



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
  
ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 281 974**

(51) Int. Cl.:

**H05B 6/80** (2006.01)

**G01N 22/00** (2006.01)

(12)

### TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **99958440 .2**

(86) Fecha de presentación : **17.12.1999**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1151638**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **07.11.2001**

(54) Título: **Aparato de microondas y procedimientos para llevar a cabo reacciones químicas.**

(30) Prioridad: **17.12.1998 DK 1998 01669**

(73) Titular/es: **Biotage AB.**  
**Kungsgatan 76**  
**753 18 Uppsala, SE**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**01.10.2007**

(72) Inventor/es: **Fagrell, Magnus**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**01.10.2007**

(74) Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 281 974 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Aparato de microondas y procedimientos para llevar a cabo reacciones químicas.

5 La presente invención se refiere a un aparato para calentar mezclas de reacción química. En particular, la presente invención se refiere a un aparato que aplica uno o más generadores de microondas basados en semiconductores, lo que hace que el aparato sea adecuado para el tratamiento en paralelo de mezclas de reacción química. La invención se refiere además a procedimientos para llevar a cabo reacciones químicas, por ejemplo, a procedimientos para calentar una pluralidad de muestras simultánea o secuencialmente, a procedimientos para monitorizar una reacción química calentada por microondas y a procedimientos en los que pueden determinarse las condiciones óptimas con respecto a la frecuencia y la potencia aplicada.

10 Uno de los principales obstáculos para un químico orgánico en la actualidad es el tiempo que pasa buscando rutas eficaces en la síntesis orgánica. Como ejemplo, el rendimiento promedio hace unos diez años en la industria farmacéutica era de aproximadamente de 25 a 50 sustancias completas por químico al año, dando como resultado una cantidad igual de nuevas entidades químicas como posibles nuevos fármacos candidatos. En la actualidad, la cifra es de varios cientos por año y se espera que pronto estará en la región de los 1000 por año.

15 Por tanto, los retos para las industrias farmacéuticas y los químicos orgánicos incluyen la identificación de formas para reducir el tiempo en el desarrollo de fármacos, la identificación de formas para crear diversidad química, el desarrollo de nuevas rutas de síntesis y quizás la reintroducción de las viejas rutas sintéticas "imposibles". Además, constituye un reto constante alcanzar clases de entidades químicas totalmente nuevas.

20 Tal como resultará evidente a partir de lo que sigue, la química asistida por microondas ofrece una forma de sortear por lo menos algunos de los problemas mencionados anteriormente, concretamente

- acelerar el tiempo de reacción con varios órdenes de magnitud,
- mejorar el rendimiento de las reacciones químicas,
- 30 • ofrecer una mayor pureza del producto resultante debido al calentamiento rápido y así evitar las impurezas de las reacciones laterales, y
- llevar a cabo reacciones que no son posibles con las técnicas convencionales de calentamiento térmico.

35 La química asistida por microondas se ha utilizado durante muchos años. Sin embargo, los aparatos y procedimientos se han basado en gran medida en hornos microondas domésticos convencionales. Los hornos microondas domésticos tienen una cavidad multimodal y la energía se aplica a una frecuencia fija a 915 MHz o 2.450 MHz (dependiendo del país). También se ha informado de la utilización de cavidades monomodales, véase por ejemplo, las patentes US nº 5.393.492 y US nº 4.681.740.

40 El mercado de los generadores de microondas está totalmente dominado por los magnetrones. En algunas situaciones se utilizan tubos de ondas progresivas (TWT) para amplificar una señal de microondas. Hay varias desventajas relacionadas con los aparatos convencionales. Algunas de ellas se enumerarán a continuación:

45 Es una desventaja que la distribución de la energía en los hornos microondas convencionales no sea uniforme. Esto conduce a una temperatura variable en la muestra dependiendo de la posición de la muestra en el horno. Además, la distribución de energía no uniforme hace difícil obtener resultados reproducibles. Este efecto es especialmente perceptible si se utiliza una serie de portamuestras tal como una placa de microtitulación (por ejemplo, con 96 pocillos).  
50 La rotación de la muestra en el horno no mejora significativamente la reproducibilidad.

55 En los sistemas convencionales la potencia proporcionada a cada muestra en una serie de muestras sólo puede calcularse como una potencia promedio por muestra dividiendo la potencia de entrada medida entre el número total de muestras. Debido a la distribución de energía no uniforme en la cavidad, este cálculo sólo proporcionará una estimación aproximada de la potencia aplicada a cada muestra.

60 Una forma de controlar la reacción es monitorizar la presión y la temperatura en todos los pocillos individuales. Esto puede dar información de las condiciones en un pocillo especificado durante una prueba particular. El cambio en la posición dará un resultado diferente, lo que conduce a una escasa reproducibilidad. Una forma alternativa de intentar obtener una distribución de energía uniforme es colocar una gran carga en la cavidad con el fin de absorber energía más uniformemente.

65 Los resonadores de cavidad monomodal ofrecen una posibilidad de alta eficacia y patrones de calentamiento controlado en cargas pequeñas. Sin embargo, las propiedades dieléctricas de la carga a menudo cambian considerablemente con la temperatura, dando como resultado variaciones muy grandes en la absorción de potencia puesto que se utiliza un generador de microondas de frecuencia esencialmente constante. Por tanto, el proceso se vuelve difícil de predecir.

# ES 2 281 974 T3

Una desventaja adicional del sistema convencional se refiere al hecho de que los magnetrones normalmente sólo proporcionan una frecuencia fija o un ajuste menor entorno a la frecuencia central del magnetrón. Además, los magnetrones tienen un comportamiento impredecible y son extremadamente sensibles a la temperatura, especialmente cuando disminuye la eficacia, hacia el final de su "vida".

5 Los TWT se han utilizado como amplificadores de frecuencia variable. Sin embargo, los TWT son bastante caros y a menudo muy complicados de utilizar. Además, los TWT requieren un tiempo de calentamiento antes de comenzar, lo que significa que los TWT no pueden conectarse y desconectarse rápidamente. Además, el desgaste de los TWT está asociado con altos costes de mantenimiento.

10 Tanto los magnetrones como los TWT requieren un suministro de potencia de alto voltaje, lo que constituye una desventaja en vista de las complicaciones y el riesgo.

15 En la patente US nº 5.521.360 se describe un aparato de calentamiento de frecuencia variable para proporcionar microondas en una cavidad de horno. El aparato comprende un generador de microondas controlado por voltaje, un preamplificador controlado por voltaje y un amplificador de potencia. El amplificador de potencia puede ser un TWT. El TWT está conectado funcionalmente a la cavidad del horno. La potencia suministrada al horno se determina midiendo la potencia reflejada desde el horno utilizando un ergómetro. Con la colocación de una muestra en el horno de cavidad, la potencia puede acoplarse a la muestra haciendo que la temperatura de la muestra cambie.

20 20 El sistema descrito en la patente US nº 5.521.360 adolece de las desventajas mencionadas anteriormente con respecto a, por ejemplo, los TWT.

25 Una desventaja adicional del aparato descrito en el documento US nº 5.521.360 es que está limitado a utilizarse sólo con un horno de una cavidad, es decir, no es posible el calentamiento paralelo de una pluralidad de muestras utilizando diferentes parámetros de calentamiento.

30 La patente US nº 5.796.080 da a conocer un sistema de tratamiento de microondas para controlar simultáneamente una pluralidad de reacciones químicas a partir de una única fuente de microondas, que controlan individualmente una pluralidad de celdas de reacción mediante la utilización de una única guía de ondas.

35 La patente US nº 5.648.038 da a conocer sistemas y procedimientos para monitorizar la pieza de trabajo y las características del material de la pieza de trabajo utilizando energía de microondas emitida a partir de una única fuente de microondas. Los datos de reflexión de una o más piezas de trabajo, o materiales de la pieza de trabajo, pueden monitorizarse y compararse con un conjunto predeterminado de datos de reflexión de potencia.

40 Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un aparato que comprende un primer generador electromagnético basado en un semiconductor, y un primer aplicador para sujetar una muestra, aparato que puede realizar un calentamiento controlado de la muestra.

45 Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un aparato que puede realizar el tratamiento paralelo de muchas muestras, con ajustes individuales de los parámetros del proceso tales como la frecuencia, potencia, temperatura, presión etc.

50 Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un aparato que puede monitorizar muchas muestras en paralelo, con la monitorización individual de los parámetros del proceso tales como la frecuencia, potencia, temperatura, presión etc.

55 Todavía otro objetivo de la presente invención es proporcionar un aparato que puede controlar muchas muestras en paralelo, con ajustes individualmente de los parámetros del proceso tales como la frecuencia, potencia, temperatura, presión etc.

Otro objetivo adicional de la presente invención es proporcionar un aparato en el que las muestras pueden calentarse uniformemente utilizando diversos aplicadores.

60 Otro objetivo adicional de la presente invención es proporcionar un aparato en el que puede variarse la frecuencia de la energía aplicada.

Otro objetivo adicional de la presente invención es proporcionar un aparato en el que es posible evaluar y separar los efectos térmicos y químicos sobre la capacidad de absorción electromagnética y el comportamiento de la muestra.

65 Otro objetivo adicional de la presente invención es proporcionar un aparato en el que es posible medir la temperatura en la vasija de reacción monitorizando el cambio en la frecuencia de resonancia de un segundo material introducido en la cámara de reacción. Este material podría ser un cristal, un material semiconductor o cualquier otro material en estado sólido con una temperatura dependiente de la frecuencia de resonancia.

Los objetivos mencionados anteriormente se cumplen proporcionando, en un primer aspecto, un aparato para proporcionar radiación electromagnética a un primer aplicador, comprendiendo dicho aparato:

# ES 2 281 974 T3

- a) unos primeros medios de generación para generar radiación electromagnética,
- b) unos primeros medios de amplificación para amplificar la radiación electromagnética generada,
- 5 c) unos medios para guiar la radiación electromagnética amplificada al primer aplicador, y
- d) unos medios para controlar los primeros medios de generación y los primeros medios de amplificación,

10 en el que la radiación electromagnética generada comprende una pluralidad de frecuencias, y en el que los primeros medios de generación y los primeros medios de amplificación están constituidos esencialmente por componentes de semiconductor.

15 Al decir constituidos esencialmente por componentes de semiconductor se quiere decir que los componentes que generan la radiación electromagnética, tales como los transistores de potencia requeridos, son transistores basados en semiconductor.

20 En el presente contexto, los medios de guiado deben interpretarse como cualquier medio que puede guiar la radiación electromagnética, tales como cables o canales metálicos, tales como cables coaxiales o guías de ondas. Los medios de guiado también pueden comprender componentes activos y/o pasivos, tales como acopladores, divisores, separadores, combinadores, aisladores, ergómetros, cargas artificiales, analizadores de espectro, etc.

25 Con el fin de llevar a cabo el tratamiento paralelo de una pluralidad de muestras, el aparato puede comprender un segundo aplicador y medios de guiado adecuados para guiar por lo menos parte de la radiación electromagnética amplificada al segundo aplicador. Generalmente, puede ser favorable poder proporcionar radiación electromagnética con diferentes frecuencias al primer y al segundo aplicadores. Por tanto, el aparato puede comprender unos segundos medios de generación para generar radiación electromagnética a una pluralidad de frecuencias y unos segundos medios de amplificación para amplificar la radiación electromagnética generada por los segundos medios de generación. Con el fin de proporcionar radiación electromagnética a una pluralidad de frecuencias, los segundos medios de generación y los segundos medios de amplificación están constituidos preferentemente por componentes de semiconductor, tales 30 como transistores de potencia basados en semiconductor. Ejemplos de tales transistores de potencia son transistores de potencia de silicio-carburo. Es evidente que el mismo tipo de transistores puede utilizarse en los primeros medios de generación y los primeros medios de amplificación.

35 Para aumentar la flexibilidad del aparato, los medios de guiado pueden comprender medios para guiar la radiación electromagnética amplificada por los segundos medios de amplificación al segundo aplicador. Además, los medios de guiado pueden comprender adicionalmente medios para guiar por lo menos parte de la radiación electromagnética amplificada por los segundos medios de amplificación al primer aplicador.

