

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 533 777**

21 Número de solicitud: 201300950

51 Int. Cl.:

G01N 27/26 (2006.01)

G01N 21/25 (2006.01)

H01M 4/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

10.10.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

14.04.2015

Fecha de la concesión:

22.12.2015

45 Fecha de publicación de la concesión:

04.01.2016

73 Titular/es:

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ (50.0%)
Plaza de San Diego, s/n
28801 Alcalá de Henares (Madrid) ES y
ASOCIACIÓN DE INVESTIGACIÓN DE LA
INDUSTRIA TEXTIL (AITEX) (50.0%)

72 Inventor/es:

DOMÍNGUEZ CAÑAS, Elena;
NARVÁEZ GARCÍA, Arantzazu;
JIMÉNEZ CENTELLES, Javier;
CAMBRA SÁNCHEZ, Vicente y
FERRÁNDIZ GARCÍA, Marcela

54 Título: **Desarrollo de un sensor electroquímico de magnesio (Mg^{2+}) y método de construcción del mismo**

57 Resumen:

Desarrollo de un sensor electroquímico de magnesio (Mg^{2+}) y el método de construcción del mismo basado en la formación de una red tridimensional polimérica que permite el atrapamiento/inmovilización de un indicador selectivo para Mg^{2+} , Negro de eriocromo T, mediante el uso de un agente de entrecruzamiento y un polímero positivo tipo polietilenimina. La combinación de estos tres reactivos permite la construcción del sensor en cualquier superficie conductora evitando la electropolimerización del indicador. El sensor resultante permite medir Mg^{2+} en cualquier tipo de muestras, sin necesidad de adicionar sales orgánicas, aditivos o solventes orgánicos. La cuantificación de Mg^{2+} se realiza directamente incubando el sensor en la muestra conteniendo el analito, resultando en una modificación de la señal amperométrica proporcional a su concentración.

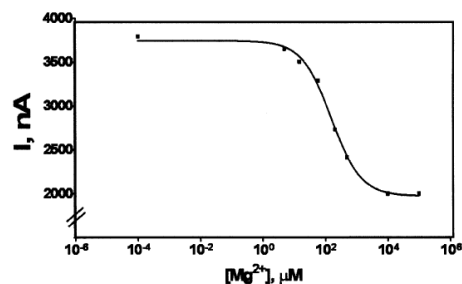


FIG.4

ES 2 533 777 B1

DESCRIPCIÓN

DESARROLLO DE UN SENSOR ELECTROQUÍMICO DE MAGNESIO (Mg²⁺) Y MÉTODO DE CONSTRUCCIÓN DEL MISMO

5 OBJETO DE LA INVENCION

La invención, tal como expresa el enunciado de la presente memoria descriptiva, se refiere a un dispositivo analítico, un sensor químico electroquímico para medir de Mg²⁺ en cualquier tipo de muestras, y al método de construcción de dicho dispositivo.

10 Más en particular, el objeto de la invención se centra en un dispositivo analítico, un sensor electroquímico para la detección de Mg²⁺ basado en el atrapamiento/inmovilización en una red tridimensional polimérica de un indicador selectivo para Mg²⁺ mediante el uso de un agente de entrecruzamiento y un polímero positivo.

15 La novedad reside en la creación de una red tridimensional polimérica con el indicador Negro de eriocromo T para la detección electroquímica de Mg²⁺ en cualquier matriz. Destaca su simplicidad y estabilidad. El método es sencillo sin necesidad de adicionar sales orgánicas, aditivos o solventes orgánicos, sólo son necesario tres componentes, un polímero cargado positivamente, el indicador (Negro de eriocromo® T) y un agente de
20 entrecruzamiento.

Adicionalmente esta red tridimensional polimérica o interfase proporciona un entorno adecuado que estabiliza al indicador de tal suerte que el sensor posee una alta estabilidad tanto operativa como de almacenamiento.

25

Esta red se forma a partir de la interacción electrostática del indicador, en este caso Eriochrome® Black T, con un polímero cargado positivamente como puede ser una polietilenimina, los cuales se ponen en contacto y se depositan sobre la superficie transductora. A continuación se añade un agente de entrecruzamiento como puede ser el
30 polietilenglicol [poli (etilene glicol)(400) diglicidil eter] o gutaraldehido, y se forma así la red tridimensional que contiene el indicador, el cual reacciona con el Mg²⁺ y se produce un cambio electroquímico pudiendo ser este un cambio de potencial o un cambio en la intensidad o de conductividad.

CAMPO DE APLICACIÓN DE LA INVENCION

El campo de aplicación de la presente invención se enmarca dentro del sector de la industria dedicada a la fabricación de dispositivos analíticos, estando especialmente centrado en el ámbito de los sensores, sondas, sistemas y métodos de detección y
5 cuantificación de analitos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Como es sabido, los sensores constituyen dispositivos de análisis que se configuran como una herramienta analítica fiable y sencilla que, además, presenta la ventaja de ser barata,
10 portátil, selectiva, y de fácil manejo.

De manera general un sensor químico es cualquier dispositivo capaz de responder de manera inequívoca a un analito concreto en el seno de una muestra compleja. Consta, esencialmente, de dos partes: el elemento de reconocimiento que interactúa con el analito
15 y aporta selectividad al sensor, y el transductor que permite convertir esa interacción en una señal medible y por tanto en información analítica.

