



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 334 486**

② Número de solicitud: 200802126

⑤ Int. Cl.:

**C12Q 1/25** (2006.01)

**G01N 27/30** (2006.01)

**G01N 27/327** (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **11.07.2008**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **10.03.2010**

Fecha de la concesión: **17.12.2010**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **30.12.2010**

⑮ Fecha de publicación del folleto de la patente:  
**30.12.2010**

⑰ Titular/es: **BIOLAN MICROBIOSENSORES, S.L.**  
**Parque Tecnológico de Bizkaia**  
**Ibaizabal Bidea, 800 - 2ª Planta**  
**48160 Derio, Vizcaya, ES**

⑱ Inventor/es: **Arquero Cavia, Daniel y**  
**Albizu Lluvia, Asier**

⑳ Agente: **Urizar Barandiarán, Miguel Ángel**

⑳ Título: **Soporte de biosensor.**

㉑ Resumen:

Soporte de biosensor, que consta de un cilindro (1) de material no-conductor de la electricidad, que dispone un orificio (2) pasante coaxial con el eje del cilindro (1); una varilla de metal (3) dispuesta en dicho orificio (2) con su extremo superior (31) al ras de la base superior (11) del cilindro (1); una capa/recubrimiento de metal noble (4), de entre 1 a 1000 nanómetros, dispuesta sobre dicha base superior (11) y un protector (5) de un material no-conductor de la electricidad dispuesto sobre la capa/recubrimiento de metal noble (4) en la zona de conjunción de dicha capa (4) con la varilla de metal (3) y recubriendo una superficie de diámetro ( $\varnothing_2$ ) mayor que el diámetro de la varilla (3). De aplicación para la detección específica de sustancias en medios acuosos.

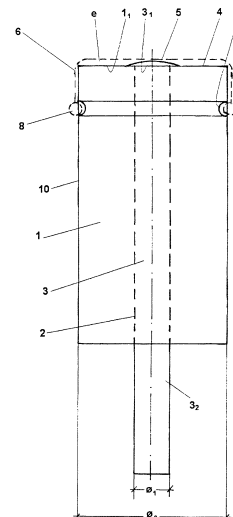


Fig. 1

ES 2 334 486 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Soporte de biosensor.

5 La presente invención se basa en un dispositivo que sirve de base para la colocación de una sustancia enzimática u otra de cualquier índole con la finalidad de crear un biosensor para la detección específica de sustancias en medios acuosos.

10 En el estado de la técnica ya se conocen soportes similares, pero están basados en láminas macizas, preferiblemente circulares, de oro, carbón o platino. Dichas láminas están fabricadas de metal puro con un espesor de uno o varios milímetros. La parte exterior, donde se depositan las enzimas, está pulida y está al mismo nivel que el cilindro de plástico que lo aloja. En la parte interior de dicho cilindro de plástico, en la cara interna de la lámina de metal, se coloca normalmente una resistencia construida con carbón en polvo prensado. La impedancia típica de este carbón en polvo suele ser inferior a una decena de ohmios. A continuación de este carbón prensado, se coloca una varilla de latón preferiblemente para que, una vez asome por el extremo opuesto a la lámina de oro, a través del cilindro de plástico que lo aloja, pueda recibirse la señal eléctrica procedente de la enzima depositada sobre la lámina.

La lámina, preferiblemente de oro, tiene un diámetro comprendido entre 3 y 6 mm.

20 Este tipo de soportes para la construcción de biosensores, tiene el inconveniente de que la señal eléctrica proveniente de la reacción química de la enzima es muy baja. Las pruebas hechas con enzimas, preferiblemente gluconasa, para la determinación del ácido glucónico, demostraron que para una lámina de 3 mm de diámetro y 0,1 mm de espesor, la respuesta a la enzima era de apenas 5 nanoamperios.

25 Aumentando el diámetro de la lámina de oro a 5 mm de diámetro, apenas se incrementó la señal otros 2 nanoamperios.

30 El biosensor así construido, una vez introducido en el circuito electrónico potencióstático, presenta problemas de medición por la muy baja señal de respuesta eléctrica de la enzima y además, un aumento de la temperatura del medio acuoso donde se realiza la medición falsea los datos al variar aproximadamente 2 nanoamperios por cada grado centígrado. Esto obliga a mantener rigurosamente el medio acuoso a una temperatura lo más constante posible.

35 La presente invención soluciona este problema de respuesta baja de señal de la enzima en presencia de la sustancia química para la que se ha diseñado. De igual forma, es válido para cualquier sustancia enzimática, pues la alta respuesta a la señal procede principalmente de la forma en que está construido el soporte objeto de esta patente.

