

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 694 584**

21 Número de solicitud: 201830492

51 Int. Cl.:

G01N 27/48 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

22.05.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

21.12.2018

71 Solicitantes:

**BIOQUOCHEM (100.0%)
EDIFICIO CEEI, 2 PLANTA, PARQUE
TECNOLÓGICO DE ASTURIAS
33428 LLANERA (Asturias) ES**

72 Inventor/es:

**HEVIA SANCHEZ, David;
MUÑOZ CIMADEVILLA, Henar y
REY ALONSO, Susana Covadonga**

54 Título: **DISPOSITIVO PORTÁTIL Y METODOLOGÍA PARA LA MEDIDA DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MUESTRAS LÍQUIDAS UTILIZANDO ELECTRODOS SERIGRAFIADOS**

57 Resumen:

Un dispositivo portátil y un método para la medida de la capacidad antioxidante en muestras líquidas basado en electroquímica, concretamente en voltametría. El dispositivo aplica un rango de potenciales a una muestra y recibe la señal de intensidad de corriente que mediante un método matemático se transforma en un valor total de la capacidad antioxidante representado en una escala del 1 al 10, indicando 10 el valor de la capacidad antioxidante más elevado y 1 el más bajo. Este método pondera teniendo en cuenta tres regiones de oxidación de antioxidantes para las cuales se calcula el valor de la carga, denominadas Q_1 , Q_2 y Q_3 .

De esta forma, se pueden observar diferencias en las capacidades antioxidantes de dos muestras cuya carga total fuera equivalente, pero sin embargo, presente diferentes valores en las tres regiones establecidas, siendo más preciso y fiel al funcionamiento de los sistemas de depuración de ROS.

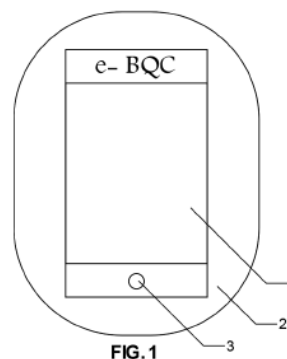


FIG. 1

DESCRIPCIÓN

**DISPOSITIVO PORTÁTIL Y METODOLOGÍA PARA LA MEDIDA DE LA
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN MUESTRAS LÍQUIDAS UTILIZANDO
ELECTRODOS SERIGRAFIADOS**

5

SECTOR DE LA TÉCNICA

10 La presente patente se encuentra enmarcada dentro de los dispositivos analíticos de medición de la capacidad antioxidante total (TAC) mediante técnicas de electroquímica en muestras líquidas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

15 Los sensores electroquímicos son una herramienta ampliamente utilizada en las ramas de química analítica y la biología. Debido a los grandes beneficios de los antioxidantes, así como la relación entre el estrés oxidativo y numerosas enfermedades, ha surgido la creciente necesidad del desarrollo de una tecnología que permita la cuantificación de la capacidad antioxidante total de forma fiable y precisa,
20 en muestras líquidas. Estas medidas se podrían realizar tanto en muestras biológicas como pueden ser muestras de sangre o bien en otro tipo de muestras líquidas como zumos de frutas y vinos que contienen sustancias antioxidantes. La capacidad antioxidante depende de unas sustancias denominadas antioxidantes que actúan de diferente forma dependiendo de su potencial de acción. Existen dos tipos de
25 antioxidantes: los de bajo peso molecular y los enzimáticos. Los antioxidantes de bajo peso molecular actúan directamente como una barrera, oxidándose antes que otras moléculas de vital importancia como los lípidos, proteínas o ADN. Por otra parte, los antioxidantes enzimáticos depuran los radicales libres, responsables del estrés oxidativo y las enfermedades que el mismo acarrea, transformándolos en sustancias
30 inocuas. Se han desarrollado hasta el momento varios mecanismos y dispositivos capaces de realizar una medición de la capacidad antioxidante:

- La patente US2008251394A1 describe una metodología de titración basada en unas medidas electroquímicas indirectas del poder antioxidante en tejidos biológicos húmedos mediante el uso de una función matemática adimensional que representa un agente oxidante ideal.

35

- La patente US2005278184A1 describe un aparato, proceso y metodología de determinación de un tipo concreto de antioxidantes, los carotenos, presentes en la piel, mediante una medida óptica con la dispersión de Raman en la palma de la mano.

