

(19):



República Argentina
Ministerio de Economía y Producción
Secretaría de Industria, Comercio y de la
Pequeña y Mediana Empresa
Instituto Nacional de la Propiedad Industrial

(11) No de publicación:

AR 110661 A1

(41) Fecha de publicación:

17.04.2019

(51) Int. Cl.:

**G01N 31/22, 31/02, 21/41,
27/00**

(12)

Solicitud de Patente Independiente

(22) Fecha de presentación: **27/12/2017**

(71) Solicitante(s):

(21) Número de solicitud: **P170103689**

**CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET) , GODOY CRUZ
2290, PISO 10º, (1425) CDAD. AUT. DE BUENOS
AIRES, AR
COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (CNEA) ,
AV. DEL LIBERTADOR 8250, (C1429BNP) CDAD. AUT.
DE BUENOS AIRES, AR
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL , BOULEVARD
PELLEGRINI 2750, (3000) SANTA FE, PROV. DE SANTA
FE, AR**

(72) Inventor(es):

**MERCURI, MAGALÍ; BERLI, CLAUDIO L. A.; BELLINO,
MARTÍN G.**

(74) Representante: **895**

(54) Título:

**MÉTODO DE DETECCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE UNA REACCIÓN QUÍMICA SOBRE LA SUPERFICIE DE UNA
PELÍCULA MESOPOROSA Y KIT DE ENSAYO**

(57) Resumen:

El método de detección y localización de una reacción química entre dos o más soluciones que comprenden reactivos, comprende las etapas de: a) proveer un sustrato que comprende una película mesoporosa, b) depositar una gota de cada una de las soluciones que comprenden reactivos sobre dicho sustrato, c) dejar producir la imbibición de las soluciones que comprenden reactivos en la película mesoporosa hasta que se produzca una zona de interacción entre dichas soluciones que comprenden reactivos; y d) determinar la existencia de la reacción química entre los reactivos de las soluciones, en base a la ocurrencia de un cambio detectable en la zona de interacción. El método y kit de ensayo localizan y detectan la ocurrencia de una reacción química mediante el contacto nanofluídico de las muestras y reactivos depositados en forma de microgotas sobre una película mesoporosa, y en consecuencia detectan la presencia de sustancias de interés. El método posee ventajas en cuanto a sus etapas y bajos costos operativos, y permite su implementación en un dispositivo portátil. El método puede ser utilizado en el contexto de la industria sanitaria, en ensayos bromatológicos y medioambientales, o en cualquier otra aplicación que incluya la detección de una reacción química.

En caso de ser Modificatoria de

INPI Exp.: 20170103689



Trámite: 17250778 PATENTES Importe: \$3370.-

Fecha/Hora: 27/12/2017 14:3:19.337

Agente: ALVAREZ, ALICIA GRACIELA

P
NACD
IAL

REPUBLICA ARGENTINA

INSTITUTO NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
ADMINISTRACION NACIONAL DE PATENTES

SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

X

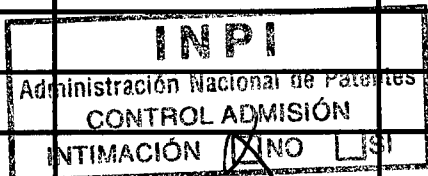
SOLICITUD DE MODELO DE UTILIDAD



Hoja 1 de 3

I. SOLICITANTE (S)		CANTIDAD DE SOLICITANTES		3
CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS		C.U.I.T./C.U.I.L. /C.D.I.	30-54666038-5	
Consignar Nombre y Apellido o Denominación Social (de uno de ellos el resto en ANEXO)		D.N.I.		
Personas Físicas:	Estado Civil:	Nupcias		
Nombre y apellido del cónyuge:		D.N.I.		
Godoy Cruz 2290 Piso 10				
Domicilio Real - Calle - N° Piso y Dpto.				
Localidad	Ciudad Autónoma de Buenos Aires	C.P. N°	C1425FQB	País de Residencia AR
Av. Santa Fe 1863 Piso 1 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires				C1123AAA
Domicilio Legal - Calle - N° - Localidad - Provincia				Código Postal
Dirección de e-mail:	patentes@berkenip.com		Teléfono	5252-2452

II. OBJETO				
Título de la invención	MÉTODO DE DETECCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE UNA REACCIÓN QUÍMICA SOBRE LA SUPERFICIE DE UNA PELÍCULA MESOPOROSA Y KIT DE ENSAYO			
Cácter de la Patente / Modelo de Utilidad	INDEPENDIENTE			
Adicional a:	Patente N°	Divisional de la Solicitud N°		
	Solicitud N°			
PRIORIDAD (LEY 17.011)			DEPOSITO DE MICROORGANISMOS	
País	Número	Fecha	FECHA DE DEPOSITO	
			N° DE ACCESO AL DEPOSITO	
			Nombre de la Institución Depositaria	
			Domicilio de la Institución	
			País	
			Datos del Depositante	
			Origen del Material Biológico y Genético	



Continúa en hoja anexa:

III. SOCIEDADES

SOCIEDAD REPRESENTADA POR

Alicia G. Álvarez (Mat. 895) y/o Lucía Scarpatti (Mat. 2198)

QUIEN

DECLARA BAJO JURAMENTO QUE INVISTE EL CARÁCTER DE

GESTOR DE NEGOCIOS

QUE SU

MANDATO SE ENCUENTRA VIGENTE Y LA SOCIEDAD SE HALLA INSCRIPTA EN

Datos de inscripción en R.P.C. / I.G.J.

Fecha

Número

Nro Folio

Tomo

IV. MANDATO

Poder inscripto en el I.N.P.I. bajo el número:

EN ESTE ACTO SE AUTORIZA A: (Apellido y Nombre y N° de DNI)

Alicia G. Álvarez (Mat. 895) y/o Lucía Scarpatti (Mat. 2198)☒ Para todas aquellas gestiones de mero trámite tales como practicar desgloses, retirar testimonios, certificados, títulos, copias y notificaciones en el expediente.☒ Contestar vistas, desistir solicitud, realizar peticiones (solamente cuando el Autorizado sea Agente de la Propiedad Industrial)

SE ACOMPAÑA PODER

NO

AGENTE N°

895**V. DECLARACION DE DIVULGACION PREVIA**

A los efectos de lo indicado en el Art. 5° de la Ley 24.481, manifiesta que el presente invento ha sido divulgado

previamente: ☒ **SÍ** (SI / NO)En caso afirmativo en fecha: **02/05/2017****VI. OBSERVACIONES****INVENTORES:**

Martín G. BELLINO: Lavoisier 3370, C1431DTH Ciudad Autónoma de Buenos Aires - ARGENTINA;

Claudio L. A. BERLI: Suipacha 3052, S3000AZS Santa Fe Pcia. de Santa Fe - ARGENTINA;

Magalí MERCURI: Av. Olazábal 5421, C1431CGK Ciudad Autónoma de Buenos Aires - ARGENTINA.