40 Las sustancias enzimáticas necesitan un metal noble o carbón, donde colocarse para dar una respuesta a la sustancia para la que se diseñó. Este soporte, preferentemente de oro, no puede conectarse directamente mediante un cable o varilla conductora de electricidad al circuito electrónico potencióstático. Se debe colocar una impedancia que, en los sensores comerciales hasta el momento, está realizado mediante carbón prensado. Este carbón tiene que estar en contacto directo a la lámina, principalmente de oro, y no puede colocarse una resistencia electrónica convencional. Pero como la lámina de oro donde se deposita la encima es perfectamente conductora de la electricidad, por lo que la señal electrónica que produce la enzima es enmascarada frente a la alta señal parásita o de base generada por el circuito electrónico potencióstático.

45 El soporte de biosensor objeto del invento se caracteriza porque consta de:

- un cilindro de material no-conductor de la electricidad, que dispone un orificio pasante coaxial con el eje del cilindro
- 50 - una varilla de metal, dispuesta en dicho orificio con su extremo superior al ras de la base superior del cilindro
- una capa/recubrimiento de metal noble, de entre 1 a 1000 nanómetros, dispuesta sobre dicha base superior
- 55 - un protector de un material no-conductor de la electricidad, dispuesto sobre la capa/recubrimiento de metal noble en la zona de conjunción de dicha capa con la varilla de metal y recubriendo una superficie de diámetro mayor que el diámetro de la varilla.

60 La presente invención resuelve el problema de la baja señal que entrega la encima depositada sobre el soporte del biosensor a la presencia de la sustancia química para la que se diseñó. Además, reduce enormemente la señal parásita o de línea base generada por el circuito electrónico potencióstático. Debido a la topología aplicada para su manufacturado, el precio de fabricación es unas 300 veces menor que lo que hay en el mercado actualmente. La señal eléctrica que entrega la enzima es unas 30 veces superior a cualquier soporte actual para biosensores, pudiéndose

65 aumentar de forma exponencial aumentando su diámetro.

## ES 2 334 486 B1

El presente soporte para biosensores está orientado a un solo uso. Una vez agotada la función de la enzima, éste se desecha.

5 Para comprender mejor el objeto de la presente invención, se representa en los planos una forma preferente de realización práctica, susceptible de cambios accesorios que no desvirtúen su fundamento.

La figura 1 es una vista esquemática en alzado del biosensor objeto del invento.

10 La figura 2 es una vista en sección y muy ampliada de la zona de conjunción varilla (3)/capa de metal noble (4).

Se describe a continuación un ejemplo de realización práctica, no limitativa, del presente invento.

15 El soporte del biosensor comprende un cilindro (1) de plástico, preferiblemente policloruro de vinilo, con un orificio pasante (2) en su centro, haciendo de éste un tubo. El diámetro del cilindro (1) puede ser de cualquier diámetro ( $\varnothing_3$ ) pero es preferible 10 mm. En el orificio pasante (2) se introduce una varilla metálica (3), por ejemplo, acero inoxidable, cobre, latón, etc. (de latón preferiblemente) con el único fin de transportar el flujo de electrones generado por las enzimas (e) que se colocarán sobre la base superior ( $1_1$ ) del cilindro de plástico (1) hasta el circuito electrónico potencióstático (no representado).

20 Dicha varilla de metal (3) debe ser de un diámetro ( $\varnothing_1$ ) mucho más pequeño que el diámetro del cilindro de plástico, preferiblemente de 3 mm ó menor  $\varnothing_1 \ll \varnothing_3$ .

25 El extremo superior ( $3_1$ ) de esta varilla de latón (3) se deja al ras del cilindro de plástico (1) y por el otro extremo ( $3_2$ ) se deja asomar unos 5 mm o cualquier otra medida para su posterior amarre al circuito electrónico potencióstático.

30 La zona del cilindro de plástico (1) donde la varilla de latón (3) se ha dejado al ras está refrendada/pulida. Para ello se empleará preferiblemente una máquina herramienta tal como un torno de revolución a baja velocidad para no fundir el cilindro de plástico con la fricción. La superficie así pulida debe quedar lo más lisa posible y sin quemar el plástico en el mecanizado debido a un exceso de velocidad de la máquina herramienta de torneado o pulido.

