

TÍTULO DE PATENTE NO. 339086

Titular(es): INMOLECULE INTERNATIONAL LIMITED
Domicilio: 16 Great Queen Street, Covent Garden, WC2B5AH, Londres, REINO UNIDO
Denominación: NANOMATERIAL DE DIÓXIDO DE TITANIO NANOPARTICULADO MODIFICADO CON GRUPOS FUNCIONALES Y CON EXTRACTOS CÍTRICOS ADSORBIDOS EN LA SUPERFICIE PARA LA ELIMINACIÓN DE AMPLIO ESPECTRO DE MICROORGANISMOS.
Clasificación: Int.Cl.8: A61K36/00; B82Y40/00; B82Y5/00; C01G23/047; C09D5/14

Inventor(es): GABRIEL LEÓN GUTIERREZ



Vigencia: Veinte años

Fecha de Vencimiento: 20 de junio de 2033

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2º fracción V, 6º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial. De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

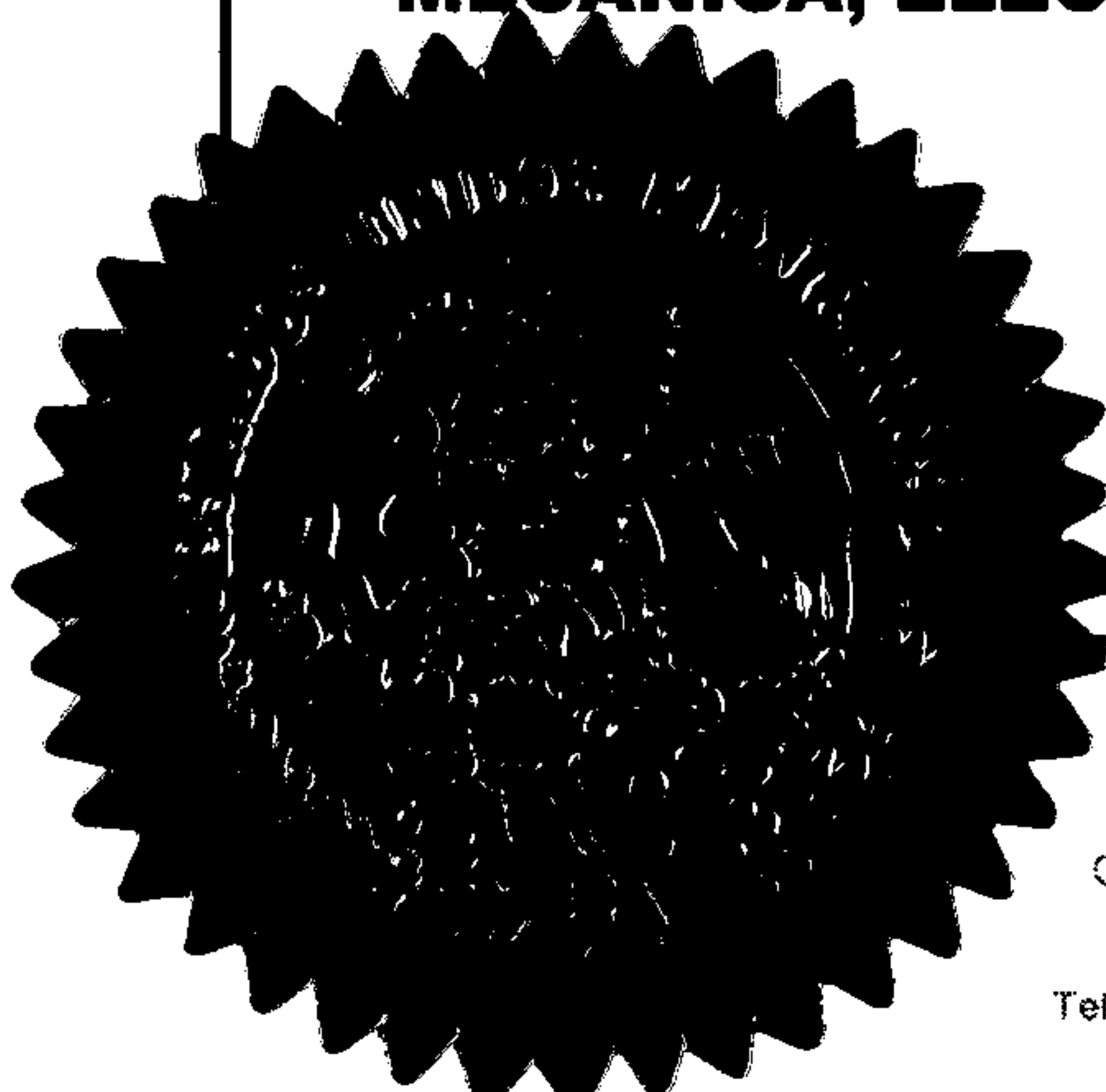
Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 6º fracciones III y 7º bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 27/05/1993, reformada el 02/08/1994, 25/10/1995, 26/12/1997, 1º/05/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 18/06/2010, 26/06/2010, 27/01/2012 y 06/04/2012); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), sub inciso iii) 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 14/12/1999, reformado el 01/07/2002, 15/07/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, 2º fracción III inciso a), sub inciso iii), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 22/07/1999, reformado el 10/10/2002, 21/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007); 1º, 3º y 5º inciso a) y antepenúltimo párrafo del Acuerdo que delega facultades en los Directores Generales Regionales, Coordinadores, Directores Divisionales, Titulares de las Oficinas Regionales, Subdirectores Divisionales, Coordinadores Departamentales y otros subalternos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

Fecha de expedición: 9 de mayo de 2016

SUBDIRECTOR DIVISIONAL DE EXAMEN DE FONDO DE PATENTES, ÁREAS MECÁNICA, ELÉCTRICA Y REGISTROS DE DISEÑOS INDUSTRIALES Y

MODELOS DE UTILIDAD

PEDRO DAVID FRAGOSO LOPEZ



NANOMATERIAL DE DIÓXIDO DE TITANIO NANOPARTICULADO
MODIFICADO CON GRUPOS FUNCIONALES Y CON EXTRACTOS

IMPI
INSTITUTO MEXICANO
DE LA PROPIEDAD
INDUSTRIAL



CÍTRICOS ADSORBIDOS EN LA SUPERFICIE PARA ~~LA ELIMINACIÓN~~
DE AMPLIO ESPECTRO DE MICROORGANISMOS.

5

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención está relacionada con la síntesis y la preparación de una mezcla de extractos herbales y frutales, y su adsorción en un nanomaterial de dióxido de titanio modificado con grupos funcionales, con una formulación general $E/M_aO_{2(c)}(OH)_v(PO_4)_w(SO_4)_xCl_y(NH_2)_z$ en donde E es una solución complejo de extractos de toronja, limón, mandarina, otros cítricos y M es titanio. El tamaño de partícula de la matriz, la acidez, el tamaño medio de poro de la matriz y el tamaño de partícula es controlado durante la síntesis. El nanomaterial de esta invención se usa para inactivar virus, eliminar bacterias, mycobacterias, hongos, y esporas. La invención está dirigida al uso de estas nanopartículas para la desinfección de la superficie y asepsia de superficies biológicas y no se limita a un campo de aplicación específica.

25

TÉCNICA ANTECEDENTE

Desde el comienzo del tiempo los humanos han tratado de alterar la materia y, recientemente, los científicos han adquirido la capacidad de manipular los materiales a escala atómica y molecular utilizando la

nanotecnología se ha movido de la ciencia ficción en
realidad científica y en la vida cotidiana. Ahora, la
nanotecnología se está desarrollando para prevenir,
diagnosticar y tratar las enfermedades infecciosas, con
5 algunos productos a punto de fase de ensayo clínico. Los
avances en este campo son exponenciales (1-6).
Interdisciplinario nanociencia y las investigaciones que
involucran químicos, físicos, biólogos e ingenieros está
preocupado por la necesidad de desarrollar métodos
10 ecológicos y sostenibles para la síntesis de
nanomateriales. Hay una corriente de excitación para
integrar todos los enfoques de química verde para el
diseño de materiales ambientalmente benignos y procesos.
Los rápidos avances se están produciendo en la síntesis
15 de óxidos mixtos biocompatibles o nanomateriales
metálicos y óxidos simples bimetálico y su modificación
superficial para bioactividad y aplicaciones nanomédicos.
Biosíntesis de nanopartículas como un punto culminante
emergente de la intersección de la nanotecnología y la
20 biotecnología ha recibido cada vez más atención debido a
la creciente necesidad de desarrollar tecnologías
respetuosas del medio ambiente en la síntesis de
materiales. Biomoléculas como reactivos se encuentra que
tienen una ventaja significativa sobre sus homólogos como
25 agentes de protección (7-13).

Las propiedades de los materiales pueden
cambiar notablemente cuando su tamaño de partícula se

reduce a la escala de nanómetros. En la ciencia de materiales "partícula" es un término general para describir pequeños objetos sólidos con tamaños que van desde la escala atómica (10^{-10} m) a la escala microscópica (10^{-3} m). Sin embargo, el tamaño de partícula se encuentra a menudo entre 10^{-9} - 10^{-5} m. Las partículas grandes ($> 10^{-6}$ m) son comúnmente llamados granos (es decir, zeolitas, carbono, metales Raney) y pequeñas partículas (< 15 nm) se agregan con frecuencia (metales) de óxidos mixtos, es decir, TiO_2-SiO_2 , TiO_2 o SiO_2 (14-20). Todos los materiales consisten en granos (partículas) formados por la aglomeración de las nanopartículas.

En materiales convencionales los granos tienen un tamaño comprendido entre 100 micrómetros y milímetros (mm), mientras que las partículas de los nanomateriales están en el orden de una mil millonésima parte de un metro (10^{-9}). El diámetro medio del cabello humano es aproximadamente de un nanómetro. El radio de un átomo es 1 a 3 Angstrom (\AA) y un nanómetro es igual a 10 \AA . Los nanomateriales son sólido rígido, resistente y son dúctiles a altas temperaturas, son resistentes a la degradación, la erosión y la corrosión, también son muy activos químicamente. Las propiedades físicas y químicas de cada nanomaterial o material nanoparticulado se determinan por el tipo de compuestos e interacciones con que las nanopartículas son funcionalizadas; así la densidad electrónica y la concentración de hidroxilo en

la red tienen un papel importante en el rompimiento del ADN patógeno.

Una de las áreas en las que las nanopartículas han aumentado la importancia está en el campo de la desinfección, con el fin de obtener una distribución de partículas con forma bien definida y tamaño para mejorar la actividad desinfectante. En particular, es necesario para obtener partículas altamente dispersas en la que la mayor parte de los átomos están situados en la superficie. La estructura incluye un área sólida, tamaño de los poros, así como la forma y el volumen de los poros. Estos parámetros también son importantes, ya que son directamente responsables de incrementar la tasa de desinfección microorganismo. La adsorción de grupos funcionales en la superficie lo hacen selectivo a microorganismos patógenos y la adsorción de los extractos cítricos le dan su poder desinfectante.

