



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 278 749**

51 Int. Cl.:
G01N 21/31 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01943226 .9**

86 Fecha de presentación : **06.04.2001**

87 Número de publicación de la solicitud: **1282812**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **12.02.2003**

54 Título: **Método para analizar mezclas de sustancias.**

30 Prioridad: **17.04.2000 DE 100 18 941**
17.04.2000 DE 100 18 940

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.08.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.08.2007

73 Titular/es: **Becton Dickinson and Company**
One Becton Drive
Franklin Lakes, New Jersey 07417-1880, US

72 Inventor/es: **Eppich, Bernd y**
Müller, Gerhard

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 278 749 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

Método para analizar mezclas de sustancias.

5 La invención está relacionada con un método que permite detectar y cuantificar cambios en mezclas de sustancias sobre la base del cambio de su firma espectral.

10 Es sabido que por la aplicación de métodos de análisis y evaluación espectral de la emisión y de la reflectancia de las líneas espectrales específicas del estado, en comparación con los estándares de referencia, puede llevarse a cabo un análisis de mezclas de sustancias. Esto es aplicable tanto a la espectroscopia de emisión por excitación térmica y/o eléctrica, como por excitación inducida por láser o por excitación del plasma generalmente inducida por la luz. Además esto es aplicable a la espectroscopia de absorción, reflectancia y transmisión utilizando transmisores adecuados en la gama global de radiación electromagnética. Los inconvenientes de tales métodos espectroanalíticos y fotométricos son el hecho de que en la gama de concentraciones mínimas y de cambios de conformación, han de detectarse firmas espectrales en un fondo muy elevado y de que simultáneamente la respuesta espectral de la señal del fondo está sujeta a fuertes fluctuaciones debidas a las influencias del ambiente y del entorno. Este es el caso, por ejemplo, de mezclas de sustancias complejas con relaciones de concentración variables con el tiempo, o variables con el estado, donde el problema surge frecuentemente porque han de detectarse uno o más componentes de plomo de baja concentración en presencia de componentes aglutinantes o del fondo de alta concentración. Cuando el cambio a detectar en un componente de plomo es igual o menor que la fluctuación estadística o sistemática de las señales de la mezcla de componentes múltiples o sustanciales del fondo, la aplicación de métodos de alta resolución espectral es problemática, ya que en los detectores disponibles, donde la anchura de banda espectral es estrecha, la relación de señal de interferencia a señal útil aumenta. Hasta ahora este problema ha conducido al fallo de los métodos espectroanalíticos y fotométricos para detectar pequeños cambios relativos de concentración.

25 Se pretende por tanto sugerir un método en el que se eliminen los inconvenientes conocidos de los sistemas de un canal o de múltiples canales de alta resolución espectral, donde simultáneamente aumente la sensibilidad y se mantenga la selectividad.

30 Es sabido que al aplicar los métodos para la espectroscopia por transformada de Fourier, posiblemente en conjunción con los métodos de evaluación denominados quimiométricos, o al aplicar el análisis cruzado de componentes múltiples para espectros de canales múltiples, la sensibilidad de la detección de pequeños cambios en sustancia y concentración, incluso a un nivel de interferencia mayor, puede ser sustancialmente aumentada en comparación con un fotómetro convencional de absorción de espectro (véase por ejemplo la patente de Estados Unidos 5857462). Sin embargo, estos métodos de espectroscopia múltiples fallan normalmente también, cuando la magnitud de la señal del fondo de interferencia y las fluctuaciones estadísticas o sistemáticas asociadas de la intensidad espectral controlan la dinámica del detector en cuestión. Otros enfoques en busca de soluciones, tal como el uso de la denominada retícula de Girard y la transformada de Hadamard, no producen en estos casos ningún resultado satisfactorio.

40 Recientemente, se ha prestado particular atención a la detección por banda ancha de señales espectrales (véase por ejemplo, el artículo de L.A. Sodickson "Improvements in Multivariate Analysis via Kromoscopic Measurement" (Mejoras en el análisis de variables múltiples por medio de la medición cromoscópica) en la publicación Molecular Spectroscopy, 12(7) de 1997, páginas 13-21). Debido a la omisión del estrechamiento espectral durante la detección y el más alto nivel de luz resultante por cada detector, la relación señal a ruido se mejora. Es sabido que la precisión de la detección de los cambios de concentración depende en un alto grado de los filtros espectrales y de la sensibilidad espectral de los detectores. Sin embargo, no se conoce ningún método por medio del cual puedan analizarse patrones óptimos de filtrado. Más bien, los patrones de filtrado se seleccionan subjetivamente, o bien los patrones de filtrado parametrizado son adaptados por algoritmos de optimización sofisticados. En relación con esto, se seleccionan patrones de filtrado suaves, es decir, gradualmente ascendentes o descendentes, como se ilustra a modo de ejemplo en la figura 9.

55 En el documento WO 99/09395 se divulga un método para la determinación fotométrica de cambios de concentración de acuerdo con la primera parte de la reivindicación 1. Se aplican uno o más conjuntos de base a una señal espectroscópica durante el análisis, para generar una representación espectral precisa a partir de la cual pueda determinarse con precisión una concentración de un analito. El conjunto de base incluye todos los componentes interferentes encontrados en la muestra, tal como el suero. El método proporciona una representación precisa de cada componente para cada frecuencia de interés, identifica y subtrae cada interferente de los espectros producidos a cada frecuencia de interés. Los datos espectrales obtenidos son convertidos en datos digitales, presentando la amplitud de los datos espectrales recogidos.

60 El documento US-A-5.631.469 divulga una red neural de cuatro capas que es entrenada con datos de absorción de infrarrojos medios por compuestos de agentes neurotóxicos o vesicantes. Los espectros de absorción de infrarrojos conocidos por estos compuestos de analitos son transformados a escala y después convertidos en series binarias o decimales para el entrenamiento de la red por medio de la propagación retrógrada de errores. La red comprende filtros binarios.

65 El documento US-A-5.748.308 divulga un filtro programable para ser utilizado como estándar en los espectrómetros de correlación que pueden ser utilizados para determinar la concentración de un compuesto ópticamente absor-

bente. El estándar comprende un elemento dispersante, un filtro espacial ópticamente alineado para recibir luz desde el elemento dispersante, y un medio para recombinar la luz dispersada que está ópticamente alineado para recibir luz desde el filtro especial.

5 Es un objeto de la presente invención proporcionar un método para la determinación fotométrica de cambios de concentración en mezclas de sustancias, que proporcione en caso de señales de fondo altas un aumento de la relación de la señal de interferencia a la señal útil.

El método de la presente invención está definido en la reivindicación 1. Está caracterizado porque

- 10 (i) se utilizan aproximadamente tantos canales de detección fotoeléctrica espectralmente filtrada, como parámetros hay de variables espectroscópicamente activas dentro de dicha mezcla,
- 15 (ii) se obtienen las máximas señales fotoeléctricas de salida y la máxima relación de señal a ruido en dichos canales de detección, utilizando filtros espectrales binarios que tienen una transmisión que solamente asume esencialmente los valores de Uno y Cero.
- 20 (iii) el cambio máximo en las señales fotoeléctricas de salida se consigue, para un cambio dado en la concentración de al menos una sustancia de interés en dicha mezcla, aplicando un algoritmo de optimización de filtrado espectral iterativo basado en matrices, que procesa datos de calibración obtenidos a partir de dicha mezcla de sustancias, en condiciones de cambios de parámetros conocidos.

Sorprendentemente, ha resultado que debido a la modificación del enfoque de detección espectroanalítica de acuerdo con la invención, es decir, que en lugar de detectar y combinar algorítmicamente de una manera adecuada una señal de espectro continuo o una pluralidad de señales de respuesta en banda de paso limitada espectralmente, se consigue cumplir con la reivindicación esencial de la invención relativa a la detección de mínimos cambios de concentración en mezclas de sustancias heterogéneas gaseosas, líquidas o sólidas. El enfoque para buscar la solución de acuerdo con la invención procede de la suposición de que en el caso de detección de una pluralidad de ventanas espectrales posiblemente solapadas, siempre puede encontrarse un algoritmo por medio del cual pueda detectarse y analizarse con una evaluación adecuada el porcentaje asociado con las ventanas espectrales individuales de la característica de absorción o emisión determinada por cambios de concentración.

Sorprendentemente, ha resultado que en el caso de una correlación aproximadamente lineal entre cambios en las concentraciones de sustancias y cambios en la potencia espectral de la señal de emisión, reflectancia o transmisión, las funciones de filtrado óptimo adaptadas deben ser siempre binarias, es decir, las funciones de filtrado de cada detector adaptado y optimizado en la respectiva gama espectral de banda de paso, deben ser siempre igual a 1 o 0.

De acuerdo con la figura 1, $P(\vec{C}, \lambda)$ es la potencia espectral entregada por la mezcla de sustancias debida a la emisión, reflectancia o transmisión. En el caso de que otras condiciones dadas, (potencia radiada, geometría) solamente será dependiente de las concentraciones C_1, C_2, \dots, C_N de las N sustancias que pueden ser combinadas en el denominado vector de concentraciones

$$\vec{C} = (C_1 \ C_2 \ \dots \ C_N)^T \quad (1)$$

y de la longitud de onda λ . Si la potencia espectral es discreta con respecto a la longitud de onda, se obtiene un vector que representa la potencia espectral de acuerdo con la ecuación:

$$\vec{P}(\vec{C}) = (P_1(\vec{C}) \ P_2(\vec{C}) \ \dots \ P_L(\vec{C}))^T \quad (2)$$

donde

$$P_1(\vec{C}) = P(\vec{C}, \lambda) \quad (3)$$

Al menos para cambios suficientemente pequeños en las concentraciones, la dependencia de la potencia espectral en las concentraciones puede ser representada con una buena aproximación por un desarrollo de Taylor:

$$\vec{P}(\vec{C}_0 + \delta\vec{C}) = \vec{P}(\vec{C}_0) + \vec{\nabla}_{\vec{C}} \vec{P}(\vec{C}) \Big|_{\vec{C}=\vec{C}_0} \cdot \delta\vec{C} \quad (4)$$

Por tanto, el cambio en la potencia espectral en función del cambio en las concentraciones, puede ser presentado por una simple ecuación matricial, que es:

$$\delta\vec{P} = E \cdot \delta\vec{C} \quad (5)$$

donde

$$\delta\vec{P} = \vec{P}(\vec{C} + \delta\vec{C}) - \vec{P}(\vec{C}) \quad (6)$$

5 y

$$E = \vec{\nabla}_{\vec{C}} \vec{P}(\vec{C}) \Big|_{\vec{C}=\vec{C}_0} \quad (7)$$

