

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 484 665**

21 Número de solicitud: 201300149

51 Int. Cl.:

C12Q 1/26 (2006.01)

C12Q 1/32 (2006.01)

G01N 27/327 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

11.02.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

11.08.2014

Fecha de la concesión:

09.03.2015

45 Fecha de publicación de la concesión:

16.03.2015

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE BURGOS
C/ Hospital del Rey s/n
09001 Burgos ES**

72 Inventor/es:

**DEL TORNO DE ROMÁN, Lorena;
ALONSO LOMILLO, María Asunción;
DOMÍNGUEZ RENEDO, Olga;
JAUREGUIBEITIA, Arrate y
ARCOS MARTÍNEZ, María Julia**

54 Título: **Dispositivo electródico para la detección de ácido glucónico, procedimiento de fabricación y uso de dicho dispositivo**

57 Resumen:

La presente invención consiste en un dispositivo electródico para la detección de ácido glucónico, con tres electrodos, uno de referencia, otro de trabajo y otro auxiliar, obtenidos todos ellos por serigrafía, el área activa del electrodo de referencia incluye tinta de plata/cloruro de plata, la del contraelectrodo tinta de carbono y la del electrodo de trabajo con una tinta de carbono que incorpora tetratrafalvaleno (TTF) al 3%, sobre una lámina plástica de poliéster, modificándose el área activa del trabajo con la enzima GADH utilizando un agente bifuncional en presencia de seroalbúmina bovina (BSA), así como su procedimiento de fabricación y su uso en la detección citada, de manera simple, con bajo coste y en relativo corto tiempo de análisis.

ES 2 484 665 B2

**DISPOSITIVO ELECTRÓDICO PARA LA DETECCIÓN DE ÁCIDO
GLUCÓNICO, PROCEDIMIENTO DE FABRICACIÓN Y USO DE DICHO
DISPOSITIVO**

5

DESCRIPCIÓN

OBJETO DE LA INVENCION

10 La presente invención se enmarca en el campo de la electroquímica aplicada al análisis químico.

15 Así, la presente invención se refiere a un dispositivo constituido por un sistema electródico para la detección de ácido glucónico, con tres electrodos, obtenidos todos los electrodos por serigrafía, modificándose uno de ellos posteriormente con una enzima, así como, su procedimiento de fabricación y condiciones de uso en la detección citada.

20 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

Las celdas electroquímicas son de gran interés en el análisis de sustancias debido a su robustez, fabricación sencilla y económica.

25

Una de las técnicas más utilizadas para la fabricación de los electrodos que se utilizan en las celdas electroquímicas es la serigráfica. Esta técnica permite construir sensores químicos con una reproducibilidad y una infraestructura mínima.

30

La serigrafía es un método de impresión directa, también llamado de impresión por penetración. La deposición de tintas se realiza capa a capa sobre un sustrato. La calidad de los sensores químicos así

35

fabricados depende, en gran medida, de los materiales utilizados.

5 Mediante la tecnología de electrodos serigrafados es posible la miniaturización de los sensores ofreciendo la ventaja de ser versátiles, pueden ser fabricados con distintas configuraciones de electrodos y con diferentes tintas, y tener bajo coste pudiendo así prestarse para la producción en masa de
10 electrodos desechables. Además, pueden ser utilizados para análisis in situ.

Para aumentar la selectividad de los electrodos se modifican por diferentes métodos, por ejemplo
15 inmovilizando una sustancia, frecuentemente un enzima, en su superficie que responda selectivamente a determinados analitos. La selectividad y la acción catalítica de las reacciones enzimáticas potencian la selectividad y sensibilidad de los dispositivos.

20 El método de inmovilización es muy importante ya que va a influir en el tiempo de vida del sensor, en su sensibilidad y reproducibilidad. Así, hay distintos tipos de inmovilización: por absorción, por
25 microencapsulación, por atrapamiento, por entrecruzamiento utilizando un agente bifuncional, y por unión covalente.

Tradicionalmente, la determinación de ácido
30 glucónico y sus metabolitos se ha realizado mediante técnicas cromatográficas, normalmente acopladas a detectores de electroforesis, espectroscopía de infrarrojo, UV/Vis, quimioluminiscencia y fluorescencia. Estas técnicas de ensayos implican instalaciones
35 costosas y procedimientos largos, complicados y

tediosos. De forma muy minoritaria se ha determinado también por técnicas electroquímicas utilizando electrodos convencionales no desechables.

5 La presente invención solventa estas desventajas mediante un dispositivo electródico, cuya simplicidad, bajo coste y su relativo corto tiempo de análisis, comparado con las técnicas cromatográficas, ha supuesto un gran avance en su empleo en muchos campos.