5

Los inconvenientes de estas técnicas son la escasa portabilidad de los dispositivos y la imposibilidad de dar valores fieles a la capacidad antioxidante total puesto que, en el primer caso, no se llevan a cabo distinciones entre los diferentes potenciales a los que se oxidan las moléculas antioxidantes y en el segundo, los carotenoides de la piel a pesar de estar relacionados con la ingesta de frutas y verduras, no reflejan el estado antioxidante global tanto como el obtenido mediante una muestra de sangre, y además, su uso se encuentra limitado a la medición en personas y no en otras sustancias líquidas, tal y como se ha mencionado anteriormente.

10

15

EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

Con el fin de evitar los inconvenientes de otros métodos de medición de la capacidad antioxidante, se propone un dispositivo y método asociado al mismo capaz de obtener resultados fiables y rápidos de la capacidad antioxidante en muestras líquidas de diversos orígenes.

20

El dispositivo portátil de medida de la capacidad antioxidante objeto de la invención comprende un mecanismo de oxidación de una muestra que permite realizar de una forma rápida y sencilla la cuantificación de la capacidad antioxidante total en la misma.

25

Las ventajas principales de esta invención se resumen como sigue:

- El método objeto de la invención permite la distinción de las tres zonas principales de actuación (**FIG. 6**) de los antioxidantes que ponderarán de una forma diferente para el valor final según una fórmula matemática (**FIG. 8**).
- El dispositivo objeto de la invención es portátil y permite su utilización en el lugar de necesidad (*point-of-care*).
- El dispositivo objeto de la invención es fácil de manejar y supone una sencilla interpretación para el usuario final, sea un profesional sanitario, uso personal, para investigación o para uso industrial, puesto que los valores finales se

30

35

encuentran distribuidos en una escala del 1 al 100.

- El dispositivo objeto de la invención realiza mediciones de forma rápida, en menos de un minuto.
- El dispositivo objeto de la invención es capaz de medir los valores en sangre, dando unos valores más precisos que aquellos obtenidos mediante los carotenoides presentes en la piel.
- El dispositivo objeto de la invención realiza medidas voltamétricas, siendo más exacto, reproducible y evitando interferencias de moléculas sin capacidad antioxidante como en otras técnicas analíticas como pueden ser la colorimetría.

La invención se refiere a un dispositivo y un método para la medida directa de la capacidad antioxidante total o TAC de una muestra líquida, el cual comprende las siguientes etapas:

- Oxidar una muestra situada en las tiras fungibles -electrodos serigrafiados- (**FIG. 4**) las cuales constan de al menos un electrodo de trabajo (7), un electrodo auxiliar (6) y un electrodo de referencia (8).
- Medir la variación de la señal electroquímica (intensidad) entre el electrodo de trabajo (7) y el electrodo auxiliar (6) en cada valor de potencial aplicado entre el electrodo de trabajo (7) y el electrodo de referencia (8) por el dispositivo objeto de la invención (**FIG. 1**) para dar lugar a la señal primaria de intensidad de corriente (**FIG. 6**).
- Obtener los valores de las cargas Q_1 , Q_2 y Q_3 comprendidas entre tres rangos R_1 (17), R_2 (18), R_3 (19) que abarcan a potenciales comprendidos entre 0 y 2 V siendo estos intervalos variables en función de la muestra líquida a cuantificar (**FIG. 6**).
- Convertir la carga en culombios de Q_1 , Q_2 y Q_3 en un valor comprendido en una escala del 1 al 100, los cuales se denominan a partir de entonces B_1 , B_2 y B_3 mediante la determinación de la pertenencia de los valores de Q_1 , Q_2 y Q_3 respectivamente a uno de los rangos mostrados en la **FIG 7**.
- Realizar una ponderación final de los valores B_1 , B_2 y B_3 mediante la utilización de la fórmula matemática de la **FIG 8** en la cual las letras a-i representan números reales y enteros, para obtener un valor en un rango del 1 al 100 de capacidad antioxidante total final.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- 5 Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:
- 10 Figura 1.- Muestra una vista frontal esquemática del dispositivo de la invención.
Figura 2.- Muestra una vista superior esquemática del dispositivo de la invención.
Figura 3.- Muestra una vista inferior esquemática del dispositivo de la invención.
Figura 4.- Muestra una vista frontal esquemática de una tira fungible o electrodo.
Figura 5.- Muestra todos los elementos de los que consta el dispositivo.
- 15 Figura 6.- Muestra el resultado de tres gráficas diferentes obtenidas para tres individuos respectivamente con mayor (14), mediana (15) y pequeña (16) capacidad antioxidante relacionada con sus hábitos de vida: consumo de más de 8 piezas de fruta diarias (14), consumo recomendado de fruta diaria (15) y no consumo de fruta pero si de tabaco diariamente (16).
- 20 Figura 7.- Tabla en la que se muestra la correspondencia en la escala los valores Q_1 , Q_2 y Q_3 en los niveles del 1 al 10 de los valores de B_1 , B_2 y B_3 .

