 20 etapas (iii) y (iv) (ensayo BS\_1). Se realizó un ensayo (ensayo BS140\_1) en el que la presión se mantuvo constante durante todo el ensayo a 140 bar, manteniendo el resto de condiciones similares al ensayo BS\_1. Por otro lado, se realizó un ejemplo comparativo (Ej. Comp. 3: BS\_1\_agua) con las mismas condiciones del ensayo BS\_1 pero inyectando 3300 ppm de 25 agua en la etapa (iii) en vez de  $H_2O_2$ , para comprobar evaluar el efecto de añadir  $H_2O_2$  sobre las propiedades texturales de los aerogeles. Si bien se observó que el aerogel tenía propiedades texturales similares con agua (ensayo BS\_1\_agua, datos no mostrados) o con  $H_2O_2$  (BS\_1), los aerogeles obtenidos con agua resultaron ser no estériles.

25 El efecto del incremento de la velocidad de despresurización y de la agitación fue comparado entre los ensayos Blanco\_1 y BS\_1\_0 en los cuales se despresurizó el autoclave a 1 bar/min y 3 bar/min, respectivamente, y en el segundo, se empleó agitación durante las etapas (iii) y (iv). Además, se hizo un ensayo, Blanco\_  $H_2O_2$ , en donde el aditivo inactivante 30 microbiano se añadió en el autoclave al mismo tiempo que los liogeles, al principio del proceso y se ejecutó el proceso en las mismas condiciones del ejemplo 2, para verificar el efecto de introducir el aditivo en la etapa (iii).

35 En la Tabla 1 se indican las condiciones para los distintos ensayos de esterilización realizados, numerados como Ejemplos 3a-3k y Ejemplos comparativos 2 y 3, y denotados además con tres caracteres: X\_Y\_C, en donde X es la agitación aplicada en el experimento:

las muestras que no se agitan se denominan N, las que se agitan solo en la etapa (iii) se denominan B y las que se agitan en las etapas (iii) y (iv) se denominan BS; el segundo carácter, Y, es la duración de la etapa (iii) en horas; y el último carácter, C, es la cantidad (en ppm) de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> añadida en la prueba. La notación de los ensayos probados con 3300 ppm de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se 5 acortó como X\_Y.

**Ejemplo 4:** Evaluación microbiológica de la eficacia del tratamiento de esterilización

La eficacia de los tratamientos de esterilización *in situ* se evaluó utilizando los 10 bioindicadores (BI): *B. stearothermophilus* (BI estándar de esterilización por vapor), *B. atrophaeus* (BI estándar de esterilización por óxido de etileno) y *B. pumilus* (BI estándar de esterilización por radiación). En cada experimento, se colocaron tiras de esporas secas de los 15 tres BI en la autoclave junto con los alcogealets y se sometieron a las mismas pruebas de esterilización (ver ejemplo 3). Después del procesamiento, las tiras de esporas se recolectaron y se sembraron en medio de Caldo Soja Trypticaseína (TSB, por sus siglas en inglés). A continuación, *B. atrophaeus* y *B. pumilus* se incubaron a 37 °C y *B. stearothermophilus* a 55 °C durante 7 días. El crecimiento bacteriano se evaluó mediante la medición óptica de la turbidez en los tubos y se confirmó mediante la siembra en placas de Agar de Soja Trypticaseína (TSA, por sus siglas en inglés) diariamente durante 7 días. Los resultados 20 obtenidos para las distintas condiciones de los ensayos de preparación de los ejemplos 2 y 3 y detalladas en la tabla 1, se presentan en la tabla 2 indicando un SÍ cuando se consiguió un nivel de esterilidad de SAL-6 para el BI en cuestión (cuando no hubo crecimiento bacteriano después de 7 días de incubación para dicho BI) y un NO cuando no se consiguió un nivel de esterilización SAL-6 (cuando sí que hubo crecimiento después de siete días de incubación 25 para dicho BI).

El medio TSB (control microbiológico negativo) y las tiras de esporas no tratadas (control microbiológico positivo) sembradas en TSB se incubaron en las mismas condiciones que los controles del proceso.

30

Tabla 1

Ensayo	Duración (horas)		Agitación (700 rpm)		Vel. despres. (bar/min)		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (ppm)	
	Etapa							
	(ii)	(iii)	(iv)	(iii)	(iv)	(v)		
Blanco_1	2,0	1,0	1,5	No	No	1 bar/min	0	

Blanco_3	2,0	1,0	1,5	No	No	3 bar/min	0
Blanco_H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2,0	1,0	1,5	No	No	1 bar/min	3300
Ej. Comp. 2: BS_1_0	2,0	1,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	0
Ej. 3a: BS_3_1700	2,0	3,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	1700
Ej. 3b: BS_3	2,0	3,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	3300
Ej. 3c: BS_3_5000	2,0	3,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	5000
Ej. 3d: BS_2	2,0	2,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	3300
Ej. 3e: BS_1	2,0	1,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	3300
Ej. 3e': BS140_1	2,0	1,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	3300
Ej. Comp. 3: BS_1_agua	2,0	1,0	1,5	Sí	Sí	3 bar/min	0*
Ej. 3f: B_3	2,0	3,0	1,5	Sí	No	3 bar/min	3300
Ej. 3g: B_2	2,0	2,0	1,5	Sí	No	3 bar/min	3300
Ej. 3h: B_1	2,0	1,0	1,5	Sí	No	3 bar/min	3300
Ej. 3i: N_3	2,0	3,0	1,5	No	No	3 bar/min	3300
Ej. 3j: N_2	2,0	2,0	1,5	No	No	3 bar/min	3300
Ej. 3k: N_1	2,0	1,0	1,5	No	No	3 bar/min	3300

\*3300 ppm de agua en vez de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Tabla 2