En el caso de los sensores químicos la molécula que reconoce selectivamente el analito es una molécula orgánica diseñada para unirse y detectar pequeñas moléculas o iones
20 (llamada quimiosensor).

Ha sido en los últimos años, cuando se ha suscitado un gran interés y se ha invertido un gran esfuerzo en el desarrollo de quimiosensores selectivos y sensibles para la detección de iones. La síntesis de nuevas macromoléculas, fundamentalmente derivados de éteres
25 de corona [1], polieters [2], derivados de hidroxiquinolina [3] de cumarina [4], o de porfirina [5] han permitido la detección tanto óptica como electroquímica, de Mg^{2+} con una alta sensibilidad. No obstante el elevado coste que implica la síntesis de estos compuestos y su falta de selectividad, que resulta en elevadas interferencias provenientes del Ca^{2+} en medios acuosos, son serias desventajas difícilmente de soslayar. Otros compuestos
30 utilizados son indicadores como Azul de xilidil que tras reducir su pH mediante la incorporación en el film de un ácido como un ácido fosfónico o sulfónico cambian sus propiedades ópticas tras la adición del analito US Patent 2007092973 [6].

El negro eriocromo T es un indicador tradicional de iones metálicos ampliamente utilizado

en las titulaciones de varios cationes comunes. Este compuesto tiene un grupo ácido sulfónico que se disocia completamente en agua, así como dos grupos fenólicos que se disocian parcialmente. Uno de los mayores inconvenientes es que este compuesto es inestable en disolución, probablemente debido a que la molécula contiene un grupo oxidante (nitro) y otro reductor (azo). Se ha descrito el uso de este compuesto directamente como quimiosensor con iones de Mg^{2+} US Patent 4,383,043 [7] en un ensayo colorimétrico en disolución. Para ello era necesario la adición de un compuesto que formase complejo con metales pesados y el compuesto EGTA (Ethyleneglycol-bis[β -aminoethy ether]-N-N'-tetraacetic acid) que eliminaba las interferencias provenientes del Ca^{2+} , con el fin de obtener la selectividad requerida para realizar el ensayo. Posteriormente se montó este sistema de ensayo en disolución, en un sistema complejo de flujo con un fotómetro multi-LED en el que se inyectaban diversos indicadores entre los cuales estaba el negro eriocromo T, este sistema permitió tras el análisis de los resultados mediante quimiometría, la discriminación de distintas agua minerales [8].

15

Por otra parte el negro de eriocromo T ha sido utilizado para la detección de Mg^{2+} utilizando distintos métodos electroquímicos, así caben destacar el sistema en flujo con detección amperométrica en el que todos los reactivos se encuentran en disolución siendo necesaria la adición de EGTA y trietanolamina para eliminar las interferencias provenientes del Ca^{2+} y Fe^{3+} respectivamente, y de un surfactante para minimizar la pasivación de la superficie del electrodo por la oxidación del indicador [9]. De igual manera con todos los reactivos en disolución se detectó Mg^{2+} sobre electrodos de mercurio mediante la reducción del complejo indicador- Mg^{2+} adsorbido [10].

25 Un intento de desarrollar un sensor con Negro de eriocromo T ha sido su electropolimerización con polipirrol, sin embargo no se obtuvo la estabilidad ni selectividad adecuadas debido a pérdidas del indicador y procesos de complejación, presentando respuesta tanto a Ca^{2+} como a Mg^{2+} [11].

30 El interés por el Mg^{2+} estriba en que es uno de los metales iónicos más abundantes e importantes en los sistemas biológicos. Regula numerosas actividades como por ejemplo, la neuronal, la transmisión neuromuscular, o la presión arterial y juega un papel clave en diversas patologías como enfermedades vasculares y migrañas, entre otras, por lo que resulta esencial su monitorización a niveles fisiológicos. Adicionalmente el Mg^{2+} es utilizado

en diversos procesos industriales como sistemas de protección de otros materiales y en mecanismos que requieran movimientos a alta velocidad [12].

Habitualmente en la bibliografía se describen nuevas moléculas en disolución con características mejoradas y que son sensibles al Mg^{2+} . Uno de los mayores retos es construir un sensor químico en el que el indicador o molécula orgánica se inmovilice y mantenga sus características analíticas respecto su selectividad y sensibilidad. Los sensores químicos que han destacado por su robustez y aplicabilidad han sido los electrodos selectivos de iones. En estos sensores el compuesto selectivo, como puede ser péptidos no cíclicos US Patent 6,540,893B1 [13], o derivados de 1,10 fenantrolina US Pat. 5,350,518 [14], se encuentran retenidos en una membrana. Estos compuestos junto con una sal (un ión que minimiza la adsorción no específica) y un compuesto plastificante son depositados tras la evaporación del disolvente como el tetrahidrofurano. Otra forma de retener los indicadores resulta mediante la formación de un film polimérico transparente, hidrogeles compuestos con polímeros de plástico o de resina y mediante el uso de aditivos que le proporcionan selectividad. Un hidrogel es una red tridimensional de polímeros hidrofílicos que resultan insolubles pero que se hinchan al hidratarse en presencia de agua US Pat 5,744,794 [15]. En algunos casos a la red polimérica de resina o plástico, es necesario añadirle además del indicador, una sal orgánica (TBAB que forma pares iónicos con el indicador), un surfactante, un ácido y un polímero de bajo peso molecular (1000 Mw) como polietilenimina y EGTA para conseguir la respuesta adecuada US Patent 2007092973 [6]. Otros tipos de inmovilización que han resultado con menor éxito comercial para otras aplicaciones no sensoras ha sido la inmovilización del indicador en geles de sílice, así parece descritos en la bibliografía indicadores como el negro de eriocromo T atrapados en una fase sólida de un gel de sílice para exclusivamente la extracción de Zn^{2+} y Mg^{2+} [16]

A la vista de los documentos citados se constata, como era de esperar, que existen en el estado de la técnica por un lado sensores químicos para la detección de Mg^{2+} , y por otro sistemas en disolución que permiten la detección de Mg^{2+} a través del Negro de eriocromo T.

