

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad
Intelectual
Oficina internacional



(10) Número de Publicación Internacional
WO 2011/086209 A1

(43) Fecha de publicación internacional
21 de julio de 2011 (21.07.2011)

PCT

- (51) Clasificación Internacional de Patentes:
B81C 1/00 (2006.01) *B82Y 15/00* (2011.01)
- (21) Número de la solicitud internacional:
PCT/ES2010/070853
- (22) Fecha de presentación internacional:
21 de diciembre de 2010 (21.12.2010)
- (25) Idioma de presentación: español
- (26) Idioma de publicación: español
- (30) Datos relativos a la prioridad:
P 200931261
23 de diciembre de 2009 (23.12.2009) ES
- (71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): **CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC)** [ES/ES];
C/ Serrano, 117, E-28006 Madrid (ES).
- (72) Inventores; e
- (75) Inventores/Solicitantes (para US solamente):
BALDRICH RUBIO, Eva [ES/ES]; Instituto de Microelectrónica de Barcelona (IMB-CNM), Campus Universidad Autónoma (Bellaterra), E-08193 Cerdanyola del Vallès (Barcelona) (ES). **MUÑOZ PASCUAL, Fco. Javier** [ES/ES]; Instituto de Microelectrónica de Barcelona (IMB-CNM), Campus Universidad Autónoma (Bellaterra), E-08193 Cerdanyola del Vallès (Barcelona) (ES).
- (74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Ángel**; Glorieta de Rubén Darío, 4, E-28010 Madrid (ES).
- (81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible):
ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

- con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))
- antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))

(54) Title: METHOD FOR COATING ELECTRODES OF AN ELECTRONIC DEVICE BY MEANS OF MAGNETIC TRAPPING, RESULTING ELECTRODE, DEVICE INCLUDING SAME AND USE OF SAID DEVICE

(54) Título : PROCEDIMIENTO DE RECUBRIMIENTO DE ELECTRODOS DE UN DISPOSITIVO ELECTRÓNICO POR ATRAPAMIENTO MAGNÉTICO, ELECTRODO ASÍ OBTENIDO, DISPOSITIVO QUE INCORPORA DICHO ELECTRODO Y USO DE DICHO DISPOSITIVO

(57) Abstract: The invention relates to a method for producing coatings on one of the electrodes, known as the working electrode, of electronic devices used to take amplified electrochemical measurements. According to the invention, once the measurement has been taken, the coating can be removed, returning the electronic device to its pre-coating state, thereby allowing the re-use thereof for other measurements, using the same or a different coating.

(57) Resumen: Se describe un procedimiento para producir recubrimientos en uno de los electrodos, denominado electrodo de trabajo, de dispositivos electrónicos destinados a la realización de medidas electroquímicas amplificadas, y que una vez realizada la medida el recubrimiento pueda ser desprendido devolviendo el dispositivo electrónico a su estado anterior a la realización de recubrimiento; pudiendo ser reutilizado para realizar otras medidas, usando el mismo u otro recubrimiento.



WO 2011/086209 A1

**PROCEDIMIENTO DE RECUBRIMIENTO DE ELECTRODOS DE UN
DISPOSITIVO ELECTRÓNICO POR ATRAPAMIENTO MAGNÉTICO,
ELECTRODO ASI OBTENIDO, DISPOSITIVO QUE INCORPORA DICHO
ELECTRODO Y USO DE DICHO DISPOSITIVO**

5

DESCRIPCIÓN

OBJETO DE LA INVENCIÓN

La presente invención pertenece al campo de los dispositivos
10 microelectrónicos y los recubrimientos específicos para electrodos de dichos
dispositivos microelectrónicos.

Un primer objeto de la presente invención es un dispositivo
microelectrónico en que al menos un electrodo ha sido modificado con un
recubrimiento desprendible mediante atrapamiento magnético.

15 Un segundo objeto de la invención consiste en un procedimiento para
poder realizar recubrimientos desprendibles sobre electrodos de dispositivos
microelectrónicos mediante atrapamiento magnético.

20 **ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

Desde su descubrimiento, los nanotubos de carbono (NTC) se han
convertido en uno de los nanomateriales más prometedores y tanto el
procedimiento de producción como su purificación, modificación y/o
funcionalización han sido extensamente sometidos a protección industrial. Aparte
25 de otras muchas aplicaciones potenciales, los NTC han sido explotados en un
importante número de aplicaciones electroanalíticas y sensoras. Esto es
principalmente debido al hecho de que la incorporación de NTC a los diferentes
tipos de electrodos permite tomar ventaja de la alta resistencia mecánica de este
nanocomponente, que también muestra gran estabilidad química y conductividad
30 electrónica. Los electrodos modificados con NTC presentan además superficies
activas de mayor rugosidad y superficie, niveles más bajos de adsorción
inespecífica de biocomponentes, niveles importantes de actividad electrocatalítica

hacia una gran variedad de moléculas, y mayor eficiencia de transferencia de electrones que electrodos similares no modificados.

La estrategia más simple para la producción de electrodos modificados con NTC consiste en depositar un pequeño volumen de una dispersión de NTC (por lo
5 general preparada en disolventes orgánicos) sobre la superficie del electrodo, seguido de la evaporación del disolvente. Sin embargo, un cierto número de estrategias alternativas han sido descritas hasta la fecha, basadas entre otras en la electrodeposición, electroforesis, estampado, spin-coating, atrapamiento,
10 conjugación química/covalente y autoensamblado de capas alternas (Layer-by-layer formation) de los NTC. En parte de los trabajos existentes, los NTC se incorporan a la superficie del electrodo en combinación con biopolímeros, aceites minerales, polímeros conductores y/o nanopartículas, dando forma a una variedad de materiales compuestos que mejoran de forma importante el rendimiento
15 electroquímico del electrodo.

Sin embargo, estos procedimientos generalmente implican estrategias de producción de al menos horas y rara vez son compatibles con la regeneración fácil del electrodo mediante eliminación de los NTC. Un solo informe (patente y
20 artículo 2004-2005) describe el uso combinado de NTC y nanopartículas magnéticas. En él se describe la adsorción inespecíficas de nanopartículas magnéticas (5-100 nm) sobre la superficie de los NTC, suspensión en una matriz (polimérica, cerámica, metálica, un gel), alineamiento mediante un campo magnético, y solidificación del compuesto por secado/eliminación de la matriz. El
25 material resultante es entonces cortado en láminas, sin especificarse ninguna aplicación potencial.

