



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 333 517**

51 Int. Cl.:
G01N 27/72 (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01922159 .7**
96 Fecha de presentación : **07.03.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1262766**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.12.2002**

54 Título: **Análisis de mezclas biológicas y/o químicas utilizando partículas magnéticas.**

30 Prioridad: **09.03.2000 RU 2000105511**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.02.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.02.2010

73 Titular/es: **Magnisense Technology Limited**
Gr. Xenopoulou 17 Totalserve House
Limassol, CY

72 Inventor/es: **Nikitin, Petr Ivanovich y**
Vetoshko, Petr Mikhailovich

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 333 517 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

Análisis de mezclas biológicas y/o químicas utilizando partículas magnéticas.

5 Campo de la invención

El método propuesto se refiere al campo del desarrollo y la mejora de medios para análisis bioquímicos y al campo de los sensores químicos y los biosensores.

10 Antecedentes de la invención

Se conocen métodos de análisis bioquímico de una mezcla de componentes con el uso de partículas magnéticas a partir de los documentos WO 99/27367, WO 97/45740. [Ch. B. Kriz, K. Radevik, D. Kriz, Magnetic Permeability Measurements in Bioanalysis and Biosensors/Anal. Chem. 68, 1996, págs. 1966 a 1970] dan a conocer otro método, que incluye lo siguiente:

- se hace uso de un componente seleccionado fijado a partículas magnéticas;

- se exponen dichas partículas magnéticas a un campo magnético,

- se registra una señal debida a la inducción magnética producida por dichas partículas magnéticas como consecuencia de su exposición al campo magnético,

- se evalúa el contenido del analito en la mezcla que se está analizando a partir del valor de dicha señal.

Según este método, se introducen partículas en una muestra de la mezcla a analizar, portando dichas partículas elementos de reconocimiento que unen selectivamente al analito. Además, en la mezcla que se está analizando, debería haber un componente seleccionado fijado a partículas magnéticas. Este componente se une selectivamente al analito después de la unión de este último a los elementos de reconocimiento, o compite con el analito para unirse a los elementos de reconocimiento. En casos excepcionales en los que el analito contenga partículas magnéticas, el componente seleccionado puede ser el propio analito.

Desarrollándose esto así, este método incluye necesariamente retirar de la muestra aquellas partículas magnéticas que parecen no estar unidas a las partículas portadoras después del transcurso de las reacciones antes mencionadas. Para realizar esto, la muestra se somete a sedimentación, centrifugación, y enjuague con una solución tampón de unión. A continuación, una cierta dosis de la muestra se coloca en un tubo de ensayo, que se inserta en una bobina de inducción. A partir del cambio de la inducción magnética de la bobina después de insertar la muestra en la misma, se evalúa el contenido del analito en el medio que se está analizando.

El inconveniente de este equivalente consiste en su alta complejidad y bajo rendimiento debido a un número elevado de operaciones. Esto conduce también a un coste elevado, una fiabilidad insuficiente y una baja precisión de los resultados obtenidos.

El más próximo al método propuesto es un método equivalente de análisis de polinucleótidos y proteínas que usa fracciones magnetizables [patente US nº 5.656.429 de 12.08.97, Polynucleotide and protein analysis method using magnetizable moieties, Int. Cl.: C12 Q 1/68, U.S. Cl.: 435/6,], que comprende las siguientes operaciones:

- seleccionar un componente para fijar partículas magnéticas al mismo o un componente que ya está fijado a partículas magnéticas, siendo este componente seleccionado o bien el analito o bien otro componente que permite evaluar el contenido del analito en la mezcla que se está analizando,

- disponer espacialmente dicho componente seleccionado,

- fijar partículas magnéticas a dicho componente seleccionado o se usa dicho componente seleccionado que ya está fijado a partículas magnéticas,

- exponer dichas partículas magnéticas a un campo magnético,

- registrar una señal debida a la inducción magnética producida por dichas partículas magnéticas como consecuencia de su exposición al campo magnético,

- evaluar el contenido del analito en la mezcla que se está analizando a partir del valor de dicha señal.

Al realizar esto, se distribuyen componentes de una manera preestablecida (por ejemplo, por electroforesis) sobre la superficie de un sustrato según el tamaño molecular y la cantidad de los componentes en la mezcla que se está analizando. Se fijan partículas magnéticas a uno u otro componente de la mezcla antes o después de distribuir los componentes sobre la superficie del sustrato. A continuación, se registra la distribución resultante por lectura magnética de la superficie del sustrato de forma similar a la lectura de información de un disco magnético. A partir de dicha

ES 2 333 517 T3

distribución, se obtiene información sobre el contenido de uno u otro componente en la mezcla que se está analizando. Para posibilitar la lectura magnética, las partículas son magnetizadas por un campo magnético dc antes o después de distribuirlas sobre la superficie del sustrato. La lectura magnética en sí consiste en la medición de la inducción magnética resultante de la magnetización residual de las partículas. Una cualidad importante del método equivalente es la disposición espacial de partículas magnéticas que están unidas con el analito o el componente seleccionado. Esta disposición tiene lugar sobre la superficie del sustrato con una gran proximidad a un lector magnético. Consecuentemente, se incrementa la fiabilidad de los resultados, se minimizan las dimensiones del aparato requerido, y se garantiza la compatibilidad del aparato con tecnologías microelectrónicas.

Los inconvenientes de este método equivalente son la baja sensibilidad del método y la baja precisión de los resultados que produce, debido a varias razones. Las mismas son: en primer lugar, baja concentración de las partículas magnéticas que se están registrando, las cuales están “dispersas” sobre la superficie del sustrato; en segundo lugar, una magnetización residual muy baja de partículas conocidas de tamaño micrónico y submicrónico; y, en tercer lugar, aspectos negativos bien conocidos de las mediciones dc. Las razones mencionadas dan como resultado un área de aplicación restringida de este método.

Se conoce un aparato equivalente para leer resultados para el método de análisis bioquímico de una mezcla de sustancias, usando etiquetas magnéticas [Ch. B Kriz, K. Radevik, D. Kriz, Magnetic Permeability Measurements in Bioanalysis and Biosensors/Anal. Chem., 68, 1996, págs. 1966 a 1970], que comprende:

- unas partículas magnéticas fijadas a un componente seleccionado de la mezcla que se está analizando, directamente o a través de un material intermedio;
- un generador de campos magnéticos, bajo cuya acción están situadas dichas partículas magnéticas;
- un medidor de la inducción magnética producida por dichas partículas magnéticas;
- un receptor de señales de salida;
- un bloque que genera el resultado, estando conectada su entrada a la salida del receptor de señales de salida.

En este aparato, el medidor de inducción magnética, que se realiza en forma de una bobina de inducción, se inserta en un brazo de un circuito puente, cuya entrada está conectada a la salida del generador de campos magnéticos y la entrada del circuito se conecta a la entrada del receptor de señales de salida.

El funcionamiento de este aparato equivalente se basa en que la presencia de partículas magnéticas en la muestra que se está analizando y situada en el interior de la bobina de inducción, que actúa como medidor de inducción magnética, conduce a un cambio de esta inductancia y, por lo tanto, a una pérdida de equilibrio del circuito puente. Esto provoca la generación de la señal de salida del aparato descrito.

Los inconvenientes de este aparato equivalente son su alta complejidad y bajo rendimiento ya que el puente se debería equilibrar de forma precisa para cada medición nueva. Esto conduce también a un coste elevado y, teniendo en cuenta inestabilidades de temperatura del entorno (especialmente en variantes portátiles del aparato), a una baja precisión de los resultados obtenidos.

El más próximo al aparato propuesto es un aparato equivalente usado para la lectura de información en el método de análisis de polinucleótidos y proteínas que usa fracciones magnetizables. [Patente US nº 5.656.429 de 12.08.97, Polynucleotide and protein analysis method using magnetizable moieties, Int. Cl.: C12 Q 1/68, U.S. Cl.: 435/6], que comprende:

- un componente seleccionado de la mezcla que se está analizando, estando dispuesto espacialmente de una manera preestablecida dicho componente;
- unas partículas magnéticas fijadas al componente seleccionado de la mezcla que se está analizando directamente o a través de un material intermedio;
- un generador de campos magnéticos, bajo cuya acción están situadas dichas partículas magnéticas;
- un medidor de la inducción magnética producida por dichas partículas magnéticas;
- un receptor de señales de salida;
- un bloque que genera el resultado, estando conectada su entrada a la salida del receptor de señales de salida.

Además, los componentes de la mezcla que se está analizando se distribuyen sobre la superficie de un sustrato según su tamaño molecular, el generador de campos magnéticos y el medidor de inducción magnética posibilitan la generación y, respectivamente, el registro de una señal constante en el tiempo.

