

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 728 448**

21 Número de solicitud: 201930555

51 Int. Cl.:

**G01N 27/49** (2006.01)

12

## SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**18.06.2019**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**24.10.2019**

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA  
(100.0%)**

**Ed. "La Milagrosa" Plaza Cronista Isidoro  
Valverde, s/n  
30202 CARTAGENA (Murcia) ES**

72 Inventor/es:

**AGUAYO GIMÉNEZ, Encarnación Pilar;  
AZNAR POVEDA, Juan;  
BELTRÁN SÁNCHEZ, José Francisco;  
GARCÍA HARO, Juan;  
GARCÍA SÁNCHEZ, Antonio Javier;  
LÓPEZ PASTOR, José Antonio y  
MARTÍNEZ SÁNCHEZ, Ascensión**

74 Agente/Representante:

**TEMIÑO CENICEROS, Ignacio**

54 Título: **Dispositivo y método para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos**

57 Resumen:

Dispositivo y método para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos.

Un dispositivo y un método para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos que comprende un sensor (1) amperométrico que comprende un primer electrodo de trabajo (3) y un segundo electrodo de trabajo (4); unos medios electrónicos de captura y procesado de datos (6, 7, 8, 9); una interfaz gráfica de gestión y/o configuración (10); y donde el primer electrodo de trabajo (3) no está tratado con ascorbato oxidasa y un segundo electrodo de trabajo (4) que está tratado con ascorbato oxidasa; y donde los medios electrónicos (6, 7, 8, 9) están configurados para estimular el sensor (1) según un rango de tensiones predefinido en función del tipo de zumo seleccionado por un usuario en la interfaz gráfica de gestión y/o configuración (10), y obtener simultáneamente la lectura de corriente debida a la oxidación del zumo estudiado.

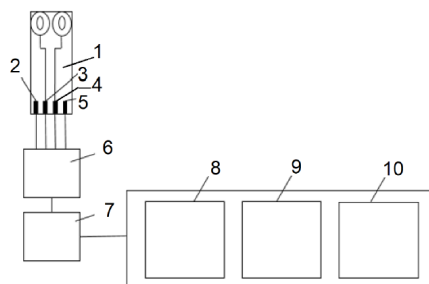


Fig.1

## DESCRIPCIÓN

### Dispositivo y método para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos

#### 5 **Campo de la invención**

La presente invención está referida a un dispositivo electrónico programable y un método por el que se puede medir mediante amperometría la concentración de ácido ascórbico (AA) y antocianos presente en zumos de forma simultánea. La presente invención tiene aplicación  
10 en la industria agroalimentaria y concretamente en la industria de obtención de zumos naturales.

#### **Estado de la técnica anterior**

15 La industria alimentaria, y en particular, la fabricación de los zumos requiere la adición de antioxidante durante el procesado para evitar reacciones de óxido-reducción, asegurar la calidad del producto final y prolongar su vida útil. El ácido ascórbico (AA), es un agente reductor y por tanto un antioxidante natural presente en frutas y verduras, pero tiene también un uso amplio en forma de aditivo en zumos, mermeladas, productos lácteos y otros  
20 alimentos, además de en la industria nutracéutica y farmacéutica.

Otros compuestos bioactivos de interés en la industria alimentaria son los antocianos, compuestos responsables de los colores anaranjados, rojos y púrpuras de los alimentos de origen vegetal, que poseen una gran capacidad antioxidante con propiedades altamente  
25 beneficiosas para la salud. Los antocianos poseen propiedades farmacológicas y funcionales relacionadas con la reducción de la incidencia de enfermedades cardiovasculares y cáncer, mejora de la memoria o tratamiento de desórdenes del tracto urinario. Estas propiedades hacen de los antocianos un ingrediente muy atractivo para la industria alimentaria y cada vez más valorado y demandado por los consumidores.

30 Sin embargo, tanto el AA como los antocianos son sustancias sensibles a las temperaturas altas, la presencia de oxígeno o el pH de la matriz, por lo que su concentración puede verse reducida tras el procesado. Además, en el caso de los zumos se deben cumplir los criterios de calidad y autenticidad, siendo necesario el análisis que confirme la composición de éstos.  
35 La industria alimentaria necesita controlar el contenido en AA del producto en cada una de las etapas del procesado, así como en los productos finales (p.ej. zumos) de forma continuada

con objeto de asegurar en todo momento, la calidad de dicho producto. Por otro lado, en el caso particular de zumos que contienen antocianos es necesario el control de su contenido/concentración en cada una de las etapas para mantener una apropiada composición y características del producto final.

