

SOLICITUD DE PATENTE NC2016/0001633

TITULO: MÉTODO PARA EL CONTROL Y ERRADICACIÓN DE LA MARCHITEZ BACTERIANA EN PLÁTANO EMPLEANDO UN COLOIDE-CATION DE PLATA

DESCRIPCIÓN

Campo de la invención:

La invención concierne al campo de la agricultura. En particular, la invención se refiere a una suspensión de cationes de plata que elimina la marchitez bacteriana producida por *Ralstonia solanacearum* en el cultivo de plátano y el mal de panamá causado por el hongo *Fusarium oxysporum* en el cultivo de banano. Asimismo, la invención se refiere al producto y al método de producción.

Estado de la técnica anterior

En las últimas décadas en Colombia la bacteria *Ralstonia solanacearum* y el hongo *Fusarium oxysporum* han infectado gran parte de la zona productora de plátano y banano, debido a la fácil propagación de estos microorganismos, que son considerados fitopatógenos altamente agresivos; lo que representa un problema económico y social (Hayward 1995; Castañeda *et al* 2005).

Uno de los métodos que han sido utilizados anteriormente para tratar de controlar esta enfermedad ha sido la aplicación de glifosato en las plantas enfermas, después se cubre la planta fumigada con un plástico transparente con filtro UV; esto provoca la muerte de la planta y de la bacteria (Patricio *et al* 2005), pero no es conveniente para la producción por el efecto que tiene sobre el suelo. Otro método utilizado es el uso de lixiviado del compost de plátano que se produce de forma económica en las fincas y se puede utilizar como bioplaguicida en 75 días, pero no se ha demostrado que sea efectivo (Toomey 2004). Para contrarrestar el efecto de estas enfermedades también se han utilizado técnicas que hacen uso de formaldehidos, sales y otros para desinfectar de forma rápida los suelos y se usan insecticidas para el control de transmisores (DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDIO AMBIENTE, 2002). Estas prácticas no son eficaces para la erradicación de estas enfermedades y no son rentables para la producción agrícola.

Otras estrategias de manejo y mitigación de daños de estas enfermedades consisten en la utilización de material semilla sano, detección a edades tempranas, erradicación de todas las plantas ubicadas en un radio de 5 a 10 m a partir del foco inicial y cuarentena durante al menos seis meses (Belalcazar&Merchan, 1991; Álvarez *et al* 2008), lo que tampoco es rentable para la producción agrícola.

En general, el control de estas enfermedades es limitado debido a la falta de tecnologías efectivas de manejo. Los únicos mecanismos de control a disposición de los agricultores son el uso de semilla limpia, desinfección de calzado y herramientas en el momento del deshoje, erradicación de plantas con síntomas de la enfermedad y marcación de los sitios afectados. Todos ellos recomendados por instituciones como el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) y el CIAT (Mesa y Triviño, 2007).

El uso de nanopartículas (NPs) para la mejoría de semillas y plantas es una práctica con la que se han obtenido resultados positivos, como los presentados por Elikagaienet *al* (2012), que muestran el potencial de los nanomateriales en la mejora de la germinación de semillas y crecimiento, así como en la protección de plantas, en la detección de patógenos y en la detección de residuos de pesticidas y herbicidas.

Por ejemplo, Morones *et al* (2005) reportó cambios morfológicos y estructurales de bacterias después de ser tratadas con compuestos de plata. En las micrografías que presenta, se muestran los daños a la membrana celular y a algunos elementos del citoplasma. No se ha podido determinar si la plata tiene uno o varios blancos de ataque; sin embargo, se piensa que su alta reactividad con compuestos de azufre hace que reaccione con enzimas, que contienen éste elemento y que se ubican en la membrana, responsable de la respiración y del control de intercambio de materiales. En la reacción, la membrana pierde permeabilidad, la bacteria deja de respirar y muere.

Por otro lado Zheng *et al* (2005) estudió los efectos de NPs de TiO₂ sobre el crecimiento de semillas de espinaca. Este autor informó que las semillas tratadas con estas NPs produjeron plantas que tenían un 73 % más de peso en seco, tres veces mayor tasa fotosintética y aumento del 45 % en la formación de Clorofila, en comparación con un grupo control.

Por su parte Lin y Xing (2007) evaluaron la fitotoxicidad de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) y nanomateriales de óxido de Al_2O_3 , ZnO, Al y Zn y su impacto en las tasas de germinación en rábano, canola, raigrás, lechuga, maíz y pepino. Ellos encontraron que las concentraciones más altas (2000 mg/L) de tamaño nanométrico de Zn (35 nm) y ZnO (20 nm) inhiben la germinación en raigrás y maíz, respectivamente, afectando significativamente la elongación de las raíces.

Así mismo, Sudheer *et al* (2011) valoró la inhibición del crecimiento de cinco diferentes tipos de bacterias por la acción de NPs de plata.

Descripción de la invención

Se trata de un producto para uso agrícola, únicamente. En particular, la invención se refiere a una suspensión de cationes de plata, obtenida por un método electroquímico. Este coloide-catión de plata contribuye a incrementar los rendimientos productivos, ya que elimina la marchitez bacteriana producida por *R. solanacearum* en el cultivo de plátano y el mal de panamá causado por el hongo *F. oxysporum* en el cultivo de banano. Este texto se refiere al producto y al método de producción.

Aunque hay estudios como el de Khaydaron *et al* (2009), sobre un método electroquímico para la fabricación de nanopartículas de plata suspendidas en agua, de tamaños entre 2 y 20 nm de diámetro, tanto los parámetros de crecimiento como el comportamiento de las variables reportadas por estos autores son diferentes a los descritos en el presente documento.

Si bien se han utilizado suspensiones de nanopartículas de plata sintetizadas por reducción química para atacar la bacteria *R. solanacearum*, como lo reporta Chen *et al* (2016), tanto las características de la solución, como la forma de aplicación y las plantas tratadas son diferentes a las referidas en esta solicitud. Mientras que el citado estudio se hizo con plantas de tabaco, cultivadas en materas y expuestas a este microorganismo, el producto coloide-catión plata fue probado directamente sobre la bacteria y sobre el hongo en condiciones de laboratorio y en campo sobre cultivos de plátano y banano infectados con *R. solanacearum* y *F. oxysporum*, respectivamente.

La aplicación que reportan estos autores involucra el rociado de la raíz de las plantas con una suspensión en agua de NPs de tamaño entre 10 y 100 nm, con adición de un agente surfactante o tensoactivo (polisorbato 80). Esto difiere del procedimiento de aplicación del coloide-catión de plata, en que el producto, también en forma de suspensión, se aplica

con jeringa sobre el tallo de las plantas. En este caso las nanopartículas de plata (crecidas por el método electroquímico descrito), de tamaño entre 14 y 24 nm (Figura 2), están suspendidas en agua destilada sin el uso de tensoactivos.

El equipo usado para la fabricación del producto en cuestión incluye un par de electrodos, un ánodo y un cátodo de plata que se conectan a una fuente de voltaje continua; éstos se sumergen en un medio líquido (agua destilada) que se mantiene a una temperatura entre 80 y 90 °C. La suspensión del “coloide – catión de plata” en el agua se genera mediante la aplicación de una corriente eléctrica continua, de comportamiento diferente al descrito en el artículo de Khaydaron *et al*, en el que se alcanza una corriente de saturación cambiando la polarización de los electrodos. En nuestra descripción, entre el ánodo y el cátodo se mantiene una diferencia de potencial de entre 5 y 25 Voltios; esto hace que los electrodos se desgasten ligeramente por el desprendimiento de nanopartículas de plata. A partir de la ley de Faraday, con la corriente que pasa a través de los electrodos puede determinarse la cantidad de partículas de plata producidas. De esta forma se puede determinar la concentración de estas nanopartículas en función del voltaje empleado, de acuerdo con el volumen del medio líquido que se está utilizando.

En resumen, cabe destacar las siguientes diferencias:

- La síntesis de coloide-catión de plata se hace a través de un método electroquímico, utilizando una fuente que suministra una diferencia de potencial constante entre los electrodos.
- La suspensión de nanopartículas de plata no requiere de un tensoactivo.
- La aplicación se hace por inyección del coloide-catión de plata sobre cada planta infectada y los efectos se probaron en plantaciones de plátano y de banano afectadas por la bacteria *R. solanacearum* o por el hongo *F. oxysporum*, respectivamente.
- No se presenta resistencia bacteriana al producto.