Aunque la actividad puede estar relacionada directamente con su área total de contacto entre el material y el organismo, la determinación de la superficie se considera generalmente un requisito importante en la caracterización del material. Además, es necesario especificar la naturaleza de la estructura de los poros ya que controlan el transporte de reactivos y productos.

El dióxido de titanio se encuentra en la naturaleza en tres fases cristalinas; anatasa, rutilo y



brookita (Fig. 2). La anatasa y brookita puede transformarse en rutilo a altas temperaturas. La anatasa puede transformarse irreversiblemente a rutilo por calentamiento. Hay varios factores que influyen en el desplazamiento de fase, tales como tamaño de partícula, la morfología del cristal, pero en particular la influencia de los iones de envenenamiento a la red. La literatura indica que una de estas tres fases, la anatasa, tiene una gran estabilidad química, resistencia a la corrosión, es inerte a partir de agentes biológicos y tiene una elevada superficie específica. Sin embargo, el óxido de titanio comercial es una mezcla (Degussa P25) y contiene 60 a 80% de anatasa. El único problema para producir la fase anatasa es que la fase rutilo es termodinámicamente más estable. La estructura de anatasa y rutilo son tetragonal, mientras que brookita es ortorrómbica, cada átomo de titanio está unido a 6 átomos de oxígeno casi equidistantes y cada átomo de oxígeno está unido a tres átomos de titanio.

La necesidad de desinfectantes y antisépticos con una acción específica que inactivan virus y eliminan bacterias, mycobacterias, mycoplasma, hongos, protozoos, y esporas con la mayor eficiencia confirmada contra estos y otros microorganismos se ha incrementado.

Esto se relaciona con un aumento de nuevas infecciones (por ejemplo, VIH, influenza y gripe aviar) y re-emergencia de las infecciones controladas

anteriormente por resistencia a los desinfectantes,
antisépticos, medicamentos, cambios ambientales y
alteraciones del estilo de vida. Además, algunas
enfermedades infecciosas se pueden extender mediante el
5 uso de nuevos dispositivos médicos que no pueden ser
esterilizadas por técnicas tradicionales, tales como el
tratamiento térmico. La nanotecnología tendrá un impacto
profundo sobre las infecciones nosocomiales y sus
enfermedades de varias maneras, para el diagnóstico
10 mejoradas, la prevención y la detección, terapias
dirigidas y antibacteriano, antiviral, antimicótica,
antimicobacterial y materiales esporicidas. La actividad
antimicobacterial según la literatura se encuentra
estrechamente ligada a la actividad esporicida
15 principalmente en torno a Bacillus Subtilis.

Las tecnologías de diagnóstico combinan un
sistema de reconocimiento y un sistema de detección, de
pequeño voladizo que se mueven sobre la unión al antígeno
de nanocables que detectan la corriente de la inmunidad
20 de unión celular.

Para la prevención, microbicidas basados en la
nanotecnología se prueban contra el VIH u otros virus y
se encuentran ahora en los primeros ensayos clínicos. Los
estudios de laboratorio sobre nuevas vacunas contra la
25 hepatitis B, tuberculosis, VIH, influenza y
recubrimientos antibacterianos para superficies o
~~materiales incluso para el sector médico parecen~~

prometedores. Estos revestimientos pueden reducir el
problema de la adherencia bacteriana o viral en las
superficies del hospital y tener un impacto beneficioso
sobre la transmisión intrahospitalaria de bacterias
5 multirresistentes, virus, esporas, hongos, etc., que
representa un gran problema, no resuelto. El dióxido de
titanio tiene una interacción específica con muchas
moléculas biológicas, microbios, algas, células y tejidos
vivos. Las interacciones específicas significan que se
10 diferencia de las reacciones comunes entre los materiales
no viables y biomoléculas o tejidos vivos. Las
interacciones son en su mayoría beneficiosas desde el
punto de vista de aplicaciones biotecnológicas. El
dióxido de titanio es conocido por formar un enlace
15 directo con el tejido vivo que se puede utilizar en las
aplicaciones de biomateriales. Otras áreas de aplicación
de el dióxido de titanio son en biosensores, ingeniería
de tejidos, la terapia génica, la entrega controlada de
agentes terapéuticos y de protección ambiental (21-30).

20 La seguridad microbiana sigue siendo una
preocupación importante en temas prioritarios de salud,
en los organismos reguladores y en las industrias de todo
el mundo. Muchas estrategias se han utilizado
tradicionalmente para el control de microorganismos.
25 Aunque los antimicrobianos sintéticos son aprobados en
muchos países, la tendencia reciente ha sido por el uso
de productos naturales, lo cual requiere la exploración

de fuentes alternativas de antimicrobianos seguros,
eficaces y aceptables.

En los últimos años el ensamblaje de nanopartículas para la desinfección de partículas virales, las interacciones virus-célula, y patogénesis viral; ha tomado todos estos enfoque para el desarrollo y diseño de nuevas estrategias. El rotavirus es un género de virus de doble cadena de ARN de la familia Reoviridae (de doble cadena (ds) los virus de ARN son un grupo diverso de virus que varían ampliamente en gama de huéspedes (humanos, animales, plantas, hongos y bacterias), segmento del genoma, organización y número (de uno a doce) y virión (número T, capas de la cápsida o torretas).

La influenza, comúnmente conocida como la gripe, es una enfermedad infecciosa causada por virus de ARN. La gripe A partícula de virus o virión es 80-120 nm de diámetro y generalmente aproximadamente esférica, aunque las formas filamentosas pueden ocurrir. Inusualmente para un virus, el genoma de la gripe A no es una pieza única de ácido nucleico, sino que contiene ocho piezas de segmentados ARN de sentido negativo (13,5 kilobases total), que codifican 11 proteínas (HA, NA, NP, M1, M2, NS1, NEP, PA, PB1, PB1-F2, PB2). La mejor característica de estas proteínas virales son la hemaglutinina y la neuraminidasa, dos grandes glicoproteínas que se encuentran en el exterior de las

partículas virales. Los biocatalizadores nanoparticulados y funcionalizados de esta patente rompen los enlaces de ARN y la estructura de las proteínas del virus de este tipo.

5

Extractos

Las plantas contienen componentes innumerables y constituyen valiosas fuentes de nuevas moléculas biológicamente activas y poseen propiedades antimicrobianas. De ciertas plantas se extraen estos componentes ya sea como extractos estandarizados o como una fuente de compuestos puros que proporcionan oportunidades ilimitadas para el control de la proliferación microbiana, debido a su diversidad química. Muchos extractos vegetales poseen actividad antimicrobiana contra una gama de bacterias, levaduras y mohos, pero las variaciones en la calidad y cantidad de los componentes bioactivos es el gran perjuicio. Desarrollos de procedimientos de aislamiento eficaces que producen extractos estandarizados, así como evaluación de la seguridad y la toxicología de estos antimicrobianos requiere una investigación más profunda (45-47).

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales (AEs) han sido reconocidas desde hace siglos y con una demanda creciente de los cambios en las tendencias de consumo, la legislación y el aislamiento cada vez mayor de agentes patógenos resistentes a los

25

antibióticos, las alternativas a los productos químicos a base de bactericidas hay que encontrar. Aceites de cítricos no sólo se prestan para uso en alimentos, también son generalmente reconocidos como seguros (GRAS) y se ha encontrado que son inhibidores tanto en aceite directa y forma de vapor contra una gama de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Este grupo de aceites pueden proporcionar los antimicrobianos naturales que se requieren para cumplir muchos requisitos (45-47).

Patentes del Estado de la Técnica

Patente de EE.UU. No. 6117814. Esta patente describe un depósito de óxido de titanio que también incorpora sílice y alúmina como aglutinante en la estructura. El propósito del aglutinante es impartir mejores propiedades mecánicas al depósito. El rango de tamaño de este depósito es de entre 20 a 120 micras. El depósito es de aproximadamente 50% de aglutinante, que se fabrica mediante un proceso sol-gel.

Patente de EE.UU. No. 6087405. Esta patente describe un depósito para ser utilizado en una reacción de Fischer Tropsch del gas de síntesis. El depósito incorpora metales del grupo VII en su estructura. La relación de rutilo-anatasa en la estructura es una característica distintiva de esta patente.

WO/2003/064324. La invención se refiere a una
composición de polímero de óxido de titanio. La
composición de la invención comprende un $TiO_x(OH)_y(H_2O)_z$ ($x + y + z = 3$) de óxido de titanio a base de
5 polímero en forma de un gel o sol. Dicho polímero, que
tiene una estructura de una dimensión (1D), se hace de
forma concéntrica fibras que tienen una periodicidad, que
se deduce de la separación entre dichas fibras, de entre
3,5 y un 4. Cada fibra comprende TiO_6 octaedros y cada
10 uno TiO_6 comparte octaedro dos bordes opuestos con dos
octaedros adyacentes ($2 \times 2,92 \text{ \AA}$) con el fin de formar
cadenas infinitas que se desarrollan a lo largo del eje
de la fibra. Según la invención, dos cadenas adyacentes
forman líneas dobles como resultado de los bordes
15 compartidos ($2 \times 3,27 \text{ \AA}$). El polímero de la invención es
adecuado para uso como un elemento fotosensible en una
célula fotovoltaica, tal como un filtro solar para una
ventana.

20 **WO/2006/079757.** Método de preparación de
precursores de óxido cerámico estables de sol-gel
soluciones basadas en plomo, titanio, zirconio y
lantánido (s) y método de preparación de dicha cerámica.
La invención se refiere a un método de preparación de un
25 óxido cerámico estable precursor sol-gel solución basada
en plomo, titanio, circonio y lantánidos (s). La
invención comprende las siguientes etapas sucesivas que

consisten en: a) preparar una solución de sol-gel aportando un precursor molecular de plomo, un precursor de titanio molecular, un precursor de zirconio y un precursor molecular lantánido molecular en contacto con un medio que comprende un disolvente diol y opcionalmente un alcohol alifático mono-, b) dejar la solución así obtenida en reposo durante un período de tiempo suficiente con el fin de obtener una solución con una viscosidad esencialmente constante, y c) diluir la solución obtenida en la etapa precedente con un idéntico disolvente diol a la utilizada en la etapa a o un disolvente que es miscible con dicho disolvente, a una velocidad predeterminada. La invención se puede utilizar para preparar un óxido de plomo que comprende material cerámico, un metal lantánido, titanio y zirconio.

WO/2007/141590. Sol-gel nanoestructurados depósitos de óxido de titanio para su uso en la liberación controlada de fármacos en el sistema nervioso central y el método de síntesis. La invención se refiere a un depósito de sol-gel nanoestructurado de dióxido de titanio y su síntesis, que es biocompatible con el tejido cerebral. La distribución del tamaño de poro, tamaño de los cristallitos y la medida de la distribución de fase cristalina de anatasa, rutilo y brookita se puede controlar completamente. Este dispositivo puede ser utilizado para contener fármacos neurológicos. Se puede

insertar directamente en el tejido cerebral para la finalidad de la liberación controlada en el tiempo de fármacos durante un periodo de tiempo de 6 meses a tres años. Esta patente utiliza el método sol-gel y se limita a la fabricación de las partículas contrario al método utilizado en esta patente en el que se toma el material prefabricado y se modifica su superficie por impregnación.