40 Además, con el fin de aumentar adicionalmente la flexibilidad del aparato, los medios de guiado pueden comprender medios para cambiar la radiación electromagnética amplificada por los primeros medios de amplificación entre el primer y el segundo aplicadores. Además, los medios de guiado pueden comprender medios para cambiar la radiación electromagnética amplificada por los segundos medios de amplificación entre el primer y el segundo aplicadores.

45 El primer y el segundo aplicadores pueden ser de diversos tipos. Es preferible que el primer y el segundo aplicadores se seleccionen del grupo que está constituido por aplicadores cuasiestáticos, de campo próximo, de campo de superficie, de cavidad monomodal y de cavidad multimodal.

50 La frecuencia de la radiación electromagnética generada por el primer y el segundo medios de generación puede variar según una señal de control primera y segunda, respectivamente. Estas señales de control primera y segunda pueden proporcionarse mediante los medios de control. De manera similar, la amplificación del primer y el segundo medios de amplificación puede variar según una señal de control primera y segunda, respectivamente. Además, estas señales pueden proporcionarse por los medios de control. Los medios de control pueden comprender un ordenador de uso general. Tal ordenador de uso general puede formar parte de una red neuronal.

55 La frecuencia de la radiación electromagnética generada por el primer y el segundo medios de generación está dentro del intervalo de 300 MHz a 300 GHz, tal como dentro del intervalo de 0,5 a 3 GHz o dentro del intervalo de 50 a 100 GHz.

60 En un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para llevar a cabo una pluralidad de reacciones químicas simultánea o secuencialmente, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- a) proporcionar una primera muestra en un primer aplicador,
- b) proporcionar una segunda muestra en un segundo aplicador, y
- 65 c) aplicar radiación electromagnética a la primera y a la segunda muestras simultánea o secuencialmente durante un periodo de tiempo predeterminado, teniendo dicha radiación electromagnética una frecuencia en el intervalo de 300 MHz a 300 GHz.

## ES 2 281 974 T3

La radiación electromagnética puede proporcionarse específica e independientemente en cada una de las muestras. Además, la radiación electromagnética aplicada puede comprender uno o más impulsos. Las muestras pueden recogerse en conjuntos que comprenden por lo menos dos soportes. La propia muestra puede ser una mezcla de PCR. Durante la exposición de una muestra, la radiación electromagnética puede aplicarse en ciclos de por lo menos dos etapas, en 5 las que la muestra se enfriá por lo menos durante parte de cada ciclo.

Preferentemente, la radiación electromagnética se proporciona utilizando un aparato según el primer aspecto de la presente invención.

10 En un tercer aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para llevar a cabo una reacción química, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- a) proporcionar una muestra en un aplicador,
- 15 b) aplicar radiación electromagnética a la muestra durante un primer periodo de tiempo predeterminado a un primer nivel de potencia y variar la frecuencia de la radiación electromagnética entre dos valores predeterminados y con una resolución predeterminada, y determinar un factor de reflexión de la radiación electromagnética desde la muestra a por lo menos algunas (dos) de las frecuencias cubiertas por el intervalo de los dos valores predeterminados mediante la determinación del nivel de señal de realimentación, obteniendo así un primer conjunto de factores de reflexión,
- 20 c) cambiar las propiedades físicas y/o químicas de la muestra,
- d) aplicar radiación electromagnética al aplicador a un segundo nivel de potencia y variar la frecuencia de la radiación electromagnética entre dos valores predeterminados y con una resolución predeterminada, estando incluido el intervalo definido por los valores predeterminados en la etapa b), y determinar un factor de reflexión de radiación electromagnética desde la muestra a por lo menos algunas (dos) de las frecuencias cubiertas por el intervalo de los dos valores predeterminados mediante la determinación del nivel de señal de realimentación, obteniendo así un segundo conjunto de factores de reflexión, y
- 30 e) repetir las etapas c) y d) hasta que la diferencia en los factores de reflexión calculada como la diferencia matemática (sustracción) entre las frecuencias asociadas con el primer y el segundo conjuntos de factores de reflexión esté dentro de un intervalo predeterminado.

35 La etapa c) puede comprender aplicar radiación electromagnética para calentar la muestra. Alternativamente o además, la muestra también puede enfriarse y/o puede añadirse un reactivo a la muestra. Además, si la diferencia en los factores de reflexión está dentro del intervalo predeterminado tras la primera ejecución de las etapas c) y d), naturalmente ya no se aplicará la etapa e). Además, si la diferencia está próxima a incluirse dentro del intervalo predeterminado, podría no resultar económico realizar la etapa e), y podría omitirse.

En un cuarto aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para llevar a cabo una reacción química, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- a) proporcionar una muestra en un aplicador,
- b) aplicar radiación electromagnética a la muestra, teniendo la radiación electromagnética una frecuencia de partida,
- 50 c) variar la frecuencia de la radiación electromagnética aplicada entre dos valores predeterminados y con una resolución predeterminada,
- d) determinar un factor de reflexión de radiación electromagnética desde la muestra determinando un nivel de una señal de realimentación durante por lo menos parte de la variación de la frecuencia de la radiación electromagnética, y
- 55 e) determinar, desde el nivel de la señal de realimentación, la frecuencia de la radiación electromagnética en la que el factor de reflexión esté dentro de un intervalo predeterminado.

60 En un quinto aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para llevar a cabo una reacción química, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- a) proporcionar una muestra en un aplicador,
- b) aplicar radiación electromagnética a la muestra, teniendo la radiación electromagnética una frecuencia de partida,
- 65 c) variar la frecuencia de la radiación electromagnética progresivamente en torno a la frecuencia de partida,

## ES 2 281 974 T3

- d) determinar un factor de reflexión de radiación electromagnética desde la muestra determinando un nivel de una señal de realimentación a la frecuencia de partida, a una frecuencia progresivamente inferior que la frecuencia de partida y a una frecuencia progresivamente superior que la frecuencia de partida,
- 5 e) repetir la etapa b) a d) hasta que el factor de reflexión es mínimo.

En un sexto aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para llevar a cabo una reacción química, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- 10 a) proporcionar una muestra en un aplicador,
- b) aplicar radiación electromagnética a la muestra, teniendo la radiación electromagnética una frecuencia de partida,
- 15 c) variar la frecuencia de la radiación electromagnética progresivamente en torno a la frecuencia de partida,
- d) determinar un factor de reflexión de radiación electromagnética desde la muestra determinando un nivel de una señal de realimentación a la frecuencia de partida, a una frecuencia progresivamente inferior que la frecuencia de partida y a una frecuencia progresivamente superior que la frecuencia de partida,
- 20 e) comparar el factor de reflexión determinado con un factor de reflexión predeterminado,
- f) ajustar la frecuencia de partida a una frecuencia de modo que el factor de reflexión determinado esté dentro de un intervalo predeterminado entorno al factor de reflexión predeterminado, y
- 25 g) repetir la etapa c) a f) con tanta frecuencia como sea deseable.

La frecuencia de partida puede estar en el intervalo de 300 MHz a 300 GHz. Los valores predeterminados entre los que puede variarse la frecuencia de la radiación electromagnética están en el intervalo de 300 MHz a 300 GHz, tal como dentro del intervalo de 0,5 a 3 GHz o dentro del intervalo de 50 a 100 GHz. Preferentemente, las reacciones según el tercer, cuarto, quinto y sexto aspectos se llevan a cabo utilizando un aparato según el primer aspecto de la presente invención.

En un séptimo aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para llevar a cabo una reacción química, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- a) proporcionar una muestra en un aplicador,
- 40 b) aplicar radiación electromagnética a la muestra en forma de un primer impulso con una forma predeterminada y caracterizar un impulso reflejado desde el aplicador realizando una operación matemática para obtener un primer espectro reflejado,
- c) cambiar las propiedades físicas y/o químicas de la muestra,
- 45 d) aplicar radiación electromagnética a la muestra en forma de un segundo impulso con una forma predeterminada y caracterizar un impulso reflejado desde el aplicador realizando una operación matemática para obtener un segundo espectro reflejado,
- e) repetir la etapa c) y d) hasta que la diferencia entre el primer y el segundo espectros reflejados calculados como la diferencia matemática (sustracción) entre el primer y el segundo espectros esté dentro de un intervalo predeterminado.

Si la diferencia en los factores de reflexión está dentro del intervalo predeterminado tras la primera ejecución de la etapa c) y d), naturalmente ya no se aplicará la etapa e). Además, si la diferencia está próxima a incluirse dentro del intervalo predeterminado, podría no resultar económico realizar la etapa e), y podría omitirse. Preferentemente, la operación matemática para obtener el primer y el segundo espectros de reflexión comprende la Transformación de Fourier, pero también pueden ser aplicables operaciones alternativas. El procedimiento según el séptimo aspecto de la presente invención puede realizarse utilizando un aparato según el primer aspecto de la presente invención.

60 En un octavo aspecto, la presente invención se refiere a la utilización de un aparato según el primer aspecto de la presente invención para calentar por lo menos una muestra que comprende por lo menos un compuesto orgánico. Cada una de las muestras puede comprender además uno o más reactivos y opcionalmente un catalizador. Es preferible que el aparato según el primer aspecto de la presente invención esté configurado para calentar dos o más mezclas de reacción, tales como mezclas de PCR, simultánea o secuencial o intermitentemente.

65 La frecuencia de la radiación electromagnética, el nivel de la potencia irradiada y el periodo de aplicación de la radiación electromagnética se determina mediante valores preseleccionados para la reacción química en cuestión, estando almacenados tales valores preseleccionados en unos medios de almacenamiento asociados con los medios de

# ES 2 281 974 T3

control. Los datos correspondientes de la frecuencia y el factor de reflexión pueden almacenarse en una memoria para el tratamiento adicional. El tratamiento adicional puede realizarse en una red neuronal.

En un noveno aspecto, la presente invención se refiere a un kit para hacer reaccionar químicamente especies químicas con un reactivo opcionalmente bajo la acción de un catalizador, en el que la reacción química se lleva a cabo en un aparato según el primer aspecto de la presente invención, comprendiendo dicho kit:

- a) un portamuestras que comprende por lo menos uno del reactivo y el catalizador opcional,
- 10 b) unos medios de almacenamiento electrónico que comprenden datos relativos a la reacción química entre las especies químicas y el reactivo bajo la acción opcional del catalizador, estando adaptados dichos medios de almacenamiento y aparato para recuperar los datos de los medios de almacenamiento y procesar dichos datos para controlar la aplicación de una radiación electromagnética a dicho portamuestras.

15 Este aspecto puede comprender adicionalmente instrucciones con respecto a la adición de las especies químicas al portamuestras.

La figura 1 ilustra las posibles combinaciones de los tres módulos principales en un aparato según la invención.

20 La figura 2 ilustra una forma de realización que comprende el aparato según la presente invención.

La figura 3 ilustra un aplicador montado en una placa de microtitulación.

25 La figura 4 ilustra una placa de microtitulación con un conductor de microondas montado simétricamente en el centro de cuatro pocillos.

La figura 5 ilustra una placa de microtitulación con un aplicador de tipo transmisión con las piezas 12 y 13 de entrada y salida.

30 La figura 6 ilustra una placa de microtitulación con una antena individual para cada pocillo de muestra.

Tal como se mencionó anteriormente, la presente invención proporciona un aparato y procedimientos para llevar a cabo reacciones químicas, preferentemente reacciones químicas realizadas en paralelo. Una característica particular interesante del aparato según la invención es la utilización de componentes de semiconductor en los medios de 35 generador y amplificación de la señal. Tal como resultará claro a partir de lo siguiente, el generador de señal de semiconductor ofrece hasta ahora ventajas no realizadas en la síntesis química y, por tanto, también en los procedimientos según la invención.

El principal fin de utilizar microondas u otra radiación electromagnética en un aparato y en los procedimientos 40 para llevar a cabo reacciones químicas es calentar y/o catalizar reacciones que tienen lugar en una muestra expuesta a radiación de microondas. Preferentemente, la muestra se coloca en un portamuestras en el aplicador del aparato.

