

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 361 695**

21 Número de solicitud: 200931137

51 Int. Cl.:

A01N 59/06 (2006.01)

A01N 59/26 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **09.12.2009**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **21.06.2011**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
21.06.2011

71 Solicitante/s: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)** (Titular al 50 %)
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Instituto Tecnológico de Materiales de Asturias (ITMA) (Titular al 50 %)

72 Inventor/es: **Moya Corral, José;**
Malpartida, Francisco;
Esteban, Leticia y
Pecharromán, Carlos

74 Agente: **Pons Ariño, Ángel**

54 Título: **Polvo de composición vítrea con actividad biocida.**

57 Resumen:

Polvo de composición vítrea con actividad biocida.

La presente invención se refiere a un uso de un polvo de composición vítrea, caracterizado por tener un contenido mínimo en CaO del 10% en peso, como biocida.

ES 2 361 695 A1

DESCRIPCIÓN

Polvo de composición vítrea con actividad biocida.

5 La presente invención se refiere a un uso de un polvo de composición vítrea, caracterizado por tener un contenido mínimo en CaO del 10% en peso, como biocida.

Estado de la técnica anterior

10 Es conocido el uso de vidrios con contenido en cobre, plata o cinc, con actividad bactericida y fungicida en los artículos de Esteban-Tejeda L, Malpartida F, Esteban-Cubillo A, Pecharromán C y Moya JS 2009 *Nanotechnology* **20** art. num.085103 (6pp); Esteban-Tejeda L, Malpartida F, Esteban-Cubillo A, Pecharromán C y Moya JS 2009 *Nanotechnology* **20** 505701doi:10.1088/0957-4484/20/50/505701 (2009); Fang M, Chena JH, Xub XL, Yang PH y Hildebrand HF 2006 *International Journal of Antimicrobial Agents* **27** 513-17; Rai M, Yadav A y Gade A 2009 *Biotechnology Advances* **27** 76-83. Estas partículas metálicas de cobre, plata o cinc, pueden llegar a ser tóxicas y/o agresivas con el medio ambiente. Igualmente ocurre con los agentes biocidas orgánicos del tipo triclosan que son altamente tóxicos y contaminantes: Greyshok AE y Vikesland PJ 2006 *Environ. Sci. Technol.* **40** 2615-22; Allmyr M, Panagiotidis G, Sparve E, Diczfalusy U y Sandborgh-Englund G 2009 *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology* **105** 339-44; Geens T, Roosens L, Neels H, Covaci A 2009 *Chemosphere* **76** 755-60.

20 Por otro lado, se han publicado estudios según los cuales la presencia de altas concentraciones de calcio en solución, Ca²⁺, interfiere en la actividad enzimática, por ejemplo sobre la enzima B-glucansintasa, impidiendo la síntesis de azúcares, inhibiendo de esta manera el crecimiento de los microorganismos. En el caso de las levaduras interfiere también en la germinación de las esporas. La concentración de calcio necesaria para la inhibición del crecimiento varía en función del microorganismo analizado.

[Droby S, Wisniewski ME, Cohen L, Weiss B, Touitou D, Eilam Y y Chalutz E 1997 *Phytopathology* **87** [3] 310-5; Chardonnet CO, Sems CE y Conway WS 1999 *Phytochemistry* **52** 967-73; Kaile A, Pitt D y Khun PJ 1992 *Physiological and Molecular Olant Pathology* **40** 49-62].

30 Algunos autores [Bellantone M. *et al.* 2002 *Antimicrob. Agents Chemother.* **46** 1940-5; Jones JR y Ehrenfried LM 2006 *J. Mater. Sci: Mater. Med* **17** 989-96] no observaron actividad biocida alguna en unos biovidrios frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ni *Staphylococcus aureus*. Por otro lado, es bien conocido que los productos vítreos con alto contenido en sílice tales como vidrios de laboratorio, botellas, etc. no poseen actividad biocida alguna.

Descripción de la invención

40 La presente invención proporciona un uso de un polvo de composición vítrea, con un contenido mínimo en CaO del 10% en peso, como biocida.

