

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 577 412**

21 Número de solicitud: 201530033

51 Int. Cl.:

B08B 17/06 (2006.01)

B29C 53/00 (2006.01)

B05D 3/12 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

14.01.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

14.07.2016

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA (100.0%)
Vicerrectorado de Investigación, Transferencia e
Innovación. Avda. de Elvas, s/n
06006 Badajoz ES**

72 Inventor/es:

**VADILLO RODRÍGUEZ, Virginia;
MORALES BRUQUE, José y
PERERA COSTA, David**

54 Título: **Procedimiento para la creación de nano/micro estructuras ordenadas complejas en superficies de materiales poliméricos**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a un procedimiento para la creación de nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas en materiales poliméricos que comprende: a) elaborar mediante litografía blanda una primera réplica polimérica a partir de un molde comercial con nano/micro estructuras superficiales ordenadas sencillas, b) someter la réplica polimérica creada en a) a una deformación bajo condiciones controladas de fuerza, temperatura y velocidad de deformación, hasta alcanzar la deformación deseada, y c) elaborar in situ una segunda réplica polimérica de la réplica bajo deformación de b), o c') someter la réplica bajo deformación de b) a una temperatura que permita mantener la deformación permanentemente tras recuperar la temperatura ambiente inicial. Asimismo, se contemplan las nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas obtenidas por dicho procedimiento y su aplicación en la inhibición de la adhesión bacteriana en superficies poliméricas.

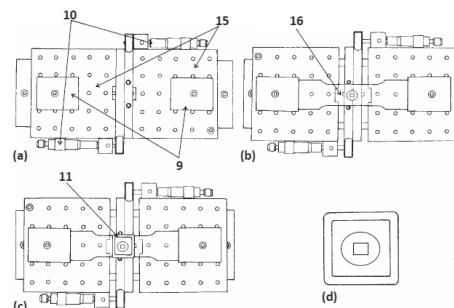


FIG. 8

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la creación de nano/micro estructuras ordenadas complejas en superficies de materiales poliméricos

5 **Objeto de la invención**

La presente invención se refiere al campo técnico de la Física Aplicada, y en particular se refiere a un procedimiento para la creación de nano/micro estructuras ordenadas con formas y dimensiones complejas en superficies de materiales poliméricos. Asimismo se contempla el empleo de dichas estructuras en la inhibición de la adhesión bacteriana en superficies poliméricas.

Antecedentes de la invención

Los patrones o moldes utilizados en "Soft Litography" o Litografía Blanda requieren una alta especialización para su fabricación, utilizándose para ello técnicas tales como la Fotolitografía y la Litografía por haz de electrones, fuente de iones o rayos X. Típicamente, estas técnicas dan lugar a geometrías superficiales caracterizadas por formas planas sencillas, tales como pilares y/o huecos de sección cuadrada, circular o triangular y canales paralelos.

La litografía o fotolitografía es un proceso que consiste en transferir copias de un patrón a la superficie de un material (típicamente silicio). En términos generales, el proceso consiste en cubrir la superficie del material con una capa fotosensible denominada fotorresina. Seguidamente, se expone esta capa a una fuente de luz, interponiendo previamente entre ellas una máscara patrón o fotomáscara. Las zonas de la fotorresina expuestas a la luz experimentan un cambio en sus propiedades químicas, lo que permite eliminarlas posteriormente con un revelador químico. A continuación, se ataca químicamente el material con un agente que no afecta a la fotorresina remanente (situada en las zonas protegidas por las regiones opacas a la luz de la fotomáscara), quedando el patrón de la fotomáscara grabado en el material. Por último, se eliminan los restos de la fotorresina remanente. Actualmente, diferentes técnicas orientadas a dirigir la luz de forma controlada a las zonas deseadas pueden utilizarse con el fin de prescindir de las máscaras patrón. En términos de

resolución, los procesos de fotolitografía están condicionados por la naturaleza ondulatoria de la luz, particularmente, por la difracción, que aumenta cuanto mayor es la longitud de onda de la fuente. Es por ello que preferiblemente se trabaja con luz ultravioleta extrema o rayos X, o incluso con haz de electrones o iones, para los que la difracción es despreciable.

De igual modo, la naturaleza de la fotorresina utilizada (espesor y propiedades físico-químicas) condiciona la resolución conseguida. Aún así, las mayores limitaciones asociadas a los procesos fotolitográficos vienen ligadas a aspectos tales como el alto coste de producción, el bajo rendimiento y la necesidad de acceder a instalaciones punteras cuyo acceso suele estar restringido. Además su aplicación requiere sustratos planos que resistan ataques corrosivos, radiación de alta energía y elevadas temperaturas, impidiendo así el uso de materiales relativamente frágiles de interés práctico (como por ejemplo, materiales orgánicos). Por último, mencionar que, puesto que estas técnicas generan estructuras que son el resultado de proyecciones, dichas estructuras son típicamente formas geométricas planas y sencillas (tal y como se indicó en el párrafo anterior) (Marc J. Madou (2002) *Fundamentals of Microfabrication: The Science of Miniaturization* Second Edition, CRC Press LLC, Florida; Gates et al., *New approaches to Nanofabrication: Molding, Printing, and Other Techniques* (2005), Chemical Reviews, 105, 1171-1196; Harriott, *Limits of Lithography* Proceedings of the IEEE (2001), 89, 366-374). Conforme aumenta la complejidad de las geometrías, el coste se hace excesivamente elevado o incluso es técnicamente imposible de fabricar.

Los autores de la presente invención proporcionan una solución a estos problemas mediante un nuevo procedimiento que, a bajo coste y de manera sistemática, permite generar nano/micro-estructuras superficiales ordenadas con formas complejas, distintas a las que usualmente se comercializan.

Por otra parte, existen estudios que evalúan la influencia de nano/micro estructuras en la adhesión de bacterias (empleando moldes comerciales o moldes fabricados mediante "soft lithography") (Xu et al. *Submicron textured biomaterial surface reduces staphylococcal bacterial adhesión and biofilm function* Acta Biotamaterialia (2012) 72-81; Houchbaum & Aizenberg *Bacteria pattern spontaneously on periodic nanostructure arrays* American Chemical Society. Nano Lett. 2010, 3717-3721; Hou et al *Microtopographic patterns affect Escherichis coli biofilm formation on poly(dimethylsiloxane) surfaces*. American Chemical Society. Langmuir 2011, 27, 2686-2691). Igualmente, en el documento Perera-Costa et al

"Study the influence of surfal topography on bacterial adhesion using spatially organized microtopographic surface patterns". American Chemical Society. Langmuir 2014, 30, 4633-

4641, se estudia la influencia de la topografía de micro/nanoestructuras en la adhesión bacteriana, empleando para ello las réplicas obtenidas directamente de moldes comerciales.

5 Los autores de la presente invención han demostrado que las topografías complejas obtenidas mediante deformación con el método planteado en la presente invención favorecen la inhibición de la adhesión bacteriana frente a las topografías sencillas (sin deformar) empleadas hasta el momento en el estado de la técnica. Así, la presente invención presenta importantes aplicaciones en el campo de la Medicina, Fotónica,
10 Microfluídica y en la Industria Farmacéutica y Alimentaria.

Descripción de la invención

La presente invención soluciona los problemas anteriormente descritos mediante un nuevo procedimiento basado en la Litografía blanda que permite la creación, a bajo coste y de
15 forma sistemática, de nuevas superficies con topografías ordenadas compuestas por nano/micro-estructuras con formas y dimensiones complejas, distintas a las que se comercializan en la actualidad.

El proceso de fabricación de este nuevo tipo de muestras se fundamenta en la deformación de esa primera réplica polimérica previamente obtenida del molde comercial. Una vez
20 alcanzada la deformación deseada, y mientras ésta tiene lugar, el método desarrollado requiere la elaboración *in situ* de una segunda réplica, también polimérica, de la réplica bajo deformación, o, alternativamente, el sometimiento de la réplica bajo deformación a tal temperatura que la deformación permanezca una vez recuperada la temperatura ambiente inicial. Variando la temperatura, la magnitud de la deformación, la dirección del mismo,
25 aplicando estiramientos en una o dos dimensiones, e incluso estiramientos no lineales, pueden llegar a crearse geometrías complejas ordenadas como son trapecios piramidales, conos truncados, así como diversos tipos de prismas. Es importante destacar que, además de estiramientos axiales (tracción), las muestras pueden someterse a torsión, flexión, cizalladora y compresión. Esto permite controlar tanto la geometría de las nano/micro
30 estructuras como su ordenación en el plano y secciones transversales a partir de una única muestra patrón. La réplica deformada (esto es, la réplica de la réplica sometida a

deformación, o, alternativamente, la réplica sometida a deformación después de ser sometida un tratamiento térmico), conteniendo nano/micro estructuras superficiales complejas, puede además ser utilizada como molde o patrón para la generación de un conjunto de muestras idénticas mediante el procedimiento de "Soft Litography".

- 5 Así, en un aspecto principal de la invención se contempla un procedimiento para la creación de nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas en materiales poliméricos que comprende las siguientes etapas:

- 10 a) Elaborar mediante litografía blanda una primera réplica polimérica a partir de un molde comercial con nano/micro estructuras superficiales ordenadas sencillas,
- b) Someter la réplica polimérica creada en la etapa a) a una deformación bajo condiciones controladas de fuerza, temperatura y velocidad de deformación, hasta alcanzar la deformación deseada, y
- 15 c) Elaborar in situ una segunda réplica polimérica de la réplica bajo deformación de la etapa b), o
- c') Someter la réplica bajo deformación de la etapa b) a una temperatura que permita mantener la deformación de forma permanente tras recuperar la temperatura ambiente inicial.

- 20 En el contexto de la presente invención, el término "réplica" se refiere al negativo de una muestra patrón o molde polimérico que sirve para copiar o positivar la topografía original de dicha muestra o molde.

Por "nano/micro estructuras superficiales ordenadas sencillas" se entiende aquellas estructuras planas de geometrías sencillas (p.ej. cuadrados, círculos, etc) con dimensiones nano o micrométricas que sobresalen de la superficie del material (pilares) o que se encuentran inmersas en él (huecos), y cuya disposición sobre la superficie es ordenada, formando, por ejemplo, una red bidimensional cuadrada, rectangular, hexagonal, etc.

Por "nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas" se entiende aquellas estructuras planas o curvas de geometrías complejas (por ejemplo trapecios piramidales, cilindros torsionados, prismas oblicuos, etc) con dimensiones nano o micrométricas que sobresalen de la superficie del material (pilares) o que se encuentran inmersas en él

(huecos), y cuya disposición sobre la superficie es ordenada, formando por ejemplo, una red bidimensional cuadrada, rectangular, hexagonal, etc.

En relación con el molde comercial de partida empleado en a), diversas compañías en el mundo expertas en Litografía proporcionan moldes o patrones fabricados de silicio, materiales dieléctricos (p. ej. dióxido de silicio o nitruro de silicio), metales (p. ej. níquel) o materiales poliméricos con módulos de Young elevados que contienen nano/micro estructuras superficiales ordenadas con formas simples tales como pilares y/o huecos de sección cuadrada, circular o triangular y canales paralelos. Estos moldes pueden adquirirse a través de dichas compañías o ser fabricados en laboratorios que cuenten con técnicas avanzadas de Fotolitografía.

Tanto las condiciones de temperatura, como las de la relación fuerza-deformación del paso b), dependen de las características del polímero utilizado y de las características de la estructura que se desee conseguir.