Se declara que el presente invento ha sido divulgado por los inventores el 02/05/2017, mediante la publicación científica de Magalí Mercuri, et al, "An Open-Pit Nanofluidic Tool: Localized Chemistry Assisted by Mesoporous Thin Film Infiltration", ACS Applied Materials & Interfaces. Se acompaña una copia a esta presentación.

Se deja constancia que los datos vertidos en el presente formulario revisten el carácter de declaración jurada; cualquier falsedad inserta en el mismo

NOTA: El pago del arancel correspondiente deberá concretarse al momento de la presentación o durante, las dos primeras horas de atención del subsiguiente día hábil. De no ocurrir el pago en dicho plazo, de pleno derecho se tendrá por no efectuada la presentación, la que no producirá efecto alguno.

Alicia G. Álvarez (Mat. 895)

Lucía Scarpatti (Mat. 2198)
GESTOR DE NEGOCIOS

Firma del / los autorizado / s

Firma del solicitante o su apoderado o representante legal

USO INTERNO

LA PRESENTACION CONSTA DE

FOJAS

CAMBIO DE DOMICILIO/CORREO ELECTRONICO/TELEFONO:

FECHA

Domicilio Real - Calle

N°

Localidad

C.P. N°

País de Residencia

Domicilio Legal - Calle - N° - Localidad - Provincia

Código Postal

Dirección de e-mail:

Teléfono

CAMBIO DE APODERADO / AUTORIZADO:

FECHA

Nuevo Apoderado o Autorizado:

TRANSFERENCIA O CAMBIO DE RUBRO:

INPI Exp.: **20170103689**

Trámite: 17250778 PATENTES Importe: \$3370.-

Fecha/Hora: 27/12/2017 14:3:19.337

Agente: ALVAREZ, ALICIA GRACIELA

**PARA USO
NACIONAL**

REPUBLICA ARGENTINA

INSTITUTO NACIONAL DE LA PROPIEDAD INDUSTRIAL
ADMINISTRACION NACIONAL DE PATENTES**ANEXO TITULARES**Hoja **2** de **3**

Título de la invención	MÉTODO DE DETECCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE UNA REACCIÓN QUÍMICA SOBRE LA SUPERFICIE DE UNA PELÍCULA MESOPOROSA Y KIT DE ENSAYO
------------------------	--

Cácter de la Patente / Modelo de Utilidad	INDEPENDIENTE
---	----------------------

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (CNEA)	C.U.I.T./C.U.I.L. / C.D.I.	30-54666021-0
--	----------------------------	----------------------

Consignar Nombre y Apellido o Denominación Social		D.N.I.
---	--	--------

Personas Físicas:	Estado Civil:	Nupcias
-------------------	---------------	---------

Nombre y apellido del cónyuge:	D.N.I.
--------------------------------	--------

Av. del Libertador 8250

Localidad	Ciudad Autónoma de Buenos Aires	C.P. N°	C1429BNP	País de Residencia	AR
-----------	--	---------	-----------------	--------------------	-----------

Persona Jurídica: Datos de inscripción en R.P.C. / I.G.J.	Fecha	Número	Nro Folio	Tomo
	/ /			

Dirección de e-mail:	patentes@berkenip.com	Teléfono	5252-2452
----------------------	------------------------------	----------	------------------

Alicia G. Álvarez (Mat. 895) y/o Lucía Scarpati (Mat. 2198)
Av. Santa Fe 1863 Piso 1 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C1123AAA)
EN CARACTER DE GESTOR DE NEGOCIOS AGENTE N°:895
EMAIL:patentes@berkenip.com TEL:5252-2452

(Firma)
Lucía Scarpati (Mat. 2198)
GESTOR DE NEGOCIOS

Datos del representante legal

Firma del solicitante o su representante legal

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL	C.U.I.T./C.U.I.L. / C.D.I.	30-54667055-0
---	----------------------------	----------------------

Consignar Nombre y Apellido o Denominación Social		D.N.I.
---	--	--------

Personas Físicas:	Estado Civil:	Nupcias
-------------------	---------------	---------

Nombre y apellido del cónyuge:	D.N.I.
--------------------------------	--------

Boulevard Pellegrini 2750

Localidad	Santa Fe Pcia. de Santa Fe	C.P. N°	3000	País de Residencia	AR
-----------	-----------------------------------	---------	-------------	--------------------	-----------

Persona Jurídica: Datos de inscripción en R.P.C. / I.G.J.	Fecha	Número	Nro Folio	Tomo
	/ /			

Dirección de e-mail:	patentes@berkenip.com	Teléfono	5252-2452
----------------------	------------------------------	----------	------------------

Alicia G. Álvarez (Mat. 895) y/o Lucía Scarpati (Mat. 2198)
Av. Santa Fe 1863 Piso 1 - Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C1123AAA)
EN CARACTER DE GESTOR DE NEGOCIOS AGENTE N°:895
EMAIL:patentes@berkenip.com TEL:5252-2452

(Firma)
Lucía Scarpati (Mat. 2198)
GESTOR DE NEGOCIOS

Datos del representante legal

Firma del solicitante o su representante legal

MEMORIA DESCRIPTIVA DE LA PATENTE DE INVENCION

SOBRE

**“MÉTODO DE DETECCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE UNA REACCIÓN QUÍMICA SOBRE LA
SUPERFICIE DE UNA PELÍCULA MESOPOROSA Y KIT DE ENSAYO”**

SOLICITADA POR:

- (1) CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET)**
- (2) COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (CNEA)**
- (3) UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL**

CON DOMICILIO EN:

- (1) Godoy Cruz 2290 Piso 10, C1425FQB Ciudad Autónoma de Buenos Aires - ARGENTINA**
- (2) Av. del Libertador 8250, C1429BNP Ciudad Autónoma de Buenos Aires - ARGENTINA**
- (3) Boulevard Pellegrini 2750, 3000 Santa Fe Pcia. de Santa Fe - ARGENTINA**

INVENTORES

Martín G. BELLINO: Lavoisier 3370, C1431DTH Ciudad Autónoma de Buenos Aires - ARGENTINA
Claudio L. A. BERLI: Suipacha 3052, S3000AZS Santa Fe Pcia. de Santa Fe - ARGENTINA
Magalí MERCURI: Av. Olazábal 5421, C1431CGK Ciudad Autónoma de Buenos Aires - ARGENTINA

POR EL PLAZO DE 20 AÑOS

MÉTODO DE DETECCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE UNA REACCIÓN QUÍMICA SOBRE LA SUPERFICIE DE UNA PELÍCULA MESOPOROSA Y KIT DE ENSAYO

Área técnica de la invención

La presente invención se relaciona con un método y kit de ensayo para detectar y localizar la ocurrencia de una reacción química y en consecuencia detectar la presencia de sustancias de interés. La detección se realiza sobre una película delgada mesoporosa por interacción de gotas de muestras de ensayo.