ES 2 333 517 T3

El funcionamiento del aparato equivalente se basa en que las partículas magnéticas fijadas a uno o varios componentes seleccionados de la mezcla que se está analizando, y distribuidas a lo largo de la superficie del sustrato, adquieren una magnetización residual resultante de su exposición a un campo magnético dc. A continuación, por medio de un medidor de campos magnéticos dc, por ejemplo, un sensor Hall, se registra la distribución de la inducción magnética provocada por la magnetización residual sobre la superficie del sustrato. A partir de esta distribución, se determina la cantidad de partículas magnéticas fijadas a uno u otro componente de la mezcla que se está analizando, y el contenido de este componente en la mezcla.

Los inconvenientes de este equivalente son una sensibilidad limitada del aparato y una baja precisión de los resultados obtenidos. Los mismos son debidos a aspectos negativos conocidos de las mediciones dc, un valor bajo de la magnetización residual, y una baja concentración de partículas magnéticas, que están dispersas sobre la superficie de un sustrato. El área de aplicación de este aparato es bastante restringida también.

Para concluir, el resultado técnico deseado consiste en elevar la relación señal/ruido y, por lo tanto, incrementar la precisión de las mediciones, mejorar la sensibilidad del método y el aparato, mejorar la fiabilidad de los datos obtenidos, junto con una reducción de los costes de los experimentos debido a la reducción del número de operaciones y el tiempo necesarios, la cantidad y las dimensiones del aparato, y además, consiste en desarrollar laboratorios móviles, económicos, de alto rendimiento, para ensayos masivos, en mejorar la flexibilidad de funcionamiento del método y el aparato y ampliar su área de aplicación.

Sumario de la invención

Para lograr el resultado técnico mencionado, se propone un método de análisis de una mezcla de componentes biológicos y/o químicos con el uso de partículas magnéticas, según la reivindicación 1.

El método propuesto difiere en que:

- la disposición espacial de dicho componente seleccionado incluye el agrupamiento de este componente en un volumen de sonda;

- dicho campo magnético es alterno, y su espectro se preconfigura con componentes espectrales, por lo menos, en dos frecuencias;

- dicha señal se está registrando a una frecuencia tal que es una combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales, durante la exposición de dichas partículas magnéticas a dicho campo magnético.

Además, dicha combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales es la suma o la diferencia de estas frecuencias.

Además, las amplitudes A_h y A_l de dichos componentes espectrales, que pertenecen, respectivamente, a las frecuencias superior e inferior, se seleccionan según la relación $A_l/A_h > 2$.

Además, los vectores de intensidad del campo magnético pertenecientes a, por lo menos, dichos dos componentes espectrales, están orientados de forma no colineal entre sí.

Además, las partículas magnéticas se realizan con un material magnético blando.

Además, en dicho volumen de sonda se forma una superficie de trabajo, y dicho componente seleccionado se está disponiendo espacialmente a través de la unión de este componente a la superficie de trabajo.

Además, la superficie de trabajo se forma a través del llenado del volumen de sonda con microgránulos.

Además, dichos microgránulos se realizan con polietileno.

Además, dichos microgránulos se realizan bajo presión reducida a partir de polietileno estabilizado con radiación gamma.

Además, la superficie de trabajo se forma a través del llenado del volumen de sonda con una estructura capilar-porosa.

Además, la superficie de trabajo se forma con la inmovilización de un reactivo en la misma, que es capaz de unir el analito de una manera selectiva, y, a través de este reactivo, dicho componente seleccionado se une a la superficie de trabajo.

Además, dicho volumen de sonda se forma a partir de varias zonas separadas espacialmente, y se garantiza la posibilidad de registrar dicha señal para cada una de dichas zonas.

Además, en dichas zonas, se forma una superficie de trabajo y, en esta superficie de trabajo, se inmovilizan varios reactivos, que son capaces de unir varios analitos selectivamente y, a través de los cuales, componentes seleccionados se unen a la superficie de trabajo, y, a partir del registro de dicha señal para cada una de dichas varias zonas, se obtiene la información sobre el contenido de varios analitos en la mezcla que se está analizando.

5

Una de las características distintivas del método propuesto consiste en que la disposición espacial del componente seleccionado de la mezcla que se está analizando con partículas magnéticas fijadas al mismo viene acompañada por el agrupamiento de este componente en un volumen de sonda. Esto conduce a un incremento sustancial de la concentración de las partículas magnéticas que se está registrando en la zona de su exposición al campo magnético y en gran proximidad con el medidor de inducción magnética. Esto, a su vez, da como resultado un incremento drástico de la señal que se está midiendo con respecto al nivel de ruido. El agrupamiento en el volumen de sonda se puede realizar usando varios planteamientos. Entre ellos, se encuentran la unión biológica o química así como la adsorción o la absorción de partículas o moléculas del componente seleccionado en una zona espacial prefijada o una serie de dichas zonas. Además, dicho agrupamiento se puede realizar a través de la exposición a un campo magnético no homogéneo, filtración, sedimentación, etcétera. En una serie de casos, el agrupamiento puede tener lugar cerca de una superficie, que ya está presente en el volumen de control, o cerca de una superficie de trabajo formada ex profeso. Las variantes de formación de la superficie de trabajo incluyen particularmente modificación química de una superficie presente en el volumen de control, inmovilización de uno u otro reactivo sobre dicha superficie, y, además, la síntesis de una matriz biomolecular o una capa espaciadora para lograr dicha inmovilización en una zona bi- o tridimensional. Entre los casos de dicho agrupamiento, que en la práctica son los más importantes, se encuentran reacciones de unión (reconocimiento) selectiva del componente seleccionado y un reactivo complementario con respecto al mismo, que se inmoviliza en el volumen de sonda, en particular, en la superficie de trabajo formada. Los ejemplos de dichas reacciones son varias interacciones ligando-receptor, unión antígeno-anticuerpo y biotina-avidina, etcétera, así como la unión de fragmentos de ADN complementario (hibridación de ADN). Para aplicaciones prácticas, resulta muy prometedor el llevar a cabo dicho agrupamiento a través de una unión selectiva en la gran superficie de trabajo efectiva de una estructura capilar o porosa formada en un volumen de sonda de modo similar a una columna cromatográfica o en la superficie de trabajo de pocillos de placas convencionales de microtitulación (por ejemplo, agrupaciones de 8x12, 16x24, 32x48 pocillos), que se usan en Ensayos Inmunoabsorbentes Ligados a Enzimas (ELISA) y otros análisis bioquímicos con biochips.

30

Al realizar esto, se pueden usar varios planteamientos para utilizar reacciones de reconocimiento con el fin de disponer el componente seleccionado espacialmente y obtener información sobre el analito. Además, pueden existir diferentes relaciones entre el analito y el componente seleccionado. El componente seleccionado puede ser o bien el propio analito o bien otro componente, permitiendo su contenido en el volumen de sonda que se evalúe de forma directa o indirecta el contenido del analito en la mezcla que se está analizando.

35

En el caso más sencillo, el propio analito posee propiedades magnéticas y contiene partículas magnéticas (por ejemplo, proteína ferritina). El analito, en este caso, actúa simultáneamente como componente seleccionado, que se está disponiendo espacialmente a través de una unión selectiva con un reactivo de reconocimiento (por ejemplo, un anticuerpo específico para esta proteína). En otros casos, se fijan partículas magnéticas al componente seleccionado. Se considera que la expresión partículas magnéticas significa partículas que presentan magnetización bajo una exposición a un campo magnético externo y, por lo general, están unidas a un material (conjugado) que garantiza su compatibilidad biológica.

40

En otro método (“ensayo sándwich”), el analito también actúa como componente seleccionado, y se fijan partículas magnéticas a este componente de una manera selectiva, por norma general, antes o después de la unión selectiva de este componente con un reactivo de reconocimiento. La fijación de las partículas magnéticas se puede realizar, según requiera el caso, directamente o a través de un material intermedio. En particular, el material intermedio que es aconsejable usar es el unido previamente a las partículas magnéticas para garantizar la selectividad de la fijación de las partículas magnéticas al analito. Por ejemplo, un epítipo del analito se une selectivamente a un material de reconocimiento mientras que otro epítipo lo hace a dicho material intermedio.