10

 En el caso del ácido glucónico, teniendo en cuenta los grupos funcionales presentes en su molécula susceptibles de sufrir reacciones de óxido-reducción, puede ser analizado por técnicas electroquímicas tales como voltamperometría cíclica, voltamperometría de onda cuadrada y diferencial de impulsos con acumulación, y cronoamperometría.

15

 La utilización de mediadores, añadidos a la celda electroquímica junto con el electrolito soporte permite disminuir el potencial de uso, contribuyendo a evitar interferencias y han sido frecuentemente utilizados. El potencial redox del tetratiafulvaleno (TTF) en torno a 100 mV, hace de este analito un candidato adecuado para ser utilizado como mediador en el campo de los biosensores electroquímicos. Sin embargo, la insolubilidad de esta sustancia ha limitado su uso a las disoluciones no acuosas. Este problema se puede solventar incorporando el TTF a la tinta de serigrafiado, originando así una pasta conductora con mediador incorporada para el serigrafiado directo del electrodo de trabajo.

20

25

 La enzima gluconato deshidrogenasa (en adelante GADH), interacciona específicamente con el ácido

30

glucónico catalizando la deshidrogenación del mismo. La inmovilización de esta enzima sobre un electrodo serigrafiado permite poner a punto un dispositivo que aúna las ventajas de los dispositivos electródicos serigrafiados desechables con el uso de enzimas específicas para la detección de ácido glucónico.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

10 La presente invención queda establecida y caracterizada en las reivindicaciones independientes, mientras que las reivindicaciones dependientes describen otras características de la misma.

15 El objeto de la invención es un dispositivo electródico, su procedimiento de fabricación y uso del mismo para la detección de ácido glucónico. El problema a resolver es constituir el dispositivo, llevar a cabo su fabricación y usarlo, todo ello de manera simple, con
20 bajo coste y en relativo corto tiempo de análisis, comparado con las técnicas cromatográficas conocidas.

A la vista de lo anteriormente enunciado, la presente invención se refiere a un dispositivo
25 electródico para la detección de ácido glucónico obtenido por serigrafía caracterizado por que comprende tres electrodos, cada electrodo consta de un contacto o borne, un tramo y un área activa, siendo uno de referencia, otro de trabajo, y otro auxiliar o
30 contraelectrodo, constituidos los bornes y los tramos con una tinta de plata, el área activa del electrodo de referencia con una tinta de plata/cloruro de plata, el área activa del contraelectrodo con un tinta de carbono y el área activa del electrodo de trabajo con una tinta
35 de carbono a la que se ha incorporado previamente

tetratriafulvaleno, al 3%, sobre una lámina plástica de poliéster, estando el electrodo de trabajo modificado posteriormente de manera que se inmoviliza el enzima GADH en su superficie utilizando un agente bifuncional como el glutaraldehído en presencia de seroalbúmina bovina (BSA).

Opcionalmente el dispositivo incluye un aislante que cubre el dispositivo, dejando libre los contactos y áreas activas de los electrodos.

Asimismo, la presente invención se refiere a un proceso de fabricación del dispositivo anteriormente mencionado que comprende las siguientes etapas:

- serigrafiado de una lámina de poliéster con tinta de plata con las formas de los contactos y los tramos de los tres electrodos,
- serigrafiado del área activa del electrodo de referencia con Ag/AgCl,
- serigrafiado del área activa del contraelectrodo con carbono,
- serigrafiado de un aislante cubriendo el dispositivo, excepto el área activa de los electrodos y los bornes de los mismos,
- serigrafiado del área activa del electrodo de trabajo con pasta de carbono a la que se ha incorporado TTF al 3%,
- modificación del área activa del electrodo de trabajo mediante inmovilización de la enzima GADH en su superficie.

Y, la presente invención se refiere al uso del dispositivo anteriormente mencionado con la opción del aislante, que comprende las siguientes etapas:

- introducción del dispositivo en una celda electroquímica que contiene 5 mL de una disolución tampón de dihidrogenofosfato sódico con pH 6, 100 mM y KCl 100 mM,
- unión de los contactos de los electrodos a un potencióstato,
- aplicación de un potencial de 0.100 V entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo,
- espera a estabilización de corriente,
- adición de 50 μ L de disolución problema de ácido glucónico,
- sucesivas adiciones de 50 μ L de disolución de ácido glucónico de concentración de 12.48 hasta 108.00 μ M,
- registro de las intensidades de corriente en función del tiempo,
- representación de la recta de calibrado,
- extrapolación de dicha recta de calibrado para calcular la concentración de ácido glucónico en la muestra problema.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Se complementa la presente memoria descriptiva, con un juego de figuras, ilustrativas del ejemplo preferente y nunca limitativas de la invención.