Además, según el aparato y el procedimiento según la presente invención, el generador de señal puede controlarse 45 en respuesta del nivel real de energía de la señal suministrada a, y/o absorbida en, el aplicador. Esta realimentación hace factible controlar, por ejemplo, la temperatura de las muestras en un grado muy alto.

El término microondas se pretende que signifique radiación electromagnética en el intervalo de frecuencia de 300 MHz a 300 GHz. Preferentemente, el aparato y los procedimientos según la invención se llevan a cabo dentro del intervalo de frecuencia de 500 MHz a 300 GHz, preferentemente dentro del intervalo de frecuencia de 500 MHz a 30 50 GHz, tal como 500 MHz a 10 GHz, tal como 2 a 30 GHz, tal como 300 MHz a 4 GHz, tal como 2 a 20 GHz, tal como 0,5 a 3 GHz, o dentro del intervalo de 50 a 100 GHz.

La figura 1 ilustra una forma de realización preferida de un aparato según la presente invención. El número n de 55 generadores 28 de señal que se amplifican por separado mediante los amplificadores 29 de señal están conectados al número m de aplicadores 24 separados a través de la red 23 de distribución, representada por el recuadro en el centro. Se observa que todos los componentes están conectados al suministro 44 de potencia y al controlador 45. La figura 1 ilustra el tratamiento paralelo de las muestras, y que los generadores y aplicadores están controlados preferentemente en respuesta al acoplamiento de la energía de microondas en la red de distribución, el aplicador o la muestra. Debe mencionarse que cada aplicador 24 puede contener una o más muestras.

60 Si la potencia promedio que va a suministrarse a cada aplicador 24 es inferior que la potencia de salida máxima de un amplificador 29, el número de aplicadores 24 puede superar el número de generadores 28 y amplificadores 29, de ahí que n < m. Si la potencia promedio que va a suministrarse a cada aplicador 24 es mayor que la potencia de salida máxima de un amplificador 29, la potencia para cada aplicador puede originarse a partir de varios amplificadores. De 65 ahí que la salida de la potencia desde algunos amplificadores pueda distribuirse a varios aplicadores diferentes. En este caso, el número de aplicadores 24 puede ser inferior al número de generadores 28 y de amplificadores 29, de ahí que n > m. Este guiado y acoplamiento de la radiación entre amplificadores y aplicadores se lleva a cabo mediante la red 23 de distribución. Cada amplificador y aplicador también puede acoplarse en pares, es decir, n = m.

## ES 2 281 974 T3

A continuación se describirán en más detalle los componentes individuales comprendidos en el aparato, incluyendo algunas características preferidas.

Los medios de generación 28 y los medios de amplificación 29 están constituidos esencialmente por componentes 5 de semiconductor, con el fin de poder generar una señal de entre 300 MHz y 300 GHz, pueden necesitarse varios generadores basados en semiconductor individuales.

La potencia de las señales generadas varía continuamente entre 0 y 1 W. El generador de señal puede impulsar un 10 amplificador de señal y/o un amplificador de potencia. Además, el generador de señal puede controlarse/programarse a partir del controlador 45. El control funciona en la forma de controlar la amplitud, frecuencia, ancho de banda de la frecuencia, forma de la señal, forma del impulso o duración de la señal/impulso y cualquier combinación de dos o más funciones al mismo tiempo.

Los generadores de microondas basados en semiconductores y amplificadores proporcionan una variedad de ventajas con respecto a los TWT, giotrones y magnetrones convencionales. Ejemplos de estas ventajas son:

- Fácil control de la frecuencia y la potencia de salida.
- Pequeñas dimensiones físicas.
- No se requiere alto voltaje, lo que mejora la seguridad y la fiabilidad.
- No se requiere tiempo de calentamiento, por lo que está inmediatamente disponible.
- No tiene piezas de desgaste, lo que reduce significativamente los costes de mantenimiento y mejora el tiempo útil del aparato,
- MTBF muy superior y MTTR inferior en comparación con los TWT.
- Mejor ganancia de planeidad de las curvas en comparación con los TWT.
- Menor ruido en comparación con los TWT.

Los medios de amplificación 29 pueden comprender un amplificador 29 de señal y un amplificador 30 de potencia, 35 tal como se muestra en la figura 2. El amplificador 29 de señal es un dispositivo basado en semiconductor que está adaptado para amplificar la señal desde el generador de señal. La ganancia de los medios de amplificación puede ajustarse variando el nivel de una señal de control. Por tanto, la amplitud de la salida puede seleccionarse por el operario.

El amplificador 30 de potencia se proporciona para amplificar adicionalmente la señal desde el amplificador de señal. El amplificador de potencia también es un dispositivo basado en semiconductor con una ganancia ajustable. La ganancia se varía variando el nivel de una señal de control.

La potencia de calentamiento aplicada al aplicador está preferentemente en el intervalo de 1 a 2.000 W, dependiendo 45 del tamaño de la muestra y de la reacción química en cuestión. Los intervalos típicos son de 1 a 300 W tal como 5 a 50 W, 10 a 1.000 W tal como 30 a 100 W, y 50 a 2.000 W tal como 100 a 1.000 W.

La potencia necesaria de una radiación electromagnética utilizada para monitorizar o "explorar" (véase más adelante) normalmente sólo es una fracción de la potencia necesaria para calentar. Los intervalos típicos son de 0,05 a 50 100 W tal como 0,1 a 10 W. El tiempo de aplicación también varía dependiendo de la muestra, el procedimiento y la reacción química en cuestión. Los tiempos de reacción típicos son de 0,1 s a 2 horas, tal como de 0,2 a 500 s o 0,5 a 100 s.

La señal amplificada desde los medios de amplificación se distribuye a uno o más aplicadores utilizando una red 55 de distribución.

La red de distribución puede comprender muchas características. La figura 2 muestra una realización del aparato que comprende una selección de estas características. La figura 2 es sólo un ejemplo que ilustra cómo pueden ponerse en práctica las diferentes características, y el orden de las características en la figura 2 no es limitativo. Las siguientes 60 características pueden estar comprendidas en la red de distribución:

- distribuidores 31
- acopladores 32 bidireccionales
- ergómetros 34 - 38
- cargas 33 artificiales

## ES 2 281 974 T3

- divisores 51
- combinadores 50
- 5 - analizadores de espectro

algunas de estas características se describirán a continuación con referencia a la figura 2.

El distribuidor 31 evita que la potencia reflejada desde el aplicador 24 de microondas y la red 23 de distribución entre en el amplificador 30 de potencia. En lugar de eso, la potencia reflejada se dirige a una carga 33 ficticia conectada opcionalmente a un primer ergómetro 34. Algunos generadores y amplificadores basados en semiconductor, por ejemplo, los generadores/amplificadores de silicio-carburo, no resultan afectados por las microondas de retrodispersión, y el distribuidor 31 no es necesario cuando se utilizan tales generadores/amplificadores.

15 El distribuidor 31 está adaptado para conectarse operativamente entre los medios de amplificación y la red de distribución, y tiene por lo menos un terminal de entrada, un terminal de salida y por lo menos un terminal de entrada/salida combinado. El terminal de entrada está conectado operativamente al terminal de salida de los medios de amplificación y el terminal de entrada/salida combinados está conectado operativamente a la red de distribución. Además, la carga 33 y el primer ergómetro 34 pueden incorporarse en el aparato en conexión con el distribuidor.

20 La red de distribución puede comprender un acoplador, tal como un acoplador 32 bidireccional, comprendiendo dicho acoplador un terminal de entrada, por lo menos dos terminales de salida y un terminal de entrada/salida combinados. El terminal de entrada puede conectarse operativamente al terminal de salida del distribuidor o amplificador y el terminal de salida está conectado operativamente a otras piezas de la red de distribución.

25 El acoplador bidireccional dirige una fracción de la potencia de entrada y/o potencia reflejada a dos ergómetros 35 y 36. El tercer ergómetro 36 mide una parte de la potencia transmitida en la dirección hacia el/los aplicador(es), mientras que el segundo ergómetro 35 mide una parte de la potencia transmitida en la dirección opuesta, es decir alejándose del/de los aplicador(es). Los medios de determinación de potencia pueden proporcionar señales al controlador 45.

30 La red de distribución también puede comprender combinadores 50 y divisores 51 con el fin de facilitar el tratamiento paralelo. Estos pueden incluir conmutadores, de modo que pueda variarse la estructura de la red.

35 En general, la red de distribución se proporciona para distribuir la radiación electromagnética generada y amplificada utilizando el generador de señal de semiconductor y los amplificadores de semiconductor respectivamente. La señal generada y amplificada puede distribuirse a un único o a una pluralidad de aplicadores.

40 Un ejemplo de una red de este tipo son cables coaxiales con divisores con el fin de separar la línea de potencia/señal en tantas líneas de potencia/señal como sea necesario para alimentar todos los aplicadores separados. Formas alternativas de llevar a cabo una red de distribución es utilizar guías de ondas, líneas de cintas, etc. La red de distribución puede ser una parte integrada del diseño del aplicador, tal como se mostrará en las figuras 3, 4, 5 y 6.

45 Los aplicadores tal como el 24 pueden ser de diversos tipos. Según la presente invención algunas características están comprendidas preferentemente en el aplicador. Algunas de estas características preferidas se describirán a continuación con referencia a la figura 2. Una descripción más detallada de varios aplicadores realizados se facilitará más adelante.

Los requisitos mínimos de un aplicador son:

- 50 a) un terminal 12 de entrada,
- b) un portamuestras 1, y
- c) unos medios para limitar la energía de microondas desde el terminal 12 de entrada.

55 Con el fin de controlar el funcionamiento del generador de señal y el amplificador en respuesta a la potencia absorbida en la muestra (o reflejada por el aplicador), tienen que obtenerse algunas medidas de la potencia absorbida total en, y reflejada por, el aplicador.

60 Con el fin de determinar la cantidad absorbida de potencia (o energía) en la muestra, el aplicador puede comprender medios para determinar la intensidad de campo electromagnético. El aplicador puede comprender un terminal de salida conectado operativamente a una carga 33 que absorbe la potencia reflejada desde el aplicador. Además, los cuartos medios de medición 37 de la potencia están conectados operativamente a la carga 33 y los medios de control 45. Además, una antena de cuadro 13 puede actuar como medio para recibir microondas. La antena de cuadro está conectada a unos quintos medios de medición de la potencia 38 y a los medios de control 45.

La carga 33 y la antena de cuadro 13 anteriormente mencionadas se utilizan para monitorizar y recibir las microondas transmitidas a través de la muestra 1 mediante la transferencia de la energía a los ergómetros 37 ó 38. La diferencia

## ES 2 281 974 T3

entre la potencia irradiada a la muestra y la potencia transmitida/reflejada por la muestra, medida con ergómetros respectivos dependiendo de la configuración exacta, indica la suma de las pérdidas de energía en el sistema y la energía absorbida en la muestra. El aplicador puede calibrarse midiendo las pérdidas del sistema del aplicador no cargado antes de que la muestra se introduzca en el aplicador. La energía absorbida en la muestra caracterizará a la muestra  
5 en lo que se refiere a las propiedades dieléctricas a una temperatura y frecuencia dadas. Mediante la exploración de la frecuencia dentro de un intervalo dado, por ejemplo, de 1 a 4 GHz, y la monitorización de las señales desde la carga 33 o la antena 13 de recepción junto con la señal reflejada desde 35, será posible seguir el progreso de una reacción química.

10 El aplicador también puede incluir detectores conectados operativamente al controlador con el fin de monitorizar y controlar la aplicación de energía de microondas a la muestra o muestras. Pueden comprenderse detectores para medir cualquier parámetro que caracterice el grado del procedimiento o reacción, tal como la presión, la temperatura, el pH, y la conductividad, durante el calentamiento (y cualquier fase intermedia sin calentamiento de la misma). Un posible detector de temperatura para cavidades de microondas se describe en el documento WO 94/24532. La salida desde 15 la que pueden proporcionarse tales detectores también puede proporcionar una medida de la cantidad de potencia absorbida en la muestra.