La incorporación de nanotubos de carbono (NTC) a la superficie de electrodos contribuye a aumentar su rugosidad y superficie, reduce el nivel de
30 adsorción inespecífica de biocomponentes, proporciona actividad electrocatalítica frente a una variedad de moléculas, y mejora la transferencia de electrones. Hasta la fecha, este tipo de modificación se basa en la

deposición irreversible de los NTC sobre la superficie mediante estrategias poco compatibles con la reutilización del electrodo, a menudo utilizando disolventes orgánicos potencialmente dañinos para el operador y el medio ambiente. Además, como los NTC son un material altamente poroso, los
5 electrodos modificados con NTC pueden sufrir niveles de adsorción inespecífica y/o electrodeposición de biomoléculas demasiado altos para garantizar ausencia de contaminación cruzada entre muestras en estudio y la especificidad y reproducibilidad del protocolo de medida.

10 La deposición de NTC dispersos en disolventes orgánicos tiene en algunos casos efectos perjudiciales en la integridad de los electrodos, por ejemplo la disolución de las pastas/tintas con las que se producen los electrodos serigrafiados (SPE) y la reducción del tiempo de vida media de los mismos.

15 **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN**

El procedimiento objeto de la invención describe un método extremadamente rápido y sencillo para la producción reversible de dispositivos electrónicos o microelectrónicos modificados con recubrimientos de nanotubos
20 de carbono (NTC) mediante atrapamiento magnético en medio acuoso.

Dicho procedimiento explota la fuerte tendencia que muestran los NTC a adsorberse inespecíficamente sobre la superficie de partículas magnéticas (PM), por ejemplo PM que han sido previamente recubiertas con proteína. Los
25 ensamblados de PM/NTC son subsiguientemente capturados sobre la superficie de un dispositivo electrónico o microelectrónico mediante captura magnética, un procedimiento que resulta extremadamente rápido y sencillo. Los dispositivos modificados de esta forma presentan comportamiento electrocatalítico frente a una variedad de analitos, mejores límites de detección y señales
30 significativamente más altas que los electrodos sin modificar. Tras la toma de medidas, y en ausencia de atracción magnética, los PM/NTC pueden ser eliminados fácilmente mediante lavado y la superficie del dispositivo puede ser

reutilizada indefinidamente.

Los nanotubos de carbono (NTC) han sido explotados para un número importante de aplicaciones electroanalíticas y sensoras. Su incorporación a la superficie de electrodos contribuye a aumentar su rugosidad y superficie, reduce el nivel de adsorción inespecífica de biocomponentes, proporciona actividad electrocatalítica frente a una variedad de moléculas, y mejora la transferencia de electrones. Hasta la fecha, este tipo de modificación se basa en la deposición irreversible de los NTC sobre la superficie mediante estrategias que son poco compatibles con la reutilización del electrodo. No obstante, los NTC son un material altamente poroso y los electrodos modificados con NTC son susceptibles de promover niveles importantes de adsorción inespecífica y/o electrodeposición de biomoléculas y/o biomoléculas, lo que podría inducir contaminación cruzada entre muestras en estudio y afectar la especificidad y reproducibilidad del protocolo de medida. Este inconveniente ha sido a menudo eludido mediante la combinación de los NTC con polímeros cargados eléctricamente capaces de repeler las moléculas de carga negativa / positiva.

Por otra parte usando NTC carboxilados (con grupos carboxilo en superficie) dispersos en medio acuoso, se observa una fuerte tendencia de los mismos a adsorberse inespecíficamente sobre a superficies recubiertas de proteína. En esta invención se hace uso de esta capacidad para producir PM recubiertas de NTC y la subsiguiente captura magnética de estos complejos de PM/NTC para la producción de electrodos modificados con NTC. El protocolo de producción resulta extremadamente rápido, fácil de llevar a cabo, y no requiere la utilización de disolventes orgánicos evitando efectos perjudiciales en la integridad de los electrodos. Esto minimiza la exposición a los disolventes y a su vez resulta beneficioso para el medio ambiente a nivel de gestión de residuos.

El procedimiento descrito en esta invención se basa en la utilización de nanotubos de carbono (NTC), independientemente de su origen, método de producción, composición o características, siempre y cuando sean solubles en

medio acuoso. Puede tratarse de NTC que hayan sido sometidos a un tratamiento (físico/químico) que los haga hidrofílicos/hidrosolubles (por ejemplo, pero no exclusivamente, generación de grupos carboxilo en superficie mediante tratamiento ácido), o de NTC que hayan sido modificados químicamente para
5 incorporar grupos hidrofílicos/hidrosolubles (por ejemplo, pero no exclusivamente, incorporación química de grupos etilenglicol).

En este procedimiento, los NTC son adsorbidos inespecíficamente sobre la superficie de micropartículas magnéticas (PM). Puede tratarse de PM de 1 a
10 varias micras de diámetro, independientemente de su procedencia, composición o proceso de fabricación, siempre y cuando sean solubles en medio acuoso. Dichas PM pueden ser PM recubiertas de proteína, pero PM con otras superficies/recubrimientos podrían ser también utilizadas (por ejemplo, pero no exclusivamente, PM cargadas positiva o negativamente, PM recubiertas de
15 polímero, PM recubiertas de una capa metálica, o PM que exhiban en superficie grupos químicos reactivos).

El procedimiento puede incluir, además de o como alternativa a la adsorción inespecífica de los NTC, su conjugación química, o la estabilización de
20 los complejos de PM/NTC por cualquier otro medio. Para ello se puede utilizar PM y/o NTC modificados con grupos reactivos (por ejemplo, pero no exclusivamente, PM o NTC que exhiban en superficie grupos succinimido, moléculas de biotina, etc., para que éstos reaccionen con grupos NH_2^- , moléculas de estreptavidina, etc., presentes o incorporados en la superficie de NTC o PM), o conjugar
25 químicamente PM y NTC en presencia de reactivos adecuados.