En una realización particular del procedimiento de la invención, el molde comercial empleado se integra en una probeta de ensayo de tracción, aunque podría emplearse cualquier tipo de probeta (rectangular, cilíndrica, etc). La elección de una probeta de ensayo de tracción garantiza una distribución uniforme de las líneas de fuerza en la parte central de la misma. No obstante, se podría conseguir lo mismo (es decir, una distribución uniforme de las líneas de fuerza) utilizando una muestra cuadrada o rectangular lo suficientemente grande para contener en su parte central el grabado. La distribución uniforme de líneas de fuerza permite asegurar que todas las estructuras presentes en el grabado, así como el inter-espaciado entre ellas, se deformen de igual manera en toda la muestra. Sin embargo, en la presente invención, se contempla también la posibilidad de que la forma e inter-espaciado de las estructuras varíe de una manera determinada a lo largo/ancho de una misma muestra, en cuyo caso sería necesario evitar la distribución uniforme de líneas de fuerza y por tanto, se optaría por un tipo de probeta distinto al de ensayo de tracción. En la **figura 12**, se puede observar una muestra sometida a un mismo estiramiento lineal en el que las líneas de fuerzas están y no están distribuidas uniformemente (las flechas rojas indican la dirección de estiramiento).

La deformación llevada a cabo en la etapa b) puede ser por estiramientos axiales (en 1, 2 ó más direcciones), o por torsión, flexión, cizalladura, compresión o una combinación de tales esfuerzos mecánicos.

Respecto a los polímeros que pueden utilizarse en esta invención, pueden ser todos aquellos clasificados como termoplásticos, elastómeros y algunos termoestables. Los polímeros termoplásticos se caracterizan por ser flexibles o deformables en un cierto rango de temperaturas, derretirse a temperaturas relativamente altas y endurecerse en un estado de transición vítrea cuando se enfrían lo suficiente. Además, después de calentarse y moldearse pueden recalentarse y formar otros objetos sin degradarse. Los polímeros elastómeros se caracterizan por su comportamiento elástico, pudiendo ser deformados muy fácilmente a temperatura ambiente. Los polímeros termoestables, por ser polímeros infusibles e insolubles. Como ejemplo de polímeros termoplásticos se incluyen polietileno (PE), polipropileno (PP), polibutadieno, poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC) fluoruro de polivinilo (PVF), politetrafluoretileno (PTFE), poliacrilonitrilo (PAN), alcohol polivinílico (PVA) y polimetacrilato de metilo (PMMA). Como ejemplo de polímeros elastómeros se incluyen el caucho natural, poliisopreno, polibutadieno, diversos tipos de cauchos artificiales, silicona y algunos elastómeros de poliuretanos. Finalmente, como ejemplo de polímeros termoestables se incluyen aquellos que se encuentran en estado líquido o son fácilmente maleables previo sometimiento a un proceso de curado, tales como el polidimetilsiloxano (PDMS), poliimidas, diversas resinas, algunos poliuretanos y caucho vulcanizado. También pueden utilizarse combinaciones de los tipos de polímeros mencionados.

En una realización particular de la invención, el procedimiento comprende las etapas a), b) y c). En ese caso, tras la etapa c) se puede llevar a cabo una etapa adicional d) en la que se genera, mediante litografía blanda, una copia negativa de la segunda réplica, obtenida en la etapa c), partiendo de dicha réplica como molde. Esta etapa d) se puede repetir tantas veces como muestras idénticas se quieran obtener.

En esta etapa (d), se obtienen copias idénticas del negativo de la muestra patrón estirada. Para obtener copias del positivo se partiría de las copias obtenidas en d), copiándolas tantas veces como fuera necesario (ver **figura 13 A**).

En este caso, la elección de los polímeros ha de ser tal que el utilizado en la etapa (a) sea lo suficientemente flexible para llevar a cabo la etapa (b) y mantener la estabilidad química y

mecánica necesaria para las condiciones experimentales empleadas en la etapa (c). De forma similar, la etapa (d) requiere que la réplica elaborada en la etapa (c) mantenga estabilidad química y mecánica bajo las condiciones experimentales empleadas en esta última etapa. Por ello, en esta realización del procedimiento de la invención, el polímero empleado es preferiblemente un polímero termoestable.

En otra realización particular, el procedimiento de la invención comprende las etapas a), b) y c'). La etapa c') se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre la temperatura de transición vítrea y la temperatura de fusión que caractericen al polímero empleado. En este caso, tras la etapa c') se puede llevar a cabo una etapa adicional d') que comprende generar mediante litografía blanda una copia negativa de la réplica obtenida en la etapa c') partiendo de dicha réplica como molde. La etapa d') se repite tantas veces como copias negativas se quieran obtener. En esta realización del procedimiento de la invención, el polímero empleado es preferiblemente un polímero termoplástico.

En este proceso (d') se obtienen copias idénticas de la muestra patrón estirada. En caso de querer obtener lo mismo que en (d), se partiría de las copias obtenidas en (d'), copiándolas tantas veces como fuera necesario (ver **figura 13 B**).

En realizaciones preferidas, previamente al uso de los moldes comerciales y/o poliméricos (etapas a, b y c) todas las superficies que entren en contacto con el polímero de interés en estado líquido son tratadas con agentes antiadherentes o liberadores que faciliten la extracción/separación posterior de las muestras curadas.

En otro aspecto principal de la invención se contemplan las nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas en material polimérico obtenidas por el procedimiento de la invención.

Por otra parte, los autores de la presente invención han demostrado que las superficies generadas por deformación mediante el procedimiento de la presente invención inhiben en mayor medida la adhesión bacteriana, en comparación con las mismas superficies sin deformar.

Así, en otro aspecto principal de la invención se contempla el empleo de las nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas en material polimérico de la invención en la inhibición de la adhesión bacteriana a superficies poliméricas.

Este aspecto es de gran interés, por ejemplo, en el campo de la medicina y de la ingeniería biomédica, para la fabricación de catéteres, implantes o material quirúrgico resistentes a la colonización de bacterias, lo que permite disminuir en gran medida la actual tasa de infecciones intra-hospitalarias.

- 5 También cobran relevancia en el campo de la fotónica, de la nano/microfluídica, y en el desarrollo de sensores chips.

Igualmente, en el terreno de la industria alimentaria el uso de este tipo de superficies permite la prevención de la contaminación por bacterias patógenas de los equipos usados en el procesamiento y empaquetado de alimentos. Esto permite extender la vida útil de los
10 alimentos y evitar la transmisión de enfermedades infecciosas.

Además, en la industria farmacéutica, tienen aplicación en el desarrollo de biosensores y dispositivos bioeléctricos, sistemas que requieren controlar con exactitud la ubicación espacial de células o moléculas. Asimismo, son de gran importancia para el estudio de la diferenciación de células madres, la ingeniería de tejidos, etc.

15

Descripción de las figuras

Con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, y para complementar esta descripción, se acompaña como parte integrante de la misma las
20 siguientes figuras, cuyo carácter es ilustrativo y no limitativo:

Figura 1: Ejemplo ilustrativo de una probeta de ensayo de tracción uniaxial (a) y biaxial (b) en cuya zona central (marcada en gris) se fija el molde comercial a replicar.

Figura 2: Sarcófago de tres piezas independientes: **Base** (1) que contiene un grabado con forma cuadrada (2), un grabado con forma de probeta de ensayo de tracción uniaxial (3),
25 que a su vez contiene en su zona central la réplica de un molde comercial (4); **Cubo** (5) y **Tapa** (6).

Figura 3: Sistema diseñado para someter una probeta de tracción polimérica a un estiramiento uniaxial (por simplicidad la muestra ha sido dibujada con forma rectangular). Este sistema consiste en dos bloques metálicos (7) sobre los que se fija la muestra
30 polimérica (8), mediante unas placas de sujeción (9), que a su vez están montados sobre un

tornillo micrométrico (10) que permite, al girarse dicho tornillo, separar los dos bloques simultáneamente. El ejemplo ilustra el sistema antes (a) y después (b) del estiramiento. Las flechas en a) indican el sentido de la rosca (r) (sentido contrario a o de las agujas del reloj) y las flechas en b) indican la dirección de estiramiento.

- 5 **Figura 4:** Ejemplo ilustrativo de la fijación de las paredes de contención (11) en una muestra polimérica (8) sometida a estiramiento.

Figura 5. Molde comercial de silicio (HS-20MG) montado sobre un disco metálico (a) e ilustración de la disposición y dimensiones de las distintas regiones geométricas (b) que presenta (h:altura; dis: distancia entre centros).

- 10 **Figura 6.** Sarcófago de metacrilato diseñado para la obtención de las muestras con forma de probeta de ensayo de tracción uniaxial que contenga en su zona central una réplica del molde comercial, que está formado por tres piezas independientes fabricadas en metacrilato: **Base** (1) que contiene un grabado con forma cuadrada (2), un grabado con forma de probeta de ensayo de tracción (3), que a su vez contiene en su zona central la
15 réplica de un molde comercial, donde se fija el molde de silicio (12); **Cubo** (5) y **Tapa** (6), que incluye dos orificios para la entrada (13) y salida (14) de PDMS durante el proceso de llenado del sarcófago.

Figura 7. Probeta de ensayo de tracción (a) y de las paredes de contención (b) en PDMS tras ser extraídas del sarcófago de metacrilato.

- 20 **Figura 8.** Dispositivo que permite el estiramiento uniaxial de una probeta de tracción (a), formado por dos plataformas de traslación uniaxial (15), incorporando cada una sendas placa de fijación (9), con sendos tornillos micrométricos (10) en su lateral que permiten que las plataformas puedan desplazarse de forma controlada en sentidos opuestos. Probeta de tracción bajo estiramiento antes (b) y después (c) de colocar sobre ella las paredes de
25 contención de PDMS (11). (d) Molde en PDMS obtenido tras el proceso de estiramiento.

- Figura 9.** Imágenes ópticas ($126 \times 96 \mu\text{m}$) de las diferentes topografías presentes en el molde comercial de silicio (HS-20MG) así como de sus respectivas réplicas en PDMS antes (Réplicas en PDMS) y después (Réplicas estirada en PDMS) del proceso de estiramiento. Las columnas (a) y (b) muestran regiones con pilares y huecos de sección
30 cuadrada/rectangular, (c) y (d) con pilares y huecos de sección circular/elíptica y (e) con

canales.

Figura 10. Imágenes topográficas de AFM ($20 \times 20 \mu\text{m}$) de las diferentes geometrías topográficas presentes en el molde comercial de silicio (HS-20MG) así como de sus respectivas réplicas en PDMS antes (Réplicas en PDMS) y después (Réplicas estirada en PDMS) del proceso de estiramiento. Las columnas (a) y (b) muestran regiones con pilares y huecos de sección cuadrada/rectangular, (c) y (d) con pilares y huecos de sección circular/elíptica y (e) con canales.

Figura 11. Topografía (imágenes AFM-3D) de cada una de las regiones geométricas que presentan los diferentes tipos de réplicas fabricadas en PDMS. Las flechas indican la dirección de estiramiento para el caso de las muestras estiradas. **a)** Topografía A; **b)** Topografía B; **c)** Topografía C; **d)** Topografía D y **e)** Topografía E. (V) vertical; (H) horizontal

Figura 12. Esquema de una muestra sometida a un mismo estiramiento lineal donde se puede observar la muestra inicial (a), la muestra sometida a un estiramiento en el que las líneas de fuerzas están distribuidas uniformemente (b) y la muestra sometida a un estiramiento en el que las líneas de fuerza no están distribuidas uniformemente (c) (las flechas indican la dirección de estiramiento).

Figura 13. A) Gráfico del proceso formado por las etapas a, b, c y d. **B)** Gráfico del proceso formado por las etapas a, b, c' y d' (R: réplica; PC: patrón comercial; RE: réplica estirada).

Figura 14. Densidad total de bacterias adheridas de la cepa *Staphylococcus epidermidis* en cada región geométrica de las réplicas en PDMS del molde comercial HS-20MG antes (A) y después (B) de ser sometidas al proceso de estiramiento. Los símbolos al pie de la Figura representan a las regiones que contienen pilares ($\square \uparrow; \circ \uparrow$) y huecos ($\square \downarrow; \circ \downarrow$) de sección cuadrada/rectangular y circular/elípticas y canales ($\parallel = \uparrow\downarrow$). La superficie control es una muestra en PDMS lisa (carente de topografía).