10 Si la potencia espectral \vec{P} es detectada por un detector fotosensible que tiene una respuesta espectral de $0 \leq R(\lambda) \leq 1$, dicha potencia espectral produce una señal de acuerdo con la ecuación:

$$S(\vec{C}) = \vec{R} \cdot \vec{P}(\vec{C}) \quad (8)$$

15 donde la respuesta espectral $R(\lambda)$ está representada de nuevo como un vector tras hacerlo discreto con respecto a la longitud de onda, es decir:

$$\vec{R} = (R_1 \ R_2 \ \dots \ R_L), R_1 = R(\lambda_1) \quad (9)$$

20 Si se considera un número $D > 1$ detectores, sus señales puede ser combinadas también en un vector S de señales comunes cuyo elemento d -simo corresponde a la señal S_d del detector d -simo. Entonces, se obtiene la siguiente correlación funcional entre el vector de señales y el vector de concentraciones:

$$\vec{S} = R \cdot E \cdot \vec{C} \quad (10)$$

30 que tiene una matriz de respuesta de

$$R = \begin{pmatrix} \vec{R}_1^T \\ \vec{R}_2^T \\ \vdots \\ \vec{R}_D^T \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} R_{1,1} & R_{1,2} & \dots & R_{1,L} \\ R_{2,1} & R_{2,2} & \dots & R_{2,L} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ R_{D,1} & R_{D,2} & \dots & R_{D,L} \end{pmatrix} \quad (11)$$

40 cuya línea d -sima está determinada por la respuesta espectral del detector d -simo y a cuyo elemento R_{dl} corresponde la respuesta del detector d -simo a la longitud de onda λ_l . Los cambios en el vector de concentraciones producen ahora cambios en el vector de señales, de acuerdo con la ecuación:

$$\delta\vec{S} = M \cdot \delta\vec{C}, \quad (12)$$

50 que puede ser considerada matemáticamente como una correspondencia impartida por la matriz:

$$M = R \cdot E = \begin{pmatrix} \vec{R}_1^T \\ \vec{R}_2^T \\ \vdots \\ \vec{R}_D^T \end{pmatrix} \cdot (\vec{E}_1 \ \vec{E}_2 \ \dots \ \vec{E}_N) = \begin{pmatrix} \vec{R}_1^T \vec{E}_1 & \vec{R}_1^T \vec{E}_2 & \dots & \vec{R}_1^T \vec{E}_N \\ \vec{R}_2^T \vec{E}_1 & \vec{R}_2^T \vec{E}_2 & \dots & \vec{R}_2^T \vec{E}_N \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \vec{R}_D^T \vec{E}_1 & \vec{R}_D^T \vec{E}_2 & \dots & \vec{R}_D^T \vec{E}_N \end{pmatrix} \quad (13)$$

65 de cambios del vector de concentraciones N -dimensional en cambios del vector de señales D -dimensional. De acuerdo con la invención, los cambios de concentración causales han de determinarse a partir de los cambios del vector de señales por medio de operaciones matemáticas adecuadas. La precisión alcanzable depende esencialmente de la matriz R de respuesta, es decir, de la respuesta espectral de los D detectores. La variación del vector de concentraciones puede describirse por el volumen N -dimensional sobre-rayado en el espacio de las concentraciones, y la variación resultante del vector de señales por un volumen N -dimensional en el espacio D -dimensional del vector de señales. El valor máximo de la relación entre el volumen del espacio de la señal sobre-rayada al volumen del espacio de las

ES 2 278 749 T3

concentraciones sobre-rayadas es por tanto el criterio de optimización. Matemáticamente, esto es equivalente a hacer máximo el valor del determinante de Gram de la matriz $M = R \cdot E$ que imparte la correspondencia, es decir:

$$|\det(M^T \cdot M)| \rightarrow \text{máx} \quad (14)$$

Si el número de detectores se selecciona ventajosamente de forma que sea igual al número de concentraciones variables, $D=N$, la matriz M se eleva al cuadrado y se obtiene lo siguiente:

$$\text{Det} (M^T \cdot M) = \det (M)^2 \quad (15)$$

de forma que el valor máximo del determinante de Gram es atribuible a hacer máximo (o mínimo) el determinante de la matriz M . Esto conduce a hacer binaria la matriz R de respuesta óptima, es decir, al hecho de que todos los elementos relevantes de esta matriz y por tanto todos los elementos que influncian el criterio de optimización deben ser 1 o 0. Ventajosamente, los elementos no relevantes posibles de R son también fijados en 0.

Para probar la cualidad binaria se supone que se ha encontrado ya la matriz de respuesta óptima R_{opt} . Como esta matriz de respuesta óptima hace máximo el determinante de la matriz $M = R \cdot E$ por definición, las derivaciones parciales de acuerdo con todos los elementos de la matriz R deben desaparecer. El determinante de la matriz M puede ser expresado como sigue por el vector columna de la matriz R y por los vectores lineales de la matriz E :

$$\det(M) = \sum_{\pi} \vec{R}_1^T \vec{E}_{\pi(1)} \cdot \vec{R}_2^T \vec{E}_{\pi(2)} \dots \vec{R}_N^T \vec{E}_{\pi(N)} \quad (16)$$

donde la suma debe ser determinada para todas las permutaciones π de las cifras 1 a N .

Considerando la dependencia del determinante en la respuesta espectral de cualquier detector d , se obtiene lo siguiente:

$$\det(M) = \vec{R}_d^T \cdot \vec{V}_d \quad (17)$$

donde el vector V_d se calcula a partir de la matriz E del sistema y las sensibilidades de los demás detectores de acuerdo con la ecuación:

$$\vec{V}_d = \sum_1 \vec{R}_1^T \vec{E}_{\pi(1)} \cdot \vec{R}_2^T \vec{E}_{\pi(2)} \dots \vec{R}_{d-1}^T \vec{E}_{\pi(d-1)} \vec{R}_{d+1}^T \vec{E}_{\pi(d+1)} \dots \vec{R}_N^T \vec{E}_{\pi(N)} \quad (18)$$

Entonces, la derivación parcial de la ecuación (17) con respecto a cualquier elemento n -simo del vector de respuesta es:

$$\frac{\partial}{\partial R_{d,n}} \det(M) = \frac{\partial}{\partial R_{d,n}} \vec{R}_d^T \cdot \vec{V}_d = (\vec{V}_d)_n \quad (19)$$

Cuando el lado derecho de la ecuación (19) desaparece, el elemento $R_{d,n}$ es irrelevante para el determinante. En otro caso la ecuación (19) contradice la proposición, de forma que la matriz R no puede ser la matriz de respuesta óptima. Por tanto, todos los elementos relevantes de la matriz deben caer al margen de su gama de valores, es decir, deben ser igual a Cero o a Uno.

A la vista de este sorprendente resultado, se obtiene un proceso iterativo para la determinación numérica de la matriz de respuesta óptima a partir de una matriz conocida E del sistema. El proceso comienza con cualquier matriz de respuesta R no hecha exclusivamente de Ceros. A partir de esta matriz y de la matriz E , el vector V_1 se calcula de acuerdo con la ecuación (18). De acuerdo con los valores de este vector los valores de la primera línea de la matriz R son ahora fijados nuevamente, de forma tal que el valor i -simo de la línea se fija en Uno cuando el componente i -simo del vector V_1 es mayor que Cero, o en otro caso es fijado en Cero, es decir

$$R_{d,i} = \begin{cases} 1 & \text{si } (\vec{V}_d)_i > 1 \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (20)$$

ES 2 278 749 T3

Utilizando los nuevos valores de la matriz R, el vector V_2 se determina a continuación y, se fija nuevamente de acuerdo con la segunda línea de la matriz R, y así sucesivamente, hasta la última línea de la matriz R. Comenzando con la primera línea, este proceso se repite hasta que los valores de la matriz R no cambian más. Resultó que la respuesta de la matriz R así generada es una matriz óptima en cuando que no hay otra matriz que efectúe una correspondencia entre la variación del vector de concentración con una variación mayor del vector de señales.

La medición de las concentraciones de sustancias se lleva a cabo ahora mediante la configuración de detectores que están provistos de filtros binarios, de acuerdo con la matriz de respuesta determinada. A partir de los vectores de señales medidos con ayuda de esta disposición de detectores, que están compuestos por las señales de los detectores individuales, las concentraciones requeridas pueden ser determinadas resolviendo la ecuación (10), es decir:

$$\delta \vec{C} = (M^T \cdot M)^{-1} \cdot M^T \cdot \delta \vec{S} \quad \text{donde} \quad M = R \cdot E \quad (21)$$

Sorprendentemente resultó también que con ayuda del mismo enfoque, pueden tomarse en consideración no solamente los cambios de las concentraciones sino también los cambios de los parámetros del ambiente, por ejemplo, la temperatura o la presión, si el efecto de estos cambios puede hacerse lineal con aproximación suficiente. Esto puede ser representado a modo de ejemplo sobre la base de la dependencia de la potencia espectral P con la temperatura T, es decir,

$$P = P(\vec{C}, T, \lambda) \quad (23)$$

La aproximación lineal se obtiene desarrollando la ecuación (4) de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$\bar{P}(\vec{C}_0 + \delta \vec{C}, T_0 + \delta T) = \bar{P}(\vec{C}_0, T_0) + \bar{V}_{\vec{C}} P(\vec{C}, T) \Big|_{\vec{C}=\vec{C}_0, T=T_0} \cdot \delta \vec{C} + \frac{\partial}{\partial T} P(\vec{C}, T) \Big|_{\vec{C}=\vec{C}_0, T=T_0} \cdot \delta T \quad (24)$$

Por tanto el cambio de la potencia espectral en función del cambio en las concentraciones y la temperatura puede ser representado, a su vez, por una simple ecuación matricial, es decir:

$$\delta \vec{P} = E' \cdot \delta \vec{C}' \quad (25)$$

con el vector de concentraciones extendido:

$$\vec{C}' = \begin{pmatrix} \vec{C} \\ T \end{pmatrix} \quad (26)$$

y la matriz extendida del sistema:

$$E'_{i,j} = \begin{cases} \frac{\partial}{\partial C_j} P(\vec{C}, T, \lambda_i) \Big|_{\vec{C}=\vec{C}_0, T=T_0} & \text{si } j \leq J \\ \frac{\partial}{\partial T} P(\vec{C}, T, \lambda_i) \Big|_{\vec{C}=\vec{C}_0, T=T_0} & \text{si } j = J + 1 \end{cases} \quad (27)$$

El efecto de los parámetros variables del ambiente pueden considerarse, por tanto, un cambio de concentración de sustancias virtuales adicionales. Siguiendo a partir de la matriz extendida del sistema, los pasos adicionales para determinar la matriz de respuesta óptima permanecen inalterados.