20 Los analizadores de espectro pueden conectarse a los medios de medición de la potencia, y los medios de medición de la potencia pueden ser selectivos de la frecuencia. Si la señal electromagnética dirigida al aplicador es dependiente del tiempo, por ejemplo, impulsada, el análisis del tiempo y los espectros de frecuencia de un impulso irradiado en la muestra, y la señal reflejada/transmitida, pueden facilitar información valiosa de la muestra. Este análisis puede 25 comprender la transformación de Fourier de las señales medidas. Esta característica no está conectada específicamente al aplicador, sino que es una combinación de mediciones de los ergómetros en diferentes ubicaciones en el sistema, junto con medios de análisis que pueden estar comprendidos en el controlador.

25 El aplicador puede ajustarse preferentemente de modo que puede ajustarse para soportar modos dependiendo de la frecuencia utilizada. Debe observarse que el aplicador puede tener un campo próximo, cuasiestático, campo de superficie, cavidad monomodal o cavidad multimodal, así como una cavidad de extremo abierto. El aplicador puede ajustarse para hacer que su frecuencia de resonancia corresponda a la frecuencia de la señal conectada al terminal 12 de entrada, por ejemplo, ajustando ciertos parámetros geométricos, tales como una varilla de resonancia, de él.

30 La muestra 1 puede colocarse directamente en el aplicador, pero la muestra se coloca normalmente en un portamuestras 2 abierto o cerrado. Tal portamuestras podría ser una parte integrada del aplicador o una vasija de reacción separada de cualquier material adecuado para su utilización en aplicaciones de calentamiento de microondas. Tal como 35 conoce la persona experta en la materia, el material que constituye el portamuestras preferentemente no debe absorber la energía de microondas. Pueden utilizarse diversos tipos de polímeros y vidrios. Específicamente, puede utilizarse preferentemente diversos tipos de bandejas, placas de microtitulación, etc., cuando se calienta simultáneamente una pluralidad de muestras. Una pluralidad de portamuestras puede montarse en un conjunto de portamuestras, pudiendo 40 generar tal configuración un calentamiento muy informe de todas las muestras simultáneamente.

45 El portamuestras además puede proporcionarse con puertos de entrada y salida de la muestra para transferir la muestra dentro y fuera del aplicador y el portamuestras durante o entre las etapas del procedimiento o los procedimientos completos.

50 El espacio libre en el aplicador puede llenarse con un gas inerte con el fin de evitar la reacción entre los gases y la muestra. Sin embargo se prefiere que el portamuestras incluya una tapa. Se prefiere que el aplicador incluya por lo menos una entrada/salida para promocionar una atmósfera inerte al espacio por encima de la muestra. Alternativamente, el espacio por encima de la muestra se llena con un gas reactivo, por ejemplo, H<sub>2</sub>, que es útil en reacciones de hidrogenación.

55 El aplicador preferentemente debe poder mantener una alta presión interna, o bien formada por la reacción química o formada intencionadamente para crear una atmósfera de alta presión como un parámetro de la reacción. La alta presión interna normalmente se utiliza como un procedimiento para aumentar la temperatura de la muestra por encima del punto de ebullición para la fase líquida. La presión puede mantenerse a un nivel predeterminado o puede pre establecerse como un nivel que no debe sobrepasarse ni ser inferior. Un sistema de presión incorpora una función de válvula de seguridad para la protección de los componentes presurizados y la seguridad personal.

60 El rápido enfriamiento de las muestras puede ser una característica muy práctica, que puede comprenderse en el aplicador. Normalmente, cuando se enfrian las muestras sin utilizar ningún medio para el enfriamiento, el tiempo para que la muestra alcance la temperatura ambiente normalmente es bastante largo, lo que conduce a reacciones laterales no deseadas y a otros fenómenos no deseados. Por tanto, puede utilizarse un enfriamiento forzado para minimizar el tiempo que tarda la muestra en alcanzar una temperatura predeterminada. El dispositivo de enfriamiento puede ser de cualquier tipo, por ejemplo, aire circulante, agua circulante u otros medios de enfriamiento mediante líquido, elementos Peltier, etc. El dispositivo de enfriamiento también puede utilizarse para controlar la temperatura durante el ciclo del procedimiento. Una aplicación importante del dispositivo de enfriamiento es cuando es deseable el ciclado de la temperatura de la muestra. Se utiliza un ciclo de temperatura programado previamente para controlar el calentamiento de la muestra con microondas y el enfriamiento de la muestra utilizando el dispositivo de enfriamiento.

# ES 2 281 974 T3

Un ejemplo de una aplicación de este tipo es el ciclado de la temperatura para realizar la reacción de PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

El controlador 45 tiene una función central, tal como se muestra en la figura 2. El dispositivo de control es un sistema basado en ordenador para controlar (control del tiempo de ejecución) y programar el aparato y todos sus módulos/componentes.

El controlador 45 podría conectarse a uno o más PC en una red como una interfaz de usuario y/o dispositivo informático para uno o varios aparatos de microondas. De esta forma, se hacen disponibles los medios de almacenamiento para almacenar datos y/o los datos procesados y/o los datos referidos a parámetros del proceso predeterminados.

La señal de control proporcionada a los medios de generación 28 por el controlador 45 varía según una primera función de la señal retroreflejada o transmitida desde el aplicador 24, detectándose dicha señal retroreflejada o transmitida por uno de los medios 34 a 38 de medición de la potencia. La señal de control proporcionada a los medios de amplificación 29 y 30 por el controlador varía según una segunda función de la señal retroreflejada o transmitida desde el aplicador, detectándose dicha señal retroreflejada o transmitida por uno de los medios 34 a 38 de medición de la potencia.

La señal de control proporcionada a los medios de generación 28 determina la frecuencia de salida, la señal de control proporcionada a los medios de amplificación 29 y 30 determina la amplitud de la señal amplificada. La amplitud de la señal amplificada puede variarse como una función del tiempo.

El sistema de control tiene tres modos diferentes de funcionamiento:

- 25 1) modo de calentamiento
- 2) modo de monitorización
- 30 3) modo de programación.

El funcionamiento del controlador 45 en el modo de calentamiento tiene requerimientos específicos para la configuración del controlador. El controlador puede configurarse y controlar la potencia de salida del amplificador 29 de señal y el amplificador 30 de potencia. Además, el controlador puede modular la señal generada por el generador 28 de señal para generar una señal de salida, que es una función del tiempo, tal como una forma de onda rectangular o triangular. En el mismo contexto, el ciclo de servicio de la señal debe poderse ajustar para reducir la potencia de la señal suministrada.

La característica mencionada anteriormente se proporciona aplicando una primera señal de control al amplificador 29 de señal y una segunda señal de control al amplificador 30 de potencia.

Otra característica, que tiene que incorporarse en el controlador, es la capacidad para controlar la frecuencia de salida del generador de señal. Además, las configuraciones relacionadas con las exploraciones de frecuencia, es decir la frecuencia de partida, la frecuencia de parada, la resolución de la frecuencia y el tiempo de exploración deben poderse controlar desde el controlador. La frecuencia de partida está en el intervalo de 0,5 a 300 GHz, preferentemente en el intervalo de 1 a 30 GHz. Los valores predeterminados entre los que se varía la frecuencia de la radiación electromagnética están en el intervalo de 0,5 a 300 GHz, preferentemente en el intervalo de 1 a 30 GHz.

Además, debe poderse controlar el tiempo del proceso hasta obtener un proceso completo o partes de un proceso si incluye más de una etapa.

Se lleva a cabo la medición de la potencia de entrada al aplicador mediante un ergómetro 36, sin embargo, la posición óptima del ergómetro 36 depende de la configuración exacta de la red de distribución. Asimismo, la potencia reflejada desde el aplicador se mide con los ergómetros 34 ó 35, mientras que 37 ó 38 miden la potencia acoplada fuera del aplicador. La potencia absorbida en el aplicador puede medirse calibrando el aparato con una cavidad vacía para medir las pérdidas en el aplicador. Esta calibración puede realizarse dentro del intervalo de frecuencia en el que la muestra ha de procesarse. Mediante la sustracción de la potencia reflejada y la potencia perdida de un aplicador vacío, puede calcularse la potencia absorbida.

La señal de potencia medida por los ergómetros 34 a 38 se transmite al controlador de manera que se utilice para controlar la frecuencia del generador 28 de señal y/o la ganancia en el amplificador 29 de señal y/o el amplificador 30 de potencia.

El controlador 45 también puede proporcionar señales de control para los componentes del sistema, tal como acopladores 32 direccionales, distribuidores 31, etc. El controlador puede proporcionar otros tipos de procesamiento de la señal. El controlador puede controlar y monitorizar los parámetros de la muestra tales como la temperatura, la presión, el pH, la conductividad, etc., utilizando los detectores mencionados anteriormente. Mediante la medición actual de tales parámetros, el controlador puede responder si un parámetro alcanza unos valores predeterminados. Es

## ES 2 281 974 T3

possible establecer un valor máximo que no debe sobrepasarse durante el proceso y un valor mínimo que no debe ser inferior durante el proceso.

La determinación del acoplamiento entre la radiación electromagnética y la muestra y la variación de la frecuencia

5 y la potencia de la radiación es esencial. Además, la frecuencia de la radiación electromagnética puede cambiarse en respuesta a un cambio del nivel de la señal de retroreflexión en más de un valor umbral predeterminado. Los datos que se refieren a la frecuencia y la eficacia de acoplamiento, medidas como un factor de la reflexión, entre la radiación electromagnética y la muestra 1, pueden almacenarse en una memoria para el procesamiento adicional.

10 En el modo de monitorización, está disponible una función de exploración que normaliza la señal desde una primera exploración (que da un nivel inicial estrecho), y detecta la diferencia desde el nivel inicial normalizado durante varios ciclos de exploración posteriores. Otra característica disponible es el seguimiento y el bloqueo para la frecuencia que da la máxima potencia absorbida en la muestra 1, (máximos móviles). La frecuencia del generador 28 de microondas puede ajustarse hasta un grado de por lo menos  $\pm 30\%$  en torno a una frecuencia central.

15 Cuando el aparato funciona en el modo de programación debe estar disponible para el operario la posibilidad de crear, almacenar, retirar y editar utilizando un lenguaje de programación del procedimiento incorporado de nivel alto. Un procedimiento es una secuencia de acontecimientos programada previamente en la que cada acontecimiento tiene por lo menos un proceso como entrada. Un parámetro del proceso es, por ejemplo, la potencia, el tiempo, la presión etc.

20 El aparato también puede comprender medios para recoger y procesar todos los datos del proceso y almacenar y/o retirar dichos datos de una base de datos interna y/o externa.

25 Mediante la utilización de un aparato con dichos medios de monitorización y control combinados con por lo menos uno de los siguientes parámetros que pueden ser variables: frecuencia, forma de onda, potencia, tiempo, temperatura, presión, atmósfera artificial, es posible optimizar y mantener estas condiciones óptimas para dicha reacción química.

30 En referencia de nuevo a la figura 2, se ilustra un aparato para reacciones químicas y biológicas asistidas por microondas. Una de las características principales del aparato se dirige a optimizar las condiciones de la reacción para dicha reacción química. Otro conjunto de características del aparato se dirige a monitorizar y controlar las condiciones optimizadas para dicha reacción química. Incluso otro conjunto de características se dirige a la recogida de los datos del proceso, el procesamiento, el almacenamiento y la retirada de los datos de una base de datos interna y/o externa.

35 Cuando dos o más materiales de partida reaccionan químicamente se someten a cambios en sus propiedades físicas y químicas. Estos cambios en las propiedades normalmente son dependientes de la temperatura. Las reacciones químicas a menudo se llevan a cabo a temperatura elevada para potenciar la velocidad de la reacción o para suministrar energía suficiente para iniciar y mantener una reacción. La forma de la energía suministrada podría ser radiación térmica, ultrasonidos, microondas etc. En el caso de microondas como forma suministrada de energía, la energía transferida a los materiales que reaccionan depende de las propiedades dieléctricas de los materiales de partida y formados durante la reacción química. Las propiedades dieléctricas son dependientes de la temperatura y, por tanto, variarán durante el proceso químico. Los cambios en las propiedades dieléctricas también tendrán lugar debido a la formación de nuevos materiales en la reacción química. También se sabe que las propiedades dieléctricas de los materiales cambian con la frecuencia.