5

En la literatura científica se puede encontrar una diversidad de métodos para medir y cuantificar el ácido ascórbico (AA). Entre ellos, los más destacados y extendidos son la espectrometría, la titrimetría, el método colorimétrico con tiras reactivas y la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC por sus siglas en inglés). Esta última tecnología es la más extendida por su elevada precisión y por su capacidad de medir diferentes compuestos en el mismo análisis. En el caso de la vitamina C, mediante HPLC se puede cuantificar de forma rigurosa tanto el AA como su forma oxidada, el ácido dehidroascórbico.

Con respecto de los antocianos, los métodos más comunes de determinación que se pueden encontrar son la espectroscopia, HPCL y la resonancia magnética nuclear de una y de dos dimensiones. Aunque el AA y los antocianos se pueden identificar y cuantificar mediante HPLC, la extracción y características del análisis por HPLC son diferentes. Como consecuencia, no se pueden determinar ambas sustancias -antocianos y AA- en un mismo análisis.

20

Todos estos métodos tienen en común algunos inconvenientes importantes, siendo los más destacados los siguientes: (i) alto coste por determinación; (ii) requieren personal de laboratorio altamente cualificado, especializado y con experiencia; (iii) implementan protocolos complejos que incluyen preparaciones laboriosas de las muestras; (iv) necesitan un tiempo de análisis considerable y una gran cantidad de reactivos; (v) se debe contar con un laboratorio equipado con instrumentación -a menudo costosa- que demanda un entorno controlado para llevar a cabo las analíticas; e (vi) implica un análisis diferente para cada sustancia bajo estudio.

Debido a los inconvenientes (i)-(vi) previamente enunciados, la industria agroalimentaria carece de un sistema de medición simultánea de AA y de antocianos que permita llevar a cabo mediciones de muestras con una periodicidad y cuantía económica adecuada para las exigencias industriales. En este sentido, la industria agroalimentaria requiere (i) bajo coste por dispositivo de medida y determinación; (ii) portabilidad; (iii) facilidad de uso y tiempo de determinación reducido; (iv) evitar procesamiento de muestras; y (v) medir varias sustancias de interés mediante una única analítica. Estos requisitos están en consonancia con el nuevo

35

paradigma de calidad y seguridad en el control de los alimentos bajo regulación de la Unión Europea (*European Commission Priorities: Agriculture and Food Security* (2018). Obtenido en <https://ec.europa.eu/jrc/en/science-area/agriculture-and-food-security>).

5 Para resolver las demandas de la industria alimentaria y hacer frente a los inconvenientes indicados, se han desarrollado distintos métodos con objeto de realizar la determinación del AA y otras sustancias antioxidantes. Estos se basan en el poder de reducción del analito a medir, en este caso el AA y los antocianos, ambos donadores naturales de electrones y, por lo tanto, electroactivos. Esta característica permite su cuantificación mediante técnicas electroquímicas. Sin embargo, debido a que ambas sustancias poseen un potencial de óxido-reducción similar, la presencia conjunta de ambas sustancias interfiere en el análisis y dificulta su medición.

El empleo de las técnicas electroquímicas incluye el uso de electrodos de carbón impreso (SPE en terminología inglesa). El empleo y la modificación de los SPE permiten obtener la concentración de AA en diferentes matrices como zumos, frutas y/o complementos alimenticios. A pesar de que los SPE son claros exponentes de una tecnología desechable y de bajo precio, las modificaciones en su estructura requieren del empleo de nanomateriales, anticuerpos y potenciadores de la reacción de oxidación como hidroquinona o peróxido de hidrógeno, lo que implica la pérdida de simplicidad y un incremento del coste y mantenimiento debido a que son soluciones que, en general, requieren un entorno muy específico de trabajo -temperatura, pH de la muestra, condiciones de laboratorio u otras- y unas condiciones especiales de almacenamiento para su correcta estabilización y durabilidad en el tiempo. Sin embargo, cuando se utilizan electrodos de carbono no-SPE sin modificar la detección de AA en diferentes zumos, no se valida su empleo en matrices complejas, como pueden ser los zumos, que presentan interferentes conocidos, como es el caso de los antocianos.