Mejor manera de ejecutar la invención

Para sintetizar el coloide – catión de plata se usa un proceso electroquímico mediante la aplicación de un voltaje DC de 5 a 25 V entre dos electrodos de plata (99.9% de pureza),

inmersos en un recipiente con agua destilada. Con este procedimiento se alcanza una concentración de plata en suspensión en el rango de 15-25 ppm.

El espectro germicida de la plata es específico para algunas bacterias, hongos y virus. La aplicación de la suspensión del coloide – catión de plata, generado por el proceso electroquímico, descrito en la presente solicitud de invención, es útil para contrarrestar la enfermedad de la marchitez bacteriana en plantas de plátano y el mal de panamá, ya que elimina, erradica o inactiva la bacteria *R. solanacearum* y el hongo *F. oxysporum*.

La aplicación de la suspensión del coloide–catión de plata es eficaz para contrarrestar la infección provocada por la bacteria o el hongo en plantas de plátano o banano; evita la destrucción de la planta y lleva a la restauración de su estado funcional sin que se presente resistencia bacteriana, como sucede con los antibióticos.

El tratamiento con la suspensión de plata de plantas infectadas por la bacteria *R. solanacearum* o por el hongo *F. oxysporum* se hace aplicando el producto directamente en los haces vasculares de la planta con una jeringa. El efecto es de reducción del número de organismos patógenos que atacan a la planta, con lo que se conserva la planta viva y se permite un crecimiento vegetativo normal.

La aplicación de la suspensión de nanopartículas de plata de concentración entre 10 y 20 ppm, se hace inyectando las plantas en horas de la mañana de acuerdo con los horarios normales de riego. Se inyectan tres dosis de 5 a 10 cm³ por cada planta infestada o con presencia de la marchitez bacteriana o mal de panamá; esto se hace en 3 partes diferentes del pseudotallo, de abajo hacia arriba. En total se habrán inyectado entre 15 y 30 cm³ por planta; este procedimiento se debe repetir un mes después, siempre y cuando la planta presente de nuevo los síntomas.

Para finalizar, la presente iniciativa proporciona un procedimiento y un producto para la regeneración de plantas que han sido afectadas por la bacteria *R. solanacearum* y el hongo *F. oxysporum*. La suspensión coloidal es inyectada a las plantas enfermas en tres partes del pseudotallo; este método es eficaz para proporcionar plantas rehabilitadas, libres de fitopatógenos.

Descripción de los dibujos

El aparato de síntesis y el producto según la invención son descritos a continuación con referencia a los dibujos adjuntos:

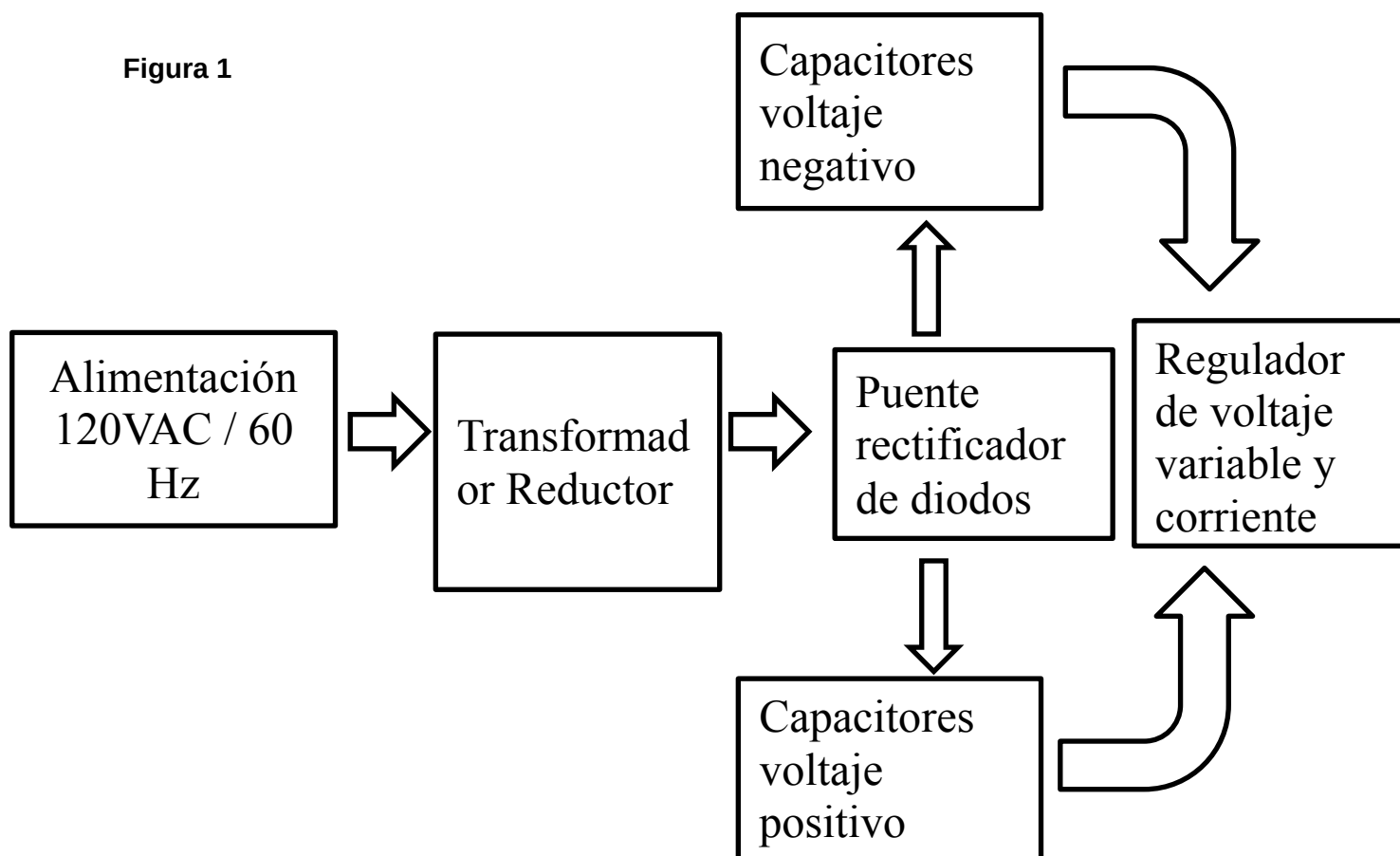
Figura 1

Esquema del sistema electroquímico de síntesis del Coloide-cación de plata.

Figura 2

Difractograma de rayos X obtenido de las nanopartículas de plata de la suspensión.

Figura 1



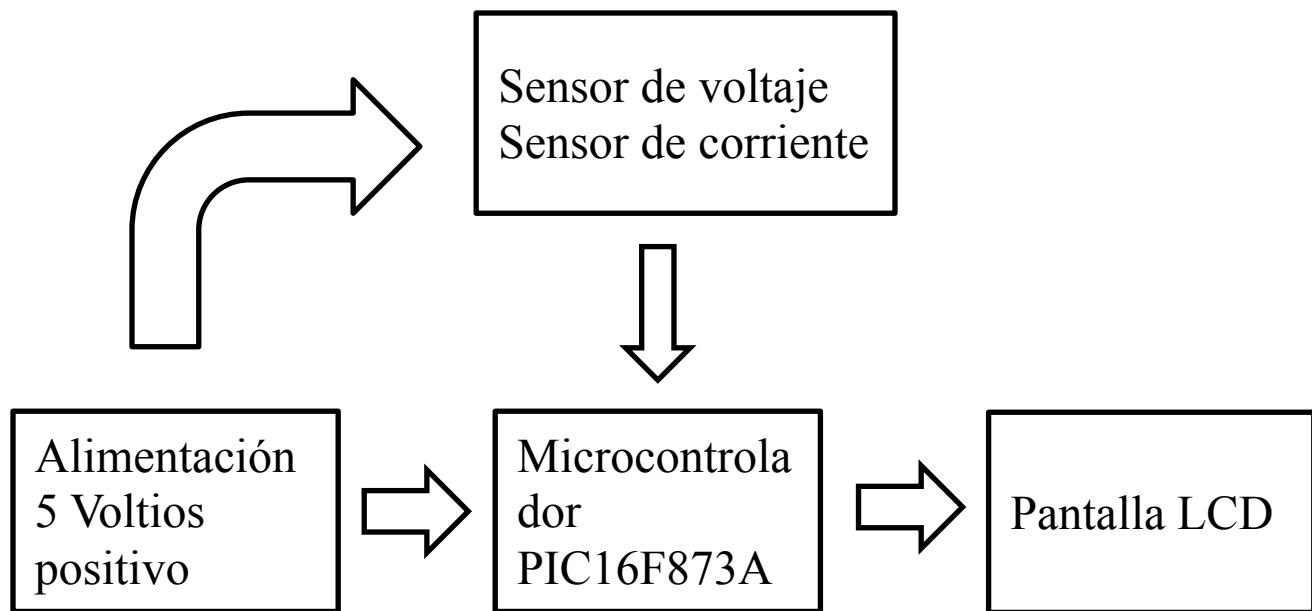
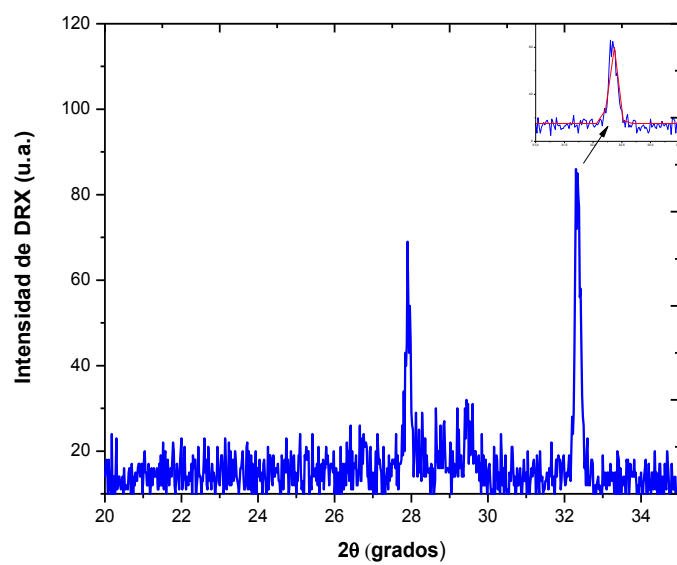