45

50

En un tercer método se usa un componente seleccionado tal que, junto con el analito, es capaz de unirse selectivamente con un reactivo de reconocimiento. En este caso, el componente seleccionado compite con el analito para unirse al reactivo de reconocimiento (“ensayo competitivo”). Las partículas magnéticas se fijan selectivamente al componente seleccionado, por norma general, antes o después de su unión selectiva al reactivo de reconocimiento (de una manera similar, directamente o a través de un material intermedio). Si no, se usa un componente seleccionado que ya está fijado a partículas magnéticas. Para evaluar la cantidad del analito en la mezcla que se está analizando a partir del nivel al que se une el componente competitivo seleccionado al reactivo de reconocimiento, la mezcla debe contener una cantidad conocida del componente seleccionado antes del análisis. En la práctica, en la mezcla que se está analizando, antes del análisis se introduce habitualmente una cantidad conocida de dicho componente seleccionado.

55

60

En todas las modificaciones mencionadas del método propuesto, existe una relación inequívoca entre la cantidad de las partículas magnéticas agrupadas en un volumen de sonda especificado debido a la unión selectiva de un componente seleccionado, y el contenido buscado del analito en la mezcla que se está analizando. Se registra una señal relacionada con la inducción magnética producida por las partículas como consecuencia de su exposición a un campo magnético, y a continuación se evalúa la cantidad de las partículas magnéticas agrupadas y el contenido del analito en la mezcla.

65

ES 2 333 517 T3

A partir de lo expuesto anteriormente, se observa que, en el método propuesto, las partículas magnéticas tienen la función de etiquetas (marcadores) de un componente seleccionado, de forma similar a cómo se usan las etiquetas enzimáticas, fluorescentes, radioactivas, y otras en procedimientos convencionales de análisis bioquímicos.

5 No obstante, al realizar esto, se usa un campo magnético alterno y se preconfigura su espectro con componentes espectrales, por lo menos, en dos frecuencias, y se registra dicha señal a una frecuencia tal que sea una combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales, durante la exposición de dichas partículas magnéticas a dicho campo magnético. El espectro frecuencial del campo magnético que actúa sobre las partículas magnéticas se preconfigura con la debida consideración a las propiedades del medio a analizar o un medio tampón, en particular,
10 con consideración a las bandas específicas o regiones espectrales de absorción del campo electromagnético de alta frecuencia por dicho medio. Por ejemplo, cuando se analizan soluciones biológicas, es importante tener en cuenta la conductividad y la absorción del agua en las bandas de los MHz y los GHz.

15 La medición de la señal durante la exposición al campo magnético es otra diferencia importante con respecto al método equivalente. Posibilita el evitar basarse en una magnetización residual. Se mide una señal a una frecuencia combinatoria. Por lo tanto, se registra un parámetro relacionado exclusivamente con la cantidad de partículas magnéticas que se están detectando en lugar del campo magnético accionador o la interferencia de la circuitería inducida por el campo magnético en la frecuencia del campo o múltiplos de la misma. En general, dicha frecuencia combinatoria es una combinación lineal de frecuencias f_1 y f_2 en forma de $f_i = m f_1 + n f_2$, en la que m y n son enteros positivos o
20 negativos diferentes de cero, y f_1 y f_2 son, respectivamente, la frecuencia mayor y menor de dichos dos componentes espectrales del campo magnético accionador. En principio, dicha combinación lineal también puede incluir un número mayor de frecuencias de componentes espectrales del campo magnético. Además, los valores de m y n pueden variar, según requiera la situación. Por ejemplo, dicha combinación lineal se puede presentar como $f_i = f_1 \pm f_2$ (es decir, puede ser una suma o una diferencia de las frecuencias de dichos componentes espectrales), $f_i = f_1 \pm 2 f_2$, y otras.

25 Debería observarse que, al ser el resto de condiciones iguales, se puede detectar el componente seleccionado con partículas magnéticas fijadas al mismo a partir de mediciones no solamente en una frecuencia combinatoria, sino también en una frecuencia múltiplo de la frecuencia del campo magnético accionador (es decir, en $m = 0$ ó $n = 0$, o bajo exposición a un campo magnético de solamente una frecuencia). En este último caso, la señal de inducción magnética medida en una frecuencia múltiplo (es decir, el doble) se determina también mediante la cantidad de las
30 partículas magnéticas que se detecten en lugar de mediante la amplitud del campo accionador, ya que es el material de las partículas magnéticas el que introduce una dependencia no lineal de la inducción magnética que se está midiendo con respecto a la intensidad del campo magnético accionador. Es esta dependencia no lineal la que da como resultado frecuencias combinatorias y múltiplo en el espectro de la señal de inducción magnética. En el método propuesto, el registro de una señal a una frecuencia combinatoria se usa como forma preferida de diferenciar la señal de información
35 con respecto a ruido e interferencias del circuito.

También se pueden usar varias relaciones entre las amplitudes de dichos componentes de frecuencia del campo magnético. La amplitud de, por lo menos, uno de dichos componentes espectrales se selecciona suficientemente alta como para garantizar una dependencia no lineal de dicha inducción magnética con respecto a la intensidad de dicho campo magnético, ya que esto es necesario para que aparezcan frecuencias combinatorias. La medida cuantitativa de la no linealidad usada depende de los parámetros del circuito utilizado, que registra la señal a una frecuencia combinatoria, y de la capacidad de este circuito de diferenciar esta señal con respecto al fondo ruidoso. La reducción de la amplitud del componente de frecuencia mayor del espectro del campo accionador es aconsejable para la obtención
45 del régimen lineal de mediciones de la señal formada, para simplificar las formas de realización del aparato, y para disminuir el consumo de energía. Esta es la razón por la que las amplitudes A_h y A_l de dichos componentes espectrales, que pertenecen, respectivamente, a las frecuencias superior e inferior, se seleccionan según la relación $A_l/A_h > 2$.

De este modo, en la práctica real, es el componente de frecuencia inferior del campo magnético accionador el
50 que proporciona habitualmente la dependencia no lineal de la inducción magnética producida por dichas partículas magnéticas con respecto a la intensidad del campo. Para potenciar la señal de una frecuencia combinatoria, la amplitud de dicho componente de frecuencia inferior se debería corresponder con la saturación de esta dependencia o, por lo menos, con el régimen cercano a la saturación. Evidentemente, esto implica una no linealidad esencial. Por motivos de simplicidad, se puede decir que el componente de frecuencia inferior del campo "activa" y "desactiva" periódicamente la no linealidad mencionada. A partir de la realización experimental del método propuesto, se ha observado que se puede optimizar la amplitud del componente de frecuencia inferior usando varios criterios de optimización. Por ejemplo, la señal máxima a una frecuencia combinatoria se ha obtenido a un valor tal de la amplitud del componente de frecuencia inferior que el estado de saturación tiene lugar aproximadamente durante la mitad del tiempo. Para incrementar la estabilidad contra factores externos (temperatura, interferencia electromagnética, derivas, etcétera), es
60 razonable seleccionar esta amplitud algo mayor.

Además, los vectores de intensidad magnética pertenecientes a, por lo menos, dichos dos componentes espectrales, en varios casos se orientan de forma no colineal entre sí. Se considera que esto es útil para elevar la eficacia de la interacción no lineal entre señales externas y el sistema de partículas magnéticas, por ejemplo, cuando se registra una
65 señal de eco de espín.

Las partículas magnéticas se realizan con un material magnético blando para aumentar la inducción magnética, que es la respuesta del material magnético de las partículas y de la que depende directamente la magnitud de la señal

medida. Además, también se pueden usar partículas magnéticas comercialmente disponibles (“perlas magnéticas”), que se aplican convencionalmente para la separación biomagnética. Habitualmente, las mismas se suministran en forma de mezclas coloidales (“ferrofluidos”). Dichas partículas, por norma general, tienen un tamaño de entre decenas de nanómetros y decenas de micras, contienen un material magnético (habitualmente $\square\text{Fe}_2\text{O}_3$, Fe_3O_4) en una trampa polimérica, y son superparamagnéticas. Este último término significa que las partículas presentan propiedades magnéticas únicamente cuando se sitúan en un campo magnético externo aunque presentan magnetización residual después de haber sido retiradas de este campo.

Para desarrollar las condiciones más favorables para agrupar el componente seleccionado en un volumen de sonda y para ubicar este componente con gran proximidad al medidor de inducción magnética, en dicho volumen de sonda se forma ex profeso una superficie de trabajo, y dicho componente seleccionado se dispone espacialmente a través de la unión de este componente a la superficie de trabajo. Es preferible la formación de una superficie de trabajo bien desarrollada con un valor alto de superficie efectiva en una zona tridimensional del volumen de sonda o la síntesis de una matriz biomolecular de unión, tridimensional (es decir, dextrano, espaciadores peptídicos, etcétera), en una de las superficies dentro del volumen de sonda. Esto proporciona un gran número de acontecimientos elementales de unión selectiva (reconocimiento) de un analito o un componente seleccionado por unidad de volumen cerca del medidor de inducción magnética. Como consecuencia, se garantizan un número elevado de partículas magnéticas ubicadas cerca del medidor de inducción magnética y un alto nivel de señal de información con respecto a ruidos. La formación de la superficie de trabajo también puede incluir un tratamiento o modificación física o química de una superficie (por ejemplo, ataque químico para proporcionar la unión de uno u otro reactivo o para crear una estructura porosa), inmovilización de biorreactivos, etcétera, tal como ya se ha mencionado anteriormente.