En el estado de la técnica, los trabajos descritos que tratan de determinar el AA mediante SPE sin modificar en matrices complejas no son capaces de alcanzar la precisión requerida a la hora de obtener la concentración de AA motivado por interferencias producidas por polifenoles y antocianos, dado que se oxidan a un potencial similar al del AA. Por otro lado, los trabajos que tratan de determinar la concentración de AA mediante sensores modificados son costosos de fabricar, no tienen o tienen pocas reutilizaciones y deben ser almacenados y utilizados en condiciones especiales de laboratorio. Con respecto a los antocianos, los trabajos que integren SPE en su método de trabajo no han sido validados en matrices complejas.

Además, se puede concluir que en el estado de la técnica no describe (i) realizar de forma simultánea la determinación de AA y de antocianos mediante un SPE dual formado por dos electrodos de trabajo en un mismo análisis, (ii) proporcionar un sistema completo, y (iii) un método capaz de satisfacer las necesidades de la industria alimentaria con respecto a la cuantificación del contenido de AA y de antocianos como el que se pretende proteger con la presente invención.

### **Explicación de la invención**

El objeto de la presente invención es un dispositivo y un método para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos, que comprende un dispositivo electrónico que implementa un método de detección que mide simultáneamente la concentración de AA y antocianos. Este objeto se alcanza mediante el dispositivo y el método de las reivindicaciones independientes que se incluyen en la presente memoria descriptiva. En las reivindicaciones dependientes se protegen otras realizaciones y aspectos de la presente invención.

Es otro objeto de la presente invención un dispositivo y un método que permita su transporte de forma sencilla, permitiendo la realización de analíticas en campo o donde el usuario lo requiera, como puede ser, por ejemplo, entornos industriales o departamentos de control de calidad de empresas alimentarias. Además, es un objeto adicional que el dispositivo sea de manejo fácil, es decir, que no requiera estar especializado en técnicas de análisis de AA y antocianos ni en el manejo de instrumentación específica de laboratorio. Además, adicionalmente, el dispositivo tiene un bajo coste por medida de interés, lo que se traduce en coste reducido tanto del equipo electrónico que realiza los análisis como de los sensores empleados en cada determinación.

Es otro objeto de la invención que el análisis se produzca en un intervalo de tiempo acotado, aproximadamente en 30 segundos. Además, la determinación de la medida, a partir de la propia matriz original de la muestra, sin necesidad de etapas de extracción de los compuestos a analizar. Además, de no requerir calibración mediante la utilización de patrones químicos. La capacidad de medida simultánea de AA y antocianos utilizando un único sensor por analítica debe tener, además, un rango de detección y precisión equiparable a otras técnicas convencionales de laboratorio con coste y complejidad mayores.

Más concretamente, el dispositivo para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos de la invención comprende un sensor amperométrico que comprende un primer electrodo de

trabajo y un segundo electrodo de trabajo, un electrodo auxiliar y un electrodo de referencia que están impresos sobre una superficie cerámica configurada para recibir, al menos, una muestra del zumo para determinar su contenido de ácido ascórbico y antocianos; unos medios electrónicos de captura y procesado de datos; una interfaz gráfica de gestión y/o configuración; y que se caracteriza porque un primer electrodo de trabajo no está tratado con ascorbato oxidasa y un segundo electrodo de trabajo que está tratado con ascorbato oxidasa; y donde los medios electrónicos están configurados para: estimular el sensor según un rango de tensiones predefinido en función del tipo de zumo seleccionado por un usuario en la interfaz gráfica de gestión y/o configuración, y obtener la lectura de corriente debida a la oxidación del zumo estudiado, de tal forma que las lecturas de corriente del primer electrodo de trabajo se obtiene la corriente generada por los antocianos y el ácido ascórbico, mientras que en el segundo electrodo de trabajo tratado con ascorbato oxidasa solamente se determina la corriente generada exclusivamente por el ácido ascórbico.

En una realización particular el segundo electrodo de trabajo está tratado con ascorbato oxidasa inmovilizada mediante polietilenglicol al 5% o glutaraldehído al 0,05%.