Sin embargo, ninguna de las invenciones y documentos citados, tomados por separado o en combinación, describe concretamente las características técnicas y constitutivas del

dispositivo analítico del sensor químico para Mg^{2+} y el método de construcción de la presente invención, según se reivindica.

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

5 Esta invención propone el diseño y método para la construcción de un sensor químico "reagentless" para la detección electroquímica de Mg^{2+} . El sensor descrito está basado en el atrapamiento/inmovilización del indicador en una red tridimensional polimérica que le proporciona una mayor estabilidad química. Para ello el Negro de eriocromo T se deposita junto a un polímero catiónico tipo polietilenimina quedando retenido por interacciones electrostáticas, posteriormente se añade un agente de entrecruzamiento que reacciona con los grupos funcionales del polímero uniéndose químicamente o físicamente lo que crea una red tridimensional que retiene al indicador.

15 Una de las características claves de esta red es su permeabilidad y flexibilidad que simula las propiedades del estado homogéneo (indicador en disolución) permitiéndole formar complejos con el analito o compuesto diana, pero que a su vez lo retiene y lo estabiliza, sin que se produzca polimerización. Esta unión da lugar a un cambio de potencial, de intensidad y/o conductimétrico que resulta proporcional a la concentración de analito en la muestra.

20 El sensor descrito no necesita la adición de ningún reactivo para la detección cuantitativa y selectiva de Mg^{2+} en cualquier matriz.

25 Más en concreto la invención se refiere a un sensor electroquímico para la detección de Mg^{2+} y el método para su construcción. Este sensor se compone de un polímero catiónico, el indicador Negro de eriocromo T y un agente de entrecruzamiento sobre un soporte electródico que puede ser Au, Pt, carbón vitrificado, grafito, grafeno o cualquier otro soporte conductor como puede ser fibra textil conductora. Esta configuración confiere selectividad y estabilidad al sensor. La muestra es medida directamente tras la inmersión del sensor sin necesidad de adicionar ningún reactivo.

30 Conviene destacar que el dispositivo analítico preconizado o interfase sensora objeto de la invención permite utilizar una transducción electroquímica con una estabilidad de almacenamiento tanto en condiciones secas como hidratadas de al menos 50 días.

Entrando más detalladamente en las características de la invención, sobre el soporte
 5 electródico una vez limpiado se deposita 4 μL de una mezcla 1:1 preparada anteriormente
 de una disolución de 15 mg/mL de Polietilamina disuelta en H_2O con una disolución que
 puede variar de 0,005M-0,15M de Negro de eriocromo T disuelto en un medio tamponado
 10 de 5% 1,2 diaminoetano en 0,1 M KCl. Posteriormente se añade 4 μL de una disolución 1
 mg/mL de Polietilene glicol 400 diglicidil éter (6,7% w/w), concentración del agente de
 entrecruzamiento que puede variar de 2% al 50% en peso sobre el peso del polímero
 catiónico, se homogeniza y se meten a vacío durante más de 10 minutos. Se deja secar
 durante más de 10 horas y se lava con agua. Este protocolo se puede repetir sobre la
 15 superficie del electrodo n veces depositando n films sobre la superficie electródica. Ello
 permite una mayor cantidad de indicador inmovilizado/atrapado y por lo tanto una mayor
 sensibilidad.

La detección del Mg^{2+} se realiza tras la aplicación de un potencial de 100 a 400 mV vs.
 15 Ag/AgCl, KCl_{sat} dependiendo del material electródico elegido, en una disolución
 conteniendo 5% de 1,2 diaminoetano en 0,1 M KCl, pH 11,5.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una
 20 mejor comprensión de las características de la invención, se acompaña a la presente
 memoria descriptiva, como parte integrante de la misma, de un juego de esquemas y
 gráficas, en los que con carácter ilustrativo y no limitativo se ha representado lo siguiente:

La figura número 1.- Muestra una representación esquemática del dispositivo analítico
 25 objeto de la invención, apreciándose en ella la creación de la red tridimensional polimérica
 en la que queda atrapado/inmovilizado el indicador, en este caso el Negro de eriocromo T.