El dispositivo a modificar debe incorporar, por ejemplo debajo o en su proximidad, un imán o un generador de campo magnético de cualquier tipo. Este debe garantizar que los complejos de PM/NTC son depositados directamente
30 sobre la superficie sensora, electrodo de trabajo, etc. La invención engloba dispositivos de cualquier tamaño, geometría, forma o material. Puede tratarse de dispositivos de geometría plana, como por ejemplo, pero no exclusivamente,

electrodos serigrafiados y/o microelectrodos fabricados mediante tecnología de silicio. Sin embargo el procedimiento objeto de la invención es susceptible de ser aplicable a dispositivos diferentes, como los electrodos de pasta de carbono, grafito, NTC o similar, que pueden incluir en su composición otros compuestos (polímeros, materiales adhesivos, materiales conductores, etc) o nanomateriales (nanopartículas/nanohilos/ect. de cualquier material), y que puedan integrar un imán o similar.

En el supuesto de querer reutilizar los dispositivos tras la toma de medidas mediante eliminación de los complejos de PM/NTC, el imán se incorpora de forma reversible. Es decir, tras la deposición de los PM/NTC y/o la toma de medidas puede ser retirado.

Para la producción de los complejos de PM/NTC y la modificación de los dispositivos, el procedimiento consiste en la mezcla de los volúmenes seleccionados de ambos componentes. Las cantidades y/o proporciones relativas de ambos componentes pueden ser variadas y dependerán de la aplicación. La mezcla se deposita (inmediatamente o después de incubación) sobre al menos uno de los electrodos del dispositivo (por ejemplo, pero no exclusivamente, un electrodo de trabajo) que quiere ser modificado con NTC y que está siendo sometido al efecto de un imán o un generador de campo magnético ubicado en el envés del electrodo. El volumen o cantidad de PM/NTC depositado podrá ser variado y dependerá del tamaño, geometría y características del dispositivo a modificar, así como de la aplicación prevista. Gracias al efecto del campo magnético, los PM/NTC son depositados sobre la superficie del dispositivo y en contacto con la misma. Este sedimento puede someterse a un lavado posterior con las soluciones acuosas/salinas deseadas.

Para garantizar la reutilización de los dispositivos mediante eliminación de los PM/NTC la superficie modificada mediante el procedimiento descrito no debe de someterse a secado.

El dispositivo modificado puede utilizarse para la toma de cualquier tipo de medidas electroquímicas incluyendo, pero no exclusivamente, amperométricas, voltamétricas, impedimétricas y/o conductimétricas.

5

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Para complementar la descripción que se está realizando y 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, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

15 Figura 1. Muestra un gráfica de la corriente generada en electrodos sin modificar (bare SPE) o modificados con 5 μ l de PM y cantidades crecientes de NTC (0-7.5 μ l NTC, 1mg/ml). Voltametría cíclica en 250 μ M de ferrocianuro (barras oscuras) o en PBS (corriente de fondo, barras claras).

Figura 2. Muestra un gráfica de la corriente generada en los electrodos sin modificar (bare SPE) o modificados con 5 μ l de NTC y cantidades crecientes de PM (1-10 μ l). Voltametría cíclica en 250 μ M de ferrocianuro (barras oscuras) o en PBS (corriente de fondo, barras claras).

Figura 3. Muestra unos voltamogramas cíclicos obtenidos para concentraciones crecientes de dopamina (DA), disuelta en PBS, sobre un electrodo sin modificar.

Figura 4. Muestra unos voltamogramas cíclicos obtenidos para concentraciones crecientes de DA, disuelta en PBS, sobre un electrodo modificado con 10 μ l de PM y 5 μ l de NTC depositados mediante atrapamiento magnético.

30 Figura 5. Muestra una gráfica con los valores de corriente de pico obtenidos para concentraciones crecientes de DA en electrodos modificados y sin

modificar.

Figura 6. Muestra una gráfica de una voltametría de pulso diferencia (DPV) obtenida en dopamina (DA) y en ácido úrico (AU) medidos en un electrodo sin modificar.

- 5 Figura 7. Muestra un gráfica de una voltametría de pulso diferencia (DPV) obtenida en dopamina (DA) y en ácido úrico (AU) medidos en un electrodo modificado con PM/NTC.

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

10

A la vista de las figuras se describe a continuación un modo de realización preferente del procedimiento objeto de esta invención.

- 15 Se usaron NTC de pared simple (SWNTC) modificados con grupos carboxilo (-COOH) en su superficie. Los NTC fueron resuspendidos en Solución Salina Amortiguada por Fosfatos (PBS) a una concentración final de 1 mg/ml y se dispersaron por sonicación durante al menos 30 minutos a temperatura ambiente. Seguidamente se agitó la suspensión usando un vórtex durante 2 minutos. Estos NTC son solubles en medio acuoso hasta 1 mg/ml; presentan un
- 20 diámetro individual promedio de $1,4 \text{ nm} \pm 0,1 \text{ nm}$ y forman haces de $4\text{-}5 \text{ nm} \times 0,5\text{-}1,5 \text{ micras}$. Al principio de cada día de trabajo, y con el fin de garantizar su funcionamiento óptimo, se sonicaban los NTC durante 15 minutos, seguido de agitación al vórtex durante 1 minuto más.

- 25 Las PM tenían 2.8 micras de diámetro y estaban recubiertas de proteína. Las MP se recibían a una concentración aproximada de $E 3\text{-}3,5 \times 10^8$ partículas por mililitro (equivalente a $3\text{-}3,5 \times 10^5$ MP, aproximadamente 5 mg, por microlitro). Las MP se agitaban usando un vórtex durante un minuto, para resuspenderlas totalmente antes de su utilización, y el volumen necesario era transferido a un
- 30 tubo Eppendorf. A continuación las PM eran concentradas con la ayuda de un imán o un primer generador de campo magnético, el sobrenadante era eliminado,

las PM se lavaban 3 veces con PBS (10mM Phosphate Buffer Saline, pH 7.4) y se resuspendían en PBS a la concentración elegida.

5 Se usaron dispositivos electrónicos constituidos por electrodos serigrafiados planos integrados por un electrodo de trabajo (1.6 mm de diámetro) y un electrodo auxiliar de oro, y un electrodo de referencia de Ag/AgCl, todos ellos impresos sobre un sustrato cerámico. Previo a su utilización, los electrodos se activaron electroquímicamente mediante voltametría cíclica entre 0 y 1.4 V en 1M H₂SO₄ hasta que se obtuvo una señal estable. La caracterización posterior se
10 llevó a cabo por voltametría cíclica en 0.1 M K₃[Fe(CN)₆].