El método para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos, que se implementa en el dispositivo anterior y que comprende las etapas de: depositar una muestra de zumo sobre la superficie de un sensor amperométrico; seleccionar la recta de calibración del tipo de zumo de la muestra depositada en el sensor; ejecutar un proceso de amperometría con los niveles de tensión de inicio, tensión final y un número de saltos incrementales de tensión previamente establecidos junto con la recta de calibración seleccionada del tipo de zumo de la muestra; medir simultáneamente el ácido ascórbico y los antocianos en la muestra de zumo depositada sobre un primer electrodo de trabajo y un segundo electrodo de trabajo del sensor estando dicho segundo electrodo de trabajo previamente tratado con ascorbato oxidasa; y obtener la lectura de corriente debida a la oxidación del zumo estudiado, de tal forma que las lecturas de corriente del primer electrodo de trabajo se obtiene la corriente generada por los antocianos y el ácido ascórbico, mientras que en el segundo electrodo de trabajo tratado con ascorbato oxidasa solamente se determina la corriente generada exclusivamente por el ácido ascórbico.

En una realización particular, el método de la invención puede ejecutar un proceso de voltamperometría cíclica o mediante un potencial fijo. En otra realización, el método comprende, además, las etapas de mostrar los resultados de la medida en una interfaz gráfica y/o guardar los resultados de la medida en una memoria interna del dispositivo de la invención; y/o enviar los resultados a una base de datos remota.

A lo largo de la descripción y de las reivindicaciones, la palabra «comprende» y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la invención y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración y no se pretende que restrinjan la presente invención. Además, la invención cubre todas las posibles combinaciones de realizaciones particulares y preferidas aquí indicadas.

### 10 Breve descripción de los dibujos

A continuación, se pasa a describir de manera muy breve un dibujo que ayuda a comprender mejor la invención y que se relaciona expresamente con una realización de dicha invención, que se ilustra como un ejemplo no limitativo de ésta.

15

La FIG.1 muestra un diagrama de bloques del dispositivo para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos, objeto de la presente invención.

Referencias:

20

1. Sensor
2. Electrodo auxiliar
3. Primer electrodo de trabajo
4. Segundo electrodo de trabajo
5. Electrodo de referencia
6. Potenciostato
7. Convertidor analógico-digital
8. Unidad de control
9. Procesador
- 30 10. Interfaz gráfica de gestión y/o configuración

### Explicación de un modo detallado de realización de la invención y ejemplos

En la figura 1 se muestra un diagrama de bloques del dispositivo de medición de AA y antocianos en zumos que permite su medida simultánea, según objeto de la presente invención. Así pues, en un ejemplo práctico de aplicación de la invención, la muestra del zumo

35

que se desea analizar se deposita sobre un sensor de electrodos de carbón impreso dual 1 - en adelante sensor 1- que ha sido modificado parcialmente para el uso específico de acuerdo con la presente invención. Para el depósito de la muestra, la carcasa del dispositivo -no mostrada en la figura adjunta- lógicamente dispondrá de una ranura a tal efecto.

5

En particular, el método de análisis consiste en depositar una gota de 50 microlitros sobre la superficie del SPE cubriendo todos los electrodos 2, 3, 4 y 5. Para la deposición de la gota se puede emplear una micropipeta configurable con dicha cantidad o cualquier otro sistema que permita obtener dicha cantidad exacta de líquido.

10

El segundo electrodo de trabajo 4 ha sido tratado previamente con ascorbato oxidasa inmovilizada mediante polietilenglicol al 5% o glutaraldehído al 0,05%. El objeto es determinar en este segundo electrodo de trabajo 4 la cantidad exacta de ácido ascórbico, mientras que en el primer electrodo de trabajo 3, que no ha sido tratado y/o modificado, se proporciona la concentración de ácido ascórbico junto con los antocianos, obteniendo así la cantidad de ambas sustancias de forma simultánea.

15

Para que el dispositivo funcione de forma correcta y precisa, las rectas de calibración del ácido ascórbico y de antocianos han sido obtenidas previamente para cada zumo que se desea analizar. Es decir, en la memoria del procesador 9 se encuentra precargado tanto la recta de calibración del ácido ascórbico como la de antocianos para (i) todo tipo de zumos de un único sabor que se pueden encontrar en el mercado (piña, uva, manzana, melocotón, zanahoria, remolacha, tomate, guayaba, mango, kiwi, coco, naranja con pulpa, naranja sin pulpa, mandarina, granada, pomelo, pera y plátano, entre otros) y, (ii) una pluralidad de zumos formados por la combinación de otros zumos y suplementos adicionales añadidos. Gracias a que las rectas de calibración se encuentran almacenadas o cargadas previamente en el dispositivo, se puede determinar tanto las concentraciones de AA como la de antocianos de la mayoría de los zumos existentes en el mercado y es ampliable y fácilmente configurable en el caso de que surjan nuevos zumos a medir. Es decir, el dispositivo propuesto por la presente invención es escalable siendo capaz de almacenar nuevas rectas de calibrado de nuevos zumos o matrices de zumos. Simplemente, cuando la gota se ha depositado correctamente en el sensor 1, a través de la interfaz gráfica de gestión y/o configuración 10 se selecciona el tipo de zumo bajo estudio.