Hasta ahora se ha supuesto que se conoce el número de sustancias y parámetros variables del ambiente, así como la correlación funcional entre ellos y la potencia espectral a detectar. En la práctica general, éste no será el caso frecuente.

Sorprendentemente, ha resultado que las curvas de filtrado óptimas pueden determinarse también sobre la base de las medidas de calibración tomadas en el sistema, como es conocido por la quimiometría. La potencia entregada por la mezcla de sustancias por la emisión, transmisión o reflectancia debe ser medida repetidamente en la gama global de longitudes de onda de interés en condiciones de prueba variables. El punto crucial es que todas las variaciones de concentraciones de sustancias y de parámetros del ambiente que son de esperar en las mediciones subsiguientes, los

ES 2 278 749 T3

cuales, de acuerdo con la invención, se toman para determinar la concentración de una o una pluralidad de sustancias, vuelven a aparecer en el conjunto de datos de calibración. Estas variaciones no necesitan ser generadas deliberadamente, sino que pueden ser originadas por fluctuaciones aleatorias o estadísticas. Sin embargo, la concentración de las sustancias a determinar después, de acuerdo con la invención, debe ser conocida, ya sea influenciando deliberadamente al sistema o determinándola por medio de un método fiable de medida de referencia. Para la evaluación de tal calibración, se conocen las mediciones de acuerdo con los diferentes métodos de quimiometría, por ejemplo la denominada regresión de componentes principales o la regresión parcial de cuadrados mínimos. Aunque tales métodos han tenido como objetivo originalmente desarrollar un modelo para determinar las concentraciones de sustancias a partir de espectros medidos, ha resultado, sorprendentemente, que estos métodos pueden ser aplicados también para el propósito de determinar la matriz de respuesta óptima. Un ejemplo con respecto a esto es la conocida regresión de componentes principales. Para definir los datos de calibración, debe producirse un número suficiente K de mezclas de sustancias. Para cada mezcla de sustancias, el espectro de emisión o de reflectancia se determina por medio del detector de resolución de espectros. Después, los datos de medición espectral se combinan por columnas en una matriz B. La matriz está centrada por líneas, es decir:

$$\tilde{B}_{i,j} = B_{i,j} - \frac{1}{K} \sum_j B_{i,j} \quad (28)$$

A partir de la matriz B así determinada, se determina la matriz H de covarianza de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$H = B \cdot B^T \quad (29)$$

a partir de la cual, a su vez, se determinan los valores característicos y los vectores característicos. Los K vectores característicos con los valores característicos máximos asociados son combinados por columnas en una matriz X, siendo K el número correspondiente al número de variables del sistema, si dicho número es conocido, o estando determinado en otro caso de acuerdo con uno de los métodos conocidos en el campo de la quimiometría. Las columnas de la matriz X representan los componentes principales conocidos del sistema. La matriz X es también denominada matriz de carga y sustituye la matriz desconocida E del sistema en el cálculo descrito anteriormente de la matriz R de respuesta. Aunque la matriz X de carga no es generalmente idéntica a la matriz real E del sistema, proporciona la matriz de respuesta óptima correcta.

Basándose en estas sorprendentes averiguaciones relativas al procedimiento espectroanalítico, en un modo de realización preferido, se utiliza un número óptimo N de filtros de acuerdo con el algoritmo descrito, dependiendo del aparato, de una manera secuencial en el tiempo o paralela en el tiempo para analizar las menores diferencias posibles en la concentración. En el caso más simple, esto puede realizarse por medio de repartidores de haces de ondas selectivas o por filtros de reflexión y por un conjunto de N detectores espectralmente adaptados. De acuerdo con la invención, la detección de la señal útil a través de un haz de fibra óptica es posible también cuando fibras individuales o grupos de fibras son alimentados a través de un respectivo filtro espectral adaptado en un detector configurado de acuerdo con la invención.

En el caso de una pequeña fluctuación de tiempo en la señal de medida, es posible la detección secuencial en el tiempo de las intensidades de las señales individuales de una manera espectralmente óptima, de acuerdo con la invención.

De acuerdo con un aspecto del concepto inventivo, los elementos individuales de la matriz R de filtrado determinada, son comprobados por su relevancia en hacer máximas las variaciones de la señal, diferenciando parcialmente el determinante del producto matricial de la matriz de filtrado por la matriz E del sistema, de acuerdo con el respectivo elemento. El valor de esta diferenciación parcial es una cantidad comparativa para la relevancia del correspondiente elemento de la matriz. Con respecto a una realización técnica más sencilla de los filtros, los filtros pueden diferir de los valores de la matriz de filtrado calculados realmente, de acuerdo con la relevancia relativa de los correspondientes elementos de la matriz.

Sorprendentemente, ha resultado que tal método de filtrado binario, optimizado en banda de paso, no solamente es útil en la gama de la luz ultravioleta, visible o infrarroja para la determinación espectroanalítica mejorada de los cambios de concentración o conformación, sino que este método es aplicable generalmente a la gama global espectral de radiación electromagnética, de manera que es posible también aplicar el mismo principio básico en la gama de radiación gamma, tal como la radiación X de la luz visible, la infrarroja, la infrarroja lejana y hasta la radiación de alta frecuencia. Tales funciones óptimas de filtrado espectralmente adaptadas de acuerdo con los métodos algorítmicos descritos en esta memoria, son posibles también de acuerdo con la invención.

En un modo de realización preferido, el cambio inducido por el metabolismo de la glucosa en sangre de un organismo vivo ha de determinarse, a modo de ejemplo, de una manera transcutánea. Para este fin, se utiliza un filtro de paso de banda para la banda vibratoria independiente de la temperatura del agua a 1380 nm, como se ilustra en la figura 12, y se utiliza un filtro de paso de banda para la absorción máxima conocida de la glucosa a 1400 nm, y la absorción mínima conocida a 1900 nm, como se ilustra en la figura 11. En relación con esto, la señal de la banda

ES 2 278 749 T3

del agua independiente de la temperatura sirve como estándar interno y las diferencias de señal entre los filtros de glucosa fuera de la banda y dentro de la banda sirven para la detección de la variación específica de la sustancia en comparación con la señal de fondo que cambia dinámicamente. La anchura espectral del filtro de paso de banda se selecciona de forma tal que la señal de intensidad resultante cae posiblemente en la gama lineal dinámica del detector, debido a la posterior reducción óptica de cresta y en el hecho de que el ruido estadístico originado por la fluctuación de la longitud de onda en la fuente de luz y el ruido cuantificado y otros ruidos interferentes, respectivamente, son menores en comparación con el nivel de señal detectado que la variable diferencial medida que es esperada. En el modo de realización preferido, la concentración de la glucosa en sangre es modulada de una manera variable con el tiempo, por la pulsación, mientras que la concentración de glucosa en el líquido intersticial y dentro de las células es una cantidad de fondo comparativamente estable. En términos concretos, esto significa que la parte de glucosa en sangre se detecta por medio de un método de detención del flujo, es decir, de detención del flujo sanguíneo por una compresión y una descompresión subsiguiente, y la medición del valor creciente, o por una técnica de enclavamiento a bajas frecuencias de pulsación, o bien por técnicas de correlación cruzada. De acuerdo con la invención, se utiliza un emisor térmico de luz como fuente de luz en la gama espectral de interés, entre 600 nm y 2,5 μm , sin embargo, el uso de fuentes de radiación por láser de banda suficientemente ancha, o de la combinación de una pluralidad de fuentes individuales de radiación por láser que emiten en una banda ancha es posible también de acuerdo con la invención. El suministro de radiación al lugar de examen se efectúa por medio de un dispositivo óptico adecuado. De acuerdo con la invención, también es posible el suministro a través de cable de fibra de vidrio, como se ilustra en la figura 8.

La detección de la radiación transmitida o reflejada se efectúa por medio de un dispositivo óptico adecuado, por ejemplo una lente colectora. Entonces la radiación se reparte en uno o una pluralidad de repartidores de haces y es alimentada en detectores fotosensibles individuales, como se ilustra en las figuras. Sin embargo, de acuerdo con la invención, la recepción de la radiación transmitida o reflejada por un haz de fibras de vidrio es posible también cuando cada fibra individual o una pluralidad de fibras del haz son alimentadas a uno de los detectores, de forma tal que no es necesario el empleo de un repartidor de haz como se ilustra en la figura 8. En un modo de realización preferido, se utiliza un solo haz de fibras para la iluminación y la detección durante las mediciones de la reflectancia de forma que una o una pluralidad de fibras del haz alimentan la radiación desde la fuente de luz al lugar de examen, y las fibras restantes del haz alimentan la radiación reflejada a los detectores individuales.

De acuerdo con otro aspecto del concepto inventivo, los experimentos han demostrado que para la determinación transcutánea de la glucosa en sangre, tomando en consideración las dependencias de la temperatura y la dispersión, el uso de un número de cinco a ocho detectores, teniendo cada uno de ellos tres a cuatro sub-gamas espectrales de transmisión diferentes, es óptimo. En otro modo de realización preferido, se emplean siete detectores. Los patrones de filtrado de los detectores individuales son nuevamente binarios, con sub-gamas espectrales de transmisión como las ilustradas en la figura 13. En la figura 13, las líneas horizontales marcan las sub-gamas espectrales para cada uno de los siete filtros, donde la transmisión del respectivo filtro es esencialmente igual a Uno. En todas las demás sub-gamas espectrales, la transmisión del respectivo filtro es esencialmente igual a Cero. Los patrones de filtrado ilustrados dan como resultado cambios en la concentración de glucosa, originando cambios máximos en las señales de los detectores.

La figura 1 muestra la disposición de la medición de acuerdo con la invención, para determinar cambios mínimos en las concentraciones de las sustancias. La potencia espectral $P(\lambda)$ que abandona la mezcla 1 de sustancias se reparte en N haces parciales por medio del repartido 2 de haces. Tras la transmisión de los respectivos filtros espectrales 3, la potencia radiante restante es determinada por medio de los detectores 4 de banda ancha. Los filtros espectrales 3 son esencialmente de configuración binaria, es decir que muestran, dependiendo de la longitud de onda, solamente transmisiones que son esencialmente iguales a Cero o a Uno. La determinación de las sub-gamas espectrales de transmisión se efectúa de acuerdo con el algoritmo antes mencionado. Por tanto, los cambios en la mezcla de sustancias originan cambios máximos del vector de señales compuesto por las señales de los detectores individuales.