Ensayo	Grado de Esterilización SAL-6 frente a BI		
	<i>B. stearothermophilus</i>	<i>B. atrophaeus</i>	<i>B. pumilus</i>
Blanco_1	NO	NO	NO
Blanco_3	NO	NO	NO
Blanco_H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	NO	NO	NO
Ej. Comp. 2: BS_1_0	NO	NO	NO
Ej. 3a: BS_3_1700	Sí	Sí	NO
Ej. 3b: BS_3	Sí	Sí	Sí
Ej. 3c: BS_3_5000	Sí	Sí	Sí
Ej. 3d: BS_2	Sí	Sí	Sí
Ej. 3e: BS_1	Sí	Sí	Sí
Ej. 3e': BS140_1	Sí	Sí	Sí
Ej. Comp. BS_1_agua	NO	NO	NO
Ej. 3f: B_3	Sí	Sí	Sí
Ej. 3g: B_2	Sí	Sí	Sí
Ej. 3h: B_1	Sí	Sí	NO
Ej. 3i: N_3	Sí	Sí	NO

Ej. 3j: N_2	SÍ	NO	NO
Ej. 3k: N_1	SÍ	NO	NO

Como se puede observar en la tabla 2, los blancos y los ejemplos comparativos 2 y 3 no consiguieron esterilizar la muestra frente a ninguno de los bioindicadores testados. El resto de los ejemplos sí consiguieron un grado de esterilización SAL-6 frente al menos uno o dos de los bioindicadores, si bien la mayoría de las condiciones consiguieron un grado de esterilización SAL-6 frente los tres bioindicadores testados.

**Ejemplo 5:** Caracterización fisicoquímica de aerogeles

10 La textura de los aerogeles se estudió mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un microscopio FESEM UltraPlus (Zeiss, Jena, Alemania). Anteriormente, los aerogeles se recubrieron con una capa de iridio de 10 nm para mejorar el contraste (equipo Q150 T S/E/ES, Quorum Technologies, Lewes, Reino Unido). La Figura 4 muestra imágenes SEM de aerogeles de alginato (Figura 4A) y almidón (Figura 4B) obtenidos para el blanco, 15 para el ejemplo sin agente inactivante microbiano (sin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) preparado bajo las condiciones del ejemplo comparativo 2 (BS\_1\_0), y para el ejemplo con agente inactivante microbiano (con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) preparado bajo las condiciones del ejemplo 3e (BS\_1).

20 La densidad aparente de los cilindros de aerogel de almidón ( $\rho_{app}$ ) y la densidad envolvente de las perlas de aerogel de alginato ( $\rho_{env}$ ) se determinaron midiendo las dimensiones y el peso de los aerogeles. La densidad real de los aerogeles ( $\rho_{esq}$ ) se determinó utilizando un picnómetro de helio (Quantachrome, Boynton Beach, FL, EE.UU.) a temperatura ambiente (25 °C) y 1,01 bar de presión. Los valores se obtuvieron a partir de cinco repeticiones (desviación estándar < 5%). La porosidad global resultante ( $\varepsilon$ ) se calculó de acuerdo con la 25 ecuación 2, definida anteriormente:

$$\varepsilon(\%) = \left( 1 - \frac{\rho_i}{\rho_{esq}} \right) * 100$$

en donde  $\rho_i$  es la densidad aparente o envolvente de los cilindros de aerogel de almidón y las perlas de aerogel de alginato, respectivamente.

30 Las propiedades texturales de los aerogeles se determinaron mediante análisis de adsorción-desorción de nitrógeno (ASAP 2000 Micromeritics Inc, Norcross, GA, EE.UU.). Antes del análisis, las muestras se desgasificaron al vacío (<1 mPa) durante 24 h con una

temperatura de desgasificación de 40 °C y 60 °C para aerogeles de alginato y almidón, respectivamente.

El área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) de los aerogeles se determinó por el método de

- 5 Brunauer-Emmett-Teller (BET), mientras que el método de Barrett-Joyner-Halenda (BJH) se utilizó para determinar el diámetro medio de poro ( $D_p$ ) de la rama de desorción de la isoterma. Se utilizó el mismo método BJH para determinar el volumen específico de mesoporos ( $V_{p, meso}$ ). El volumen específico total de poro ( $V_v$ ) se calculó a partir de la ecuación (3), definida anteriormente:

10 
$$V_v(cm^3/g) = \left( \frac{1}{\rho_i} - \frac{1}{\rho_{esq}} \right)$$

El volumen específico de macroporos ( $V_{p, macro}$ ) se calculó por diferencia entre  $V_v$  y  $V_{p, meso}$ .

Los resultados obtenidos para aerogeles preparados en distintas condiciones de preparación y esterilización de la Tabla 1 se muestran en las figuras 5, 6 y 7.

15

En particular, la figura 5 muestra el efecto de la preparación de aerogeles de cilindros de almidón (las tres barras sólidas de la izquierda) y de perlas de alginato (las tres barras rayadas de la derecha) obtenidos para el blanco (Blanco\_3), para el ejemplo sin agente inactivante microbiano (sin  $H_2O_2$ , preparado bajo las condiciones del ejemplo comparativo 2,

- 20 BS\_1\_0), y para el ejemplo con agente inactivante microbiano (con  $H_2O_2$ , preparado bajo las condiciones del ejemplo 3e, BS\_1). Se representan la porosidad ( $\epsilon$ ) (Figura 5A), el área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) (Figura 5B), el volumen específico total de poro ( $V_v$ ) (Figura 5C), representado como la suma del volumen específico de macroporos (color oscuro) y el volumen específico de mesoporos (color claro) y el diámetro medio de poro ( $D_p$ ) (Figura 5D).
- 25 Las barras agrupadas con la misma letra (a o b) denotan grupos estadísticamente homogéneos.

En la figura 6 se muestra el efecto del tiempo de exposición sobre las propiedades texturales de aerogeles estériles o desinfectados de cilindros de almidón, (las tres barras sólidas de la izquierda) y de perlas de alginato (las tres barras rayadas de la derecha), preparados con un tiempo de duración de la etapa estática (iii) de 1 hora (1 h etapa (iii) según las condiciones del ejemplo 3e, BS\_1), 2 horas (2 h etapa (iii) según las condiciones del ejemplo 3d, BS\_2) y 3 horas (3 h etapa (iii) según las condiciones del ejemplo 3f, BS\_3)

30 incluyendo la porosidad (Figura 6A), el área específica de superficie (Figura 6B), volumen

específico total de poros (Figura 6C), representado como la suma de los volúmenes específicos de macroporos (color oscuro) y mesoporos (color claro), y el diámetro medio de poro (Figura 6D). Las barras agrupadas con la misma letra (a o b) denotan grupos estadísticamente homogéneos.