A continuación, se proporciona una lista de los distintos elementos señalados en las figuras adjuntadas en este documento en la sección correspondiente de dibujos:

- 25
- 1= Pantalla del dispositivo
 - 2= Carcasa
 - 3= Botón de encendido, apagado y activado de la medida
 - 4= Puerto de conexión a un ordenador/carga de la batería
 - 30 5= Acoplamiento del electrodo
 - 6= Electrodo de referencia
 - 7= Electrodo de trabajo
 - 8= Electrodo auxiliar
 - 9= Superficie protectora
 - 35 10= Contactos del electrodo

11= Protector de la pantalla

12= Placa base/potenciostato

13= Batería

14= Curva obtenida de una persona con niveles de capacidad antioxidante elevados

5 15= Curva obtenida de una persona con niveles de capacidad antioxidante medios

16= Curva obtenida de una persona con niveles de capacidad antioxidante bajos

17= Primer rango de potencial establecido o R_1

18= Segundo rango de potencial establecido o R_2

19= Tercer rango de potencial establecido o R_3

10

REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

A la vista de las mencionadas figuras, y de acuerdo con la numeración adoptada, se puede observar en ellas un ejemplo de realización preferente del dispositivo objeto de la invención, el cual comprende las partes y elementos que se indican y describen en detalle a continuación.

15 Así tal y como se observan en las figuras 1-5, una posible realización preferente del dispositivo de medición electroquímica manipulable desde el interfaz del usuario y con capacidad de acoplamiento de las tiras fungibles con electrodo y conexión directa a un ordenador, comprende esencialmente los siguientes elementos:

- Un potenciostato (12) acoplado al puerto de entrada del electrodo (5),
- Un procesador (12) para almacenar los datos de la intensidad de la corriente y realizar los cálculos matemáticos,
- Un puerto de entrada de tipo USB (4) para la descarga de los datos en otro dispositivo compatible como un ordenador y efectuar la recarga de la batería del mismo,
- Una batería (13) que permita que el dispositivo sea portátil sin estar constantemente conectado a una fuente de corriente,
- Una carcasa (2) que sirva de soporte a los componentes previamente mencionados y permita el manejo del dispositivo asimismo como una pantalla (1) cubierta por un protector (11) que sirva de interfaz para el usuario donde se muestran los resultados,
- Unas tiras fungibles (**FIG 4**) con al menos un electrodo de trabajo (7) consistente en una capa de carbono funcionalizado, un electrodo de referencia (8) de Ag/AgCl y un electrodo auxiliar (6) de Pt sobre las cuales se sitúa la