10 **WO93/21969.** Nuevos materiales de revestimiento para aplicaciones biomédicas, particularmente para uso en implantes biomédicos, el material de revestimiento que contiene gel derivado de óxido de titanio, donde el material es capaz de inducir la formación de fosfato de calcio en su superficie bajo condiciones in vitro, por ejemplo, en una simulada de fluido corporal y / o en condiciones in vivo, a procedimientos para la preparación de los materiales de revestimiento, así como su uso en la tecnología de implantes biomédicos.

20 **US 8404743 B2** Compuestos que comprenden un complejo de óxido de zinc unido químicamente a una o más moléculas que tienen un hidrógeno ácido, como por ejemplo un ácido orgánico. La invención también proporciona composiciones que comprenden tales compuestos y métodos de preparación.

US 20120244086 A1 Compuestos para uso

dentífrico con extracto de zingiber officinale utilizando materiales derivados del zinc con propiedades antibacteriales.

5

US 20120237455 A1 Compuestos de uso oral con extracto de zizyphus joazeiro utilizando materiales derivados de zinc con propiedades antibacteriales.

10

EP 1981513 A2 Una composición para el cuidado tópico de la piel que comprende ciruela Kakadu, extracto de baya de acai, o una combinación de ambas. La composición puede tener una alta capacidad de absorción de radicales de valor de oxígeno (ORAC). La composición puede mejorar la apariencia visual de la piel, funciones fisiológicas, propiedades clínicas, y / o propiedades biofísicas. No usa nanopartículas pero presentan propiedades antibacteriales.

15

20

US 20120225147 A1 Composición tópica para mejorar la apariencia visual de la piel que comprende una cantidad eficaz de extractos de Malpighia puniceifolia (acerola) , Myrciaria dubia (camu camu), y Ribes nigrum (grosellero negro), y un vehículo dermatológicamente aceptable que comprende agua, glicerina, dimeticona o ciclometicona, esteárico ácido, carbómero, e hidróxido de sodio. Presentan propiedades antibacteriales.

25

EP2099429 A2 Nanopartículas micelares de polietilenglicol (PEG), fosfolípidos, coles-teroles, ácidos grasos glicolípidos, los ácidos biliares, y saponinas que encapsulan la toxina botulínica para reducir sus efectos tóxicos. Presentan propiedades antibacteriales.

US8372382 B2 Aceite no iónico en emulsión en agua que comprende menos de 50% en peso de agua, una combinación de emulsionantes no iónicos y estabilizantes de la emulsión no iónicos, una combinación de agentes acondicionadores de la piel, humectantes y una combinación de agentes de absorción de UV. La emulsión puede ser estable y tener un SPF de al menos 30. No usa nanopartículas pero presentan propiedades antibacteriales

EP2470159 A1 Composiciones y métodos para el tratamiento de la piel que comprende una combinación químicamente compatible de ingredientes activos para la piel que comprende palmitoil tetrapéptido-7, manuronato metilsilanol, y la efervescencia Lactobacillus, una combinación químicamente compatible de ingredientes activos para la piel que comprenden extractos de plantas de Punica granatum, Castanea sativa, Gossypium hirsutum y Euterpe oleracea, y un vehículo dermatológicamente aceptable. Las composiciones pueden ser sustantiva en que pueden permanecer en la piel de una persona durante el

sueño. No usan nanopartícula pero presentan propiedades antibacteriales.

US5792793 A Complejo formado por la
5 coordinación entre un compuesto que contiene un grupo
tiol y un ión de plata; un agente antibacteriano,
antifúngico y antiviral compatible con varios vehículos y
transportistas, mantiene su actividad durante mucho
tiempo, y ha reducido la toxicidad por vía oral,
10 irritación de la piel e irritación mucosa.

EP 2448416 A1 (texto del **WO2011002929A1**)
Conservante antimicrobiano o composiciones que comprenden
bajas concentraciones de extractos botánicos, en
15 combinaciones sinérgicas con alcanodiolos en un sistema
disolvente, opcionalmente con ácidos de frutas.
Adicionalmente, la presente invención se refiere a un
conservante antimicrobiano o composiciones que comprenden
un compuesto de plata, un aceite esencial o componente
20 individual, una o más sales de zinc, y uno o más
alcanodiol. Las composiciones de la invención se pueden
usar en productos de cuidado personal, incluidos los
productos de cuidado de heridas o en uso
veterinario. Preferiblemente, las composiciones de la
25 invención tienen poca o ninguna fragancia humana-
detectable.

SUMARIO DE LA INVENCION

El principal objetivo de esta invención es utilizar la nanotecnología para el desarrollo de un nanomaterial de dióxido de titanio con extractos herbales o frutales adsorbidos en la superficie para su uso en la inactivación de cualquier tipo de virus, bacterias, hongos, mycoplasmas, mycobacterias, protozoos y esporas. La optimización del nanomaterial para permitir el control de los siguientes parámetros: acidez del soporte, área BET, distribución de tamaño de poro, tamaño de partícula, grado de funcionalización, dispersión de los extractos adsorbidos sobre el soporte es primordial para obtener una alta actividad para romper los enlaces CC y CN de las proteínas, ARN y ADN en los microorganismos patógenos. Es importante que los extractos soportados en la matriz tengan completamente dispersos en todo el soporte para conseguir una alta eficiencia de formación de grietas en el CC y la proteína CN y bonos nucleótidos.

El nanomaterial de soporte es un óxido metálico inorgánico nanoparticulado y funcionalizado por proceso de impregnación. Este material se ha funcionalizado y se le ha hecho una dispersión uniforme de extractos con un tamaño de partícula pequeño (0.3-10 nm).

Esta invención resuelve el problema actual de los desinfectantes ya que la gran mayoría son contaminantes, irritantes, tóxicos, no biodegradables o hasta cancerígenos. Además al ser selectivo, no causa

ningún daño al ser humano lo que es una ventaja adicional
contra los desinfectantes no tóxicos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

5 **Figura 1** Sistema de extracción de activos y
aceites orgánicos herbales y/o frutales.

El sistema es un sistema tradicional de
arrastre de vapor con un primer matraz generador de
vapor. Un segundo matraz donde se colocan las materias
10 primas a las que se les realizará la extracción y un
tercer matraz para la recepción del líquido.

Figura 2 Fases cristalinas del dióxido de
titanio.

15 Fases cristalinas del dióxido de titanio:
anatasa, rutilo y brookita. La fase anatasa es
metaestable y tiene los oxígenos en la parte externa del
cristal.

20 **Figura 3** Espectro de infrarrojo del
nanomaterial de dióxido de titanio.

Figura 4 Espectro de Difracción de Rayos X que
confirma la presencia de la fase anatasa del dióxido de
25 titanio.

Figura 5 Microscopías electrónicas que

confirman el tamaño de partícula.

Microscopía electrónica de barrido donde se observan los cúmulos de las nanopartículas con tamaño entre 1 y 100nm. Microscopía de transmisión que muestra la existencia de partículas $\leq 1-2\text{nm}$.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al conjugado de un nanomaterial de dióxido de titanio con extractos herbales y/o frutales adsorbidos en la superficie, sintetizado mediante el proceso de impregnación industrial utilizado como soporte óxidos inorgánicos nanoparticulados (1-100nm). Son nanopartículas de óxido funcionalizado con grupos funcionales orgánicos, radicales inorgánicos al que se le adsorben físicamente extractos de plantas que le confieren la propiedad de ser un agente anti-microbiológico. Con esta configuración, el material tiene un alto poder desinfectante y antiséptico, eliminando bacterias, hongos, mycobacterias, esporas, mycobacterias, protozoarios y virus.

Este nanomaterial se obtiene usando el proceso de impregnación para modificar su superficie y para dispersar partículas de extractos cítricos de 0.3-10 nm en la superficie del soporte.

Factores importantes en el diseño del material de soporte

| | |
|---|---|
| Estructura cristalina | Óxido metálico cristalino |
| Composición Química | $E/M_2O_{2(c)}(OH)_v(PO_4)_w(SO_4)_xCl_y(NH_2)_z$ donde E es una solución compleja de extractos; M es el metal |
| Tamaño de grano, partícula o cristal | Distribución de 0 a 100 nm |
| Superficie | 50m²/gr |

EXTRACCIÓN DE ACTIVOS HERBALES Y/O FRUTALES

5 La producción de los extractos lleva dos etapas. En primer lugar la etapa etanólica donde se colocan las semillas, hojas, cáscaras y cortezas de las frutas seleccionadas que pueden ser uva, mandarina, naranja, toronja, limón, guayaba, entre otras plantas; en

10 contacto con una solución de alcohol etílico al 70% como mínimo en agitación constante a una velocidad aproximada de entre 100 y 400 RPM a una temperatura entre 30 y 50 °C durante un periodo entre 24 y 48 horas. Se retira el alcohol con el extracto por filtración.

15 Los residuos herbales recuperados de la etapa etanólica se colocan en un sistema como el de la figura 1 donde en el primer matraz se coloca agua destilada y se calienta entre 100 y 130 °C. El vapor generado pasa por un tubo hasta otro matraz donde se colocan los residuos

20 herbales y el cual se mantiene caliente entre 40 y 60 °C. El vapor se recupera a la salida del segundo matraz en un refrigerante con agua fría a una temperatura entre 10 y 4

°C. El líquido resultante se mezcla con el obtenido de la primera etapa.

La mezcla se deja reposar a temperatura ambiente durante 12 horas. El resultante debe ser un líquido de color variable que dependerá de las plantas o frutas utilizadas, sin viscosidad, con un sabor amargo intenso y pH de 2 a 5.

Funcionalización del soporte

Se optimizó el proceso de funcionalización del soporte para la inclusión de los extractos.

Un aspecto importante de este nanomaterial son las características químicas que posee. En primer lugar, el aspecto que categoriza el invento como nanotecnológico y que es uno de sus mayores atributos y ventajas para la eliminación de microorganismos, que cuenta con un tamaño de partícula entre 1 y 100 nm y le asemeja en importancia la estructura cristalina ya que los átomos de oxígeno del material se deben encontrar en la parte externa del cristal permitiendo el acceso o proceso de adición de los grupos funcionales y la adsorción de los extractos.

Como proceso inicial se requiere preparar soluciones aportadoras de grupos funcionales hidroxilo, fosfato, sulfato, cloruro, amino, metilo, folato al 1.4%. Para las soluciones se utilizan los siguientes solutos:

| hidroxilo | fosfato | sulfato | cloruro | amino | metilo | folato |
|-----------|------------------|------------------|-------------------|---------------------------|---------------|-------------------------|
| Agua | Fosfato de sodio | Sulfato de Sodio | Cloruro de sodio | etilamina | Metanol | Ácido fólico |
| Etanol | Ácido fosfórico | Ácido sulfúrico | Ácido Clorhídrico | Ácido gama amino butírico | Ácido fórmico | Ácido pteroilglutámico |

Tabla 1 Precursores de grupos funcionales que dan la propiedad de selectividad al nanomaterial.