Una de las variantes de la formación de la superficie de trabajo en un volumen de sonda consiste en que el volumen de sonda se llena con microgránulos total o parcialmente. Esto permite incrementar la superficie, en la que se producen las reacciones bioquímicas que nos interesan. A su vez, esto conduce al incremento de la concentración y el número total de las partículas magnéticas que se están agrupando y, consecuentemente, de la señal que se está midiendo.

Además, dichos microgránulos se producen bajo una presión reducida a partir de polietileno estabilizado con radiación gamma. Esto proporciona una elevada inmunidad de la superficie de trabajo a factores de destrucción químicos y mecánicos.

Otra variante de la formación de la superficie de trabajo consiste en llenar el volumen de sonda total o parcialmente con una estructura capilar-porosa. La estructura capilar o porosa se puede crear en el volumen de sonda a través de la colocación de materiales capilares o porosos en el mismo, o por otros métodos físicos o químicos (por ejemplo, ataque químico, recocido, etcétera). Una de las variantes preferidas del método propuesto consiste en hacer pasar la mezcla que se está analizando a través de una microcolumna llenada con un cuerpo filtrante, poroso, que presenta un valor muy elevado de superficie interna efectiva. Esta superficie actúa como superficie de trabajo, en la que se agrupa un componente seleccionado, por norma general, a través de unión a un reactivo de reconocimiento inmovilizado en esta superficie. La creación de una estructura capilar o porosa en un volumen de sonda proporciona el incremento de la superficie, en la que se producen reacciones bioquímicas, la cantidad de partículas magnéticas que se registra y, consecuentemente, la señal que se está midiendo.

Para garantizar una selectividad del análisis para el contenido de uno u otro analito, la superficie de trabajo se forma con la inmovilización de un reactivo en la misma, el cual es capaz de unir (reconocer) el analito de una manera selectiva, y, a través de este reactivo, dicho componente seleccionado se une a la superficie de trabajo.

Para resolver varios problemas prácticos, dicho volumen de sonda se forma a partir de varias zonas separadas espacialmente, y se garantiza la posibilidad de registrar dicha señal para cada una de dichas zonas. En primer lugar, dicho registro de la señal de información para cada uno de entre varios canales de forma independiente permite el uso de los canales para la generación de señales de referencia (es decir, canales de referencia) de varias funciones. Por ejemplo, es razonable aprovechar canales de referencia para compensar probables errores ocasionales, dispersión de parámetros, falta de homogeneidades de muestras de la mezcla, así como un agrupamiento no específico (no selectivo) de componentes de la mezcla que se está analizando en el volumen de sonda, y una unión no específica de los componentes a la superficie de trabajo o a las partículas magnéticas. Además, para análisis repetitivos o una monitorización continua, los canales de referencia pueden servir para tener en cuenta derivas de temperatura y otras inestabilidades físicas o químicas (por ejemplo, presión, densidad, pH de una solución o concentración de impurezas no deseadas en la misma, etcétera). En dichas aplicaciones, por norma general, un canal de referencia se encuentra bajo las mismas condiciones que otro informativo, excepto por el agrupamiento selectivo de un componente seleccionado (su unión a un reactivo de reconocimiento).

Otro grupo de tareas, en las que se requiere un registro de múltiples canales, hace referencia a la provisión de un alto rendimiento de análisis. Esto resulta particularmente importante, por ejemplo, para someter a pruebas preparaciones nuevas en la industria farmacéutica. Para resolver dichos problemas, es razonable, en particular, realizar el método propuesto sobre la base de las normas ELISA actuales que usan conjuntos de un número elevado de pocillos de reacción y, evidentemente, con el uso de etiquetas magnéticas en lugar de enzimáticas.

Un tercer grupo de tareas es el reconocimiento de mezclas multi-componente complejas y su análisis para varios componentes simultáneamente. Para realizar esto, en dichas zonas separadas espacialmente, se forma una superficie

ES 2 333 517 T3

de trabajo y en esta superficie de trabajo se inmovilizan varios reactivos, que son capaces de unir varios analitos selectivamente y, a través de los cuales, componentes seleccionados se unen a la superficie de trabajo, y, a partir del registro de dicha señal para cada una de dichas varias zonas, se obtiene la información sobre el contenido de varios analitos en la mezcla que se está analizando. En el caso más sencillo, cuando el grado de selectividad de la unión de cada componente seleccionado con un reactivo de reconocimiento respectivo es suficientemente alto, cada una de dichas zonas se asocia a una cantidad no mayor que uno de dichos reactivos y una cantidad no mayor que un analito; es decir, una zona es “responsable” del reconocimiento de un componente, y algunas zonas se usan como canales de referencia. En otros casos, a partir de dichas zonas se obtiene un patrón de señal complejo, cada señal presenta una baja especificidad hacia uno u otro componente, aunque el patrón completo se presenta como específico (como una huella dactilar) para la mezcla que se está analizando en su conjunto. En este caso, la mezcla se puede identificar, por ejemplo, con métodos informáticos de reconocimiento de patrones. Se sabe que dichos planteamientos no tienen relación alguna con el método propuesto y a los mismos se les hace referencia como “biochips”, “chips genéticos”, “nariz” y “lengua” electrónicas, etcétera.

Las variantes mencionadas del método, con la formación del volumen de sonda y, respectivamente, la superficie de trabajo que consta de varias zonas separadas espacialmente y proporciona el registro de dicha señal para cada una de dichas zonas independientemente, se realizan, por ejemplo, mediante la interacción del medio que se está analizando, o sus partes, de forma independiente (en paralelo) o sucesiva con cada una de dichas zonas. La variante de la interacción en paralelo (no obligatoriamente simultánea) se realiza, por ejemplo, mediante la interacción de la mezcla en conjunto con un biochip, un chip genético, un chip para un análisis químico combinatorio, etcétera, o dosificando las partes de la mezcla que se está analizando en placas de titulación que contienen agrupaciones de celdas de reacción (de tipo ELISA, etcétera). La variante de la interacción sucesiva se realiza, por ejemplo, haciendo pasar la mezcla que se está analizando a través de un tubo o una columna de manera que la mezcla pase por las zonas con diferentes reactivos de reconocimiento sucesivamente, y en cada una de estas zonas se agrupa un componente seleccionado correspondiente.

Una de las variantes preferidas de dicha formación del volumen de sonda y, respectivamente, la superficie de trabajo a partir de varias zonas separadas espacialmente, proporcionando el registro de dicha señal para cada una de dichas zonas, consiste en que cada una de estas zonas está provista de un medidor independiente de inducción magnética, que se usa para registrar dicha señal a una frecuencia combinatoria tal como se ha descrito anteriormente. Para realizar esto, la salida de cada medidor de inducción se conecta con un filtro de radiofrecuencia, que se sintoniza para dejar pasar la señal de frecuencia combinatoria, y un receptor de la señal de salida. Al realizar esto, el volumen de sonda se forma, por ejemplo, haciendo uso de agrupaciones de un número elevado de celdas (pocillos), garantizándose en cada celda el agrupamiento (unión selectiva) de un componente seleccionado, y estando equipada cada celda con un medidor independiente de inducción magnética. Como dichas agrupaciones, se utilizan preferentemente placas de valoración estándar, que se usan en procedimientos convencionales de análisis bioquímicos. La miniaturización de dichas agrupaciones resulta prometedora. En particular, para el reconocimiento de mezclas complejas y análisis multicomponente, por ejemplo, que se basen en métodos de química combinatoria, resulta prometedora la fabricación de las agrupaciones de dichas zonas en forma de chips microelectrónicos. Al realizar esto, los medidores de inducción magnética y los componentes de la circuitería se fabrican preferentemente basándose en una tecnología de microelectrónica plana.