Para llevar a cabo el atrapamiento magnético, debajo del electrodo de trabajo se fijó un imán cilíndrico de 1 mm de diámetro a modo de segundo generador de campo magnético.

15

Una vez realizada la detección o medida haciendo uso del dispositivo electrónico con el electrodo recubierto, se retira el segundo generador de campo magnético del envés del electrodo de trabajo para desprender el recubrimiento producido anteriormente sobre el electrodo de trabajo; quedando el dispositivo en
20 su estado original.

EJEMPLO 1. Eficiencia de electrodos modificados por atrapamiento magnético de cantidades crecientes de NTC.

25

Se recubrió un electrodo, el electrodo de trabajo, con una cantidad fija de PM ($1,5 \times 10^6$ MP), previamente incubadas con cantidades crecientes de NTC (1-10 µg) resultando una mezcla en suspensión. Dicha mezcla se depositó sobre el electrodo de trabajo, bajo el que se había colocado el segundo generador de campo magnético. El precipitado formado por MP y NTC sobre el electrodo de
30 trabajo, visible a simple vista, se lavó con PBS sin ser alterado. La eficiencia del electrodo modificado se estudió entonces mediante voltametría cíclica (de -0.1 a

+0.45 V, a velocidad de escaneo 100 mV) en PBS (control negativo / corriente de fondo) y en ferrocianuro de potasio 250 μ M.

Como se resume en la Figura 1, el atrapamiento de MP sin NTC genera pasivación parcial del electrodo, aumento de la corriente de fondo en PBS y disminución de la corriente registrada en ferrocianuro. Por otra parte, el atrapamiento de cantidades crecientes de NTC resulta en aumento adicional de la corriente de fondo en PBS, cuyo valor está directamente relacionado con la cantidad de NTC capturados, e induce la aparición de un pre-pico entre -0,1 y 0 V.

En presencia de ferricianuro, el atrapamiento de cantidades crecientes de NTC se correlaciona con un aumento lineal en la señal registrada en ferricianuro para cantidades entre 1 y 5 μ g de NTC.

EJEMPLO 2. Eficiencia de electrodos modificados por atrapamiento magnético mediante cantidades crecientes de PM.

Se recubrió un electrodo, el electrodo de trabajo, con una cantidad fija de NTC (5 μ g) mediante atrapamiento magnético usando un número variable de MP (0 - 3 x 10⁶ MP). Los reactivos, electrodos y procedimiento experimental son similares a los descritos en el ejemplo 1.

Como se observa en la Figura 2, los números de PM más bajos ensayados generaron depósitos de pequeño tamaño en la superficie del electrodo. En estos casos la mayoría de los NTC añadidos no eran atrapados y eran eliminados durante los lavados. Para los electrodos utilizados, era necesario emplear un mínimo de 2 μ l de MP para el atrapamiento de NTC para que los electrodos modificados generaran señales consistentemente más altas que las registradas en los electrodos sin modificar. El incremento en la cantidad de MP utilizadas se correlaciona con una mayor cantidad de NTC atrapados. Esto se traduce en disminución de la cantidad de NTC eliminados durante las fases de lavado e incremento simultáneo de la corriente de fondo registrada en PBS y de la corriente

de pico en ferricianuro. A partir de 10 μ l de MP, sin embargo, se detecta saturación de la señal. Esto se corresponde con el recubrimiento total de la superficie del electrodo con PM/NTC. En estas condiciones, la voltametría en ferricianuro genera un pico un 407% más alto que el pico generado en un electrodo sin modificar.

EJEMPLO 3. Detección de dopamina (DA) usando electrodos modificados por atrapamiento magnético de PM/NTC.

El tercer ejemplo incluye la detección de una molécula electroactiva de interés clínico, la dopamina (DA), usando electrodos modificados con PM/NTC por atrapamiento magnético. La DA es un neurotransmisor liberado por el hipotálamo y el mal funcionamiento de su actividad ha sido relacionado con varios trastornos neurodegenerativos, incluidos la anorexia y la bulimia, las enfermedades de Parkinson y de Alzheimer, y la esquizofrenia. Los reactivos, electrodos y procedimiento experimental son similares a los descritos en el ejemplo 1. En este caso se modificó la superficie con 3×10^6 PM resuspendidas en 5 μ g de NTC.

La DA fue disuelta en PBS a diferentes concentraciones finales y fue analizada por voltametría cíclica usando en paralelo electrodos sin modificar, tal y como se observa en la Figura 3, y electrodos modificados con PM/NTC, tal y como se observa en la Figura 4. En los electrodos sin modificar la DA genera un pico de oxidación a 0,2 V (vs. Ag/AgCl) y un pico de reducción mucho menor a -0.05 V (vs. Ag/AgCl). Como otros autores han observado anteriormente, la oxidación de DA es poco reversible, porque el producto oxidado se adsorbe en la superficie del electrodo. En el caso del electrodo modificado con PM/NTC, las corrientes de fondo registradas son más altas, en consonancia con el aumento de la superficie del electrodo debido a la deposición de los NTC. La separación entre picos es de 0,10 V para el electrodo modificado, frente a 0,15 V en el electrodo sin modificar. Esta significativa mejora denota la fuerte actividad catalítica de la superficie modificada hacia la DA. El incremento de la corriente de pico, por otra parte,

puede atribuirse a un efecto combinado del aumento de superficie en el electrodo modificado, la acumulación de DA cargada positivamente sobre la superficie del electrodo, que gracias a los NTC está cargada negativamente, y la actividad electrocatalítica del electrodo modificado.

5

Para los dos tipos de electrodos (modificados y sin modificar), la corriente del pico de oxidación aumenta con la concentración de DA. Sin embargo, la reversibilidad de la reacción mejora en los electrodos modificados con NTC, y también lo hace la detectabilidad de DA. Por ejemplo, las señales registradas son, para todas las concentraciones ensayadas de DA, de 2,6 a 5 veces mayores en los electrodos modificados que las señales generadas en los electrodos sin modificar. La Figura 5 muestra el promedio de datos, calculado a partir de los resultados de tres electrodos independientes. El límite de detección, calculado como la media de al menos cinco blancos más tres veces la desviación estándar de los mismos, mejora de 1,69 μM en los electrodos sin modificar a 0,71 μM cuando se utilizan electrodos con PM/NTC. La sensibilidad del ensayo, medida como la pendiente de la parte lineal de la gráfica, también mejora en superficie modificada con PM/NTC (30 vs 9 nAmp/ μM DA).