Se toma el nanomaterial de dióxido de titanio industrial prefabricado adquirido con el proveedor
 5 seleccionado, preferentemente Degussa P25 y que cumpla con las características de área superficial de 50m²/gr y tamaño de partícula entre 1 y 100nm; y se coloca en un matraz con una proporción óxido-agua de 1:200. Se ajusta la agitación constante a una velocidad aproximada de
 10 entre 100 y 400 RPM, y se mantiene la temperatura entre 30 y 100°C a partir de este punto. Agitación y temperatura deben mantenerse durante todo el proceso.

Las soluciones preparadas previamente se agregan por turnos, en el orden en que se mencionan,
 15 completamente por goteo, manteniendo la suspensión global en agitación constante a una velocidad aproximada de entre 100 y 400 RPM. Una vez terminado de agregar cada solución se esperan de 5 a 30 minutos. La función de esta etapa de espera es adsorber completamente cada grupo
 20 funcional a la superficie del material antes de adicionar otro.

Se deja secar a temperaturas entre 30 y 100°C para eliminar los residuos líquidos.

Adsorción de los extractos

5 Para poder realizar la inclusión de los extractos, el óxido a utilizar debe tener un área superficial mayor o igual a los 50 m²/g.

Los extractos que se adicionen al soporte pueden ser de diversas partes de las plantas como son
10 flores, capullos, semillas, hojas, corteza, hierba, madera, fruta y raíces; así como de diversas plantas entre las que se encuentran los cítricos, uvas, granada, cortezas como la canela y semillas como la pimienta, hojas como el orégano y muchas otros extractos de plantas
15 que han demostrado tener propiedades antimicrobianas.

Se toma una solución acuosa de extractos al 70% y se coloca en un matraz en agitación constante a una velocidad aproximada de entre 100 y 400 RPM, continua a una temperatura entre 30 y 50 °C y se agrega paulatinamente el nanomaterial de dióxido de titanio
20 previamente tratado para agregar los grupos funcionales, producido en el procedimiento anterior y se mantiene en agitación constante a una velocidad aproximada de entre 100 y 400 RPM durante 24 horas.

25 El 70% de la solución está compuesto de una mezcla equitativa de extractos usando como mínimo tres

fuentes herbales o frutales de origen, por ejemplo mandarina, toronja, naranja y limón.

Ensayos de caracterización

5 En estas pruebas de ejemplo se utilizó óxido de titanio como soporte.

En el espectro de transmitancia infrarroja, se observa una banda centrada a 3667cm^{-1} . Esta banda se asigna a una vibración OH estiramiento. En general, esta
10 banda se observa a 3700 cm^{-1} en dióxido de titanio pura y que se debe a la presencia de grupos hidroxilo terminales que dan lugar sitios a ácidos tanto Lewis como Brönsted y se debe a las vibraciones de estiramiento OH. Las correspondientes vibraciones OH flexión se centran en
15 1633 cm^{-1} . Las bandas del infrarrojo asociadas con las vibraciones de estiramiento de los grupos amina se observó en 3230 cm^{-1} . Estas observaciones son consistentes con el hecho de que el complejo puede haber perdido sólo un átomo y que alguna descomposición del
20 complejo probablemente se ha producido como resultado de alguna de TiO . En la región de baja energía del espectro se observa una banda ancha centrada en 1095 cm^{-1} con un hombro a 1228 cm^{-1} . Estas bandas se deben a las vibraciones de estiramiento $(-\text{O}-\text{Si}-\text{O}-)$. El nanomaterial,
25 tiene varias características observadas en el espectro infrarrojo. En particular, una banda de deformación HNH

centrada a 1548 cm⁻¹ y una banda asimétrica de estiramiento a 3230cm⁻¹ son evidentes. El espectro de UV-Vis y el análisis térmico nos dice que al adsorber los extractos de cítricos en la superficie del nanomaterial se eleva la temperatura de descomposición y evaporación de los mismos, lo que significa que los extractos se encuentran protegidos de los factores ambientales, lo que extiende su vida útil y amplía el rango de uso o almacenamiento. El perfil de infrarrojo se muestra en la figura 3 y el espectro de Difracción de rayos X que confirma la presencia de la fase anatasa en la figura 4.

Este material tiene propiedades desinfectantes y antisépticas por lo que puede ser utilizado en productos de limpieza, desinfección, antisépticos y curación. Para estos fines se puede incluir en diversas formulaciones que pueden comprender:

| Ingrediente | Valor mínimo (%) | Valor máximo (%) |
|--|-------------------------|-------------------------|
| Material nanoparticulado | 0.0001 | 40 |
| Agua suavizada | 10 | 98 |
| Lauril sulfato de sodio | 10 | 70 |
| Lauril éter sulfato de sodio | 10 | 70 |
| Lauril Sulfato de amonio | 10 | 70 |
| Lauril éter sulfato de amonio | 10 | 70 |
| Lauril sulfato de monoetanolamina | 10 | 70 |
| Lauril eter sulfosuccinato de sodio | 10 | 70 |
| Lauril sulfato de trietanolamina | 10 | 70 |
| Decil poliglucósido | 10 | 70 |



| | | |
|--|----|-----|
| Alquil Polyglicosido | 10 | 70 |
| Cocoamidapropilbetaina | 10 | 70 |
| Dietanolamina de ácido grasos de coco | 10 | 50 |
| Polietilenglicol | 10 | 10 |
| Propilenglicol | 10 | 40 |
| Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) | 10 | 10 |
| Ácido Cítrico | 10 | 20 |
| Cloruro de sodio | 10 | 30 |
| Glicerina | 10 | 50 |
| Aceite mineral | 10 | 50 |
| Aceite de palma de coco con oxido de etileno | 10 | 50 |
| Ácido esteárico | 10 | 70 |
| Acrilato/Copolimero de acrilamida | 10 | 40 |
| Polisorbato 85 | 10 | 40 |
| Copolimero de acrilato sódico | 10 | 20 |
| Sodio taurato acrilometil Copolimero | 10 | 20 |
| Trideceth 6 | 10 | 20 |
| Ácido poliacrilico | 10 | 20 |
| Trietanolamina | 10 | 20 |
| Goma Xantana | 10 | 20 |
| Goma Guar | 10 | 20 |
| Fragancia | 10 | 20 |
| Saborizante | 10 | 20 |
| Amarillo Huevo | 0 | 0.1 |
| Color rojo #6 | 0 | 0.1 |



| | | |
|--------------------|---|-----|
| Color Rodamina | 0 | 0.1 |
| Amarillo Limon Pop | 0 | 0.1 |
| Anilina Azul | 0 | 0.1 |
| Verde esmeralda | 0 | 0.1 |
| Amarillo Naranja | 0 | 0.1 |
| Azul #1 | 0 | 0.1 |
| Verde #5 | 0 | 0.1 |
| Amarillo #5 | 0 | 0.1 |
| Verde #8 | 0 | 0.1 |
| Violeta Woll | 0 | 0.1 |

Pruebas de actividad viricida

Cultivos celulares

Se utiliza la línea celular MDCK cultivada en 5
 5
 10
 15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65
 70
 75
 80
 85
 90
 95
 100
 105
 110
 115
 120
 125
 130
 135
 140
 145
 150
 155
 160
 165
 170
 175
 180
 185
 190
 195
 200
 205
 210
 215
 220
 225
 230
 235
 240
 245
 250
 255
 260
 265
 270
 275
 280
 285
 290
 295
 300
 305
 310
 315
 320
 325
 330
 335
 340
 345
 350
 355
 360
 365
 370
 375
 380
 385
 390
 395
 400
 405
 410
 415
 420
 425
 430
 435
 440
 445
 450
 455
 460
 465
 470
 475
 480
 485
 490
 495
 500
 505
 510
 515
 520
 525
 530
 535
 540
 545
 550
 555
 560
 565
 570
 575
 580
 585
 590
 595
 600
 605
 610
 615
 620
 625
 630
 635
 640
 645
 650
 655
 660
 665
 670
 675
 680
 685
 690
 695
 700
 705
 710
 715
 720
 725
 730
 735
 740
 745
 750
 755
 760
 765
 770
 775
 780
 785
 790
 795
 800
 805
 810
 815
 820
 825
 830
 835
 840
 845
 850
 855
 860
 865
 870
 875
 880
 885
 890
 895
 900
 905
 910
 915
 920
 925
 930
 935
 940
 945
 950
 955
 960
 965
 970
 975
 980
 985
 990
 995

Titulación de los virus por ensayo de Hemaglutinación

(HE)

15
 20
 25
 30
 35
 40
 45
 50
 55
 60
 65
 70
 75
 80
 85
 90
 95
 100
 105
 110
 115
 120
 125
 130
 135
 140
 145
 150
 155
 160
 165
 170
 175
 180
 185
 190
 195
 200
 205
 210
 215
 220
 225
 230
 235
 240
 245
 250
 255
 260
 265
 270
 275
 280
 285
 290
 295
 300
 305
 310
 315
 320
 325
 330
 335
 340
 345
 350
 355
 360
 365
 370
 375
 380
 385
 390
 395
 400
 405
 410
 415
 420
 425
 430
 435
 440
 445
 450
 455
 460
 465
 470
 475
 480
 485
 490
 495
 500
 505
 510
 515
 520
 525
 530
 535
 540
 545
 550
 555
 560
 565
 570
 575
 580
 585
 590
 595
 600
 605
 610
 615
 620
 625
 630
 635
 640
 645
 650
 655
 660
 665
 670
 675
 680
 685
 690
 695
 700
 705
 710
 715
 720
 725
 730
 735
 740
 745
 750
 755
 760
 765
 770
 775
 780
 785
 790
 795
 800
 805
 810
 815
 820
 825
 830
 835
 840
 845
 850
 855
 860
 865
 870
 875
 880
 885
 890
 895
 900
 905
 910
 915
 920
 925
 930
 935
 940
 945
 950
 955
 960
 965
 970
 975
 980
 985
 990
 995

presente Hemaglutinación (HA) completa se considera la
dilución límite y se expresa como unidades
Hemaglutinantes (UHE).

Preparación de los eritrocitos

5 Se usan eritrocitos de pollo de 3 a 5 días. Los
pollos se sangran a blanco y la sangre se deposita en
solución alsever's. Las células se lavan varias veces
utilizando centrifugaciones de 1800 xg por 5 min, hasta
que el sobrenadante se ve claro, se elimina y las células
10 se ajustan al 10% en PBS. Justo al momento de usarse, la
solución de eritrocitos se ajusta al 0.5% en PBS.

Titulación de la hemaglutinina

15 Cada lote de virus debe ser titulado. Se
realizan diluciones dobles de 1:10 a 1:2560, depositando
un volumen de 0.05 mL de cada dilución en pozos de placas
de 96 pozos con fondo en V. Se debe incluir un pozo para
el control de eritrocitos.

20 Se agrega la suspensión de eritrocitos en cada
pozo mezclando suavemente para no romper los eritrocitos.
Se incuba a temperatura ambiente durante 1 o 2 horas.

El título de la HA se determina al leer la
dilución más alta capaz de aglutinar a los eritrocitos.

25 El título se reporta como el recíproco de la
dilución más alta capaz de aglutinar a los eritrocitos. Y
se interpreta como las unidades hemaglutinantes:
UHE/0.05mL de virus.