En otras variantes del método, en las que el volumen de sonda y, respectivamente, la superficie de trabajo se forman a partir de una serie de zonas separadas espacialmente y se habilita el registro de dicha señal para cada una de dichas zonas, esta señal se registra sucesivamente para dichas zonas. Al realizar esto, dicho volumen de sonda consiste en una serie de zonas separadas espacialmente y se construye para habilitar las pruebas sucesivas de dichas zonas con un medidor de inducción magnética. Por ejemplo, el volumen de sonda se construye de manera que dichas zonas se puedan colocar sucesivamente cerca del medidor de inducción magnética, o el medidor de inducción magnética cerca de dichas zonas. Por ejemplo, se usa un tubo (columna), en el que se forma un volumen de sonda que consta de una serie de zonas, separadas espacialmente a lo largo de este tubo (columna). Con esto, en estas zonas se inmovilizan diferentes reactivos de reconocimiento que unen diferentes componentes seleccionados, selectivamente cuando el medio que se está analizando se hace pasar a través de esta columna (tubo). Después de esta unión, se tira del tubo (columna) hacia las proximidades inmediatas del medidor de inducción magnética (por ejemplo, tirándolo a través de una bobina de inducción), o el medidor de inducción magnética se mueve a lo largo del tubo (columna). Además de un tubo de este tipo, también se pueden usar otros formatos. Los ejemplos son: una tira suficientemente gruesa de un material capilarporoso, estando construida y funcionando dicha tira de forma similar al tubo, una agrupación bidimensional de dichas zonas escaneadas con un medidor de inducción magnética, etcétera.

Para garantizar que el registro de la señal para cada una de dichas zonas es independiente de otras zonas, resulta oportuno separar estas zonas con un espacio intermedio suficientemente amplio. Por ejemplo, en la variante antes descrita del tubo (columna) insertado en el medidor de inducción magnética realizado en forma de una bobina de inducción, la distancia entre dichas zonas a lo largo del tubo debería ser del mismo orden que el diámetro de la bobina (no menor que la mitad del diámetro, y preferentemente mayor que dos veces el diámetro).

Además, se mostrará que son las características distintivas del método propuesto las que proporcionan el resultado técnico deseado.

El agrupamiento, en un volumen de sonda, de un componente seleccionado con partículas magnéticas fijadas al mismo proporciona la potenciación de la sensibilidad del método. Simultáneamente, esto reduce el coste del método, mejora la eficacia de las operaciones de medición, simplifica el aparato, y reduce su peso y dimensiones.

ES 2 333 517 T3

Se garantiza el mismo resultado técnico haciendo que dicho campo magnético sea alterno, preconfigurando su espectro con componentes espectrales, por lo menos, en dos frecuencias, y midiendo dicha señal a una frecuencia que sea una combinación lineal de frecuencias de dichos componentes espectrales, durante la exposición de dichas partículas magnéticas a dicho campo magnético. Todo esto proporciona estabilidad y protección del método contra interferencias por una serie de razones. Una de las razones es que se evitan mediciones dc, que están siempre asociadas al problema de derivas de un nivel cero, lo cual resulta difícil de resolver. Otra de las razones es la ausencia de componentes espectrales de señales de accionamiento en el espectro de la señal extraído para las mediciones, la ortogonalidad de las señales en un sentido amplio, que es el criterio convencional de alta estabilidad contra interferencias. La breve duración de las mediciones también favorece la eficacia del método propuesto. Resulta todavía más importante el hecho de que registrar la señal durante la exposición de las partículas magnéticas al campo magnético posibilita evitar el basarse en la magnetización residual de las partículas, que es muy baja en la mayoría de los casos importantes en la práctica. Como consecuencia, se amplía sustancialmente la clase de partículas magnéticas procesables y se incrementa drásticamente la señal útil. Cuando tiene lugar esto, se obtiene el resultado técnico que consiste en la potenciación de la relación señal/ruido resultante de las mediciones, el incremento de la precisión de las mediciones, la potenciación de la sensibilidad del método, y más fiabilidad de los datos obtenidos. Al mismo tiempo, se reducen los costes del experimento debido a la reducción del número de etapas de funcionamiento necesarias, tiempo, cantidad y dimensiones de los equipos necesarios. Esto posibilita el desarrollo de laboratorios de ensayos masivos, móviles, económicos, altamente eficaces, y mejora la flexibilidad de funcionamiento del método.

En variantes preferidas del método propuesto, dicha combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales es la suma o la diferencia de estas frecuencias. Esto, en última instancia, restringe el espectro de frecuencias usado, y, a su vez, simplifica las formas de realización del método, reduce sus costes, y mejora la fiabilidad.

De este modo, el método propuesto permite lograr los resultados técnicos deseados de la forma más sencilla y, por lo tanto, con gastos mínimos.

Es también muy importante que la amplitud de, por lo menos, uno de dichos componentes espectrales se seleccione suficientemente alta para garantizar una dependencia no lineal de dicha inducción magnética con respecto a la intensidad de dicho campo magnético. La razón es que es la no linealidad de la transformación de energía de señales de accionamiento en el material de las partículas magnéticas la que da como resultado la aparición de una señal a una frecuencia combinatoria. En este caso, la señal a la frecuencia superior debería tener preferentemente una amplitud menor, ya que esta señal tiene la función de interferencia cuando la señal medida se diferencia sobre su fondo (en el sentido temporal). Esta interferencia podría reducir considerablemente la sensibilidad del método propuesto. Por esta razón, las amplitudes A_h y A_l de dichos componentes espectrales, que pertenecen respectivamente a las frecuencias superior e inferior, se seleccionan según la relación $A_l/A_h > 2$.

Además, los vectores de intensidad magnética pertenecientes a, por lo menos, dichos dos componentes espectrales se orientan, en diversos casos, de forma no colineal entre sí. Se considera que esto es útil para elevar la eficacia de la acción de la energía de la señal externa sobre el sistema de etiquetas magnéticas, por ejemplo, cuando se registran señales de eco de espín. Esto proporciona el desacoplamiento ac de las bobinas de inducción y la ausencia de la influencia del campo magnético de una bobina sobre la otra cuando el eje de una bobina se gira 90° con respecto al otro. Además, esto posibilita que se optimicen las condiciones de interacción no lineal de las señales de accionamiento con el material de partículas magnéticas y, por lo tanto, que se incremente el nivel de la señal extraída. Esto hace que aumente la sensibilidad del método, que es la base de la totalidad del resto de características antes mencionadas del resultado técnico deseado.

Las partículas magnéticas se realizan con un material magnético blando para potenciar la respuesta de las partículas al campo magnético de accionamiento, ya que esta respuesta determina el valor de la señal medida. Esto proporciona además la base para la consecución del resultado técnico deseado.

La condición de que en el volumen de sonda se forme intencionadamente una superficie de trabajo, y esta superficie cumpla los requisitos para que aparezca la reacción registrada de unión selectiva de un componente seleccionado, potencia la señal utilizable y, además, incrementa la fiabilidad de los resultados del análisis. Se abren otras posibilidades para la potenciación de la señal utilizable a través del uso de una superficie de trabajo altamente desarrollada con un valor alto de superficie efectiva o una matriz de unión tridimensional, ya que la probabilidad y el número de acontecimientos elementales de la unión mencionada aumentan al aumentar la superficie efectiva accesible a la reacción.

Uno de los métodos de la formación de la superficie de trabajo consiste en llenar el volumen de sonda con microgránulos. Esto proporciona el incremento de la superficie accesible para que aparezca la reacción y, por lo tanto, la señal a medir. En este caso, es aconsejable que dichos gránulos se produzcan, por ejemplo, bajo presión reducida a partir de polietileno estabilizado con radiación gamma. Esto proporciona una alta estabilidad de la superficie de trabajo con factores destructivos de naturaleza química y mecánica. Debería observarse que al hacerse uso de polietileno se reduce el coste del método también. Además, se incrementan la precisión y la fiabilidad de los resultados, ya que la estabilidad química del polietileno garantiza la ausencia de efectos secundarios no deseables del material en el que se forma la superficie de trabajo. Además, debería tenerse en cuenta la capacidad, del polietileno producido bajo presión reducida y estabilizado con radiación gamma, de formar microgránulos de un tamaño menor que una micra. Esto garantiza la formación de una superficie efectiva elevada y, además, incrementa la precisión del método

ES 2 333 517 T3

de análisis, su sensibilidad y eficacia. Además, se garantiza la posibilidad de reducir el tamaño de dichas zonas separadas espacialmente y, por lo tanto, de su disposición más densa. De forma similar, el llenado del volumen de sonda con una estructura capilar-porosa posibilita también que se incremente la superficie en la que se producen reacciones bioquímicas y, por lo tanto, la señal que se está midiendo.

5 Todo esto hace que el método propuesto resulte estable contra efectos externos, tales como los mecánicos (agitación, vibración), térmicos y químicos, ya que la presencia de un portador sólido de los productos de reacción que se están analizando mejora su aislamiento con respecto al entorno bajo las condiciones de un laboratorio transportable. El uso combinado de formatos diferentes de los portadores de los productos de reacción mejora la fiabilidad de la explotación del método propuesto, garantiza su flexibilidad de funcionamiento, y amplía su área de aplicación.