45 En un aparato con ajuste de la frecuencia, se producirá un nivel óptimo de energía acoplada en la reacción a una frecuencia específica. Esta frecuencia cambiará según la temperatura en la reacción de acuerdo con la dependencia de la permitividad  $\epsilon'$  de la muestra con la temperatura.

50 La expresión "reacción química" se pretende que signifique cualquier reacción orgánica o inorgánica que suponga la formación o rotura de un enlace (covalente) entre dos átomos, así como reacciones de conformador de agrupaciones y grandes moléculas. Debe entenderse que el término también incluye reacciones en las que participan enzimas como catalizadores, por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y tipos similares de reacciones. La reacción química preferentemente es una reacción en la que participan compuestos orgánicos, es decir compuestos orgánicos de bajo peso molecular y compuestos orgánicos biológicos (por ejemplo, enzimas). Además se prefiere que tenga lugar una conversión de la constitución química de uno o más compuestos orgánicos.

55 Las reacciones químicas normalmente son reacciones químicas orgánicas de las que prácticamente son aplicables todas las reacciones conocidas. Los tipos típicos de reacciones son polimerización/oligomerización, esterificación, descarboxilación, esterificación, hidrogenación, deshidrogenación, adición tal como adición 1,3-dipolar, oxidación, isomerización, acilación, alquilación, amidación, arilación, reacciones de Diels-Alder tales como maleinización y fumarización, epoxidación, formilación, hidrocarboxilación, hidroboración, halogenación, hidroxilación, hidrometallación, reducción, sulfonación, aminometilación, ozonólisis, etc.. Se cree que el aparato y los procedimientos según la invención son especialmente adecuados para las reacciones que incluyen uno o más catalizadores y para las reacciones orgánicas asimétricas.

65 La reacción química puede tener lugar en un disolvente adecuado o en forma neta. Cuando se utiliza un disolvente, se prefiere que el factor de disipación (o tangente de pérdida) sea superior a 0,04 a temperatura ambiente. Ejemplos

## ES 2 281 974 T3

de disolventes adecuados son acetonitrilo, DMF, DMSO, NMP, agua, terc-butanol, EtOH, benzonitrilo, etilenglicol, acetona, THF. La frecuencia de la señal electromagnética generada puede ajustarse a picos/bandas de absorción para el disolvente utilizado.

- 5 Las reacciones químicas incluyen normalmente material de partida (sustrato o “especies químicas”), un reactivo y opcionalmente un catalizador (por ejemplo, una enzima tal como la ADN polimerasa termoestable). El material de partida puede ser cualquier sustancia química en cualquier fase, fase sólida, fase líquida o fase gaseosa. En los materiales de partida se incluyen todos los materiales utilizados, por ejemplo, para soporte sólido de reactivos en las reacciones químicas. Los materiales de partida también incluyen todos los materiales (sustancias químicas) formadas 10 en la reacción química y pueden considerarse como nuevo material de partida para una reacción química posterior durante el mismo proceso o en un nuevo proceso realizado en el mismo aparato. El material de partida o los reactivos también pueden incluirse en la fase gaseosa de una atmósfera artificial. El producto químico terminado a partir de una reacción química previa, realizada en el aparato, también se considerará como material de partida para una reacción química posterior realizada en el aparato.

- 15 15 El aplicador 24 comprende una cavidad o cavidades para aplicar energía de microondas a una o más muestras 1. Debe entenderse que los diversos tipos de cavidades y disposiciones de cavidades representan diferentes realizaciones del aplicador en el aparato según la presente invención. Como el aparato, en principio, puede incluir un aplicador de cualquier tipo conocido (aunque con diferentes grados de éxito), la presente invención no está limitada a las variantes 20 mencionadas específicamente. A continuación se describen diferentes realizaciones que muestran diferentes diseños del aplicador y grados de tratamiento paralelo. Estas realizaciones pueden servir como el aplicador 24 en relación a las figuras 1 y 2.

- 25 La figura 3 ilustra varias cavidades montadas en una serie. Esta serie puede ser, pero no se limita a, una placa 4 de microtitulación. Cada cavidad se define mediante una cubierta 6, una placa 8 de fondo y un tubo metálico externo 17. Cada cavidad comprende un portamuestras 2, una varilla 16 de resonancia para ajustar la frecuencia de resonancia de la cavidad, antenas de cuadro 18 de señal de entrada y salida, y opcionalmente una entrada/salida 15 de gas. Las microondas se introducen inductivamente a través de las antenas de cuadro 18 tal como se muestra en la figura 3, alternativamente pueden introducirse capacitativamente mediante una red de distribución que alimenta la serie entera. 30 La muestra se coloca en la varilla 16 de resonancia en el tubo externo 17 de la cavidad. La longitud de la varilla de resonancia puede ajustarse para cambiar la frecuencia de resonancia de la cavidad. Todos los componentes están conectados eléctricamente entre sí para formar un circuito eléctrico cerrado. La cavidad podría presurizarse y ponerse en una atmósfera artificial.

- 35 35 En las figuras 4A y B se ilustra otra aplicación, en la que cuatro pocillos 9 de muestra se disponen simétricamente en un conjunto de portamuestras. Una cuba 3 metálica de protección que sirve como paredes en una cavidad rodea a los cuatro portamuestras. El dispositivo 5 de transmisión de microondas está situado en el centro del espacio definido entre los cuatro portamuestras individuales y, por tanto, irradia a las cuatro muestras 1 simultáneamente. Por tanto, en la realización ilustrada en la figura 4, se procesan simultáneamente en paralelo varias (4 en el ejemplo) muestras. Tal 40 como se muestra en la figura 4B, puede disponerse una pluralidad de cavidades en una serie similar a la serie descrita en relación a la figura 3.

- 45 La figura 5 ilustra una configuración en la que los dispositivos 12 ó 13 de transmisión o recepción, respectivamente, están montados en la placa 8 de fondo, y en la que estos dispositivos forman una serie. La tapa 6 está montada en la parte superior de la placa y el dispositivo 13 ó 12 de recepción o transmisión, puede montarse en la tapa. La placa de fondo o la tapa pueden ser, pero sin limitarse a ello, una placa de microtitulación. La placa 8 de fondo y la tapa 6 definen una cavidad con un tubo metálico 3. Un vial hecho de un material adecuado (vidrio o un polímero, por ejemplo, poliestireno) se inserta en el tubo metálico para servir como portamuestras 2. Un dispositivo de enfriamiento puede unirse a la placa de fondo. Con el fin de disipar la energía de microondas no absorbida, la tapa puede incluir 50 un material de absorción de microondas. El dispositivo de enfriamiento también puede estar unido a la tapa con el fin de cuidar de la energía disipada. Un puerto 15 de entrada/salida para la atmósfera artificial puede unirse a la tapa y/o a la placa de fondo. La vasija de reacción puede presurizarse utilizando la atmósfera artificial o presión generada internamente a partir de la reacción química. Puede lograrse un confinamiento de campo utilizando un cuerpo de alta permitividad en 12 ó 13. Por tanto, la tapa puede extraerse y el aplicador se convierte en un aplicador abierto.

- 55 55 La figura 6 ilustra una placa de microtitulación con una antena 5 individual para cada pocillo de muestra, en la que la antena se sumerge en el pocillo de muestra. Los pocillos de muestra se disponen en una serie y un tubo metálico 3 rodea cada pocillo como una protección. Un portamuestras 2 de vidrio o plástico se inserta normalmente en el tubo metálico 3 para servir como portamuestras. Como en el caso de las realizaciones de las figuras 3 y 5, cada muestra se procesa individualmente.

- 60 Diretrices e instrucciones generales para el trabajo con microondas y la construcción de cavidades de microondas se dan, por ejemplo, en Gabriel, *et al.*, Chem. Soc. Rev, 1998, Vol. 27, págs. 213-223 y en Microwave Engineering, Harvey (ed.), Academic Press, Londres 1963 (en particular, los capítulos 4-6).

- 65 65 El aparato según la invención es adecuado para calentar por lo menos una mezcla de reacción (muestra) que comprende por lo menos un compuesto orgánico. La mezcla de reacción o cada una de las mezclas de reacción (muestras) puede comprender además uno o más reactivos y opcionalmente un catalizador (por ejemplo, una enzima).

# ES 2 281 974 T3

En una forma de realización particularmente interesante, el aparato está adaptado para calentar dos o más mezclas de reacción simultánea o secuencial o intermitentemente.

En una forma de realización importante de la presente invención, se realiza una pluralidad de reacciones químicas en paralelo. Esto es razonable debido a la construcción rentable del aparato según la invención. La figura 1 ilustra los principios tras el tratamiento paralelo de una pluralidad de muestras.

La presente invención también proporciona un procedimiento para realizar una pluralidad de reacciones químicas simultánea o secuencialmente, según el tercer aspecto de la presente invención descrito anteriormente.

Éste y los siguientes procedimientos se realizan todos adecuadamente mediante la utilización del aparato definido en la presente memoria.

El hecho de que la radiación electromagnética pueda adaptarse a cada muestra (por ejemplo, con respecto a la frecuencia, tiempo de calentamiento, potencia, impulso de la señal, ciclos de señal, etc.) es importante, por ejemplo, en los procesos de optimización y en la construcción de bibliotecas de compuestos químicos. En este último caso, cualquier diferencia en la reactividad dentro de los diversos reactivos y los diversos sustratos (y enzimas) puede compensarse por el aparato. Por tanto, en una realización adicional de la presente invención, el aparato se utiliza para preparar una biblioteca combinatoria de compuestos (por lo menos 4 compuestos). Además, el aparato y el procedimiento según la invención pueden utilizarse para preparar un gran número de compuestos en un proceso paralelo, en el que los compuestos no forman parte de la biblioteca combinatoria, es decir en el que los compuestos no comparten características estructurales comunes. Esto es posible en un proceso paralelo puesto que el aparato se puede acoplar a la aplicación de la radiación electromagnética a cada muestra independientemente. Una variante adicional interesante es la preparación continua de compuestos utilizando un portamuestras que tiene una entrada de muestra y una salida de muestra. En esta última situación, puede introducirse una muestra en un portamuestras formado como un bucle o espiral de un tubo, posteriormente se introduce una disolución de enjuague a través de la entrada de muestra, forzando así a la muestra fuera del portamuestras a través de la salida de muestra, y posteriormente se introduce una nueva muestra. Debido al tiempo de reacción relativamente corto bajo las condiciones de calentamiento de microondas, puede procesarse un gran número de muestras en paralelo (varios portamuestras) o secuencialmente (un portamuestras).

Los parámetros del proceso, es decir con respecto a la frecuencia y la potencia de la radiación electromagnética, están controlados por el controlador (45). Como debe entenderse a partir de lo anterior, la radiación electromagnética se proporciona preferentemente mediante un generador de señal basado en semiconductor, en particular mediante un aparato tal como se define en el primer aspecto de la presente invención. En ciertas aplicaciones, por ejemplo, en las que se requiere un ciclo de calentamiento/enfriamiento, la radiación electromagnética se aplica preferentemente de manera intermitente. Alternativamente, cualquier medio de enfriamiento puede activarse intermitentemente.

Tal como se mencionó anteriormente, la radiación electromagnética se adapta específicamente a cada una de las muestras, es decir para cada muestra/portamuestras, se seleccionan independientemente los parámetros del proceso. Esto significa que cada una de las muestras se procesa bajo condiciones diferentes, o que conjuntos de muestras se tratan bajo condiciones sustancialmente idénticas pero condiciones diferentes de otros conjuntos de muestras, o que todas las muestras se tratan bajo condiciones sustancialmente idénticas. En el caso de que un conjunto de muestras se trate bajo condiciones sustancialmente idénticas, puede ser ventajoso utilizar un aplicador esencialmente tal como se ilustra en la figura 4, en el que los portamuestras se recogen en conjuntos que consisten en dos o más portamuestras (en la figura 4 se muestra un conjunto de cuatro portamuestras). Los conjuntos de portamuestras de este tipo consisten normalmente en 2 a 1.000 portamuestras, normalmente en 3 a 96 portamuestras.