Antecedentes de la invención

La nanofluídica ha demostrado ser un medio muy útil para aplicaciones en tareas tan diversas como separación, conversión de energía, manipulación molecular y detección por sensores. La simplicidad de los sistemas nanofluídicos promete ser tan revolucionaria en las próximas décadas como lo fue la miniaturización de los dispositivos microfluídicos en el pasado. Un dispositivo que consiste solamente en una superficie representaría el último límite para las plataformas nanofluídicas.

Las reacciones químicas en lugares específicos están siendo cada vez más necesarias para estudiar procesos biológicos que ocurren en compartimentos celulares, para sintetizar novedosas nanoestructuras y lograr relevamiento combinatorio en ensayos de alto rendimiento. Para llevar a cabo reacciones en sitios localizados y en tales dimensiones, es crítico manipular los reactivos y controlar su mezclado en localizaciones bien definidas.

El uso de películas delgadas mesoporosas como plataformas para reacciones químicas, así como algunas de sus aplicaciones específicas han sido descritos en la literatura de patentes.

La patente US 6120891 describe una película delgada mesoporosa de un metal de transición, por ejemplo titanio, y un método para obtener dicha película. Se describe la utilidad de dichas películas por su capacidad catalítica y de adsorción, pero no se menciona la posibilidad de llevar a cabo reacciones químicas localizadas y análisis de muestras. No se hace referencia a la comunicación nanofluídica entre reactivos que no entran en contacto macroscópicamente. Tampoco se detalla que el método consista en depositar gotas de los reactivos sobre la superficie de la película mesoporosa.

En la solicitud JP 2007/187531 se describe un sensor microfluídico enzimático capaz de cuantificar la concentración de moléculas biológicas liberadas por un cultivo celular, con alta sensibilidad y velocidad. Consiste en una enzima alojada en un microreservorio que cataliza una reacción utilizando las biomoléculas liberadas por las células; el producto de la reacción es detectado por un electrodo. No se menciona la utilización de películas delgadas mesoporosas ni de reactivos que interactúen nanofluídicamente dando como resultado la localización espacial de reacciones químicas. Tampoco se hace alusión o se sugiere un método que contemple el depósito de gotas macroscópicas en la superficie.

La solicitud internacional WO 2012/069569 A1 describe el uso de una capa delgada de sílice mesoporosa como sensor gravimétrico para detectar vapores de compuestos con nitrógeno, con aplicaciones en monitoreo de contaminación ambiental. La capa de sílice se utiliza sobre una microbalanza de cristal de cuarzo, ya que las características de porosidad permiten una alta sensibilidad a pequeñas concentraciones, requiriendo una baja cantidad de reactivos. La solicitud no divulga ni sugiere el uso de películas mesoporosas para detectar reacciones químicas.

La solicitud US 2014/322518 A1 describe un material compuesto para la captura, separación o reacción química de una especie de interés. El material compuesto incluye un sustrato y una película delgada compuesta, formada por un polímero poroso y un material nanoestructurado. El material consiste esencialmente en una superficie sobre la que pueden reaccionar las especies químicas de interés. Sin embargo, no menciona la utilización de películas delgadas mesoporosas ni reactivos que interactúen nanofluídicamente de manera espontánea dando como resultado la localización espacial de reacciones químicas. Tampoco se hace alusión a un método que contemple el depósito de gotas macroscópicas en la superficie.

La solicitud internacional WO 2016/066681 A1 describe uso de una capa delgada de sílice utilizada como sensor para detectar la presencia de sustancias químicas en gases, así como a un método de obtención de dicha capa delgada. Este documento no menciona la posibilidad de detectar o localizar la reacción química en la superficie de dicha película mesoporosa mediante el depósito de gotas en la superficie, dado que el medio donde ocurren las reacciones de detección es gaseoso.

En general, los sistemas arriba expuestos resultan complejos y costosos, y requieren de una operación cuidadosa por parte de un operario altamente calificado. Además, en ninguno de los casos se menciona la interacción nanofluídica entre reactivos de manera espontánea a través

de una película mesoporosa, dando como resultado la localización espacial de reacciones químicas. Tampoco se hace mención a un método de bajo costo con un modo de operación sencillo que contemple el depósito de gotas macroscópicas en la superficie

Por lo tanto, existe la necesidad de proveer un método económico de detección o localización de una reacción sobre la superficie de una película mesoporosa de utilización sencilla y que no requiera de equipamiento especializado para el bombeo o inyección de fluidos.

Breve descripción de la invención

La presente invención consiste en utilizar la imbibición espontánea en películas delgadas mesoporosas como una plataforma versátil para localizar reacciones químicas a partir del simple depósito de gotas en la superficie de dichas películas.

La presente invención se distingue del arte previo referido al uso de materiales mesoporosos como sensores o para captura de analitos, ya que está referida a un método para obtener reacciones químicas localizadas mediante el depósito de gotas en la superficie de una película mesoporosa.

Es por lo tanto un objeto de la presente invención proveer un método de detección y localización de una reacción química entre dos o más soluciones que comprenden reactivos, que comprende las etapas de:

- proveer un sustrato que comprende una película mesoporosa,
- depositar una gota de cada una de las soluciones que comprenden reactivos sobre dicho sustrato,
- dejar producir la imbibición de las soluciones que comprenden reactivos en la película mesoporosa hasta que se produzca una zona de interacción entre dichas soluciones que comprenden reactivos y
- determinar la existencia de la reacción química entre los reactivos de las soluciones, en base a la ocurrencia de un cambio detectable en la zona de interacción.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención dicha película mesoporosa comprende al menos un óxido seleccionado a partir del grupo formado por TiO_2 , SiO_2 y ZrO_2 o una combinación de los mismos.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la película mesoporosa es depositada sobre un material seleccionado a partir del grupo formado por silicio y vidrio.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, una de las soluciones que comprenden reactivos es una muestra de una solución a analizar.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la existencia de reacción química se determina por la ocurrencia de un cambio detectable en la zona de interacción.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, el cambio detectable en la zona de interacción comprende un cambio en las propiedades ópticas de la zona de interacción.

En una forma de realización aún más preferida del método de la presente invención, el cambio en las propiedades ópticas comprende un cambio en la coloración de la zona de interacción.