Determinación del título del virus a utilizar

Se estandarizan las cantidades de virus necesarias para los ensayos y el efecto del producto sanitizante sobre las células. Se utiliza la solución nanomaterial de dióxido de titanio con extractos herbales o frutales adsorbidos en la superficie a la dilución recomendada a partir del contenedor del sanitizante (se prepara tomando 75mL en 5 Litros de agua). A partir de esta dilución se mezclan 40µl del virus a diferentes UHE (40, 20 y 4 UHE) y se incuban durante diferentes tiempos: 1, 5 y 15 minutos. Las mezclas de cada tiempo de interacción (virus-Nanomaterial), se inoculan con monocapas confluentes de células MDCK y se incuban durante dos horas a 37°C en atmosfera húmeda y 5% de CO₂. Después de este tiempo se retira el inóculo viral, se agrega medio de cultivo fresco y libre de suero fetal bovino, y las monocapas se incuban durante 24 horas.

Efecto del nanomaterial de dióxido de titanio con extractos herbales o frutales adsorbidos en la superficie desinfectante sobre la infección viral

Se realizan cultivos de las células MDCK en placas de 24 pozos hasta su confluencia. Se emplean diferentes volúmenes de la solución sanitizante/antiséptica mezclada con una dosis infecciosa constante del virus. Se incuba de 10 a 15 min a temperatura ambiente y posteriormente se inoculan en las

placas de microtitulación con monocapas confluentes de células durante dos horas.

Posteriormente se retira la mezcla de solución sanitizante y virus, se lava con PBS estéril (pH 7.45) y a cada pozo se le agrega 1.5mL de metilcelulosa al 2.0% en MEM, para volver a incubar a 37°C, con 5% de CO₂ hasta que se formen las placas líticas (máximo 10 días). Se retira la metilcelulosa, se lava nuevamente, se agregan 200µL de metanol al 75%, se dejan por 20 min y se retiran para añadir el cristal violeta al 1% por 15 min. Luego se lava con agua corriente, se examinan y cuentan las placas líticas en el microscopio. Se calcula la dosis mínima de la solución sanitizante sobre la capacidad citopática del virus. Como controles de infección se utiliza virus sin solución sanitizante y como controles negativos células sin infectar. La prueba es cualitativa, por lo que se calcula el porcentaje aproximado de reducción de las placas formadas.

Con estas pruebas se ha encontrado que el invento objeto de esta descripción inhibe en un intervalo de 0 a 5 minutos la infectividad de virus como la influenza al 100%.

Pruebas de actividad bactericida y fungicida

Para el análisis de laboratorio y retención de

muestra, seleccionar al azar una submuestra representativa del producto a analizar, y anotar el número de lote.

Para la determinación de la actividad antimicrobiana, se establece un solo método, éste se basa en determinar el porcentaje de reducción de un número determinado de microorganismos, cuando se ponen en contacto con un germicida, bajo condiciones de prueba específicas.

10

Preparación de las soluciones

- Solución amortiguadora de fosfatos 0,25 M

En un matraz volumétrico de 1 000 mL, disolver 34 g de fosfato monobásico de potasio en 500 mL de agua, ajustar el pH entre 7,1 y 7,3 con la solución de hidróxido de sodio, aforar con agua, mezclar y distribuir en porciones de 100 mL. Esterilizar en autoclave a 394 K (121°C) durante 15 min, dejar enfriar y conservar en refrigeración.

20

- Solución amortiguadora de fosfatos diluída

Colocar 1,25 mL de la solución amortiguadora de fosfatos 0,25 M en un matraz volumétrico de 1 L y llevar a volumen con agua, mezclar y distribuir en porciones de 9 mL y 99 mL, en tubos y matraces, respectivamente, esterilizar en autoclave a 394 K (121° C) durante 15 min.

25

- Solución neutralizante concentrada

Mezclar 40 g de azolecitina, con 280 mL de polisorbato 80 mL y 1,25 mL de la solución amortiguadora de fosfatos, diluir con agua hasta obtener un volumen
5 final de un 1 L; ajustar el pH a 7,2 con la solución volumétrica de hidróxido de sodio o la solución volumétrica de ácido clorhídrico, distribuir en porciones de 100 mL. Esterilizar en autoclave a 394 K (121°C) durante 20 min.

10

- Solución neutralizante diluida

Mezclar 100 mL de la solución neutralizante concentrada con 25 mL de la solución amortiguadora de fosfatos 0,25 M, adicionar 1 675 mL de agua, mezclar y
15 distribuir en porciones de 9 mL en tubos con rosca de 20 mm x 150 mm. Esterilizar en autoclave a 394 K(121°C) durante 20 min.

- Preparación de los medios de cultivo

20 Preparar y esterilizar los medios de cultivo de acuerdo a las instrucciones marcadas por el fabricante en la etiqueta del producto. Para el caso del medio de cultivo agar para método estándar con neutralizante, antes de esterilizar, adicionar a un litro del medio de
25 cultivo agar para método estándar, 25 mL de la solución neutralizante concentrada.

- **Caldo neutralizante**

Mezclar los componentes que se indican en la tabla 1, calentar hasta disolución, ajustar el pH a 7,2, distribuir y esterilizar en el autoclave a 394 K (121°C) durante 15 min.

TABLA 1.- Componentes del caldo neutralizante

| | |
|------------------------|-------|
| Triptona | 5,0g |
| Extracto de levadura | 2,5g |
| Dextrosa | 10,0g |
| Tioglicolato de sodio | 1,0g |
| Tiosulfato de sodio | 6,0g |
| Bisulfito de sodio | 2,5g |
| Polisorbato 80 | 5,0g |
| Lecitina de soya | 7,0g |
| Púrpura de bromocresol | 0,02g |
| Agua destilada | 1L |

Microorganismos de prueba y medio de cultivo

- 10 **Staphylococcus aureus (EMB agar)**
Escherichia coli (EMB agar)
Pseudomona aeruginosa
Salmonella sp (EMB agar)
Enterobacter sp (E.M.B. Agar)
- 15 **Klebsiella pneumoniae (EMB agar)**
Candida albicans (EMB agar)

Aspergillus niger (EMB agar)**PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LA MUESTRA****- Conservación de los microorganismos de prueba**

5 Conservar las cepas de microorganismos
resembrándolas semanalmente en tubos con medio de cultivo
inclinado (7 mL de agar nutritivo), de 16 mm x 125 mm,
incubados de 20 h a 24 h a una temperatura de 308 K a 310
K (35°C a 37°C) y mantenerlos posteriormente en
10 refrigeración.

**- Preparación de la suspensión de los microorganismos
de prueba**

15 Antes de realizar la prueba, efectuar dos
resiembras de cada uno de los microorganismos de prueba e
incubar de 20 h a 24 h a una temperatura de 308 K a 310 K
(35°C a 37°C).

20 A partir de estos cultivos, resembrar cada uno
de los microorganismos de prueba, en tubos de 22 mm x 175
mm que contengan cada uno 12 mL de agar nutritivo
inclinado e incubar en las condiciones señaladas.

25 Remover el crecimiento de cada tubo, con 3 mL
de solución salina, transferir el sobrenadante a un tubo
de ensayo estéril y continuar diluyendo con la misma
solución hasta obtener una suspensión que leída a una
longitud de onda de 580 nm, dé una lectura entre 3 % y 5
% de transmitancia.

Determinar en la suspensión el número de UFC / mL y precisar el por ciento de transmitancia de una suspensión que contenga de 75 a 125 X 10⁸ UFC / mL. Lo anterior se verifica de acuerdo a lo indicado en la norma oficial mexicana NOM-092-SSA1 (ver 2 Referencias) y considerar estos valores para análisis futuros.

- Determinación de la cuenta viable inicial

A un matraz Erlenmeyer que contenga 99 mL de la solución amortiguadora de fosfatos diluida estéril, transferir 1 mL de la suspensión de los microorganismos de prueba y efectuar las diluciones decimales necesarias para obtener placas que contengan cada una entre 25 y 250 colonias.

Colocar en cajas de petri estériles, por duplicado 1 mL de cada dilución, agregar a cada placa de 15 mL a 18 mL de agar para métodos estándar, homogeneizar y dejar solidificar invertir las cajas de petri e incubar durante 48 h a 303 K - 308 K (30°C - 35°C). Contar las colonias contenidas en cada una de las cajas, en un cuenta colonias.

PROCEDIMIENTO

1. Siembra y cultivo de cepa;
2. Determinación de las células sobrevivientes;
3. Preparación de la muestra;

Si es necesario, efectuar la dilución

pertinente con agua para llevar el producto a la concentración de uso indicada por el fabricante en la etiqueta del envase.

4. Inoculación de la muestra

5 Para cada uno de los microorganismos de prueba, medir exactamente y por duplicado 99 mL del producto o su dilución, transferir a matraces Erlenmeyer de 250 mL con tapón de rosca estériles.

10 Agitar los matraces, suspender la agitación, justamente antes de la inoculación, para que en el momento de la misma, aún exista movimiento residual del líquido y así facilitar la incorporación del inoculo. Inocular en forma individual cada matraz con cada uno de los microorganismos de prueba en el centro de la superficie del líquido, evitando tocar con la pipeta, el 15 cuello o las paredes del matraz.

Agitar el matraz con la muestra inoculada y exactamente 30 s después de la inoculación, transferir 1 mL de la misma, a un tubo de ensayo conteniendo 9 mL de 20 la solución neutralizante diluida o del caldo neutralizante, mezclar y transferir por duplicado alícuotas de 1,0 mL a cajas de petri estériles y continuar diluyendo hasta tener las diluciones necesarias para obtener placas que contengan de 25 a 250 colonias, 25 agregar a cada placa de 15 mL a 18 mL del medio agar para métodos estándar con neutralizante, homogeneizar, permitir que solidifique, invertir las placas e incubar

durante 48 h entre 308 K a 310 K (35°C a 37°C).

Después del período de incubación, contar el número de UFC en las placas.

5

EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Determinación del % de reducción

Promediar los resultados de las placas de la cuenta viable inicial y de las células sobrevivientes y calcular el % de reducción mediante la siguiente fórmula:

10

$$\% \text{ de reducción} = 100 - \frac{S \times 100}{\text{C.V.}}$$

donde:

S son las células sobrevivientes UFC / mL, y C.V. es la cuenta viable inicial.

15

Informar el porcentaje de reducción obtenido en la muestra del producto.

- Interpretación de resultados

20 Un producto etiquetado como germicida, debe tener un por ciento de reducción de la cuenta viable de 99,999 % en 30 s de contacto a la concentración de uso recomendada, cuando la cuenta viable inicial se encuentra entre 75 y 125 X 10⁸ UFC / mL.

25

- Pruebas de actividad esporicida

Las pruebas de **efectividad** se realizaron con base en la metodología de la AOAC 966.04 de la que se obtuvieron 59 de 60 réplicas contra *Bacillus Subtilis*.