Por tanto, un aspecto de la presente invención se refiere al uso de un polvo vítreo que comprende: óxido de silicio (SiO₂), y óxido de calcio (CaO) con un contenido mayor de CaO del 10% en peso, como biocida.

45 Por "polvo vítreo" se entiende en la presente invención partículas sólidas de composición de vidrio, con dimensiones de dichas partículas menores de 500 μm, como para que el conjunto de partículas tenga suficiente relación superficial como para interaccionar con el microorganismo dañino.

Por "biocida" en la presente invención se entiende aquella sustancia química destinada a destruir, neutralizar, impedir la acción o ejercer control de otro tipo sobre cualquier microorganismo dañino.

50 En una realización preferida dicho uso biocida se selecciona entre bactericida y/o fungicida.

Por "fungicida" se entiende en la presente invención sustancias empleadas para impedir el crecimiento o para matar los hongos y mohos perjudiciales para las plantas, los animales o el hombre.

55 Por "bactericida" se entiende en la presente invención sustancias empleadas para la destrucción de bacterias.

En el caso de usarse como bactericida, en una realización más preferida el efecto bactericida se produce sobre bacterias que se seleccionan entre gram-positivas, gram-negativas o cualquiera de sus combinaciones.

60 En una realización aún más preferida las bacterias gram-positivas sobre las que actúa como bactericida el polvo vítreo se seleccionan entre *Micrococcus luteus* y *Bacillus subtilis*.

65 En una realización aún más preferida la bacteria gram-positiva sobre la que actúa como bactericida el polvo vítreo es *Escherichia coli*.

En otra realización más preferida el efecto fungicida se produce sobre levaduras, siendo en una realización aún más preferida dicha levadura *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*).

ES 2 361 695 A1

En la presente invención se describe la actividad biocida de varios polvos de composición vítrea con alto contenido en calcio (mayor del 10% en peso de CaO) sobre tres tipos de microorganismos diferentes: *Escherichia coli* (bacteria Gram-negativa), *Micrococcus luteus* (bacteria Gram-positiva) e *Issatchenkia orientalis* (levadura).

5 Además la composición vítrea preferiblemente puede comprender óxido fosfórico (P₂O₅).

Además el polvo vítreo preferiblemente puede comprender óxidos que se seleccionan de la lista que comprende: alúmina (Al₂O₃), óxido de boro (B₂O₃), óxido de potasio (K₂O), óxido sódico (Na₂O), óxido de hierro (Fe₂O₃), óxido de magnesio (MgO) y todos aquellos óxidos que se requieran para estabilizar la estructura del vidrio.

10 Preferiblemente el tamaño de grano de los óxidos empleados para la composición vítrea es inferior a 200 μm. Y más preferiblemente el tamaño de grano está entre 0,05-32 μm.

15 Por otra parte, el mecanismo de actuación de este polvo vítreo con alto contenido en CaO consiste en que una partícula de vidrio, al tener un alto contenido en calcio, libera iones Ca²⁺ de manera paulatina y controlada, produciendo al mismo tiempo un cambio en el pH del medio. Por otro lado, estas partículas vítreas se pueden adherir a la membrana celular de la bacteria interfiriendo parcial o totalmente con el metabolismo de la misma.

20 Y en una realización preferida el uso del polvo vítreo según se ha descrito anteriormente, cuya aplicación como biocida se selecciona entre: envases, fármacos, dispositivos médicos, implantes quirúrgicos, tejidos, instalaciones de aire, piscinas o transportes, para aplicaciones en campos tan diversos como la agricultura, ganadería, farmacia, medicina, alimentación, textil o instalaciones de uso público.

25 La primera ventaja que aporta la presente invención respecto al estado de la técnica actual lo constituye el hecho de que se evita el uso de biocidas orgánicos y/o nanopartículas metálicas como la plata o el cobre que pueden llegar a ser tóxicos y/o agresivos con el medio ambiente. La segunda ventaja radica en la simplicidad del proceso de elaboración, que básicamente consiste en la fusión de una frita con la composición adecuada y la subsiguiente etapa de molienda, para de esta forma conseguir tamaños de partícula del orden de 100 μm. Por último, otra ventaja es la biocompatibilidad del material particulado obtenido, convirtiéndolo en un material idóneo para su aplicación en implantes quirúrgicos o en el sector de la alimentación y/o su envasado, tanto para una utilización humana como animal.