Figura 2



REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de fabricación del coloide–catión plata a través de un método electroquímico, que comprende las siguientes etapas:
 - Se aplica una diferencia de potencial continua, de entre 5 y 25 V, con una fuente de alimentación de corriente continua entre dos electrodos de plata pura (99.9 %), inmersos en agua destilada a temperatura entre 80 y 90 °C, dentro de la cubeta electrolítica.
 - La corriente aplicada se mantiene entre 0.5 y 1 Amperio durante el tiempo del proceso entre 45 a 50 minutos para un volumen del medio líquido que se utilice entre 500 y 750 mL.
 - Se finaliza el proceso electrolítico cuando la concentración del coloide–catión plata está entre 15 y 25 ppm de nanopartículas de plata en la suspensión.
 - Se filtra la suspensión utilizando un filtro de tamaño de poro de 1 μ m.

2. Coloide-catión de plata para aplicación en plantaciones de plátano o de banano, infestadas por *Ralstonia solanacearum* o por el hongo *Fusarium oxysporum*, que causan la marchitez bacteriana o el mal de panamá, según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende:
 - Nanopartículas de plata con carga eléctrica positiva suspendidas en agua destilada con una concentración entre 15 y 25 ppm.
 - Nanopartículas de plata de tamaño nanométrico, entre 14 y 24 nm, que pueden interactuar contra microorganismos generadores de las enfermedades marchitez bacteriana y mal de panamá, de tal forma que pueden ser inyectadas de manera directa en el tallo de la planta de plátano o de banano.
 - Nanopartículas de plata que previenen la propagación de las enfermedades marchitez bacteriana y mal de panamá a las demás plantas del cultivo. Si la planta presenta de nuevo los síntomas se repite la dosis después de un mes de la primera aplicación.

- Restaura la planta de plátano o banano enferma por marchitez bacteriana o mal de panamá a un estado funcional y evita su destrucción, que depende del estado de afectación de la enfermedad. Esta suspensión se inyecta en tres partes del pseudotallo de la planta de plátano o banano, de abajo hacia arriba, directamente en los haces vasculares de la planta de plátano o banano con la marchitez bacteriana o con el mal de panamá.
- No contiene tensoactivos ni sustancias que causen daño a la planta de plátano o banano ni al suelo y no contamina el ambiente.

Bibliografía

- Álvarez Restrepo J. A; Rodríguez Gaviria P. A; Marín Montoya M. Detección molecular de *Ralstonia solanacearum* en agroecosistemas bananeros de Colombia. Printed in Brazil: Copyright by the Brazilian Phytopathological Society. Tropical Plant Pathology, 2008. vol.33, 3, 197-203.
- Belalcázar, C.S., Merchán, V.V. Efecto de la época y el grado de defoliación sobre la producción. p 77-85. In: Belalcázar, C.S., Buriticá, C.P., Torregroza, C.M., Toro, M.J., Jaramillo, G.O., Baena, A.H., Valencia, M.J.T.:. Generación de tecnología para el cultivo y producción rentable de plátano en la zona central cafetera colombiana. Creced Quindío, ICA Armenia, Regional Nueve. Informe Técnico. 1991. Armenia, Quindío, Colombia.
- Castañeda D; Espinosa JA. Comportamiento e impacto de la enfermedad de moko en la zona de Urabá (Colombia), en las últimas tres décadas y media y propuesta de un índice de riesgo de la enfermedad. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín; 2005, 58:2587-2599.
- Chen Juanni, Li Shili, Luo Jinxiang, Wang Rongsheng, and Ding Wei. Enhancement of the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles against Phytopathogenic Bacterium *Ralstonia solanacearum* by Stabilization. Journal of Nanomaterials, Volume 2016. 1 de enero de 2016. Pág. 1-15.
- Dirección nacional de medio ambiente. Proceso de eliminación del Bromuro de metilo en Uruguay. Uruguay: Comisión Técnica Gubernamental de Ozono, 2002. 23 p.
- Elikagaian N; Segurtasunarako, Fundazioa E. La nanotecnología en la industria alimentaria: Nanotecnología alimentaria. Fundación vasca para la seguridad alimentaria, Noviembre. La aplicación de las nuevas tecnologías en la industria alimentaria, 2012.
- Elikagaian N; Segurtasunarako, Fundazioa E. La nanotecnología en la industria alimentaria: Nanotecnología alimentaria. Fundación vasca para la seguridad

alimentaria, Noviembre. La aplicación de las nuevas tecnologías en la industria alimentaria, 2012.

Hayward, A.C. Research on bacterial wilt: a perspective on international linkages and access to the literature, p. 1-8. In C. Allen, P. Prior & A.C. Hayward (eds.). Bacterial wilt: the disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. 1995. American Phytopathological Society, San Pablo, EEUU.

Khaydaron R. A., Khaydarov R. R., Gapurova O., Estrin Y., Scheper T.. Electrochemical method for the synthesis of silver nanoparticles. Journal of Nanoparticle Research. 2009; 11, 5, 1193–1200.

Lin, D; Xing, B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environ. Pollut, 2007. 150, 243e250.

Mesa L; Triviño V. Evaluación microbiológica y físico-química de lixiviados de descomposición de residuos de plátano (*Musa AAB*) y su efecto sobre Moko. Tesis B.Sc. Biología. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia, 2007. 25 p.

Morones, J; Elechiguerra, J; Holt, A; Kouri, K; Ramirez, J; Yamacan, J. The bacterial effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. 2005; 16, 2346-53.

Patricio F, R; Almeida I, M; Santo A. S; Cabral O; Tessariolin J; Sinigaglia C; Berian L, O; Rodrigues N, J. Avaliação da solarização do solo para o controle de *Ralstonia solanacearum*. Fitopatologia Brasileira, 2005. 30: 475-481.

S. SudheerKhan, AmitavaMukherjee, N. Chandrasekaran. 2011. Studies on interaction of colloidal silver nanoparticles (SNPs) with five different bacterial species. Elsevier. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 87 129– 138.

ToomeyGerry. Campaña de Colombia para salvar del moko a los plátanos. Escritor científico. Diciembre. Green Ink Publishing ServicesLtd, 2004. e-mail g.toomey@cgnet.com; tel.1-819-827-1426.

Zheng, L; Hong, F; Lu, S; Liu, C; Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biol. Trace Elem. Res, 2005.104, 83e91.

Con respecto al Oficio N° 5653 de 2 de julio de 2019

Ref. Expediente N° NC2016/0001633

A continuación me permito responder a cada punto del requerimiento correspondiente al examen de fondo de la solicitud:

Sobre las Reivindicaciones (Art. 30 Decisión 486)

1. “El procedimiento de la reivindicación 1 no cumple con el requisito de claridad porque la frase “La corriente aplicada y el tiempo del proceso se determinan a partir de la ley de Faraday de acuerdo con la concentración requerida de NPs de plata, teniendo en cuenta el volumen del medio líquido que se utilice.” No define ninguna condición en particular y en cambio es confusa e involucra otras variables que no han sido definidas, como son tiempo, volumen y concentración.”