5

En la figura 7 se muestra el efecto del tiempo de agitación sobre las propiedades texturales de aerogeles estériles o desinfectados de almidón, p.ej., cilindros de almidón, (las tres barras sólidas de la izquierda) y de alginato, p.ej., perlas de alginato, (las tres barras rayadas de la derecha), incluyendo el ejemplo sin agitación (preparado según las condiciones 10 del ejemplo 3k, N\_1), el ejemplo con agitación en la etapa (ii) (preparado según las condiciones del ejemplo 3h, B\_1) y el ejemplo con agitación en las etapas (i) y (ii) (preparado según las condiciones del ejemplo 3e, BS\_1), incluyendo la porosidad (Figura 7A), el área específica de superficie (Figura 7B), volumen específico total de poros (Figura 7C), representado como la suma de los volúmenes específicos de macroporos (color oscuro) y 15 mesoporos (color claro), y el diámetro medio de poro (Figura 7D). Las barras agrupadas con la misma letra (a o b) denotan grupos estadísticamente homogéneos.

#### Ejemplo 6: Estudios de compatibilidad in vitro

20 La citocompatibilidad de los aerogeles se probó incubando los aerogeles con la línea celular NIH-3T3 (ATCC: CRL-1658). Brevemente, las células se sembraron en placas de 24 pocillos que contenían 500  $\mu$ L de Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) suplementadas con 10% de suero bovino y 1% de penicilina-estreptomicina (12000 células por  $\text{cm}^2$  durante 24 h y 8000 células por  $\text{cm}^2$  durante 48 h) y se incubaron a 37°C en una atmósfera 25 humidificada suplementada con 5% de CO<sub>2</sub>. Para medir la viabilidad de las células en contacto con los aerogeles, después de 24 h de incubación de las células, los aerogeles se colocaron en insertos de cultivo de 24 pocillos (membrana de PET grabada con un tamaño de poro de 0,4  $\mu$ m) por triplicado, y se agregaron 100  $\mu$ L de medio en la placa de pocillos con las células sembradas. Se midió la viabilidad celular tras 24 h de incubación. Para garantizar que los 30 posibles residuos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se disolvieran en el medio celular, también se midió la viabilidad después de 48 h de incubación con las células.

35 Los controles negativos consistentes en células sin aerogel se incubaron en las mismas condiciones y por triplicado para todas las formulaciones. Para evaluar la citotoxicidad de las muestras en blanco (aerogeles no esterilizados mediante scCO<sub>2</sub>), dichas muestras de

aerogeles se esterilizaron primero con UV durante 30 min y luego se colocaron en los pocillos con células utilizando insertos de cultivo.

La viabilidad celular se evaluó mediante el ensayo de resazurina que mide la función mitocondrial de las células metabólicas activas. El aerogel se retiró de las células después de 24 y 48 h de incubación, se aspiró el medio de cultivo y se agregaron 300  $\mu$ L de 44  $\mu$ M de resazurina en cada pocillo. Después de 3 h de incubación en condiciones idénticas, la fluorescencia se midió a una longitud de onda de excitación de 544 nm y una longitud de onda de emisión de 598 nm en un lector de microplacas (Infinite® M200, Tecan Group Ltd., 10 Männedorf, Suiza).

Los resultados obtenidos se presentan en la figura 8 que muestra la viabilidad celular expresados en porcentaje determinado después de 24 y 48 h de contacto con formulaciones de cilindros de almidón (barras sólidas, Figura 8A) y perlas de alginato (barras rayadas, Figura 15 8B), preparados con el ejemplo comparativo 2 (BS\_1\_0) y el ejemplo 3e (BS\_1). No se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras.

### **Análisis estadístico**

20 Los resultados se expresaron como media  $\pm$  desviación estándar. Los análisis estadísticos de las propiedades texturales y la viabilidad celular se obtuvieron mediante la prueba ANOVA de 2 vías, seguida de la prueba de comparación múltiple Tukey HDS post-hoc utilizando GraphPad Prism v.8.0.2 (GraphPad Software, Boston, MA, EE.UU.).

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación y la simultánea esterilización o desinfección de un aerogel, que comprende contactar un liogel con dióxido de carbono supercrítico (scCO<sub>2</sub>) en el interior de un autoclave, en donde contactar comprende cinco etapas en el siguiente orden:
  - i) una etapa de presurización que comprende presurizar el autoclave con CO<sub>2</sub> hasta condiciones de scCO<sub>2</sub>;
  - ii) una primera etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de scCO<sub>2</sub>;
  - 10 iii) una etapa estática que comprende mantener el autoclave bajo presión de scCO<sub>2</sub> sin flujo;
  - iv) una segunda etapa dinámica que comprende mantener el autoclave bajo presión con un flujo de scCO<sub>2</sub>; y
  - v) una etapa de despresurización que comprende despresurizar el autoclave hasta presión atmosférica, obteniendo un aerogel estéril o desinfectado;
- 15 en donde durante la etapa estática (iii) se introduce un agente inactivante microbiano en el autoclave bajo presión de scCO<sub>2</sub>, preferiblemente un agente inactivante microbiano seleccionado de entre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ácido peracético, ácido acético, ácido trifluoroacético, hipoclorito sódico, dióxido de cloro, ácido bórico, DDAC, ácido fórmico, dicloroisocianurato de sodio, hidroperóxido terbutílico, formaldehído, glutaraldehído, agua, metanol, etanol, sales de amonio, óxido de etileno, así como fenoles, polifenoles, terpenos, aceites esenciales, derivados de glucosinolatos, alcaloides y tioles con actividad antimicrobiana, y combinaciones de ellos en mezclas, más preferentemente el agente inactivante microbiano siendo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
- 25 2. El procedimiento de la reivindicación 1, que comprende, antes de contactar el liogel con scCO<sub>2</sub>:
  - introducir el liogel en el interior del autoclave, preferiblemente estando el liogel situado dentro de una bolsa de esterilización; o
  - preparar el liogel en el interior del autoclave a partir de un primer liogel mediante un intercambio de disolvente o a partir de un material polimérico y un disolvente,
- 30 3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2 en donde en la etapa de presurización (i) se presuriza el autoclave con scCO<sub>2</sub> hasta una presión de 80 a 180 bar, preferiblemente de 110 a 150 bar, y más preferiblemente alrededor de 120 bar.

4. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde el flujo de scCO<sub>2</sub> en la primera etapa dinámica (ii) y/o en la segunda etapa dinámica (iv) es de 0,25 a 25 g/min por cada 100 mL de volumen de autoclave, preferiblemente de 0,5 a 20 g/min, más preferiblemente de 1 a 15 g/min, todavía más preferiblemente de 2 a 10 g/min, y aún más preferiblemente de 5 a 7 g/min.

5. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde

- en la etapa estática (iii) se mantiene el autoclave bajo una presión de scCO<sub>2</sub> de 80 a 180 bar, preferiblemente de 130 a 150 bar, más preferiblemente por encima de 135 bar y todavía más preferiblemente alrededor de 140 bar; y/o

- en la primera etapa dinámica (ii) y/o en la segunda etapa dinámica (iv) se mantiene el autoclave bajo una presión de scCO<sub>2</sub> de 80 a 180 bar, preferiblemente de 110 a 130 bar, más preferiblemente alrededor de 120 bar.

15

6. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en donde en la etapa estática (iii) se introduce el agente inactivante microbiano en el autoclave bajo presión de scCO<sub>2</sub>, preferiblemente en la parte inferior del autoclave, preferentemente a través de un tubo alimentador que tiene su salida en la parte inferior del autoclave.

20

7. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde:

- la primera etapa dinámica (ii) tiene una duración de 0,25 a 5 horas, preferiblemente de 0,5 a 4 horas, más preferiblemente de 1 a 3 horas, y todavía más preferiblemente alrededor de 2 horas;

25

- la etapa estática (iii) tiene una duración de 0,25 a 5 horas, preferiblemente de 0,5 a 4 horas, y más preferiblemente de 1 a 3 horas; y/o

- la segunda etapa dinámica (iv) tiene una duración de 0,25 a 4 horas, preferiblemente de 0,5 a 3 horas, más preferiblemente de 1 a 2 horas, y todavía más preferiblemente alrededor de 1,5 horas.

30

8. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en donde la temperatura del autoclave es de 31,1 a 70 °C, preferiblemente de 33 a 60 °C, y más preferiblemente de 35 a 50 °C.

9. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en donde el liogel comprende:

- un material polimérico, preferiblemente un material polimérico seleccionado de entre polímeros orgánicos, polímeros inorgánicos y combinaciones de estos, opcionalmente con adiciones de partículas y/o fibras de naturaleza cerámica, polimérica, metálica o biológica, o un material polimérico compuesto como tipo sándwich; y
- un disolvente, preferiblemente un disolvente seleccionado de entre etanol, acetona, metanol, dimetilsulfóxido, dietiléter, etilmethylcetona, isopropanol, y mezclas de los mismos, más preferiblemente el disolvente siendo etanol.

10

10. El procedimiento de la reivindicación 9 en donde

- los polímeros orgánicos se seleccionan de entre polisacáridos, resorcinol-formaldehído; poliuretano; proteínas; polinucleótidos; y mezclas de los mismos; y/o
- los polímeros inorgánicos se seleccionan de entre sílice, carbono y mezclas de los mismos.

15

11. El procedimiento de la reivindicación 9 o 10 en donde el material polimérico, es un polímero orgánico, preferiblemente es un polisacárido, más preferiblemente un polisacárido seleccionado de entre alginato, almidón, quitosano y/o derivados celulósicos todavía más preferiblemente de entre alginato y almidón, y aún más preferiblemente el material polimérico es alginato o almidón.

20

12. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en donde el agente inactivante microbiano se introduce en una cantidad de 10 a 6000 ppm con respecto al volumen del autoclave, preferiblemente de 250 a 5750 ppm, más preferiblemente de 600 a 25 5500 ppm.

25

13. Un aerogel estéril o desinfectado obtenible por el procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 en donde

- el aerogel estéril tiene un grado SAL-6 o superior; y

30

- el aerogel desinfectado tiene al menos un grado SAL-1, en particular de un grado SAL-1 a un grado SAL-5, preferentemente al menos un grado SAL-2, SAL-3 o SAL-4; frente a *B. stearothermophilus*, a *B. atrophaeus* y/o a *B. pumilus*, preferentemente al menos frente a *B. stearothermophilus*, más preferentemente también frente a *B. atrophaeus* y todavía más preferentemente también frente a *B. pumilus*.

35

14. El aerogel estéril o desinfectado de la reivindicación 13 que tiene:

- una porosidad ( $\epsilon$ ) de más del 65 %, preferiblemente de más del 75 %, más preferiblemente de más del 78 %, todavía más preferiblemente de más del 80%;

- un área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) de más de 50 m<sup>2</sup>/g, preferiblemente de más de 80

5 m<sup>2</sup>/g; y/o

- un volumen específico de mesoporo ( $V_{P, \text{meso}}$ ) de más de 0,3 cm<sup>3</sup>/g, preferiblemente de más de 0,6 cm<sup>3</sup>/g.

15. Un aerogel estéril que comprende alginato y/o almidón que tiene un grado de

10 esterilización de SAL-6 frente al menos a *B. stearothermophilus*, preferiblemente también frente a *B. atrophaeus* y más preferiblemente también frente a *B. pumilus* y al menos una de las siguientes características:

- una porosidad ( $\epsilon$ ) de más del 65 %, preferiblemente de más del 75 %, más preferiblemente de más del 78 %, todavía más preferiblemente de más del 80%;

15 - un área específica de superficie ( $A_{BET}$ ) de más de 50 m<sup>2</sup>/g, preferiblemente de más de 80 m<sup>2</sup>/g; y/o

- un volumen específico de mesoporo ( $V_{P, \text{meso}}$ ) de más de 0,3 cm<sup>3</sup>/g, preferiblemente de más de 0,6 cm<sup>3</sup>/g.