30 Por tanto, el objeto de la presente invención es el uso de un polvo vítreo con alto contenido en calcio (mayor del 10% en peso de CaO) para la elaboración de una composición bactericida y/o fungicida no contaminante ni agresiva con el medio ambiente, ya que se descompone en sustancias no tóxicas presentes en los suelos por acción de los agentes medioambientales. Este polvo es útil como desinfectante para aplicaciones pertenecientes, por ejemplo y sin que limite el alcance de la presente invención, al siguiente grupo: aplicaciones bactericidas y fungicidas en el sector de la agricultura, ganadería, instalaciones de uso público (sanitarias y hospitalarias, transporte, piscinas, etc.), equipos de aire acondicionado, cañerías y griferías, pinturas, prendas de vestir, embalajes (domésticos, farmacéuticos, dispositivos médicos, etc.).

40 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

45

Ejemplos

50 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la especificidad y efectividad del polvo vítreo como biocida.

Ejemplo 1

55 *Ensayo de actividad bactericida frente a la bacteria Gram-negativa Escherichia coli*

60 Se realizaron ensayos biocidas de tres polvos composiciones vítreas (con un tamaño medio de partícula menor de 200 μm) con composiciones diferentes y con alto contenido en calcio para evaluar la actividad bactericida frente a la bacteria Gram-negativa *E. coli*. También se realizaron ensayos biocidas con un vidrio sodocálcico comercial (habitualmente empleado en la fabricación de ventanas y de botellas), con un contenido en CaO menor del 10% en peso, con el fin de demostrar que dicho vidrio no posee efecto biocida alguno. El análisis químico de estos vidrios se muestra a continuación:

65 1. Vidrio A, con un 15% (peso) de CaO.

Este vidrio posee la siguiente composición química (% peso): 47,6% de SiO₂; 27,5% de Na₂O; 14,9% de CaO; 1% de K₂O; 2% de Al₂O₃; 6,9% de B₂O₃ y 1,9% de otros.

ES 2 361 695 A1

2. Vidrio B con un 20% (peso) de CaO.

Este vidrio posee la siguiente composición química (% peso): 43,5% de SiO₂; 25,5% de Na₂O; 19,9% de CaO; 1% de K₂O; 2% de Al₂O₃; 8% de B₂O₃ y 2,1% de otros.

3. Vidrio C con un 25% (peso) de CaO.

Este vidrio posee la siguiente composición química (% peso): 39,1% de SiO₂; 23,5% de Na₂O; 24,9% de CaO; 1% de K₂O; 2% de Al₂O₃; 9,4% de B₂O₃ y 2,3% de otros.

4. Biovidrio con un 24,2% (peso) de CaO.

Este vidrio posee la siguiente composición química (% peso): 46,2% de SiO₂; 22,6% de Na₂O; 24,2% de CaO; 6,21% de P₂O₅ y 0,79% de otros.

5. Vidrio de sodocálcico con un 7,10% (peso) de CaO.

Este vidrio posee la siguiente composición química (% peso): 72,79 SiO₂; 15,8 Na₂O; 7,10 CaO; 3,20 MgO 1,06; B₂O₃ y 0,05 K₂O.

Los ensayos biocidas se desarrollaron de la siguiente manera:

A partir de un stock guardado a -80 QC se sembraron los microorganismos, en medio sólido (placas Petri de 9 cm de diámetro) conteniendo 20 ml de medio Luria Bertani (LB) cuya composición (%peso) es: triptona 1%; extracto de levadura 0,5%; NaCl 1% y agar 1,5%. Las placas se incubaron 18 horas a 37°C. A continuación, colonias aisladas de las placas anteriores se inocularon en 1 ml de LB líquido (para colonias bacterianas) ó 1 ml de Extracto de levadura Peptona glucosa (YEPD) líquido (composición (%peso) es: extracto de levadura 1%, peptona 2%, glucosa 2%) y se cultivaron a 37°C durante 6 horas para obtener los precultivos a una densidad de entre 10¹⁰ a 10¹¹ colonias viables por mililitro de cultivo. Paralelamente se prepararon suspensiones de 200 mg/ml en agua de los tres vidrios y se esterilizaron durante 30 minutos a 125°C. Finalmente 10 µl de cada uno de los precultivos de los microorganismos se inocularon en 1 ml de medios líquidos (LB, para bacterias, ó YEPD para levadura). Por último, a estos cultivos se añadieron 75 µl de las suspensiones de los vidrios a ensayar. Asimismo, se preparó como control el mismo medio en el que el vidrio, se sustituyó por un volumen equivalente de agua. Los distintos cultivos se incubaron en agitación horizontal, realizando extracciones cada 24 horas con el fin de proceder a titular los microorganismos sobrevivientes mediante plaqueo en medio LB sólido mediante diluciones seriadas desde 10⁻¹ hasta 10⁻⁸.

Los resultados obtenidos, representados como el logaritmo de reducción de unidades formadoras de colonias (tabla 1), muestran una desinfección total (eliminación de todas las colonias) tras 48 horas para todos los vidrios con un contenido en CaO superior al 10% en peso (Vidrios A, B, C y biovidrio). Sin embargo, el vidrio sodocálcico con contenido menor del 10% de CaO (%peso) no muestra actividad biocida alguna.

TABLA 1

Muestra el logaritmo de reducción de unidades formadoras de colonias ($\log \eta$) de *E. coli* tras 24 y 48 horas de ensayo biocida. El medio control es un medio compuesto únicamente por el nutriente necesario y los microorganismos correspondientes, es decir, no contiene ninguna sustancia biocida

	<i>E. coli</i>				
	Vidrio A	Vidrio B	Vidrio C	Biovidrio	Vidrio sodocálcico
24h	8,79	6,75	7,35	10,78	0,00
48h	11,68	9,7	11,32	10,78	0,00

ES 2 361 695 A1

Ejemplo 2

Ensayo de actividad bactericida frente a la bacteria Gram-positiva Micrococcus luteus

5 Siguiendo el procedimiento anterior se realizaron ensayos biocidas para los tres tipos de vidrio descritos anteriormente frente a la bacteria Gram-positiva *Micrococcus luteus*.

Los resultados obtenidos, representados como el logaritmo de reducción de unidades formadoras de colonias (Tabla 2), muestran una desinfección segura para todos los vidrios con un contenido en CaO superior al 10% en peso (Vidrios A, B, C y biovidrio), ya que el logaritmo de la reducción en el número de unidades formadoras de colonias ($\log \eta > 4$) tras 48 horas de cultivo en contacto con los vidrios). Sin embargo, el vidrio sodocálcico con contenido menor del 10% en peso de CaO no muestra actividad biocida alguna.

15

TABLA 2

Muestra el logaritmo de reducción de unidades formadoras de colonias de M. luteus tras 24 y 48 horas de ensayo biocida

20

	<i>M. luteus</i>				
	Vidrio A	Vidrio B	Vidrio C	Biovidrio	Vidrio sodocálcico
24h	4,44	1,49	3,4	3,68	0,00
48h	6,29	5,9	6,21	4,52	0,00

30

Ejemplo 3

35

Ensayo de actividad biocida frente a la levadura Issatchenkia orientalis (Candida krusei)

Siguiendo el procedimiento anterior se realizaron ensayos biocidas para los tres tipos de vidrio descritos anteriormente frente a la levadura *Issatchenkia orientalis*.

40

Los resultados obtenidos, representados como el logaritmo de reducción de unidades formadoras de colonias (Tabla 3), muestran una desinfección segura ($\log \eta > 4$) tras 48 horas para todos los vidrios con un contenido en CaO (%peso) superior al 10% (Vidrios A, B, C y biovidrio). Sin embargo, el vidrio sodocálcico con contenido menor del 10% en peso de CaO no muestra actividad biocida alguna.