Respuesta: Se hizo la modificación correspondiente en el capítulo de reivindicaciones, colocando el valor explícito de la corriente que se debe usar en el procedimiento, así como el tiempo necesario.

2. “La reivindicación 1 además no es clara porque hace referencia a la figura 2, sin embargo, no es aceptable que las reivindicaciones hagan referencia a las figuras, se aclara que el Capítulo reivindicatorio debe ser claro por sí mismo.”

Respuesta: Se eliminó la referencia a la figura 2 para que el capítulo sea claro por sí mismo.

3. “La reivindicación 1 además no es clara porque incluye la expresión “NPs” la cual no es definida en ninguna parte del capítulo reivindicatorio, nuevamente se aclara que las reivindicaciones deben ser claras por sí mismas, sírvase corregir.”

Respuesta: Se hizo la modificación correspondiente en el capítulo de reivindicaciones, aunque en el texto se definió la abreviatura NPs correspondiente a nanopartículas.

4. “La reivindicación 1 no es clara además porque se presentan características del producto obtenido como características del proceso, lo cual no es aceptable, en este sentido, sírvase retirar las frases “*Se obtiene una concentración entre 15 y 25 ppm de NPs de plata en la suspensión*” y “*La suspensión se almacena en un recipiente de vidrio ámbar*”. Se aclara al solicitante que un proceso debe ser caracterizado por sus etapas de forma lógica y secuencial y por las condiciones de ejecución de dichas etapas. Además, la frase “*Se obtiene una concentración entre 15 y 25 ppm de NPs de plata en la suspensión*” hace referencia a un resultado a alcanzar, lo cual no es aceptable puesto que esto equivaldría a definir el problema técnico a resolver y el alcance incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado. Sírvase suprimir esta frase.”

Respuesta: Se eliminaron las características del producto y se retiraron las frases de acuerdo con la sugerencia.

5. “Ahora, frente a la reivindicación 2 se aclara que no es clara porque incluye descripciones y efectos que se logran con el uso del coloide catión de plata, sus propiedades o mediante su proceso de obtención que realmente no define el producto de interés. Se aclara al solicitante que una composición o un producto debe ser caracterizado por sus componentes específicamente definidos y las proporciones de combinación de ellos. En este sentido las frases: “...que permite la asimilación de la suspensión coloidal por inyección directa en el tallo de la planta de plátano o de banano.” “...que reduce la cantidad de microorganismos generadores de las enfermedades marchitez bacteriana y mal de panamá.” “...Estable después de seis meses de almacenamiento.” “...La síntesis del coloide-catión plata o suspensión de NPs de plata en agua destilada, se hace sin uso de tensoactivos o estabilizantes, a través de un procedimiento electroquímico.” “...Sintetizado por un método electroquímico amigable con el medio ambiente.” “...La administración del coloide-catión plata a las plantas de plátano o de banano, se hace en dosis entre 5 y 15 mL.” “No se presenta desarrollo de resistencia bacteriana.” No pueden considerarse características técnicas del producto de interés, sírvase retirarlas.”

Respuesta: Se retiraron las descripciones y efectos. Se retiraron las frases de acuerdo con la sugerencia.

6. “Sírvase modificar el capítulo reivindicatorio de acuerdo con las observaciones anteriores y teniendo en cuenta que las eventuales modificaciones deben encontrarse enteramente sustentadas en la descripción inicialmente presentada sin adición o inclusión de nueva materia.”

Respuesta: se hicieron las modificaciones correspondientes y no se presenta adición o inclusión de nueva materia.

Sobre Determinación del Estado de la Técnica:

Si bien en el documento D1, que ustedes consideran como el estado de la técnica más cercano a la invención, se debe tener en cuenta que el procedimiento descrito hace referencia directa a la variación del periodo de cambios de polaridad en el rango de 30 a 300 ms en la electrólisis. La diferencia entre ésta y la descripción de la solicitud de invención, definida en la reivindicación 1, no solo consiste en que en esta última se definen los voltajes y control de la corriente aplicados de manera continua en un rango determinado, sino que efectivamente en el procedimiento descrito, el rango de temperatura en que se mantiene el electrolito es muy estrecho, apenas de 10°, mientras que el mencionados en D1 es de 30° (entre 50 y 80 °C), lo que tiene serias implicaciones en el producto final. Es decir, se evidencia un efecto técnico al incluir los parámetros involucrados en la electrólisis, ya que se obtuvo una distribución de tamaño de partícula muy estrecha entre 14 y 24 nm, mientras que en D1 este rango es muy ancho entre 2 y 20 nm. Este ancho de distribución es fundamental para la eficacia del producto.

Sobre el Examen de Patentabilidad.

1. “De acuerdo con la tabla, las características esenciales del procedimiento de la reivindicación 1 ya habían sido divulgadas previamente en el documento 1, por lo tanto, la materia reivindicada no es nueva. De acuerdo con la tabla anterior, las características esenciales del producto de la reivindicación 2 ya habían sido divulgadas previamente en el documento 1, por lo tanto, la materia reivindicada no es nueva.”

Respuesta: Aunque en el documento D1 se hace referencia a una suspensión de nanopartículas de plata con carga positiva de una concentración del mismo orden, la distribución de tamaño de partícula es muy diferente, y se usa un procedimiento electrolítico diferente. Aunque pueda parecer trivial, para las aplicaciones es muy importante la uniformidad del tamaño de partícula porque un tamaño inadecuado puede traer, por ejemplo, efectos adversos en la aplicación que se persigue, que en este caso es agrícola. En este caso se usó una configuración diferente en la electrólisis que dio lugar a este resultado que por tanto creemos tiene la novedad suficiente para hacer la solicitud de patente del producto y del proceso.

Sobre Respuesta a los argumentos del solicitante

1. *“La suspensión del “coloide – catión de plata” se obtiene mediante la aplicación de una corriente eléctrica continua, de comportamiento muy diferente al descrito en el artículo de Khaydarov et al, en el que se alcanza una corriente de saturación cambiando la polarización de los electrodos. En nuestra descripción entre el ánodo y el cátodo hay una diferencia de potencial entre 5 y 25 voltios aproximadamente, esto logra que los electrodos de plata se desgasten ligeramente y desprendan NPs de plata.”* Llama la atención de esta Oficina el hecho de que se indique que la corriente eléctrica continua tenga un comportamiento muy diferente a lo divulgado en D1 (Khaydarov, 2009), dado que tal como se mostró en la tabla 1, la diferencia de potencial aplicada en D1 es de 20V de corriente continua y en esta solicitud se consideran voltajes entre 5-25V, de corriente continua igualmente. El fenómeno descrito por el solicitante en cuanto a que los electrodos de plata se desgastan ligeramente y desprenden NPs de plata, también está ocurriendo en D1, donde claramente se indica que se lleva a cabo un proceso de electrólisis a una temperatura de 20-95°C a 20V. La suspensión de cationes de plata también es igual a la descrita en D1. Esta Oficina se mantiene en que la materia reivindicada no es nueva frente a D1 (Khaydarov, 2009).

Respuesta: Un sistema electrolítico con una fuente conmutada o de control manual o mecánico para cambio de polaridad (en el artículo D1 no se menciona el tipo de fuente usada), aunque sea de corriente continua no es equivalente a la configuración descrita en nuestra solicitud, en la que se utiliza una fuente simple de corriente

continúa sin ningún tipo de cambio de polaridad. Hay una gran diferencia entre ambos procesos y eso conduce a un resultado muy diferente en las características del producto y en lo que sucede en los electrodos, que es algo de interés para los autores del artículo D1, pero no para nosotros. Por otro lado, mientras que en el procedimiento reportado en D1 se anota el rango de temperaturas alcanzadas durante la electrólisis, en la solicitud en mención se hace referencia a la temperatura controlada en un rango muy estrecho entre 80 y 90 °C durante la electrólisis.

Para concluir, en la solicitud se reescribió el capítulo de reivindicaciones y se hicieron cambios en el texto como la inclusión del documento D1 en la sección de “Descripción de la invención” y la eliminación de varias frases, atendiendo a las recomendaciones y sugerencias del revisor. Considerando los argumentos expuestos, solicitamos nuevamente sean tenidos en cuenta para el examen de fondo y decisión final.

Carlos Humberto Henao Pabón.

C.C 16.681.328

Titular solicitud de patente NC2016/0001633.