La figura 1 muestra el esquema de la reacción electródica en la que interviene el mediador TTF y la enzima GADH.

La figura 2 representa una vista en alzado de los electrodos sin aislante.

La figura 3 representa una vista en alzado de

los electrodos con un aislante.

EXPOSICIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

5 En la realización aquí detallada y mostrada en las figuras, la invención se refiere a un dispositivo electródico para la detección de ácido glucónico, con tres electrodos (1, 2, 3), obtenidos todos los electrodos por serigrafía, uno de ellos, el de trabajo
10 (2) incorporando un mediador a la pasta, y modificándose posteriormente con una enzima, así como su procedimiento de fabricación y su uso en la detección citada.

 Como la técnica serigráfica implica el uso de
15 materiales concretos y da lugar a la configuración geométrica concreta del dispositivo, la exposición de dicha técnica de fabricación sirve asimismo de explicación de la configuración del dispositivo, pudiendo ir ligadas ambas, configuración y técnica o
20 procedimiento de fabricación, durante la presente exposición detallada de la invención.

 El mecanismo de reacción transcurre de acuerdo con el esquema mostrado en la figura 1. El ácido
25 glucónico se oxida en presencia de GADH hasta 2-dihidrogluconato. La enzima reducida se oxida en presencia del mediador, tetratiofulvaleno (TTF), que a su vez se recupera por oxidación en el electrodo de trabajo (2), originando una corriente proporcional a la concentración
30 de ácido glucónico.

 La invención se refiere al dispositivo, procedimiento de fabricación y de uso de un dispositivo de tres electrodos (1, 2, 3) desechables, serigrafiados
35 en un soporte de poliéster, en concreto politereftalato

de etileno (PET), cuya disposición espacial permite el rápido análisis "in situ" de pequeños volúmenes de muestra por técnicas electroquímicas.

5 Como muestra la figura 2, el dispositivo consta de tres electrodos serigrafiados (1, 2, 3): electrodo de referencia (1), electrodo de trabajo (2) y electrodo auxiliar (3) o contraelectrodo.

10 Los electrodos tienen tres zonas o partes diferenciadas: los contactos (1.3, 2.3, 3.3) o bornes, para su conexión a un potencióstato de los conocidos; las áreas activas (1.1, 2.1, 3.1), en contacto directo con la muestra a analizar y los tramos (1.2, 2.2, 3.2),
15 como unión entre contactos (1.3, 2.3, 3.3) y las áreas activas (1.1, 2.1, 3.1).

 El procedimiento de fabricación, serigrafiado, del dispositivo se lleva a cabo con la ayuda de una
20 serie de pantallas, moldes o patrones de serigrafiado en las que aparece, en una superficie porosa, el esquema del motivo a imprimir que definirá el dispositivo.

 Los patrones son como sigue:

25 -El primer patrón se utiliza para formar, serigrafiando con pasta comercial conductora de plata, los contactos (1.3, 2.3, 3.3) y los tramos (1.2, 2.2, 3.2) de los electrodos (1, 2, 3). Es decir, se crea la
30 base conductora eléctrica del dispositivo. Después de su aplicación esta capa debe curarse durante 20 minutos a 120°C.

 -El segundo patrón está diseñado para la
35 obtención del área activa (1.1) del electrodo de

referencia (1). Para su formación se imprime un producto comercial a base de Ag/AgCl sobre la base conductora en la zona del área activa de dicho electrodo, que posteriormente se somete a un proceso de curación en las mismas condiciones, 20 minutos a 120°C.

-El tercer patrón se utiliza para constituir el área activa (3.1) del contraelectrodo (3), serigrafiando pasta de carbono comercial. Tras su aplicación se somete a un curado de 60°C durante 30 minutos.

-El cuarto patrón es una capa de tinta aislante (4) que cubre el dispositivo, dejando libre los contactos (1.3, 2.3, 3.3) y áreas activas (1.1, 2.1, 3.1) de los electrodos. La correcta formación de esta capa aislante (4), vista en la figura 3, exige la curación a 80°C durante 30 minutos.

-Por último el quinto patrón permite la impresión del área activa (2.1) del electrodo de trabajo (2) utilizando una tinta comercial de carbono a la que se ha incorporado TTF al 3%, modificándolo mediante la inmovilización de la enzima GADH en su superficie utilizando un agente bifuncional en presencia de seroalbúmina bovina (BSA). El proceso de incorporación se lleva a cabo mezclando mecánicamente las cantidades adecuadas.