45

TABLA 3

Muestra el logaritmo de reducción de unidades formadoras de colonias I. orientalis tras 24 y 48 horas de ensayo biocida

50

	<i>I. orientalis</i>				
	Vidrio A	Vidrio B	Vidrio C	Biovidrio	Vidrio sodocálcico
24h	5,07	3,4	4,18	4,57	0,00
48h	9,6	6,1	4,66	5,18	0,00

60

65

ES 2 361 695 A1

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de un polvo vítreo que comprende, al menos, óxido de silicio (SiO_2), y óxido de calcio (CaO) con un contenido en CaO mayor del 10% en peso, como biocida.
2. Uso del polvo vítreo según la reivindicación 1, como bactericida y/o fungicida.
- 10 3. Uso del polvo vítreo según la reivindicación 2, donde el efecto bactericida se produce sobre bacterias que se seleccionan entre gram-positiva, gram-negativa o cualquiera de sus combinaciones.
4. Uso del polvo vítreo según la reivindicación 3, donde las bacterias gram-positivas se seleccionan entre *Micrococcus luteus* o *Bacillus subtilis*.
- 15 5. Uso del polvo vítreo según la reivindicación 3, donde la bacteria gram-positiva es *Escherichia coli*.
6. Uso del polvo vítreo según la reivindicación 2, donde el efecto fungicida se produce sobre levadura.
- 20 7. Uso del polvo vítreo según la reivindicación 6, donde la levadura es *Issatchenkia orientalis*.
8. Uso del polvo vítreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado** por comprender además óxido fosfórico (P_2O_5).
- 25 9. Uso del polvo vítreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado** por comprender además óxidos que se seleccionan de la lista que comprende: óxido de sodio (Na_2O), óxido de potasio (K_2O), de magnesio (MgO), óxido de hierro (Fe_2O_3), alúmina (Al_2O_3) y óxido de boro (B_2O_3).
- 30 10. Uso del polvo vítreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el tamaño de partícula sea inferior a $200 \mu\text{m}$.
11. Uso del polvo vítreo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde la aplicación como biocida se selecciona entre envases, fármacos, dispositivos médicos, implantes quirúrgicos, tejidos, instalaciones de aire, piscinas o transportes.

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud:200931137

②② Fecha de presentación de la solicitud: 09.12.2009

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A01N59/06** (01.01.2006)
A01N59/26 (01.01.2006)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	EP 979607 A1 (MAEDA N.) 16.02.2000, resumen; tabla 5; ejemplo 1; página 5.	1-11
X	DE 10308186 A1 (SCHOTT GLAS) 09.09.2004, resumen.	1-11

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
27.12.2010

Examinador
M. Ojanguren Fernández

Página
1/4

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

A01N

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

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 27.12.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 6,7	SI
	Reivindicaciones 1-5, 8-11	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 6,7	SI
	Reivindicaciones 1-5, 8-11	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	EP 979607 A1 (MAEDA N.)	16.02.2000
D02	DE 10308186 A1 (SCHOTT GLAS)	09.09.2004

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

El objeto de la presente solicitud es el uso de un polvo vítreo que comprende al menos dióxido de silicio y óxido de calcio con un contenido de este último de al menos un 10% en peso como biocida.

El documento D1 divulga un agente antimoho y antibacterias que contiene entre otros componentes dolomita calcinada, dióxido de silicio y óxido de magnesio.(ver ejemplo 1, tabla 5)

El documento D2 divulga una composición microbicida en forma de cristal que puede comprender óxido de calcio, dióxido de silicio y además óxido fosfórico. (ver resumen)

Por lo tanto, a la vista del estado de la técnica, las reivindicaciones 1 a 5 y 8 a 11 de la presente solicitud no son nuevas ni tienen actividad inventiva. (art. 6.1 y 8.1 LP).

En cuanto a las reivindicaciones dependientes 6 y 7, relativas al uso del polvo vítreo contra levaduras, se considera que son nuevas y tienen actividad inventiva ya que no se han encontrado en el estado de la técnica indicios que permitan a un experto en la materia llegar a la conclusión de que dicha composición usada para levaduras tendría una probabilidad razonable de éxito. (art. 6.1 y 8.1 LP).