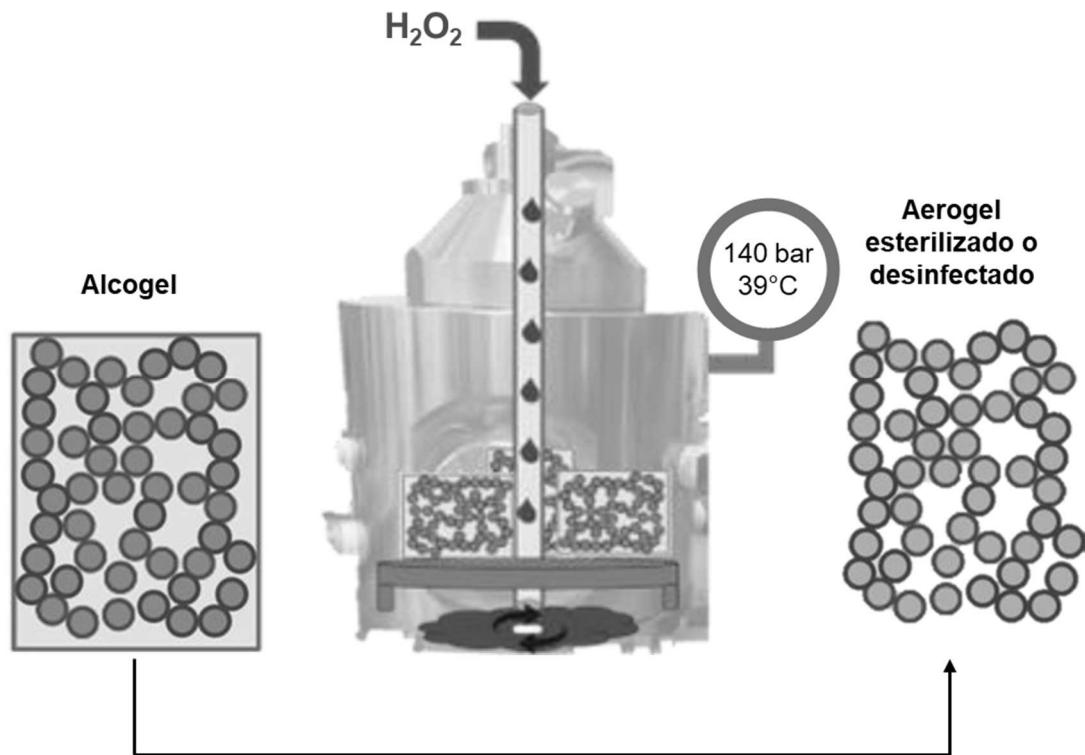


Figura 1

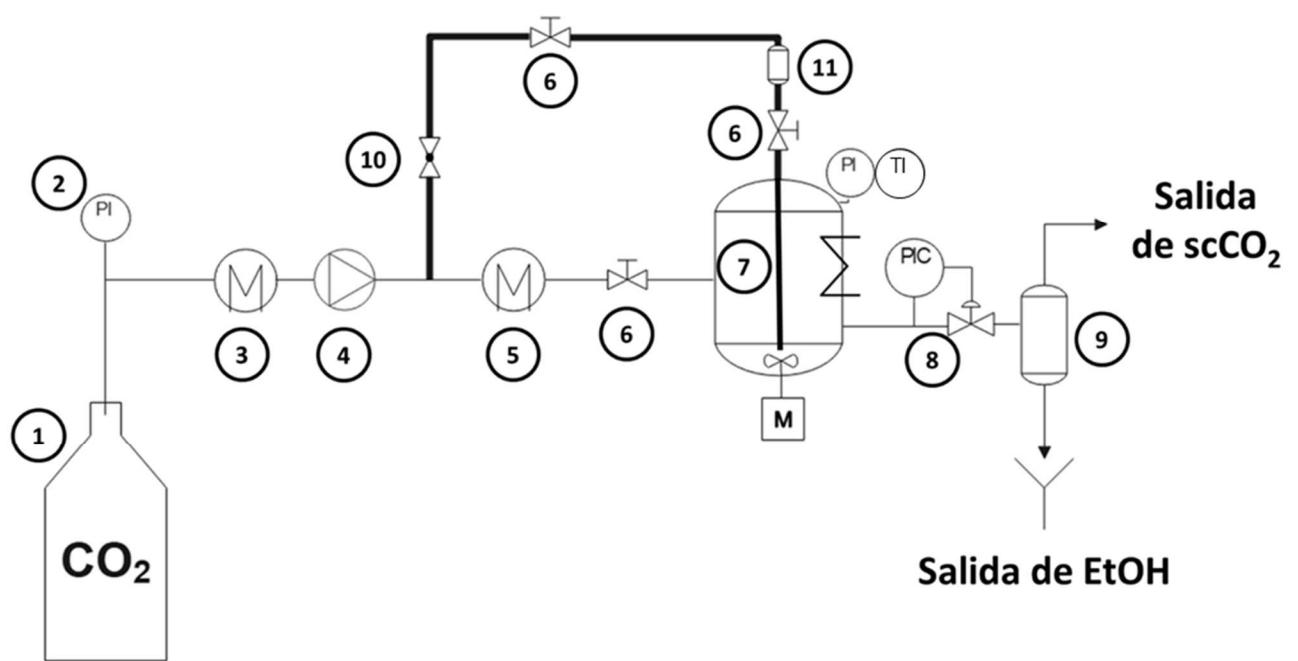


Figura 2

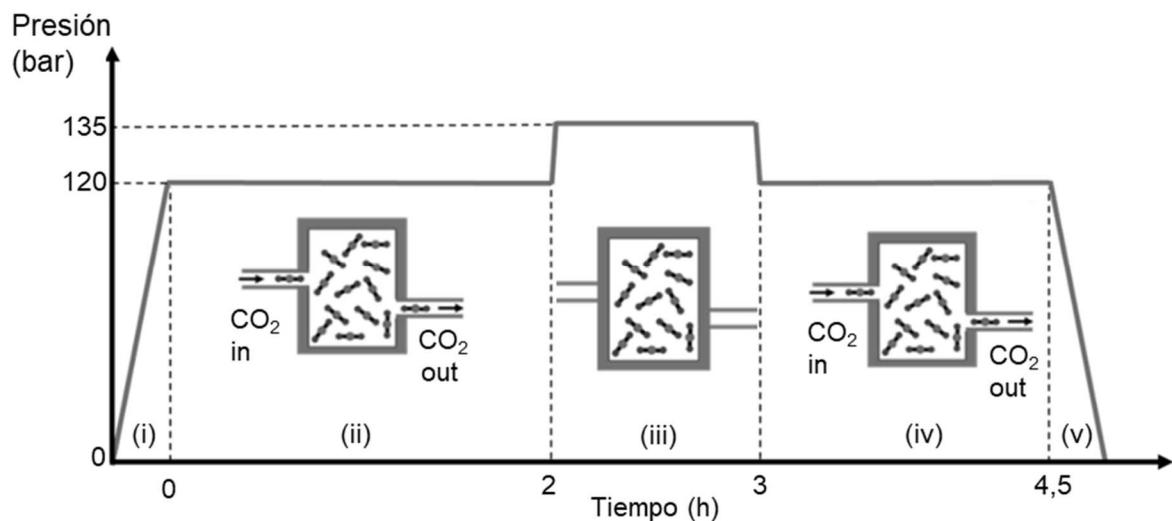


Figura 3A

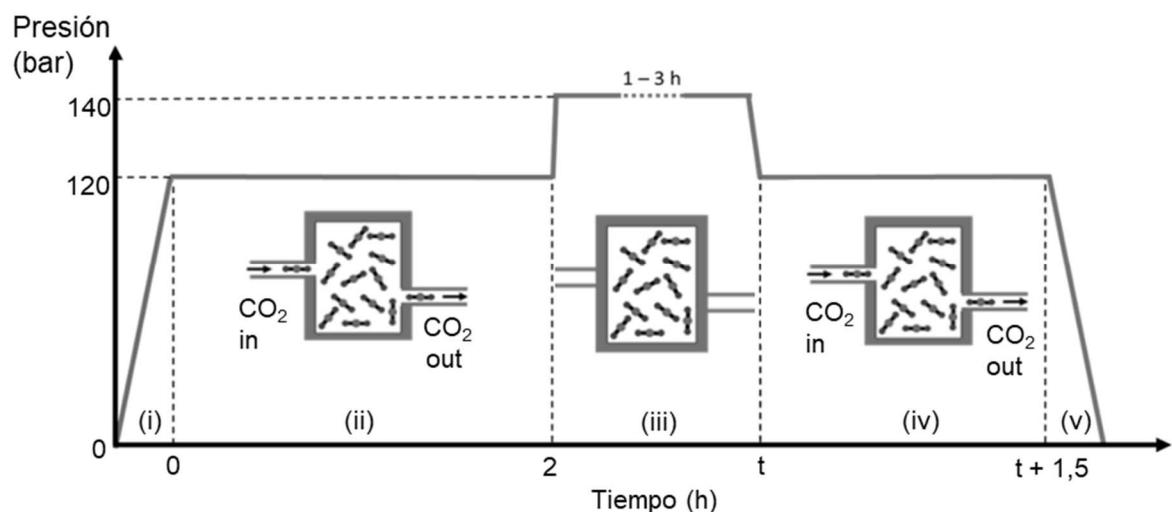


Figura 3B

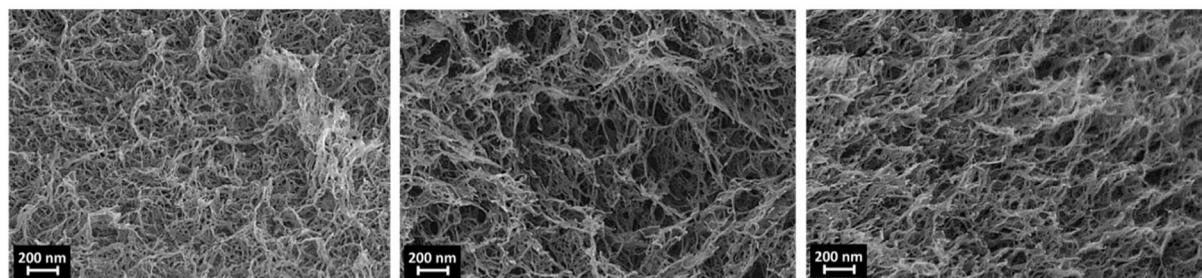


Figura 4A

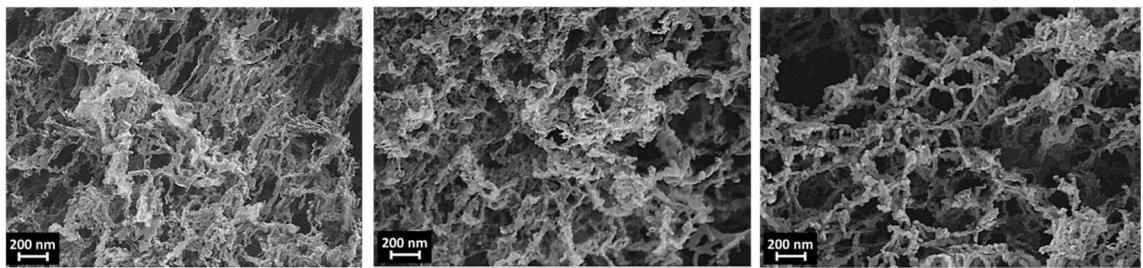


Figura 4B

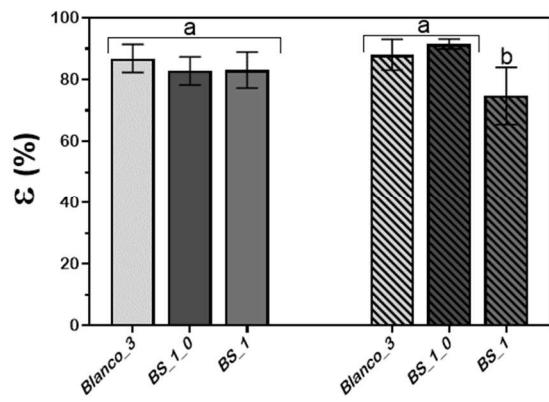


Figura 5A

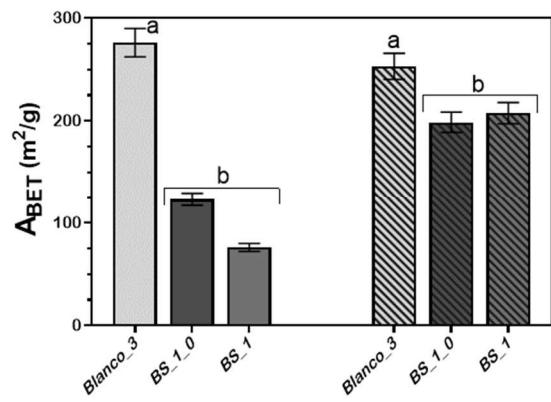


Figura 5B

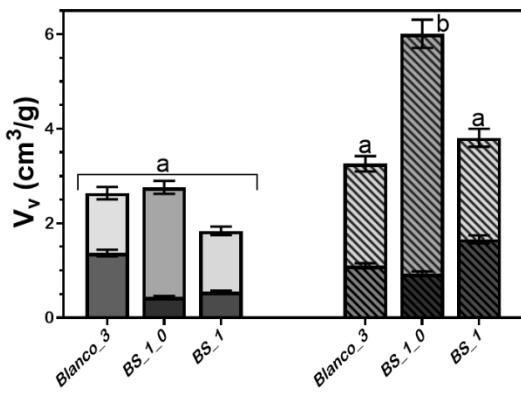


Figura 5C

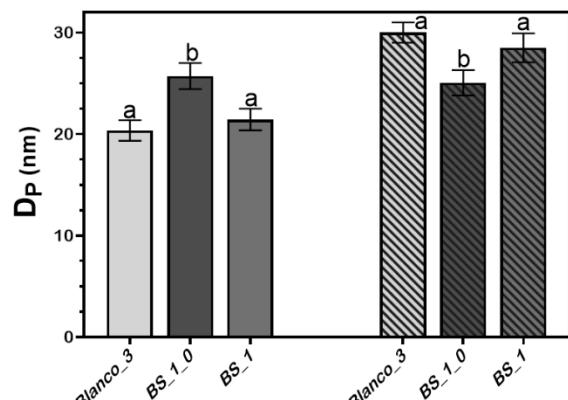


Figura 5D