En otra forma de realización preferida del método de la presente invención, el cambio detectable en la zona de interacción comprende la formación de un precipitado.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, el cambio detectable en la zona de interacción comprende una variación en la conductividad térmica o eléctrica de la zona de interacción.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la etapa de determinar la existencia de la reacción química comprende la identificación de un compuesto.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, el cambio detectable en la zona de interacción permite la identificación de un compuesto producto de la reacción o la identificación de un componente de una de las soluciones que comprenden reactivos.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, el cambio detectable en la zona de interacción es un cambio que depende de las concentraciones de los reactivos y comprende la formación de distintos patrones de bandas en la zona de interacción, permitiendo un análisis semicuantitativo de la solución a analizar. A los efectos de la presente invención se entiende por "patrón de bandas", una sucesión de líneas discretas en la zona de interacción que puede manifestarse por la presencia de un precipitado o coloración que indican

la ocurrencia de la reacción. Asimismo, se entiende por semicuantitativo un análisis que, sin llegar al detalle y rigor de una evaluación cuantitativa, permite una clasificación relativa de las concentraciones de reactivos.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, dichos reactivos comprenden iones plata (Ag^+) e iones cloruro (Cl^-) y el compuesto identificado es cloruro de plata AgCl .

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, distintas concentraciones de iones cloruro (Cl^-) reaccionan con iones plata (Ag^+) formando distintos patrones de bandas en la zona de reacción.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, dichos reactivos comprenden iones cobre (Cu^{2+}) e iones hidróxido (OH^-) y el compuesto identificado es hidróxido de cobre $\text{Cu}(\text{OH})_2$.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, dichos reactivos comprenden yoduro de potasio (KI) y agua oxigenada (H_2O_2) y el compuesto identificado es yodo (I_2).

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, dicha película mesoporosa tiene un diámetro de poro en el rango de entre alrededor de 6 nm a alrededor de 12 nm.

En una forma de realización preferida del método de la presente invención, la distancia entre dichas gotas de cada una de dichas soluciones que comprenden reactivos medida a partir de su centro geométrico, está en el rango de entre alrededor de 5 mm a alrededor de 30 mm.

En otra forma de realización preferida del método de la presente invención, el volumen de cada una de dichas gotas está en el rango de entre alrededor de 1 μL a alrededor de 50 μL , preferiblemente en el rango de 2 μL a 10 μL , más preferiblemente el volumen es de 5 μL .

Es otro objeto de la presente invención un kit de ensayo para llevar a cabo un método de detección de una reacción química que comprende:

un sustrato que comprende una película mesoporosa,

un contenedor que contiene un primer reactivo,

opcionalmente al menos otro contenedor que contiene un reactivo adicional; y

medios para depositar microgotas de los reactivos sobre la película mesoporosa.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** presenta la distribución de diámetros de poro y cuello de las películas mesoporosas de titania empleadas en el estudio, obtenidas por isothermas de adsorción de agua. Los insertos representan imágenes de microscopía electrónica de barrido de dichas películas.

La **Figura 2** ilustra una forma de realización del método de detección de la presente invención a partir de soluciones de nitrato de plata (AgNO_3) y cloruro de sodio (NaCl). En la Fig. 2 a) se observa una fotografía de las gotas de soluciones depositadas en la superficie de la película mesoporosa. En la Fig. 2 b) se representa esquemáticamente el sistema, ilustrando la imbibición espontánea de la película y la formación de una interfase por conexión nanofluidica que comprende un precipitado de cloruro de plata (AgCl). En la Fig. 2 c) se observa la evolución temporal de la interfase formada que permite detectar o localizar la reacción química. En la Figura 2 d) se muestran zonas de reacción donde se observa la presencia de bandas de reacción entre una solución de nitrato de plata (AgNO_3) de 0,1 mol/l y soluciones de cloruro de sodio (NaCl) de distintas concentraciones: 0,01 mol/l, 0,1 mol/l y 1 mol/l.

La **Figura 3** muestra fotografías de las interfases obtenidas en formas de realización del método de la presente invención, donde se observa la formación de hidróxido de cobre $\text{Cu}(\text{OH})_2$ y sulfato de sodio (Na_2SO_4) en la Fig. 3 a) e hidróxido de potasio (KOH) y yodo (I_2) en la Fig. 3 b).

La **Figura 4** muestra la evolución temporal de la interfase formada que permite detectar o localizar la reacción química en un sistema donde la película mesoporosa está depositada sobre vidrio.

La **Figura 5** muestra una reacción, a modo comparativo, a escala macroscópica entre gotas de nitrato de plata (AgNO_3) y cloruro de sodio (NaCl) utilizando una superficie que comprende vidrio (Fig. 5 a)) y una superficie que comprende silicio (Fig. 5 b)), en ausencia de películas mesoporosas.

Descripción detallada de la invención

A los efectos de la presente invención, el término "mesoporoso" se aplica a los materiales porosos que presentan un diámetro de poros comprendido entre 2 nm y 50 nm, según la

definición de la IUPAC, es decir materiales comprendidos entre las categorías “microporoso” y “macroporoso”.

Los materiales mesoporosos típicos que pueden ser empleados en las películas utilizadas en la presente invención incluyen algunas clases de sílice y alúmina, así como óxidos de niobio, tantalio, titanio, zirconio, cerio y estaño.

El método de detección descrito en la presente comprende un sistema de reacción, formado por gotas que comprenden reactivos que se infiltran en el interior de la película mesoporosa.

Debido a las características de dicho sistema y a los resultados conocidos a escala macroscópica, se esperaría que la reacción ocurra en la totalidad de la superficie infiltrada, debido a fenómenos transferencia de materia.

Sorprendentemente, se ha encontrado que la reacción dentro de las películas mesoporosas se produce de manera localizada, a diferencia de lo que sucede por el contacto directo y macroscópico de las gotas. La imbibición espontánea de los reactivos en el medio mesoporoso provoca que la reacción se produzca en ausencia de contacto macroscópico entre las gotas.

La presente invención representa un enfoque alternativo a las tecnologías tradicionales de localización y detección de reacciones químicas. Este enfoque denominado “Nanofluidica a Cielo Abierto” (NCA), evita las costosas etapas convencionales del desarrollo de microdispositivos que suelen realizarse a partir de tecnologías de microfabricación. La presente invención puede ser empleada para mezclar reactivos a partir de gotas que no están en contacto físico directo. Los reactivos se mezclan a expensas de la conexión nanofluidica a través de la película mesoporosa. Las gotas de reactivos pueden ser utilizadas como reservorios para llevar a cabo reacciones espacialmente localizadas en regiones de escala micrométrica.