En esta realización, los contactos (1.3, 2.3, 3.3), los tramos (1.2, 2.2, 3.2) y el área activa del electrodo de referencia (1) es de geometría rectangular, el de trabajo (2) circular y el contraelectrodo (3) tiene forma arqueada envolvente de los otros dos electrodos. Las mejores dimensiones del área activa

(1.1) del electrodo de referencia del dispositivo corresponden a 2 mm de anchura por 4 mm de longitud.

5 Para el electrodo de trabajo (2) la mejor dimensión probada de su área activa (2.1) corresponde a un círculo de 4.5 mm de diámetro.

10 En cuanto al contraelectrodo (3) las mejores dimensiones de su área activa (3.1) son una anchura entre 1,4 y 1,5 mm, un tramo recto de entre 3 y 5 mm, que conecta con un arco de radio entre 3 y 5 mm.

15 La inmovilización de la enzima GADH sobre el electrodo de trabajo (2) se realiza de acuerdo con el siguiente procedimiento: El proceso de la inmovilización de la enzima se lleva a cabo adicionando sobre el electrodo de trabajo (2) 1 μL de GADH, 0.86 μL de glutaraldehído (GA) al 5% y 1.14 μL de una disolución de BSA al 6%. Dicho electrodo (2) se deja inmovilizando
20 durante 90 minutos a una temperatura de 4°C, tras lo cual ya está listo para realizar medidas cronoamperométricas.

25 El dispositivo así constituido es un sensor miniaturizado cuya geometría es óptima para el análisis de muestras reales líquidas de pequeño tamaño. La adición de un pequeño volumen con una micropipeta directamente sobre el sistema electródico permite el análisis sin necesidad de utilizar una celda
30 electroquímica convencional, haciendo más fácil, rápido y económico el análisis "in situ" al ser susceptible de ser conectado a un potenciostato portátil comercial. Alternativamente el sistema puede introducirse en una celda electroquímica en la que se encuentra en
35 disolución la cocaína.

Para poner en funcionamiento el dispositivo, se unen las partes superiores conductoras (1.3, 2.3, 3.3) de cada uno de los electrodos (1, 2, 3) con los bornes de salida de un potencióstato a través de unas conexiones eléctricas. A través de éste y de acuerdo con la técnica seleccionada para llevar a cabo la determinación amperométrica, se impone una diferencia de potencial entre el electrodo de trabajo (2) y el contraelectrodo (3) y se registra la intensidad que se origina en el circuito debido a las reacciones electroquímicas que la perturbación de potencial provoca, con la adición de ácido glucónico y que va a permitir poner de manifiesto la presencia de los analitos.

Para llevar a cabo la determinación de una muestra problema de ácido glucónico, se parte de la celda electroquímica que contiene 5 mL de una solución tampón de dihidrogenofosfato sódico con pH 6, 50 mM y KCl 100 mM. A continuación se conecta el potencióstato a los contactos (1.3, 2.3, 3.3) de los electrodos y se aplica un potencial de -0.100 V entre el electrodo de trabajo (2) y el contraelectrodo (3). En ese momento se aprecia una intensidad de corriente alta que se estabiliza pasados unos minutos. Cuando se obtiene una señal estable de la intensidad de la corriente, se lleva a cabo una adición de 50 μ L de disolución problema de ácido glucónico previamente diluido, observándose un salto de intensidad debido al proceso de reducción electroquímica experimentado. A continuación se hacen sucesivas adiciones de 50 μ L de disolución de ácido glucónico en un rango de concentración de 12.48 hasta 108.00 μ M) dependiendo de las características de la muestra, registrándose las intensidades de corriente y

observándose sucesivos saltos de intensidad.

Se obtiene la recta de calibración correspondiente. Se calculan las intensidades de las
5 sucesivas adiciones y estos valores se representan frente a la concentración originando una recta cuya intersección con el eje de abscisas permite obtener, por extrapolación, la concentración de la muestra problema en molaridad que posteriormente se transforma en %
10 teniendo en cuenta el peso de la muestra de partida.

REIVINDICACIONES

1. Dispositivo electródico para la detección de ácido glucónico obtenido por serigrafía **caracterizado**
5 **por** que comprende tres electrodos (1, 2, 3), cada electrodo consta de un contacto o borne (1.3, 2.3, 3.3), un tramo (1.2, 2.2, 3.2) y un área activa (1.1, 2.1, 3.1), siendo uno de referencia (1), otro de trabajo (2), y otro auxiliar o contraelectrodo (3), constituidos los
10 bornes (1.3, 2.3, 3.3) y los tramos (1.2, 2.2, 3.2) con una tinta de plata, el área activa del electrodo de referencia (1.1) con una tinta de plata/cloruro de plata, el área activa del contraelectrodo (3.1) con un tinta de carbono y el área activa del electrodo de
15 trabajo (2.1) con una tinta de carbono que incorpora tetratrafalvaleno (TTF) al 3%, sobre una lámina plástica de poliéster, estando el electrodo de trabajo (2) modificado de manera que se inmoviliza la enzima GADH en su superficie utilizando un agente bifuncional en
20 presencia de seroalbúmina bovina (BSA).