10 La inmovilización de un reactivo, que sea capaz de unir selectivamente el analito, en la superficie de trabajo, posibilita que se diferencie eficazmente la información relevante exactamente para el analito con respecto a probables señales parásitas, y que se incremente la precisión y la fiabilidad de los resultados del análisis.

15 La formación del volumen de sonda a partir de una serie de zonas separadas espacialmente con la posibilidad de registrar dicha señal para cada una de dichas zonas independientemente posibilita un análisis multiparámetro de las mezclas bajo examen con un grado elevado de paralelización. Esto permite reducir costes, cuando se llevan a cabo exámenes multiparámetro, proporciona universalidad y flexibilidad del funcionamiento al método propuesto, simplifica la forma de realización de su aparato, reduce dimensiones y peso, abre oportunidades para el desarrollo de estaciones móviles y laboratorios para ensayos masivos de sondas e investigaciones de población.

20 Además, la formación del volumen de sonda a partir de una serie de zonas espacialmente separadas con la posibilidad de su monitorización independiente y en paralelo hace que aumente sustancialmente el rendimiento del método propuesto, reduce el coste por análisis, mejora la fiabilidad de los resultados obtenidos, teniendo en cuenta el aumento de la cantidad de datos estadísticos.

25 La condición de que, en dichas zonas, se forme una superficie de trabajo con la inmovilización de varios reactivos en la superficie, que son capaces de unir varios analitos selectivamente y, a través de los cuales, componentes seleccionados se unen a la superficie de trabajo, y la obtención de la información sobre el contenido de varios analitos en la mezcla que se está analizando a partir del registro de dicha señal para cada una de dichas varias zonas, proporciona el mismo resultado técnico aplicándola al análisis de mezclas complejas para el contenido de una serie de componentes simultáneamente y al reconocimiento de dichas mezclas.

30 Como realización del método descrito anteriormente, se propone un aparato para leer información en el método de análisis de una mezcla de componentes biológicos y/o químicos. Este aparato se refiere al campo del desarrollo y la mejora de aparatos para el registro de los resultados de análisis bioquímicos. En el aparato propuesto para el análisis de una mezcla de componentes biológicos y/o químicos, según la reivindicación 21, se eliminan los inconvenientes del aparato equivalente.

35 La diferencia con respecto al prototipo consiste en que:

40 - el generador de campos magnéticos está adaptado además para inducir un campo magnético que está preconfigurado con por lo menos dos componentes espectrales a dos frecuencias diferentes y para las cuales las partículas magnéticas poseen una respuesta no lineal al campo magnético,

45 - y los medios de medición están adaptados además para medir la inducción magnética producida por dichas partículas a una frecuencia escogida que es una combinación lineal de las frecuencias de los componentes espectrales.

50 Además, dicha combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales es la suma de la diferencia de estas frecuencias.

55 Además, el generador de campos magnéticos comprende un generador de corriente alterna (ac) realizado para permitir la preconfiguración del espectro frecuencial de su señal de salida con componentes espectrales, por lo menos, a dos frecuencias, y un bloque inductivo conectado a la salida de dicho generador ac, siendo la salida del bloque inductivo la salida del generador de campos magnéticos.

Además, dicho bloque inductivo actúa como dicho medidor de inducción magnética.

60 Además, dicho bloque inductivo está realizado en forma de una bobina de inducción sin núcleo, estando conectado el primer conductor de la bobina a la salida de dicho generador ac y estando conectado el segundo conductor al chasis.

65 Además, dicho bloque inductivo comprende dos bobinas de inducción sin núcleos, estando conectados, respectivamente, los primeros conductores de dichas bobinas a la primera y segunda salida de dicho generador ac, estando conectados los segundos conductores de las bobinas al chasis, y, además, estando conectado el primer conductor de una de dichas bobinas a la entrada de dicho filtro de radiofrecuencia.

Además, los ejes de dichas bobinas están inclinados uno con respecto a otro.

ES 2 333 517 T3

Además, el ángulo entre los ejes de dichas bobinas es 90°.

Además, un regulador de fase está insertado entre una de las salidas de dicho generador ac y el primer conductor asociado de una de dichas bobinas, estando provisto, dicho regulador de fase, de una entrada de control para introducir los datos sobre el ángulo que forma el eje de esta bobina con el eje de la otra bobina.

Además, el medidor de inducción magnética comprende un elemento inductivo sin núcleo, no siendo, dicho elemento, parte de dicho generador de campos magnéticos.

Además, el medidor de inducción magnética comprende un elemento sensible magnetorresistivo (magnetoimpedancia).

Además, el medidor de inducción magnética comprende un elemento sensible basado en el efecto Hall.

Además, el medidor de inducción magnética está realizado en forma de una estructura microelectrónica plana.

Además, el filtro de radiofrecuencia tiene la propiedad de rechazar la señal de aquella de las frecuencias de dichos componentes espectrales que es la más próxima a dicha frecuencia escogida.

Además, el filtro de radiofrecuencia tiene la propiedad de rechazar la señal de aquella de las frecuencias de dichos componentes espectrales que es la más próxima a dicha frecuencia escogida, y, además, el filtro de radiofrecuencia es controlable, estando conectada la entrada de control del filtro de radiofrecuencia a la salida de control de dicho generador ac.

Además, un generador de señales de referencia está insertado, el cual está conectado a través de su entrada a la salida de dicho generador ac, a través de la segunda entrada, de control, a la salida del receptor de señales de salida, y, a través de su salida, a la segunda entrada de dicho filtro de radiofrecuencia, haciéndose que dicho filtro esté sincronizado.

Además, un bloque de control está insertado, cuya primera y cuya segunda salidas están conectadas a las entradas de control de dicho generador ac y dicho filtro de radiofrecuencia, respectivamente, y la entrada está conectada a la salida de control del receptor de señales de salida.

Además, el generador de señales de referencia y el receptor de señales de salida se realizan en forma de un procesador.

Además, el generador de señales de referencia, el receptor de señales de salida, y dicho generador ac se realizan en forma de un procesador.

Además, las partículas magnéticas están realizadas con un material magnético blando.

Además, en dicho volumen de sonda se forma una superficie de trabajo, a la que se une el componente seleccionado de la mezcla que se está analizando, fijándose dichas partículas magnéticas a este componente.

Además, la superficie de trabajo se forma en el volumen de sonda llenado con microgránulos.

Además, dichos microgránulos están realizados con polietileno.

Además, dichos microgránulos están producidos a presión reducida a partir de polietileno estabilizado con radiación gamma.

Además, la superficie de trabajo está formada en el volumen de sonda llenado con una estructura capilar-porosa.

Además, en la superficie de trabajo está inmovilizado un reactivo, que es capaz de unir selectivamente el analito, uniéndose a dicho reactivo el componente seleccionado de la mezcla que se está analizando, y, a través de este reactivo, a la superficie de trabajo.

Además, dicho volumen de sonda consta de varias zonas separadas espacialmente, estando provista cada una de estas zonas de un medidor de inducción magnética independiente, cuya salida está conectada a un filtro de radiofrecuencia y un receptor de señales de salida.

Además, dicho volumen de sonda consta de varias zonas separadas espacialmente y está realizado para posibilitar pruebas sucesivas de dichas zonas con un medidor de inducción magnética.

Además, el generador ac y el receptor de señales de salida están realizados en forma de un procesador.

Breve descripción de los dibujos

Fig. 1. Diagrama de bloques de un aparato según la invención.

5 Fig. 2. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

Fig. 3. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

Fig. 4. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

10 Fig. 5. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

Fig. 6. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

15 Fig. 7. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

Fig. 8. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

Fig. 9. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

20 Fig. 10. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

Fig. 11. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

25 Fig. 12. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

Fig. 13. Diagrama de bloques de otro aparato según la invención.

En la Fig. 1 se muestra esquemáticamente la variante básica de un aparato propuesto según la invención.

30 En la Fig. 2 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, estando realizado el generador de campos magnéticos a partir de un generador ac y un bloque inductivo conectados en serie.

35 En la Fig. 3 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, funcionando el bloque inductivo como medidor de inducción magnética.

En la Fig. 4 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, estando realizado el bloque inductivo en forma de una bobina de inducción.

40 En la Fig. 5 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, estando realizado el bloque inductivo en forma de dos bobinas de inducción.

En la Fig. 6 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, estando realizado el bloque inductivo en forma de dos bobinas de inducción inclinadas con un cierto ángulo una con respecto a otra.