La compleja dinámica de llenado de películas delgadas mesoporosas de óxidos (PDMO) es particularmente adecuada para llevar a cabo dichos procesos nanofluidicos. Además, las PDMO de moldeo supramolecular garantizan el control de las morfologías porosas que consisten en poros nanoscópicos conectados mediante cuellos más pequeños. Cuando una gota es depositada sobre la superficie de una PDMO, el líquido de la gota reservorio ingresa al sustrato poroso y se forma un anillo en la periferia de la gota que representa la infiltración del líquido dentro de la película mesoporosa. Los anillos crecen por capilaridad en sus límites

libres a partir de dos puntos de referencia (gotas). Cuando estos frentes de fluido se encuentran, se unen formando una conexión nanofluidica. Los inventores han hallado que este sorprendente comportamiento permite el posicionamiento confinado y programable de reacciones químicas a partir de reactivos en gotas

En la presente, el término "mesoporoso" se refiere a materiales porosos, cuya dimensión de poro característica está en el rango comprendido entre 2 y 50 nm.

El término "nanofluidico" se refiere al estudio, control y manipulación de fluidos confinados en estructuras, cuya longitud característica es del orden del nm. Se llamará "conexión nanofluidica" al mecanismo por el cual es generada una interfase a partir de la infiltración en poros de escala nanométrica.

Cuando dichas reacciones químicas no producen un resultado directamente visible a ojo desnudo o mediante microscopía óptica convencional, pueden utilizarse distintos métodos/equipamiento de detección en caso de ser necesario, como por ejemplo microscopía de fluorescencia, espectroscopía UV-visible, o medición de la conductividad térmica o eléctrica en la zona de interacción.

La presente invención será descrita en mayor detalle a continuación, con referencia a las figuras y ejemplos de realización. Dichos ejemplos son ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Para los ejemplos a continuación, se sintetizó una película mesoporosa de dióxido de titanio, designado asimismo indistintamente como titania, a partir de la técnica sol gel, que comprende el control de la hidrólisis y la condensación de los precursores inorgánicos, combinada con el autoensamblado de tensioactivos o copolímeros que actúan como moldes de poro inducido por evaporación. Luego de tratamientos de post-estabilización a humedad y temperatura controladas, el agente estructurante es eliminado por calcinación, obteniendo las películas mesoporosas. El procedimiento se describe, por ejemplo, en Mercuri et al., *An Open Pit Nanofluidic Tool: Localized Chemistry Assisted by Mesoporous Thin Film Infiltration*, ACS Appl. Mater. Interfaces, 2017, 9 (19), pp 16679–16684). Se obtuvieron superficies de 180 nm de espesor con arreglos de poros alineados con una mesoestructura similar a conductos (CLM, por sus siglas en inglés *Conduit-like mesostructure*), porosidad de 50%, tamaño de poro de 6 nm y tamaño de cuello de poro de 4,1 nm y superficies de 180 nm de espesor con arreglos de

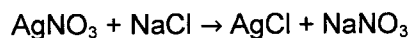
poros ordenados (LOM, por sus siglas en inglés *Locally-Ordered Mesosstructure*), porosidad de 45%, tamaño de poro de 12 nm y tamaño de cuello de poro de 4,5 nm Las caracterizaciones de las mesoestructuras se presentan en la Fig.1.

Ejemplo 1

Sobre un soporte de silicio, se utiliza la película mesoporosa sintetizada para llevar a cabo el método de la presente invención. A tal efecto, se deposita sobre la superficie de dicha película una gota de 5 μL de una solución de cloruro de sodio (NaCl) de concentración 1 mol/L y una gota de 5 μL de solución de nitrato de plata (AgNO_3) de concentración 0,1 mol/L, siendo la distancia entre las gotas, medidas a partir de sus centros geométricos, de alrededor de 10 mm. Los ensayos fueron llevados a cabo a 23°C y con una humedad relativa del 46%.

En la Fig. 2 puede observarse una representación fotográfica (Fig. 2 a)), así como una representación esquemática (Fig. 2b)) del experimento. Las imágenes corresponden a las superficies CLM, siendo representativas del fenómeno también observado en las superficies LOM. Se observa el crecimiento de anillos a partir de ambas gotas por imbibición capilar, hasta la formación de una interfase entre ellos, la zona de interacción. Dichos anillos pueden ser visualizados claramente, ya que la región mojada posee un índice de refracción distinto al de la zona seca circundante.

De manera sorprendente, en este experimento se obtuvieron reacciones localizadas en la interfase entre los anillos, posibilitando la identificación del proceso de precipitación utilizando microscopía óptica. La reacción localizada es la precipitación del AgCl a partir de una solución de 0,1 mol/l de AgNO_3 y una solución de 1 mol/l de NaCl .



La Fig. 2 c) muestra tomas fotográficas representativas de la reacción localizada, a distintos tiempos.

Los resultados experimentales indican que es posible localizar la reacción de precipitación del cloruro de plata (AgCl) debido a la comunicación nanocapilar de los diferentes reservorios de gotas. Esto muestra la capacidad del método de la presente invención para localizar reacciones químicas en la conexión nanoflúidica.

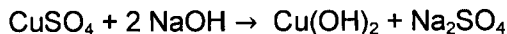
Dicha conexión o junta, en la zona de interacción, tal como se observa en la Fig. 2 c), es representada por la delgada línea oscura. La misma corresponde a un aumento local del índice de refracción de la película debido a la presencia de precipitados.

De este modo puede verificarse la existencia de metales como Ag en muestras de soluciones acuosas sospechadas de contener dicho metal, haciéndolas reaccionar con soluciones conocidas de cloruro de sodio.

En la Figura 2 d) se observa que la conexión o junta, en la zona de interacción, presenta sorprendentemente un patrón de bandas característico que varía según la concentración de cloruro de sodio (NaCl) utilizada. En los ejemplos de realización mostrados en dicha Figura 2 d) se emplearon concentraciones de NaCl de 0,01, 0,1 y 1 mol/L, para una misma concentración de nitrato de plata (AgNO₃) de 0,1 mol/L. La formación de diferentes patrones de bandas permite la identificación semicuantitativa de la concentración de sustancias en soluciones.

Ejemplo 2

En un sistema análogo al del ejemplo 1, se estudió la detección de doble sustitución entre una solución de 0,1 mol/L de sulfato de cobre (CuSO₄) y una solución de 1 mol/L de hidróxido de sodio (NaOH) que forma un precipitado de hidróxido de cobre (Cu(OH)₂)

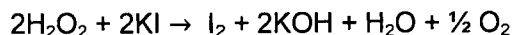


La reacción localizada puede ser observada en la Fig. 3 a).

De este modo puede verificarse la existencia de metales como Cu en muestras de soluciones acuosas sospechadas de contener dicho metal, haciéndolas reaccionar con soluciones conocidas de hidróxido de sodio.

Ejemplo 3

En un sistema análogo al de los ejemplos 1 y 2, se estudió la detección de la reacción de descomposición de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 30% p/p en presencia de una solución de 7 mol/L de yoduro de potasio (KI) como catalizador, que forma yodo (I₂).