20

25

30

Cuando la gota ha sido depositada en el sensor 1, la unidad de control 8 comienza a ejecutar un proceso de voltamperometría cíclica (CV) con los niveles de voltaje de inicio, voltaje de



final y el número de saltos incrementales de tensión previamente establecidos, junto con la recta de calibración seleccionada del zumo a analizar para cada sustancia -se entiende por sustancia el ácido ascórbico y los antocianos-.

5 A la hora de llevar a cabo el barrido de tensión, la unidad de control 8 envía las instrucciones necesarias a un convertidor analógico – digital 7 y un potencióstato 6 que integra los dos canales de medida que se corresponden con los electrodos de trabajo 3 y 4. A medida que el barrido de potencial avanza, el potencióstato 6 obtiene las lecturas de corriente debidas a la oxidación del zumo bajo estudio. En las lecturas de corriente del primer electrodo de trabajo  
10 3 -el electrodo no modificado- se obtiene la corriente generada por los antocianos y el ácido ascórbico, mientras que en el segundo electrodo de trabajo 4 -el electrodo modificado- solamente se determina la corriente generada únicamente por el ácido ascórbico.

Las lecturas de ambos electrodos de trabajo 3 y 4 son enviadas a través del conversor  
15 analógico-digital 7 a la unidad de control 8 donde son almacenadas en una memoria a tal efecto. Una vez que la unidad de control 8 recibe todos los datos de corriente, estos son enviados al procesador 9 que calcula la concentración de ácido ascórbico y de antocianos presente en el volumen de muestra añadido al sensor en función de los resultados de corriente y la recta de calibración particularizada para cada una de las dos sustancias y el zumo bajo  
20 estudio. Los resultados se muestran al usuario a través de una interfaz gráfica de gestión del dispositivo 10.

El componente de software del dispositivo es configurable según las necesidades del usuario y/o del análisis a realizar. Así pues, una vez encendido el dispositivo, se carga e inicia el  
25 software de gestión de este. En la interfaz gráfica 10 es posible elegir entre varios parámetros de configuración, siendo el más relevante el tipo de zumo que se desea analizar, pero también es posible seleccionar el método amperométrico de medida o la sensibilidad de la medida u otros modos de funcionamiento más específicos destinados a cargar nuevas rectas de calibración para otros -nuevos- zumos o matrices de zumos, con el objeto de que el sistema  
30 sea escalable.

El modo de selección del método amperométrico permite realizar tanto voltamperometría cíclica como potencial fijo, dependiendo de la técnica que mejor se ajuste a la determinación de la concentración de ácido ascórbico y de antocianos para un zumo determinado. Por otra  
35 parte, el modo de selección de la sensibilidad está concebido para variar la resistencia interna del sistema y aumentar la sensibilidad de éste, de forma que se mejore la precisión, aunque,

por el contrario, se disponga de un menor rango de medición. En el modo de funcionamiento normal de la determinación de ácido ascórbico y antocianos de una muestra, se selecciona el tipo de zumo que se va a analizar, junto con datos adicionales relacionados con el lote, la fecha de fabricación u otro dato introducido por el propio usuario. Esta información, junto con el resultado del análisis, se envía a una base de datos remota a través de unos medios de comunicación, que pueden ser cualesquiera que el experto en la materia considere más adecuados para la transmisión de dichos datos (comunicación por cable, comunicación serie, inalámbrica o cualquier otra).

Una vez decidida la técnica amperométrica deseada para el zumo seleccionado y previa carga de la recta de calibración, se inicia la medida y en el interfaz gráfico 10 se muestra la concentración de ácido ascórbico y de antocianos en moles/100 ml y en miligramos/100 ml. Una vez que los datos son mostrados, el usuario puede llevar a cabo una serie de opciones: (i) finalizar con la medición para realizar otra, (ii) apagar el dispositivo, (iii) guardar el resultado en la memoria interna del dispositivo y (iv) enviar el resultado a la base de datos remota, o (v) guardar solamente una gráfica con los datos obtenidos.