45 En la Fig. 7 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, estando realizado el bloque inductivo en forma de dos bobinas de inducción inclinadas con un cierto ángulo una con respecto a otra, y con un regulador de fase en el circuito de una de las bobinas.

50 En la Fig. 8 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, con el bloque inductivo realizado en forma de una bobina de inducción y con un filtro de rechazo en el circuito de recepción de señales.

55 En la Fig. 9 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, en el que el filtro está sincronizado.

En la Fig. 10 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, en el que se representan gráficamente conexiones de un bloque de control siempre que este bloque esté incluido en el aparato.

60 En la Fig. 11 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, con un procesador que combina las funciones de un generador de señales de referencia y el receptor de señales de salida.

En la Fig. 12 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, con un procesador que combina las funciones del generador ac, el receptor de señales de salida, y el generador de señales de referencia.

65 En la Fig. 13 se muestra esquemáticamente la variante de un aparato propuesto según la invención, con un procesador que combina las funciones del generador ac y el receptor de señales de salida.

ES 2 333 517 T3

En las Figs. 1 a 13 se usan las siguientes notaciones:

1, generador de campos magnéticos; 2, el total de partículas magnéticas fijadas a un componente seleccionado de la mezcla que se está analizando y agrupadas en un volumen de sonda; 3, medidor de inducción magnética; 4, filtro de radiofrecuencia; 5, receptor de señales de salida; 6, bloque que genera el resultado; 7, generador ac; 8, bloque inductivo; 9, primera bobina de inducción; 10, segunda bobina de inducción; 11, regulador de fase; 12, generador de señales de referencia, 13, bloque de control; 14, procesador.

Formas de realización de la invención

El método propuesto se puede realizar mediante un aparato para el análisis de una mezcla de componentes biológicos y/o químicos.

El aparato propuesto funciona de la manera siguiente. El generador 1 actúa con un campo magnético alterno sobre las partículas magnéticas 2 (Fig. 1). Por ejemplo (Fig. 4) el generador 1 produce el campo magnético alterno dentro de la bobina 9. El campo magnético tiene, por lo menos, dos componentes (frecuencia) espectrales, por ejemplo, con las frecuencias $f_1 = 100$ kHz y $f_2 = 100$ Hz. La respuesta de las partículas magnéticas a su exposición a campo magnético es su magnetización o inducción magnética. Se saca provecho de las partículas, que poseen propiedades magnéticas en un nivel mayor o menor, en particular, dependencias no lineales de la magnetización y la inducción magnética con respecto a la intensidad de un campo magnético externo. Gracias a esto, se produce una redistribución espectral de la energía de excitación, y surgen componentes espectrales combinatorios en el espectro de las partículas magnéticas en respuesta a la acción del campo. En general, estos componentes son combinaciones lineales de frecuencias f_1 y f_2 de la forma $f_i = mf_1 + nf_2$, en las que m , n , son enteros positivos o negativos diferentes de cero. En principio, una combinación lineal de este tipo también puede recibir la contribución de más componentes espectrales. Los valores de m y n pueden variar, según requiera el caso. Por ejemplo, dicha combinación lineal puede tener la forma $f_i = f_1 \pm f_2$ (las frecuencias suma y diferencia), $f_i = f_1 \pm 2f_2$, y así sucesivamente. Se sabe que la intensidad de los componentes espectrales disminuye con el número de armónico. Por lo tanto, para obtener la amplitud máxima de la señal, es preferible usar los valores $m = 1$ y $n = \pm 1$. Esto se corresponde con la suma o la diferencia de las frecuencias de componentes espectrales del campo magnético accionador.

Recuérdese que, antes de las mediciones, el componente seleccionado y las partículas magnéticas fijadas al mismo se disponen espacialmente según una manera preestablecida y se agrupan en el volumen de sonda, por ejemplo, a través de la reacción de unión selectiva del componente seleccionado mediante un reactivo de reconocimiento complementario. Se considera que el componente seleccionado es o bien el propio analito o bien otro componente (por ejemplo, que compite con el analito para unirse al reactivo de reconocimiento), intrínseco de la mezcla que se está analizando o introducido intencionadamente en esta mezcla, indicando la medida cuantitativa del agrupamiento de dicho componente seleccionado en el volumen de sonda el contenido del analito en la mezcla que se está analizando.

La magnitud de la señal de inducción magnética registrada a una frecuencia combinatoria se determina inequívocamente por la cantidad de las partículas magnéticas 2 agrupadas en el volumen de sonda. Consecuentemente, al extraer la señal a una frecuencia combinatoria con el filtro 4, se obtiene la información sobre la cantidad de las etiquetas magnéticas 2 en el volumen de sonda a partir de la salida del receptor 5. Para realizar esto, el receptor 5 se realiza según cualquier esquema conocido, que se use en los métodos de recepción, inmune al ruido, de señales de baja intensidad contra un fondo de ruido e interferencias. El receptor 5 cumple también las funciones de amplificación, detección y acumulación.

El resultado final, es decir, datos cuantitativos sobre el contenido del analito, lo forma el bloque 6 para generar el resultado. Los parámetros del bloque 6 tienen en cuenta características específicas de la muestra de la mezcla que se está analizando y las operaciones realizadas con ella.

En una variante preferida del aparato, el generador 1 de campos magnéticos consta de un generador ac 7, que se realiza para permitir la preconfiguración del espectro frecuencial de su señal de salida con componentes espectrales, por lo menos, en dos frecuencias, y un bloque inductivo 8 conectado a la salida de dicho generador ac 7 (Fig. 2). Esto posibilita someter a prueba la acción requerida sobre la muestra. Tal como se ha descrito previamente para el método propuesto, es aconsejable que la preconfiguración del espectro frecuencial tenga en cuenta características espectrales de la interacción del campo magnético de alta frecuencia generado con la muestra que se está midiendo.

Cuando esto se produce así, se puede simplificar significativamente el aparato, si dicho bloque inductivo 8 del generador de campos magnéticos actúa simultáneamente como medidor 3 de inducción magnética (Fig. 3). Esto es razonable en mediciones magnéticas, en las que una bobina común funciona con frecuencia simultáneamente como bobina excitadora y como receptora. Esta variante es preferible para aparatos de un canal. No obstante, es aconsejable separar estas funciones para aparatos multicanal, en los que el volumen de sonda consta de una serie de zonas separadas espacialmente. Por ejemplo, el bloque 8 genera un campo magnético común para la totalidad de dichas zonas, y cada zona está provista de un medidor individual de inducción magnética. Otro caso de separación de estas funciones es realizar el medidor 3 basándose en un elemento magnetosensible que no sea inductivo (ver más abajo).

ES 2 333 517 T3

En la variante más sencilla, dicho bloque inductivo 8, que actúa también como medidor de inducción magnética, se realiza en forma de una bobina 9 de inducción sin núcleo, estando conectado el primer conductor de esta bobina a la salida de dicho generador ac 7, y estando conectado el segundo conductor al chasis (Fig. 4).

5 En otra variante del aparato propuesto (Fig. 5), en el bloque inductivo, se incluye una segunda bobina 10 de inducción que está conectada, a través de su primer conductor, a la segunda salida del generador 1, y, a través del segundo conductor, al chasis. En este caso, uno de los componentes espectrales de la señal de salida proviene de la primera salida del generador 1 hacia la bobina 9, y el otro componente espectral lo hace desde la segunda salida del generador 1 hacia la bobina 10.

10 En otra variante del aparato propuesto según la Fig. 6, los ejes de dichas bobinas 9 y 10 están inclinados uno con respecto a otro. Como consecuencia, los vectores de intensidad del campo magnético de dos de dichos componentes espectrales forman cierto ángulo en la muestra 2. Debido a la variación de este ángulo en la muestra sometida a prueba, es posible aumentar la eficacia de la transformación no lineal de componentes parciales del campo magnético en la señal de inducción magnética a registrar, y, por lo tanto, incrementar la relación señal/ruido.

15 Cuando esto se produce así, el ángulo entre los ejes de dichas bobinas es 90° en una de las variantes realizadas del aparato.

20 En otra variante de la Fig. 7 del aparato propuesto se incluye un regulador 11 de fase, que se inserta entre una de las salidas de dicho generador 1 y la bobina 9 ó 10 de inducción asociada, estando equipado dicho regulador de fase de una salida de control para introducir los datos φ_0 sobre el ángulo que forma el eje de esta bobina con el eje de la otra bobina. Esto abre oportunidades adicionales para controlar la fase de uno de los componentes espectrales de la señal excitadora.