2. Dispositivo electródico según la reivindicación 1 que incluye un aislante (4) que cubre el dispositivo, dejando libre los contactos (1.3, 2.3, 3.3) y áreas activas (1.1, 2.1, 3.1) de los electrodos
25 (1, 2, 3).

3. Dispositivo electródico según la reivindicación 1 en el que los contactos (1.3, 2.3, 3.3), los tramos (1.2, 2.2, 3.2) y el área activa (1.1) del electrodo de referencia (1) tienen forma rectangular.
30

4. Dispositivo electródico según la reivindicación 3 en el que el área activa (1.1) del
35

electrodo de referencia (1) tiene forma rectangular de 2 mm de anchura por 4 mm de longitud.

5 5. Dispositivo electrónico según la
reivindicación 3 en el que el área activa (2.1) del
electrodo de trabajo (2) es un círculo de 4.5 mm de
diámetro.

10 6. Dispositivo electrónico según la
reivindicación 3 en el que el área activa (3.1) del
contraelectrodo (3) tiene una anchura entre 1,4 y 1,5
mm, un tramo recto de entre 3 y 5 mm, que conecta con un
arco de radio entre 3 y 5 mm.

15 7. Proceso de fabricación del dispositivo según
las reivindicaciones 1 y 2 **caracterizado por** que
comprende las siguientes etapas:

20 -serigrafiado de una lámina de poliéster con tinta
de plata con las formas de los contactos (1.3,
2.3, 3.3) y los tramos (1.2, 2.2, 3.2) de los
tres electrodos (1, 2, 3),

-serigrafiado del área activa (1.1) del electrodo
de referencia (1) con Ag/AgCl,

25 -serigrafiado del área activa (3.1) del
contrelectrodo (3) con una pasta de carbono,

-serigrafiado de un aislante (4) cubriendo el
dispositivo excepto el área activa (1.2, 2.2,
3.2) de los electrodos (1, 2, 3) y los bornes
30 (1.1, 2.1, 3.1) de los electrodos (1, 2, 3),

-serigrafiado del área activa (2.1) del electrodo
de trabajo (2) con una pasta de carbono a la que
se ha incorporado TTF al 3%,

35 -modificación del área activa (2.1) del electrodo
de trabajo (2) mediante la inmovilización del

enzima GADH en su superficie.

5 8. Proceso de fabricación según la reivindicación 7 en el que la inmovilización de la enzima GADH se lleva a cabo mediante entrecruzamiento con glutaraldehído y seroalbúmina bovina.

10 9. Proceso de fabricación según la reivindicación 8 en el que la inmovilización de la enzima GADH se lleva a cabo adicionando sobre el electrodo de trabajo (2) 1 μL de GADH, 0.86 μL de glutaraldehído (GA) al 5% y 1.14 μL de una disolución de BSA al 6%, dicho electrodo (2) se deja inmovilizando durante 90 minutos a una temperatura de 4°C.

15

10. Uso del dispositivo según las reivindicaciones 1 y 2 **caracterizado por** que comprende las siguientes etapas:

20

-introducción del dispositivo en una celda electroquímica que contiene 5 mL de una solución tampón de dihidrogenofosfato sódico con pH 6.0, 100 mM y KCl 100 mM,

25

-unión de los contactos (1.3, 2.3, 3.3) de los electrodos a un potencióstato,

-aplicación de un potencial de 0.100 V entre el electrodo de trabajo (2) y el contraelectrodo (3),

30

-espera a estabilización de corriente,

-adición de 50 μL de disolución problema de ácido glucónico,

-sucesivas adiciones de 50 μL de disolución de ácido glucónico de concentración de 12.48 hasta 108.00 μM ,

35

-registro de las intensidades de corriente,

- representación de la recta de calibrado,
- extrapolación de dicha recta de calibrado para calcular la concentración de ácido glucónico en la muestra problema.