La figura 2 ilustra una disposición de medición de acuerdo con la invención, para determinar cambios mínimos en las mezclas de sustancias en condiciones de transmisión. La luz que emerge de una fuente 5 de radiación cambia su potencia espectral debido a la transmisión a través de la mezcla 1 de sustancias. El espectro de la radiación transmitida depende de las concentraciones de las sustancias y de los parámetros del ambiente. Un repartidor 2 de haces reparte el haz en N haces parciales, que son detectados por los detectores 4 tras la transmisión del respectivo filtro 3 de detector binario de banda ancha diferente. El uso de filtros binarios hace máxima la obtención de fotones, por lo que se alcanza una relación señal a ruido óptima. La anchura de banda espectral de la banda de paso de los respectivos filtros se selecciona de forma tal que los cambios en las concentraciones de las sustancias originan cambios máximos en las señales de los detectores.

La figura 3 muestra una disposición de la medición de acuerdo con la invención, para determinar cambios mínimos en las mezclas de sustancias dispersas en condiciones de reflectancia. La potencia espectral de la luz que emerge de una fuente 5 de radiación cambia por la dispersión y reflectancia en la mezcla 1 de sustancias. Un repartidor 2 de haces reparte el haz en N haces parciales que son detectados por los detectores 4 tras la transmisión del respectivo filtro 3 de detector.

De acuerdo con otro aspecto del concepto inventivo, la detección puede efectuarse también de una manera secuencial en el tiempo, como se ilustra en la figura 4. La radiación transmitida o reflejada que abandona la mezcla 1 de sustancias se detecta por medio del detector 4, aguas arriba del cual hay dispuestos, de una manera secuencial, los filtros 3 de banda ancha calculados por medio del algoritmo antes mencionado.

ES 2 278 749 T3

La figura 5 muestra, con fines ilustrativos, los filtros óptimos determinado según la invención de un sistema de tres componentes. En la parte superior, están dibujadas las propiedades espectrales de los tres componentes. Las tres curvas corresponden a las tres columnas de la matriz E del sistema. En la parte inferior, las sub-gamas espectrales de transmisión de los filtros óptimos están representadas por líneas horizontales. Puede observarse que cada uno de los tres filtros detecta esencialmente la señal de dos de las tres sustancias. El algoritmo antes mencionado para determinar las funciones de filtrado asegura que los cambios en concentración de una o una pluralidad de sustancias origina cambios máximos de las señales de los detectores. Por medio de una ecuación matricial correspondiente a (21), puede determinarse la concentración de las sustancias a partir del vector de señales.

En la figura 6 se ilustra el algoritmo de acuerdo con la invención para la determinación de la matriz R de filtros. Cada línea de esta matriz describe uno de los filtros binarios de transmisión.

La figura 7 muestra el algoritmo en forma de diagrama de flujo.

En otra disposición de acuerdo con la invención, como se ilustra en la figura 8, la radiación es alimentada en el lugar de examen 2 con ayuda de una o una pluralidad de fibras de vidrio 6, y la radiación dispersa es suministrada desde el lugar de examen a los detectores por medio de una pluralidad de fibras de vidrio 7. Esta disposición no incluye ningún repartidor de haces.

La figura 9 muestra, a modo de ejemplo, las funciones de filtrado no binario de banda ancha, como se utilizan actualmente en el campo de la espectroscopia de banda ancha. Con transmisiones de filtrado menores que 1 en las gamas espectrales relevantes, se reduce la obtención de fotones. Para transmisiones de filtrado mayores que 0 en las gamas espectrales irrelevantes, se reduce la relación señal a ruido. Ambos fenómenos dan como resultado una precisión de la detección sub-óptima, con respecto a pequeñas concentraciones de sustancias.

La figura 10 muestra, a modo de ejemplo, una función de filtrado de banda ancha de acuerdo con la invención, que se distingue porque cada filtro tiene una transmisión de aproximadamente Uno en una o una pluralidad de sub-gamas espectrales, mientras que en las demás sub-gamas espectrales la transmisión es aproximadamente Cero.

La figura 11 muestra los máximos y mínimos de absorción típicos de la glucosa con relación al agua. Para la detección de la glucosa en sangre, se seleccionan las bandas de paso de al menos un filtro en la gama de los máximos de absorción, y las bandas de paso de al menos un filtro adicional en la gama de los mínimos de absorción, por lo que los cambios en la concentración de la glucosa originan cambios máximos en las señales de los detectores, dando así como resultado una precisión máxima de la detección.

La figura 12 muestra la dependencia de la temperatura de la transmisión del agua en la gama de longitudes de onda desde $1,2 \mu\text{m}$ a $2,5 \mu\text{m}$. Es sabido que la absorción del agua muestra un desplazamiento del espectro dependiente de la temperatura. Dicho desplazamiento de espectro da como resultado cambios no deseados en las señales de los detectores. En la gama de longitudes de onda de aproximadamente $1,38 \mu\text{m}$, el desplazamiento dependiente de la temperatura es mínimo. Para la determinación de concentraciones de sustancias en un entorno acuoso, se selecciona la banda de paso de al menos un detector en esta gama de longitudes de onda, de forma que la señal de este detector está disponible como señal de referencia independiente de la temperatura.

La figura 13 muestra los siete patrones de filtrado binarios para la determinación transcutánea de las concentraciones de glucosa en sangre. La transmisión espectral de cada filtro está representada por una línea horizontal para cada una. En las sub-gamas espectrales súper-rayadas por dicha línea, el filtro respectivo tiene una transmisión esencialmente de Uno, mientras que en todas las demás sub-gamas espectrales tiene una transmisión esencialmente de Cero. Los patrones de filtrado ilustrados hacen máximos los cambios en las señales de los detectores originadas por los cambios en las concentraciones de la glucosa en sangre.

Lista de símbolos

- λ - Longitud de onda
- P - Eficiencia espectral de la luz
- \vec{P} - Vector de eficiencia de la luz. Vector cuyos componentes están compuestos por los valores de la eficiencia espectral de la luz a diversas longitudes de onda
- $\vec{\nabla}_\lambda \vec{P}$ - Matriz cuyo elemento de la fila i-sima y la columna j-sima es la derivada parcial de la eficiencia espectral de la luz en la longitud de onda i-sima, de acuerdo con la concentración de la sustancia j-sima
- C_i - Concentración de la sustancia i-sima.
- \vec{C} - Vector de concentraciones. Vector cuyos componentes están compuestos por los valores de las concentraciones de las sustancias variables involucradas

ES 2 278 749 T3

- \vec{C}_0 - Vector de concentraciones de referencia
- $\square C_i$ - Cambio de concentración de la sustancia i-sima en comparación con el valor de referencia
- 5 T - Parámetro del ambiente (por ejemplo, temperatura o similar)
- \vec{C}' - Vector de concentraciones generalizado. Vector cuyos componentes están compuestos por los valores de las concentraciones de las sustancias variables y por los parámetros variables del ambiente involucrados
- 10 L - Número de longitudes de onda considerados
- N - Número de las cantidades variables del sistema (sustancias, parámetros del ambiente)
- D - Número de detectores
- 15 K - Número de las mezclas para calibración
- E - Matriz del sistema que refleja la correlación funcional entre el cambio del vector de eficiencia de la luz y el cambio de las concentraciones en la aproximación lineal
- 20 E' - Matriz extendida del sistema que refleja la correlación funcional entre el cambio del vector de eficiencia de la luz y el cambio del vector de concentraciones generalizadas en la aproximación lineal
- R - Respuesta espectral de un detector
- 25 \vec{R} - Vector de respuestas. Los componentes están compuestos por la respuesta de un detector a diversas longitudes de onda
- R - Matriz de respuestas. El elemento de la línea i-sima y columna j-sima es la respuesta del detector i-simo en la longitud de onda j-sima
- 30 S_i - Señal del detector i-simo
- \vec{S} - Vector de señales. Los elementos están compuestos por las señales de los diversos detectores
- 35 $\delta\vec{S}$ - Cambio del vector de señales originado por la desviación de concentraciones generalizadas individuales, o de una pluralidad de las mismas, de los valores de referencia
- M - Matriz que describe la correlación funcional entre los cambios del vector de señales y el cambio de las concentraciones generalizadas en la aproximación lineal
- 40 D - Número de detectores
- B - Matriz de calibración. El elemento de la línea i-sima y la columna j-sima indica la eficiencia de luz medida en la mezcla j-sima de sustancias en la longitud de onda i-sima
- 45 \tilde{B} - Matriz de calibración centrada
- H - Matriz de covarianza
- 50 X - Matriz cuyos vectores columna son los M vectores característicos de la matriz H de covarianza con los valores característicos máximos.

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para analizar mezclas de sustancias basado en la absorción, reflexión o espectroscopia de emisión, **caracterizado** porque
- (i) se utilizan aproximadamente tantos canales fotoeléctricos de detección espectralmente filtrados como pa-
 10 rámetros de variables espectroscópicamente activos hay dentro de dicha mezcla,
- (ii) se obtienen las señales fotoeléctricas máximas de salida y la máxima relación señal a ruido en dichos
 canales de detección, utilizando filtros espectrales binarios que tienen una transmisión que esencialmente
 15 asume solamente los valores de Uno y Cero.
- (iii) se consigue un cambio máximo en las señales fotoeléctricas de salida para un cambio dado en la concentra-
 ción de al menos una sustancia de interés en dicha mezcla, aplicando un algoritmo de optimización iterativo
 de filtros espectrales basado en matrices, que procesa datos de calibración obtenidos de dicha mezcla de
 sustancias, en condiciones de cambios de parámetros conocidos.
- 20 2. Método según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la determinación de cambios de concentración quasi-
 estacionarios se efectúa sobre la base de las señales de un detector (4) que se dispone en forma secuencial en el tiempo
 con diferentes configuraciones de filtros espectrales binario diferentes.
3. Método según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado** porque las gamas espectrales de transmisión de los filtros
 25 espectrales se seleccionan de manera que los cambios en las concentraciones de las sustancias originan cambios
 máximos en las señales de los detectores.
4. Método según una de las reivindicaciones 1 - 3, **caracterizado** porque el número de filtros binarios espectrales
 utilizados se corresponde al menos con el número de parámetros variables relevantes del sistema.
- 30 5. Método según una de las reivindicaciones 1 - 4, **caracterizado** porque los filtros espectrales binarios se deter-
 minan por mediciones de calibración de resolución de espectros en el caso de una matriz del sistema desconocida.
6. Método según una de las reivindicaciones 1 - 5, **caracterizado** porque los filtros espectrales binarios de la matriz
 35 E del sistema se determinan de acuerdo con una especificación de cálculo.
7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 - 6, **caracterizado** porque los filtros binarios óptimos se
 determinan de acuerdo con una especificación de cálculo, en el caso de una matriz E del sistema desconocida, donde
 la matriz E es sustituida por una matriz X de carga obtenida a partir de la medición de calibración con regresión
 40 subsiguiente de componentes principales.
8. Método según una de las reivindicaciones 1 - 7, **caracterizado** porque los filtros binarios están configurados
 como filtros de reflexión.
- 45 9. Método según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado** porque los filtros de banda ancha son seleccionados de
 manera que al menos uno de los filtros cae en una banda de absorción conocida de una sustancia objetivo, al menos
 otro filtro cae fuera, pero en la proximidad inmediata, de dicha banda de absorción, y al menos otro filtro cae a una
 mayor distancia, preferiblemente en un lugar de absorción dinámicamente invariable.
- 50 10. Método según una de las reivindicaciones 1 - 9, **caracterizado** porque las sub-gamas espectrales de transmisión
 de los filtros se seleccionan de forma tal que los cambios en las señales de los detectores originadas por cambios en
 las concentraciones de las sustancias y en los parámetros del ambiente son máximos.
11. Método según una de las reivindicaciones 1 - 10, **caracterizado** porque la mezcla de sustancias es iluminada
 55 por un emisor térmico de luz.
12. Método según una de las reivindicaciones 1 - 11, **caracterizado** porque la radiación de una fuente de luz es
 alimentada al lugar de examen, por medio de una o una pluralidad de fibras de vidrio.
- 60 13. Método según una de las reivindicaciones 1 - 11, **caracterizado** porque la radiación reflejada o transmitida es
 alimentada por medio de un haz de fibras de vidrio desde el lugar de examen hacia una pluralidad de detectores.
14. Método según una de las reivindicaciones 1 - 12, **caracterizado** porque las bandas de paso de los filtros de
 paso de banda caen en la gama espectral entre 0,6 y 2,5 μm .
- 65 15. Método según una de las reivindicaciones 1 - 14, **caracterizado** porque para la determinación de las concen-
 traciones de sustancias en un ambiente acuoso, al menos uno de los filtros de paso de banda, como filtro de referencia
 interna, cae en 1,38 μm .