No obstante el ejemplo de realización práctica anteriormente expuesto, resulta evidente para un experto en la materia en que el software incorporado en el dispositivo puede estar expuestos a cambios, de forma que se puede ampliar para determinar otras sustancias de interés diferentes al ácido ascórbico y los antocianos simplemente mediante la selección de una nueva configuración del dispositivo, la carga de nuevas rectas de calibración para las nuevas sustancias y el uso de un sensor específico modificado o no para llevar a cabo tal efecto.

## REIVINDICACIONES

1.- Un dispositivo para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos que comprende:

un sensor (1) amperométrico que comprende un primer electrodo de trabajo (3) y un  
5 segundo electrodo de trabajo (4), un electrodo auxiliar (2) y un electrodo de referencia (5) que  
están impresos sobre una superficie cerámica configurada para recibir, al menos, una muestra  
del zumo para determinar su contenido de ácido ascórbico y antocianos;

unos medios electrónicos de captura y procesado de datos (6, 7, 8, 9);

una interfaz gráfica de gestión y/o configuración (10);

10 y que se **caracteriza** porque un primer electrodo de trabajo (3) no está tratado con  
ascorbato oxidasa y un segundo electrodo de trabajo (4) que está tratado con ascorbato  
oxidasa;

y donde los medios electrónicos (6, 7, 8, 9) están configurados para:

estimular el sensor (1) según un rango de tensiones predefinido en función del  
15 tipo de zumo seleccionado por un usuario en la interfaz gráfica de gestión y/o  
configuración (10), y

obtener simultáneamente la lectura de corriente debida a la oxidación del zumo  
estudiado, de tal forma que las lecturas de corriente del primer electrodo de trabajo (3)  
se obtiene la corriente generada por los antocianos y el ácido ascórbico, mientras que  
20 en el segundo electrodo de trabajo (4) tratado con ascorbato oxidasa solamente se  
determina la corriente generada exclusivamente por el ácido ascórbico.

2.- El dispositivo de acuerdo con la reivindicación 1 donde el segundo electrodo de trabajo (4)  
está tratado con ascorbato oxidasa inmovilizada mediante polietilenglicol al 5% o  
25 glutaraldehído al 0,05%.

3.- Un método para la medición de ácido ascórbico y antocianos en zumos,

que se implementa en el dispositivo de las reivindicaciones 1 o 2

y que comprende las etapas de:

30 depositar una muestra de zumo sobre la superficie de un sensor (1) amperométrico,  
seleccionar la recta de calibración del tipo de zumo de la muestra depositada en el  
sensor (1),

ejecutar un proceso de amperometría con los niveles de tensión de inicio, tensión final  
y un número de saltos incrementales de tensión previamente establecidos junto con la recta  
35 de calibración seleccionada del tipo de zumo de la muestra,

medir simultáneamente el ácido ascórbico y los antocianos en la muestra de zumo depositada sobre un primer electrodo de trabajo (3) y sobre un segundo electrodo de trabajo (4) del sensor (1), estando dicho segundo electrodo de trabajo (4) previamente tratado con ascorbato oxidasa, y

5 obtener la lectura de corriente debida a la oxidación del zumo estudiado, de tal forma que de las lecturas de corriente del primer electrodo de trabajo (3) se obtiene la corriente generada por los antocianos y el ácido ascórbico, mientras que en el segundo electrodo de trabajo (4) tratado con ascorbato oxidasa solamente se determina la corriente generada exclusivamente por el ácido ascórbico.