5 Es importante señalar que las pruebas han sido realizadas de acuerdo a la NMX-BB-040-SCFI-1999 "METODOS GENERAL DE ANALISIS-DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN PRODUCTOS GERMICIDAS", en donde se eliminó de acuerdo al estándar de la NMX mencionada el

10 100% de *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, *Bacillus subtifis*, *Vibrio cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus faecalis* y *Saccharomyces diastaticus* en un intervalo de 0 a 5 minutos, mientras que la efectividad fue también de 100% de acuerdo a la citada NMX en un

15 intervalo de 5 a 10 minutos, y de 99.995% en un intervalo de 0 a 5 minutos en *Aspergillius niger* y *Staphylococcus aureus*, y de 100% en un intervalo de 10 a 15 minutos y de 99.995% en un intervalo de 0 a 10 minutos en *Pseudomonas aeruginosas*.



Reivindicaciones

1. Un nanomaterial compuesto que comprende:

5 un soporte de óxido metálico nanoparticulado, preferentemente dióxido de titanio, que tiene una superficie y poros, un diámetro medio entre 1 y 100 nm y un área superficial mayor o igual a los 50 m²/g;

10 primeros grupos funcionales adsorbidos químicamente en la superficie del soporte, y

15 segundos grupos funcionales adsorbidos físicamente en la superficie y poros del soporte que comprenden extractos herbales y/o frutales.

2. El nanomaterial de la reivindicación 1 en donde el dióxido de titanio es cristalino.

20 3. El nanomaterial de la reivindicación 2 en donde el dióxido de titanio se encuentra en fase anatasa.

25 4. El nanomaterial de acuerdo a alguna de las reivindicaciones anteriores, en el que los primeros grupos funcionales le dan al material la propiedad de selectividad hacia microorganismos patógenos, al ser seleccionados de grupos funcionales orgánicos e inorgánicos.

30 5. El nanomaterial de acuerdo a la reivindicación 4, en el que los primeros grupos funcionales comprenden un hidroxilo.

35 6. El nanomaterial de acuerdo a la reivindicación 5, en el que los primeros grupos funcionales comprenden además un fosfato.

7. El nanomaterial de acuerdo a la reivindicación 6, en el que los primeros grupos funcionales comprenden además un sulfato.
- 5 8. El nanomaterial de acuerdo a la reivindicación 7, en el que los primeros grupos funcionales comprenden además un cloruro.
- 10 9. El nanomaterial de acuerdo a la reivindicación 8, en el que los primeros grupos funcionales comprenden además un amino.
- 15 10. El nanomaterial de acuerdo a la reivindicación 9, en el que primeros los grupos funcionales comprenden además un metilo.
- 20 11. El nanomaterial de acuerdo a la reivindicación 10, en el que los primeros grupos funcionales comprenden además un folato.
- 25 12. El nanomaterial de acuerdo con alguna de las reivindicaciones anteriores, en el que los extractos frutales se selecciona de entre los extractos de uva, mandarina, naranja, toronja, limón, guayaba, granada, u otras plantas, y los extractos herbales comprenden y se seleccionan entre de diversas partes de plantas que tienen efectos desinfectantes, tales como flores, capullos, semillas, hojas corteza, hierba, pulpa, cascara, fruta o raíces.
- 30 13. El nanomaterial de acuerdo con alguna de las reivindicaciones anteriores, en el que los extractos frutales son extractos cítricos.
- 35 14. El nanomaterial de acuerdo con alguna de las reivindicaciones anteriores, en el que los extractos herbales se seleccionan de entre extractos de orégano, canela o pimienta.

- 5 15. El nanomaterial de acuerdo a alguna de las reivindicaciones anteriores, en el que los extractos comprende preferentemente una mezcla de al menos tres extractos.
- 10 16. El nanomaterial de conformidad con la reivindicación 15 en donde los extractos se proporcionan en una mezcla que comprende al menos tres extractos herbales o frutales.
- 15 17. El nanomaterial de conformidad con la reivindicación 15 o 16 en donde la mezcla comprende extractos cítricos.
- 15 18. Un método de preparación de un nanomaterial de acuerdo con alguna de las reivindicaciones anteriores, caracterizado en que el método comprende:
- 20 (a) proporcionar un óxido metálico nanoparticulado, preferentemente dióxido de titanio, que tiene una superficie y poros, un diámetro medio entre 1 y 100 nm y un área superficial mayor o igual a los 50 m²/g;
- 25 (b) realizar una primera modificación química del nanomaterial por medio de la adsorción de primeros grupos funcionales;
- 30 (c) realizar una segunda modificación del nanomaterial por medio de la adsorción de segundos grupos funciones que comprenden extractos herbales y/o frutales.
- 35 19. El método de la reivindicación 18, en el que la primera y segunda modificación del nanomaterial se realiza en agitación constante a una velocidad media en el intervalo de 100 a 400 RPM.
20. El método de la reivindicación 19, en el que la primera modificación química del nanomaterial se realiza

manteniendo la temperatura constante dentro del intervalo de 30 a 100 °C.

- 5 21. El método de la reivindicación 20, en donde la etapa de realizar la primera modificación química del nanomaterial, comprende realizar una adsorción química de los primeros grupos funcionales.
- 10 22. El método de la reivindicación 22 en donde los primeros grupos funcionales comprenden un hidroxilo.
23. El método de la reivindicación 23 en donde los primeros grupos funcionales comprenden además un fosfato.
- 15 24. El método de la reivindicación 24 en donde los primeros grupos funcionales comprenden además un sulfato.
- 20 25. El método de la reivindicación 25 en donde los primeros grupos funcionales comprenden además un cloruro.
26. El método de la reivindicación 26 en donde los primeros grupos funcionales comprenden además un amino.
- 25 27. El método de la reivindicación 27 en donde los primeros grupos funcionales comprenden además un metilo.
28. El método de la reivindicación 28 en donde los primeros grupos funcionales comprenden además un folato.
- 30 29. El método de la reivindicación 21, en el que dicha adsorción química de los primeros grupos funcionales comprende agregar soluciones que comprenden 1.4% de precursores aportadores de grupos funcionales
- 35 30. El método de la reivindicación 21 en donde los primeros grupos funcionales comprenden un hidroxilo, un fosfato, un sulfato, un cloruro, un amino, un metilo y un folato.

31. El método de la reivindicación 30 en donde los primeros grupos funcionales se agregan en el orden en que se mencionan.
- 5 32. El método de alguna de las reivindicaciones 22 a 31 en donde los primeros grupos funcionales se agregan por goteo.
- 10 33. El método de alguna de las reivindicaciones 22 a 32, en el que dicha adsorción de los primeros grupos funcionales comprende un tiempo medio de reposo, después de la adición cada solución de los primeros grupos funcionales, de 5 a 30 minutos para adsorber completamente cada grupo funcional.
- 15 34. El método de alguna de las reivindicaciones 18 a 33, en el que la primera y segunda modificación del nanomaterial comprende de un periodo de secado a una temperatura media en el intervalo que va de 30 a 100 °C.
- 20 35. El método de conformidad con alguna de las reivindicaciones 18 a 34, en el que los extractos herbales y/o frutales se extraen de diversas partes de plantas y/o frutas y se seleccionan de entre los extractos de cortezas, tallos, raíces, hojas, cáscara, pulpa, semillas, flores, 25 capullos, hierba o raíces.
- 30 36. El método de conformidad con alguna de las reivindicaciones 18 a 35, en el que los extractos herbales y/o frutales se obtienen a partir de una solución etanólica.
- 35 37. El método de conformidad con alguna de las reivindicaciones 18 a 36 en donde los extractos herbales o frutales se proporcionan en una mezcla que comprende al menos tres extractos.



38. El método de conformidad con la reivindicación 37 en donde la mezcla comprende al menos tres extractos herbales o frutales.
- 5 39. El método de conformidad con la reivindicación 37 o 38 en donde la mezcla que comprende extractos cítricos.
- 10 40. El método de conformidad con alguna de las reivindicaciones 36, en el que los extractos herbales y/o frutales comprenden un mínimo del 70% en solución.
- 15 41. El método de conformidad con alguna de las reivindicaciones 18 a 40 en el que dicha adsorción de los extractos herbales y/o frutales requiere que se mantenga una temperatura media en el intervalo de 30 a 50 °C.
- 20 42. El método de la reivindicación 41, en el que dicha adsorción de los extractos herbales y/o frutales comprende un periodo de agitación de 24 horas.
- 25 43. El método de conformidad con alguna de las reivindicaciones 18 a 42 en donde la etapa de realizar la segunda modificación del nanomaterial, comprende realizar una adsorción física de los segundos grupos funcionales.
- 30 44. El método de conformidad con la reivindicación 43 en donde la adsorción física es por impregnación.
- 35 45. El método de conformidad con alguna de las reivindicaciones 18 a 44 en donde la etapa de realizar la segunda modificación del nanomaterial, comprende realizar la adsorción física de los segundos grupos funcionales después de haber realizado la primera modificación del nanomaterial con los primeros grupos funcionales.
46. El método de conformidad con la reivindicación 45 en donde la etapa de realizar la segunda modificación del nanomaterial, comprende realizar la adsorción física de

los segundos grupos funcionales en una ~~solución acuosa de~~ extractos al 70%.

- 5 47. El método de conformidad con la reivindicación 46 en donde la etapa de realizar la segunda modificación del nanomaterial, comprende realizar la adsorción física de los segundos grupos funcionales con agitación entre 100 y 400 RPM y a una temperatura de entre 30 y 50 °C.
- 10 48. Una composición desinfectante, antiséptica, de curación o de limpieza que comprende:
(a) el nanomaterial compuesto de alguna de las reivindicaciones 1 a 17.
- 15 49. La composición de la reivindicación 48 que comprende el nanomaterial compuesto en una proporción de 0.0001% a 40% de la composición.
- 20 50. La composición de la reivindicación 48 o 49 útil para eliminar o inactivar virus, bacterias, hongos, esporas, micobacterias, mycoplasmas y protozoarios.
- 25 51. La composición de alguna de las reivindicaciones 48 a 50 en donde la composición es una suspensión líquida.
- 30 52. El nanomaterial de alguna de a las reivindicaciones 1 a 17, en donde los extractos comprenden partículas de un tamaño de entre 0.3-10 nm.



Resumen

5 La presente invención se refiere al conjugado de un
nanomaterial de dióxido de titanio y extractos herbales y/o
frutales nanoparticulados (1-100nm) sintetizado mediante el
proceso de impregnación utilizado como soporte dióxido de
titanio al que se le adsorben grupos funcionales orgánicos,
radicales inorgánicos y extractos de plantas que le
confieren la propiedad de ser un agente anti-microbiológico
con un alto poder desinfectante y antiséptico, eliminando
10 bacterias, hongos, mycobacterias, esporas, mycobacterias,
protozoarios y virus.