ES 2 278 749 T3

16. Método según una de las reivindicaciones 1 - 15, **caracterizado** porque para la determinación de concentraciones de glucosa en sangre, se utilizan de cinco a ocho detectores que tienen filtros espectrales binarios y de tres a cuatro sub-gamas espectrales de transmisión en cada uno.

5 17. Método según una de las reivindicaciones 1 - 16, **caracterizado** porque para la determinación de concentraciones de glucosa en sangre se utilizan siete detectores.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

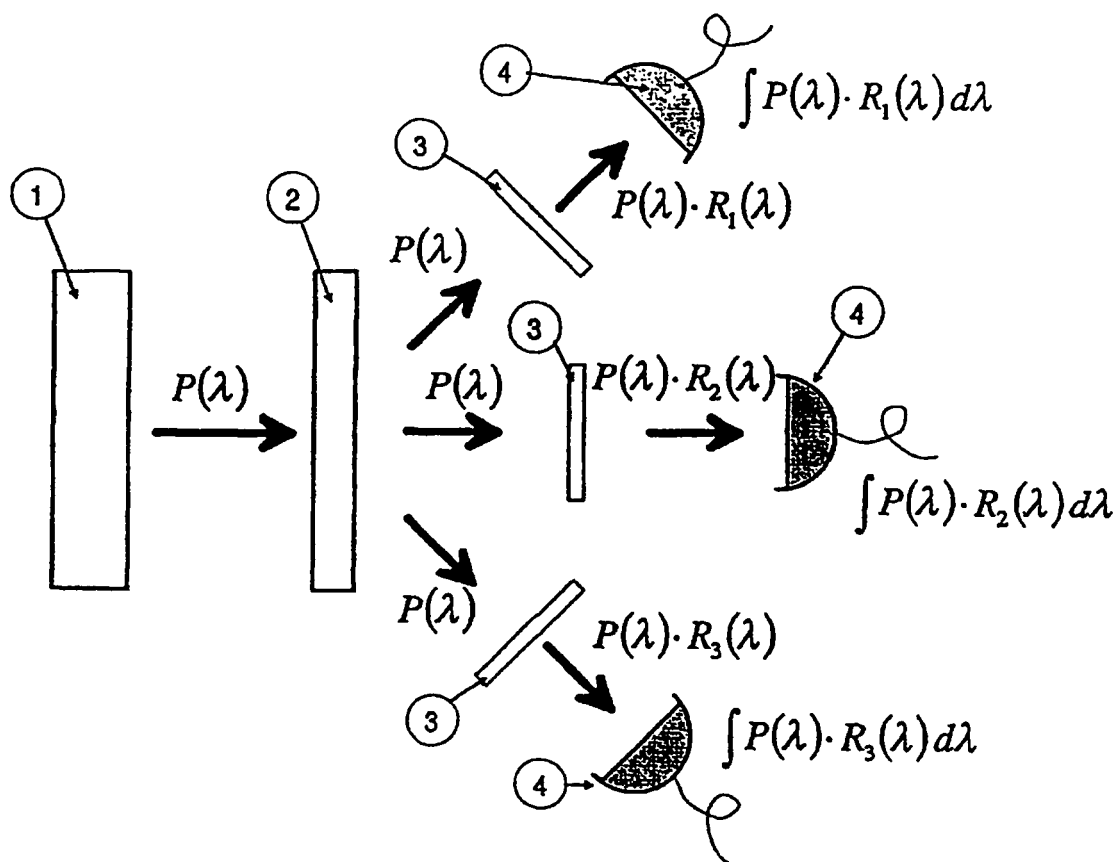


Fig. 1.

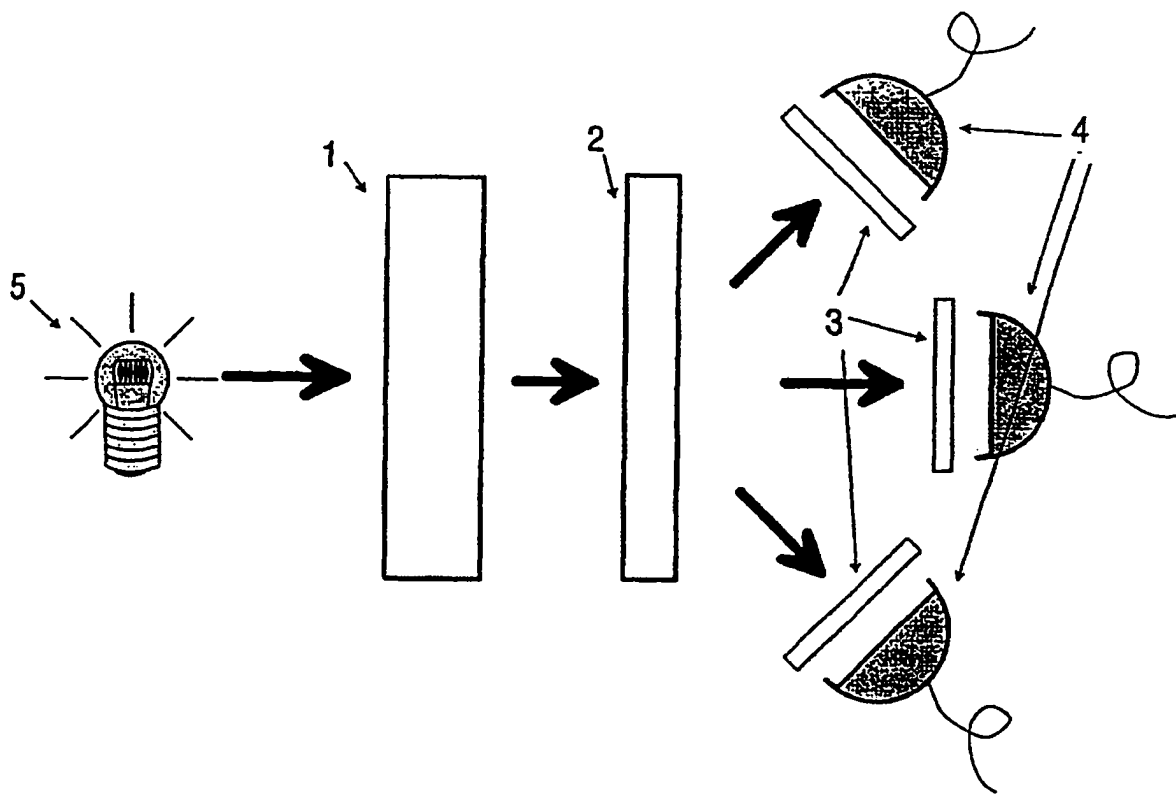


Fig. 2.

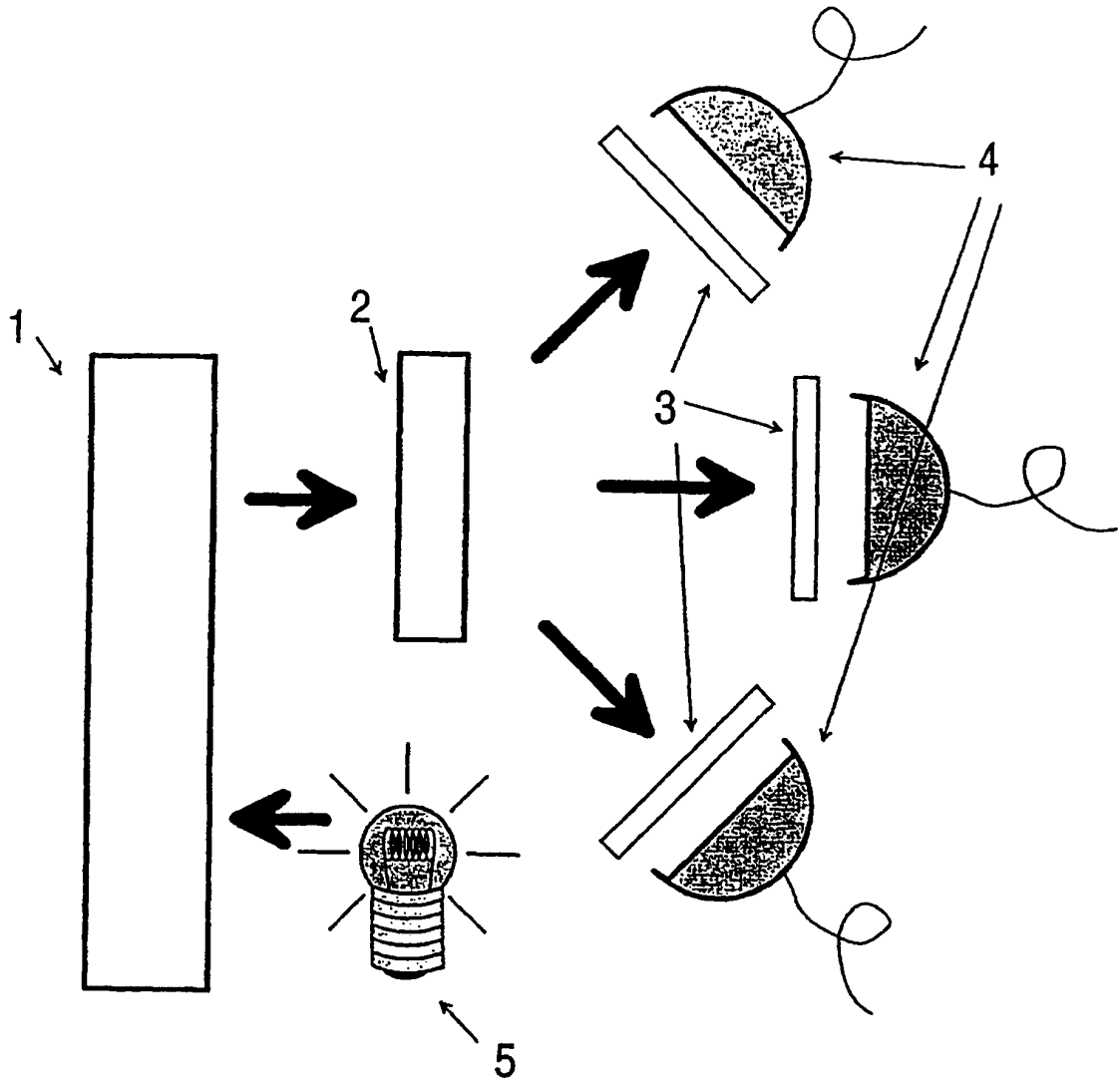


Fig. 3.