SOLICITUD DE PATENTE NC2016/0001633

TITULO: MÉTODO PARA EL CONTROL Y ERRADICACIÓN DE LA MARCHITEZ BACTERIANA EN PLÁTANO EMPLEANDO UN COLOIDE-CATION DE PLATA

DESCRIPCIÓN

Campo de la invención:

La invención concierne al campo de la agricultura. En particular, la invención se refiere a una suspensión de cationes de plata que elimina la marchitez bacteriana producida por *Ralstonia solanacearum* en el cultivo de plátano y el mal de panamá causado por el hongo *Fusarium oxysporum* en el cultivo de banano. Asimismo, la invención se refiere al producto y al método de producción.

Estado de la técnica anterior

En las últimas décadas en Colombia la bacteria *Ralstonia solanacearum* y el hongo *Fusarium oxysporum* han infectado gran parte de la zona productora de plátano y banano, debido a la fácil propagación de estos microorganismos, que son considerados fitopatógenos altamente agresivos; lo que representa un problema económico y social (Hayward 1995; Castañeda *et al* 2005).

Uno de los métodos que han sido utilizados anteriormente para tratar de controlar esta enfermedad ha sido la aplicación de glifosato en las plantas enfermas, después se cubre la planta fumigada con un plástico transparente con filtro UV; esto provoca la muerte de la planta y de la bacteria (Patricio *et al* 2005), pero no es conveniente para la producción por el efecto que tiene sobre el suelo. Otro método utilizado es el uso de lixiviado del compost de plátano que se produce de forma económica en las fincas y se puede utilizar como bioplaguicida en 75 días, pero no se ha demostrado que sea efectivo (Toomey 2004). Para contrarrestar el efecto de estas enfermedades también se han utilizado técnicas que hacen uso de formaldehidos, sales y otros para desinfectar de forma rápida los suelos y se usan insecticidas para el control de transmisores (DIRECCIÓN NACIONAL DE MEDIO AMBIENTE, 2002). Estas prácticas no son eficaces para la erradicación de estas enfermedades y no son rentables para la producción agrícola.

Otras estrategias de manejo y mitigación de daños de estas enfermedades consisten en la utilización de material semilla sano, detección a edades tempranas, erradicación de todas las plantas ubicadas en un radio de 5 a 10 m a partir del foco inicial y cuarentena durante al menos seis meses (Belalcazar&Merchan, 1991; Álvarez *et al* 2008), lo que tampoco es rentable para la producción agrícola.

En general, el control de estas enfermedades es limitado debido a la falta de tecnologías efectivas de manejo. Los únicos mecanismos de control a disposición de los agricultores son el uso de semilla limpia, desinfección de calzado y herramientas en el momento del deshoje, erradicación de plantas con síntomas de la enfermedad y marcación de los sitios afectados. Todos ellos recomendados por instituciones como el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), la Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (Corpoica) y el CIAT (Mesa y Triviño, 2007).

El uso de nanopartículas (NPs) para la mejoría de semillas y plantas es una práctica con la que se han obtenido resultados positivos, como los presentados por Elikagaienet *al* (2012), que muestran el potencial de los nanomateriales en la mejora de la germinación de semillas y crecimiento, así como en la protección de plantas, en la detección de patógenos y en la detección de residuos de pesticidas y herbicidas.

Por ejemplo, Morones *et al* (2005) reportó cambios morfológicos y estructurales de bacterias después de ser tratadas con compuestos de plata. En las micrografías que presenta, se muestran los daños a la membrana celular y a algunos elementos del citoplasma. No se ha podido determinar si la plata tiene uno o varios blancos de ataque; sin embargo, se piensa que su alta reactividad con compuestos de azufre hace que reaccione con enzimas, que contienen éste elemento y que se ubican en la membrana, responsable de la respiración y del control de intercambio de materiales. En la reacción, la membrana pierde permeabilidad, la bacteria deja de respirar y muere.

Por otro lado Zheng *et al* (2005) estudió los efectos de NPs de TiO₂ sobre el crecimiento de semillas de espinaca. Este autor informó que las semillas tratadas con estas NPs produjeron plantas que tenían un 73 % más de peso en seco, tres veces mayor tasa fotosintética y aumento del 45 % en la formación de Clorofila, en comparación con un grupo control.

Por su parte Lin y Xing (2007) evaluaron la fitotoxicidad de nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) y nanomateriales de óxido de Al_2O_3 , ZnO, Al y Zn y su impacto en las tasas de germinación en rábano, canola, raigrás, lechuga, maíz y pepino. Ellos encontraron que las concentraciones más altas (2000 mg/L) de tamaño nanométrico de Zn (35 nm) y ZnO (20 nm) inhiben la germinación en raigrás y maíz, respectivamente, afectando significativamente la elongación de las raíces.

Así mismo, Sudheer *et al* (2011) valoró la inhibición del crecimiento de cinco diferentes tipos de bacterias por la acción de NPs de plata.

Descripción de la invención

Se trata de un producto para uso agrícola, únicamente. En particular, la invención se refiere a una suspensión de cationes de plata, obtenida por un método electroquímico. Este coloide-catión de plata contribuye a incrementar los rendimientos productivos, ya que elimina la marchitez bacteriana producida por *R. solanacearum* en el cultivo de plátano y el mal de panamá causado por el hongo *F. oxysporum* en el cultivo de banano. Este texto se refiere al producto y al método de producción.

Aunque hay estudios como el de Khaydaron *et al* (2009), sobre un método electroquímico para la fabricación de nanopartículas de plata suspendidas en agua, de tamaños entre 2 y 20 nm de diámetro, tanto los parámetros de crecimiento como el comportamiento de las variables reportadas por estos autores son diferentes a los descritos en el presente documento.

Si bien se han utilizado suspensiones de nanopartículas de plata sintetizadas por reducción química para atacar la bacteria *R. solanacearum*, como lo reporta Chen *et al* (2016), tanto las características de la solución, como la forma de aplicación y las plantas tratadas son diferentes a las referidas en esta solicitud. Mientras que el citado estudio se hizo con plantas de tabaco, cultivadas en materas y expuestas a este microorganismo, el producto coloide-catión plata fue probado directamente sobre la bacteria y sobre el hongo en condiciones de laboratorio y en campo sobre cultivos de plátano y banano infectados con *R. solanacearum* y *F. oxysporum*, respectivamente.

La aplicación que reportan estos autores involucra el rociado de la raíz de las plantas con una suspensión en agua de NPs de tamaño entre 10 y 100 nm, con adición de un agente surfactante o tensoactivo (polisorbato 80). Esto difiere del procedimiento de aplicación del coloide-catión de plata, en que el producto, también en forma de suspensión, se aplica

con jeringa sobre el tallo de las plantas. En este caso las nanopartículas de plata (crecidas por el método electroquímico descrito), de tamaño entre 14 y 24 nm (Figura 2), están suspendidas en agua destilada sin el uso de tensoactivos.

El equipo usado para la fabricación del producto en cuestión incluye un par de electrodos, un ánodo y un cátodo de plata que se conectan a una fuente de voltaje continua; éstos se sumergen en un medio líquido (agua destilada) que se mantiene a una temperatura entre 80 y 90 °C. La suspensión del “coloide – catión de plata” en el agua se genera mediante la aplicación de una corriente eléctrica continua, de comportamiento diferente al descrito en el artículo de Khaydaron *et al*, en el que se alcanza una corriente de saturación cambiando la polarización de los electrodos. En nuestra descripción, entre el ánodo y el cátodo se mantiene una diferencia de potencial de entre 5 y 25 Voltios; esto hace que los electrodos se desgasten ligeramente por el desprendimiento de nanopartículas de plata. A partir de la ley de Faraday, con la corriente que pasa a través de los electrodos puede determinarse la cantidad de partículas de plata producidas. De esta forma se puede determinar la concentración de estas nanopartículas en función del voltaje empleado, de acuerdo con el volumen del medio líquido que se está utilizando.

En resumen, cabe destacar las siguientes diferencias:

- La síntesis de coloide-catión de plata se hace a través de un método electroquímico, utilizando una fuente que suministra una diferencia de potencial constante entre los electrodos.
- La suspensión de nanopartículas de plata no requiere de un tensoactivo.
- La aplicación se hace por inyección del coloide-catión de plata sobre cada planta infectada y los efectos se probaron en plantaciones de plátano y de banano afectadas por la bacteria *R. solanacearum* o por el hongo *F. oxysporum*, respectivamente.
- No se presenta resistencia bacteriana al producto.

Mejor manera de ejecutar la invención

Para sintetizar el coloide – catión de plata se usa un proceso electroquímico mediante la aplicación de un voltaje DC de 5 a 25 V entre dos electrodos de plata (99.9% de pureza),

inmersos en un recipiente con agua destilada. Con este procedimiento se alcanza una concentración de plata en suspensión en el rango de 15-25 ppm.

El espectro germicida de la plata es específico para algunas bacterias, hongos y virus. La aplicación de la suspensión del coloide – catión de plata, generado por el proceso electroquímico, descrito en la presente solicitud de invención, es útil para contrarrestar la enfermedad de la marchitez bacteriana en plantas de plátano y el mal de panamá, ya que elimina, erradica o inactiva la bacteria *R. solanacearum* y el hongo *F. oxysporum*.

La aplicación de la suspensión del coloide–catión de plata es eficaz para contrarrestar la infección provocada por la bacteria o el hongo en plantas de plátano o banano; evita la destrucción de la planta y lleva a la restauración de su estado funcional sin que se presente resistencia bacteriana, como sucede con los antibióticos.

El tratamiento con la suspensión de plata de plantas infectadas por la bacteria *R. solanacearum* o por el hongo *F. oxysporum* se hace aplicando el producto directamente en los haces vasculares de la planta con una jeringa. El efecto es de reducción del número de organismos patógenos que atacan a la planta, con lo que se conserva la planta viva y se permite un crecimiento vegetativo normal.

La aplicación de la suspensión de nanopartículas de plata de concentración entre 10 y 20 ppm, se hace inyectando las plantas en horas de la mañana de acuerdo con los horarios normales de riego. Se inyectan tres dosis de 5 a 10 cm³ por cada planta infestada o con presencia de la marchitez bacteriana o mal de panamá; esto se hace en 3 partes diferentes del pseudotallo, de abajo hacia arriba. En total se habrán inyectado entre 15 y 30 cm³ por planta; este procedimiento se debe repetir un mes después, siempre y cuando la planta presente de nuevo los síntomas.

Para finalizar, la presente iniciativa proporciona un procedimiento y un producto para la regeneración de plantas que han sido afectadas por la bacteria *R. solanacearum* y el hongo *F. oxysporum*. La suspensión coloidal es inyectada a las plantas enfermas en tres partes del pseudotallo; este método es eficaz para proporcionar plantas rehabilitadas, libres de fitopatógenos.

Descripción de los dibujos

El aparato de síntesis y el producto según la invención son descritos a continuación con referencia a los dibujos adjuntos:

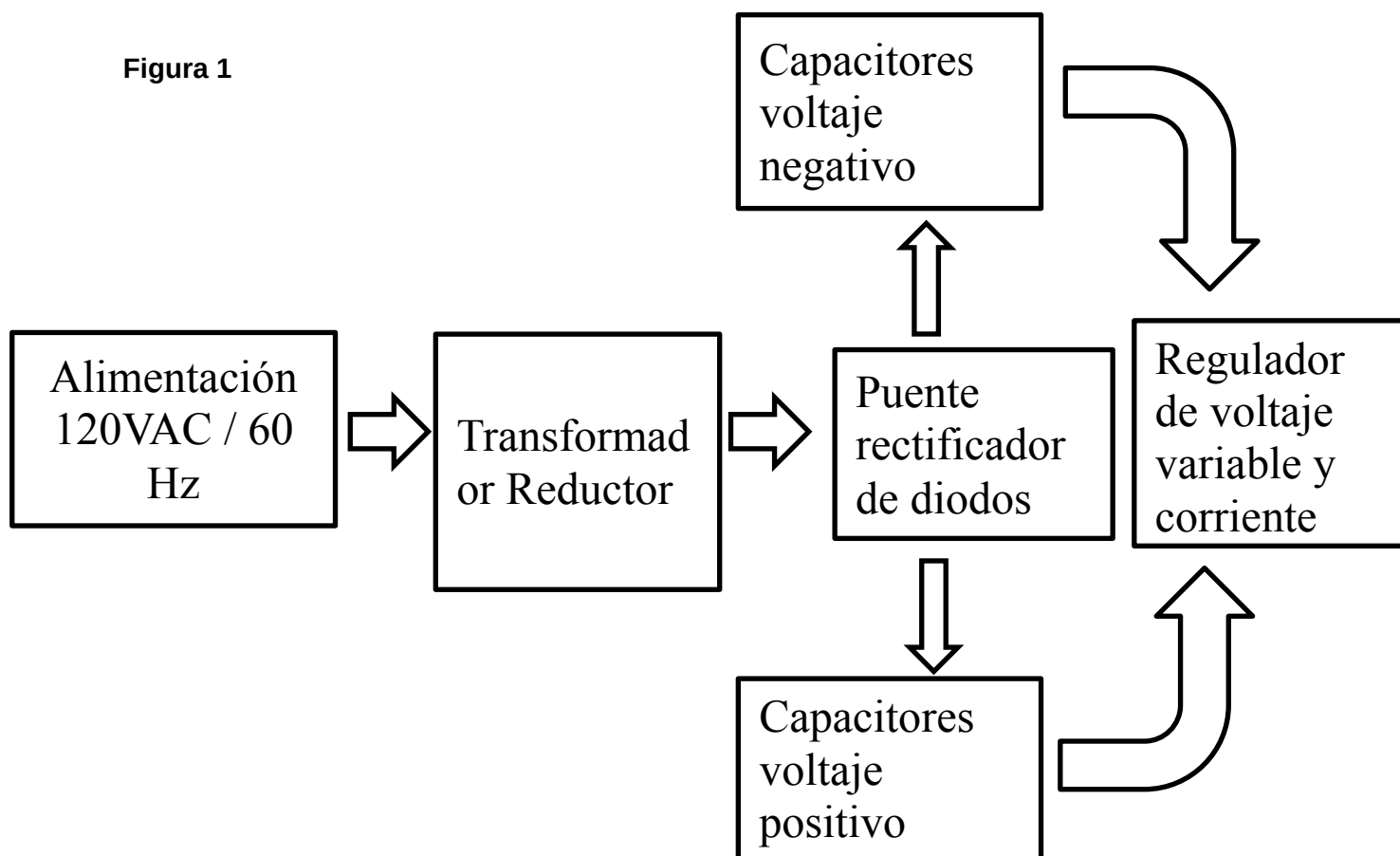
Figura 1

Esquema del sistema electroquímico de síntesis del Coloide-cación de plata.

Figura 2

Difractograma de rayos X obtenido de las nanopartículas de plata de la suspensión.

Figura 1



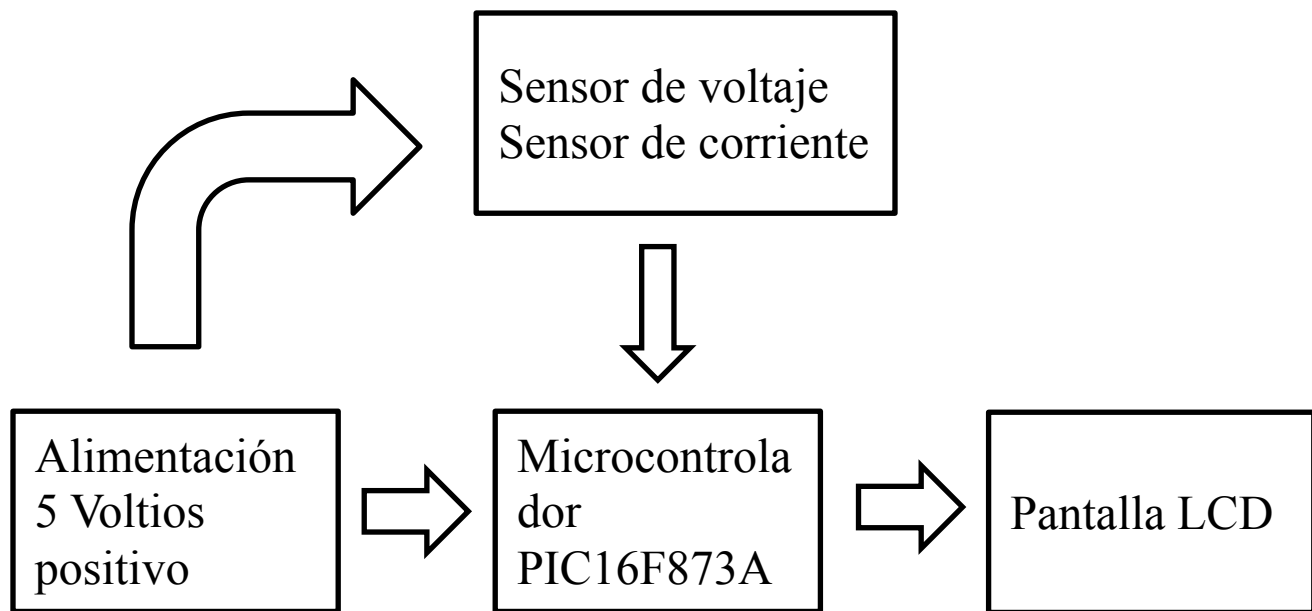
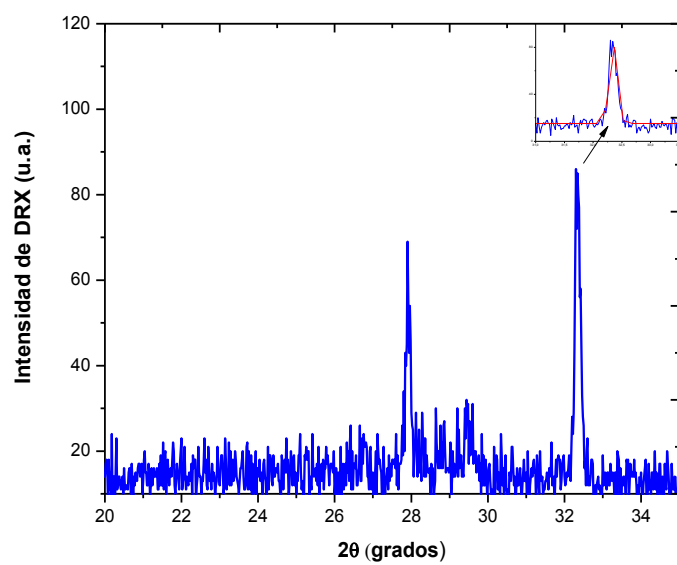