Figura 1

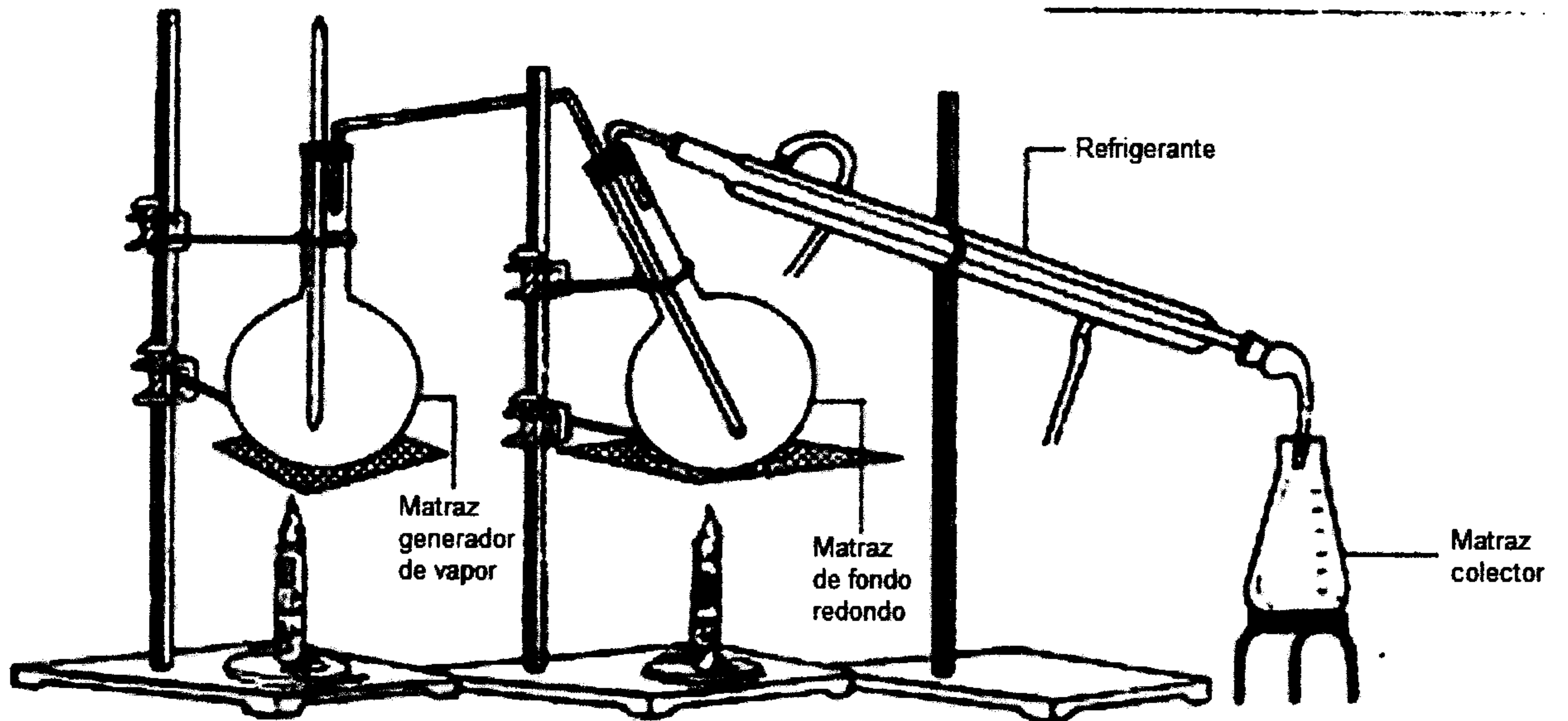
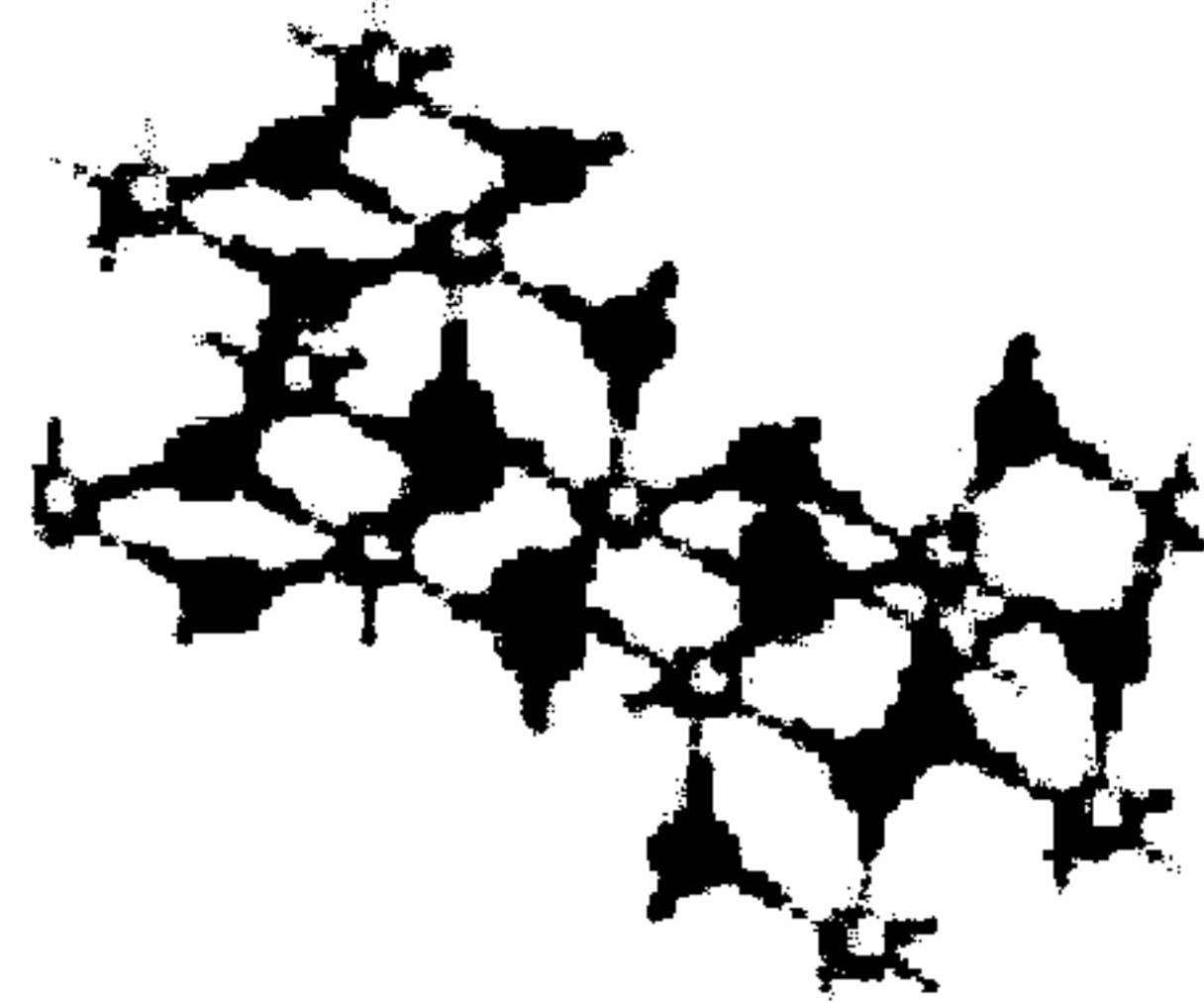
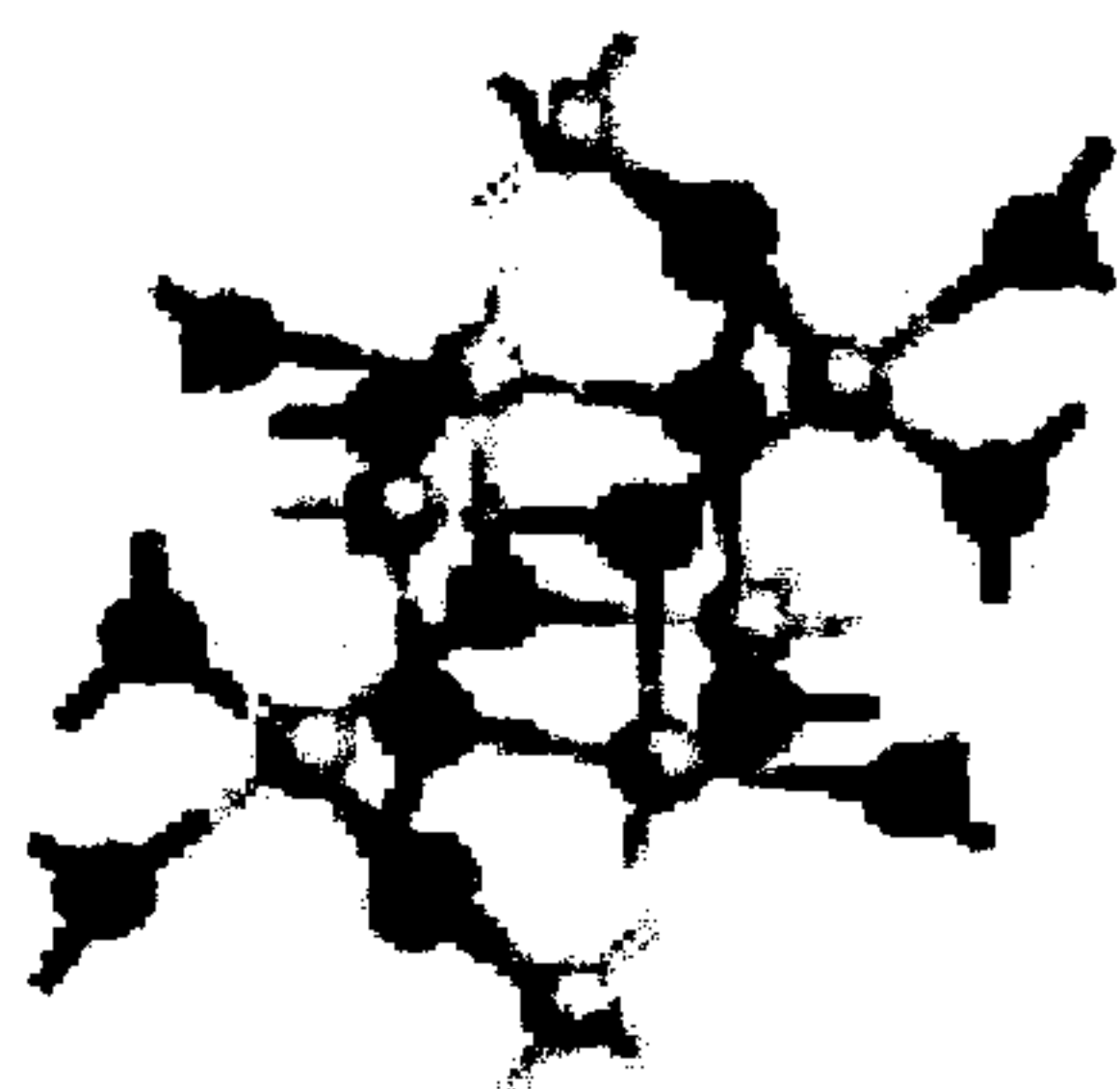