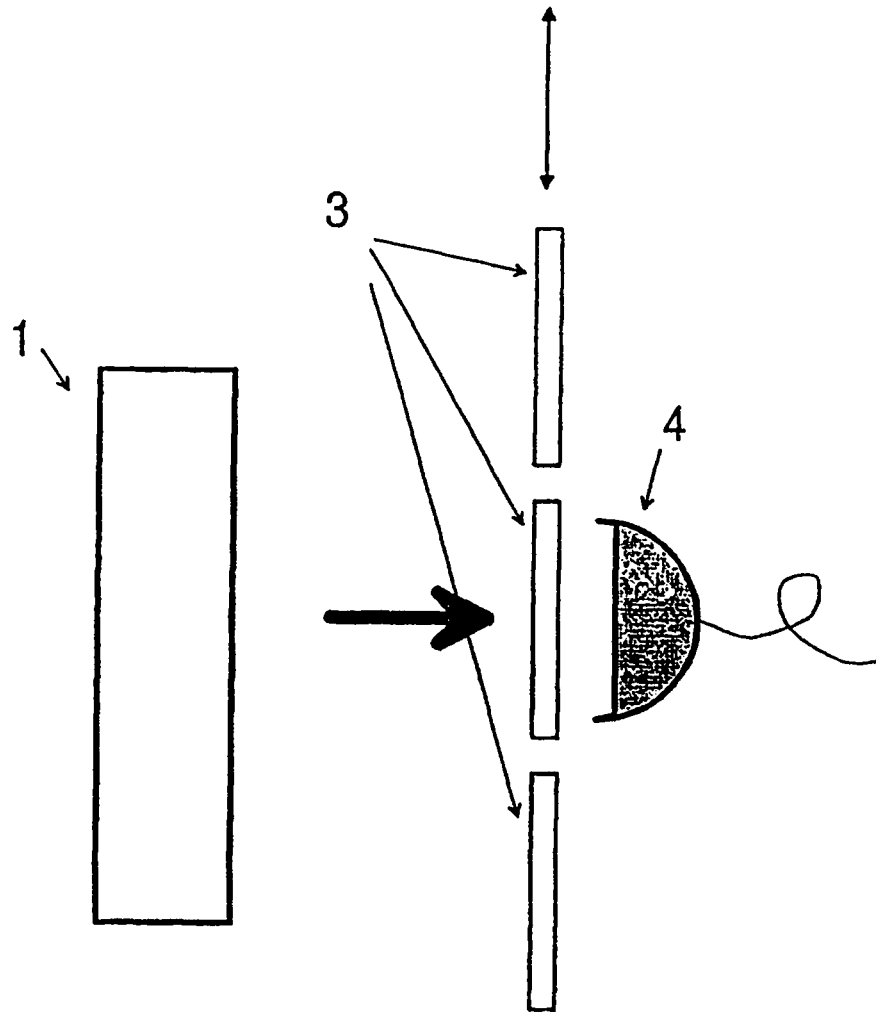


Fig. 4.

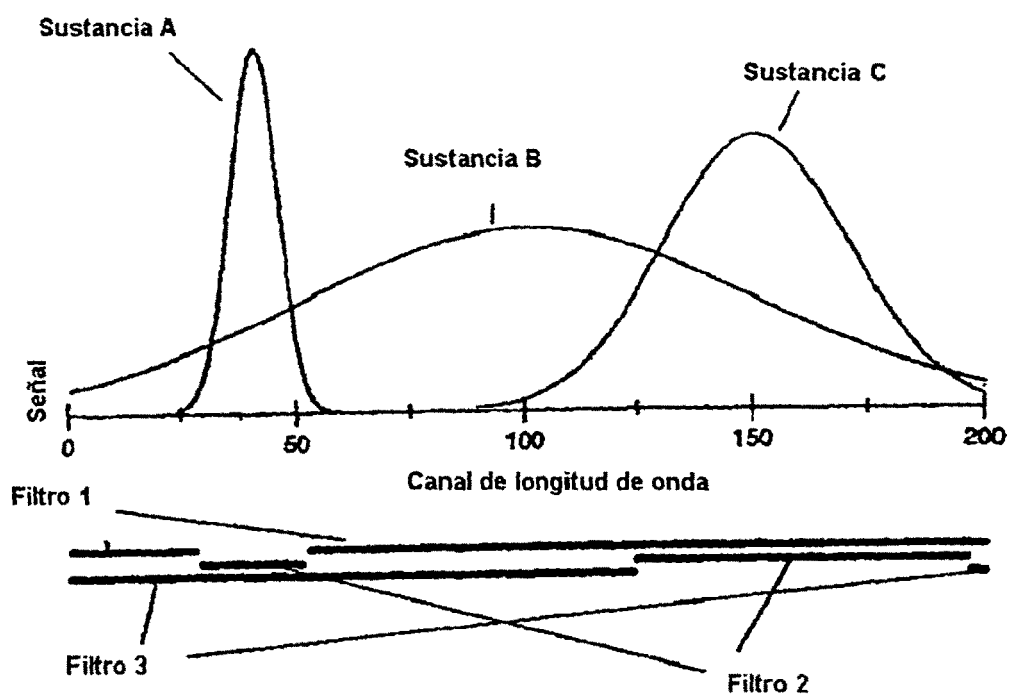


Fig. 5.

<p>Leer en matriz E</p> <p>Nz = líneas (E) Ns = columnas (E)</p> <p>R = matriz (Ns, Nz)</p> <p>para iz=0...Nz-1 para is=0...Ns-1 si (is = is) R_{iz, is} = 1 en otro caso R_{iz, is} = 0</p> <p>Repetir para is = 0...Ns-1 V = vector (Nz) calcular V a partir de R, E e iz de acuerdo con euación (18) para iz = 0...Nz-1 Si ((Vz)iz > 0) R_{iz, is} = 1 en otro caso R_{iz, is} = 0 hasta que la matriz R no cambie más</p>	<p>//Lectura de datos de entrada</p> <p>//Número de líneas de la matriz E //Número de columnas de la matriz E</p> <p>//Matriz generada con Ns líneas y Nz columnas</p> <p>//Inicialización de la matriz //Iteración en todas las columnas //Iteración en todas las líneas</p> <p>//Fijar un elemento en Uno en cada línea //Fijar todos los demás elementos en Cero</p> <p>//Iteración en todas las líneas de la matriz R //Generación de vector de longitud Nz //Cálculo de elementos del vector //Iteración por todas las columnas //Reposición de elementos en la línea is-sima de la matriz R</p>
--	---

Fig. 6

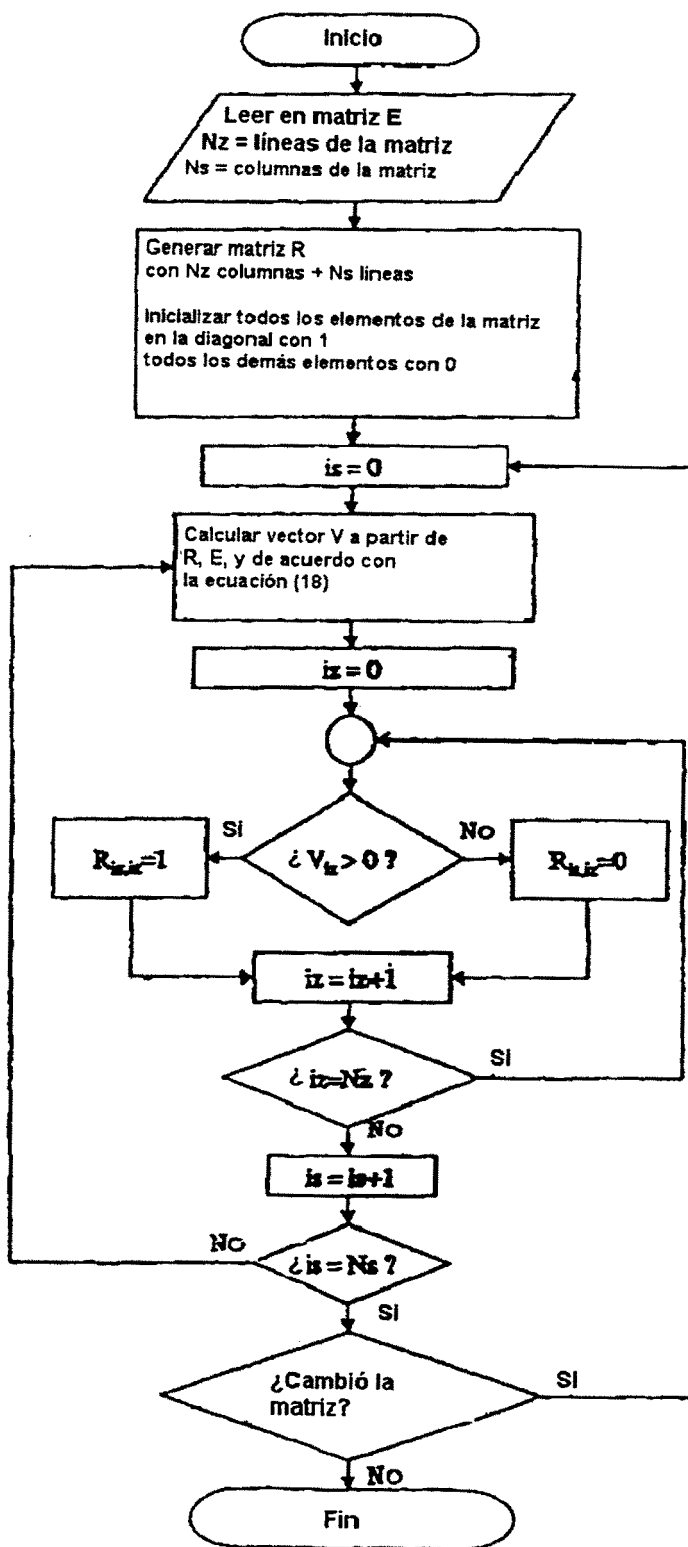


Fig. 7.