Realización preferente de la invención

En una realización preferente del método de la invención, la etapa (a) comprende la elaboración de una probeta de ensayo de tracción uniaxial o biaxial haciendo uso de un molde o patrón comercial cuya réplica queda situada en la zona central de la probeta (**Figura 1a y 1b**). Este tipo de probetas, con dimensiones normalizadas acorde a una norma

específica como ASTM, IRAM, SAE o DIM, se eligen para garantizar una distribución uniforme en la parte central (*"gauge zone"*) de las líneas de fuerza que aparecen durante el estiramiento llevado a cabo en la etapa (b), permitiendo así que las deformaciones provocadas a lo largo de todo el patrón topográfico sean uniformes.

- 5 Como ejemplo, para la fabricación de una probeta de ensayo de tracción uniaxial, se propone un sarcófago de tres piezas independientes (**Figura 2**). La primera pieza consiste en una base (1) sobre la que se graba la forma de una probeta de ensayo de tracción (3) con un espesor determinado. En el centro de este grabado se incluye un grabado complementario donde el molde o patrón comercial (4) elegido queda fijado con la
- 10 orientación deseada. Esta base incluye además un grabado con forma cuadrada (2) que será utilizado para la fabricación de paredes de contención y cuyo cometido se detalla más adelante. La fabricación de tales paredes de contención requiere de una segunda pieza de metacrilato con forma de cubo (5) que se acopla a la base cuadrada mencionada a través de dos tornillos, creándose así entre ambas piezas un interespaciado de cierto espesor. Por
- 15 último, se incluye una tercera pieza (6) cuya función es la de sellar a modo de sarcófago el grabado de la probeta de ensayo de tracción realizado sobre la base del dispositivo. El sellado se lleva a cabo mediante tornillos distribuidos de tal forma que garantizan que ambas partes quedan fielmente unidas. En esta última pieza de metacrilato se han incluido además dos orificios que sirven de entrada y salida para el polímero empleado. Una vez
- 20 llenado el sarcófago, este se introduce en una estufa precalentada para proceder al curado del polímero. Transcurrido el tiempo de curado y un periodo de enfriamiento, se procede a abrir el sarcófago para retirar con sumo cuidado la probeta de tracción. De igual modo, las paredes de contención se retiran de su propio molde. Para aquellos polímeros cuya curación tenga lugar mediante irradiación o reacciones químicas, el procedimiento sería
- 25 similar o incluso podría prescindirse del sellado del sarcófago, cuyo llenado podría llevarse a cabo simplemente vertiendo el polímero de interés en estado líquido sobre el grabado.

La etapa (b) requiere someter la réplica creada en la etapa (a) a un estiramiento uniaxial o biaxial mediante un dispositivo de tracción bajo condiciones controladas de fuerza, temperatura y velocidad de estiramiento. Sistemas comerciales diseñados para el estudio

30 de las propiedades mecánicas de materiales pueden utilizarse para este fin, tales como las conocidas máquinas universales para ensayos de tracción. Alternativamente, se pueden construir en el laboratorio sistemas sencillos que permitan llevar a cabo este tipo de

experiencias. Por ejemplo, un sistema simple destinado a someter una muestra a un estiramiento uniaxial puede consistir en dos bloques metálicos (7) sobre los que se fije la muestra y que a su vez estén montados sobre un tornillo micrométrico (10) que permita, al girarse dicho tornillo, separar los bloques simultáneamente (**Figura 3**). De forma similar, estiramientos biaxiales pueden llevarse a cabo utilizando dos pares de bloques ortogonales que se muevan simultánea o independientemente de manera controlada. Otro ejemplo consiste en acoplar y enfrentar plataformas de traslación uniaxial, típicamente utilizadas en montajes ópticos como plataformas de posicionamiento lineal, sobre las que se ensamblen placas de fijación para inmovilizar la muestra y tornillos micrométricos que permitan el desplazamiento de las plataformas de manera controlada. Para mayor precisión, pueden añadirse a este tipo de sistemas motores comerciales de posicionamiento conectados a un PC que incluya un software destinado a controlar el movimiento y/o la fuerza aplicada en cada experiencia. Es importante destacar que, además de estiramientos axiales (tracción), pueden diseñarse dispositivos similares para someter las muestras a torsión, flexión, cizalladora y compresión. Estos permite controlar tanto la geometría de las nano/micro estructuras, su ordenación en el plano así como sus secciones transversales a partir de una única muestra patrón (la réplica creada en la etapa a).

La etapa (c) consiste en la elaboración de una segunda réplica, también polimérica, de la réplica bajo estiramiento de la etapa (b). Para ello, las paredes de contención (11) previamente fabricadas se fijan sobre la muestra estirada de tal manera que el patrón a replicar quede en el centro del recinto que delimiten (**Figura 4**). Su fijación puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante el uso de adhesivos comerciales que resistan las condiciones experimentales bajo las que se desarrolle esta etapa. Una vez fijadas, se procede al llenado del recinto que delimitan dichas paredes de contención con el polímero de interés en estado líquido. Transcurrido el tiempo de curado de dicho polímero, se procede a separar la nueva réplica de la probeta de tracción.

La etapa (d) consiste en utilizar la réplica obtenida en la etapa (c) como molde o patrón para la generación de un conjunto de muestras idénticas con nano/micro estructuras ordenadas complejas. Para ello, se deposita la réplica obtenida en la etapa (c) en un recipiente adecuado (p. ej. pocillo o placa Petri) y se vierte sobre ella el polímero de interés en estado líquido. Transcurrido el tiempo de curado de dicho polímero, se procede a separar con sumo cuidado las dos replicas, obteniéndose así un negativo de la réplica obtenida en la etapa (c).

Este proceso se repite tantas veces como sea necesario.

Todas las superficies que entran en contacto con el polímero de interés en estado líquido son tratadas previamente con un agente antiadherente o liberador que facilite la extracción/separación posterior de las muestras curadas. Habitualmente este proceso se lleva a cabo mediante el uso de sustancias químicas como el hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y el heptadecafluor -1,1,2,2 -tetrahydrodecil dimetilclorosilano ($C_{12}H_{17}F_{17}Si$) (Gitlin et al., "Rapid replication of master structures by double casting with PDMS", *Lab Chip* (2009), 9, 3000-3002; Ner & McCarthy, "Ultrahydrophobic Surfaces. Effects of Topography Length Scales on Wettability", *Langmuir* (2000), 16, 7777-7782). Sin embargo, el uso de este tipo de compuestos supone muy probablemente la modificación química de la superficie sobre la que se aplican. Además, la capa que dejan sobre dicha superficie puede modificar ligeramente su propia topografía superficial. Para evitar estos dos posibles efectos adversos, en el procedimiento de la invención, de forma preferida, se emplea como agente antiadherente una disolución de desinfectante.

EJEMPLO 1.

El patrón o molde comercial utilizado en este ejemplo fue adquirido en la casa comercial NanoAndMore GmbH (Alemania), presentando diferentes nano/micro-estructuras fabricadas en dióxido de silicio sobre un chip de silicio de 5 x 5 mm montado sobre un disco de 12 mm de diámetro y 0,8 mm de espesor (**Figura 5a**). El molde pertenece a la serie HS-20MG y se caracteriza por exponer cinco nano/micro-topografías superficiales diferenciadas sobre una superficie de 1 x 1 mm² (**Figura 5b**), esto es, dos regiones con pilares de sección cuadrada (6 x 6 µm) y circular ($\phi = 3 \mu m$) que sobresalen de la base de silicio y que cuentan con un interespaciado de 4 y 2 µm, respectivamente, dos regiones con huecos de sección cuadrada y circular, inmersos en la capa de dióxido de silicio, y que presentan las mismas dimensiones, tanto en su sección como en el interespaciado, que las descritas para los pilares y por último, dos regiones que constituyen canales con crestas y valles de 3 y 2 µm de ancho, respectivamente. En este último caso ambas regiones comparten las mismas características topográficas, disponiendo los canales de manera que unos están orientados respecto a los otros formando un ángulo de 90 °. La altura que presentan los pilares, así como la profundidad asociada a los huecos que aparecen, es uniforme y ha sido testada por

la casa en 21,1 nm. Por sus características topográficas, los moldes de silicio son muy dados a retener suciedad por lo que antes de cada uso han de ser cuidadosamente limpiados. El protocolo de limpieza consistió así en sumergirlo en desinfectante al 2% (DERQUIM DSF 11, Panreac Química S.A., España) y sonicarlo por un período de 5 minutos. Posteriormente, se aclaró abundantemente con agua destilada con el fin de retirar los restos de desinfectante, y se sumergió de nuevo en etanol para ser sonicado durante 5 minutos. Seguidamente, el molde se secó inmediatamente con nitrógeno quedando listo para su uso.

El polímero curable elegido para llevar a cabo la réplica del molde anteriormente descrito fue el polidimetilsiloxano (PDMS). En particular, se empleó el kit Sylgard™ 184 Silicone Elastomer adquirido a través de la casa Dow Corning Corporation (EE.UU.). Este kit consta de dos botes con distintos compuestos; en uno se encuentra la base polimérica de PDMS (estado líquido) mientras que en el otro el agente curador (estado líquido) con el que la base polimérica ha de mezclarse para su posterior solidificación. Al ser un elastómero termoestable se utiliza ampliamente en los procedimientos englobados en la Litografía Blanda, ya que resulta eficaz a la hora de replicar la topografía de cualquier tipo de superficie con alta resolución. El proceso de preparación de PDMS consistió en el mezclado manual de la base elastomérica con el agente curador en una proporción másica de 10:1 durante un período de 20 minutos. El proceso de mezclado genera burbujas de oxígeno en el interior de la mezcla por lo que posteriormente se introdujo en una cámara de vacío durante 1 h a 700 mmHg de presión con el fin de desgasificarla por completo. Una vez eliminado el gas del interior de la mezcla ésta queda preparada para su uso inmediato.

El sistema diseñado para la elaboración de una probeta de ensayo de tracción uniaxial que contenga en su zona central una réplica del molde comercial consistió en un sarcófago de tres piezas independientes fabricadas en metacrilato (**Figura 6**). La primera pieza consiste en una base de metacrilato (1) sobre la que se grabó la forma de una probeta de ensayo de tracción (3) con un espesor de 4 mm. En el centro de este grabado se incluyó un grabado complementario en forma de disco de 12 mm de diámetro y 0,8 mm de espesor donde se fijó el molde de silicio (12) empleado con una orientación determinada. Esta base incluye además un grabado con forma cuadrada (2) de dimensiones 30 × 30 mm y espesor de 5 mm, el cual se emplea para la fabricación de paredes de contención de PDMS. La fabricación de tales paredes de contención requiere de una segunda pieza de metacrilato

con forma de cubo (5) (25×25 mm) la cual se acopló a la base cuadrada mencionada a través de dos tornillos, creándose así entre ambas piezas un interespaciado 5 mm de espesor. Por último, se incluyó una tercera pieza de metacrilato (6) cuya función es la de sellar a modo de sarcófago el grabado de la probeta de ensayo de tracción realizado sobre la base del dispositivo. El sellado se llevó a cabo mediante 8 tornillos distribuidos de tal forma que se garantizó que ambas partes quedaran fielmente unidas. En esta última pieza de metacrilato se incluyeron además dos orificios para la entrada (13) y salida (14) de PDMS durante el proceso de llenado del sarcófago. Previamente al uso del sarcófago de metacrilato y con el fin de facilitar la extracción posterior de la muestra curada de PDMS, se utilizó como agente antiadherente una disolución de desinfectante al 10 % en etanol al 75 %. Se comprobó que dicho compuesto no solo facilitaba la separación de la muestra de PDMS del sarcófago de metacrilato, sino también la separación de superficies tipo PDMS-PDMS. El protocolo de aplicación de este agente antiadherente consistió en cubrir las superficies que entran en contacto durante el proceso de replicación con dicho compuesto, para inmediatamente después secarlas con nitrógeno. Posteriormente, las muestras en PDMS obtenidas tras el proceso de replicación se aclararon con abundante agua con el fin de eliminar cualquier resto remanente del agente antiadherente. Una vez tratado el sarcófago con tal agente antiadherente y haciendo uso de PDMS líquido preparado bajo las condiciones anteriormente descritas, se llenó tanto el sarcófago como la estructura que permitirá obtener las paredes de contención. Posteriormente se procedió a introducir el molde de metacrilato en una estufa previamente precalentada, permaneciendo en ella a 60 °C durante un período de 4,5 horas. Transcurrido el tiempo de curado, y un periodo de dos horas de enfriamiento, se procedió a abrir el sarcófago para retirar con sumo cuidado la probeta de tracción en PDMS. De igual modo, las paredes de contención fabricadas se retiraron de su propio molde. Las piezas obtenidas (**Figura 7**) se mantuvieron hasta su uso en un recipiente cerrado.