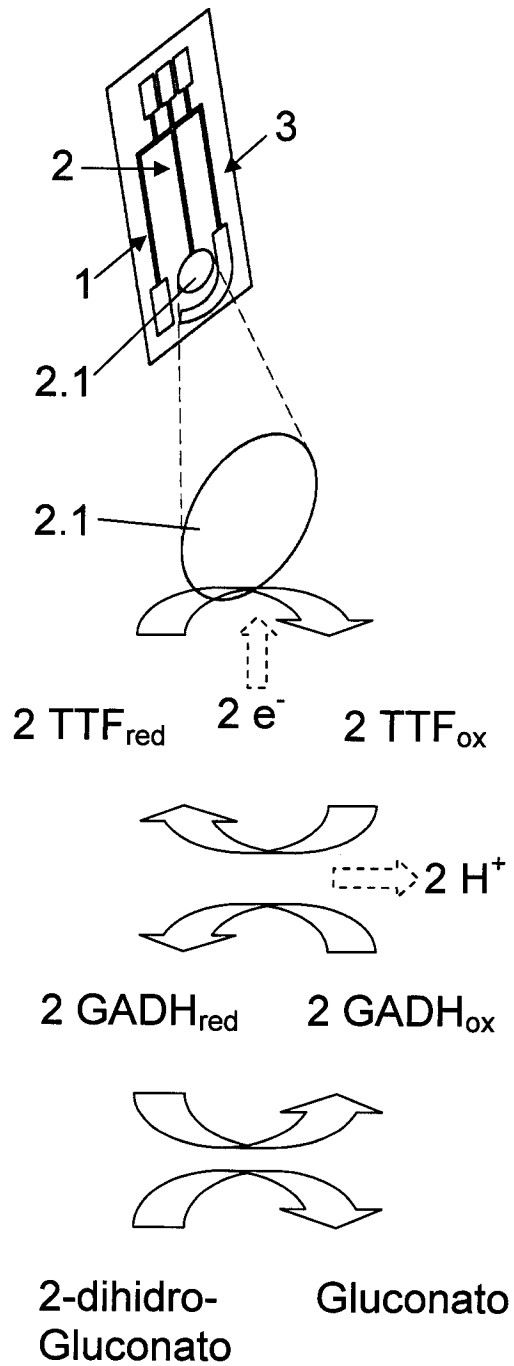


Fig.1

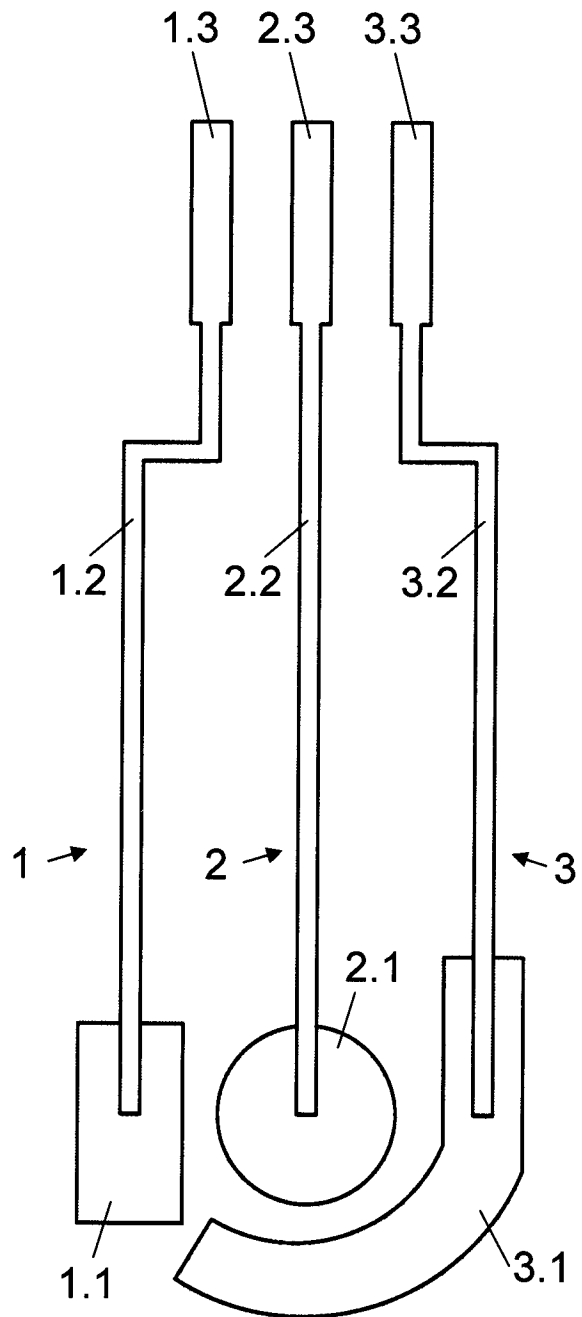


Fig.2

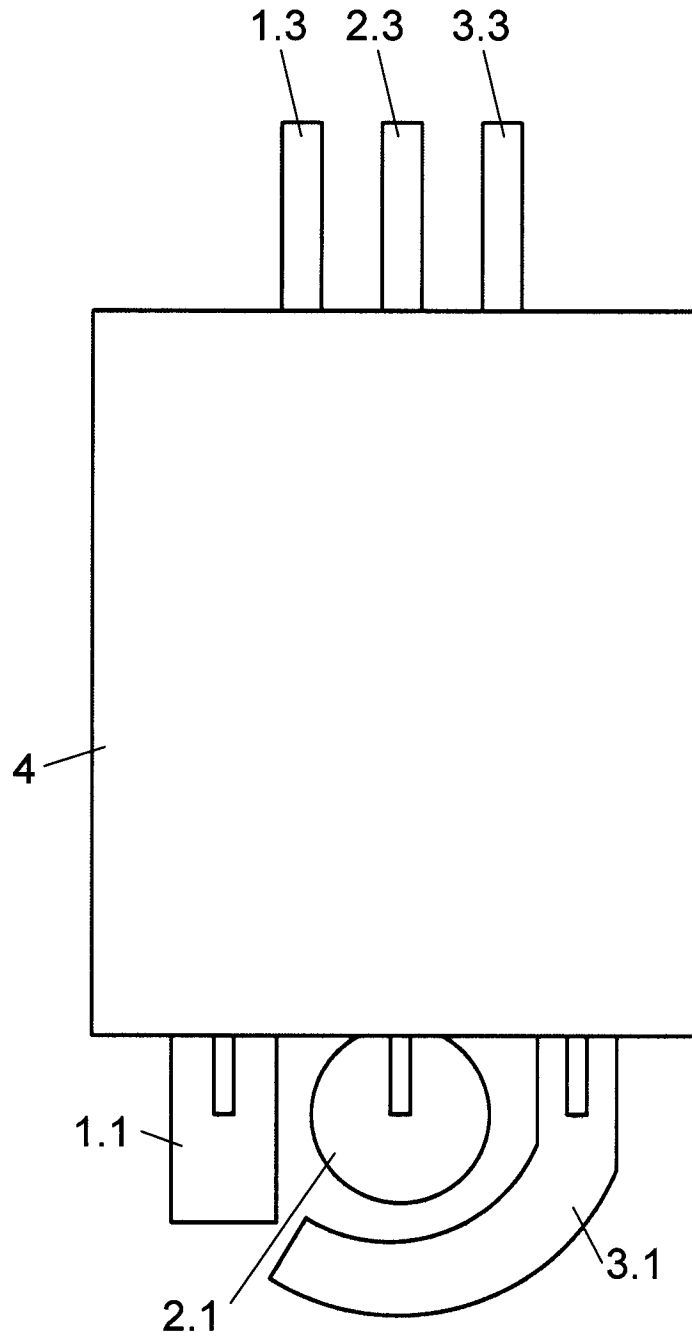


Fig.3



②① N.º solicitud: 201300149

②② Fecha de presentación de la solicitud: 11.02.2013

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	CAMPUZANO S et al. Integrated Electrochemical Gluconic Acid Biosensor Based on Self-Assembled Monolayer-Modified Gold Electrodes. Application to the Analysis of Gluconic Acid in Musts and Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 20070301 not American Chemical Society, Books and Journals Division. 01.03.2007 VOL: 55 No: 6 Págs: 2109-2114 ISSN 0021-8561 Doi: doi:10.1021/jf063073w	1-10
A	MX 2010002962 A (ULTIZYME INT LTD) 31.03.2010, reivindicaciones; figura 12.	1-10
A	WO 0190733 A1 (RADIOMETER MEDICAL AS) 29.11.2001, reivindicaciones.	1-10
A	EP 1321763 A1 (ASAHI CHEMICAL IND) 25.06.2003, reivindicaciones.	1-10
A	WO 0239533 A2 (IRD AS) 16.05.2002, reivindicaciones.	1-10

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
31.10.2013

Examinador
J. Manso Tomico

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12Q1/26 (2006.01)

C12Q1/32 (2006.01)

G01N27/327 (2006.01)

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

C12M, C12Q, G01N

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

INVENES, EPODOC, WPI, embase, biosis

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 31.10.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-10	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-10	SI
	Reivindicaciones	NO

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

Base de la Opinión.-

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

1. Documentos considerados.-

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	CAMPUZANO S et al. Integrated Electrochemical Gluconic Acid Biosensor Based on Self-Assembled Monolayer-Modified Gold Electrodes. Application to the Analysis of Gluconic Acid in Musts and Wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 20070301 not American Chemical Society, Books and Journals Division. 01.03.2007 VOL: 55 No: 6 Págs: 2109-2114 ISSN 0021-8561 Doi: doi:10.1021/jf063073w	01.03.2007
D02	MX 2010002962 A (ULTIZYME INT LTD)	31.03.2010
D03	WO 0190733 A1 (RADIOMETER MEDICAL AS)	29.11.2001
D04	EP 1321763 A1 (ASAHI CHEMICAL IND)	25.06.2003
D05	WO 0239533 A2 (IRD AS)	16.05.2002

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

La presente solicitud divulga un biosensor o dispositivo electródico obtenido por serigrafía para la detección de ácido glucónico.