35 A su vez, en el cilindro de plástico (1) en su superficie lateral (10) y a una distancia preferiblemente de 2 mm desde el borde superior de la zona pulida, se practica una hendidura (7) en forma toroidal a modo de sujeción futura de una junta (8) de goma tórica para amarrar una membrana (6) permeable u osmótica como las utilizadas en diálisis.

40 Una vez torneado y preparado el soporte del biosensor, se le da una capa de oro de entre 1 y 1000 nanómetros, siendo preferiblemente de entre 30 y 100 nanómetros, en función del comportamiento de otras enzimas en cuanto a la respuesta de generación del flujo de electrones o corriente eléctrica frente a la presencia de la sustancia para la que ha sido diseñada. Este baño de oro se aplica mediante sputtering a través de un equipo comercial para tal fin.

Mediante este recubrimiento se hace conductora de electricidad toda la zona pulida del cilindro de plástico (1) más la varilla de latón (3).

45 Este oro, al ser una capa tan delgada, del orden de nanómetros, presenta una impedancia al paso de la corriente eléctrica que puede ser de unos 10 ohmios desde la periferia hasta su centro.

50 La zona bañada de oro problemática es la del centro del cilindro de plástico (1), justo la zona donde está la varilla de latón (3) alojada. Si la enzima (e) depositada sobre el oro toca esta zona, producirá una señal residual base o parásita no deseada del orden de unas 50 ó 100 veces la señal que produciría la enzima (e) a la presencia de la sustancia para la que se diseñó, dando como resultado un funcionamiento muy anómalo. La señal eléctrica producida por la enzima sería enmascarada por esta señal parásita.

55 Para evitar la exposición de la encima (e) a la zona central donde está la varilla de latón (3) bajo el recubrimiento de oro (4), se deposita un protector, pegamento o una pequeña gota (5) de resina epoxídica preferiblemente, pudiendo ser cualquier otra sustancia no conductora adherente al material del cilindro o incluso un tapón diseñado para tal fin. De esta forma, la enzima solo se depositará en toda la corona pulida del cilindro de plástico (1) bañado de oro (4) excepto en su zona central cubierta por una gota (5) de resina epoxídica preferiblemente.

60 La gota o protector (5) preferentemente, será de un material adherente al oro.

65 La enzima (e) depositada sobre este soporte objeto de patente, se recubre mediante una membrana (6) permeable u osmótica como las usadas en diálisis, y se amarra al lateral del cilindro de plástico (1) mediante una junta tórica (8) de goma que a su vez se encaja en el rebaje lateral (7) en forma tórica que se practicó en el cilindro de plástico (1) que forma el soporte del biosensor. La membrana permeable (6) debe quedar perfectamente apretada contra la cara pulida ( $1_1$ ) del cilindro de plástico (1) para inmovilizar así la enzima (e) y obligarla a permanecer lo más cerca posible de la zona bañada de oro preferiblemente.

## ES 2 334 486 B1

Sin medios de sujeción/apriete de la membrana (6) como por ejemplo este rebaje para la colocación de la junta tórica (8), la membrana permeable (6) podría moverse y hacer que el biosensor así diseñado no funcione correctamente al no obligar a la enzima (e) a permanecer lo más próxima a la zona bañada de oro.

5 También podría sustituirse la membrana permeable (6) por una membrana permeable líquida.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Soporte de biosensor, **caracterizado** porque consta de:

- 5
- a) un cilindro (1) de material no-conductor de la electricidad, que dispone un orificio (2) pasante coaxial con el eje del cilindro (1)
  - b) una varilla de metal (3) dispuesta en dicho orificio (2) con su extremo superior (3<sub>1</sub>) al ras de la base superior (1<sub>1</sub>) del cilindro (1)
  - c) una capa/recubrimiento de metal noble (4), de entre 1 a 1000 nanómetros, dispuesta sobre dicha base superior (1<sub>1</sub>)
  - d) un protector (5) de un material no-conductor de la electricidad dispuesto sobre la capa/recubrimiento de metal noble (4) en la zona de conjunción de dicha capa (4) con la varilla de metal (3) y recubriendo una superficie de diámetro ( $\varnothing_2$ ) mayor que el diámetro de la varilla (3).
- 10
- 15

20 2. Soporte de biosensor, según reivindicación 1, **caracterizado** porque el cilindro (1) de material no-conductor dispone en su superficie lateral (10) de medios de sujeción de una membrana (6).

3. Soporte de biosensor, según reivindicación 1, **caracterizado** porque la capa/recubrimiento (4) es de oro con un espesor de entre 30 y 100 nanómetros.

25 4. Soporte de biosensor, según reivindicación 2, **caracterizado** porque la membrana 6 puede ser una membrana permeable o una membrana permeable líquida.