El procedimiento de deformación de la probeta de ensayo de tracción obtenida, requirió la fabricación de un dispositivo que permitiera su estiramiento uniaxial. Para ello se utilizaron dos plataformas de traslación uniaxial modelo 16378 de la casa Oriel Instruments (EE.UU.) que usualmente se utilizan en montajes ópticos como plataformas de posicionamiento lineal. Ambas plataformas fueron acopladas enfrentándolas una con otra (**Figura 8a**). En el lateral de las mismas se ensamblaron sendos tornillos micrométricos (10) de 10 μ m de precisión

que permitieron que las plataformas pudieran desplazarse de forma controlada en sentidos opuestos. Por último, se incorporaron dos chapas metálicas planas (9) que incluían un extremo curvado que a modo de anclajes, tienen la función de fijar cada extremo de la muestra a su respectiva plataforma mientras se lleva a cabo el proceso de estiramiento. El dispositivo así diseñado permitió un desplazamiento máximo de cada plataforma de 24 mm respecto a su posición central, lo que arroja un tope máximo de estiramiento macroscópico de 48 mm.

Una vez fijada la probeta de tracción (16) en PDMS sobre el dispositivo de deformación, se procedió a desplazar lentamente las plataformas de traslación, accionando de forma simultánea los dos tornillos micrométricos (10), hasta llegar al máximo permitido (**Figura 8b**). Manteniendo la muestra estirada se procedió a colocar sobre ella las paredes de contención (11) de PDMS de manera que el patrón a replicar quedara en el centro del recinto delimitado (**Figura 8c**). Seguidamente se depositó en el interior del recinto PDMS líquido preparado previamente según el protocolo ya descrito y se introdujo el dispositivo en una estufa previamente precalentada, permaneciendo en ella a 60 °C durante un período de una hora. Transcurrido el tiempo de curado, el dispositivo se retiró de la estufa dejándose enfriar durante una hora, periodo tras el cual se procedió a separar la nueva réplica en PDMS de la probeta de tracción (**Figura 8d**).

La réplica deformada obtenida se utilizó como molde para la generación de un conjunto de muestras idénticas en PDMS. Para ello, dicha réplica se cortó con un troquel tubular de 12 mm de diámetro, tratada con el agente antiadherente anteriormente descrito y fijada al fondo de un disco petri de 3,42 cm. Seguidamente, el disco se situó en una balanza de precisión y controlando la cantidad de PDMS líquido depositado en él se pudo asegurar que todas las réplicas así obtenidas tuvieran un espesor de 4 mm. Seguidamente y con el objetivo de conseguir un curado idóneo, se procedió a introducir la muestra en una estufa (Hotcold UB-UC, J.P. Selecta S.A, España) previamente precalentada, permaneciendo en ella a 60 °C durante un período de una hora. Una vez transcurrido el tiempo de curado, la muestra se retiró de la estufa dejándose enfriar durante una hora. Una vez enfriada, se procedió con sumo cuidado a separar las dos réplicas de PDMS. Este procedimiento puede repetirse tantas veces como se desee.

A través de este estiramiento, se obtuvo un molde o patrón en PDMS que permitió obtener

un conjunto de muestras con características geométricas distintas a las contenidas en los patrones de silicio. En particular, tal y como se observa en la **Figura 9**, el nuevo tipo de muestras se caracteriza por presentar nano/micro-estructuras de secciones rectangulares y elípticas dispuestas en una red rectangular bidimensional donde antes aparecían nano/micro-estructuras de secciones cuadradas y circulares (red cuadrada bidimensional), con un interespaciado que, tras el estiramiento, difiere en las direcciones paralela y perpendicular al mismo. De igual modo, las regiones que contenían canales de idénticas características, se transformaron en dos regiones con canales de diferentes características geométricas según éstos estuvieran dispuestos de forma paralela o perpendicular a la dirección de estiramiento. Imágenes topográficas (**Figura 10**) adquiridas con un Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) de las diferentes geometrías presentes en el patrón de silicio comercial y en la réplica en PDMS antes y después del estiramiento permitieron determinar las dimensiones exactas de las distintas características geométricas presentes. Los resultados obtenidos se recogen en la tabla 1.

Tabla 1. Características topográficas de las réplicas en PDMS

TOPOGRAFÍA (Imágenes AFM-3D)	TIPO DE MUESTRA	DIMENSIONES DE LA ESTRUCTURA ¹			DIMENSIONES DEL INTERESPACIADO ¹		RUGOSIDAD R_a	ÁREAS ² (μm^2)			
		Altura (nm)	a (μm)	b (μm)	c (μm)	d (μm)		Superior	Inferior	Lateral	Total
FIG. 11a	Sin estirar HS-20G										
		20.39	5.87	5.96	3.88	3.94	9.3 ± 1.4	4372	7772	61	12205
	Estirada HS-20G	17.88	8.95	5.49	5.60	3.33	7.8 ± 1.1	4468	7676	48	12192
FIG. 11b	Sin estirar HS-20G										
		19.93	5.89	5.93	4.16	4.05	9.9 ± 1.1	7772	4372	61	12205
	Estirada HS-20G	17.95	8.48	5.14	5.84	3.48	7.5 ± 0.8	7676	4468	48	12192
FIG. 11c	Sin estirar HS-20G										
		20.11	3.01	3.11	1.99	2.06	8.9 ± 1.7	3434	8710	97	12241
	Estirada HS-20G	18.02	4.20	2.33	2.83	1.84	8.2 ± 0.9	3366	8778	78	12223
FIG. 11d	Sin estirar HS-20G										
		19.15	2.86	2.89	1.96	2.03	9.1 ± 0.9	8710	3434	97	12241
	Estirada HS-20G	17.42	4.34	2.56	2.81	1.62	7.7 ± 1.2	8778	3366	78	12223
FIG. 11e	Sin estirar HS-20G										
		19.83	2.95	-	1.96	-	9.7 ± 1.0	7286	4858	102	12246
		16.54	4.50	-	2.57	-	6.9 ± 0.9	7728	4416	57	12201
	Estirada HS-20G	20.39	2.69	-	1.52	-	7.1 ± 1.3	7760	4364	96	12240

Comparando las dimensiones de las distintas características topográficas antes y después

del proceso de estiramiento (**figura 11 y tabla 1**), se concluye que bajo las condiciones experimentales descritas las características topográficas asociadas a pilares y huecos de secciones cuadradas y circulares, así como sus interespaciados asociados, experimentaron una elongación promedio del 44 ± 3 % en la dirección paralela al estiramiento (dirección x), así como una contracción promedio del 13 ± 3 % en la dirección perpendicular (dirección y) al mismo. Por otro lado, se observa que los canales dispuestos paralelamente a la dirección de estiramiento, sufrieron una contracción promedio en sus crestas y valles del 12 ± 2 % y 25 ± 3 %, respectivamente. En contra, las crestas y valles de los canales dispuestos perpendicularmente a la dirección de estiramiento, experimentaron una elongación promedio del 50 ± 3 % y 27 ± 2 %, respectivamente. Además, la relación altura/profundidad promedio de todas las características topográficas experimentaron una disminución del 18 ± 4 % tras el proceso de estiramiento. La **tabla 1** recoge también el área superficial asociada a cada región geométrica (parte superior, inferior, lateral y total) calculada antes y después del proceso de estiramiento para un campo de visión de $12144 \mu\text{m}^2$ (2). (1) El error asociado a estos parámetros es para todos los casos inferior al 6 %.

EJEMPLO 2.

Se llevaron a cabo ensayos para demostrar el incremento de la inhibición bacteriana con las nanoestructuras obtenidas en el procedimiento de la invención.

Así, se pudo observar que las características topográficas obtenidas tras el estiramiento redujeron la adhesión de *Staphylococcus epidermidis* en un $\sim 45 \pm 9$ % frente a las muestras control lisas (muestras en PDMS carentes de topografías) para todas las geometrías consideradas (ver **figura 14 B**). La reducción en la adhesión obtenida para esta misma cepa mediante el uso de las réplicas en PDMS del molde HS-20MG antes de ser sometidas a estiramiento (**figura 14 A**) alcanzaba un valor promedio de $\sim 28 \pm 2$ % respecto a las muestras control lisas (Perera-Costa et al. "Study the influence of surfal topography on bacterial adhesion using spatially organized microtopographic surface patterns". American Chemical Society. Langmuir 2014, 30, 4633-4641). Por lo tanto, las características geométricas obtenidas con la nueva metodología desarrollada fueron un 17 % más eficaces en la inhibición de la adhesión de *Staphylococcus epidermidis*.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la creación de nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas en materiales poliméricos que comprende las siguientes etapas:
 - a) Elaborar mediante litografía blanda una primera réplica polimérica a partir de un molde comercial con nano/micro estructuras superficiales ordenadas sencillas,
 - b) Someter la réplica polimérica creada en la etapa a) a una deformación bajo condiciones controladas de fuerza, temperatura y velocidad de deformación, hasta alcanzar la deformación deseada, y
 - c) Elaborar in situ una segunda réplica polimérica de la réplica bajo deformación de la etapa b), o
 - c') Someter la réplica bajo deformación de la etapa b) a una temperatura que permita mantener la deformación de forma permanente tras recuperar la temperatura ambiente inicial.
2. Procedimiento según la reivindicación 1 donde el polímero empleado para la obtención de las réplicas se selecciona entre polímeros termoplásticos, elastómeros, termoestables y sus combinaciones.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 donde la réplica obtenida en el paso a) es una probeta de ensayo de tracción.
4. Procedimiento según la reivindicación 3 donde la deformación se lleva a cabo mediante estiramientos o compresiones axiales en una o varias direcciones.
5. Procedimiento, según la reivindicación 1, que comprende las etapas a), b) y c).
6. Procedimiento, según la reivindicación 5, que comprende adicionalmente la siguiente etapa:

d) Generar mediante litografía blanda una muestra idéntica a la segunda réplica, obtenida en la etapa c), partiendo de dicha réplica como molde.

5 7. Procedimiento según la reivindicación 6 donde la etapa d) se repite tantas veces como muestras idénticas se quieran obtener.

8. Procedimiento, según las reivindicaciones 5-7, donde el polímero empleado es un polímero termoestable, preferiblemente PDMS.

10 9. Procedimiento, según la reivindicación 1, que comprende las etapas a), b) y c').

10. Procedimiento según la reivindicación 9, donde la etapa c') se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre la temperatura de transición vítrea y la temperatura de fusión que caractericen al polímero empleado.

15 11. Procedimiento, según la reivindicación 9 ó 10, que comprende adicionalmente la siguiente etapa:

20 d') Generar mediante litografía blanda una copia negativa de la réplica, obtenida en la etapa c'), partiendo de dicha réplica como molde.

12. Procedimiento según la reivindicación 11 donde la etapa d') se repite tantas veces como copias negativas se quieran obtener.

25 13. Procedimiento, según las reivindicaciones 9-12, donde el polímero empleado es un polímero termoplástico.