35

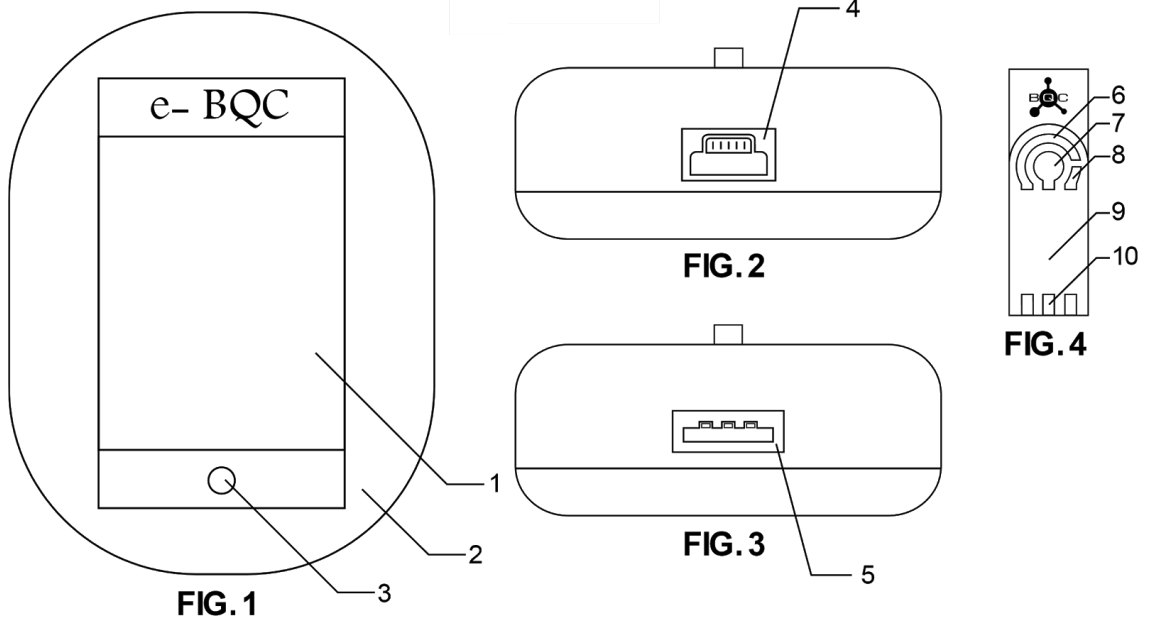
muestra y que se acoplan al dispositivo objeto de la invención mediante unos contactos (10) en el puerto de entrada del electrodo (5).

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo portátil y un método para la medida de la capacidad antioxidante en muestras líquidas basado en electroquímica y más concretamente en voltametría, consistentes respectivamente en un dispositivo que:
- 5
- Mediante un potencióstato (12) es capaz de aplicar un rango de voltajes a unas tiras fungibles que contienen un electrodo de trabajo de carbono funcionalizado (7), un electrodo de referencia de Ag/AgCl (8) y un electrodo auxiliar de Pt (6) sobre las cuales se sitúa la muestra.
- 10
- Y obtener la señal de variación de corriente entre dichos rangos de voltaje (17, 18, 19)
 - Y mostrar los resultados finales mediante un interfaz (1)
- Y un método voltamperométrico y matemático por el cual:
- 15
- Los datos se procesan mediante el cálculo de las cargas Q_1 , Q_2 y Q_3 en los rangos de voltaje R_1 (17), R_2 (18), R_3 (19) aplicados por el dispositivo objeto de la invención,
 - Se transforman en valores adimensionales B_1 , B_2 y B_3 en una escala del 1 al 100 de capacidad antioxidante total siendo el 1 el valor más bajo y el 100 el valor más alto posibles,
- 20
- Y finalmente dichos valores se ponderan mediante una ecuación (**FIG. 8**) para dar lugar al valor adimensional final de la capacidad antioxidante comprendido en una escala del 1 al 100 en la cual el 1 es el valor más bajo y el 100 el valor más alto posibles.
2. El dispositivo y método según la reivindicación 1 aplicado a la medición de sustancias antioxidantes específicas, como puede ser a modo ilustrativo y no limitativo el ácido ascórbico o vitamina C.
- 25
3. El dispositivo y método según la reivindicación 1 aplicado a la medición a muestras líquidas de tipo alimentario (zumos, lácteos, etc) así como en otros fluidos de tipo biológicos incluyendo plasma, suero, orina, sudor, saliva y tejidos.
- 30
4. El método según la reivindicación 1 en el cual se aplican otras técnicas de electroquímica como la LSV (del inglés, *Linear Sweep Voltammetry*; Voltametría de Barrido Lineal), CV (del inglés, *Cyclic Voltammetry*, Voltametría Cíclica) o FSCV (del inglés, *Fast Scan Cyclic Voltammetry*, Voltametría Cíclica de Escaneo Rápido).
- 35
5. El método según la reivindicación 1 en el cual los rangos de voltaje aplicados son

tres y se comprenden dentro de los siguientes:

- a. $R_1 = 0-1$ V
 - b. $R_2 = 0,3-1,5$ V
 - c. $R_3 = 0,5-2$ V
- 5 6. El método según la reivindicación 1 en el cual se establecen entre 3 y 6 rangos consecutivos o discontinuos comprendidos entre 0 y 2 V.
 7. El dispositivo según la reivindicación 1 en el cual el electrodo de referencia (8) y electrodo auxiliar (6) se combinan en un solo electrodo que asume ambas funciones.
 - 10 8. El dispositivo según la reivindicación 1 en el cual el electrodo de referencia (8) es calomelano, de zinc o de cobre/sulfato de cobre.
 9. El dispositivo según la reivindicación 1 en el cual existen más de un puerto de entrada de electrodos (5), pudiendo medir varias muestras al mismo tiempo o de forma secuencial.
 - 15 10. El dispositivo según la reivindicación 1 en el cual la señal es generada en un único electrodo de trabajo que comprenda una superficie de carbono modificada con materiales de cualquier tipo, incluyendo a modo ilustrativo y no limitativo nanopartículas, nanopelículas, nanotubos, nanoesferas huecas, aleaciones y óxidos.
 - 20 11. El dispositivo según cualquiera de las anteriormente mencionadas reivindicaciones en el cual la superficie del electrodo de trabajo se encuentra cubierta por una red de un material poroso como celulosa o polímeros, un gel orgánico acuoso o una sustancia orgánica.
 12. El dispositivo según cualquiera de las anteriormente mencionadas reivindicaciones adaptado como celda de tres electrodos.
 - 25 13. El método según la reivindicación 1 en el cual los valores de B_1 , B_2 y B_3 se encuentran representadas en otro tipo de escala diferente de la 1-100, bien por un orden invertido o el uso de otras unidades.
 14. El método según la reivindicación 1 en el cual los valores de capacidad antioxidante total se encuentran representados en otro tipo de escala diferente de la 1-100, bien por un orden invertido o el uso de otras unidades.
 - 30