El aparato podrá generar datos como expresión del progreso y la finalización de una reacción química. Tales datos pueden almacenarse en una base de datos asociada operativamente con el controlador. Además, la base de datos podría proporcionarse con información con respecto al producto que surge a partir de la reacción química, por ejemplo, pureza, pureza enantiomérica, rendimiento, etc. En el caso de que una pluralidad de mezclas de reacción se calienten simultáneamente en cavidades separadas bajo diferentes condiciones (por ejemplo, condiciones con respecto a una frecuencia, tiempo de calentamiento, ciclos de calentamiento, potencia de calentamiento, concentración de reactivo, sustrato y cualquier catalizador, forma de señal, potencia reflejada, potencia transmitida, temperatura, presión, atmósfera artificial, tipo de vial de muestra, etc.) o posteriormente en la misma o en cavidades separadas en diferentes condiciones, tales datos, tras el análisis apropiado (por ejemplo, análisis estadístico automatizado) proporcionarán una única posibilidad de optimizar el estado de la reacción para reacciones químicas similares posteriores. Los datos procesados pueden analizarse con un procedimiento de análisis adecuado y evaluarse para encontrar condiciones y configuraciones óptimas de los parámetros. El resultado del proceso puede procesarse mediante un análisis de datos de múltiples variables para su optimización.

Además, será posible proporcionar un conjunto de condiciones de reacción adecuadas para las reacciones posteriores del mismo tipo, por ejemplo, reacciones de sustitución utilizando una clase específica de catalizadores, reacciones de Diels-Alder utilizando sustratos específicos, etc.

En una posibilidad adicional de la presente invención, se prevé que el proveedor del aparato pueda identificar tales datos para los parámetros óptimos (o adecuados) del proceso para varias reacciones patrones tipo y que puedan propor-

cionarse junto con el aparato según la invención. Por tanto, en una realización preferida, los medios de almacenamiento asociados con el controlador incluyen una sección designada por los parámetros predeterminados del proceso. Una sección de este tipo podría formarse como una tarjeta de memoria reemplazable (o una "Tarjeta inteligente") que puede actualizarse regularmente por el proveedor del aparato y proporcionarse al usuario del aparato.

5 En consecuencia, la presente invención también se refiere a un procedimiento y a la utilización como anteriormente en el que la frecuencia de la radiación electromagnética suministrada a la muestra en el aplicador, el nivel de la potencia transmitida y el periodo de aplicación de la radiación electromagnética están determinados por valores preseleccionados para reacción química en cuestión, almacenándose tales valores preseleccionados en medios de  
10 almacenamiento asociados con el controlador del aparato.

Por tanto, otro aspecto interesante anteriormente descrito como el noveno aspecto, la presente invención es un kit para hacer reaccionar químicamente especies químicas con un reactivo opcionalmente bajo la acción de un catalizador, en el que la reacción química se lleva a cabo en un aparato tal como se define en el primer aspecto de la presente  
15 invención.

En el noveno aspecto, debe entenderse que el portamuestras proporcionado con el kit puede comprender uno o más reactivos necesarios y/o cualquier catalizador adecuado de modo que el usuario sólo necesita proporcionar las especies químicas al portamuestras. El disolvente (si es necesario o deseable un disolvente) se proporciona también preferentemente con el kit para garantizar que el reactivo y el catalizador se disolverán/dispersarán completamente. Alternativamente, el portamuestras puede contener el reactivo y/o el catalizador en forma inmovilizada para facilitar el aislamiento del producto de las reacciones químicas.

El aparato posibilita llevar a cabo un número de otros procedimientos valiosos para llevar a cabo reacciones químicas. En una forma de realización, el progreso de la reacción se monitoriza simultáneamente explorando la muestra antes (ajuste de referencia de factores de reflexión) y después de la aplicación de la radiación electromagnética. Comparando un conjunto de factores de reflexión después y antes (conjunto de referencia) del calentamiento, puede determinarse el progreso. La comparación de señales de microondas entre una situación de referencia (aplicador vacío) y en la patente US nº 5.521.360 se describe una situación en la que una muestra se introduce en un aplicador. Con respecto a la presente invención, es posible variar los parámetros del proceso mediante el controlador (45) en respuesta a los conjuntos de factores de reflexión medidos. Los conjuntos de eficiencias de acoplamiento preferentemente pueden normalizarse y/o transponerse antes de la comparación.

Por tanto, la presente invención proporciona un procedimiento para llevar a cabo una reacción química según el tercero aspecto de la presente invención descrito anteriormente.

En una variante interesante (la variante "biodetector") del procedimiento anterior, la primera (referencia) variación de la frecuencia (etapa (b)) (una "exploración") se lleva a cabo antes de la introducción de la sustancia química a la muestra. La muestra puede comprender una enzima o una biomolécula o una célula, para la que la sustancia química es un sustrato o ligando. Entonces se lleva a cabo la "exploración" posterior y se espera que la diferencia en el factor de reflexión refleje la interacción entre la sustancia química y los componentes de la muestra. Esta realización puede ser una variante especialmente interesante para estudiar la interacción entre un ligando/sustrato y una enzima. El calentamiento (etapa (c)) se omite frecuentemente en esta variante. Además, sólo será necesario repetir las etapas con el fin de estudiar la mencionada interacción a lo largo del tiempo, en caso contrario sólo será necesaria la comparación de los dos conjuntos de factores de reflexión.

Además, la presente invención proporciona también un procedimiento para identificar la reflexión mínima (o las dos o más mínimas) para la aplicación de radiación electromagnética (especialmente en la que el intervalo predeterminado comprende la frecuencia que proporciona acoplamiento óptimo entre la radiación electromagnética y la muestra). Es decir, la presente invención proporciona un procedimiento para llevar a cabo una reacción química según el quinto aspecto de la presente invención descrito anteriormente.

La invención también proporciona un procedimiento para buscar una frecuencia que represente un factor de reflexión local (o global) mientras se lleva a cabo una reacción química, es decir un procedimiento para llevar a cabo una reacción química según el sexto aspecto de la presente invención descrito anteriormente.

La invención proporciona además un procedimiento para buscar una frecuencia en la que el factor de reflexión tiene un nivel predeterminado mientras se lleva a cabo una reacción química, es decir, un procedimiento para llevar a cabo una reacción química según el séptimo aspecto de la presente invención descrito anteriormente.

En una variante especialmente interesante de los procedimientos descritos en la presente memoria, cada muestra comprende por lo menos una enzima y, además, cada muestra es una mezcla de PCR.

La reacción de PCR es una aplicación particularmente interesante para el aparato según el sexto aspecto de la presente invención, ya que el aparato proporciona unos medios para variar e impulsar la energía aplicada (y por lo tanto, la temperatura de un vial de PCR) de manera precisa. Además, el aparato comprende medios para controlar y monitorizar el progreso de la reacción de PCR.

# ES 2 281 974 T3

La técnica de PCR se describe de manera general en las patentes US nº 4.683.202 y US nº 4.683.196. Se conoce la utilización de radiación de microondas para calentar mezclas de PCR, es decir, a partir de los documentos WO 91/12888, WO 95/15671 y WO 98/06876, sin embargo, el procesamiento utilizando el aparato según la presente invención proporciona ventajas sin precedente con respecto a los sistemas conocidos. Las directrices generales para 5 la manipulación y el procesamiento de mezclas de PCR (por ejemplo, intervalos de temperatura y números y tiempos de ciclos) pueden encontrarse en el documento WO 98/06876. Un ejemplo típico de un ciclo de temperatura para una PCR es una etapa de calentamiento de desnaturalización a aproximadamente 80 a 100°C (por ejemplo, de 0,5 a 3 minutos), una etapa de enfriamiento en la que la mezcla se lleva a aproximadamente 20 a 40°C (por ejemplo, de 0,1 a 1 minuto) y una etapa de polimerización a aproximadamente 55 a 75°C (por ejemplo, durante 1 a 5 minutos).  
10 Una reacción completa de amplificación supone normalmente 15 a 100 ciclos, por ejemplo, aproximadamente 25 a 35 ciclos.

Con la presente invención es posible controlar la aplicación de energía de manera muy precisa y aplicar la energía en dosis controlables y enfriar las muestras muy rápidamente para reducir las etapas de enfriamiento. Además, es 15 posible también monitorizar el progreso de las reacciones aplicando una señal de microondas de baja intensidad a la mezcla de reacción, por ejemplo, en cada etapa de enfriamiento para determinar la finalización (respecto a ciertos criterios) de las reacciones. Por lo tanto, la radiación electromagnética se aplica preferentemente en ciclos de por lo menos dos niveles en los que las muestras se enfrian por lo menos durante una parte de cada ciclo. Los por lo menos dos niveles pueden representar los niveles de temperatura de 80 a 100°C y de 55 a 75°C. Normalmente, el 20 enfriamiento se inicia con el fin de alcanzar un nivel de temperatura de 20 a 40°C. El enfriamiento también puede aplicarse de manera constante (por ejemplo, en la forma de un bloque frío (placa de fondo) con el fin de obtener un gradiente de enfriamiento más pronunciado.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**REIVINDICACIONES**

- 5        1. Aparato para proporcionar radiación electromagnética a una pluralidad de aplicadores (24), estando adaptado cada uno de dicha pluralidad de aplicadores para contener una vasija (2) de reacción que contiene una muestra (1) que va a exponerse a radiación electromagnética mientras que dicha vasija de reacción está colocada en uno de la pluralidad de aplicadores, comprendiendo dicho aparato:
- 10      a) una pluralidad de medios de generación (28) para generar ondas de radiación electromagnética, pudiendo generar cada uno de dicha pluralidad de medios de generación radiación electromagnética a una pluralidad de frecuencias,
- 15      b) unos medios de guiado (23) para guiar por lo menos parte de una onda de radiación electromagnética generada a por lo menos un aplicador de la pluralidad de aplicadores, y
- 20      c) unos medios de control (45) para controlar individualmente la pluralidad de medios de generación en respuesta a una señal de control, reflejando dicha señal de control el estado de una muestra en un aplicador.
- 25      2. Aparato según la reivindicación 1, en el que varios de la pluralidad de medios de generación usan componentes de semiconductor en la generación de las ondas de radiación electromagnética.
- 30      3. Aparato según la reivindicación 1 ó 2, en el que cada uno de la pluralidad de medios de generación comprende un generador de señal y un amplificador de señal.
- 35      4. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que los medios de guiado comprenden unos medios de commutación para controlar individualmente las trayectorias de onda entre la pluralidad de medios de generación y la pluralidad de aplicadores.
- 40      5. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la pluralidad de aplicadores se seleccionan de entre el grupo constituido por aplicadores de campo próximo, de campo de superficie, de cavidad monomodal y de cavidad multimodal.
- 45      6. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en el que los componentes de semiconductor utilizados en la generación de las ondas de radiación electromagnética comprenden unos transistores de potencia de silicio-carburo.
- 50      7. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la potencia de la radiación electromagnética generada mediante unos medios de generación dados varían según una segunda señal de control desde ese aplicador que recibe la radiación electromagnética generada por los medios de generación dados, proporcionándose dicha segunda señal de control a través de los medios de control.
- 55      8. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la pluralidad de medios de generación genera radiación electromagnética esencialmente a la misma frecuencia.
- 60      9. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la frecuencia de la radiación electromagnética generada por unos medios de generación dados varía según una primera señal de control de ese aplicador que recibe la radiación electromagnética generada por los medios de generación dados, proporcionándose dicha primera señal de control a través de los medios de control.
- 65      10. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que las frecuencias de la radiación electromagnética generadas por la pluralidad de medios de generación están dentro del intervalo de 300 MHz a 300 GHz, tal como dentro del intervalo de 0,5 a 3 GHz o dentro del intervalo de 50 a 100 GHz.
- 55      11. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que los medios de control comprenden un ordenador de uso general.
- 60      12. Procedimiento para llevar a cabo una pluralidad de reacciones químicas simultáneamente, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:
- 65      a) proporcionar una primera muestra (1) en un primer aplicador (24),
- 70      b) proporcionar una segunda muestra (1) en un segundo aplicador (24),
- 75      c) aplicar radiación electromagnética a la primera muestra en el primer aplicador desde unos primeros medios de generación (28), pudiendo generar dichos primeros medios de generación radiación electromagnética a una pluralidad de frecuencias,

## ES 2 281 974 T3

d) aplicar radiación electromagnética a la segunda muestra en el segundo aplicador desde unos segundos medios de generación (28), pudiendo generar dichos segundos medios de generación radiación electromagnética a una pluralidad de frecuencias, y

5 e) controlar (45) individualmente la radiación electromagnética aplicada al primer y al segundo aplicadores controlando individual e independientemente el primer y segundo medios de generación en respuesta a señales de control del primer y el segundo aplicadores.