30 14. Procedimiento, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde, todas las superficies que entren en contacto con el polímero de interés en estado líquido son tratadas previamente con un agente antiadherente.

15. Procedimiento, según la reivindicación 14, donde el agente antiadherente empleado es una disolución desinfectante.

5 16. Nano/micro estructuras superficiales ordenadas complejas en material polimérico obtenidas por el procedimiento de las reivindicaciones 1-15.

17. Uso de nano/micro estructuras, según la reivindicación 16, en la inhibición de la adhesión bacteriana a superficies poliméricas.

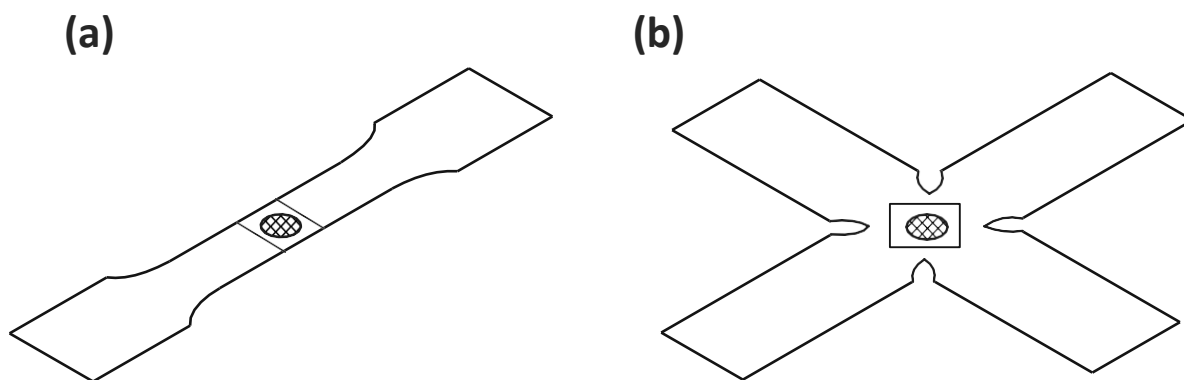


FIG. 1

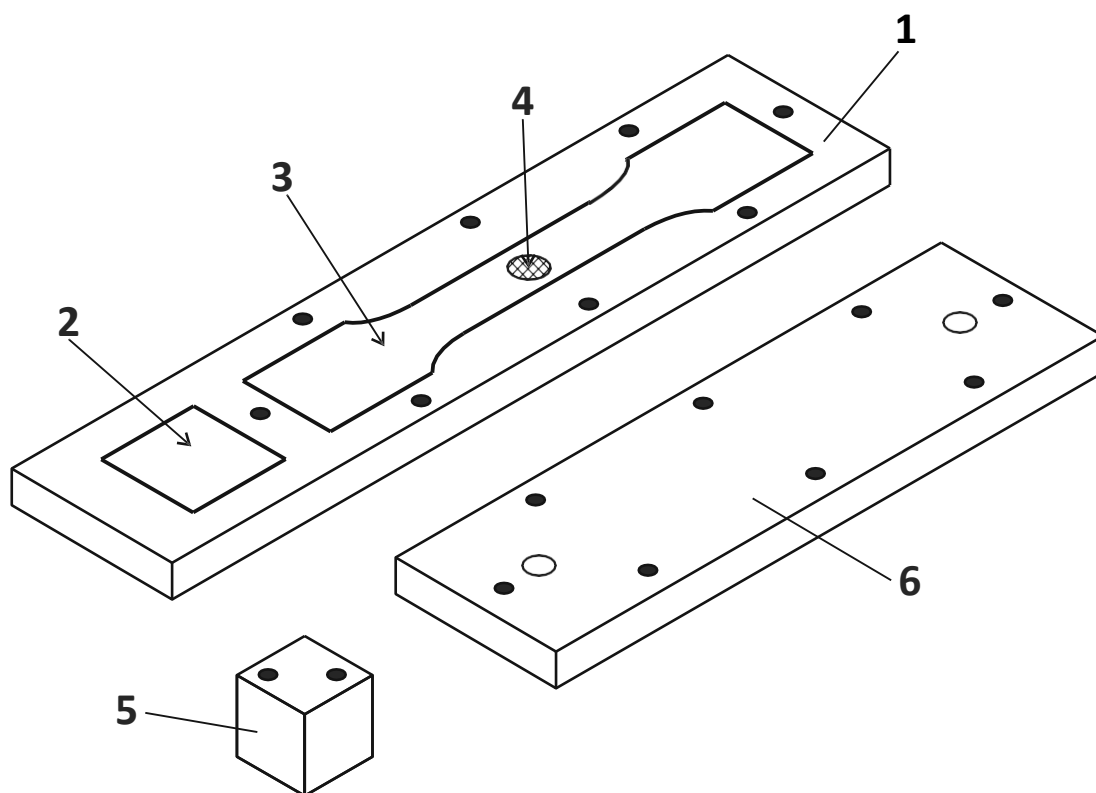


FIG. 2

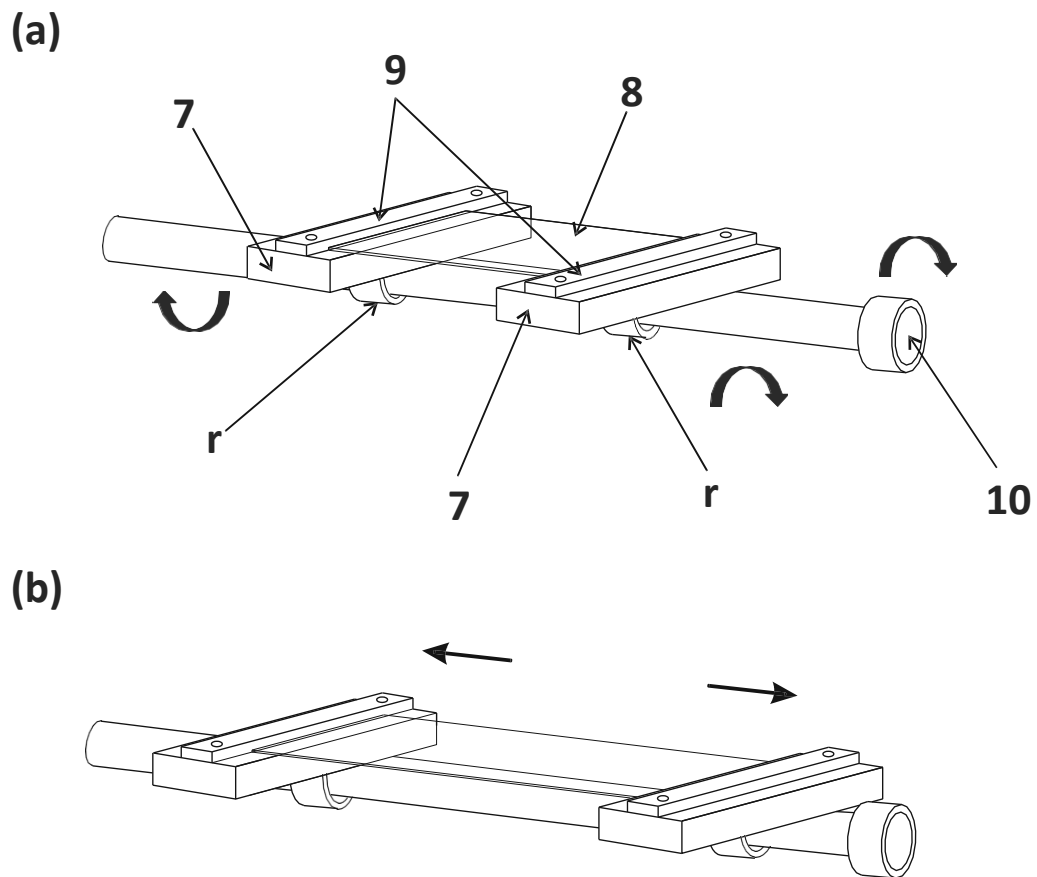


FIG. 3

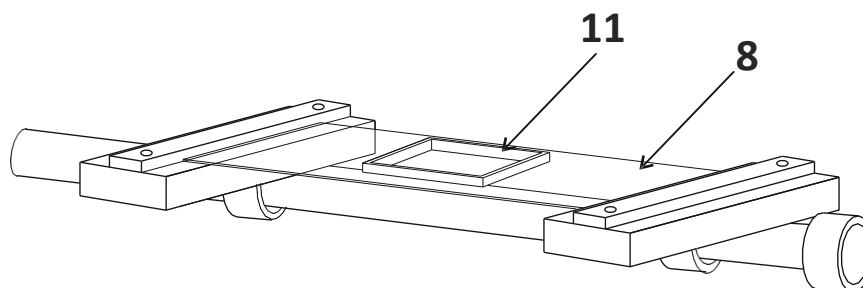


FIG. 4

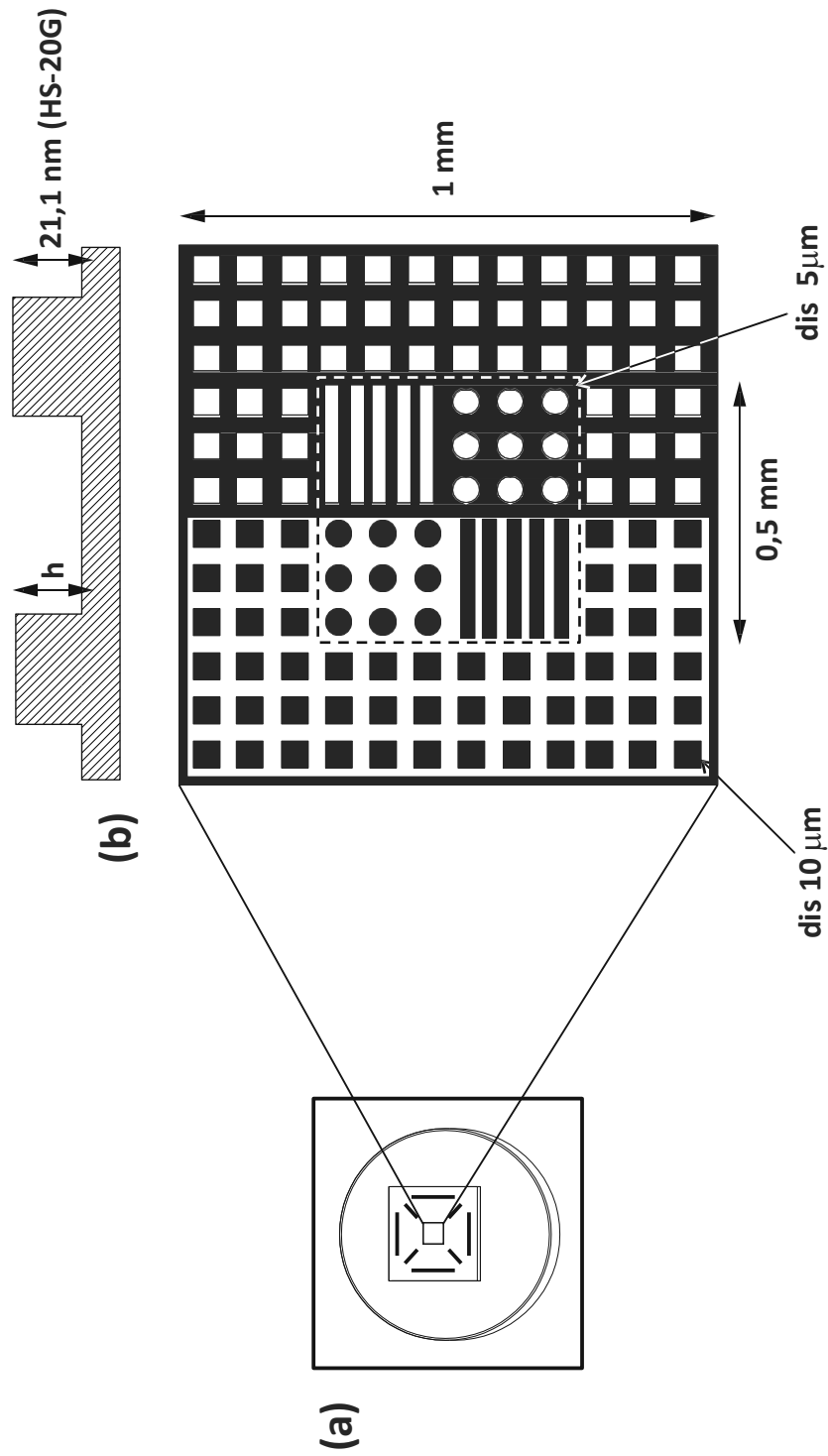


FIG. 5

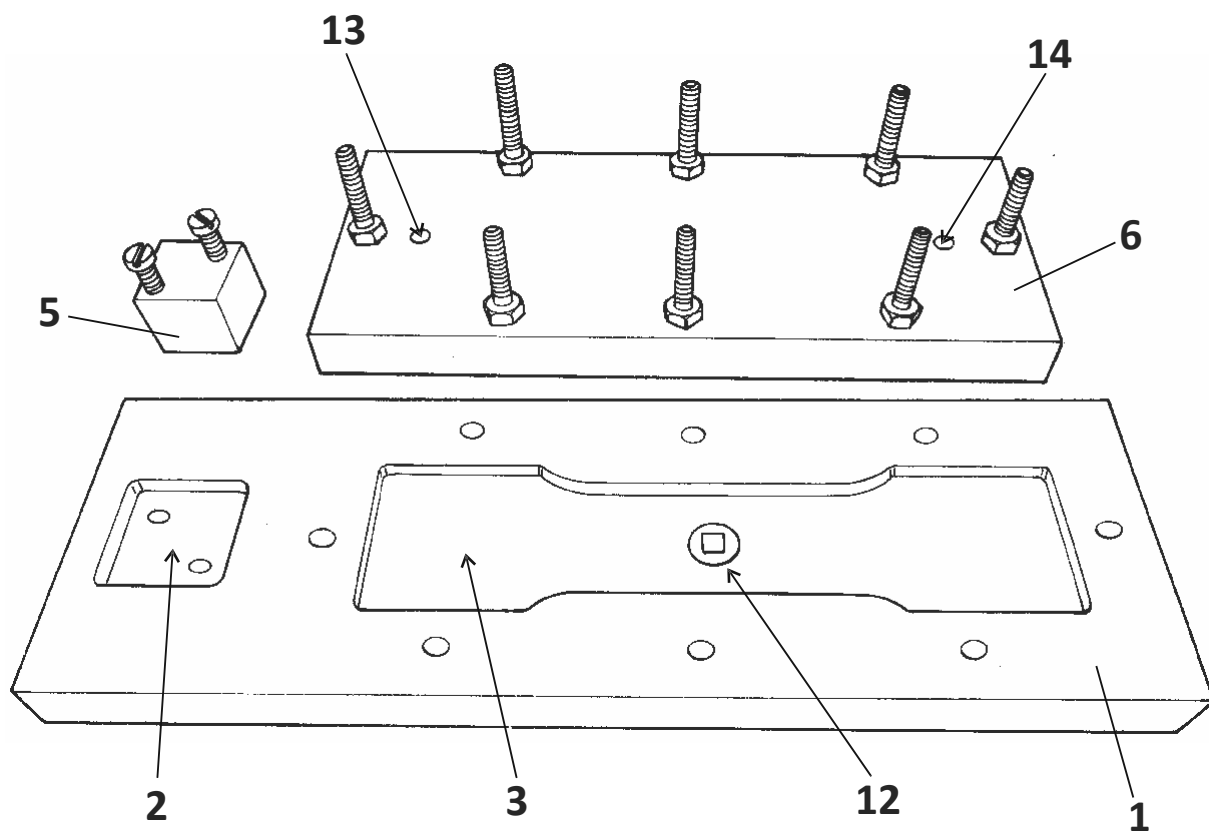


FIG. 6

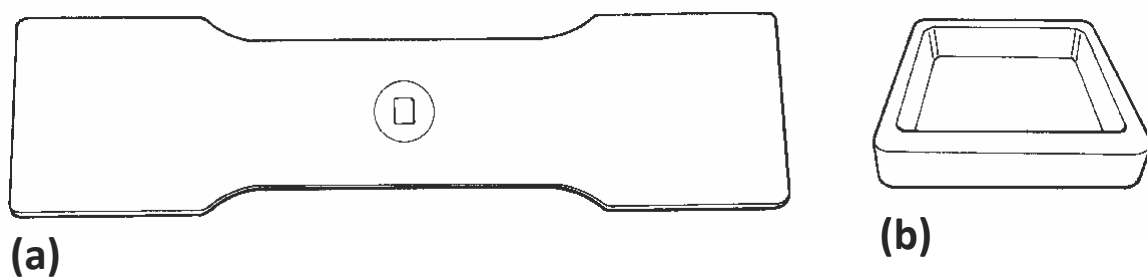


FIG. 7

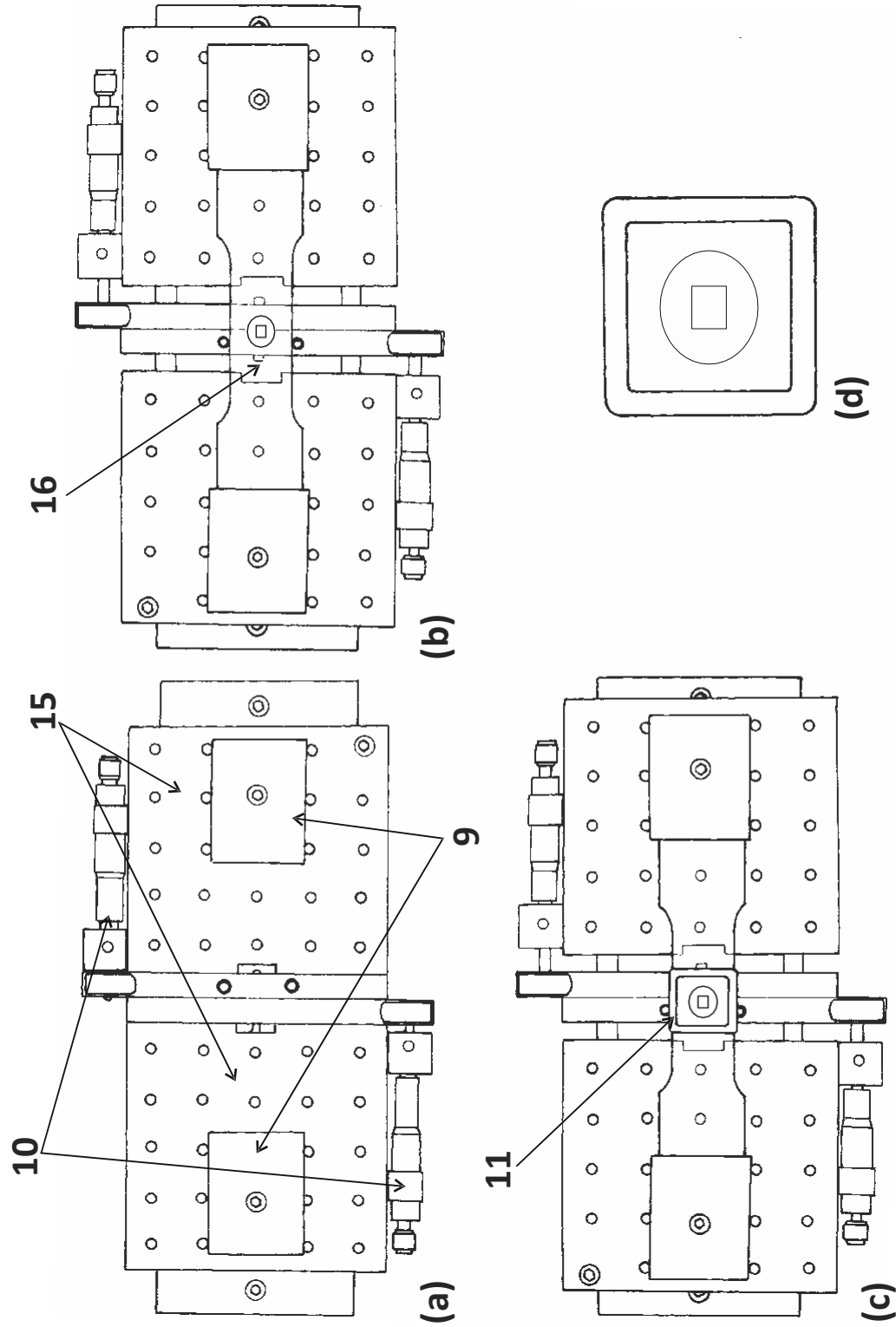
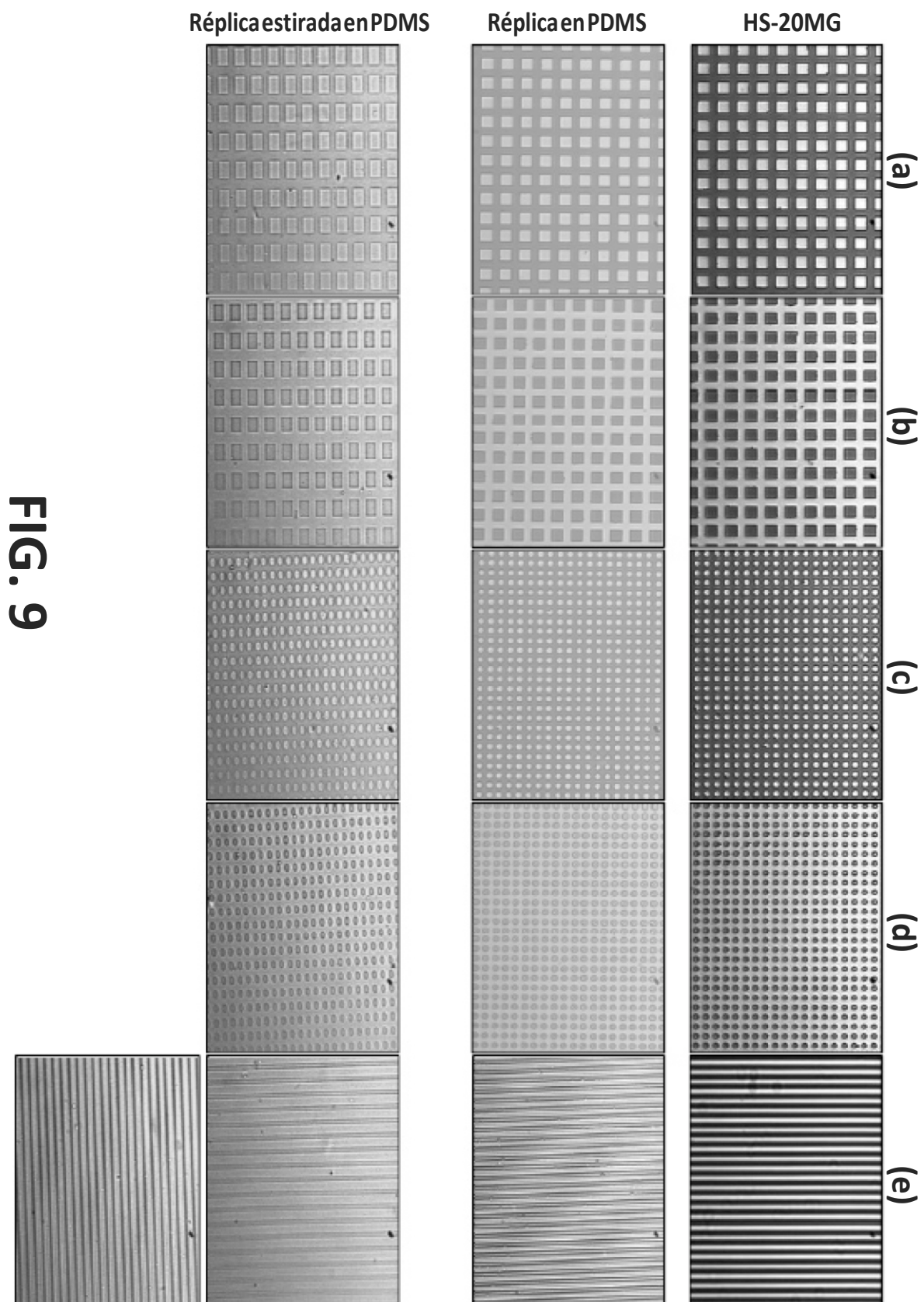


FIG. 8



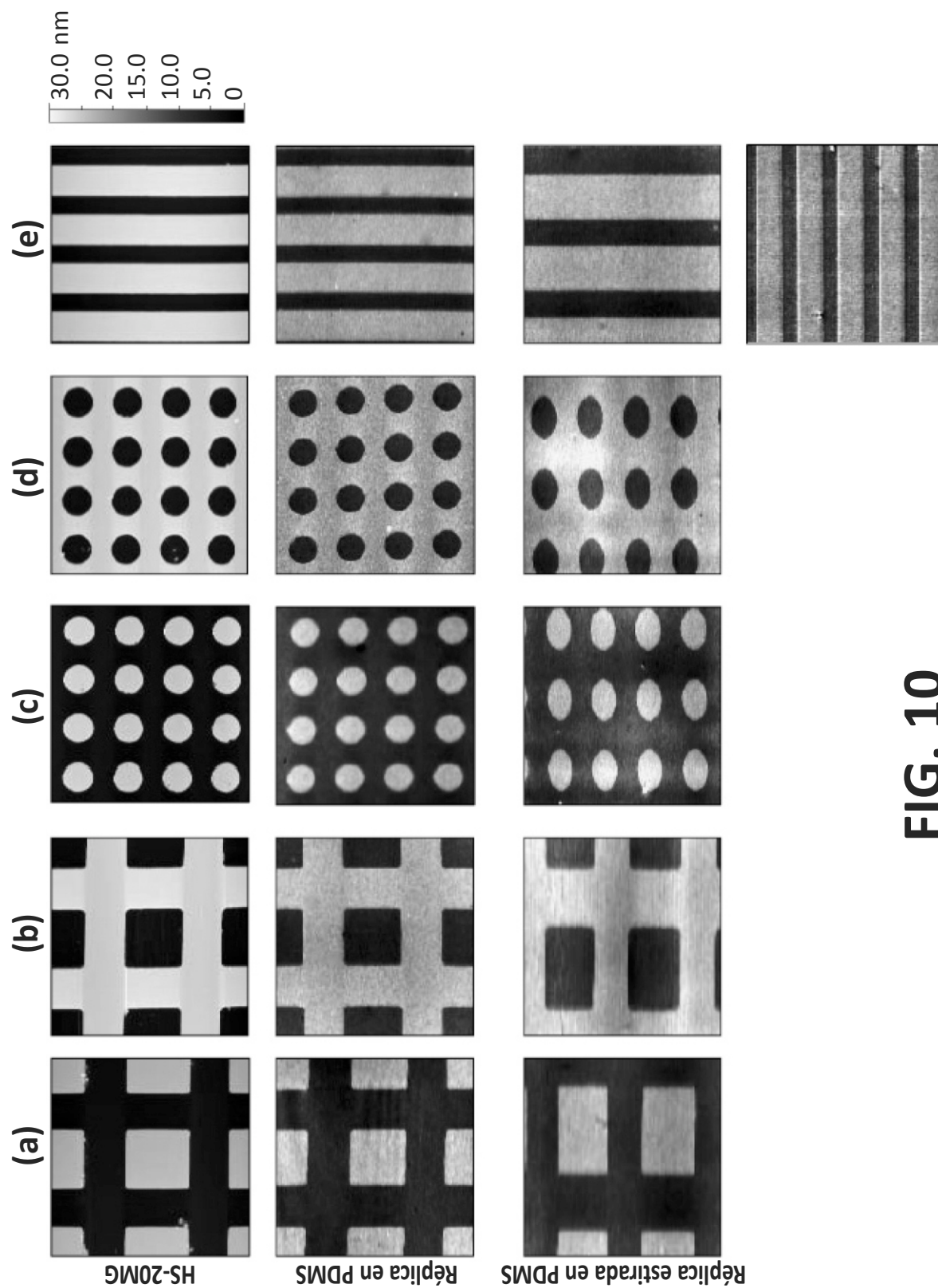


FIG. 10

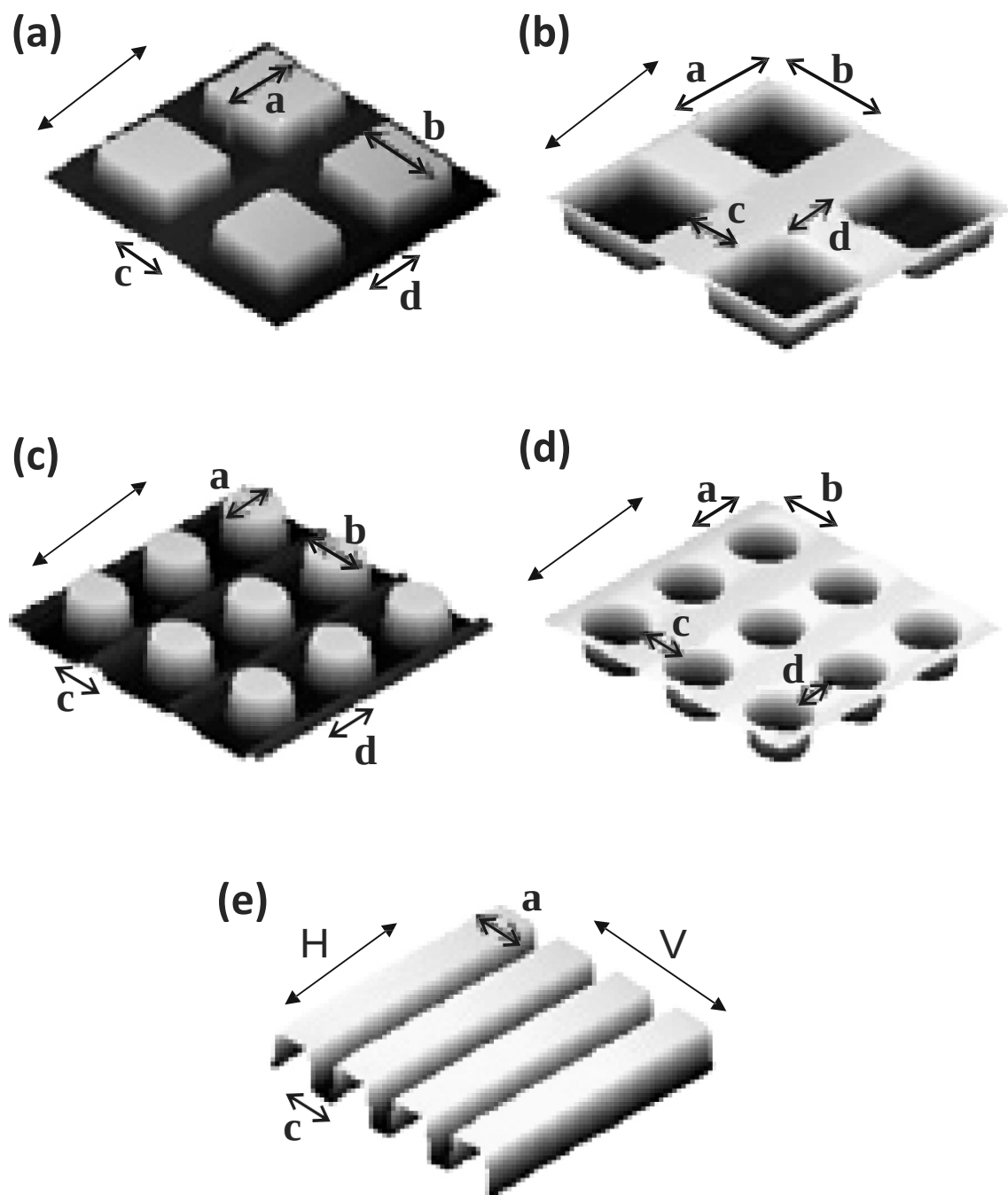


FIG. 11

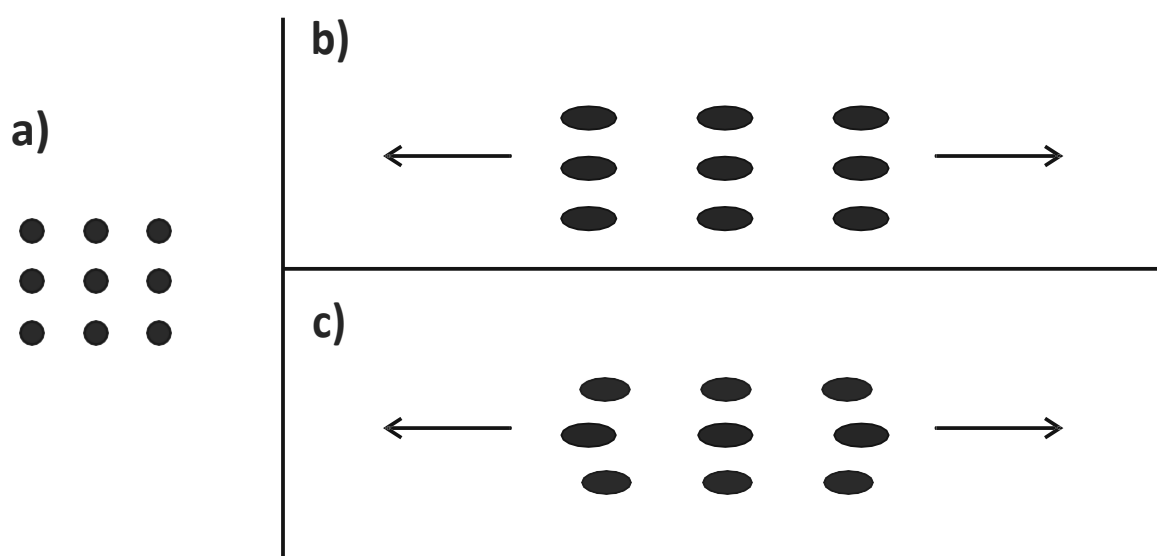


FIG. 12

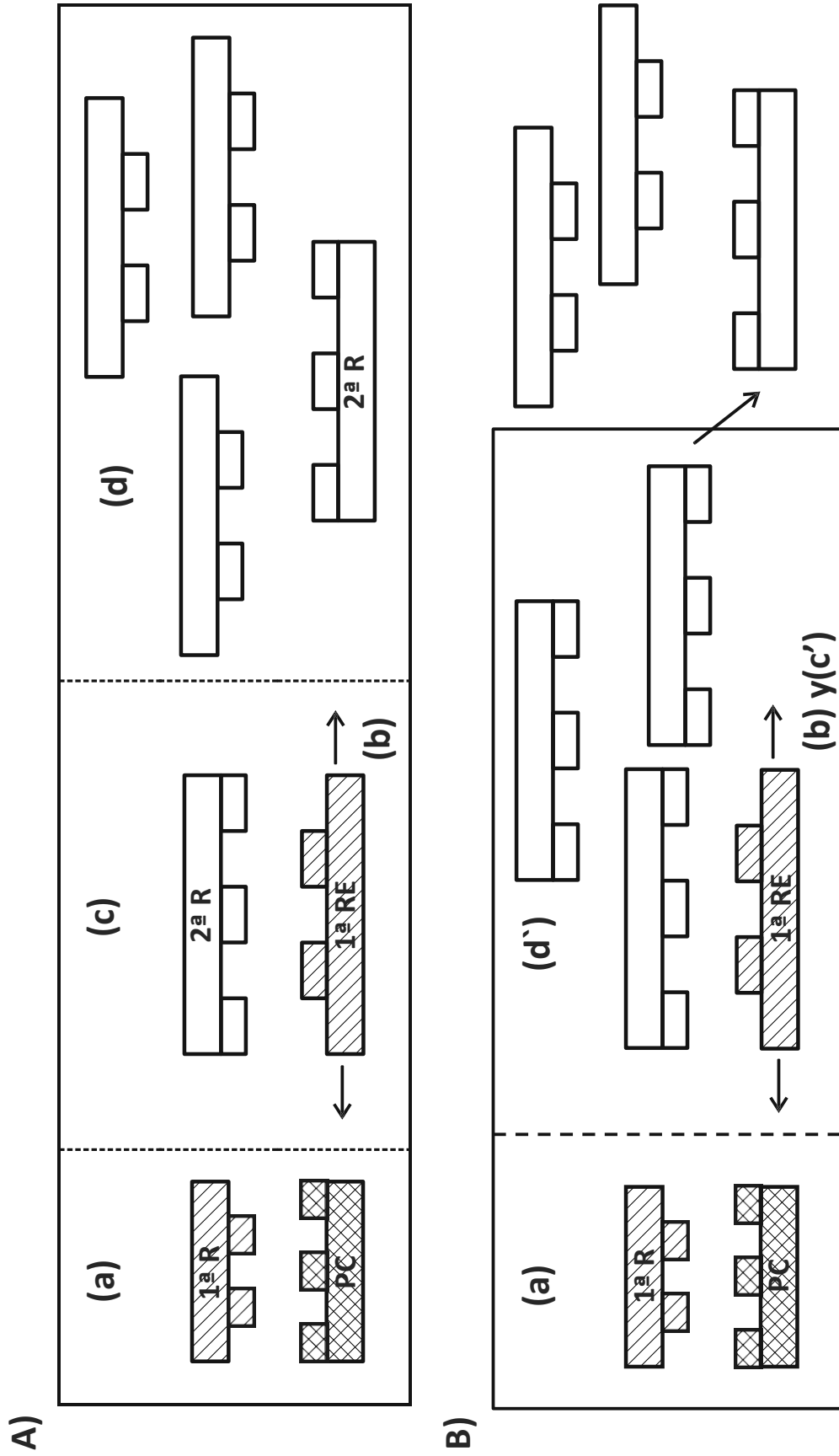


FIG. 13

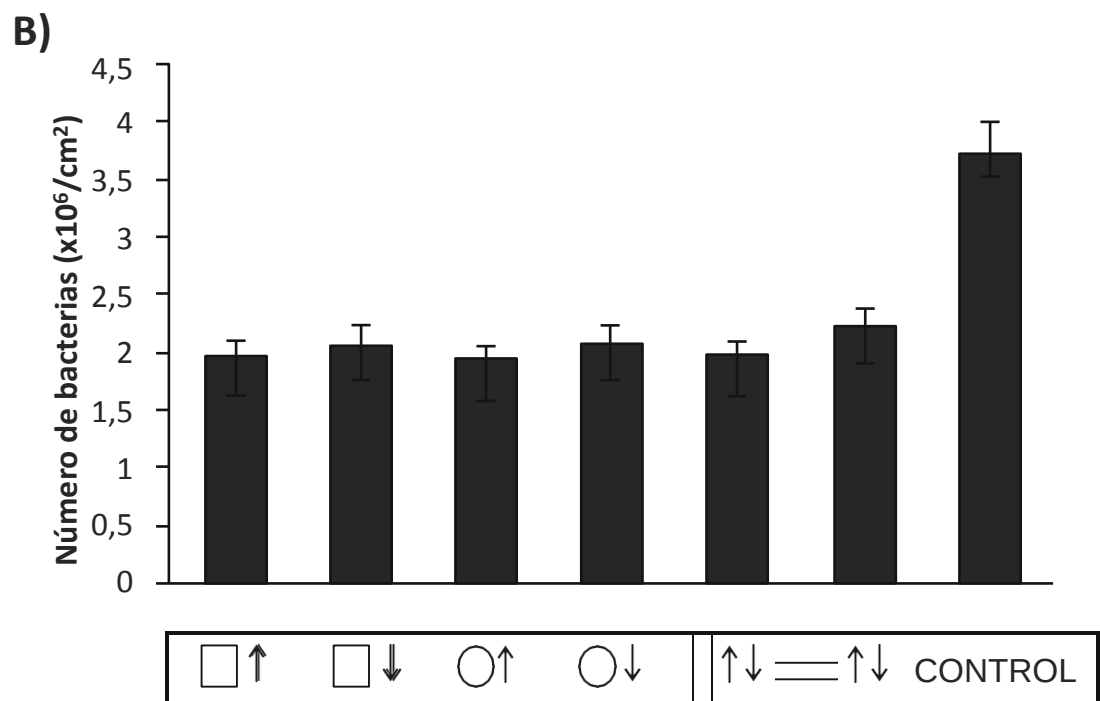
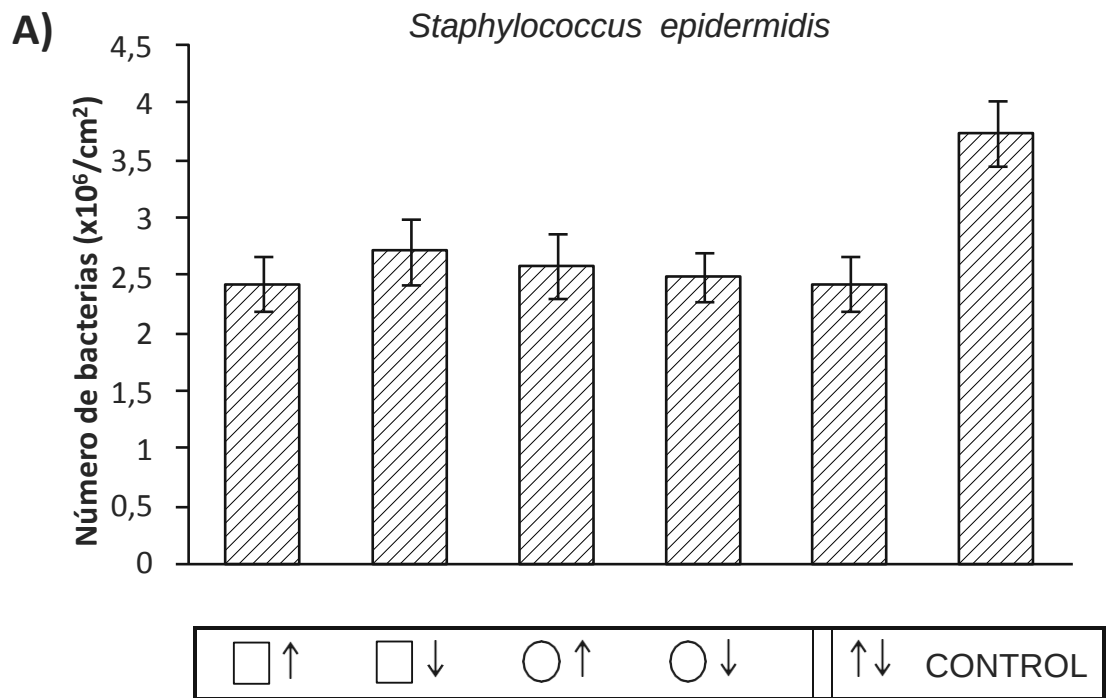


FIG. 14



- ②① N.º solicitud: 201530033
②② Fecha de presentación de la solicitud: 14.01.2015
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	EPSTEIN, A.K., et al., Control of bacterial biofilm growth on surfaces by nanostructural mechanics and geometry, Nanotechnology, 2011, Vol. 22, 494007 (8 págs.). Apartados 2 y 3 y Fig. 1.	1-17
X	WO 2011094344 A1 (HARVARD COLLEGE et al.) 04.08.2011, párrafo [0166].	1-17
X	POKROY, B. et al, Fabrication of bioinspired actuated nanostructures with arbitrary geometry and stiffness, Advanced Materials, 2009, Vol. 21, págs: 463-469. Figs. 1 y 2.	1-16
A	WO 2012031201 A2 (MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY et al.) 08.03.2012	1-17

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
12.01.2016

Examinador
M. M. García Poza

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

B08B17/06 (2006.01)**B29C53/00** (2006.01)**B05D3/12** (2006.01)

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

B29C, B08B, B05D

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, TXT, INSPEC, XPESP

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 12.01.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 9-13	SI
	Reivindicaciones 1-8, 14-17	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-17	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	EPSTEIN, A.K., et al., Control of bacterial biofilm growth on surfaces by nanostructural mechanics and geometry, Nanotechnology, 2011, Vol. 22, 494007 (8 págs.).	
D02	WO 2011094344 A1 (HARVARD COLLEGE et al.)	04.08.2011
D03	POKROY, B. et al, Fabrication of bioinspired actuated nanostructures with arbitrary geometry and stiffness, Advanced Materials, 2009, Vol. 21, págs: 463-469.	26.01.2009

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 invención es un procedimiento para la creación de nano/microestructuras superficiales en materiales poliméricos, así como dichas estructuras y su uso en la inhibición de la adhesión bacteriana.

- Novedad (Art. 6.1 LP):

Los documentos D01, D02 y D03 divulgan, independientemente, un procedimiento para la creación de nano/microestructuras superficiales ordenadas complejas en materiales poliméricos que comprende las etapas de: elaborar mediante litografía blanda una primera réplica polimérica (PDMS) a partir de un molde comercial con estructuras superficiales ordenadas sencillas; someter la réplica polimérica a una deformación bajo condiciones controladas; y elaborar in situ una segunda réplica polimérica (véase D01: apartado "Substrate fabrication" y fig. 1; D02: párrafo [0166]; D03: Figs. 1 y 2).

Por lo tanto, se considera que a la vista de la información divulgada en los documentos citados, el procedimiento de la invención recogido en la reivindicación 1 carece de novedad y de actividad inventiva (Arts. 6.1 y 8.1 LP).

Las características técnicas adicionales del procedimiento recogidas en las reivindicaciones 2 a 8 y 14 y 15 también se encuentran divulgadas. Por lo tanto, dichas reivindicaciones también carecen de novedad y de actividad inventiva (Arts. 6.1 y 8.1 LP).

Las estructuras de la invención recogidas en la reivindicación 16, caracterizadas por su procedimiento de preparación, sólo serían admisibles si cumplen los requisitos de novedad y actividad inventiva, pero en este caso también se encuentran divulgadas en los documentos D01, D02 y D03. Por lo tanto, carecen de novedad y de actividad inventiva (Arts. 6.1 y 8.1 LP).

El uso de las estructuras en la inhibición de la adhesión bacteriana igualmente se encuentra divulgado en los documentos D01 y D02, por lo que la reivindicación 17 carece de novedad y de actividad inventiva (Arts. 6.1 y 8.1 LP).

- Actividad inventiva (Art. 8.1 LP):

Por último, no se ha encontrado divulgado en el estado de la técnica un procedimiento para la creación de nano/microestructuras superficiales ordenadas complejas en materiales poliméricos que comprende las etapas de: elaborar mediante litografía blanda una primera réplica polimérica a partir de un molde comercial con estructuras superficiales ordenadas sencillas; someter la réplica polimérica a una deformación bajo condiciones controladas; y someter la réplica deformada a una temperatura para mantener la deformación, como se recoge en la reivindicación 9. Así, se considera que dicha reivindicación y las dependientes, reivindicaciones 10 a 13, presentan novedad (Art. 6.1).

Sin embargo, no serían inventivas a la vista del conocimiento general del experto en la materia, que sabría que para que un polímero deformado mantenga su deformación habría que calentarlo sin llegar a fundirlo. De este modo llegaría al procedimiento de la invención, sin el ejercicio de la actividad inventiva, y con razonables expectativas de éxito. Por lo tanto, se considera que dichas reivindicaciones carecen de actividad inventiva (Art. 8.1 LP).