Las reivindicaciones 1-6 caracterizan el dispositivo, las reivindicaciones 7-9 caracterizan el proceso de fabricación y la reivindicación 10 el uso del electrodo para la detección del ácido glucónico.

El dispositivo electródico se caracteriza por disponer de tres electrodos constituidos por bornes, tramos y áreas activas. Los bornes y los tramos están constituidos por tinta de plata, el área activa del electrodo de referencia con una tinta de plata/cloruro de plata, el área activa del contraelectrodo con una tinta de carbono y el área activa del electrodo de trabajo con una tinta de carbono que incorpora TTF. El electrodo de trabajo lleva inmovilizada la enzima GADH.

D01 divulga un biosensor amperométrico enzimático para la detección de ácido glucónico, constituido por moléculas de GADH inmovilizadas junto a TTF. Como electrodo de trabajo se empleó un disco de oro recubierto de MPA-SAM. Se emplearon también como electrodo de referencia un electrodo BAS MF-2063 conteniendo Ag/AgCl/KCl 3 M y un cable de platino como contraelectrodo.

D02 divulga un electrodo enzimático compuesto de partículas de carbono en el que se soporta la enzima glucosa deshidrogenasa (GDH) con flavina adenina dinucleótido (FAD) como coenzima y una capa de electrodo en contacto con la partícula de carbono, en el que la partícula de carbono y / o la capa de electrodo están / está compuesta de las partículas de carbono con un diámetro de partícula de no más de 100 nm y una superficie específica de al menos 200 m² / g, según la figura 12. También divulga un material de tinta para revestir la superficie del electrodo enzimático.

D03 divulga un sensor para mediciones biológicas, fisiológicas y químicas, más especialmente para la medición electroquímica de glucosa, lactato, urea o creatinina. El método de producción de este sensor se lleva a cabo usando una técnica de impresión, preferentemente una técnica serigráfica.

D04 divulga un electrodo enzimático compuesto por: un electrodo de trabajo, un contraelectrodo y, opcionalmente, un electrodo de referencia; y una capa de reacción formada sobre dicho sistema de electrodos, en el que dicha capa de reacción comprende diaforasa (DI), 12 alfa-hidroxiesteroide deshidrogenasa (12 alfa-HSD) y nicotinamida adenina dinucleótido sintetasa (DANE).

D05 divulga un procedimiento de producción de un electrodo de membrana por serigrafía. El proceso proporciona células de combustible con menor contenido de catalizador y mejora de la eficiencia electroquímica. Se facilita el montaje, ya que asegura el contacto íntimo y la adherencia de la capa de catalizador a la membrana de electrolito de polímero. Se proporciona una secuenciación en el que la capa que requiere más alta compactación está posicionada para estar en contacto directo con la membrana de electrolito de polímero lo que la aplicación de calor y presión asegura una buena adhesión y la cohesión de las capas de catalizador evitando al mismo tiempo la pérdida subsiguiente de contacto. El carbono y capa de soporte y el papel carbón o grafito para proporcionar permeabilidad a los gases óptima. Las pilas de combustible con los conjuntos de electrodos de membrana exhiben voltaje de la célula superior a la misma densidad de corriente como las pilas de combustible preparadas de acuerdo con métodos estándar.

La diferencia entre el electrodo de las reivindicaciones 1-6 y D01 sería la impresión por serigrafía de los electrodos de trabajo, referencia y contraelectrodo mediante el uso de tintas de plata y carbono. El efecto técnico de esta diferencia sería la miniaturización del sistema.

Ninguno de los documentos del estado de la técnica divulga un dispositivo electródico serigrafiado como el que se menciona en las reivindicaciones 1-6, por lo que estas reivindicaciones, al igual que se refieren al proceso de fabricación y el uso del dispositivo serían nuevas tal y como se menciona en el art. 6 de la ley 11/1986. Ninguno de los documentos del estado de la técnica, tomados solos o en combinación, permiten deducir de manera obvia que la aplicación de la serigrafía al electrodo divulgado en el documento D01 llevaría consigo una mayor miniaturización del electrodo con las ventajas adicionales que eso conlleva. Por tanto, las reivindicaciones 1-10 también parecerían cumplir con el requisito de actividad inventiva tal y como se menciona en el art. 8 de la ley 11/1986.