10
15
20

EJEMPLO 4. Detección simultánea de dopamina y ácido úrico usando electrodos modificados por atrapamiento magnético de PM/NTC.

25

30

La principal limitación de la detección de la DA es la interferencia de componentes como el ácido úrico (AU), presentes en muestras reales a concentraciones más altas que la DA. El AU se oxida en la mayoría de los electrodos a potenciales tan cercanos a los de la DA que los picos generados por ambos compuestos son difícilmente distinguibles. La incorporación de NTC al electrodo acostumbra a mejorar la resolución de los picos generados por la DA y el AU. En este ejemplo comparamos la detección por Voltametría de Pulso Diferencial (DPV) de DA y AU, por separado o mezclados a una concentración de 200 μM cada uno, en los electrodos sin modificar o modificados con PM/NTC ya descritos en el ejemplo 3.

Como se ilustra en las Figuras 6 y 7, DA y AU analizados por separado generan picos de oxidación mayores en los electrodos modificados con PM/NTC que en los electrodos sin modificar (9,77 vs 3,91 μA para la DA y 6,53 vs 1,11 μA para el AU, en electrodos modificados / sin modificar respectivamente). Este efecto es más evidente para el AU, que genera un pico mucho más claro y casi 6 veces mayor en el electrodo modificado. El potencial de pico del AU se desplaza negativamente 64 mV en los electrodos modificados, lo cual confirma la actividad catalítica de los mismos.

10

La detección simultánea de DA y AU en los electrodos sin modificar evidencia un importante nivel de electrocatálisis de la DA por el AU, tal y como se observa en la figura 6. Esto se traduce en aumento de la altura del pico de la DA cuando se mide en presencia de AU a concentración equimolar, respecto a la corriente generada por una concentración similar de DA sola. Al mismo tiempo, el pico del AU disminuye en altura en presencia de DA y se vuelve casi indetectable. Por el contrario, en los electrodos modificados con PM/NTC los dos picos están claramente separados y no hay casi diferencias en la altura de los picos que se puedan atribuir a la catálisis de la DA por el AU tal y como se observa en la Figura 7.

20

25

30

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de recubrimiento de electrodos de un dispositivo electrónico
5 que comprende:
- a) activar y/o lavar un electrodo de trabajo a recubrir,
 - b) dispersar unos nanotubos de carbono (NTC) en un medio acuoso a una
concentración definida entre 0.1 y 10 mg/ml
 - c) concentrar unas partículas magnéticas (PM) haciendo uso de un campo
10 magnético generado por un primer generador de campos magnéticos,
 - d) eliminar sobrenadante,
 - e) lavar las partículas magnéticas (PM) con el medio acuoso en que se han
dispersado los NTC y repetir c) y d),
 - f) resuspender el resultado de la fase anterior en un volumen de dispersión
15 de NTC preparado en b)
 - g) fijar un segundo generador de campo magnético en el envés del
electrodo de trabajo a recubrir,
 - h) recubrir el electrodo de trabajo por deposición del resultado de (f) sobre
una cara a recubrir del electrodo de trabajo.
- 20 2. Procedimiento según reivindicación 1 caracterizado porque incluye retirar el
generador de campo magnético causando el desprendimiento del recubrimiento
presente sobre el electrodo de trabajo y lavar el electrodo de trabajo.
- 3.-Procedimiento según reivindicación 1 caracterizado porque los NTC son
solubles en medio acuoso.
- 25 4. Procedimiento según reivindicación 1 caracterizado porque las PM son
solubles en medio acuoso.
- 5.- Procedimiento según reivindicación 1 caracterizado porque las PM están
recubiertas por al menos una proteína.

- 6.- Procedimiento según reivindicación 1 caracterizado porque el medio acuoso de b) es una solución salina.
7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado porque los NTC están modificados.
- 5 8. Procedimiento según reivindicación 6 caracterizado porque los NTC están funcionalizados.
9. Electrodo obtenible mediante el procedimiento descrito en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.
- 10 10. Dispositivo electrónico caracterizado porque comprende el electrodo descrito en la reivindicación 9.
11. Uso del dispositivo electrónico descrito en la reivindicación anterior para la realización de detección y medición de analitos.