La figura número 2.- Muestra una gráfica de la curva de respuesta del sensor
 electroquímico para Mg^{2+} en disolución conteniendo 5% 1,2 diaminoetano en 0,1 M KCl,
 30 pH 11,5. E_{appl} : 100 mV vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}

La figura número 3a.- Muestra una gráfica de la curva de respuesta del sensor
 electroquímico para Mg^{2+} en presencia de 250 μM de Ca^{2+} en disolución conteniendo 5%
 1,2 diaminoetano en 0,1 M KCl, pH 11,5. E_{appl} : 100 mV vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}

La figura número 3b.- Muestra una gráfica de la curva de respuesta del sensor electroquímico para Mg^{2+} en una matriz sintética como puede ser sudor conteniendo 0,1% de urea, 0,1% de a. Láctico, 0,5% de NaCl y 0,3% de KCl. E_{appi} : 100 mV vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}

5 La figura número 4.- Muestra una gráfica de la curva de respuesta del sensor electroquímico descrito en esta invención construido sobre una fibra textil conductora para Mg^{2+} en disolución conteniendo 5% 1,2 diaminoetano en 0,1 M KCl, pH 11,5. E_{appi} : 400 mV vs. Ag/AgCl, KCl_{sat}

10 REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

Como se muestra en la figura 1, esta invención describe el método para la construcción de un sensor electroquímico para la detección de Mg^{2+} en cualquier tipo de matrices. El sensor está constituido por una red polimérica formada por un polímero catiónico y un agente de entrecruzamiento que permite el atrapamiento/inmovilización del indicador en su interior.

15 La complejación del indicador con el analito produce un cambio de corriente a un potencial que va de 100 a 400 mV vs. Ag/AgCl, KCl_{sat} dependiendo del material electródico usado, en un medio básico que resulta proporcional a la concentración del analito, tal y como se muestra en la figura 2.

20 Esta interfase sensora permite:

- Simular las propiedades del estado homogéneo permitiendo al indicador formar complejos con el Mg^{2+} , mejorando su estabilidad química.
- Medir la concentración de Mg^{2+} sin necesidad de añadir reactivos, ni aditivos en cualquier tipo de muestra.
- 25 - Su construcción en cualquier superficie electródica o material conductor, Au, Pt, grafito, grafeno, carbón vitrificado, fibra textil, etc.
- La deposición de n capas permite controlar la cantidad de indicador depositado en el sensor y las características difusionales del mismo.
- El atrapamiento del indicador en un polímero catiónico evita la electropolimerización del indicador y por tanto la pérdida de su capacidad de
- 30 complejación, aumentando la estabilidad del dispositivo de la invención.

La figura 1 representa un esquema del dispositivo analítico objeto de esta invención. El método desarrollado para su construcción se describe a continuación: sobre una superficie

5 sensora (oro, platino, carbón vitrificado, grafeno, fibras conductoras.....) una vez limpiada se depositan 4 μL de una mezcla 1:1 preparada anteriormente de una disolución de 15 mg/mL de Polietilamina disuelta en H_2O con una disolución que puede variar de 0.005M-0.15M de Negro de eriocromo T disuelto en un medio tamponado de 5% 1,2 diaminoetano en 0,1 M KCl. Posteriormente se añade 4 μL de una disolución 1 mg/mL de Polietilene glicol 400 diglicidil éter (6,7% w/w), pudiendo variar esta concentración de 2 al 50% en peso sobre el peso del polímero catiónico, se homogeniza y se meten a vacío durante más de 10 minutos. Tras más de 10 horas de secado se lavan con agua. Este protocolo se puede repetir sobre la superficie del electrodo n veces depositando n films sobre la superficie
10 electródica. Ello permite una mayor cantidad de indicador inmovilizado/atrapado así como un mayor control en sus características difusionales y por lo tanto una mayor sensibilidad. El electrodo una vez modificado puede conservarse en seco o en condiciones de completa humectación.

15 La respuesta del sensor construido con el protocolo descrito se presenta en la Figura 2 para diferentes concentraciones de iones Mg^{2+} . En esta configuración el límite de detección que se obtiene es de 10 μM de Mg^{2+} , siendo la concentración de analito correspondiente al 50% de la máxima respuesta de 52 μM y presentando un intervalo lineal de 17-100 μM .

20 En condiciones óptimas la incorporación al sistema de Mg^{2+} da lugar a la formación del complejo NET- Mg^{2+} , reduciendo la cantidad de NET susceptible de ser oxidado, modificando así el equilibrio entre la especie NET oxidado y NET reducido. La disminución de NET por la reacción de complejación se traduce en una señal fácilmente detectable y proporcional a la concentración de Mg^{2+} en disolución.

25 Por tanto, al aplicar un potencial constante de 100 mV vs. Ag/AgCl, KCl_{sat} (el potencial aplicado varía dependiendo del material electródico utilizado en el análisis), se produce una señal electroquímica que se corresponde con una disminución de la corriente de oxidación como consecuencia de la presencia de iones Mg^{2+} . La disolución de análisis está
30 formada por un tampón al 5% de 1,2 diaminoetano en 0,1 M de KCl a pH 11,5.

Las figuras 3a y 3b muestran la respuesta del sensor descrito en presencia de una alta concentración de interferentes como puede ser Ca^{2+} (a) y en una matriz compleja como puede ser sudor sintético (b) (formado por urea al 0,1 %, ácido láctico al 0,1 %, NaCl al 0,5

% y KCl al 0,3 %) respectivamente. En ninguna de las dos figuras se observa una modificación significativa de la respuesta del sensor descrito, luego el efecto matriz del sudor, así como la presencia de interferentes que alterarían la exactitud de la medida es despreciable en la detección de Mg^{2+} .