La reacción localizada puede ser observada en la Fig. 3 b).

De este modo puede verificarse la existencia de iones yoduro en muestras de soluciones acuosas sospechadas de contener dicho anión, haciéndolas reaccionar con soluciones conocidas de peróxido de hidrógeno.

Ejemplo 4

Se ensayó un sistema análogo al del ejemplo 1, pero utilizando vidrio como soporte para la película mesoporosa.

Los resultados obtenidos pueden observarse en la Fig. 4, donde se muestra la evolución de la interfase en el tiempo, con la formación de un precipitado en la zona de interacción. Por lo tanto, el método de la presente invención puede ser utilizado tanto en soportes fabricados a partir de silicio, como en soportes fabricados a partir de vidrio.

Ejemplo 5 (Ensayo Comparativo)

A modo ilustrativo, se llevó a cabo la reacción descrita en el ejemplo 1 pero a escala macroscópica, con gotas del orden de 5 μL , utilizando tanto sustratos fabricados a partir de silicio como a partir de vidrio. En primer lugar, se colocó una gota de 5 μL de una solución de nitrato de plata de 0,1 mol/L sobre cada una de las superficies (vidrio y silicio) y seguidamente se colocó una gota de 5 μL de una solución de cloruro de sodio de 1 mol/l en contacto directo con la gota conteniendo nitrato de plata. Se observó que las gotas se unieron al ponerse en contacto y la reacción ocurrió en forma deslocalizada y en todo el fluido.

Los resultados obtenidos pueden observarse en la Fig. 5. En dicha figura, se observa que la reacción a escala macroscópica no ocurre de manera localizada, sino que ocurre en todo el seno del fluido. Similares resultados de reacciones químicas no localizadas se observaron al colocar gotas en contacto directo a partir de los reactivos de los demás ejemplos.

La localización específica del producto de la reacción en el sistema nanofluídico es una diferenciación clara respecto a la reacción a escala macroscópica.

Cuando la reacción se desarrolla por la imbibición de los fluidos en el medio mesoporoso, se obtiene un producto de reacción que es el resultado de la interacción nanofluídica entre los reactivos, en ausencia de contacto macroscópico entre ellos.

El control espacial de la reacción química es una clara ventaja para el monitoreo de las reacciones, como así también para producir y estudiar reacciones confinadas.

El método de la presente invención resulta de muy sencilla implementación, debido a la ausencia de etapas complejas y equipamiento específico.

La verificación de la existencia de una determinada especie química en una muestra sospechada de contenerla puede así realizarse fácilmente mediante el método de la presente

invención, seleccionando adecuadamente la solución reactiva complementaria que se conoce producirá un resultado detectable al producirse la reacción en la película mesoporosa.

La sencillez del método otorga la posibilidad de prescindir de un operador altamente calificado para llevar a cabo los procesos de detección. Además, la provisión de únicamente una superficie mesoporosa y el hecho de que el procedimiento no requiera de sistemas de bombeo/inyección de fluidos permiten que el método sea portable.

Una ventaja adicional es la baja cantidad de volumen de reactivos necesario, dado que sólo se requiere una gota del orden de los microlitros.

Cabe destacar que la síntesis de la película mesoporosa mediante la técnica sol-gel, combinada con el autoensamblado inducido por evaporación, resulta económica. Teniendo en cuenta además el bajo costo de la implementación del método, el mismo en su totalidad resulta sumamente económico.

Por otro lado, el método resulta versátil debido a que la plataforma no requiere ser funcionalizada para cada reacción a ser detectada. Además, esta característica convierte al método en universal, pudiendo llevar a cabo los distintos tipos de reacciones químicas localizadas a partir de una misma superficie mesoporosa.

Los usos y aplicaciones del método descrito en la presente son tan amplios como las áreas en donde se utilizan reacciones químicas para detección, testeo, diagnóstico, etc.

Como ejemplos no limitativos, el método de la presente puede ser utilizado en el contexto de la industria sanitaria, en ensayos bromatológicos y medioambientales y hasta en la vida cotidiana, existiendo la posibilidad de realizar ensayos en laboratorios o pruebas de campo.

En el ámbito de la industria sanitaria, la presente invención podría ser utilizada para detectar la presencia de compuestos de interés en fluidos corporales, tanto en humanos como en animales.

En el área de bromatología el método podría ser empleado para detectar la presencia de sustancias tóxicas o indicadoras del estado del alimento.

Por otro lado, en el caso de ensayos medioambientales, el método puede utilizarse para la detección de sustancias agrotóxicas, como pesticidas o herbicidas.

La simplicidad de los testeos mediante este método permite que la invención pueda ser aplicada incluso en la vida cotidiana, como por ejemplo en las áreas mencionadas, para evaluar el estado de los alimentos y bebidas para consumo y en ensayos clínicos en primera instancia.

Cabe destacar que en todas las áreas la invención puede utilizarse como un método preliminar que permite rápidamente y de manera sencilla evaluar y descartar hipótesis en torno a la determinación que hace el método sobre la presencia/ausencia de una dada sustancia. De esta manera, puede acotarse la necesidad de ensayos específicos posteriores a realizarse sobre la población de muestras.

Como se utiliza en la presente, los términos "comprende", "tiene" e "incluye" y sus conjugaciones, como se utilizan en la presente, significan "incluyendo pero no limitado a".

Los entendidos en la técnica reconocerán o podrán determinar, usando solamente la experimentación de rutina, muchos equivalentes de los procedimientos específicos, realizaciones, reivindicaciones y ejemplos descritos en el presente. Dichos equivalentes se consideran como dentro del alcance de la presente invención y cubiertos por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un método de detección y localización de una reacción química entre dos o más soluciones que comprenden reactivos, caracterizado porque comprende las etapas de:

- a) proveer un sustrato que comprende una película mesoporosa,
- b) depositar una gota de cada una de las soluciones que comprenden reactivos sobre dicho sustrato,
- c) dejar producir la imbibición de las soluciones que comprenden reactivos en la película mesoporosa hasta que se produzca una zona de interacción entre dichas soluciones que comprenden reactivos; y
- d) determinar la existencia de la reacción química entre los reactivos de las soluciones, en base a la ocurrencia de un cambio detectable en la zona de interacción.

2. El método de detección de una reacción química de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha película mesoporosa comprende al menos un óxido seleccionado del grupo formado por SiO_2 , TiO_2 , ZrO_2 , Al_2O_3 o una combinación de los mismos.

3. El método de detección de una reacción química de acuerdo con la reivindicación 1 y 2, caracterizado además porque la película mesoporosa está soportada en un material seleccionado del grupo formado por silicio y vidrio.

4. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque una de las soluciones que comprenden reactivos es una muestra de una solución a analizar.

5. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el cambio detectable en la zona de interacción comprende un cambio en las propiedades ópticas de la zona de interacción.

6. El método de detección de una reacción química de acuerdo con la reivindicación 5, caracterizado porque el cambio en las propiedades ópticas de la zona de interacción comprende un cambio de coloración en la zona de interacción.

7. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el cambio detectable en la zona de interacción comprende la formación de un patrón de bandas o líneas sucesivas discretas en la zona de interacción.

8. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el cambio detectable en la zona de interacción comprende la formación de un precipitado.
9. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque el cambio detectable en la zona de interacción comprende una variación en la conductividad térmica o eléctrica de la zona de interacción.
10. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, caracterizado porque en base al cambio detectable en la zona de interacción se identifica un compuesto producto de la reacción o un componente de una de las soluciones que comprenden reactivos.
11. El método de detección de una reacción química de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizado porque en base al patrón de bandas en la zona de interacción se identifica semicuantitativamente un componente, y su concentración en solución, en una de las soluciones que comprenden reactivos.
12. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque dicha película mesoporosa tiene un diámetro de poro en el rango de entre aproximadamente 6 nm a aproximadamente 12 nm.
13. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque la distancia entre dichas gotas de cada una de dichas soluciones que comprenden reactivos medida a partir de su centro geométrico está en el rango de entre aproximadamente 5 mm a aproximadamente 30 mm.
14. El método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque el volumen de cada una de dichas gotas está en el rango de entre aproximadamente 1 μL a aproximadamente 50 μL .
15. El método de detección de una reacción química de acuerdo con la reivindicación 14, caracterizado porque el volumen de cada una de dichas gotas está en el rango de entre 2 μL a 10 μL .
16. El método de detección de una reacción química de acuerdo con la reivindicación 14 o 15, caracterizado porque el volumen de cada una de dichas gotas es de 5 μL .

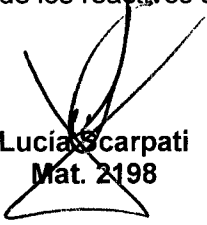
17. Un kit de ensayo para llevar a cabo el método de detección de una reacción química de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque comprende:

un sustrato que comprende una película mesoporosa,

un contenedor que contiene un primer reactivo,

opcionalmente al menos otro contenedor que contiene un reactivo adicional; y

medios para depositar microgotas de los reactivos sobre la película mesoporosa.