1/4

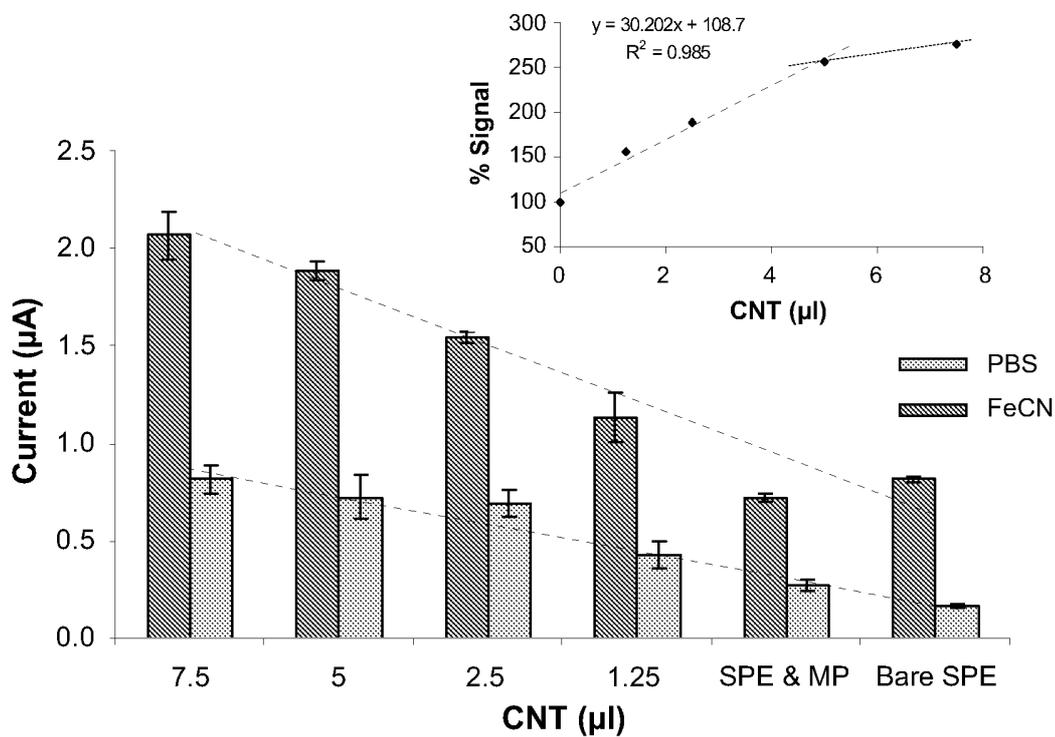


FIG. 1

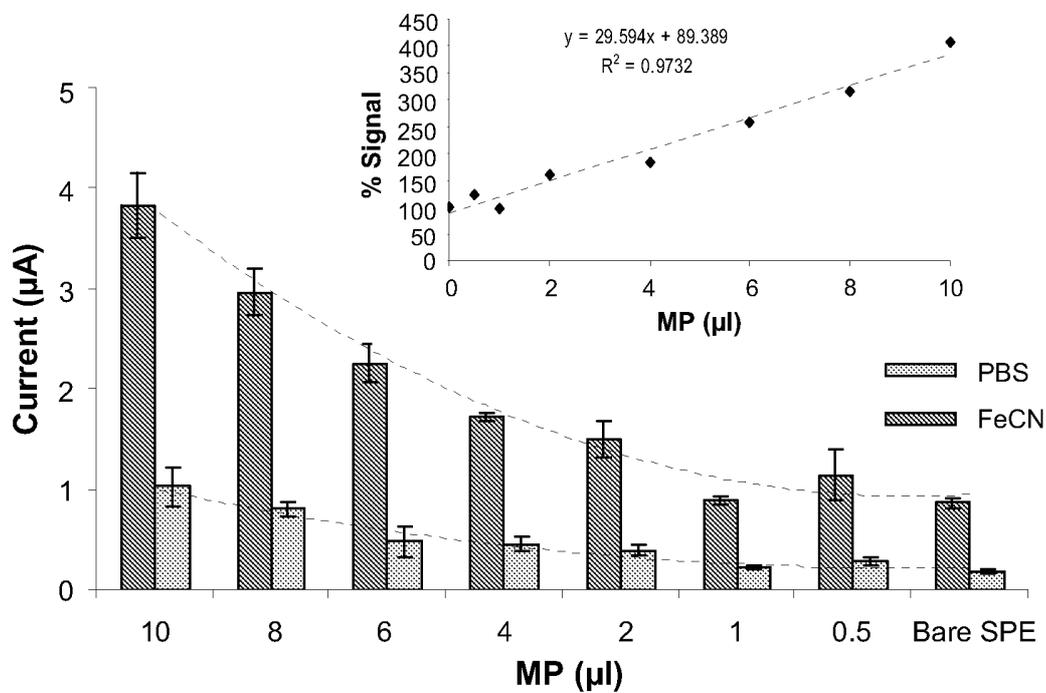


FIG. 2

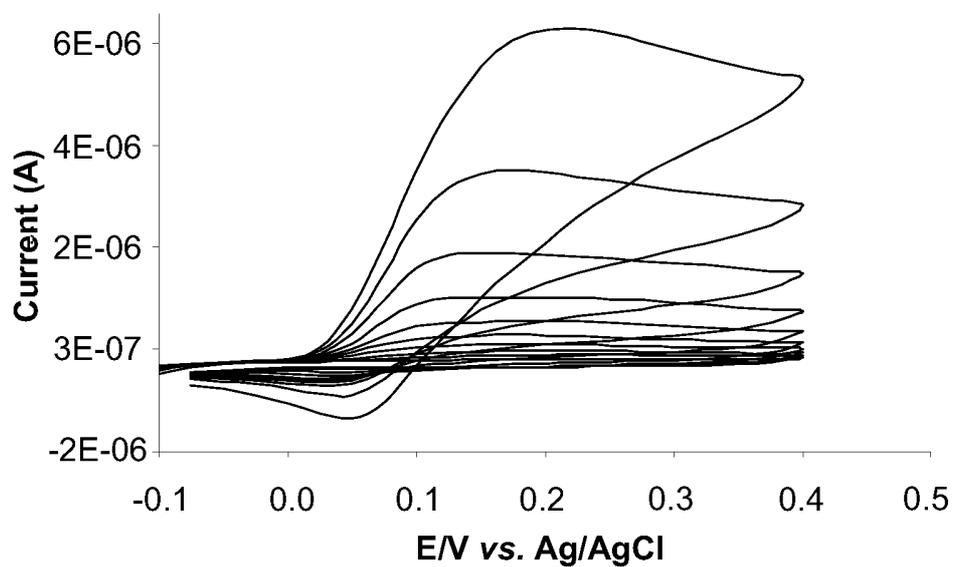


FIG. 3