5

La estructura tridimensional que atrapa al indicador puede ser construida en cualquier superficie conductora. La figura 4, muestra la respuesta del sensor descrito construido sobre una fibra textil para diferentes concentraciones de iones Mg^{2+} .

- 10 En el caso de fibras conductoras el método de construcción difiere de tal suerte que en vez de depositar 4 μ L, la fibra se sumerge durante 6 minutos en la mezcla 1:1 preparada anteriormente de una disolución de 15 mg/mL de Polietilamina disuelta en H_2O con una disolución que puede variar de 0.005M-0.15M de Negro de eriocromo T disuelto en un medio tamponado de 5% 1,2 diaminoetano en 0,1 M KCl. Posteriormente se añade a la mezcla
- 15 donde están sumergidas las fibras 1 mL de una disolución de 2 mg/mL de Polyethylene glicol, (en este caso un 13,3% (w/w). Se homogeniza y se deja reposar durante 10 min. Tras este tiempo las fibras se someten a vacío durante más de 10 horas y posteriormente se lavan y se almacenan.
- 20 El sensor construido en las fibras conductoras presenta un Límite de detección de 10 μ M siendo la concentración de analito correspondiente al 50% de la máxima respuesta de 150 μ M y presentando un intervalo lineal de 30-600 μ M. El dispositivo puede operar en un intervalo de potencial de 350 y 450 mV vs. Ag/AgCl, KCl_{sat} .
- 25 Descrita suficientemente la naturaleza de la presente invención, así como la manera de ponerla en práctica, no se considera necesario hacer más extensa su explicación para que cualquier experto en la materia comprenda su alcance y las ventajas que de ella se derivan, haciéndose constar que, dentro de su esencialidad, podrá ser llevada a la práctica en otras formas de realización que difieran en detalle de la indicada a título de ejemplo, y a las
- 30 cuales alcanzará igualmente la protección que se recaba siempre que no se altere, cambie o modifique su principio fundamental.

BIBIOGRAFÍA

- [1] Tian, MQ; Ihmels, H; Ye, ST. *Org. Biom. Chem.* 2012, 10, 3010
- [2] Kim, J; Morozumi, T; Nakamura, H. *Org. Lett.* 2007, 22, 4419.
- [3] Farruggia, G; Iotti, S; Prodi, L; Montalti, M; Zaccheroni, N; Savage, P.B; Trapani, V;
5 Wolf, F.I; *J. Am. Chem. Soc.* 2006, 128, 344.
- [4] Dong, Y; Mao, X.R; Jiang, X.X; Hou, J.L; Cheng, Y.X; Zhu, C.J; *Chem. Commun.* 2011,
47, 9450.
- [5] Purrello, R; Gurrieri, S; Lauceri, R; *Coord. Chem. Rev.* 1999, 683, 190.
- [6] Potyrailo, R.A; Sivavec, T.M; Xiao, C; Cecconie T.J; Hassib, L; Leach, A.M; Engel, D.B.
10 U.S. Patent 2007092973, April 26, 2007.
- [7] Denney, J.W; Long, R.L. U.S. Patent 4,383,043, July 13, 1981.
- [8] Fonseca, A; Raimundo, I.M; *Anal. Chim. Acta.* 2007, 596, 66
- [9] Downard, A.J; Hart J.B; Powell, H.K.J; Xu, S. *Anal. Chim. Acta.* 1992, 269, 41.
- [10] Thommen, C; Fromageat, A; Obergfell, P; Widmer, H.M. *Anal Chim Acta.* 1990, 234,
15 161.
- [11] Migdalski, J; Blaz, T; Lewenstam, A; *Anal. Chim. Acta.* 1996, 322, 141.
- [12] Pankaj, K; Yoon-Bo, S; *J. Electroanal. Chem.* 2011, 661, 25
- [13] Wakida, S; Tatsu, Y; U.S. Patent 6,540,893B1, April 1, 2003.
- [14] Hiti, J; Young, C.C. U.S. Pat. 5,350,518. March 18, 1991.
- [15] Culshaw, B; Gardiner P.T; Graham, N.B; Michie, W.C; Moran, C.R. U.S. Pat 5,744,794,
20 February 13, 1993.
- [16] Mahmoud, M.E; *Talanta.* 1997, 45, 309.

REIVINDICACIONES

1.- DISPOSITIVO ANALÍTICO SENSOR, aplicable para la detección electroquímica de Mg^{2+} , que basado en la formación de un film tridimensional polimérico sobre una superficie conductora, está **caracterizado** por el atrapamiento de un indicador selectivo para Mg^{2+} con un polímero catiónico y un agente de entrecruzamiento.

2.- DISPOSITIVO ANALÍTICO SENSOR, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque el indicador atrapado es Negro de eriocromo T.

3.- DISPOSITIVO ANALÍTICO SENSOR, según las reivindicaciones 1-2, **caracterizado** porque la red tridimensional polimérica contiene un polímero catiónico con grupos funcionales tipo amino, tipo polietilenimina, que reaccionan químicamente con un agente de entrecruzamiento.

4.- DISPOSITIVO ANALÍTICO SENSOR, según las reivindicaciones 1-3, **caracterizado** porque la red tridimensional polimérica que se forma por la reacción química de un agente de entrecruzamiento tipo Polietilene glicol 400 diglicidil éter o glutaraldehido, donde el agente de entrecruzamiento está presente en una concentración de 2 al 50% en peso, sobre el peso del polímero.