Figura 2



REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de fabricación del coloide–catión plata a través de un método electroquímico, que comprende las siguientes etapas:
 - Se aplica una diferencia de potencial continua, de entre 5 y 25 V, con una fuente de alimentación de corriente continua entre dos electrodos de plata pura (99.9 %), inmersos en agua destilada a temperatura entre 80 y 90 °C, dentro de la cubeta electrolítica.
 - La corriente aplicada se mantiene entre 0.5 y 1 Amperio durante el tiempo del proceso entre 45 a 50 minutos para un volumen del medio líquido que se utilice entre 500 y 750 mL.
 - Se finaliza el proceso electrolítico cuando la concentración del coloide–catión plata está entre 15 y 25 ppm de nanopartículas de plata en la suspensión.
 - Se filtra la suspensión utilizando un filtro de tamaño de poro de 1 μ m.

2. Coloide-catión de plata para aplicación en plantaciones de plátano o de banano, infestadas por *Ralstonia solanacearum* o por el hongo *Fusarium oxysporum*, que causan la marchitez bacteriana o el mal de panamá, según la reivindicación 1, caracterizado porque comprende:
 - Nanopartículas de plata con carga eléctrica positiva suspendidas en agua destilada con una concentración entre 15 y 25 ppm.
 - Nanopartículas de plata de tamaño nanométrico, entre 14 y 24 nm, que pueden interactuar contra microorganismos generadores de las enfermedades marchitez bacteriana y mal de panamá, de tal forma que pueden ser inyectadas de manera directa en el tallo de la planta de plátano o de banano.
 - Nanopartículas de plata que previenen la propagación de las enfermedades marchitez bacteriana y mal de panamá a las demás plantas del cultivo. Si la planta presenta de nuevo los síntomas se repite la dosis después de un mes de la primera aplicación.

- Restaura la planta de plátano o banano enferma por marchitez bacteriana o mal de panamá a un estado funcional y evita su destrucción, que depende del estado de afectación de la enfermedad. Esta suspensión se inyecta en tres partes del pseudotallo de la planta de plátano o banano, de abajo hacia arriba, directamente en los haces vasculares de la planta de plátano o banano con la marchitez bacteriana o con el mal de panamá.
- No contiene tensoactivos ni sustancias que causen daño a la planta de plátano o banano ni al suelo y no contamina el ambiente.

Bibliografía

- Álvarez Restrepo J. A; Rodríguez Gaviria P. A; Marín Montoya M. Detección molecular de *Ralstonia solanacearum* en agroecosistemas bananeros de Colombia. Printed in Brazil: Copyright by the Brazilian Phytopathological Society. Tropical Plant Pathology, 2008. vol.33, 3, 197-203.
- Belalcázar, C.S., Merchán, V.V. Efecto de la época y el grado de defoliación sobre la producción. p 77-85. In: Belalcázar, C.S., Buriticá, C.P., Torregroza, C.M., Toro, M.J., Jaramillo, G.O., Baena, A.H., Valencia, M.J.T.:. Generación de tecnología para el cultivo y producción rentable de plátano en la zona central cafetera colombiana. Creced Quindío, ICA Armenia, Regional Nueve. Informe Técnico. 1991. Armenia, Quindío, Colombia.
- Castañeda D; Espinosa JA. Comportamiento e impacto de la enfermedad de moko en la zona de Urabá (Colombia), en las últimas tres décadas y media y propuesta de un índice de riesgo de la enfermedad. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín; 2005, 58:2587-2599.
- Chen Juanni, Li Shili, Luo Jinxiang, Wang Rongsheng, and Ding Wei. Enhancement of the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles against Phytopathogenic Bacterium *Ralstonia solanacearum* by Stabilization. Journal of Nanomaterials, Volume 2016. 1 de enero de 2016. Pág. 1-15.
- Dirección nacional de medio ambiente. Proceso de eliminación del Bromuro de metilo en Uruguay. Uruguay: Comisión Técnica Gubernamental de Ozono, 2002. 23 p.
- Elikagaian N; Segurtasunarako, Fundazioa E. La nanotecnología en la industria alimentaria: Nanotecnología alimentaria. Fundación vasca para la seguridad alimentaria, Noviembre. La aplicación de las nuevas tecnologías en la industria alimentaria, 2012.
- Elikagaian N; Segurtasunarako, Fundazioa E. La nanotecnología en la industria alimentaria: Nanotecnología alimentaria. Fundación vasca para la seguridad

alimentaria, Noviembre. La aplicación de las nuevas tecnologías en la industria alimentaria, 2012.

Hayward, A.C. Research on bacterial wilt: a perspective on international linkages and access to the literature, p. 1-8. In C. Allen, P. Prior & A.C. Hayward (eds.). Bacterial wilt: the disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. 1995. American Phytopathological Society, San Pablo, EEUU.

Khaydaron R. A., Khaydarov R. R., Gapurova O., Estrin Y., Scheper T.. Electrochemical method for the synthesis of silver nanoparticles. Journal of Nanoparticle Research. 2009; 11, 5, 1193–1200.

Lin, D; Xing, B. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environ. Pollut, 2007. 150, 243e250.

Mesa L; Triviño V. Evaluación microbiológica y físico-química de lixiviados de descomposición de residuos de plátano (*Musa AAB*) y su efecto sobre Moko. Tesis B.Sc. Biología. Universidad del Quindío. Armenia, Colombia, 2007. 25 p.

Morones, J; Elechiguerra, J; Holt, A; Kouri, K; Ramirez, J; Yamacan, J. The bacterial effect of silver nanoparticles. Nanotechnology. 2005; 16, 2346-53.

Patricio F, R; Almeida I, M; Santo A. S; Cabral O; Tessariolin J; Sinigaglia C; Berian L, O; Rodrigues N, J. Avaliação da solarização do solo para o controle de *Ralstonia solanacearum*. Fitopatologia Brasileira, 2005. 30: 475-481.

S. SudheerKhan, AmitavaMukherjee, N. Chandrasekaran. 2011. Studies on interaction of colloidal silver nanoparticles (SNPs) with five different bacterial species. Elsevier. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 87 129– 138.

ToomeyGerry. Campaña de Colombia para salvar del moko a los plátanos. Escritor científico. Diciembre. Green Ink Publishing ServicesLtd, 2004. e-mail g.toomey@cgnet.com; tel.1-819-827-1426.

Zheng, L; Hong, F; Lu, S; Liu, C; Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biol. Trace Elem. Res, 2005.104, 83e91.

Con respecto al Oficio N° 5653 de 2 de julio de 2019

Ref. Expediente N° NC2016/0001633

A continuación me permito responder a cada punto del requerimiento correspondiente al examen de fondo de la solicitud:

Sobre las Reivindicaciones (Art. 30 Decisión 486)

1. “El procedimiento de la reivindicación 1 no cumple con el requisito de claridad porque la frase “La corriente aplicada y el tiempo del proceso se determinan a partir de la ley de Faraday de acuerdo con la concentración requerida de NPs de plata, teniendo en cuenta el volumen del medio líquido que se utilice.” No define ninguna condición en particular y en cambio es confusa e involucra otras variables que no han sido definidas, como son tiempo, volumen y concentración.”

Respuesta: Se hizo la modificación correspondiente en el capítulo de reivindicaciones, colocando el valor explícito de la corriente que se debe usar en el procedimiento, así como el tiempo necesario.

2. “La reivindicación 1 además no es clara porque hace referencia a la figura 2, sin embargo, no es aceptable que las reivindicaciones hagan referencia a las figuras, se aclara que el Capítulo reivindicatorio debe ser claro por sí mismo.”

Respuesta: Se eliminó la referencia a la figura 2 para que el capítulo sea claro por sí mismo.

3. “La reivindicación 1 además no es clara porque incluye la expresión “NPs” la cual no es definida en ninguna parte del capítulo reivindicatorio, nuevamente se aclara que las reivindicaciones deben ser claras por sí mismas, sírvase corregir.”

Respuesta: Se hizo la modificación correspondiente en el capítulo de reivindicaciones, aunque en el texto se definió la abreviatura NPs correspondiente a nanopartículas.

4. “La reivindicación 1 no es clara además porque se presentan características del producto obtenido como características del proceso, lo cual no es aceptable, en este sentido, sírvase retirar las frases “*Se obtiene una concentración entre 15 y 25 ppm de NPs de plata en la suspensión*” y “*La suspensión se almacena en un recipiente de vidrio ámbar*”. Se aclara al solicitante que un proceso debe ser caracterizado por sus etapas de forma lógica y secuencial y por las condiciones de ejecución de dichas etapas. Además, la frase “*Se obtiene una concentración entre 15 y 25 ppm de NPs de plata en la suspensión*” hace referencia a un resultado a alcanzar, lo cual no es aceptable puesto que esto equivaldría a definir el problema técnico a resolver y el alcance incluiría no sólo la solución propuesta por el solicitante, sino todas las alternativas presentes o futuras que lleguen a ese resultado. Sírvase suprimir esta frase.”

Respuesta: Se eliminaron las características del producto y se retiraron las frases de acuerdo con la sugerencia.

5. “Ahora, frente a la reivindicación 2 se aclara que no es clara porque incluye descripciones y efectos que se logran con el uso del coloide catión de plata, sus propiedades o mediante su proceso de obtención que realmente no define el producto de interés. Se aclara al solicitante que una composición o un producto debe ser caracterizado por sus componentes específicamente definidos y las proporciones de combinación de ellos. En este sentido las frases: “...que permite la asimilación de la suspensión coloidal por inyección directa en el tallo de la planta de plátano o de banano.” “...que reduce la cantidad de microorganismos generadores de las enfermedades marchitez bacteriana y mal de panamá.” “...Estable después de seis meses de almacenamiento.” “...La síntesis del coloide-catión plata o suspensión de NPs de plata en agua destilada, se hace sin uso de tensoactivos o estabilizantes, a través de un procedimiento electroquímico.” “...Sintetizado por un método electroquímico amigable con el medio ambiente.” “...La administración del coloide-catión plata a las plantas de plátano o de banano, se hace en dosis entre 5 y 15 mL.” “No se presenta desarrollo de resistencia bacteriana.” No pueden considerarse características técnicas del producto de interés, sírvase retirarlas.”

Respuesta: Se retiraron las descripciones y efectos. Se retiraron las frases de acuerdo con la sugerencia.

6. “Sírvase modificar el capítulo reivindicatorio de acuerdo con las observaciones anteriores y teniendo en cuenta que las eventuales modificaciones deben encontrarse enteramente sustentadas en la descripción inicialmente presentada sin adición o inclusión de nueva materia.”

Respuesta: se hicieron las modificaciones correspondientes y no se presenta adición o inclusión de nueva materia.

Sobre Determinación del Estado de la Técnica:

Si bien en el documento D1, que ustedes consideran como el estado de la técnica más cercano a la invención, se debe tener en cuenta que el procedimiento descrito hace referencia directa a la variación del periodo de cambios de polaridad en el rango de 30 a 300 ms en la electrólisis. La diferencia entre ésta y la descripción de la solicitud de invención, definida en la reivindicación 1, no solo consiste en que en esta última se definen los voltajes y control de la corriente aplicados de manera continua en un rango determinado, sino que efectivamente en el procedimiento descrito, el rango de temperatura en que se mantiene el electrolito es muy estrecho, apenas de 10°, mientras que el mencionados en D1 es de 30° (entre 50 y 80 °C), lo que tiene serias implicaciones en el producto final. Es decir, se evidencia un efecto técnico al incluir los parámetros involucrados en la electrólisis, ya que se obtuvo una distribución de tamaño de partícula muy estrecha entre 14 y 24 nm, mientras que en D1 este rango es muy ancho entre 2 y 20 nm. Este ancho de distribución es fundamental para la eficacia del producto.

Sobre el Examen de Patentabilidad.

1. “De acuerdo con la tabla, las características esenciales del procedimiento de la reivindicación 1 ya habían sido divulgadas previamente en el documento 1, por lo tanto, la materia reivindicada no es nueva. De acuerdo con la tabla anterior, las características esenciales del producto de la reivindicación 2 ya habían sido divulgadas previamente en el documento 1, por lo tanto, la materia reivindicada no es nueva.”

Respuesta: Aunque en el documento D1 se hace referencia a una suspensión de nanopartículas de plata con carga positiva de una concentración del mismo orden, la distribución de tamaño de partícula es muy diferente, y se usa un procedimiento electrolítico diferente. Aunque pueda parecer trivial, para las aplicaciones es muy importante la uniformidad del tamaño de partícula porque un tamaño inadecuado puede traer, por ejemplo, efectos adversos en la aplicación que se persigue, que en este caso es agrícola. En este caso se usó una configuración diferente en la electrólisis que dio lugar a este resultado que por tanto creemos tiene la novedad suficiente para hacer la solicitud de patente del producto y del proceso.

Sobre Respuesta a los argumentos del solicitante

1. *“La suspensión del “coloide – catión de plata” se obtiene mediante la aplicación de una corriente eléctrica continua, de comportamiento muy diferente al descrito en el artículo de Khaydarov et al, en el que se alcanza una corriente de saturación cambiando la polarización de los electrodos. En nuestra descripción entre el ánodo y el cátodo hay una diferencia de potencial entre 5 y 25 voltios aproximadamente, esto logra que los electrodos de plata se desgasten ligeramente y desprendan NPs de plata.”* Llama la atención de esta Oficina el hecho de que se indique que la corriente eléctrica continua tenga un comportamiento muy diferente a lo divulgado en D1 (Khaydarov, 2009), dado que tal como se mostró en la tabla 1, la diferencia de potencial aplicada en D1 es de 20V de corriente continua y en esta solicitud se consideran voltajes entre 5-25V, de corriente continua igualmente. El fenómeno descrito por el solicitante en cuanto a que los electrodos de plata se desgastan ligeramente y desprenden NPs de plata, también está ocurriendo en D1, donde claramente se indica que se lleva a cabo un proceso de electrólisis a una temperatura de 20-95°C a 20V. La suspensión de cationes de plata también es igual a la descrita en D1. Esta Oficina se mantiene en que la materia reivindicada no es nueva frente a D1 (Khaydarov, 2009).

Respuesta: Un sistema electrolítico con una fuente conmutada o de control manual o mecánico para cambio de polaridad (en el artículo D1 no se menciona el tipo de fuente usada), aunque sea de corriente continua no es equivalente a la configuración descrita en nuestra solicitud, en la que se utiliza una fuente simple de corriente

continúa sin ningún tipo de cambio de polaridad. Hay una gran diferencia entre ambos procesos y eso conduce a un resultado muy diferente en las características del producto y en lo que sucede en los electrodos, que es algo de interés para los autores del artículo D1, pero no para nosotros. Por otro lado, mientras que en el procedimiento reportado en D1 se anota el rango de temperaturas alcanzadas durante la electrólisis, en la solicitud en mención se hace referencia a la temperatura controlada en un rango muy estrecho entre 80 y 90 °C durante la electrólisis.

Para concluir, en la solicitud se reescribió el capítulo de reivindicaciones y se hicieron cambios en el texto como la inclusión del documento D1 en la sección de “Descripción de la invención” y la eliminación de varias frases, atendiendo a las recomendaciones y sugerencias del revisor. Considerando los argumentos expuestos, solicitamos nuevamente sean tenidos en cuenta para el examen de fondo y decisión final.

Carlos Humberto Henao Pabón.

C.C 16.681.328

Titular solicitud de patente NC2016/0001633.