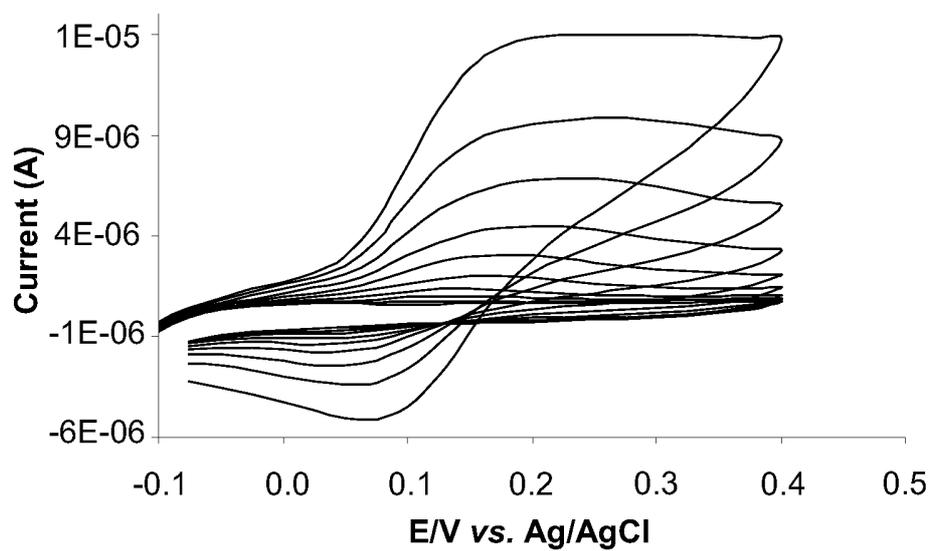


FIG. 4

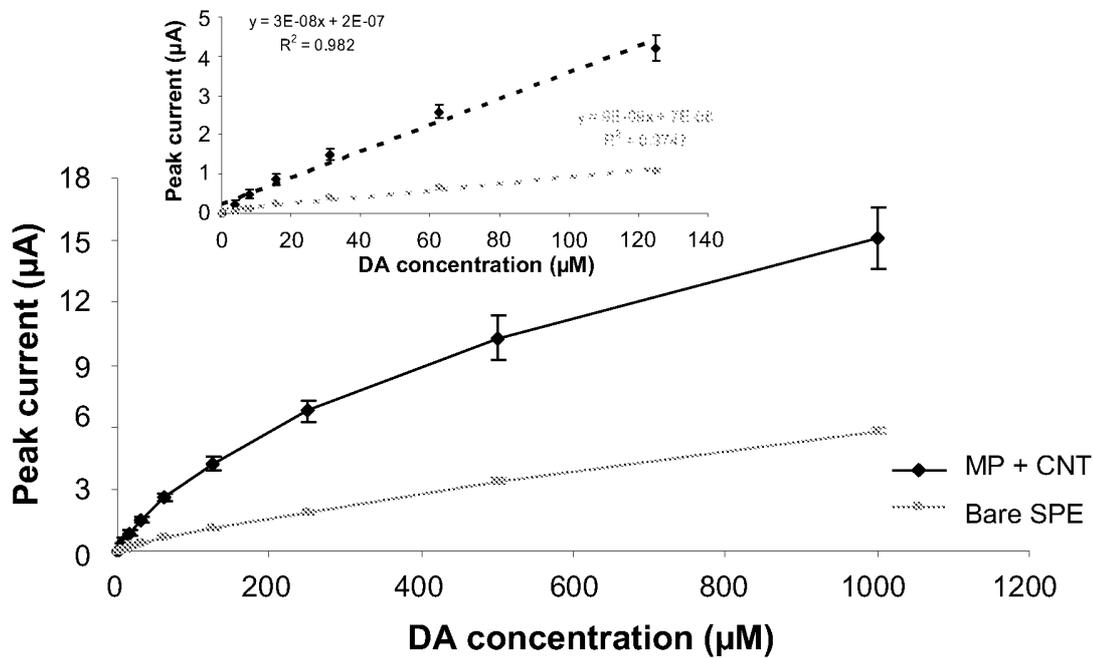


FIG. 5

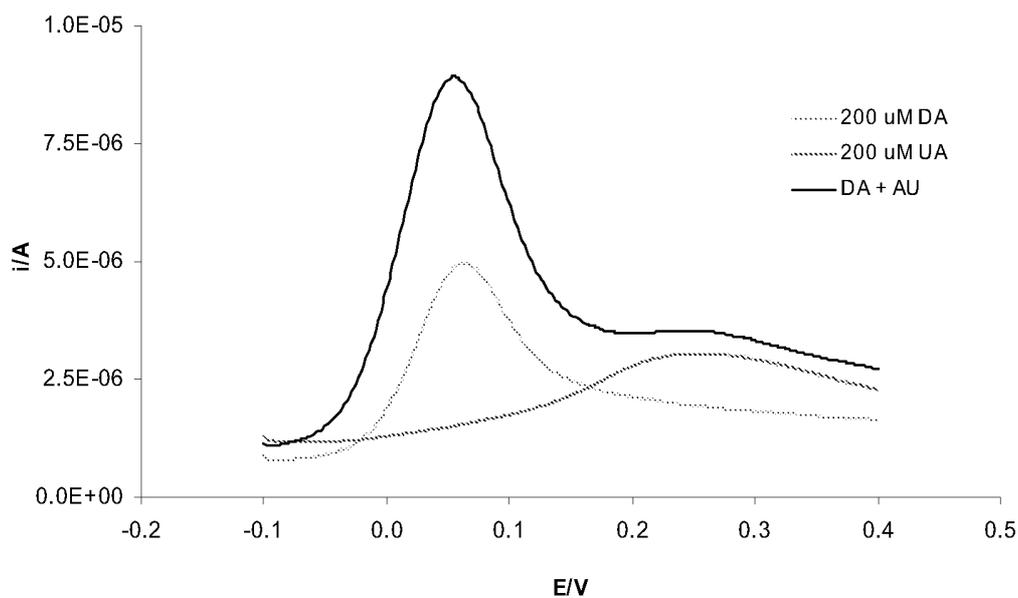
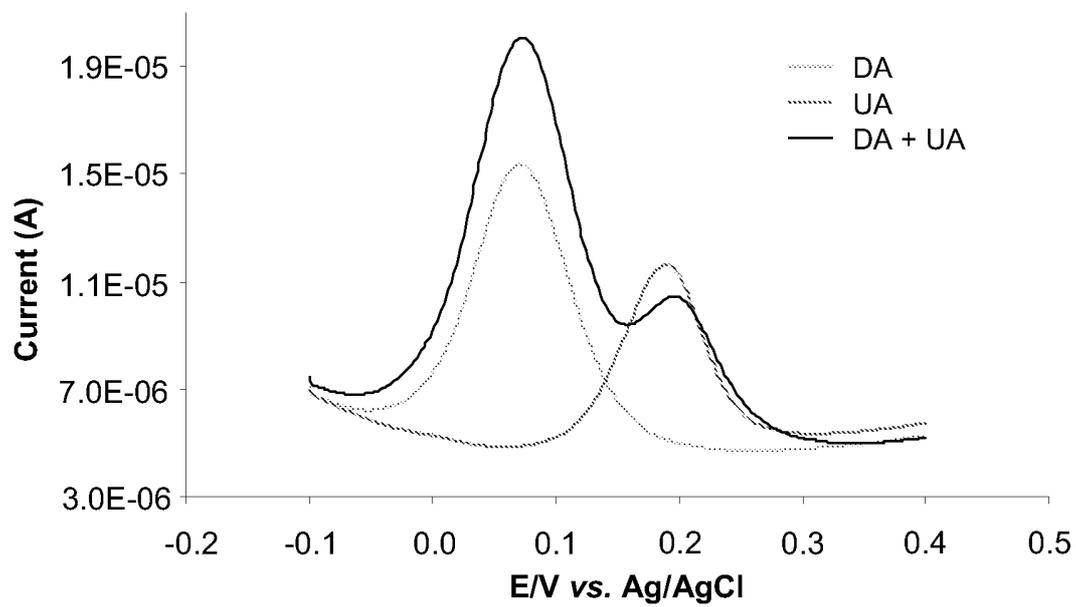