5.- DISPOSITIVO ANALÍTICO SENSOR, según las reivindicaciones 1-4, **caracterizado** porque el film tridimensional polimérico puede depositarse en cualquier superficie transductora tipo oro, grafito, grafeno, carbón vitrificado o sobre fibras conductoras.

6.- METODO DE CONSTRUCCION DE UN DISPOSITIVO SENSOR para la detección electroquímica de Mg^{2+} , tal como el descrito en cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde el indicador al formar complejo con el Mg^{2+} cambia su potencial de oxidación y que se caracteriza por:

- En superficies planas: la adición de una mezcla de un polímero catiónico conteniendo grupo amino tipo polietilenimina y el indicador Negro de Eriochromo T y su estabilización mediante la adición de un agente de entrecruzamiento tipo Polietilene glicol 400 diglicidil éter o glutaraldehido que estabiliza la red polimérica.

- En fibras o hilos: la inmersión de la fibra o hilo en una mezcla de un polímero catiónico conteniendo grupo amino tipo polietilenimina y el indicador Negro de Eriochromo T y su estabilización mediante la adición de un agente de entrecruzamiento tipo Polietilene glicol 400 diglicidil éter o glutaraldehído.

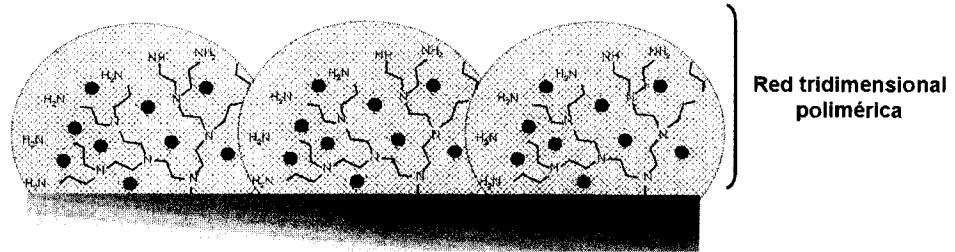
5

7.- MÉTODO, según la reivindicación 6, **caracterizado** porque la modificación de la superficie del sensor se puede repetir n veces depositando n films poliméricos con el fin de aumentar la cantidad de indicador atrapado así como controlar las características difusionales del sensor.

10

8.- MÉTODO, según las reivindicaciones 6 y 7, **caracterizado** porque la detección del analito se realiza directamente incubando el sensor en la muestra conteniendo el Mg^{2+} , lo que provoca un cambio en la señal amperométrica proporcional a la concentración de Mg^{2+} .