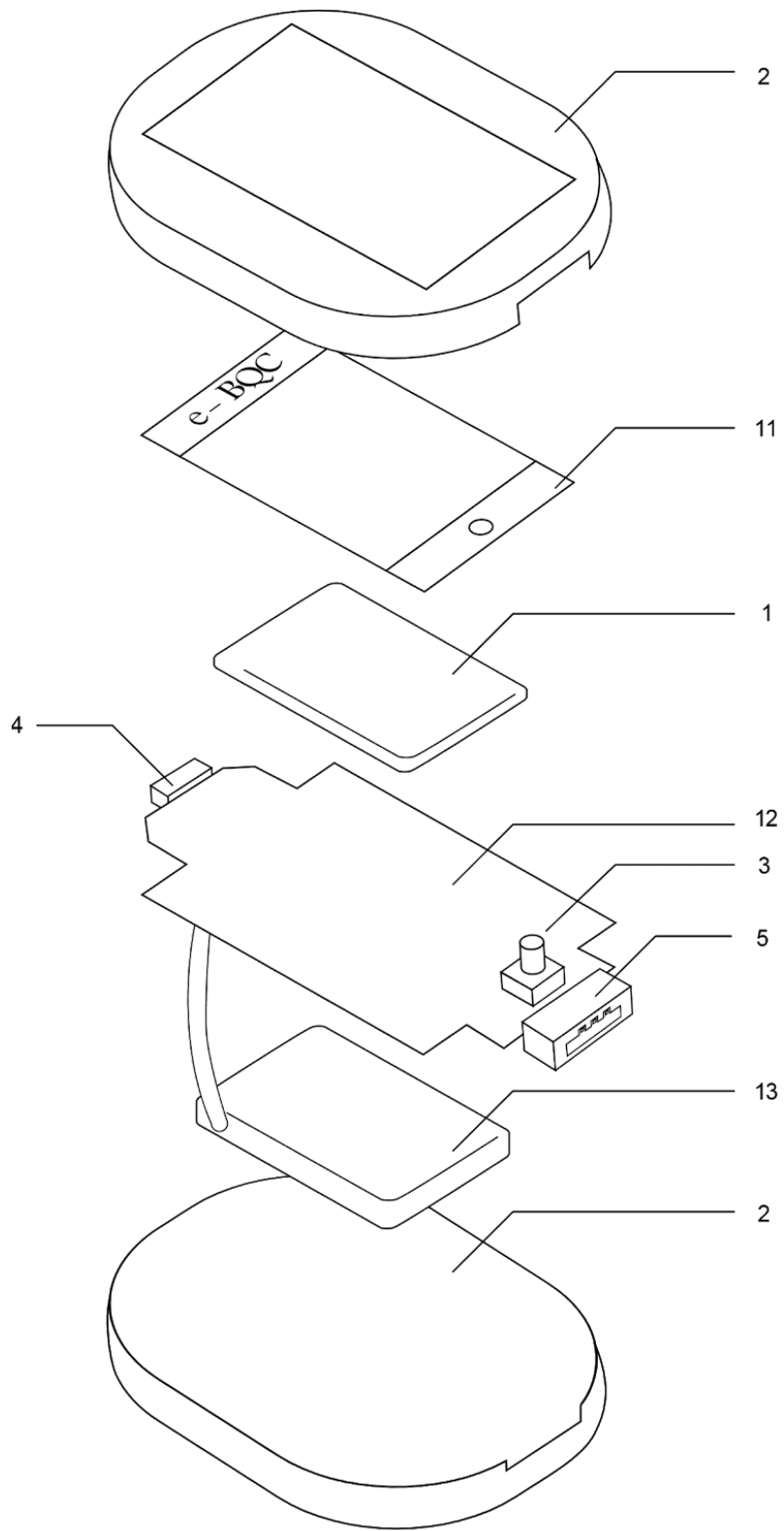


FIG. 5

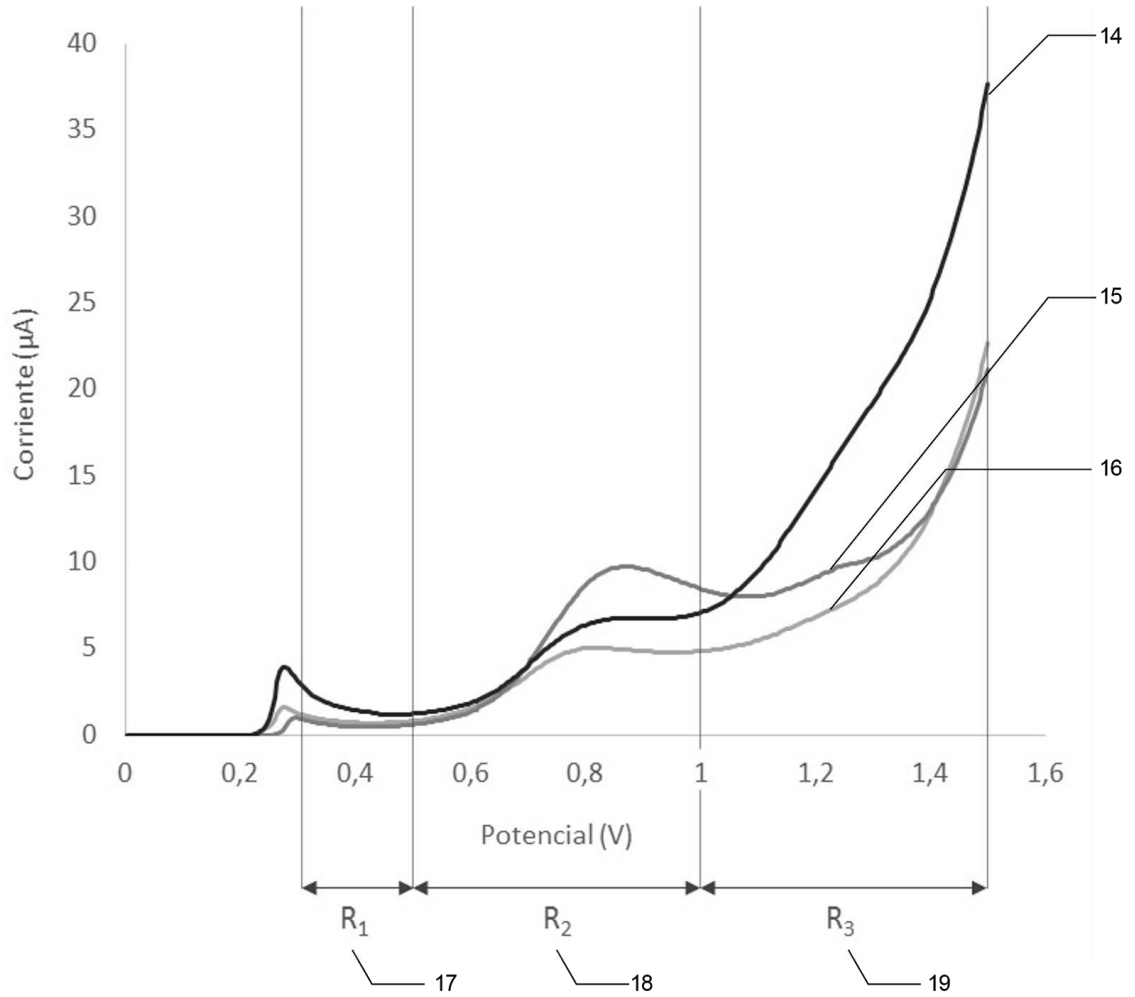


FIG. 6

Valor de la escala	Q ₁		Q ₂		Q ₃	
	Inferior	Superior	Inferior	Superior	Inferior	Superior
1	----	0,249	----	4,999	----	9,999
2	0,250	0,449	5,000	9,999	10,000	14,999
3	0,450	0,699	10,000	12,999	15,000	19,999
4	0,700	0,999	13,000	14,999	20,000	24,999
5	1,000	1,299	15,000	16,999	25,000	29,999
6	1,300	1,599	17,000	18,999	30,000	34,999
7	1,600	1,899	19,000	20,999	35,000	39,999
8	1,900	2,199	21,000	22,999	40,000	44,999
9	2,200	2,499	23,000	24,999	45,000	49,999
10	2,500	----	25,000	----	50,000	----

FIG. 7

$$Valor\ total = \frac{K_1 \cdot B_1^a}{b^c} + \frac{K_2 \cdot B_2^d}{e^f} + \frac{K_3 \cdot B_3^g}{h^i}$$

FIG. 8



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201830492

②② Fecha de presentación de la solicitud: 22.05.2018

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N27/48** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	SOCHOR, J. et al. Electrochemistry as a Tool for Studying Antioxidant Properties. International Journal of Electrochemical Science , 01/06/2013, Vol. 8, Páginas 8464-8489	1-3, 7-12
Y	[en línea] [Recuperado el 11/12/2018]. Recuperado de Internet <URL: http://www.electrochemsci.org/papers/vol8/80608464.pdf >	9