Figura 2

Anatase



Brookite



Rutile

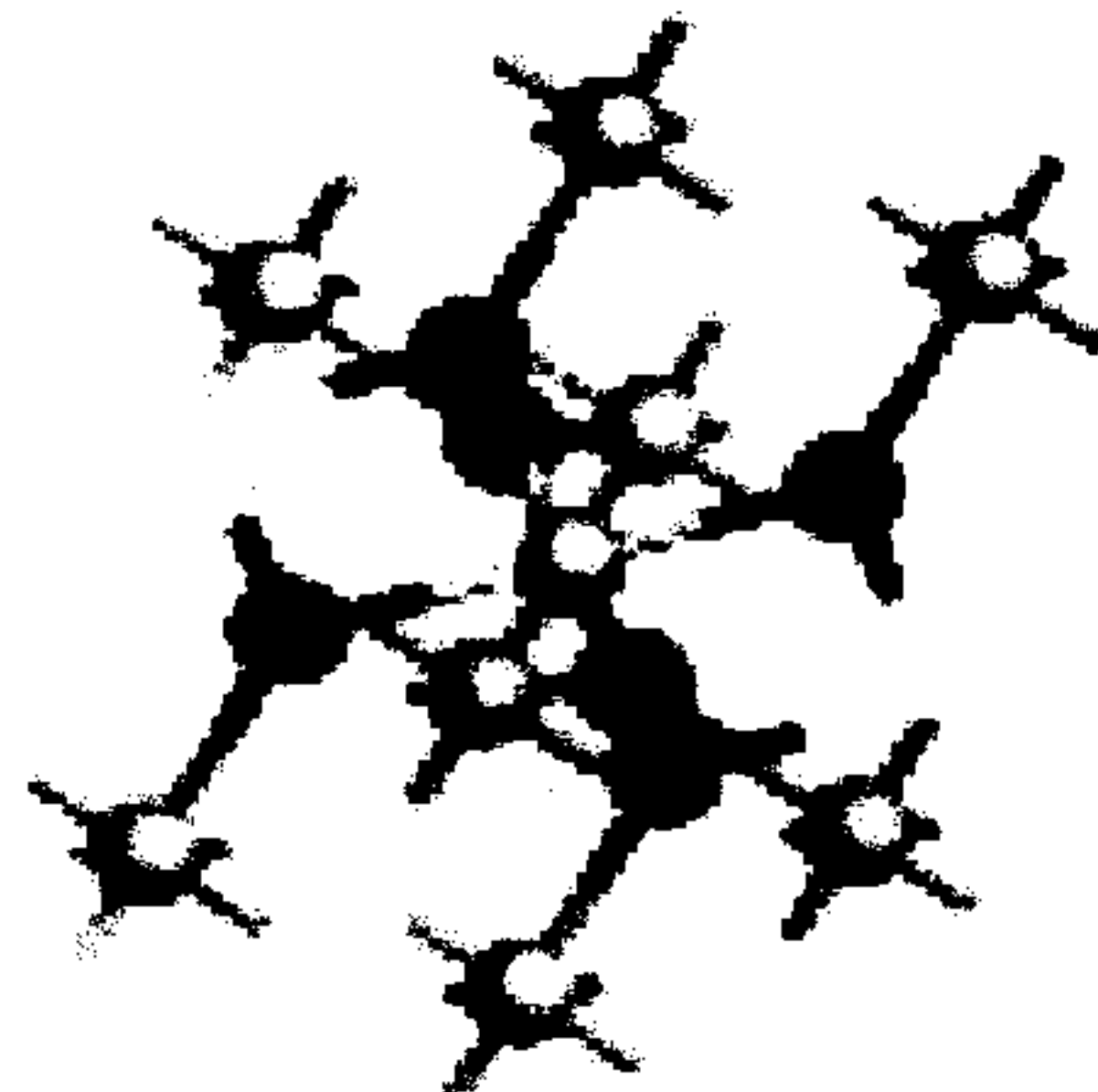


Figura 3

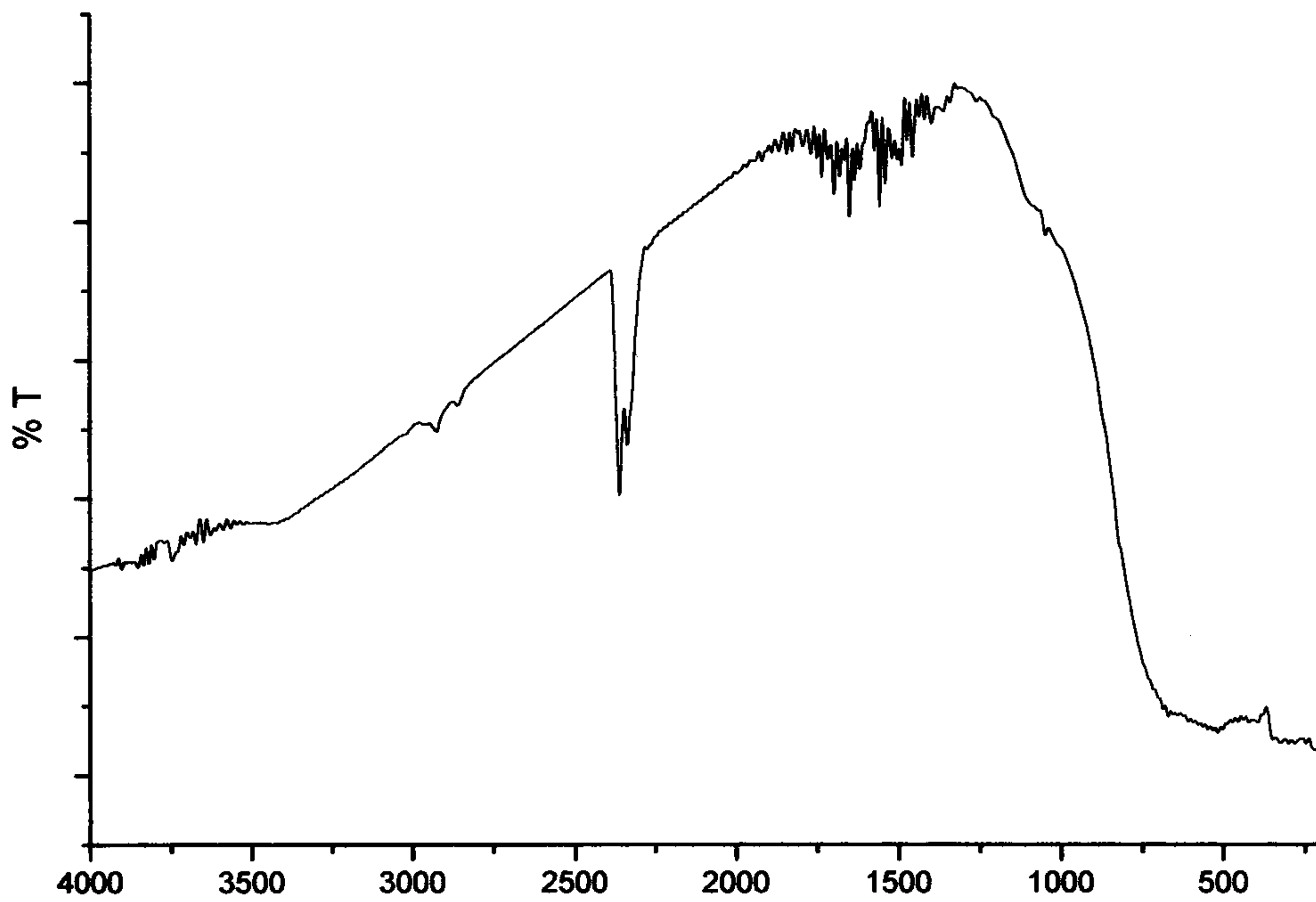


Figura 4

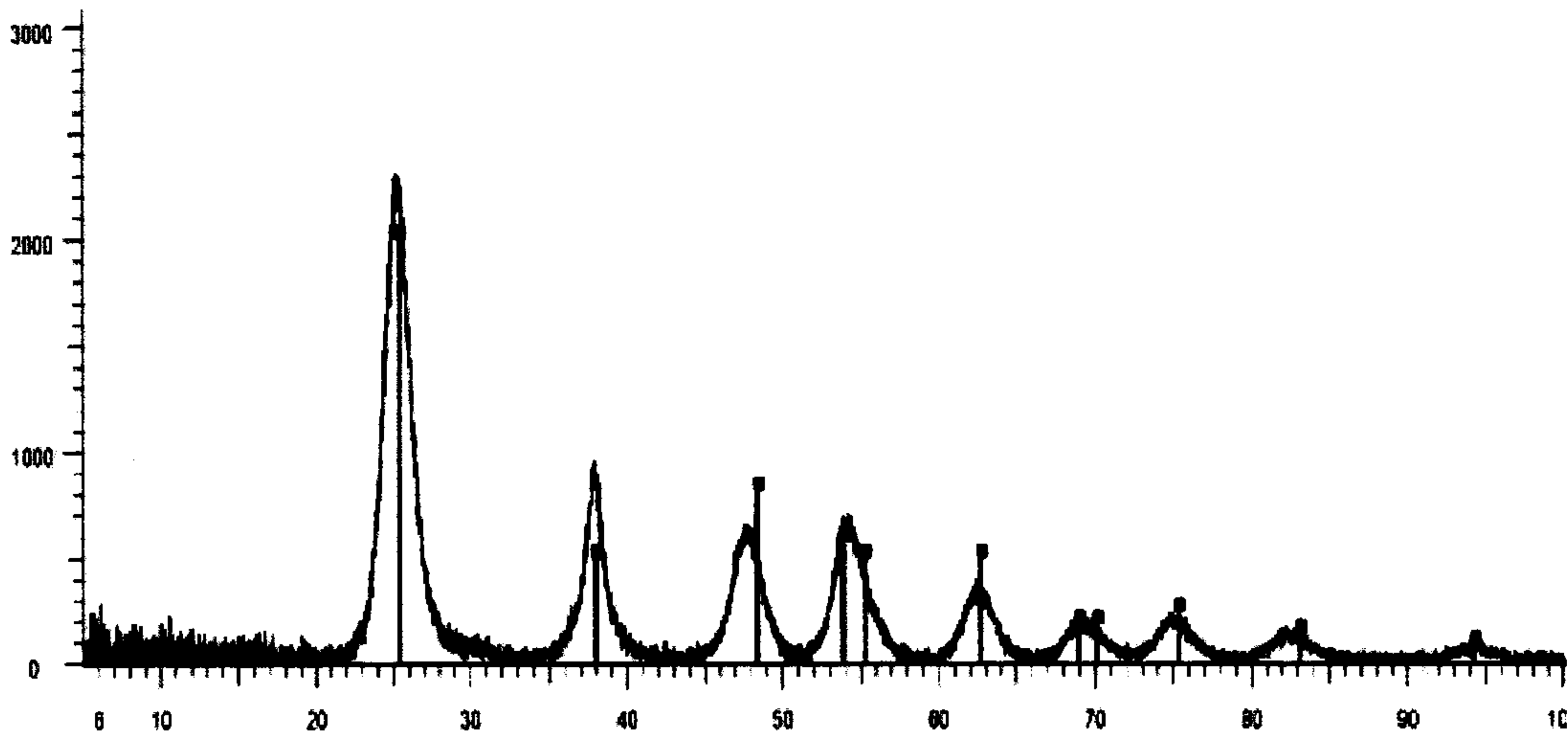


Figura 5

