

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 482 770**

21 Número de solicitud: 201300122

51 Int. Cl.:

**G01N 1/40** (2006.01)

**B01D 11/04** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**31.01.2013**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**04.08.2014**

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD DE CÁDIZ (100.0%)**  
**OTRI-Vicerrectorado de i+d+i C/ Benito Pérez**  
**Galdós, s/n**  
**11002 Cádiz ES**

72 Inventor/es:

**MORENO AGUILAR , Carlos ;**  
**MENDIGUCHIA MARTÍNEZ , Carolina ;**  
**LÓPEZ LÓPEZ , José Antonio ;**  
**PINTO GANFORNINA , Juan José ;**  
**MANUEL DELGADO , M. Victoria y**  
**VERGEL RODRÍGUEZ , Cristina**

54 Título: **Barras trifásicas de microextracción en fase líquida termoselladas para la preconcentración de especies metálicas**

57 Resumen:

Barras trifásicas de microextracción en fase líquida mediante termosellado para la preconcentración de especies metálicas. Se trata de un procedimiento para la preparación de sistemas de barras de microextracción en fase líquida para la preconcentración de especies metálicas. El sistema de preconcentración se basa en el uso de capilares de fibra hueca comerciales en forma de barra que se dejan libres en la disolución. Se dice que el sistema es trifásico ya que la muestra y la disolución acuosa en el interior del capilar se encuentran separadas por una disolución orgánica que impregna los poros del material que constituye la fibra. El procedimiento de preparación de las fibras consiste en llenar su interior con una disolución que permita retener al metal en ella, cuyos extremos sean sellados mediante calentamiento, permitiendo conformar la barra de microextracción que puede ser utilizada como sistema rutinario de preconcentración de especies metálicas.

ES 2 482 770 A1

## DESCRIPCIÓN

### BARRAS TRIFÁSICAS DE MICROEXTRACCIÓN EN FASE LÍQUIDA TERMOSELLADAS PARA LA PRECONCENTRACIÓN DE ESPECIES METÁLICAS.

#### 5 SECTOR DE LA TÉCNICA.

Área Científica: Química Analítica.

Sector de Actividad: Análisis de especiación de metales.

#### ESTADO DE LA TÉCNICA

- 10 El análisis de la concentración de metales en muestras acuosas es de gran interés debido a los efectos que pueden producir tanto desde el punto de vista medioambiental como para la salud. Tanto es así que algunos de ellos son necesarios para la vida a concentraciones muy bajas, aunque son tóxicos a concentraciones superiores, mientras que otros no tienen función biológica salvo la de presentar efectos perjudiciales para los seres vivos incluso a muy bajas concentraciones.

15 Teniendo esto en cuenta, es necesario disponer de sistemas que permitan realizar la determinación de estos metales y sus diferentes fracciones a concentraciones en niveles de  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  o  $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ . La principal dificultad en el análisis de metales en muestras acuosas radica en que debido a la naturaleza de su matriz, en la mayoría de las ocasiones, éstas no pueden ser

20 introducidas directamente en los equipos de análisis instrumental, por los daños que podrían ocasionarles o por las interferencias en la determinación de los analitos de interés. Además debido a las bajas concentraciones que los metales presentan, suelen encontrarse por debajo de los límites de detección de los equipos de análisis y es necesario llevar a cabo una preconcentración de los mismos para poder realizar su determinación.

25 Existen diversas técnicas que permiten realizar la separación y/o preconcentración de los metales en muestras acuosas. Las más habituales son el intercambio iónico, la extracción líquida y la extracción en fase sólida. Sin embargo, puesto que en todos los casos se requieren importantes cantidades de reactivos y disolventes, en las últimas décadas han aparecido sistemas de microextracción en fase líquida y sólida en los que los rendimientos de

30 la preconcentración aumentan considerablemente, estando acompañados por un descenso en el volumen de reactivos empleados. Una de las ventajas que la microextracción líquida

presenta sobre la sólida en el caso de los metales es que éstos no necesitan ser eluidos del soporte sólido antes de la determinación instrumental y, por lo tanto, su separación de la matriz y posterior recuperación puede realizarse de forma simultánea, siempre que se cuente con un sistema de soporte adecuado.

- 5 Este es el caso de la microextracción líquida mediante el uso de capilares de fibra hueca como soporte [1]. Los capilares de fibra hueca están comercialmente disponibles (Membrana GmbH) y se fabrican en material polimérico poroso con un diámetro interno del orden de unas pocas micras. Estas fibras pueden utilizarse en varias configuraciones, siendo habitual para la separación y/o preconcentración de metales la configuración en tres fases [2]. De esta  
10 forma se puede localizar la muestra en el exterior de la fibra, unos pocos microlitros de disolución receptora en su interior y finalmente una disolución orgánica, que contenga un ligando que transporte al metal desde la muestra hasta la disolución receptora, en sus poros.

- A pesar de su potencial, los sistemas trifásicos de microextracción líquida basados en fibras huecas no se aplican de forma rutinaria en los laboratorios de análisis de metales, puesto que  
15 no existen procedimientos sencillos para su preparación, requieren de instrumentación específica [3], presentan problemas de estabilidad física [4] y no son fácilmente transportables, ya que necesitan de un soporte para poder ser aplicados [5].

- Se han descrito procedimientos en los que las fibras son preparadas mediante el uso de bombas peristálticas [3], en los que la fibra debe estar permanentemente conectada al resto  
20 del sistema, lo que supone un coste elevado para su aplicación rutinaria. Otros procedimientos en los que se evita el uso de bombas peristálticas consisten en emplear jeringas para llenar las fibras con la disolución receptora, siendo la diferencia entre ellos el modo de sostener la fibra en la muestra. El primer modo consiste en cerrar los extremos con papel de aluminio [4], lo que presenta problemas de estanqueidad en el cierre de los  
25 extremos y una potencial contaminación de las muestras debida a la presencia de aluminio. En el segundo modo se aplica como soporte la misma jeringa que se utiliza para llenar la fibra y que requiere un sistema de sujeción adicional para la jeringa [5]; además, este modo de trabajar puede presentar inestabilidad en la unión fibra-jeringa, provocando la caída de la fibra abierta en la muestra.

- 30 Una nueva configuración de fibra en tres fases, que permite minimizar los problemas anteriormente enumerados, consiste en tomar una longitud determinada de la misma y cerrarla por ambos extremos, de forma que se obtenga una barra de microextracción. Estos

sistemas de barra de microextracción han sido utilizados en configuración de dos fases, para reextraer metales que se encuentran en disoluciones orgánicas, tras la correspondiente extracción desde una muestra acuosa a la disolución orgánica, resultando en un proceso en dos etapas [6]. Sin embargo, no existen precedentes de la aplicación de sistemas de barra de microextracción líquida con capilares de fibra hueca en tres fases, lo que permite realizar de forma simultánea, en un solo paso, la extracción desde la muestra hasta la disolución receptora, a través de la disolución orgánica contenida en los poros.

### Referencias empleadas

- 10 [1] S. Pedersen-Bjergaard, K.E. Rasmussen, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2650
- [2] F. Pena-Pereira, I. Lavilla, C. Bendicho, *Trac-Trend Anal. Chem.* 29 (2010) 617
- [3] N. Parthasarathy, J. Buffle, *Anal. Chim. Acta* 284 (1994) 649
- [4] A.N. Bautista-Flores, E. Rodríguez, J. de Gyves, J.A. Jönsson, *J. Membr. Sci.* 363 (2010) 180
- 15 [5] C. Vergel, R. Montoya, C. Mendiguchía, M. García-Vargas, C. Moreno, *Anal. Bioanal. Chem.*, 404 (2012) 665-670
- [6] A. Sarafaz-Yazdi, F. Mofazzeli, Z. E'hangi, *Talanta* 79 (2009) 472

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION.

- 20 Como se ha comentado con anterioridad, el principal motivo de que los capilares de fibra hueca, en configuración de tres fases, para la preconcentración y/o separación de metales, no sean una herramienta rutinaria para la preparación de muestras en el laboratorio está asociado a que no existen procedimientos sencillos y a la vez robustos para su preparación. Las principales causas de esta situación son: la necesidad de contar con instrumentación
- 25 específica para su llenado con la disolución receptora, las pérdidas que se producen por falta de estanqueidad en las conexiones y, sobre todo, la necesidad de un soporte o sostén que hace que las fibras una vez preparadas no sean fácilmente transportables, lo que entre otras cosas no permite su distribución comercial.

La invención que se plantea en la presente memoria, como solución a estos problemas, consiste en una nueva forma de preparar las fibras en tres fases permitiendo la conformación de barras trifásicas de microextracción líquida (Figura 1).

Las barras se configuran cortando una longitud definida de fibra, por lo que se obtendría un tubo capilar (Figura 2). La primera etapa de la operación consistiría en cerrar uno de los  
5 extremos del tubo mediante termosellado, para a continuación llenar la fibra con la disolución receptora (fase 1) (utilizando una jeringa o pipeta). Una vez que la fibra ha sido llenada se puede cerrar el otro extremo del tubo mediante termosellado para obtener la forma de barra. En este momento es necesario que los poros en la pared de la barra de  
10 microextracción se impregnen con la disolución orgánica que contiene al transportador (fase 2) que va a permitir poner en contacto la muestra y la disolución receptora, así como el paso de la especie metálica que se va a transportar (en función de la naturaleza del transportador y las características de la muestra). Cuando los poros de la barra de microextracción están impregnados se introduce ésta en agua ultrapura para eliminar el exceso de disolución  
15 orgánica sobre la fibra. Finalmente se puede dejar la barra libre en el recipiente que contiene la muestra (fase 3) en agitación hasta que finalice el transporte del metal hasta la disolución receptora. Por último, sólo hay que extraer la gota del interior de la fibra y realizar el análisis de la misma en el equipo de análisis instrumental correspondiente.

El hecho de termosellar los extremos de la fibra permite minimizar las pérdidas de  
20 disolución receptora que puedan ocurrir por sus extremos. Además, no es necesario conectar la fibra a dispositivos como bombas peristálticas para su llenado, simplemente se requiere de una pipeta o jeringa. Sin embargo, la mayor ventaja que presentan es su portabilidad, y es que una vez conformada la barra, ésta es estable en la disolución orgánica conteniendo al transportador durante periodos de tiempo prolongados. Por lo tanto, en un tubo de ensayo  
25 con tapón de rosca, que contenga la disolución orgánica, se puede colocar un número determinado de barras ya conformadas que pueden enviarse a modo de kit a otros laboratorios sin necesidad de instrumentación adicional. Esto hace que las barras trifásicas de microextracción sean una alternativa de uso rutinario para las metodologías basadas en capilares de fibra hueca con configuración en tres fases, destinadas a la especiación de  
30 metales.

**DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DE LAS FIGURAS**

**Figura 1:** Se muestran las tres fases, distinguiéndose:

- A.- Fase 1: Disolución receptora.
- B.- Fase 2: Disolución orgánica.
- 5 C.- Fase 3: Muestra.

**Figura 2:** Se muestran las distintas etapas para la elaboración de las barras trifásicas.

**Fig. 2.1.-** Corte de la fibra al tamaño adecuado. Se distingue:

- a.- Fibra hueca cortada al tamaño adecuado.

10 **Fig. 2.2.-** Sellado por calentamiento de uno de los extremos de la fibra. Se distingue:

- a.- Fibra hueca cortada al tamaño adecuado.
- b.- Termosellador

**Fig. 2.3.-** Llenado del interior de la fibra con la disolución receptora. Se distingue:

- a.- Fibra hueca cortada al tamaño adecuado.
- 15 c.- Pipeta o jeringa

**Fig. 2.4.-** Sellado por calentamiento del segundo extremo de la fibra. Se distingue:

- a.- Fibra hueca cortada al tamaño adecuado.
- b.- Termosellador

**Fig. 2.5.-** Impregnación de la fibra con la disolución orgánica en un tubo de ensayo.

20 Se distingue:

- a.- Fibra hueca cortada al tamaño adecuado.
- d.- Disolución orgánica.

**Fig. 2.6.-** Eliminación de excesos de disolución orgánica con agua ultrapura en un tubo de ensayo. Se distingue:

- 25 a.- Fibra hueca cortada al tamaño adecuado.
- e.- Agua ultrapura.

### **MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION**

La elaboración de las barras trifásicas de microextracción objeto de esta invención comprende las siguientes etapas:

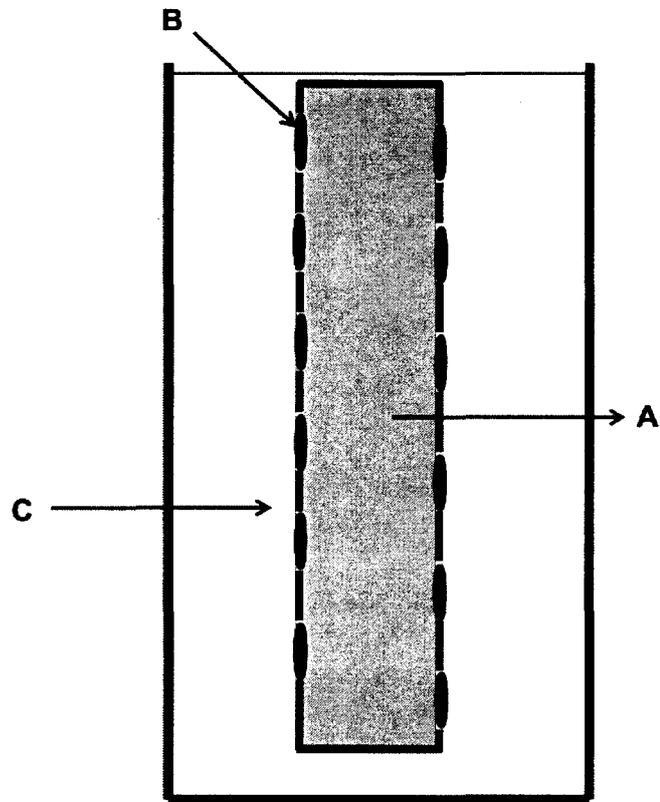
1. Cortar la longitud de fibra necesaria para contener el volumen interno requerido.
- 5 2. Cierre de uno de los extremos del tubo mediante termosellado.
3. Utilizando una pipeta, llenar el interior de la fibra con la disolución receptora.
4. Al igual que en el paso 2, sellar el extremo abierto de la fibra, para conseguir la conformación de la barra.
5. Colocar la fibra durante 5 minutos en el interior de un tubo de ensayo lleno de la disolución orgánica que contiene el transportador.
- 10 6. Colocar la barra impregnada en un recipiente con agua ultrapura para eliminar excesos de disolución orgánica.

Una vez conformadas las barras pueden conservarse en la disolución orgánica conteniendo al transportador durante periodos de tiempo prolongados.

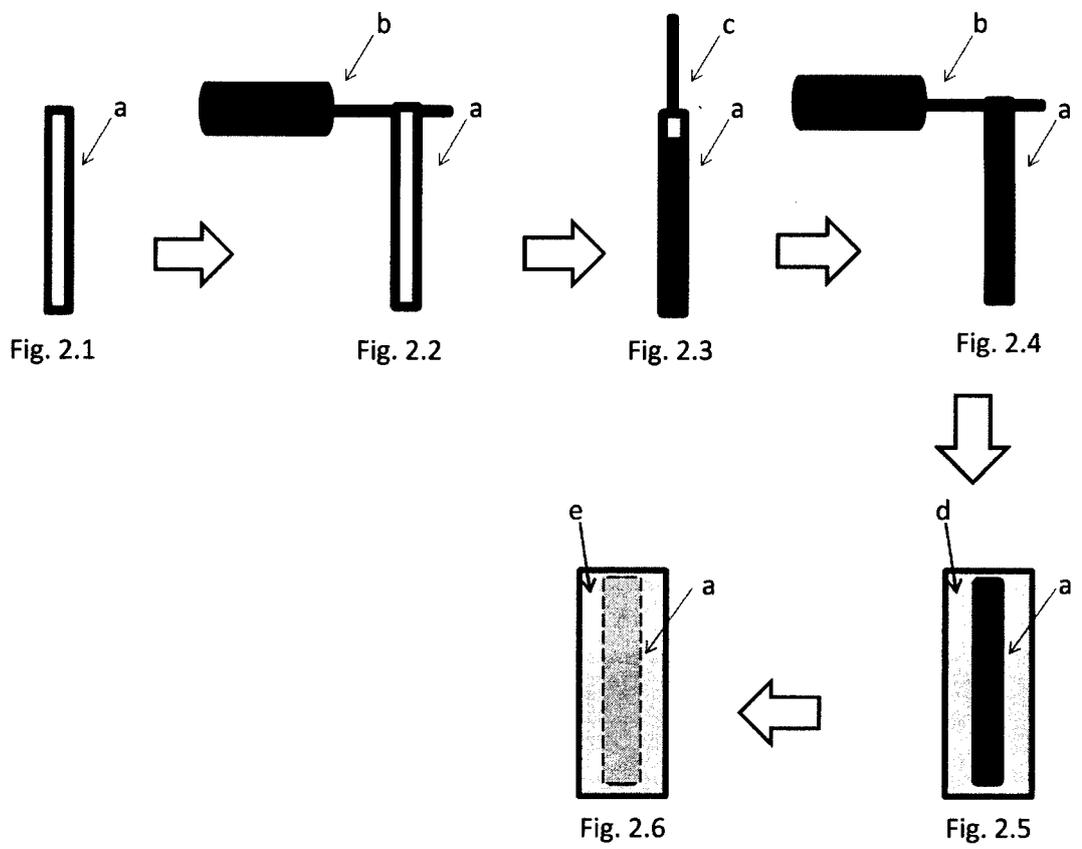
- 15 La portabilidad de la barra conformada mediante el procedimiento anterior, permite su empleo simplemente depositándola en el recipiente que contiene la muestra, dejándola libre en la misma durante el tiempo de experimento.

**REIVINDICACIONES**

1. Procedimiento para la elaboración de barras trifásicas de microextracción líquida, caracterizado porque comprende las siguientes etapas:
  - 5 a. Corte de un tubo capilar a la longitud necesaria para contener el volumen interno requerido.
  - b. Cierre de uno de los extremos del tubo mediante termosellado.
  - c. Llenado del interior del tubo con la disolución receptora, empleando una pipeta.
  - d. Cierre mediante termosellado del segundo extremo para conformar la barra.
  - 10 e. Impregnación de los poros con la disolución orgánica que contiene el transportador.
  - f. Eliminar el exceso de disolución orgánica de la barra, colocándola en un recipiente con agua ultrapura.
- 15 2. Barras trifásicas de microextracción en fase líquida obtenidas mediante el procedimiento descrito en la reivindicación 1.
3. Uso de barra trifásica de microextracción en fase líquida, obtenida mediante el procedimiento descrito en la reivindicación 1, para la preconcentración de especies  
20 metálicas.
4. Procedimiento de microextracción en fase líquida de especies metálicas que consiste en depositar una barra trifásica, obtenida según el procedimiento descrito en la reivindicación 2, en un recipiente que contiene la muestra a analizar y dejarla libre  
25 durante el tiempo de experimento.



**Fig. 1**



**Fig. 2**



②① N.º solicitud: 201300122

②② Fecha de presentación de la solicitud: 31.01.2013

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N1/40** (2006.01)  
**B01D11/04** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	VERGEL, C. et al. "Microextracción en fase líquida con membranas capilares de fibra hueca: una alternativa verde para el análisis de elementos traza". Boletín Graseqa, 2012, Nº 3, páginas 12-20. Ver Resumen; Apartado 2.1. y Apartado 3.2.	1-4
X	SARAFRAZ-YAZDI, A. et al. "A new high-speed hollow fiber based liquid phase microextraction method using volatile organic solvent for determination of aromatic amines in environmental water samples prior to high-performance liquid chromatography". Talanta, 2009, Vol. 79, páginas 472-478. Ver Resumen; Figura 1; Apartado 2.4.	1,2
A	PENA-PEREIRA, F. et al. "Liquid-phase microextraction techniques within the framework of green chemistry". Trends in Analytical Chemistry, 2010, Vol. 29, Nº 7, páginas 617-627. Ver Resumen; página 622, columna 1, párrafo 3; Figura 3.	1-4
A	HAI-YANG, X. et al. "Green analytical methodologies combining liquid-phase microextraction with capillary electrophoresis". Trends in Analytical Chemistry, 2010, Vol. 29, Nº 7, páginas 629-635. Ver Resumen; Apartado 2.1.	1-4
A	KNUT, E. R. et al. "Developments in hollow fibre-based, liquid-phase microextraction". Trends in Analytical Chemistry, 2004, Vol. 23, Nº 1, páginas 1-10. Ver Resumen; Apartado 3).	1-4
A	CN 102049150 A (UNIV TIANJIN POLYTECHNIC) 29.10.2009, (Resumen) World Patent Index [en línea]. Londres (Reino Unido) Thomson Publications, LTD. [Recuperado el 12.08.2013] DW201143, Nº de acceso 2011-G63675.	1-4

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  
16.09.2013

Examinador  
N. Martín Laso

Página  
1/4

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

G01N, B01D

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, NPL, XPESP, CAS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 23.08.2013

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-4	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-4	<b>NO</b>

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

**Base de la Opinión.-**

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

**1. Documentos considerados.-**

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	VERGEL, C. et al. "Microextracción en fase líquida con membranas capilares de fibra hueca: una alternativa verde para el análisis de elementos traza". Boletín Graseqa, 2012, Nº 3, páginas 12-20.	16.11.2012
D02	SARAFRAZ-YAZDI, A. et al. "A new high-speed hollow fiber based liquid phase microextraction method using volatile organic solvent for determination of aromatic amines in environmental water samples prior to high-performance liquid chromatography". Talanta, 2009, Vol. 79, páginas 472-478.	16.04.2009

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

La solicitud se refiere a un procedimiento para la elaboración de barras trifásicas de microextracción líquida, a barras trifásicas obtenidas mediante dicho procedimiento, al uso de dichas barras para la preconcentración de especies metálicas y a un procedimiento de microextracción en fase líquida en el que se utilizan dichas barras.

El documento D01 divulga barras de microextracción líquida preparadas mediante llenado de un capilar con una disolución receptora y sellado por sus dos extremos. Dichas barras son utilizadas para la concentración de analitos al ser introducidas en una solución acuosa que lo contiene. Pueden ser utilizadas en sistemas bifásicos o trifásicos de microextracción líquida. En los sistemas trifásicos los poros de la barra se impregnan de una solución orgánica antes de ser introducidas en la solución acuosa. Dichas barras han sido utilizadas para el análisis de compuestos inorgánicos, como metales traza (Resumen; Apartado 2.1. y Apartado 3.2.).

La invención definida en las reivindicaciones 1-4 se encuentra recogida en el documento D01, careciendo por tanto de novedad (Art. 6.1 LP 11/1986).

El documento D02 divulga barras trifásicas para llevar a cabo procesos de microextracción líquida para la determinación de compuestos aromáticos en aguas naturales. Dichas barras se preparan rellenando un capilar con una fase receptora y sellando sus dos extremos, posteriormente se ponen en contacto con un disolvente orgánico que impregna la barra y que está en contacto a su vez con la solución que contiene el analito para llevar a cabo la microextracción de dicho compuesto (Resumen; Figura 1; Apartado 2.4.).

La invención definida en las reivindicaciones 1 y 2 de la solicitud carece de novedad al encontrarse recogida en el documento D02 (Art. 6.1 LP 11/1986).