30 5. Soporte de biosensor, según reivindicación 1, **caracterizado** porque el protector (5) es una gota de una resina adherente a la capa/recubrimiento de metal noble (4).

35

40

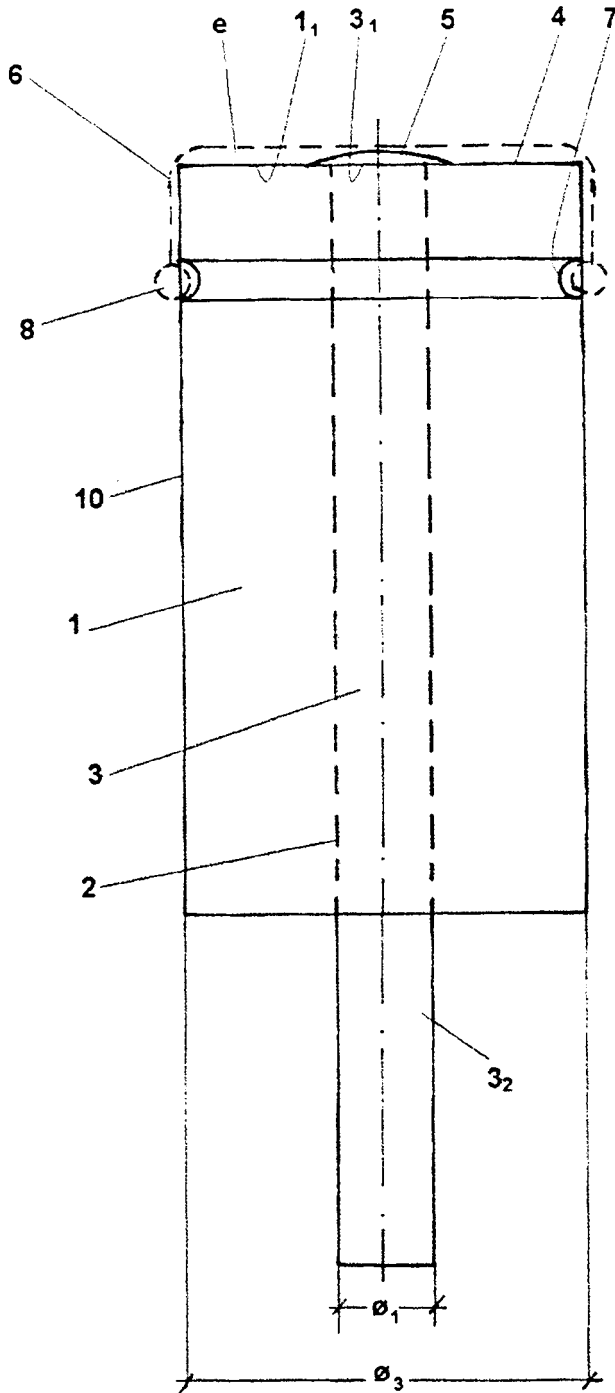
45

50

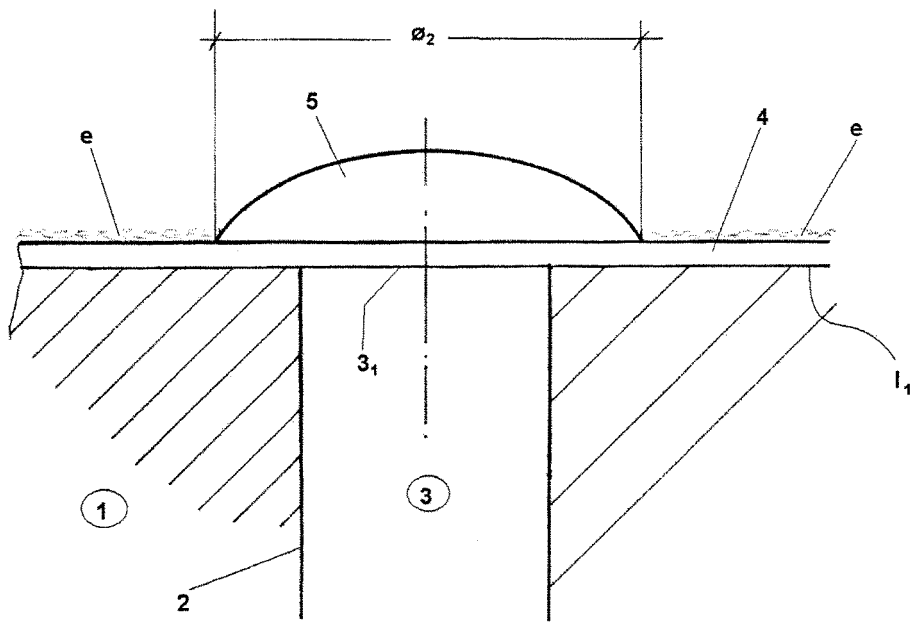
55

60

65



**Fig. 1**



**Fig. 2**



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 334 486

② Nº de solicitud: 200802126

③ Fecha de presentación de la solicitud: 11.07.2008

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: Ver hoja adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑥ Documentos citados   | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| A         | US 3770607 A (WILLIAMS D) 06.11.1973, columna 2, líneas 35-67; columna 4, líneas 30-42.                          | 1-5                        |
| A         | US 4820399 A (SHIMADZU CORPORATION) 11.04.1989, columna 3, línea 38 - columna 6, línea 39; ejemplo 7; figura 13. | 1-5                        |
| A         | EP 0400918 A1 (NAKANO VINEGAR CO LTD) 05.12.1990, columna 3, línea 51 - columna 4, línea 55.                     | 1-5                        |
| A         | GB 2054859 A (RADELKIS ELEKTROKEMIAI) 18.02.1981, página 2, líneas 48-63; figura 1.                              | 1-5                        |
| A         | US 4440620 A (OLYMPUS OPTICAL CO LTD) 03.04.1984, columna 3, línea 49 - columna 4, línea 15; figura 1.           | 1-5                        |

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

24.02.2010

Examinador

B. Aragón Urueña

Página

1/4



CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**C12Q 1/25** (2006.01)

**G01N 27/30** (2006.01)

**G01N 27/327** (2006.01)

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

C12Q, G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TEXT

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 24.02.2010

**Declaración**

|  |                      |           |
|--|----------------------|-----------|
| <b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>             | Reivindicaciones 1-5 | <b>SÍ</b> |
|  | Reivindicaciones     | <b>NO</b> |
| <b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)</b> | Reivindicaciones 1-5 | <b>SÍ</b> |
|  | Reivindicaciones     | <b>NO</b> |

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión:**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

**1. Documentos considerados:**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación | Fecha Publicación |
|-----------|-------------------------------------|-------------------|