Y	BENI, V. et al. Printed electrochemical instruments for biosensors. ECS Journal of Solid State Science and Technology, 10/07/2015, Vol. 4, Páginas S3001 - S3005, ISSN 2162-8769 (print), <DOI: 10.1149/2.0011510jss>	9
A		1,7
A	DAIZONG JI et al. Smartphone-based cyclic voltammetry system with graphene modified screen printed electrodes for glucose detection. Biosensors and Bioelectronics, 11/07/2017, Vol. 98, Páginas 449 - 456, ISSN 0956-5663 (print), <DOI: 10.1016/j.bios.2017.07.027>	1
A	Screen Printed Carbon electrode (Aux.: Pt; Ref.: Ag/AgCl). DROPSSENS, 09/09/2017 [en línea] [Recuperado el 11/12/2018]. Recuperado de Internet <URL: https://web.archive.org/web/20170909063242/http://www.dropsens.com/pdfs_productos/154.pdf >	1
X	MARTINEZ, S. et al. Cyclic voltammetry study of plasma antioxidant capacity – Comparison with the DPPH and TAS spectrophotometric methods. Journal of Electroanalytical Chemistry, 01/03/2006, Vol. 588, Nº 1, Páginas 68 - 73, ISSN 0022-0728 (print), <DOI: 10.1016/j.jelechem.2005.12.016>	1-6, 13, 14

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

11.12.2018

Examinador

A. Figuera González

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, TXTE, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, INSPEC, MEDLINE, XPAIP, XPESP, XPI3E, XPIEE, Internet