10 13. Procedimiento según la reivindicación 12, en el que la radiación electromagnética aplicada está dentro del intervalo de 300 MHz a 300 GHz.

15 14. Procedimiento según la reivindicación 12 ó 13, en el que la radiación electromagnética aplicada a la primera y la segunda muestras tiene esencialmente la misma frecuencia y esencialmente el mismo nivel de potencia para exponer la primera y la segunda muestras a esencialmente las mismas condiciones.

16 15. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en el que la primera y la segunda muestras son mezclas de PCR.

20 16. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 15, en el que la radiación electromagnética se aplica a las muestras en ciclos de por lo menos dos etapas en los que las muestras se enfrian por lo menos durante una parte de cada ciclo.

25 17. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, en el que la radiación electromagnética se proporciona mediante un aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

26 18. Procedimiento para llevar a cabo una reacción química, en el que la reacción se lleva a cabo en un aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

30 a) proporcionar una muestra en un aplicador,

b) aplicar radiación electromagnética a la muestra en forma de un primer impulso con una forma predeterminada y caracterizar un impulso reflejado desde el aplicador llevando a cabo una operación matemática para obtener un primer espectro reflejado,

35 c) cambiar las propiedades físicas y/o químicas de la muestra,

d) aplicar radiación electromagnética a la muestra en forma de un segundo impulso con una forma predeterminada y caracterizar un impulso reflejado desde el aplicador realizando una operación matemática para obtener un segundo espectro reflejado,

40 e) repetir la etapa c) y d) hasta que la diferencia entre el primer y el segundo espectros reflejados calculados como la diferencia matemática (sustracción) entre el primer y el segundo espectros esté dentro de un intervalo predeterminado.

45 19. Procedimiento según la reivindicación 18, en el que la operación matemática para obtener el primer y el segundo espectros de reflexión comprende la Transformación de Fourier.

50 20. Utilización de un aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para someter a una mezcla de PCR a un ciclo de temperaturas.

55 21. Utilización según la reivindicación 20 para llevar a cabo una reacción química en una muestra, en la que la frecuencia de la radiación electromagnética aplicada a la muestra en el aplicador, el nivel de la potencia irradiada y el periodo de aplicación de la radiación electromagnética se determina mediante valores preseleccionados para la reacción química en cuestión, estando almacenados dichos valores preseleccionados en unos medios de almacenamiento asociados con los medios de control.

60 22. Utilización según la reivindicación 20 ó 21, en la que los datos correspondientes de frecuencia y factor de reflexión se almacenan en una memoria para tratamientos adicionales.

65 23. Utilización según la reivindicación 22, en la que se llevan a cabo tratamientos adicionales en una red neuronal.

66 24. Utilización de un aparato según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en relación con un kit para hacer reaccionar químicamente especies químicas con un reactivo opcionalmente bajo la acción de un catalizador, comprendiendo dicho kit:

a) un portamuestras que comprende por lo menos uno de entre el reactivo y el catalizador opcional,

# ES 2 281 974 T3

5 b) unos medios de almacenamiento electrónico que comprende datos relativos a la reacción química entre las especies químicas y el reactivo bajo la acción opcional del catalizador, estando adaptados dichos medios de almacenamiento electrónico y el aparato para recuperar los datos de los medios de almacenamiento y para tratar dichos datos para controlar la aplicación de una radiación electromagnética a dicho portamuestras.