FIG. 6

**FIG. 7**

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES2010/070853

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

B81C1/00 (2006.01)

B82Y15/00 (2011.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B82Y, B81C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2007275627 A1 (KOREA ADVANCED INST SCI & TECH) 29/11/2007, paragraph[2]; paragraph[12]; paragraphs[32 - 55]; claims 1-6; figure 1.	1-11
X	WO 2004052489 A2 (UNIV NORTH CAROLINA ET AL.) 24/06/2004, abstract; page 11, lines 7 - 17; figure 1, claim 3.	1, 5, 7-11
A	WO 2008066965 A2 (UNIV CALIFORNIA ET AL.) 05/06/2008, page 27, line 25 - page 28, line 4; figure 26.	5,7,8

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	--

Date of the actual completion of the international search
18/04/2011

Date of mailing of the international search report
(24/05/2011)

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Authorized officer
E. Pina Martínez

Telephone No. 91 3498552

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/ES2010/070853

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US2007275627 A	29.11.2007	CN101079356 A CN101079356 B KR20070113841 A KR100785377 B WO2007139271 A JP2007317666 A KR100801131 B US2011027498 A JP2011040402 A	28.11.2007 14.04.2010 29.11.2007 18.12.2007 06.12.2007 06.12.2007 05.02.2008 03.02.2011 24.02.2011
----- WO2008066965 A -----	----- 05.06.2008 -----	----- US2010303722 A -----	----- 02.12.2010 -----
----- WO2004052489 A -----	----- 24.06.2004 -----	----- AU2003294586 A US2004173378 A US7014743 B KR20050084226 A EP1569733 A EP20030787275 JP2006513048 T CN1849181 A CN100537052 C US2007007142 A TWI277376 B CN101612612 A -----	----- 30.06.2004 09.09.2004 21.03.2006 26.08.2005 07.09.2005 08.12.2003 20.04.2006 18.10.2006 09.09.2009 11.01.2007 21.03.2007 30.12.2009 -----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

PCT/ES2010/070853

<p>A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD B81C1/00 (2006.01) B82Y15/00 (2011.01) De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.</p>														
<p>B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA</p> <p>Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación) B82Y, B81C</p> <p>Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda</p> <p>Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados) EPODOC, INVENES, WPI</p>														
<p>C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 10%;">Categoría*</th> <th style="width: 60%;">Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes</th> <th style="width: 30%;">Relevante para las reivindicaciones nº</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">X</td> <td>US 2007275627 A1 (KOREA ADVANCED INST SCI & TECH) 29/11/2007, párrafo[2]; párrafo[12]; párrafos[32 - 55]; reivindicaciones 1-6; figura 1.</td> <td style="text-align: center;">1-11</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">X</td> <td>WO 2004052489 A2 (UNIV NORTH CAROLINA ET AL.) 24/06/2004, resumen; página 11, líneas 7 - 17; figura 1, reivindicación 3.</td> <td style="text-align: center;">1, 5, 7-11</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">A</td> <td>WO 2008066965 A2 (UNIV CALIFORNIA ET AL.) 05/06/2008, página 27, línea 25 - página 28, línea 4; figura 26.</td> <td style="text-align: center;">5,7,8</td> </tr> </tbody> </table>			Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº	X	US 2007275627 A1 (KOREA ADVANCED INST SCI & TECH) 29/11/2007, párrafo[2]; párrafo[12]; párrafos[32 - 55]; reivindicaciones 1-6; figura 1.	1-11	X	WO 2004052489 A2 (UNIV NORTH CAROLINA ET AL.) 24/06/2004, resumen; página 11, líneas 7 - 17; figura 1, reivindicación 3.	1, 5, 7-11	A	WO 2008066965 A2 (UNIV CALIFORNIA ET AL.) 05/06/2008, página 27, línea 25 - página 28, línea 4; figura 26.	5,7,8
Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones nº												
X	US 2007275627 A1 (KOREA ADVANCED INST SCI & TECH) 29/11/2007, párrafo[2]; párrafo[12]; párrafos[32 - 55]; reivindicaciones 1-6; figura 1.	1-11												
X	WO 2004052489 A2 (UNIV NORTH CAROLINA ET AL.) 24/06/2004, resumen; página 11, líneas 7 - 17; figura 1, reivindicación 3.	1, 5, 7-11												
A	WO 2008066965 A2 (UNIV CALIFORNIA ET AL.) 05/06/2008, página 27, línea 25 - página 28, línea 4; figura 26.	5,7,8												
<p><input type="checkbox"/> En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos <input checked="" type="checkbox"/> Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo</p>														
<table style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> <p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p> </td> </tr> </table>			<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>										
<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>													
<p>Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional. 18/04/2011</p>		<p>Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional. 24 de mayo de 2011 (24/05/2011)</p>												
<p>Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España) Nº de fax: 91 349 53 04</p>		<p>Funcionario autorizado E. Pina Martínez</p> <p>Nº de teléfono 91 3498552</p>												

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional nº

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

PCT/ES2010/070853

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
US2007275627 A	29.11.2007	CN101079356 A CN101079356 B KR20070113841 A KR100785377 B WO2007139271 A JP2007317666 A KR100801131 B US2011027498 A JP2011040402 A	28.11.2007 14.04.2010 29.11.2007 18.12.2007 06.12.2007 06.12.2007 05.02.2008 03.02.2011 24.02.2011
----- WO2008066965 A	----- 05.06.2008	----- US2010303722 A	----- 02.12.2010
----- WO2004052489 A	----- 24.06.2004	----- AU2003294586 A US2004173378 A US7014743 B KR20050084226 A EP1569733 A EP20030787275 JP2006513048 T CN1849181 A CN100537052 C US2007007142 A TWI277376 B CN101612612 A	----- 30.06.2004 09.09.2004 21.03.2006 26.08.2005 07.09.2005 08.12.2003 20.04.2006 18.10.2006 09.09.2009 11.01.2007 21.03.2007 30.12.2009
-----	-----	-----	-----