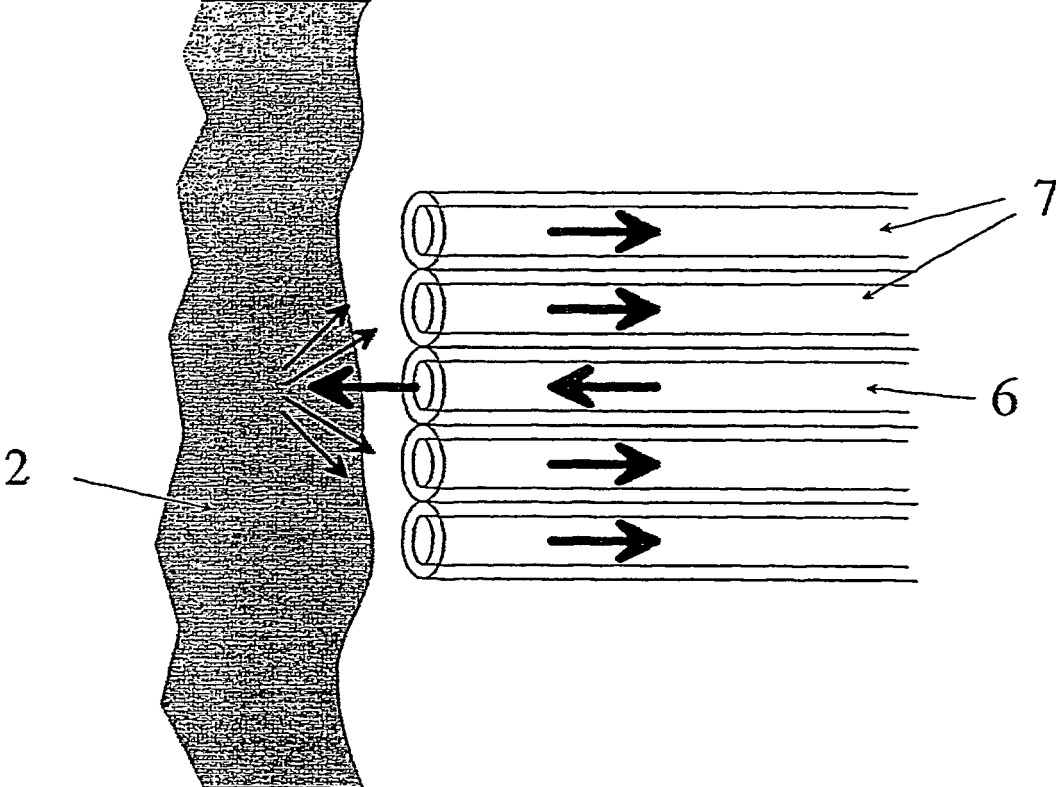


Fig. 8.

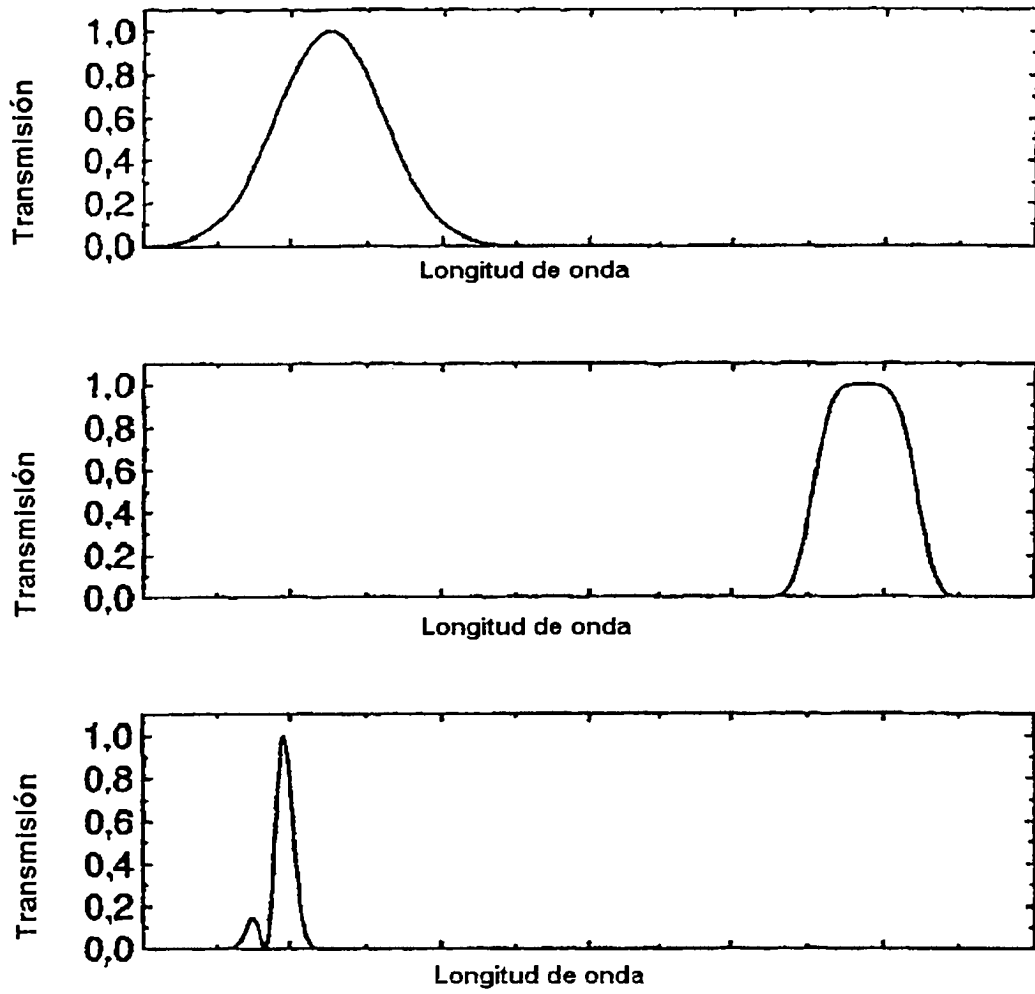


Fig. 9.

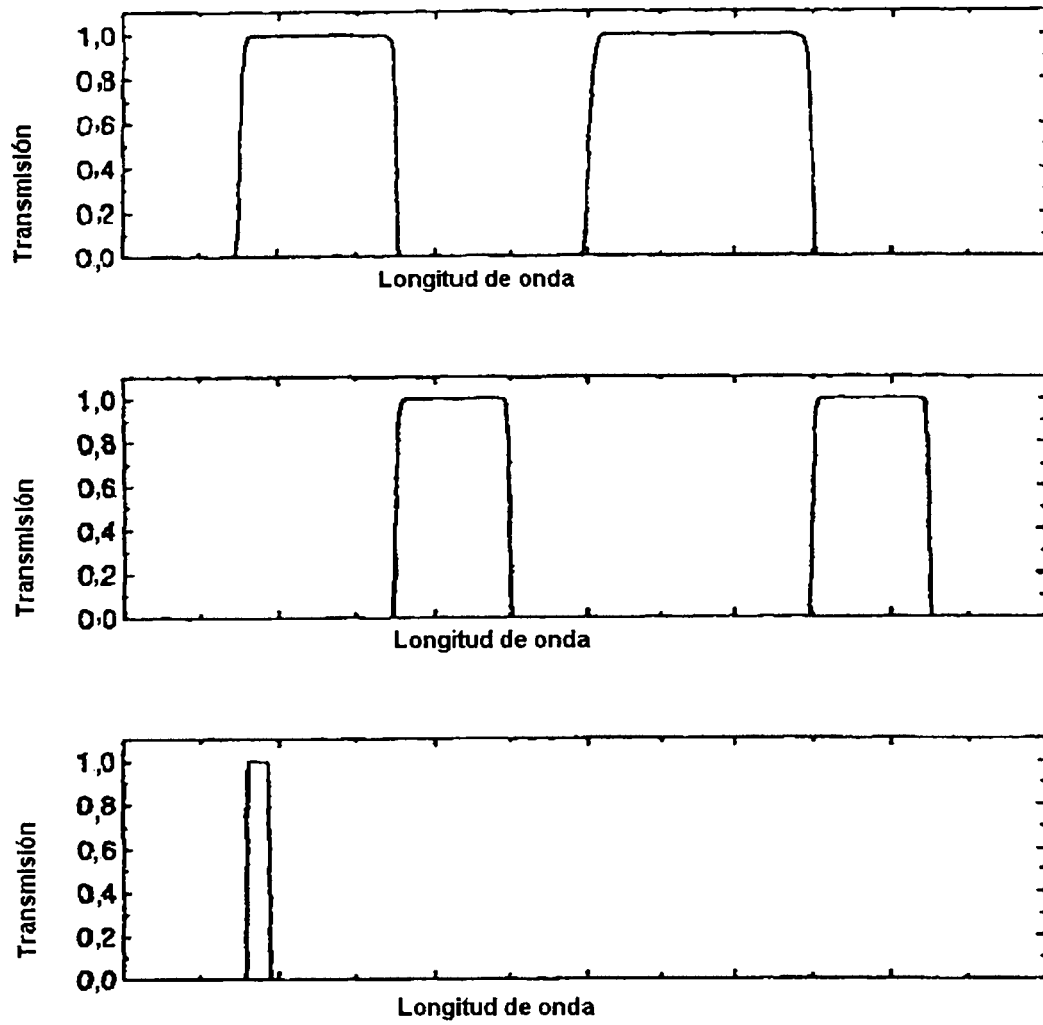


Fig. 10.