Lucía Scarpatti
Mat. 2198

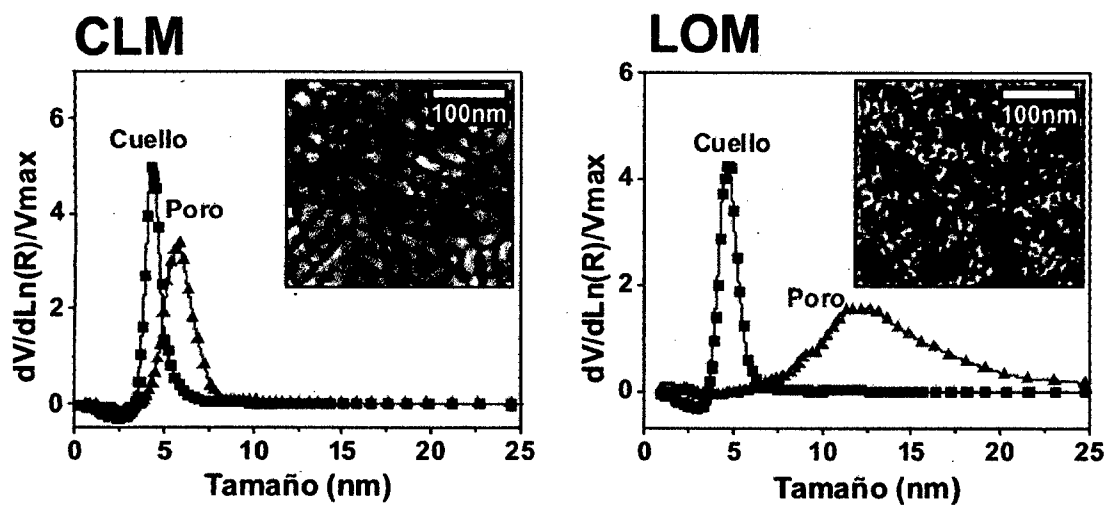


Figura 1

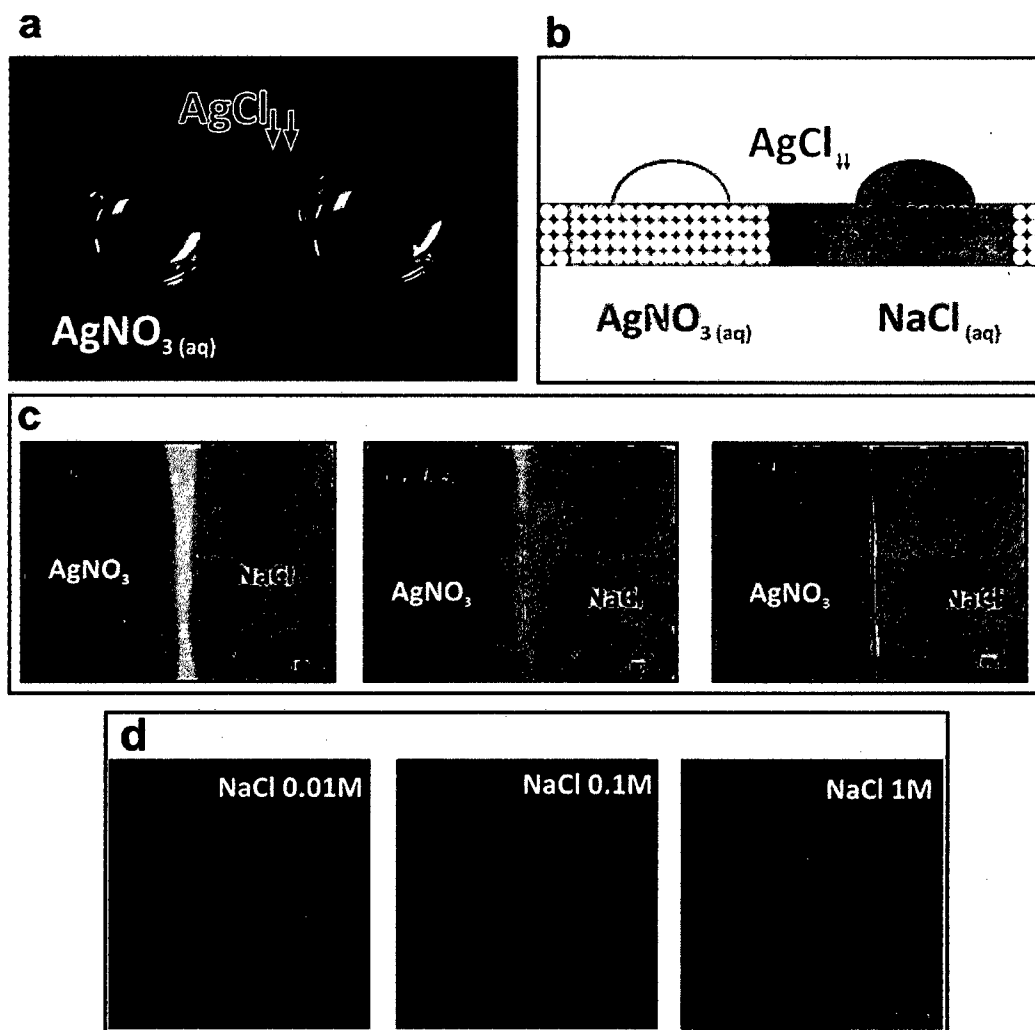


Figura 2

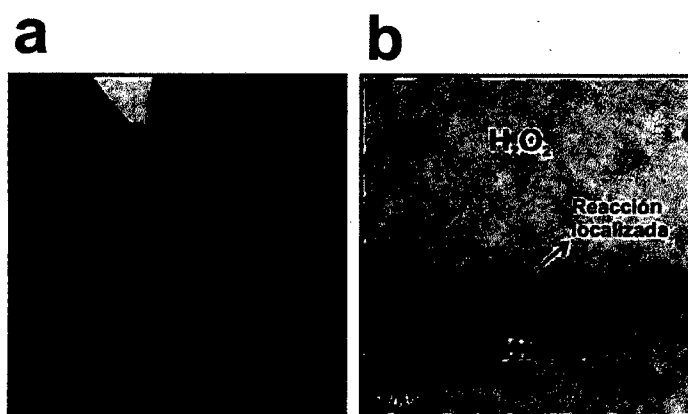


Figura 3

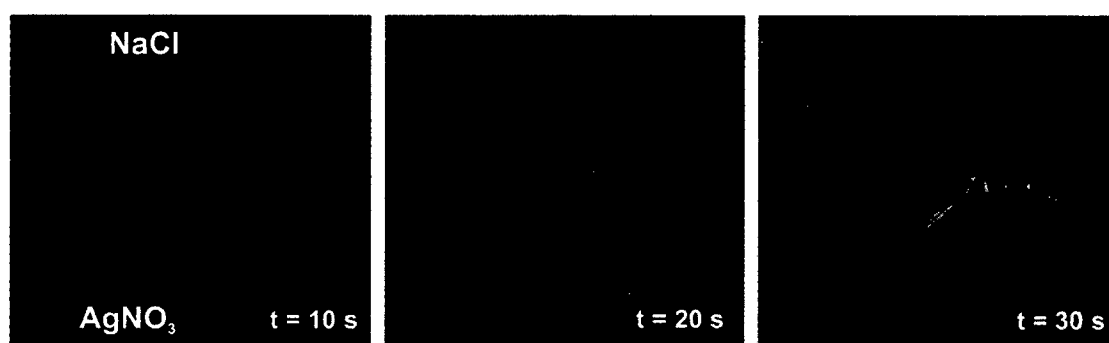


Figura 4

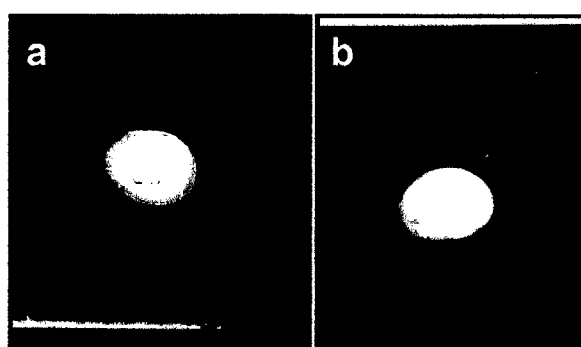


Figura 5

Resumen

La presente invención se relaciona con un método y kit de ensayo para localizar y detectar la ocurrencia de una reacción química mediante el contacto nanofluídico de las muestras y reactivos depositados en forma de microgotas sobre una película mesoporosa, y en consecuencia detectar la presencia de sustancias de interés. El método descrito en la presente posee ventajas en cuanto a sus etapas y bajos costos operativos, y permite su implementación en un dispositivo portátil. El método puede ser utilizado en el contexto de la industria sanitaria, en ensayos bromatológicos y medioambientales, o en cualquier otra aplicación que incluya la detección de una reacción química.

**PARA USO EXCLUSIVO
DE LA PROSECUCIÓN**

INPI Exp.: **20170103689**



Trámite: 17250778 PATENTES Importe: \$3370.-

Fecha/Hora: 27/12/2017 14:3:19.337

Agente: ALVAREZ, ALICIA GRACIELA



REPÚBLICA ARGENTINA

**INSTITUTO NACIONAL DE
ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE PATENTES**

HOJA TÉCNICA



Hoja **3** de **3**

(10) PUBLICACION N°: AR (12) ☒ PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD

(21) SOLICITUD N°: (51) INT.CL.:

(22) FECHA DE SOLICITUD

//

(71) SOLICITANTE (S):

(30) DATOS PRIORIDAD

CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
Y TÉCNICAS (CONICET)

COMISIÓN NACIONAL DE ENERGÍA ATÓMICA (CNEA)

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

(41) FECHA DE
PUBLICACION
BOLETIN N°:

//

(72) INVENTOR(ES):

Martin G. BELLINO;
Claudio L. A. BERLI;
Magali MERCURI.

(61) ADICIONAL A :

(62) DIVISIONAL DE :

(74) AGENTE:

895

(83) DEPOSITO DE
MICROORGANISMOS

//

(54) TÍTULO DE LA INVENCION :

**MÉTODO DE DETECCIÓN Y LOCALIZACIÓN DE UNA REACCIÓN QUÍMICA SOBRE LA SUPERFICIE
DE UNA PELÍCULA MESOPOROSA Y KIT DE ENSAYO**

(57) RESUMEN:

La presente invención se relaciona con un método y kit de ensayo para localizar y detectar la ocurrencia de una reacción química mediante el contacto nanofluidico de las muestras y reactivos depositados en forma de microgotas sobre una película mesoporosa, y en consecuencia detectar la presencia de sustancias de interés. El método descrito en la presente posee ventajas en cuanto a sus etapas y bajos costos operativos, y permite su implementación en un dispositivo portátil. El método puede ser utilizado en el contexto de la industria sanitaria, en ensayos bromatológicos y medioambientales, o en cualquier otra aplicación que incluya la detección de una reacción química.

FIGURA MAS REPRESENTATIVA N°:

