

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 568**

21 Número de solicitud: 201431374

51 Int. Cl.:

**G01N 30/00** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**22.09.2014**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**23.03.2016**

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)  
C/ Serrano, 117  
28006 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**GARCÍA GONZÁLEZ, Diego Luis;  
APARICIO LÓPEZ, Ramón y  
OLIVER POZO, Celia**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

54 Título: **Método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico y dispositivo asociado**

57 Resumen:

Método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico y dispositivo asociado.

La presente invención se refiere a un método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida que presenta una alta capacidad de adsorción, unos buenos factores de recuperación y además puede aplicarse a numerosos compuestos volátiles, debido a una etapa de aplicación continua de un flujo de gas portador sobre el espacio de cabeza de un vial cerrado donde se encuentra la muestra a analizar para liberar los compuestos volátiles de la muestra, así como al dispositivo asociado.

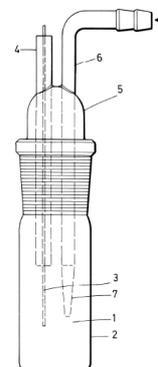


FIG.1

**MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES MEDIANTE  
MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA EN MODO DINÁMICO Y DISPOSITIVO  
ASOCIADO**

5

**DESCRIPCIÓN**

**OBJETO DE LA INVENCION**

10 La presente invención se refiere a un método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico y al dispositivo asociado.

15 El método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico de la presente invención muestra una alta capacidad de adsorción de los compuestos volátiles a la fibra de extracción, buenos factores de recuperación y además puede aplicarse a la determinación de numerosos compuestos volátiles.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

20 Una de las técnicas de pre-concentración de analitos más usadas en la actualidad es la microextracción en fase sólida (SPME, siglas en inglés de “solid phase micro-extraction”). Es un método estático que no requiere largos tiempos de muestreo para obtener una muestra representativa, es rápido, económico y versátil, y está extendido a aplicaciones en diversos campos, como medio ambiente, agricultura, alimentación e  
25 industria farmacéutica entre otros.

30 El procedimiento para la extracción estática de compuestos volátiles de una muestra consiste en la acumulación de los analitos, una vez alcanzado el equilibrio, que están presentes en el espacio de cabeza cerrado de la muestra (HS-SPME, siglas en inglés de “head space solid phase micro-extraction”), en un adsorbente polimérico de extracción o fibra que recubre una aguja, y la posterior desorción térmica en un inyector cromatográfico.

35 Sin embargo, el método SPME estático presenta inconvenientes como la saturación de la fibra de adsorción debido al equilibrio entre las fases. Por lo tanto se produce una

baja adsorción de los analitos con baja presión de vapor así como de los analitos más pesados, siendo la repetibilidad y la recuperación baja para estos compuestos.

5 Una alternativa a este sistema estático, consiste en un sistema dinámico de muestreo, siendo la pre-concentración de volátiles en trampa de Tenax un ejemplo de ello. En este caso, una corriente de N<sub>2</sub> arrastra los volátiles que quedan adsorbidos en la trampa de Tenax a temperatura ambiente. La desorción tiene lugar térmicamente en el inyector de una trampa fría donde se desorben previamente los volátiles a alta temperatura, para ser condensados, a continuación, a baja temperatura (-110°C) debido al N<sub>2</sub> líquido. Esta trampa presenta importantes inconvenientes, al implicar un procedimiento tedioso, caro y con baja sensibilidad a algunos compuestos ácidos.

15 La presente invención describe un método para el análisis de compuestos volátiles y el dispositivo asociado que solventa los inconvenientes de los métodos estáticos y del método dinámico con TENAX del estado de la técnica.

## **DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

20 La presente invención se refiere a un método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico. La determinación de los compuestos volátiles se lleva a cabo a través de un procedimiento dinámico de muestreo que incrementa la recuperación de compuestos volátiles.

25 El método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico comprende:

- una etapa de introducción de una muestra en un vial para analizar los compuestos volátiles del espacio de cabeza del vial,
- una etapa de aplicación continua de un flujo de gas portador sobre el espacio de cabeza del vial donde se encuentran los compuestos volátiles de la muestra a analizar para direccionarlos hacia una fibra de extracción,
- una etapa de inserción de la fibra de extracción en un tubo capilar en contacto con el espacio de cabeza de la muestra a analizar, de manera que los compuestos volátiles direccionados por el gas portador se ponen en contacto la fibra y se adsorben a ella, y
- una etapa de desorción de los compuestos volátiles adsorbidos por la fibra en

la etapa anterior.

De esta manera, la liberación y extracción de los volátiles se realiza en el espacio de cabeza de la muestra, donde el método presenta una alta concentración de compuestos volátiles permitiendo una buena capacidad de adsorción, buenos factores de recuperación y se puede aplicar a un gran número de compuestos volátiles. Además, la fibra no se satura fácilmente como ocurre en el modo estático, mejorando la adsorción de los compuestos volátiles pesados y de baja presión de vapor, así como la repetibilidad en el análisis de los compuestos volátiles.

10

Preferentemente, el flujo de gas portador atraviesa la fibra en la misma dirección y sentido opuesto a la exposición de la fibra dentro del vial, por el que el barrido de los compuestos volátiles del espacio de cabeza de la muestra tiene que pasar forzosamente por la fibra.

15

El método de la presente invención es aplicable a cualquier tipo de muestra, tanto en estado sólido como líquido, cuyas matrices sean complejas y cuya composición del aroma sea de interés como puede ser el aceite y el vino o los productos alimentarios en general.

20

La invención también se refiere al dispositivo asociado al método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico, donde el dispositivo comprende un vial para la introducción de una muestra que a su vez comprende un espacio de cabeza donde se analizan los compuestos volátiles liberados de la muestra, y un cabezal acoplable al vial para el cierre de dicho vial, donde el cabezal comprende un tubo capilar que a su vez comprende una fibra de extracción insertable en dicho tubo capilar y un tubo de entrada de un gas portador, donde tanto el tubo capilar como el tubo de entrada del gas portador atraviesan el cabezal.

30

Preferentemente, la unión entre el cabezal y el vial se encuentra sellada, donde más preferentemente, esta unión sellada se lleva a cabo mediante un cierre esmerilado.

## **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

35

La Figura 1 muestra una vista en alzado del dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida de la presente invención.

5 La Figura 2 muestra una vista en alzado del cabezal del dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida de la presente invención.

10 La Figura 3 muestra una vista en alzado del vial del dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida de la presente invención.

### **REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION**

15 Según una descripción detallada de la invención, el método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida comprende:

- una etapa de introducción de una muestra en un vial (2) para analizar los compuestos volátiles del espacio de cabeza (1) del vial (2) cerrado,
- una etapa de aplicación continua de un flujo de gas portador, preferentemente un gas inerte, sobre el espacio de cabeza (1) del vial (2) cerrado donde se encuentran los compuestos volátiles de la muestra a analizar para direccionarlos hacia una fibra (3) de extracción,
- una etapa, simultánea a la etapa de aplicación continua del flujo de gas portador, de inserción de una fibra (3) en un tubo capilar (4) en contacto con la muestra a analizar, de manera que los compuestos volátiles direccionados por el gas portador se ponen en contacto con la fibra (3) y se adsorben a ella, y
- una etapa de desorción de los compuestos volátiles adsorbidos por la fibra (3) en la etapa anterior.

20 De esta manera, el método permite que los compuestos volátiles estén continuamente liberándose de la muestra a analizar y saliendo al exterior del vial por la fibra (3) del tubo capilar (4).

35 El método comprende además una etapa de agitación de la muestra para analizar los compuestos volátiles del espacio de cabeza (1) del vial (2) que facilita la liberación de volátiles por parte de la muestra a analizar así como la homogeneización de los

compuestos volátiles que se generan en el espacio de cabeza (1) del vial (2).

Además, el método comprende una etapa de termostatación del vial (2) en la etapa de introducción de la muestra para analizar los compuestos volátiles, de manera que tanto la muestra como el espacio de cabeza (1) están a la misma temperatura, evitando corrientes de convección debidas a las diferencias de temperatura que dificultan la liberación de algunos compuestos volátiles.

Preferentemente, la etapa de aplicación continua de un flujo de gas portador sobre el espacio de cabeza (1) del vial (2) cerrado donde se encuentra la muestra a analizar, se lleva a cabo controlando la presión del flujo de gas portador, preferentemente mediante un manómetro, de manera que el control del flujo contribuye a una buena repetibilidad del método.

El dispositivo asociado al método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida comprende un vial (2) cerrado que a su vez comprende un espacio de cabeza (1) para la introducción de una muestra y un cabezal (5) acoplable al vial (2) cerrado para el cierre de dicho vial (2), donde el cabezal (5) comprende un tubo capilar (4) que a su vez comprende una fibra (3) insertable en dicho tubo capilar (4), y un tubo de entrada (6) de un gas portador, donde tanto el tubo capilar (4) como el tubo de entrada (6) del gas portador atraviesan el cabezal (5).

El dispositivo comprende además una camisa de metal (no mostrada) que calienta el conjunto cabezal (5)-vial (2), lo que proporciona una presión de vapor óptima para que se liberen todos los compuestos volátiles. Esto evita la condensación de los compuestos volátiles que se podrían producir por las diferencias de temperatura generando corrientes de convección. Si la temperatura en el espacio de cabeza (1) y la temperatura de la muestra a analizar fueran muy diferentes, algunos compuestos volátiles liberados de la muestra podrían volver a la misma sin ser arrastrados por la fibra (3)

#### EJEMPLO

El cabezal (5) es atravesado por un tubo capilar (4) con un diámetro interno de 0,75 mm y por un tubo de entrada (6) del gas portador con un diámetro interno de 3,4 mm

que comprende un extremo pico pato (7) acabado en punta, donde el diámetro interno se estrecha hasta 1 mm. El cabezal (5) se acopla con un cierre esmerilado (8) al vial (2) que presenta un diámetro interno de 24 mm.

5 El dispositivo comprende además un soporte que permite introducir la fibra (3) en el espacio de cabeza (1) o retraerla al interior del tubo capilar (4). El diámetro externo del tubo capilar (4), es de 0,6 mm teniendo la fibra de extracción un diámetro externo de 0,5 mm. Debido a que el diámetro interno del tubo capilar (4) es 0,75 mm, se asegura que los compuestos volátiles liberados de la muestra a analizar hacia el exterior del  
10 dispositivo, circulen muy próximos a la fibra (3). De esta manera, se facilita el contacto entre la fibra (3) y los compuestos volátiles favoreciéndose así su adsorción. Se trata de una relación diámetro interno del tubo capilar (4)-diámetro externo de la fibra (3) optimizada para permitir la salida de los compuestos volátiles, asegurando que el método sea dinámico y la circulación de estos compuestos volátiles muy próximos a la  
15 fibra (3).

La muestra depositada en el vial (2) puede quedar por debajo de la punta del tubo de entrada (6) del gas portador, o sin embargo, puede sobrepasar este límite permitiendo el borboteo de la muestra en caso de que ésta sea líquida. Este borboteo favorece la  
20 liberación de los compuestos volátiles contenidos en la muestra y por lo tanto, mejora la extracción que se produce por parte de la fibra (3) de SPME cuando se expone al espacio de cabeza (1) del vial (2).

## **REIVINDICACIONES**

1.- Método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico caracterizado por que comprende:

- 5       • una etapa de introducción de una muestra en un vial (1) para analizar los compuestos volátiles del espacio de cabeza (1) del vial (2),
- una etapa de aplicación continua de un flujo de gas portador sobre el espacio de cabeza (1) del vial (2) donde se encuentran los compuestos volátiles de la muestra a analizar para direccionarlos hacia una fibra (3) de extracción,
- 10      • una etapa de inserción de la fibra (3) de extracción en un tubo capilar (4) en contacto con el espacio de cabeza de la muestra a analizar, de manera que los compuestos volátiles direccionados por el gas portador se ponen en contacto con la fibra (3) y se adsorben a ella, y
- una etapa de desorción de los compuestos volátiles adsorbidos por la fibra (3)
- 15      en la etapa anterior.

2.- Método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico según reivindicación 1 caracterizado por que comprende además una etapa de agitación de la muestra para analizar los compuestos volátiles

20      del espacio de cabeza (1) del vial (2).

3.- Método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado por que comprende además una etapa de termostatación del vial (2)

25      en la etapa de introducción de la muestra en el vial (2) para analizar los compuestos volátiles donde tanto la muestra como el espacio de cabeza (1) están a la misma temperatura.

4.- Método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado por que la etapa de aplicación continua de un flujo de gas portador sobre el espacio de cabeza (1) del vial (2) donde se encuentran los compuestos volátiles de la muestra a analizar se lleva a cabo controlando la presión del flujo de gas portador.

30

5.- Método para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores caracterizado por que el flujo de gas portador atraviesa la fibra (3) en la misma dirección y sentido opuesto a la exposición de la fibra (3) dentro del vial (2).

5

6.- Dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico caracterizado por que comprende:

- un vial (2) para la introducción de una muestra que a su vez comprende:
  - un espacio de cabeza (1) donde se analizan los compuestos volátiles liberados de la muestra, y
- un cabezal (5) acoplable al vial (2) para el cierre de dicho vial (2), donde el cabezal (5) comprende:
  - un tubo capilar (4) que a su vez comprende una fibra (3) de extracción insertable en dicho tubo capilar (4), y
  - un tubo de entrada (6) de un gas portador,

10

15

donde tanto el tubo capilar (4) como el tubo de entrada (6) del gas portador atraviesan el cabezal (5).

7.- Dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico según reivindicación 6 caracterizado por que comprende además una camisa de metal para calentar el conjunto cabezal (5)-vial (2).

20

8.- Dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico según cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7 caracterizado por que el cabezal (5) se acopla con cierre esmerilado al vial (2).

25

9.- Dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8 caracterizado por que comprende un soporte para la introducción de la fibra (3) en el espacio de cabeza (1) o para la retracción de la misma (3) al interior del tubo capilar (4).

30

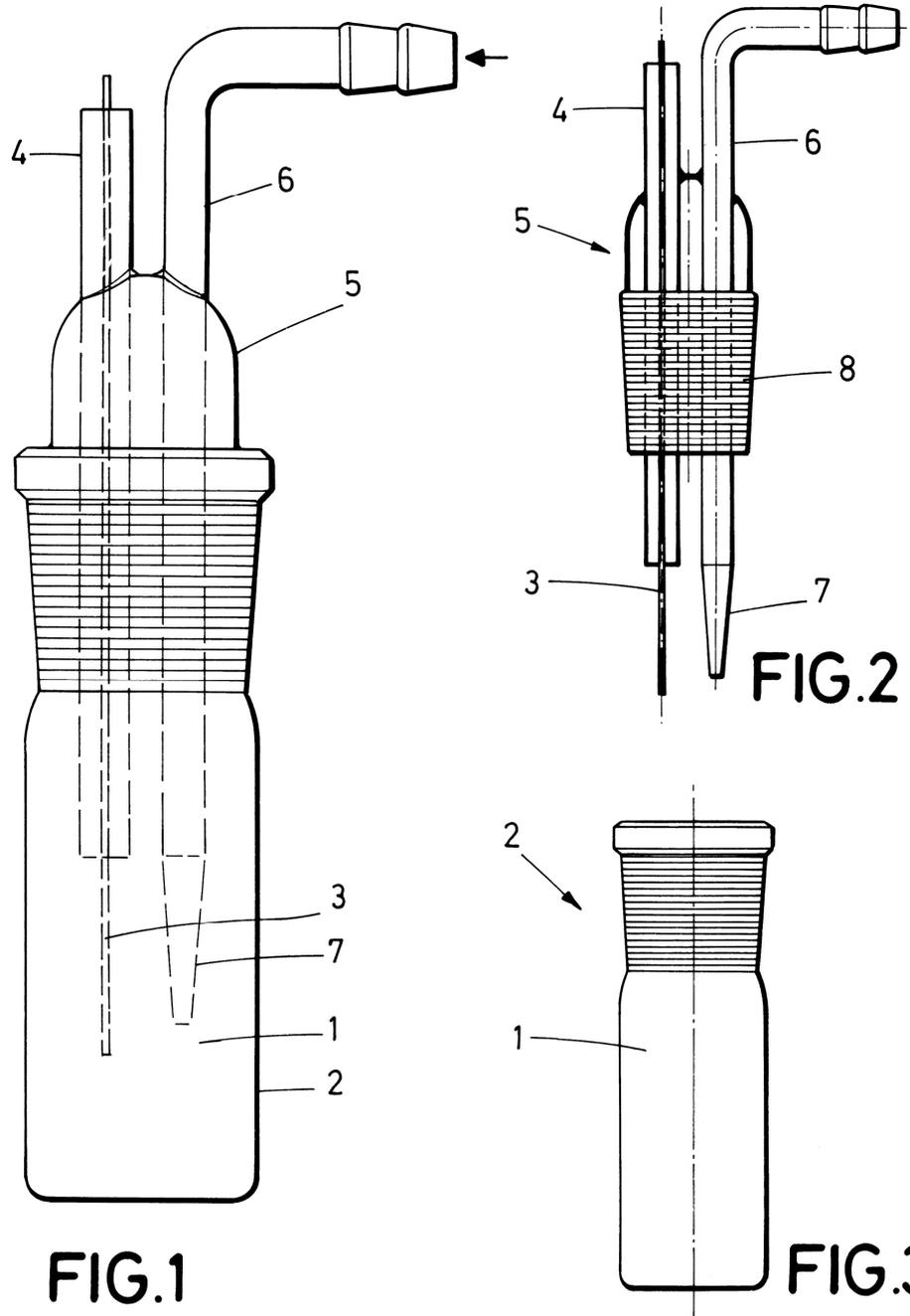


FIG.1

FIG.2

FIG.3



- ②① N.º solicitud: 201431374  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 22.09.2014  
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N30/00** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	NERÍN, C., et al. Critical review on recent developments in solventless techniques for extraction of analytes. Analytical and bioanalytical chemistry, 2009, vol. 393, no 3, p. 809-833; apartado "Solid-phase microextraction (SPME)", Fig.1.	1-9
X	SIEG, Karsten; FRIES, Elke; PÜTTMANN, Wilhelm. Analysis of benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes and n-aldehydes in melted snow water via solid-phase dynamic extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2008, vol. 1178, no 1, p. 178-186; todo el documento.	1-9
X	GONÇALVES, João L., et al. A powerful methodological approach combining headspace solid phase microextraction, mass spectrometry and multivariate analysis for profiling the volatile metabolomic pattern of beer starting raw materials. Food chemistry, 25.03.2014 [online], vol. 160, p. 266-280; apartado 2.	1-3
X	RODRIGUES, F.; CALDEIRA, M.; CAMARA, J. S. Development of a dynamic headspace solid-phase microextraction procedure coupled to GC-qMSD for evaluation the chemical profile in alcoholic beverages. Analytica chimica acta, 2008, vol. 609, no 1, p. 82-104; apartado 2.3.	1-3

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  
28.01.2016

Examinador  
V. Balmaseda Valencia

Página  
1/4

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, XPESP, NPL

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 28.01.2016

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-9	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-9	<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	NERÍN, C., et al. Analytical and bioanalytical chemistry, 2009, vol. 393, nº 3, p. 809-833.	2009
D02	SIEG, Karsten; FRIES, Elke; PÜTTMANN, Wilhelm. Journal of Chromatography A, 2008, vol. 1178, nº1, p. 178-186.	2008
D03	GONÇALVES, João L., et al Food chemistry, vol. 160, p. 266-280.	25.03.2014 [online]
D04	RODRIGUES, F.; CALDEIRA, M.; CAMARA, J. S. Analytica chimica acta, vol. 609, nº 1, p. 82-104.	2008

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

El objeto de la presente invención es un método de análisis de compuesto volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico y un dispositivo para el análisis de compuestos volátiles mediante dicho método.

El documento D01, relativo a los distintos avances en técnicas de extracción de analitos en ausencia de disolventes, describe métodos de análisis de compuesto volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico que comprende la inserción de una fibra recubierta en un capilar, su exposición a una corriente gaseosa conteniendo los analitos y la desorción térmica de los mismos. Así mismo, la agitación de la muestra, el aumento de temperatura y la modificación presión de flujo del gas portador aumentan el proceso de transferencia de masa.

Por otro lado, el dispositivo utilizado en dicho análisis comprende un espacio de cabeza, un cabezal acoplable al vial donde el cabezal comprende un tubo capilar con la fibra de extracción y un tubo de entrada del gas portador; (apartado "Solid-phase microextraction (SPME)", Fig.1).

En el documento D02 se estudia el análisis del benceno, tolueno, etilbenceno, xilenos y n-aldehídos en el agua de nieve derretida mediante un método microextracción en fase sólida en modo dinámico. Dicho método, comprende la introducción de la muestra la introducción del material adsorbente (PDMS/AC) en la aguja y la extracción de los analitos. La sensibilidad del método se aumenta a través de distintos parámetros, tales como, la temperatura, el volumen y el flujo de extracción, así como la temperatura, el volumen y el flujo de desorción.

A su vez, el dispositivo para llevar acabo dicho análisis comprende un espacio de cabeza, un cabezal acoplable al vial donde el cabezal comprende un tubo capilar con la fibra de extracción, un tubo de entrada del gas portador medios para la agitación de la muestra y medios para calentar el conjunto; todo el documento.

En el documento D03, se desarrolla un procedimiento de microextracción en fase sólida en modo dinámico acoplado a un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas de cuadrupolo para el análisis de los compuestos volátiles en bebidas alcohólicas. Dicho procedimiento comprende la introducción de la muestra en el espacio de cabeza, la aplicación de un flujo de gas, la inserción de la fibra de extracción en el tubo capilar y una etapa de desorción de los compuestos adsorbidos en la fibra. El procedimiento contempla la agitación de la muestra y el control de la temperatura durante todo su desarrollo (apartado 2).

El documento D04 divulga un método de análisis de compuesto volátiles mediante microextracción en fase sólida en modo dinámico que comprende la introducción de la muestra en un vial que se introduce en un baño termostático, la inserción de la fibra de extracción en un tubo capilar y la desorción de los compuestos volátiles (apartado 2.3).

Así por tanto, no hay nada en las reivindicaciones 1-9 que no sea conocido de los documentos D01-D04.

En consecuencia, se considera que el objeto de dichas reivindicaciones carece de novedad y actividad inventiva (Artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.)