10

15

20

25

30

35

40

45

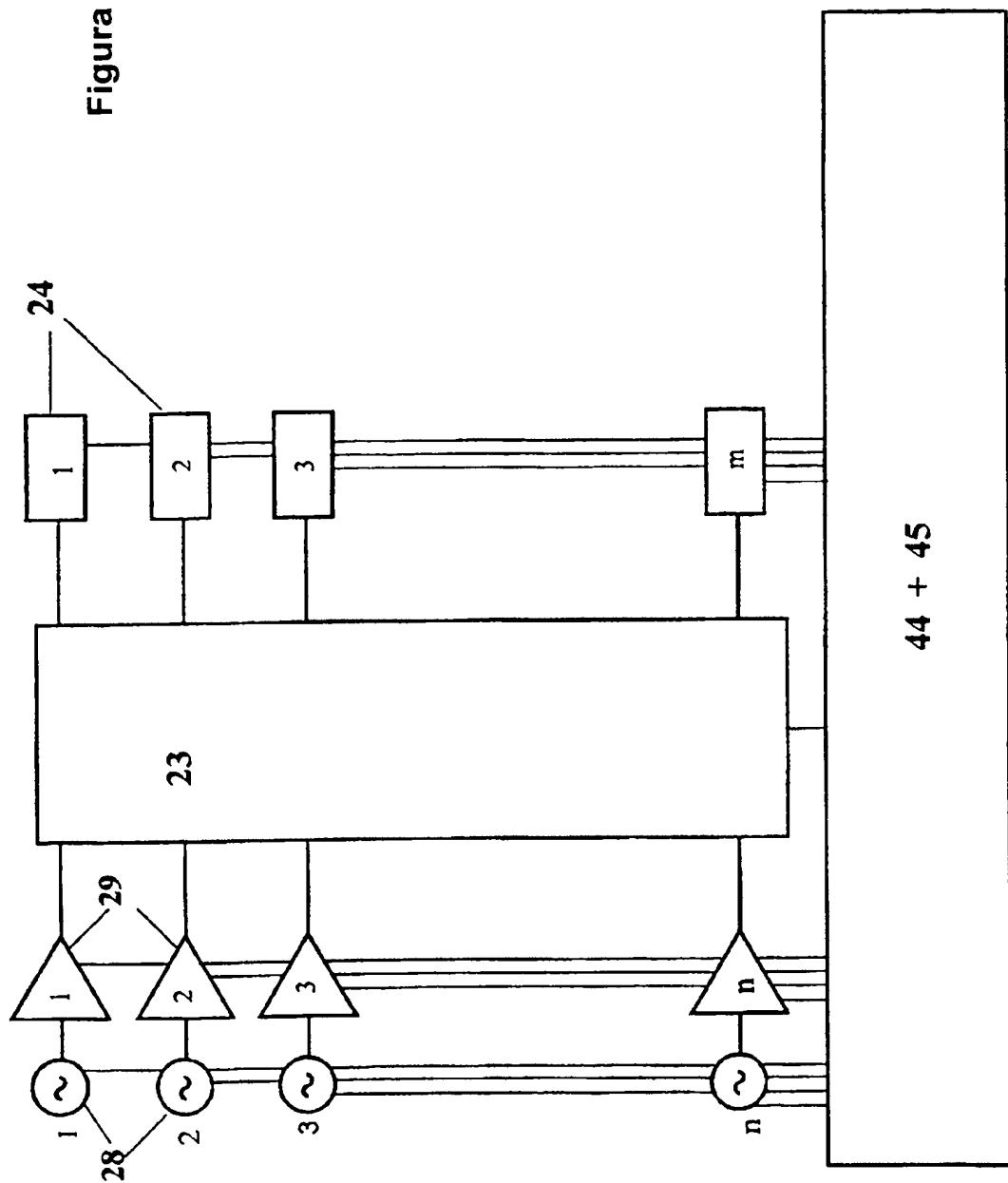
50

55

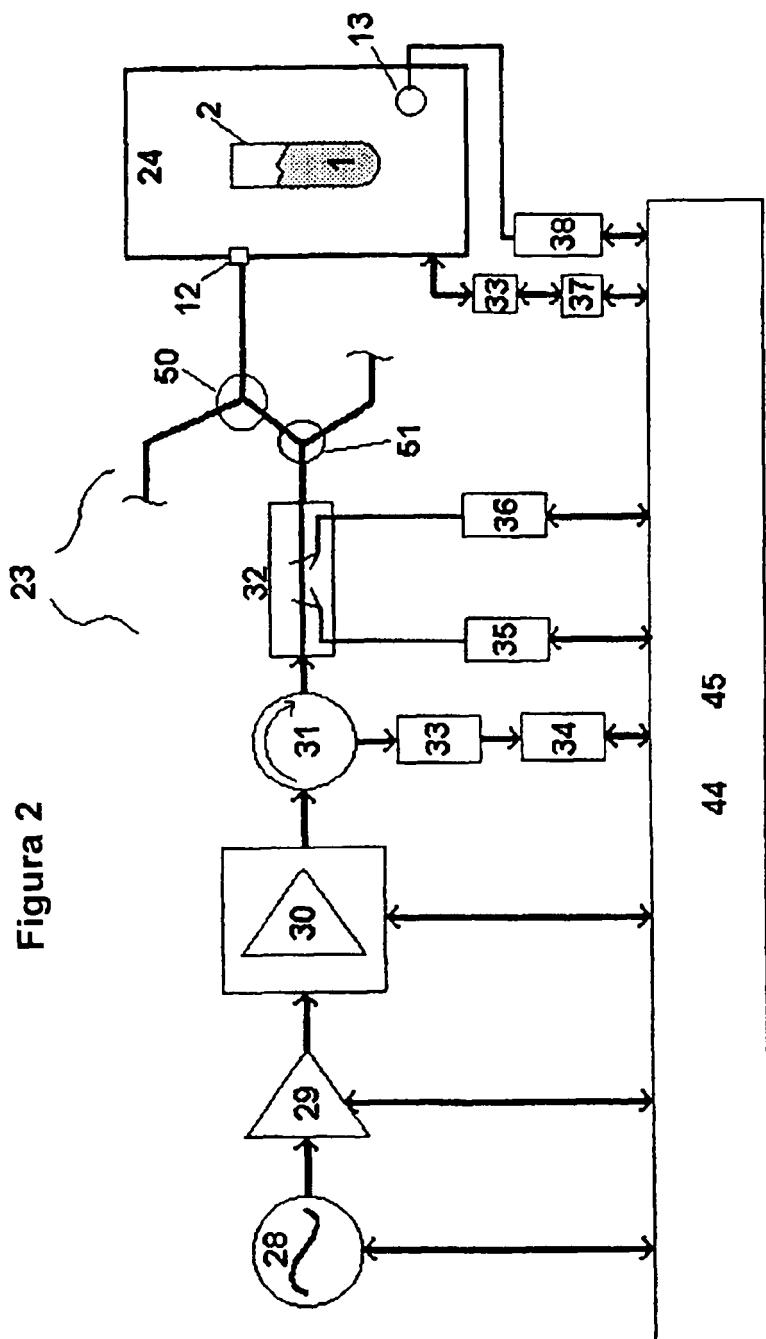
60

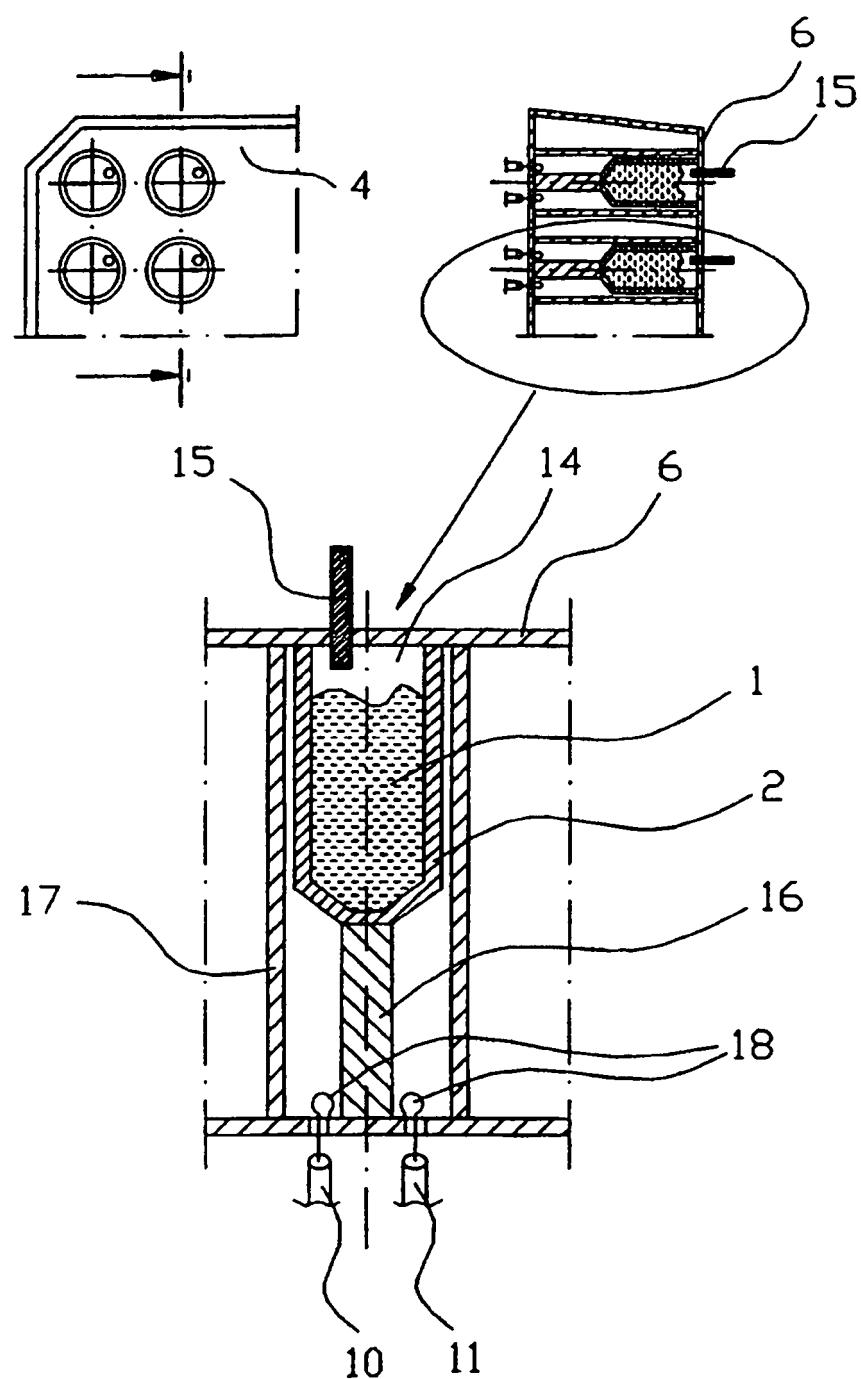
65

Figura 1



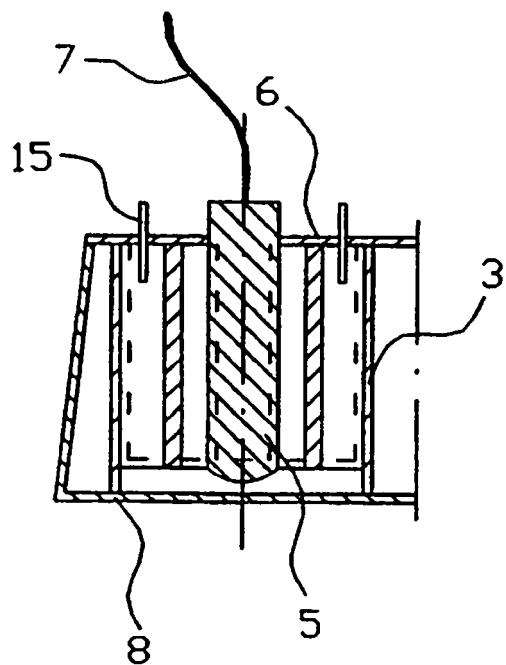
44 + 45



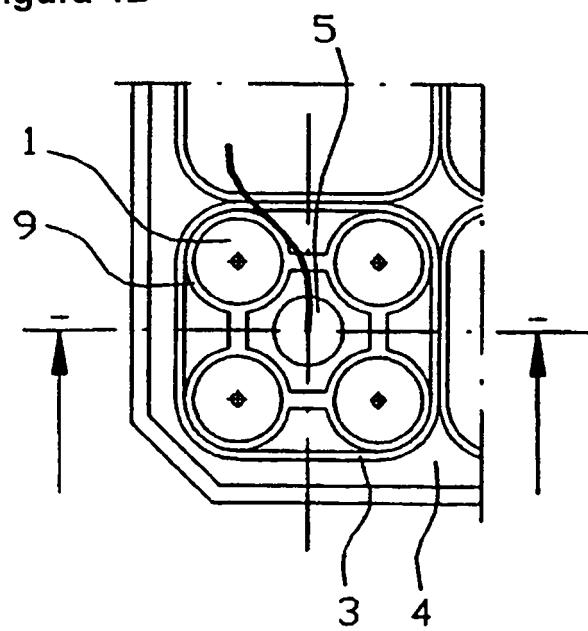


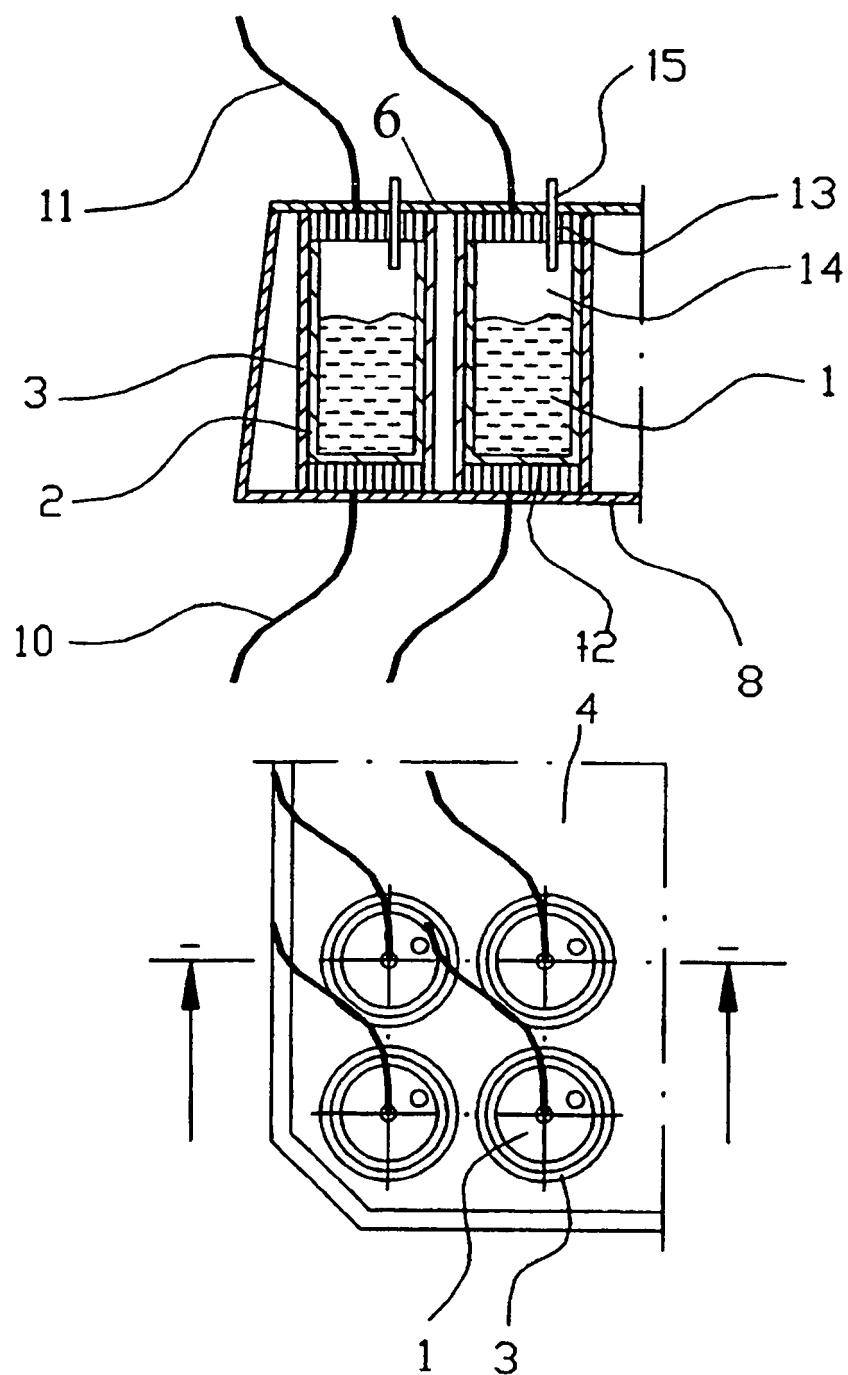
**Figura 3**

**Figura 4A**



**Figura 4B**





**Figura 5**

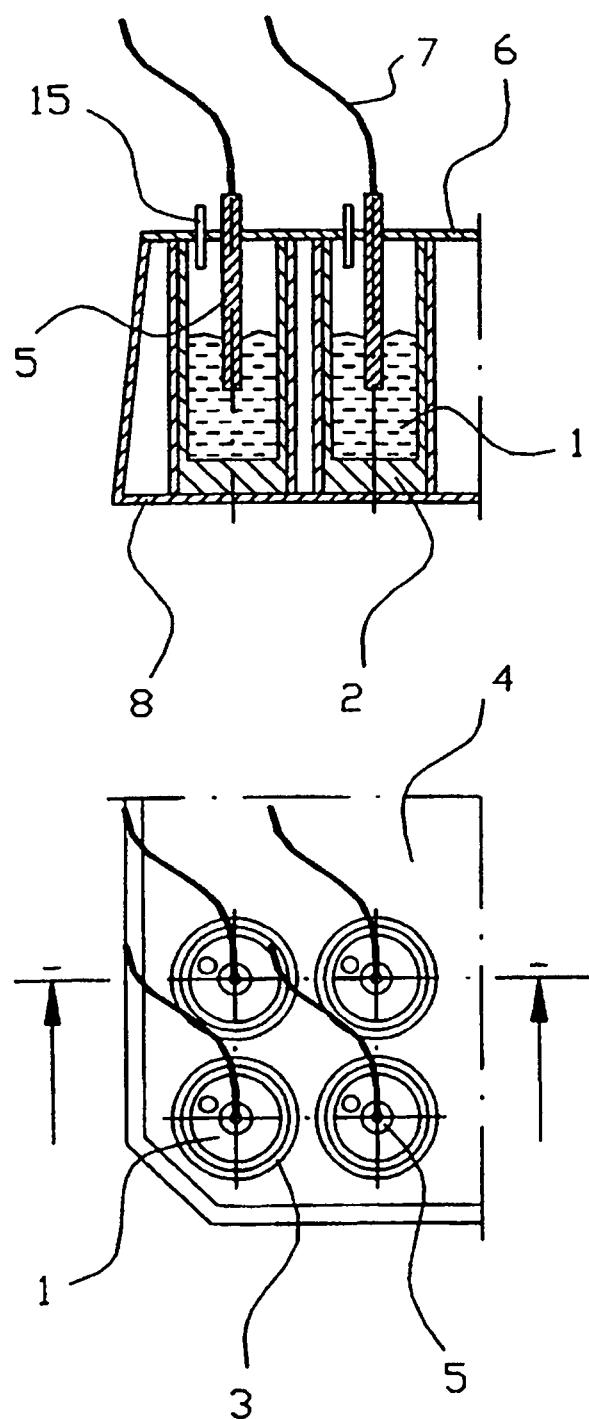


Figura 6