15



Leyenda

Superficie sensora	Indicador	Polimero positivo	Agente de entrecruzamiento

FIG.1

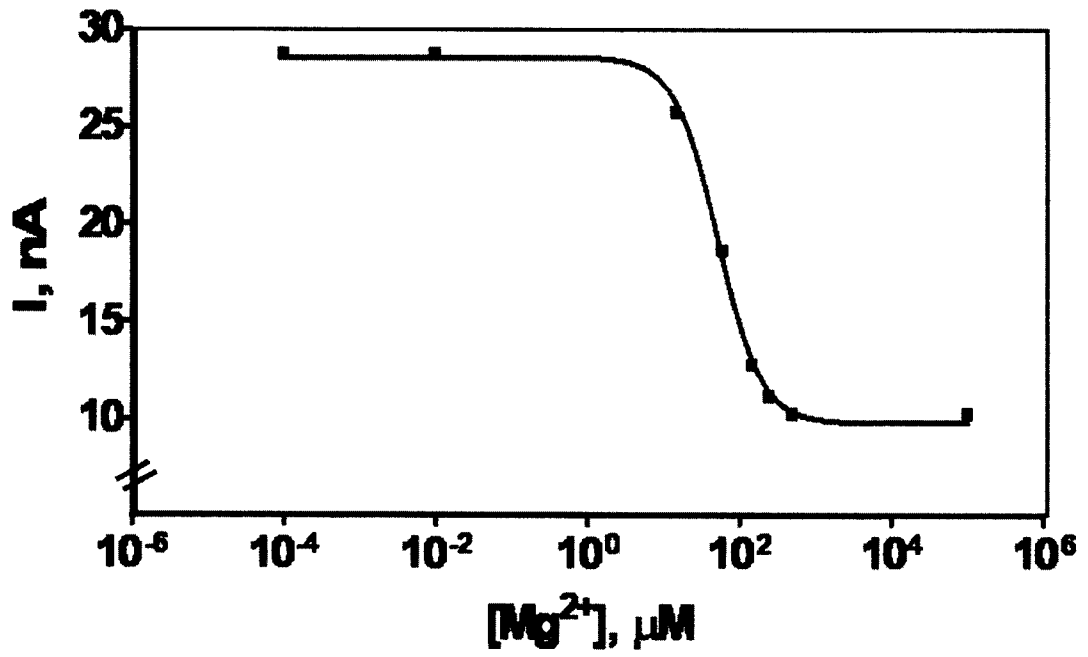


FIG.2

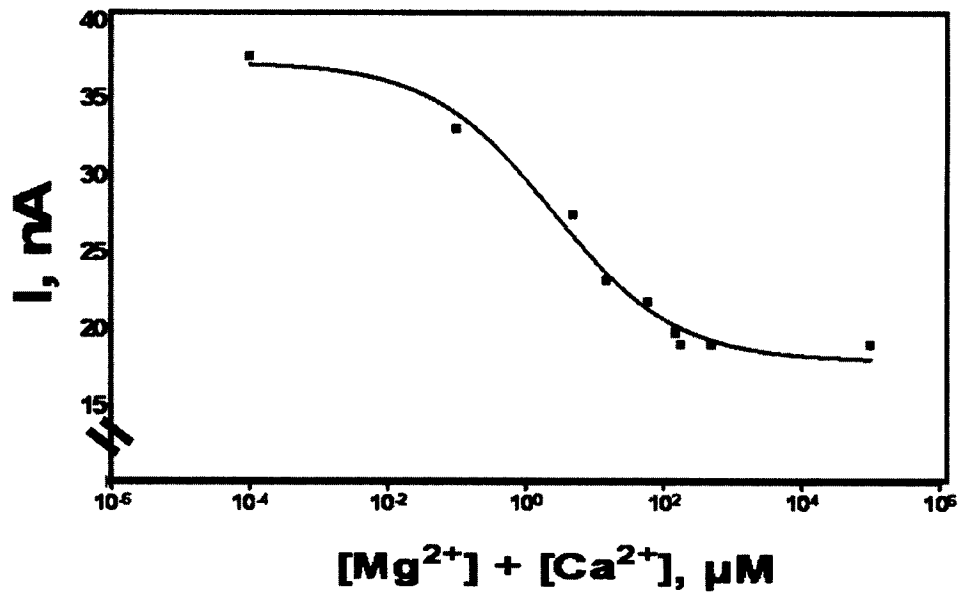


FIG.3a

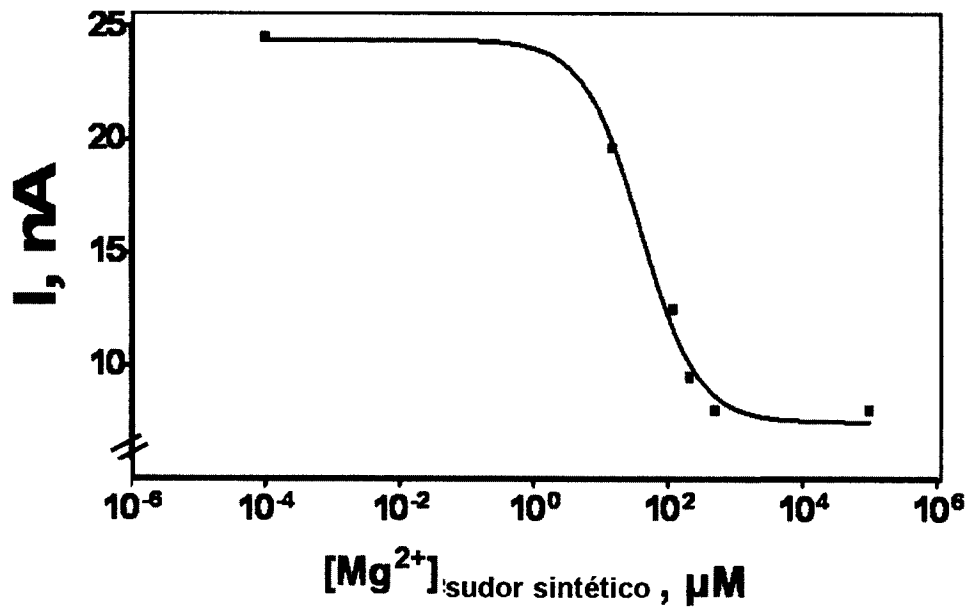


FIG.3b

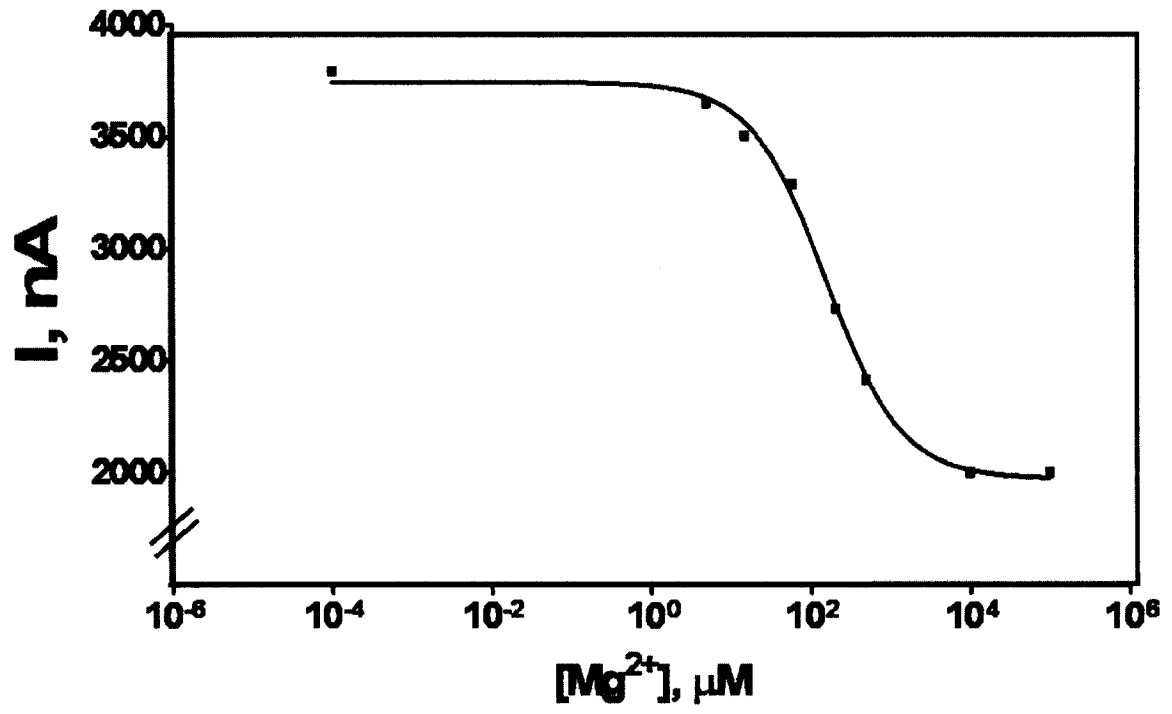


FIG.4



- ②① N.º solicitud: 201300950
②② Fecha de presentación de la solicitud: 10.10.2013
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	MOSAYEBZADEH, Zahra; ANSARI, Reza; ARVAND, Majid. "Preparation of a solid-state ion-selective electrode based on polypyrrole conducting polymer for magnesium ion". Journal of the Iranian Chemical Society, 04 Agosto 2013 [online], vol. 11, no 2, p. 447-456; Introduction.	1
X	ZAMANI, Hassan Ali; NEZHADALI, Azizollah; SAGHRAVANI, Malyheh. Magnesium-PVC membrane sensor based on 4, 5-bis (benzoylthio)-1, 3-dithiole-2-thione. Analytical Letters, 2008, vol. 41, no 14, p. 2727-2742; apartado Electrode Preparation.	1
A	EP 0992283 A2 (POLYMER GROUP INC) 12.04.2000, párrafos [0017]-[0027].	1-8
A	HARVEY JR, A. E.; KOMARMY, J. M.; WYATT, G. M. Colorimetric determination of magnesium with Eriochrome Black T. Analytical Chemistry, 1953, vol. 25, no 3, p. 498-500; todo el documento.	1-8

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
06.10.2014

Examinador
V. Balmaseda Valencia

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

G01N27/26 (2006.01)

G01N21/25 (2006.01)

H01M4/00 (2006.01)

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

H01M, 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, XPESP, NPL, HCPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 06.10.2014

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 2-8	SI
	Reivindicaciones 1	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 2-8	SI
	Reivindicaciones 1	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	MOSAYEBZADEH, Zahra; ANSARI, Reza; ARVAND, Majid. "Preparation of a solid-state ion-selective electrode based on polypyrrole conducting polymer for magnesium ion". Journal of the Iranian Chemical Society, 04 Agosto 2013 [online], vol. 11, no 2, p. 447-456; Introduction.	
D02	ZAMANI, Hassan Ali; NEZHADALI, Azizollah; SAGHRAVANI, Malyheh. Magnesium-PVC membrane sensor based on 4, 5-bis (benzoylthio)-1, 3-dithiole-2-thione. Analytical Letters, 2008, vol. 41, no 14, p. 2727-2742; apartado Electrode Preparation.	