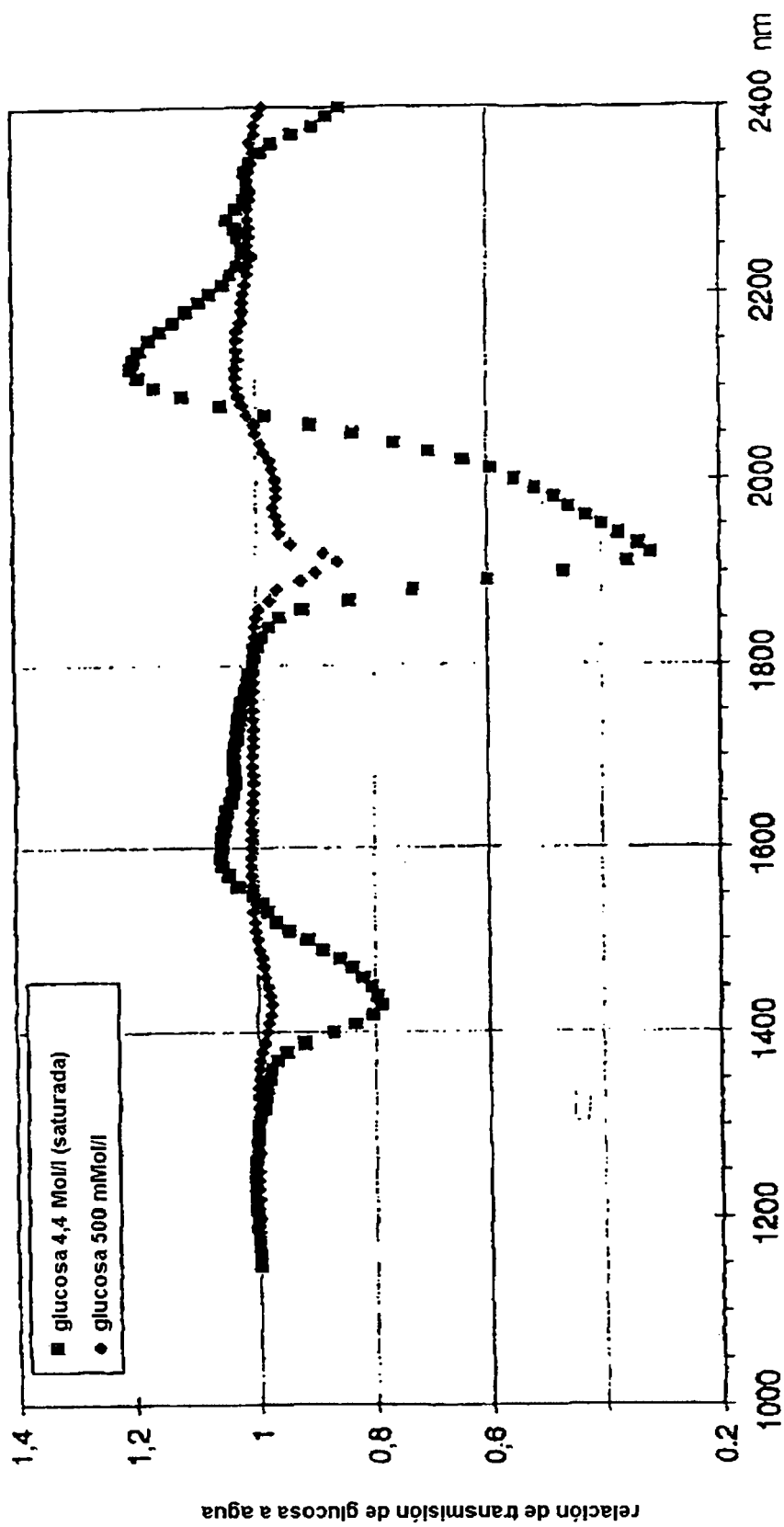


Fig. 11.

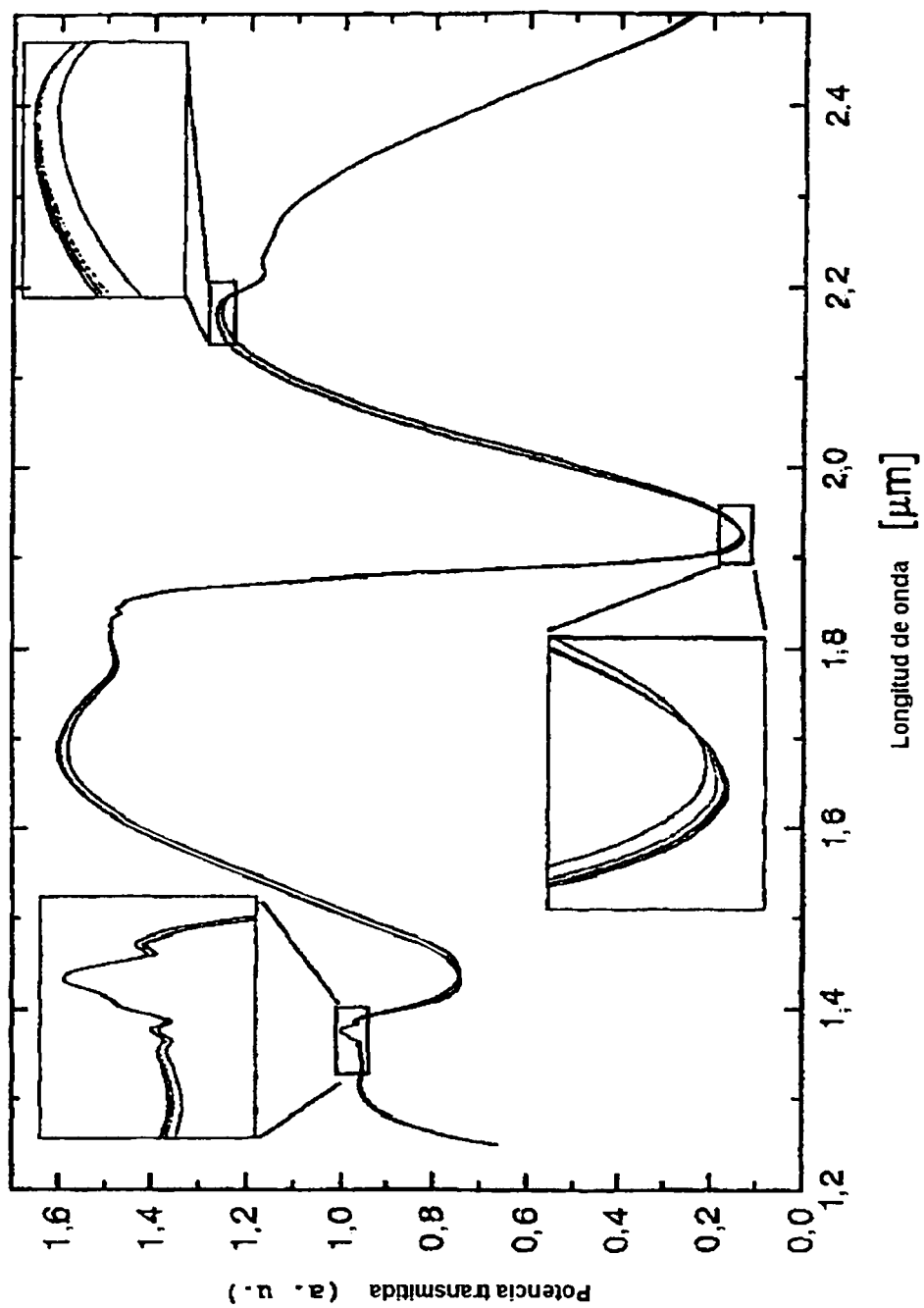


Fig. 12.

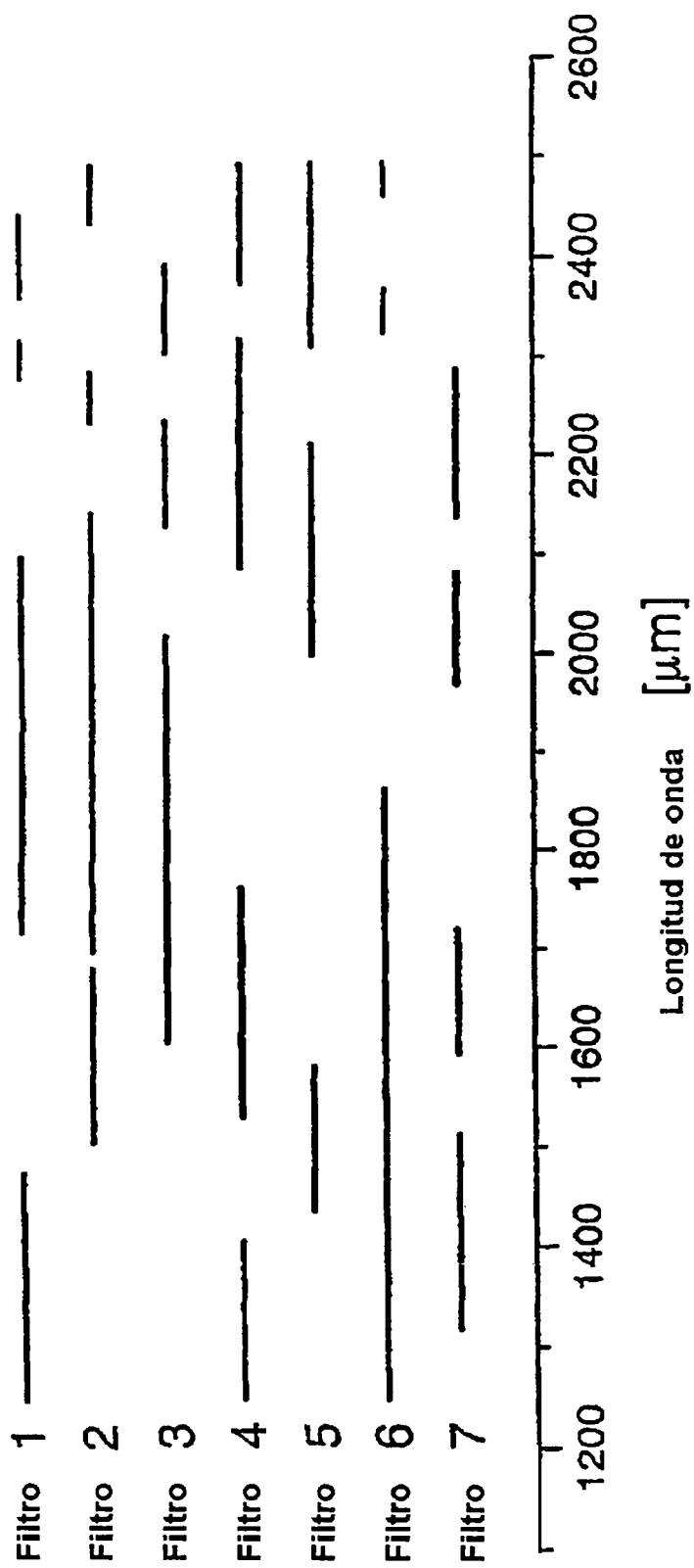


Fig. 13.