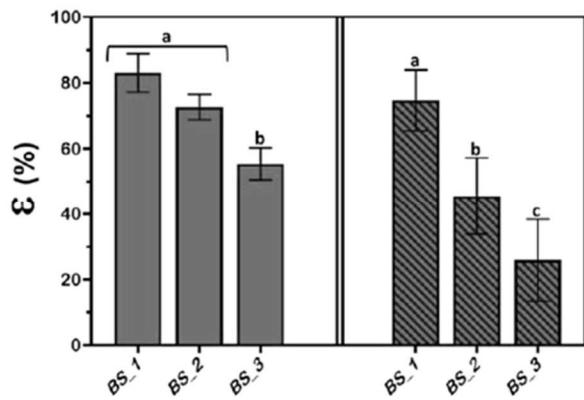


Figura 6A

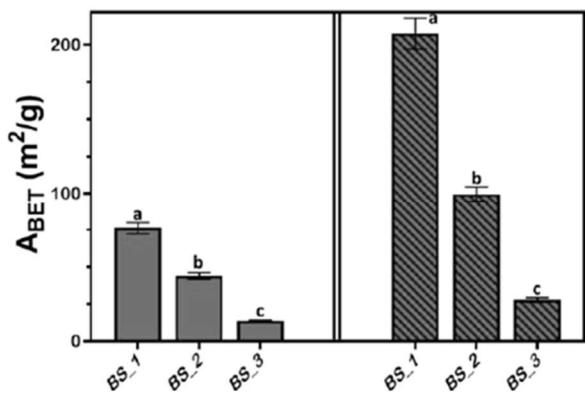


Figura 6B

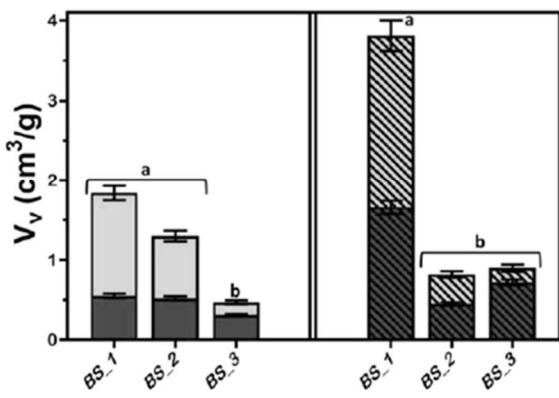


Figura 6C

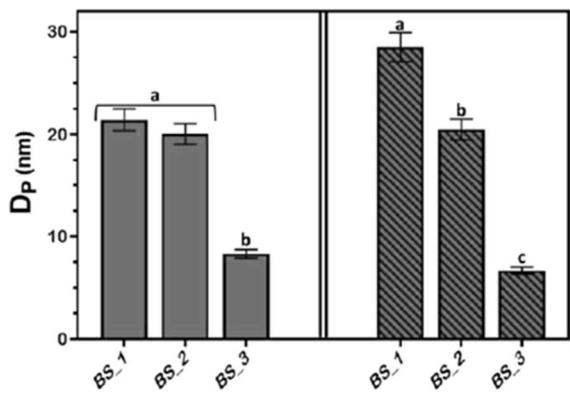


Figura 6D

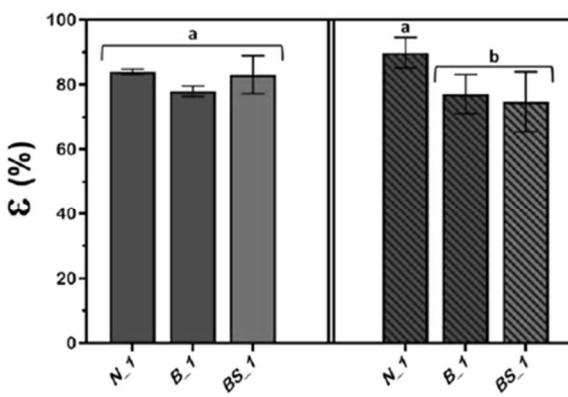


Figura 7A

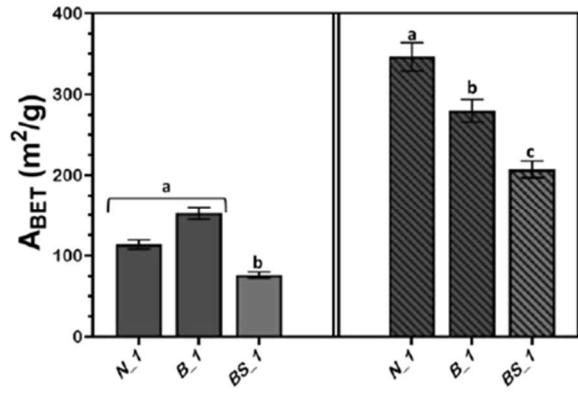


Figura 7B

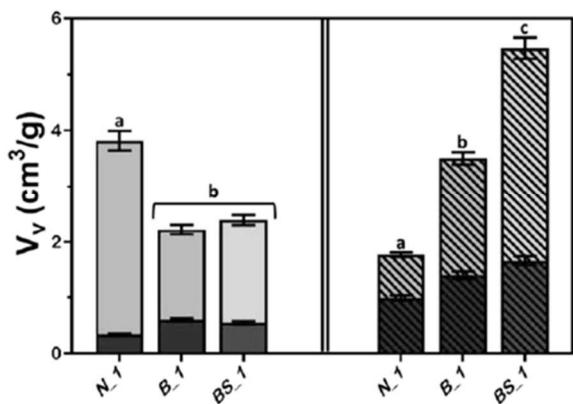


Figura 7C

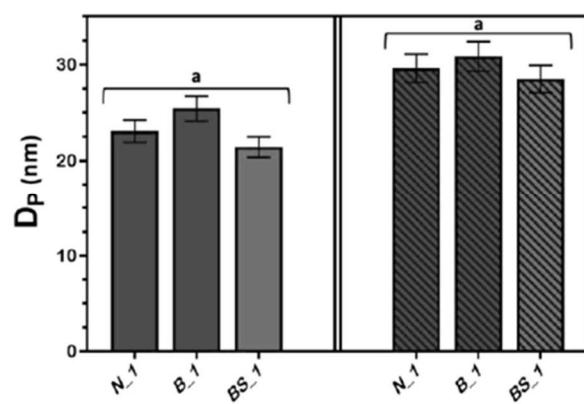


Figura 7D

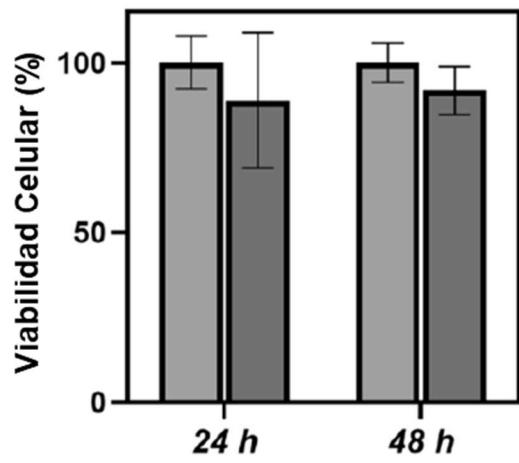


Figura 8A

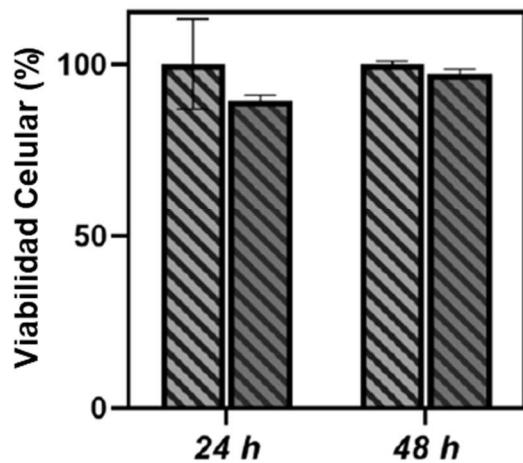


Figura 8B



②1 N.º solicitud: 202430533

②2 Fecha de presentación de la solicitud: 26.06.2024

③2 Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤1 Int. Cl.: **B01J2/04** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥6 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 2022009786 A1 (HINTEMANN DAMIAN et al.) 13/01/2022 Reivindicaciones y resumen	1-14
A	CN 107751704 A (DENG ZHICHENG) 06/03/2018, Resumen	1-14
A	CN 108083838 A (AEROSPACE RES INST SPECIAL MATERIAL & PROCESS TECHNOLOGY) 29/05/2018, Resumen	1-14
A	ZHANG J et al. Sterilization using high-pressure carbon dioxide. The Journal of Supercritical Fluids, octubre 2006, Vol. 38, Nº 3, páginas 354 - 372, ISSN 0896-8446, <DOI:10.1016/j.supflu.2005.05.005>. Resumen	1-14

#### 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 29.11.2024	Examinador I. Abad Gurumeta	Página 1/2
--	--------------------------------	---------------

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

B01J

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

INVENES, EPODOC, SEARCH TOOL (EPO), ESPACENET, INTERNET, NPL, WPIAP, WPI