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

El objeto de la presente invención es un dispositivo analítico sensor para la detección electroquímica de Mg²⁺. Así como un método de construcción del mismo.

El documento D01 describe la preparación de un electrodo selectivo de ion magnesio basado en el polímero conductor polipirrol. La fabricación de este nuevo electrodo sensor de Mg²⁺ comprende la polimerización electroquímica del monómero pirrol en presencia de un dopante, amarillo de titanio, sobre un electrodo de grafito. Durante el proceso de electropolimerización el amarillo de titanio se incorpora en la estructura policatiónica del polipirrol actuando simultáneamente de dopante del polipirrol y de indicador del magnesio (Introduction).

El documento D02 divulga un dispositivo sensor de magnesio basado en el uso de una membrana polimérica selectiva de Mg²⁺. En concreto, se utiliza 4,5-bis(benzoiltio)-1,3-ditiole-2-tiona (Bz2dmit) como material activo en una matriz de PVC.

El procedimiento general de obtención del electrodo comprende la mezcla de PVC con un agente plastificante, un aditivo, el material activo (Bz2dmit) en THF, la evaporación del disolvente y la inmersión de un tubo de Pyrex en la mezcla resultante (Electrode preparation).

Así por tanto, las características técnicas de la reivindicación 1 son conocidas de los documentos D01-D02.

En consecuencia, se considera que el objeto de dicha reivindicación carece de novedad y actividad inventiva conforme establecen los Artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.

Ninguno de los documentos citados ni cualquier combinación relevante de los mismos divulga un dispositivo sensor de Mg²⁺ que comprenda el atrapamiento del indicador Negro de eriocromo T en un polímero catiónico con grupos funcionales tipo amino.

No siendo así necesaria la adición de ningún reactivo para la detección cuantitativa y selectiva de Mg²⁺.

Además, dicho dispositivo sensor no sería obvio para un experto en la materia a partir de los documentos citados.

En consecuencia, se considera que el objeto de las reivindicaciones 2-8 es nuevo e implica actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1 de la L.P).