10

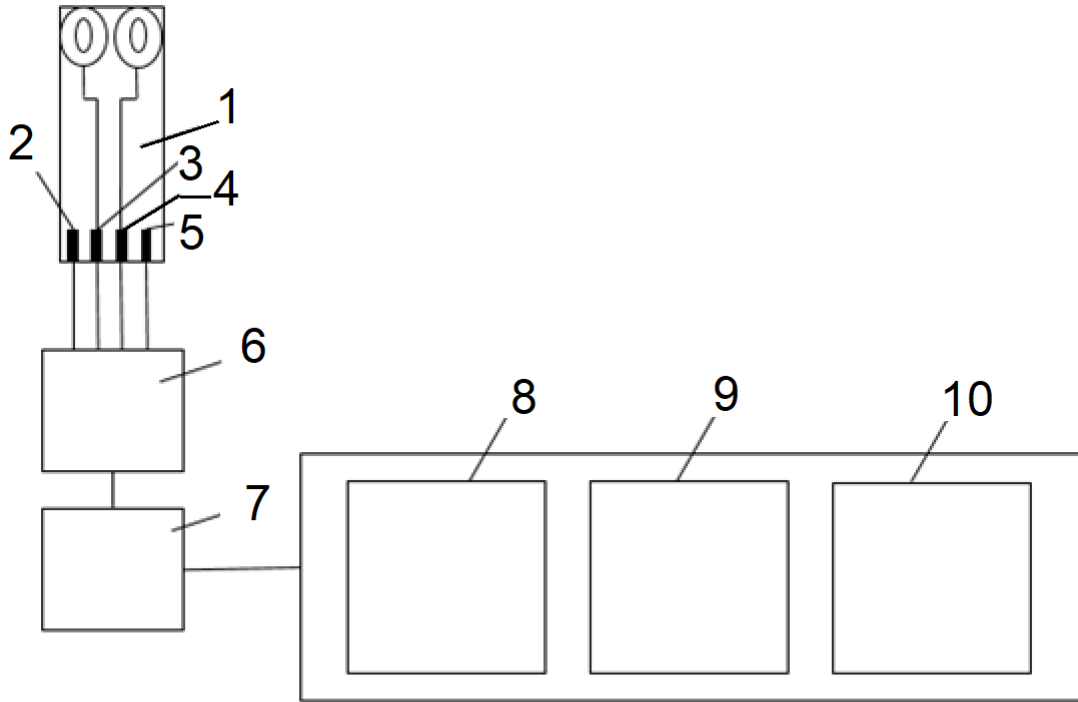
4.- El método de acuerdo con la reivindicación 3 donde la amperometría es cíclica o potencial fijo.

15

5.- El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 3 o 4 que comprende, además, las etapas de mostrar los resultados de la medida en una interfaz gráfica (10) y/o guardar los resultados de la medida en una memoria interna del dispositivo de las reivindicaciones 1 a 2; y/o enviar los resultados a una base de datos remota.

20

25



**Fig.1**



②① N.º solicitud: 201930555

②② Fecha de presentación de la solicitud: 18.06.2019

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N27/49** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados  | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| A         | BARBERIS A et al. Simultaneous amperometric detection of ascorbic acid and antioxidant capacity in orange, blueberry and kiwi juice, by a telemetric system coupled with a fullerene- or nanotubes-modified ascorbate subtractive biosensor. Biosensors and Bioelectronics, 15/05/2015, vol. 67, páginas 214-223, ISSN 0956-5663, <DOI: doi:10.1016/j.bios.2014.08.019>, especialmente páginas 215-217, 219-222; tabla 1; figura 1a, b,d; material suplementario s5. | 1-5                        |
| A         | WAWRZYNIAK J et al. Application of voltammetry to determine vitamin C in apple juices. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 2005, vol. 4, nº 2, páginas 5-16, ISSN: 1644-0730, especialmente resumen; páginas 7-11, 14.   | 1-5                        |
| A         | LIU MING et al. An amperometric biosensor based on ascorbate oxidase immobilized in poly(3,4-ethylenedioxythiophene)/multi-walled carbon nanotubes composite films for the determination of L-ascorbic acid.. Analytical sciences : The International Journal of the Japan Society for Analytical Chemistry, 30/11/2010, vol. 27, nº 5, páginas 477-482, ISSN 1348-2246, <DOI: pubmed:21558652>. especialmente resumen; página 478.                                  | 1-5                        |
| A         | CSIFFARY GABOR et al. Ascorbate Oxidase-Based Amperometric Biosensor for L-Ascorbic Acid Determination in Beverages. Food Technology and Biotechnology, 31/12/2015, vol. 54, nº 1, páginas 31-35, ISSN 1330-9862, especialmente resumen; página 32.</p>  | 1-5                        |

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  
14.10.2019

Examinador  
J. Collado Martínez

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, TXPCN, TXPSPJ, TXPSPK, TXPUS, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE, INSPEC, NPL, XPESP, GOOGLE SCHOLAR