| D01       | US 3770607 A                        | 06-11-1973        |
| D02       | US 4820399 A                        | 11-04-1989        |
| D03       | EP 0400918 A1                       | 05-12-1990        |

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

El objeto de la presente invención es un soporte para un biosensor.

El documento D01 divulga un aparato para la determinación de glucosa que comprende un ánodo formado por un cilindro no conductor en cuyo interior se dispone de una varilla que se encuentra unida en su extremo a un sensor electroquímico que podrá ser una lámina de un metal noble como oro. El sensor y la varilla se encapsulan en un aislante tipo resina epoxi excepto en la parte inferior del sensor que será la superficie de transferencia de electrones. A continuación se dispone de una membrana tipo diálisis que protege a la enzima la cual se inmoviliza entre el sensor y la membrana. (ver columna 2, línea 35-línea 67, columna 4, línea 30-línea 42).

El documento D02 divulga un electrodo en cuya superficie se encuentra inmovilizada la enzima. El electrodo se encuentra formado por una varilla de platino que se une a un soporte impregnado por una sustancia que actúa como medio de transferencia de electrones. El oro es una de las sustancias que se pueden emplear para la transferencia de electrones. La enzima se inmoviliza sobre el soporte y para mantener y fijar la enzima se emplea una membrana fina permeable. En uno de los ejemplos se aplica un agente adherente tipo epoxi al extremo de la varilla. (ver columna 3, línea 38-columna 6, línea 39, ejemplo 7).

El documento D03 divulga un sensor enzimático que comprende sobre la superficie del electrodo, una sustancia mediadora y la disposición de las enzimas. Para la preparación de dicho electrodo realiza la mezcla de la sustancia mediadora con polvo de grafito y la enzima (ver columna 3, línea 51-columna 4, línea 55).

Los documentos citados D01-D03 muestran tan sólo el estado de la técnica del campo al que pertenece la invención. Ninguno de los documentos citados, tomado solo o en combinación, revela ni contiene sugerencia alguna que dirija al experto en la materia hacia un soporte de biosensor que incorpore un protector de material no conductor sobre la capa de metal noble y recubriendo un diámetro mayor que el diámetro de la varilla.

En consecuencia, las reivindicaciones 1-5 de la solicitud reúne los requisitos de novedad y actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP).