

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 905 830**

21 Número de solicitud: 202031029

51 Int. Cl.:

G01N 27/48 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

09.10.2020

43 Fecha de publicación de la solicitud:

12.04.2022

71 Solicitantes:

**BIOQUOCHEM S.L. (100.0%)
Edificio CEEI. Parque Tecnológico de Asturias
33428 Llaneras (Asturias) ES**

72 Inventor/es:

**HEVIA SANCHEZ, David;
MUÑOZ CIMADEVILLA, Henar y
TAMARGO DÍAZ, Sandra**

74 Agente/Representante:

DE DIOS SERRANÍA, Gustavo Adolfo

54 Título: **MÉTODO PARA MEDIR PARÁMETROS DE OXIDACIÓN DE UNA MUESTRA ORGÁNICA**

57 Resumen:

La invención proporciona un método para la medida de la capacidad antioxidante en muestras líquidas basado en voltimetría de barrido lineal. El método comprende las etapas de preparar un solvente eutéctico profundo natural y agitarlo, añadir al menos un compuesto catalizador adicional (7, 7') a esta primera disolución, obteniendo una disolución final (13). Esta disolución final (13) se mezcla con la muestra orgánica (14) a analizar, se obtiene la fase acuosa (8) y se sitúa en un transductor electroquímico (16) que contienen un electrodo de trabajo, un electrodo de referencia o pseudo-referencia y un electrodo auxiliar. Posteriormente, se mide la oxidación de la fase acuosa mediante la aplicación de un rango de tensiones en el electrodo de trabajo según voltimetría de barrido lineal.

ES 2 905 830 A1

DESCRIPCIÓN

MÉTODO PARA MEDIR PARÁMETROS DE OXIDACIÓN DE UNA MUESTRA ORGÁNICA

5

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente patente se encuentra enmarcada dentro de los métodos analíticos de medición de algunos parámetros de oxidación, como por ejemplo la capacidad
10 antioxidante y prooxidante, la estabilidad de la oxidación y la resistencia a la oxidación mediante técnicas de electroquímica en muestras orgánicas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

15 La medida de algunos parámetros de oxidación en muestras orgánicas puede ofrecer una información muy valiosa sobre la valía o el estado de degradación de dichas muestras. Parámetros como la capacidad antioxidante y prooxidante, la resistencia a la oxidación bajo ciertas condiciones o la estabilidad de dicha oxidación permiten al usuario discriminar aquellas muestras que no cumplan una serie de requisitos básicos en función de la
20 aplicación en la que vayan a ser usados. Estas medidas son sencillas en una mezcla acuosa, pero la metodología en una muestra orgánica es mucho más compleja.

Se conocen algunos métodos destinados a medir la oxidación de una muestra orgánica. El Rancimat o el PetrOxy son métodos de medida de estabilidad oxidativa de aceites y
25 grasas basado en la inducción de la oxidación de la muestra por exposición a elevadas temperaturas y flujo de aire. De esta manera permite estimar el tiempo de inducción o tiempo de estabilidad oxidativa, siendo este el momento a partir del cual la muestra ha superado el tiempo en el que permanece estable, y siendo por tanto indicativo de una pérdida de calidad y vida útil de la muestra. Sin embargo, es una medida indirecta, ya que
30 se cuantifican únicamente los productos volátiles generados (tras aplicar temperatura y flujo de aire varias horas) y además no se valora directamente la resistencia y la capacidad antioxidante de la muestra a tiempo cero. Es necesario realizar ensayos de tiempo elevado, por ejemplo en el caso de Rancimat, para muestras de Biodiesel el tiempo mínimo de ensayo obligatorio alcanza las 6 horas, siendo en la mayoría de los casos superior.

35

Por lo tanto, para realizar ambos métodos se necesita mucho tiempo y además, la medida que se realiza es indirecta, por lo que no resulta un método totalmente fiable.

La presente invención pretende proporcionar una solución alternativa a este problema.

5

DESCRIPCIÓN BREVE DE LA INVENCION

La presente invención proporciona una solución alternativa al problema anteriormente propuesto mediante un método de medida de parámetros de oxidación de acuerdo a la
10 reivindicación 1. Las reivindicaciones dependientes definen realizaciones preferidas de la invención.

A menos que se defina de otra manera, todos los términos (tanto los científicos como los técnicos) que se usan en este documento han de ser interpretados como lo haría un
15 experto en la materia. Se entenderá, por tanto, que los términos de uso común deben ser interpretados de la manera que lo haría un conocedor de la materia, y no de un modo idealizado o estrictamente formal.

A lo largo del texto, la palabra “comprende” (y sus derivados, como “comprendiendo”) no
20 deben ser entendidos de un modo excluyente, sino que deben ser entendidos en el sentido en que admiten la posibilidad de que lo definido pueda incluir elementos o etapas adicionales.

Un objeto de la presente invención se refiere, aunque sin limitación, a un método para
25 medir parámetros de oxidación de una muestra orgánica, comprendiendo el método las etapas de:

preparar un primer compuesto que comprende un solvente eutéctico profundo natural;

30 agitar el primer compuesto durante un tiempo comprendido entre 30 y 120 minutos a una temperatura comprendida entre 0 y 80°C y dejar enfriar a temperatura ambiente, obteniendo una primera disolución

añadir al menos un compuesto catalizador adicional a la primera disolución, obteniendo una disolución final

35 mezclar con agitación la muestra orgánica con la disolución final, dando lugar a una mezcla de medida

obtener la fase acuosa de la mezcla de medida y agitarla

situar la fase acuosa agitada en un transductor electroquímico que contienen un electrodo de trabajo, un electrodo de referencia o pseudo-referencia y un electrodo auxiliar;
y

5 medir la oxidación de la fase acuosa mediante la aplicación de un rango de tensiones en el electrodo de trabajo según voltametría de barrido lineal.

Gracias a este método se puede utilizar un dispositivo de medida electroquímica para evaluar la capacidad antioxidante de una muestra aceitosa, simplemente mediante la preparación detallada de dicha muestra. Mediante este método se obtiene una medida
10 directa y mucho más rápida de la oxidación de la muestra orgánica.

De hecho, este método es válido para medir varios parámetros de oxidación de la muestra orgánica. Debido a que el método se basa en preparar una mezcla estable y mezclarla con la muestra a medir, sucesivas variantes del método se pueden utilizar para medir
15 distintos parámetros: utilizando una única medida se observa la capacidad antioxidante o prooxidante de la muestra, si se realizan varias medidas sin variar la muestra, se puede medir la estabilidad oxidativa de la misma; si se realizan varias medidas aplicando calor a la muestra, se puede medir la resistencia a la oxidación.

20 Se entiende solvente eutéctico profundo natural (NADES por sus siglas en inglés) como una mezcla de dos o más compuestos químicos a una proporción molar particular para dar lugar a una disminución significativa en la temperatura de fusión de los componentes individuales, convirtiéndose en líquido a temperatura ambiente. En este sentido, la preparación de los disolventes no requiere ninguna reacción química y por lo tanto el
25 rendimiento de producción es del 100%.

Cuando se habla de compuesto catalizador no se refiere a un catalizador en el sentido estricto, sino a un compuesto que facilite la disolución y/o mejore la reproducibilidad de la medida en la primera disolución.

30

En realizaciones particulares, la etapa de medir la oxidación comprende

aplicar mediante un potencióstato al menos un rango de tensiones al electrodo de trabajo según voltametría de barrido lineal, estando el rango de tensiones comprendido dentro del intervalo entre 0 y 2V

35 obtener una señal de variación de corriente a lo largo de dicho rango de tensiones;

calcular la carga para el rango de tensiones aplicado por el potencióstato mediante la integración de la señal de variación de corriente,

transformar las cargas en valores adimensionales para obtener un valor de referencia representativo de la capacidad antioxidante y/o prooxidante de la muestra orgánica.

El rango de tensiones se puede aplicar tanto en sentido creciente (destinado a medir la capacidad antioxidante de la muestra) como en sentido decreciente (destinado a medir la capacidad prooxidante de la muestra).

10

En realizaciones particulares, antes de añadir el compuesto catalizador adicional, se añaden agua y una sal inorgánica, como por ejemplo KCl, a la primera disolución, obteniendo una segunda disolución a la que se añadirá el compuesto catalizador adicional, donde el volumen de agua añadida representa entre el 1% y el 40% de la segunda disolución y la sal inorgánica se encuentra en una concentración comprendida entre 0,001 M y 1 M en la segunda disolución.

15

Mediante la adición de una sal inorgánica, en combinación compensada con la adición de agua, se logra homogeneizar la conductividad en todas las muestras, independientemente de su naturaleza más o menos conductora. De este modo, se mejora la reproducibilidad de las medidas y se obtiene una medida final más fiable.

20

Evidentemente, la adición de agua y sal inorgánica no es esencial para el funcionamiento del método. Por lo tanto, la creación de la segunda disolución tampoco lo es. La segunda disolución es la que se utilizará, en estas realizaciones particulares, para seguir las etapas del método a partir de la etapa de adición del compuesto catalizador adicional.

25

En realizaciones particulares, el transductor electroquímico es una tira fungible y comprende un electrodo de trabajo de carbono, un electrodo de pseudoreferencia de plata y un electrodo auxiliar de carbono.

30

El método de la invención prepara una mezcla de medida que puede ser analizada por un dispositivo portátil mediante la deposición de la mezcla en una tira fungible. De este modo, el dispositivo portátil se encargará de las etapas de aplicar la voltametría lineal a la muestra y de calcular la medida antioxidante o prooxidante.

35

En realizaciones particulares, la etapa de aplicar un rango de tensiones al electrodo de trabajo se realiza de manera lineal, comenzando por el valor más bajo del rango de tensiones e incrementando la tensión hasta el valor más alto del rango de tensiones.

- 5 En estos casos, la tensión aplicada sigue una regla lineal con respecto del tiempo, regida por una constante comprendida entre 0,1 mV/s y 500 mV/s.

En realizaciones particulares, la etapa de aplicar un rango de tensiones se realiza de manera inversa, comenzando por el valor más alto de tensión y disminuyendo hasta el
10 valor más bajo.

De este modo, se puede calcular la capacidad prooxidante de la muestra orgánica.

En realizaciones particulares, la etapa de preparación del primer compuesto se realiza
15 mezclando al menos dos sustancias formadoras de enlaces de hidrógeno, en particular realizando una de las siguientes mezclas

cloruro de colina y ácido láctico, donde la proporción en molaridad del cloruro de colina con respecto al ácido láctico está comprendida entre 1:1 y 1:4, particularmente entre 1:1,9 y 1:2,1, o bien

20 cloruro de colina y glucosa, donde la proporción en molaridad del cloruro de colina con respecto a la glucosa está comprendida entre 1:0,1 y 1:4, particularmente entre 1:0,9 y 1:1,1, o bien

ácido láctico y glucosa, donde la proporción en molaridad del ácido láctico con respecto a la glucosa está comprendida entre 6:0,1 y 6:4, particularmente entre 6:0,9 y
25 6:1,1.

En el primer caso, por cada mol de cloruro de colina se mezclan entre 1 y 4 moles de ácido láctico, particularmente entre 1,9 y 2,1 moles de ácido láctico. En el segundo caso, por cada mol de cloruro de colina se mezclan entre 0,1 y 4 moles de glucosa, particularmente
30 entre 0,9 y 1,1 moles de glucosa. En el tercer caso, por cada 6 moles de ácido láctico se mezclan entre 0,1 y 4 moles de glucosa, particularmente entre 0,9 y 1,1 moles de glucosa.

Estas proporciones, si bien no son las únicas opciones, han permitido la obtención de un solvente eutéctico profundo natural de una manera sencilla y fiable.

35

En realizaciones particulares, la etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final se realiza a una temperatura comprendida entre 0°C y 60°C, particularmente entre 30°C y 40°C, agitando la mezcla.

- 5 Si bien no es algo esencial, se trata de un rango beneficioso para mantener intactas las propiedades de la muestra orgánica a analizar. La agitación permite una mejor homogenización de la mezcla, de modo que los resultados muestren menor dispersión.

- 10 En realizaciones particulares, la etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final comprende adicionalmente dejar reposar la mezcla de medida antes de obtener la fase acuosa.

La etapa de reposo permite la separación de la parte acuosa, que será analizada en el aparato mediante voltimetría de barrido lineal.

- 15 En realizaciones particulares, las etapas de situar la fase acuosa en un receptor, aplicar un rango de tensiones, obtener una señal, calcular la carga y transformar las cargas en valores adimensionales se realizan más de una vez, agitando la parte acuosa antes de realizar cada una de las etapas.

- 20 De este modo, se puede realizar la media de las diferentes medidas, obteniendo un valor menos afectado por la posible variabilidad debida a la falta de total homogeneidad de la muestra a analizar.

- 25 En realizaciones particulares, las etapas de mezclar con agitación la muestra orgánica con la disolución final, obtener la fase acuosa de la mezcla de medida, situar la fase acuosa agitada en un receptor y medir la oxidación de la fase acuosa se repiten, transcurrido un tiempo utilizando como muestra orgánica una segunda muestra orgánica semejante a la primera muestra orgánica en la que se ha aplicado temperatura y adición de aire.

- 30 De este modo, el método de la invención puede ser usado también según la norma UNE 14112 para medir la estabilidad de la oxidación en algunas muestras orgánica.

- 35 En realizaciones particulares, una vez obtenida la primera disolución, se mantiene a temperatura ambiente en un recipiente en oscuridad.

La ausencia de luz es favorable para mantener las propiedades de la mezcla, evitando que la luz degrade algunos componentes.

5 En realizaciones particulares, la primera disolución se mezcla con un disolvente orgánico antes de añadir el compuesto catalizador, donde la proporción en volumen entre la segunda disolución y el disolvente orgánico está comprendida entre 2:1 y 1:5, particularmente comprendida entre 1:0,9 y 1:1,1.

10 Este disolvente orgánico, como por ejemplo, una mezcla de hexano y acetona en proporción volumétrica 1:1, permite mejorar la extracción.

15 En realizaciones particulares, el compuesto catalizador es una sal orgánica, como por ejemplo el hexafluorofosfato de tetrabutilamonio o TBAPF₆, a una concentración final comprendida entre 0,1 y 5 mM, particularmente entre 0,9 y 1,1 mM.

Gracias a la adición de esta sal, se mejora la conductividad y solubilidad en disoluciones no acuosas.

20 En realizaciones particulares, la etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final, se lleva a cabo con una relación volumétrica entre la disolución y la muestra comprendida entre 24:1 y 0,5:1, especialmente entre 1:0,95 y 1:1,05.

25 Esto significa que por cada litro de muestra orgánica se mezclan entre 1,2 y 24 litros de la disolución final obtenida en las etapas del método según la invención. Este amplio rango de proporciones volumétricas es adecuado para la correcta medición de la capacidad antioxidante o prooxidante de la muestra. El rango particular comprendido entre 1:0,95 y 1:1,05 funciona especialmente bien con muestras de aceite.

30 En realizaciones particulares, el compuesto catalizador es un ácido orgánico fuerte, como por ejemplo el ácido metanosulfónico, donde la proporción en volumen entre la segunda disolución y el catalizador está comprendida entre 4:0,25 y 4:3, particularmente comprendida entre 4:0,95 y 4:1,05.

35 La adición de ácido metanosulfónico mejora la extracción de los compuestos solubles en fase acuosa.

En realizaciones particulares, la etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final, se lleva a cabo con una relación volumétrica entre la disolución y la muestra comprendida entre 4:0,25 y 1,25:1, especialmente entre 4:0,95 y 4:1,05. El rango particular comprendido entre 4:0,95 y 4:1,05 funciona especialmente bien con muestras de biodiésel.

5

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

A continuación, se presenta una descripción breve de cada una de las figuras usadas para completar la descripción de la invención que sigue. Dichas figuras se relacionan con el estado de la técnica o con realizaciones preferentes de la invención, que se presentan como ejemplos no limitativos de la misma.

La Figura 1 muestra las etapas de un primer método de acuerdo con la invención.

15

La Figura 2 muestra las etapas de un segundo método de acuerdo con la invención.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

20

Se procede a continuación a describir un ejemplo de realización preferida de la presente invención, aportada con fines ilustrativos pero no limitativos de la misma.

La Figura 1 muestra las etapas de un primer método de acuerdo con la invención. Este primer método está especialmente adaptado para medir la capacidad antioxidante o prooxidante de una muestra de aceite.

25

En una primera etapa, este método incluye la preparación de una disolución de extracción y medida 10. Esta disolución de extracción y medida 10 se prepara mediante la mezcla de dos compuestos, dando lugar a un solvente eutéctico profundo natural, también conocido por sus siglas en inglés, NADES.

30

Este solvente eutéctico profundo natural se forma a partir de un dador de enlaces de hidrógeno y un receptor de enlaces de hidrógeno, En este método en particular, se obtiene mezclando cloruro de colina 1 y ácido láctico 2, donde la proporción en molaridad del cloruro de colina con respecto al ácido láctico es de 1:2.

35

Esta disolución de extracción y medida se agita a una temperatura de 50°C durante 75 minutos y se deja enfriar hasta que alcance la temperatura ambiente, obteniendo lo que se denomina primera disolución 11.

5

En una segunda etapa se añade agua 3 a la primera disolución 11, junto con una sal inorgánica, 4 como por ejemplo KCl. Así se obtiene una segunda disolución 12. El porcentaje de agua añadida supone el 20% del volumen de la segunda disolución 12 y la concentración final de KCl en la segunda disolución 12 es de 0,05 M. Estos componentes se mezclan hasta que la segunda disolución sea homogénea. Una vez obtenida esta disolución homogénea, se mantiene a temperatura ambiente en un recipiente en oscuridad.

10

Esta segunda disolución se mezcla con acetona 5 y hexano 6, en proporción volumétrica 2:1:1, y posteriormente, se le añade una sal orgánica 7, como por ejemplo el hexafluorofosfato de tetrabutilamonio o TBAPF₆, a una concentración final de 1 mM. De este modo se obtiene una disolución final 13. Esta disolución final es independiente de la muestra a analizar, por lo que puede ser preparada con antelación antes de la mezcla con la muestra cuya oxidación se quiere medir. Incluso es posible preparar la disolución final y proporcionarla por separado, contribuyendo de manera decisiva a la realización del método de acuerdo con la invención.

15

20

Una vez obtenida esta disolución final 13, se mezcla con la muestra orgánica 14 cuya capacidad antioxidante o prooxidante se desea medir. En este caso, la proporción utilizada en esta mezcla es de 1 volumen de disolución final 13 por cada volumen de muestra orgánica 14. La etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final se realiza a una temperatura comprendida entre 0°C y 60°C.

25

Esta mezcla 15 se agita en el vórtex durante 30 segundos y se deja reposar 15 minutos a temperatura ambiente hasta que se separe la fase acuosa 8 de la fase aceitosa 9.

30

La fase acuosa 8 se separa y se agita para homogeneizar, y posteriormente se mide la capacidad antioxidante de dicha fase acuosa por triplicado, agitando la muestra antes de cada medida.

35

La capacidad antioxidante se mide de la siguiente manera (estas etapas son las que se realizan por triplicado, obteniendo posteriormente el valor medio de las mismas):

situar la fase acuosa agitada en una tira fungible 16 que contiene un electrodo de trabajo de carbono, un electrodo de pseudo-referencia de Ag y un electrodo auxiliar de carbono;

aplicar mediante un potenciostato 17 al menos un rango de tensiones al electrodo de trabajo según voltametría de barrido lineal, estando el rango de tensiones comprendido dentro del intervalo entre 0 y 2 V;

obtener una señal de variación de corriente a lo largo de dicho rango de tensiones;

calcular la carga para el rango de tensiones aplicado por el potenciostato mediante la integración de la señal de variación de corriente,

transformar las cargas en valores adimensionales para obtener un valor de referencia representativo de la capacidad antioxidante y/o prooxidante de la muestra orgánica.

Por el contrario, si lo que se desea es medir la capacidad prooxidante de la muestra, el rango de tensiones se aplicará en sentido inverso, es decir, desde 2V hasta 0V.

La figura 2 muestra las etapas de un segundo método de acuerdo con la invención. Este segundo método está especialmente adaptado para medir la capacidad antioxidante o prooxidante de una muestra de biodiesel.

La primera etapa se realiza de manera idéntica a la primera etapa del método anterior, obteniéndose una primera disolución 11 con un solvente eutéctico profundo natural.

La segunda etapa también es idéntica a la del método anterior, obteniendo una segunda disolución homogénea 12.

En este método particular, a esta segunda disolución se le añade un ácido orgánico fuerte 7', como por ejemplo el ácido metanosulfónico, donde la proporción en volumen entre la segunda disolución 12 y el ácido orgánico fuerte 7' es de 4:1. De este modo se obtiene una disolución final 13. Esta disolución final es independiente de la muestra a analizar, por lo que puede ser preparada con antelación antes de la mezcla con la muestra cuya oxidación se quiere medir. Incluso es posible preparar la disolución final y proporcionarla por separado, contribuyendo de manera decisiva a la realización del método de acuerdo con la invención.

Una vez obtenida esta disolución final 13, se mezcla con la muestra orgánica 14 cuya capacidad antioxidante o prooxidante se desea medir. En este caso, la proporción utilizada en esta mezcla es de 4 volúmenes de disolución final 13 por cada volumen de muestra orgánica 14. La etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final se realiza a una temperatura de 40°C, agitando la mezcla 15 durante 5 minutos y dejando reposar 15 minutos a temperatura ambiente hasta que se separe la fase acuosa 8 de la fase aceitosa 9.

10 La fase acuosa 8 se separa y se agita para homogeneizar, y posteriormente se mide la capacidad antioxidante de dicha fase acuosa por triplicado, agitando la muestra antes de cada medida.

La capacidad antioxidante se mide de la siguiente manera (estas etapas son las que se realizan por triplicado, obteniendo posteriormente el valor medio de las mismas):

15 situar la fase acuosa agitada en una tira fungible 16 que contiene un electrodo de trabajo de carbono, un electrodo de pseudoreferencia de Ag y un electrodo auxiliar de carbono;

20 aplicar mediante un potencióstato 17 al menos un rango de tensiones al electrodo de trabajo según voltametría de barrido lineal, estando el rango de tensiones comprendido dentro del intervalo entre 0 y 2 V

obtener una señal de variación de corriente a lo largo de dicho rango de tensiones;

calcular la carga para el rango de tensiones aplicado por el potencióstato mediante la integración de la señal de variación de corriente,

25 transformar las cargas en valores adimensionales para obtener un valor de referencia representativo de la capacidad antioxidante y/o prooxidante de la muestra orgánica.

Por el contrario, si lo que se desea es medir la capacidad prooxidante de la muestra, el rango de tensiones se aplicará en sentido inverso, es decir, desde 2V hasta 0V.

REIVINDICACIONES

1.- Método para medir parámetros de oxidación de una muestra orgánica, comprendiendo el método las etapas de:

5 preparar un primer compuesto (10) que comprende un solvente eutéctico profundo natural;

 agitar el primer compuesto (10) durante un tiempo comprendido entre 30 y 120 minutos a una temperatura comprendida entre 0 y 80°C y dejar enfriar a temperatura ambiente, obteniendo una primera disolución (11),

10 añadir al menos un compuesto catalizador adicional (7, 7') a la primera disolución, obteniendo una disolución final (13);

 mezclar con agitación la muestra orgánica (14) con la disolución final (13), dando lugar a una mezcla de medida (15);

 obtener la fase acuosa (8) de la mezcla de medida (15) y agitarla

15 situar la fase acuosa agitada en un transductor electroquímico (16) que contienen un electrodo de trabajo, un electrodo de referencia o pseudo-referencia y un electrodo auxiliar;

 medir la oxidación de la fase acuosa mediante la aplicación de un rango de tensiones en el electrodo de trabajo según voltametría de barrido lineal.

20

2.- Método según la reivindicación 1, en el que la etapa de medir la oxidación comprende

 aplicar mediante un potencióstato (17) al menos un rango de tensiones al electrodo de trabajo según voltametría de barrido lineal, estando el rango de tensiones comprendido dentro del intervalo entre 0 y 2 V

25 obtener una señal de variación de corriente a lo largo de dicho rango de tensiones;

 calcular la carga para el rango de tensiones aplicado por el potencióstato mediante la integración de la señal de variación de corriente,

 transformar las cargas en valores adimensionales para obtener un valor de referencia representativo de la capacidad antioxidante y/o prooxidante de la muestra orgánica.

30

3.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que, antes de añadir el compuesto catalizador adicional, se añaden agua (3) y una sal inorgánica (4), como por ejemplo KCl, a la primera disolución, obteniendo una segunda disolución (12) a la que se

35 añadirá el compuesto catalizador adicional (7, 7'), donde el volumen de agua añadida representa entre el 1% y el 40% de la segunda disolución (12) y la sal inorgánica (4) se

encuentra en una concentración comprendida entre 0,001 M y 1 M en la segunda disolución (12).

4.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el transductor electroquímico es una tira fungible (16) y comprende un electrodo de trabajo de carbono, un electrodo de pseudo-referencia de plata y un electrodo auxiliar de carbono.

5.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa de aplicar un rango de tensiones al electrodo de trabajo se realiza de manera lineal, comenzando por el valor más bajo del rango de tensiones e incrementando la tensión hasta el valor más alto del rango de tensiones.

6.- Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la etapa de aplicar un rango de tensiones se realiza de manera inversa, comenzando por el valor más alto de tensión y disminuyendo hasta el valor más bajo.

7.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa de preparación del primer compuesto se realiza mezclando al menos dos sustancias formadores de enlaces de hidrógeno, en particular realizando una de las siguientes mezclas

cloruro de colina (1) y ácido láctico (2), donde la proporción en molaridad del cloruro de colina (1) con respecto al ácido láctico (2) está comprendida entre 1:1 y 1:4, particularmente entre 1:1,9 y 1:2,1, o bien

cloruro de colina y glucosa, donde la proporción en molaridad del cloruro de colina con respecto a la glucosa está comprendida entre 1:0,1 y 1:4, particularmente entre 1:0,9 y 1:1,1, o bien

ácido láctico y glucosa, donde la proporción en molaridad del ácido láctico con respecto a la glucosa está comprendida entre 6:0,1 y 6:4, particularmente entre 6:0,9 y 6:1,1.

8.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa de mezclar la muestra orgánica (14) con la disolución final (13) se realiza a una temperatura comprendida entre 0°C y 60°C, particularmente entre 30°C y 40°C, agitando la mezcla.

9.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la etapa de mezclar la muestra orgánica (14) con la disolución final (13) comprende adicionalmente dejar reposar la mezcla de medida (15) antes de obtener la fase acuosa (8).

5 10.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las etapas de situar la fase acuosa en un receptor, aplicar un rango de tensiones, obtener una señal, calcular la carga y transformar las cargas en valores adimensionales se realizan más de una vez, agitando la parte acuosa antes de realizar cada una de las etapas.

10 11.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las etapas de mezclar con agitación la muestra orgánica con la disolución final, obtener la fase acuosa (8) de la mezcla de medida (15), situar la fase acuosa agitada en un receptor y medir la oxidación de la fase acuosa se repiten, transcurrido un tiempo utilizando como muestra orgánica una segunda muestra orgánica semejante a la primera muestra orgánica en la
15 que se ha aplicado temperatura y adición de aire.

12.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que, una vez obtenida la primera disolución, se mantiene a temperatura ambiente en un recipiente en oscuridad.

20

13.- Método según la reivindicación 12, donde la primera disolución (11) se mezcla con un disolvente orgánico (5, 6) antes de añadir el compuesto catalizador (7, 7'), donde la proporción en volumen entre la segunda disolución y el disolvente orgánico está comprendida entre 2:1 y 1:5, particularmente comprendida entre 1:0,9 y 1:1,1.

25

14.- Método según cualquiera de las reivindicaciones 12 o 13, donde el compuesto catalizador es una sal orgánica, como por ejemplo el hexafluorofosfato de tetrabutilamonio o TBAPF₆, a una concentración final comprendida entre 0,1 y 5 mM, particularmente entre 0,9 y 1,1 mM.

30

15.- Método según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que la etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final, se lleva a cabo con una relación volumétrica entre la disolución y la muestra comprendida entre 24:1 y 0,5:1, especialmente entre 1:0,95 y 1:1,05.

35

16.- Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde el compuesto catalizador es un ácido orgánico fuerte, como por ejemplo el ácido metanosulfónico, donde la proporción en volumen entre la segunda disolución y el catalizador está comprendida entre 4:0,25 y 4:3, particularmente comprendida entre 4:0,95 y 4:1,05.

5

17.- Método según la reivindicación 16, en el que la etapa de mezclar la muestra orgánica con la disolución final, se lleva a cabo con una relación volumétrica entre la disolución y la muestra comprendida entre 20:1 y 1,25:1, especialmente entre 4:0,95 y 4:1,05.

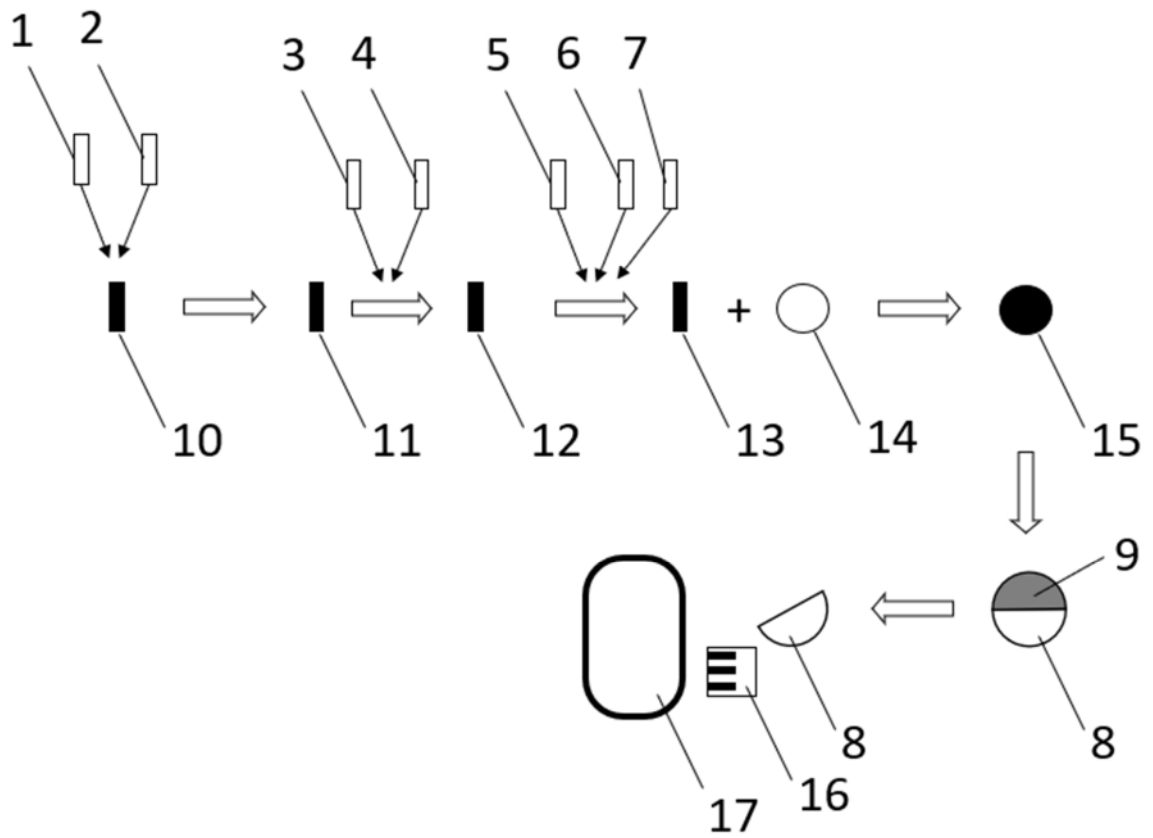


Fig. 1

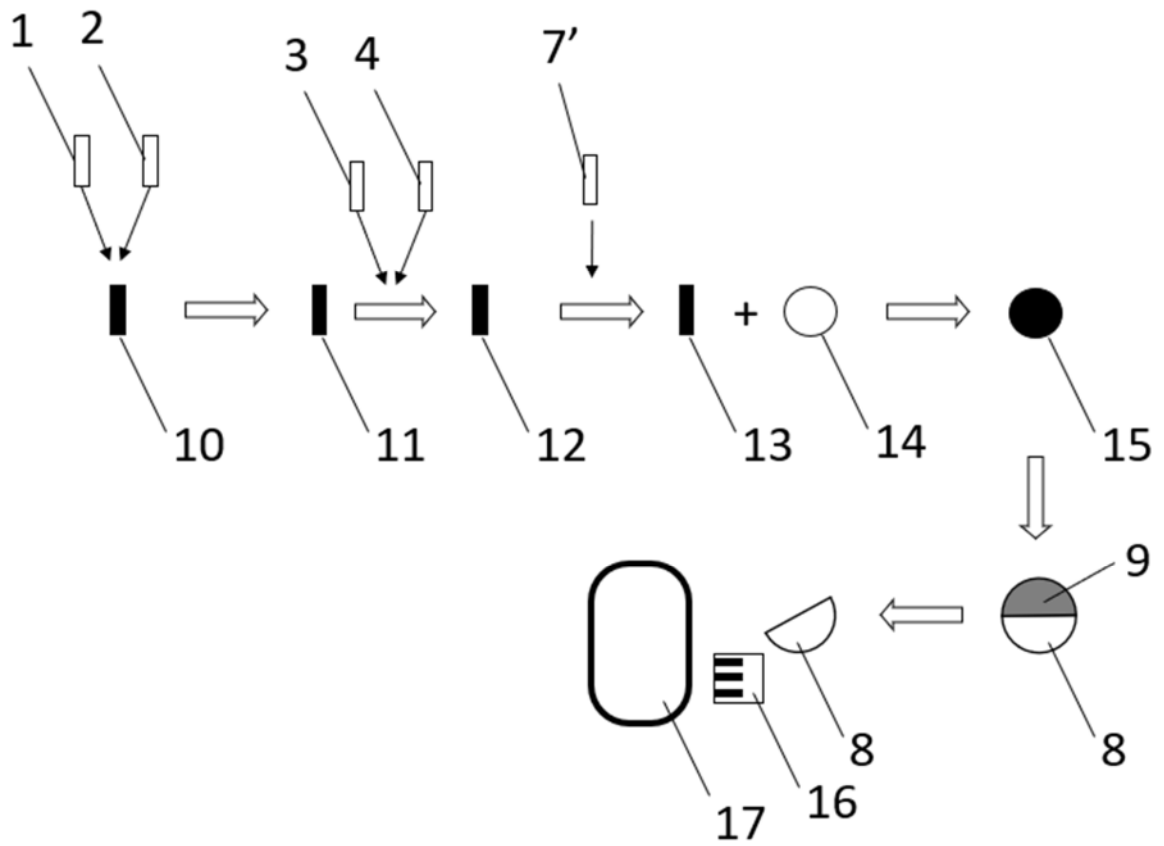


Fig. 2



②① N.º solicitud: 202031029

②② Fecha de presentación de la solicitud: 09.10.2020

②③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N27/48** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	SHABANI, E, et al. "Deep eutectic solvents (DES) as green extraction media for antioxidants electrochemical quantification in extra-virgin olive oils". Talanta, 02/03/2020, Vol. 215, Páginas 1-7, <DOI: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120880 >. Ver resumen; apartados 1 y 2.	1-17
Y	KURTULBAS E et al. "Evaluation of the phenolic antioxidants of olive (Olea europaea) leaf extract obtained by a green approach: Use of reduced graphene oxide for electrochemical analysis". Chemical Engineering Communications 20200702 Taylor and Francis Ltd. gbr. , 02/07/2020, Vol. 207, Páginas 920 - 932, ISSN 0098-6445 (print) ISSN 1563-5201 (electronic), <DOI: doi:10.1080/00986445.2019.1630397>. Ver resumen; apartados 1 y 2.	1-17
Y	GOLDFARD, D. L. "Electrical Conductances of Tetrabutylammonium and Decamethylferrocenium Hexafluorophosphate in Organic Solvents". Journal of Solution Chemistry , 2001, Vol. 30, Páginas 307-322, <DOI: https://doi.org/10.1023/A:1010334021934 >. Ver resumen.	1-17
Y	CN 110441381 A (GUANGZHOU MECHANICAL ENGINEERING RES INSTITUTE CO LTD) 12/11/2019, reivindicaciones 1-8.	1-17
A	TOMPE P et al. "Electrochemical study of the oxidation of carbidopa and its determination using liquid chromatography with electrochemical detection". Analytica Chimica Acta, 19930215 ELSEVIER, AMSTERDAM, NL. Xu Guowang; Wishart David; Li Liang, 15/02/1993, Vol. 273, Páginas 391 - 398, ISSN 0003-2670, <DOI: doi:10.1016/0003-2670(93)80182-K>. Ver resumen; apartado 2.	1-17
A	CN 103808789 A (GUANGXI POWER GRID CO LTD ELECTRIC POWER RES INST et al.) 21/05/2014, reivindicación 1.	1-17

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
30.07.2021

Examinador
N. Martín Laso

Página
1/2

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

G01N

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

INVENES, EPODOC, WPI, TXT-DB, NPL, XPESP, CAS