25 Si, por alguna razón, resulta aconsejable separar el medidor 3 de inducción magnética y el generador 1 de campos magnéticos, el medidor 3 se puede realizar usando una serie de métodos alternativos de mediciones de inducción magnética. Por ejemplo, en el esquema de la Fig. 1, el medidor de inducción magnética comprende un elemento inductivo sin núcleo, o un elemento sensible magnetorresistivo (magnetoimpedancia), o un elemento sensible basado en el efecto Hall. Cuando esto tiene lugar así, en una variante preferible del aparato, el medidor de inducción magnética se realiza en forma de una estructura microelectrónica plana.

30 En otra variante del aparato propuesto, que se puede ilustrar mediante cualquiera de los esquemas de la Fig. 1 a 7 y otros, excepto por las variantes en las que el filtro 4 está sincronizado, el filtro 4 es un filtro de rechazo, que tiene la propiedad de suprimir aquel componente espectral de la señal de accionamiento que es el más próximo a dicha frecuencia escogida. Entonces, si el factor Q de dicho filtro 4 es suficientemente alto, se puede suprimir incluso una interferencia potente en la frecuencia vecina a la escogida reduciéndola hasta un nivel suficientemente bajo sin ninguna atenuación perceptible de la señal utilizable.

40 Debería observarse que normalmente se rechaza la más alta de las dos frecuencias del espectro de la señal de accionamiento. La frecuencia combinatoria reside, evidentemente, cerca de la frecuencia más alta, cuya señal, si no es produce rechazo, podría llegar al receptor 5 y deteriorar sustancialmente la relación señal/ruido.

45 En otra variante del aparato propuesto (esquema de la Fig. 8), el filtro 4 se realiza de manera que sea controlable, y su entrada de control se conecta a la salida de control del generador 7, siendo la frecuencia de su señal la más próxima a dicha frecuencia escogida. La conexión introducida de la salida mencionada del generador 7 a la entrada de control del filtro 4 posibilita que se sintonice la frecuencia rechazada por el filtro 4, compensando de este modo inestabilidades de dicho generador 7.

50 En este caso, debería observarse que las características de su presión de interferencia por los filtros están en correlación habitualmente con el valor absoluto del desplazamiento de frecuencia de una frecuencia de una frecuencia escogida con respecto a la banda de transmisión del filtro 4. Se sabe que la deriva de frecuencia de una señal de un generador es habitualmente proporcional a su frecuencia nominal. Por lo tanto, en el aparato propuesto, se espera que la deriva del componente espectral de alta frecuencia del generador 7 sea 3 órdenes mayor que la del componente de baja frecuencia. Esta es la razón por la que el filtro 4 se sintoniza mediante la señal de la frecuencia más alta del espectro de la señal de accionamiento. Es esta frecuencia la que es más cercana a la frecuencia combinatoria escogida.

55 En el aparato propuesto según el esquema de la Fig. 9, el generador 12 de señales de referencia recibe en su entrada la señal excitadora de la salida del generador 1, que tiene, por ejemplo, dos componentes espectrales. A continuación, el generador 12 de señales de referencia produce, en su salida, una señal armónica a una frecuencia combinatoria, usándose esta señal como señal de referencia (sincronización) para el filtro sincronizado 4. Este último es un multiplicador. Escoge el componente combinatorio correspondiente a partir de la señal y el ruido mezclados según la manera óptima, de acuerdo con la teoría de Kotel'nikov. Se tiene en cuenta la acumulación adicional del resultado de la multiplicación en el receptor 5 de señales de salida, y la puesta en fase de los componentes multiplicados a través de la sintonización del generador 12 de señales de referencia, cuya entrada de control recibe la señal de realimentación de la salida del receptor 5 de señales de salida.

ES 2 333 517 T3

En otra variante del aparato propuesto (Fig. 10), se inserta un bloque 13 de control cuya primera y cuya segunda salidas están conectadas a las entradas de control de dicho generador 7 y dicho filtro 4 de radiofrecuencia, respectivamente, y la entrada está conectada a la salida de control del receptor 5 de señales de salida. Analizando un cambio en la señal de salida debido a cambios en los parámetros del generador 7 y el filtro 4, el bloque 13 de control genera la acción de control óptima sobre dichos bloques 7 y 4 a través de bucles de realimentación.

En otra variante del aparato propuesto (Fig. 11), un procesador 14 combina las funciones de dicho generador 12 de señales de referencia y dicho receptor 5. Esto es aconsejable desde el punto de vista del uso de capacidades de la tecnología actual, y para la compatibilidad del aparato propuesto con tipos de componentes actuales.

En otra variante del aparato propuesto (Fig. 12), un procesador 14 combina las funciones de dichos generador 12 de señales de referencia, receptor 5, y generador ac 7. Esto es aconsejable por las mismas razones.

En otra variante del aparato propuesto (Fig. 13), un procesador 14 combina las funciones de dicho generador ac 7 y el receptor 5 de señales de salida. Esto es aconsejable por las mismas razones.

Debería indicarse que, además de las variantes antes mencionadas de combinaciones de funciones de bloques, también son posibles varias combinaciones de estas variantes en un procesador, incluyendo aquellas en las que el procesador cumple simultáneamente las funciones del bloque 13 de control.

Ya se ha clarificado anteriormente la esencia de otras características distintivas del aparato propuesto, en la descripción sobre las reivindicaciones 6 a 14 referente a método del análisis. Por lo tanto, esta materia no se describe en este momento.

Además, se muestra que son las características distintivas del aparato propuesto las que garantizan el resultado técnico deseado.

El agrupamiento de un componente seleccionado de la mezcla que se está analizando, con partículas magnéticas fijadas al mismo, en un volumen de sonda proporciona el aumento de la sensibilidad del aparato y la mejora de parámetros de su señal de salida. Esto es debido al aumento del número de partículas, portadoras de inducción magnética, en el volumen de sonda delimitado, en el que se llevan a cabo las mediciones, con gran proximidad al medidor de inducción magnética. Este último puede ser en miniatura y, en una serie de casos, se puede realizar basándose en la tecnología de microelectrónica plana. Todas estas características permiten reducir el coste del aparato, simplificar su forma de realización, y reducir también peso y dimensiones. Además, se mejora la eficacia de las mediciones, ya que la consecución de las características necesarias sin concentrar previamente partículas magnéticas requeriría el uso de métodos de acumulación de datos asociados a necesidades adicionales de tiempo y dispositivos.

La realización del generador de campos magnéticos con la capacidad de preconfigurar el espectro frecuencial del campo magnético con componentes espectrales, por lo menos, a dos frecuencias, y la inserción de un filtro de radiofrecuencia entre la salida del medidor de inducción magnética y la entrada del receptor de señales de salida, estando sintonizado dicho filtro para dejar pasar la señal de la frecuencia escogida, que es una combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales, posibilita que se potencie drásticamente la señal utilizable con respecto al ruido y que se mejore la estabilidad y la inmunidad a interferencias por una serie de razones. Entre estas razones, en primer lugar, se encuentra el alejamiento de un planteamiento basado en la magnetización residual de partículas, que es muy baja para partículas pequeñas. En segundo lugar, se evitan mediciones dc, que están siempre asociadas al problema de derivas cero, lo cual resulta difícil de resolver. En tercer lugar, se tiene la ausencia de componentes espectrales de señales de accionamiento en el espectro de la señal escogida para mediciones y la ortogonalidad de estas señales en sentido amplio. Esta última condición es el criterio convencional de una inmunidad elevada a las interferencias y posibilita que se diferencie eficazmente la señal de información con respecto al campo magnético externo, el ruido de fluctuación, y la interferencia de aparatos.

Al realizar esto, se logra el resultado técnico que consiste en el incremento de la relación señal/ruido resultante de las mediciones, el incremento en la precisión de las mediciones, la potenciación de la sensibilidad del aparato, la mejora de la fiabilidad de los datos obtenidos, con una reducción simultánea de costes de experimentación debido a la disminución del número de operaciones necesarias, el tiempo, la cantidad y las dimensiones de los aparatos necesarios, en las oportunidades para el desarrollo de laboratorios móviles, económicos, para ensayos masivos de alto rendimiento, y, por lo tanto, en la flexibilidad de funcionamiento del aparato propuesto.

En última instancia, la característica de que la frecuencia escogida sea la suma o la diferencia de las frecuencias de dichos componentes espectrales del campo magnético accionador restringe la banda de frecuencias usada, proporciona un aumento al máximo de la amplitud de la señal utilizable generada debido a la minimización del número de armónicos escogidos. Esto además mejora la estabilidad y la inmunidad a interferencias, simplifica la forma de realización del dispositivo, reduce costes, y mejora la fiabilidad. De este modo, el aparato propuesto proporciona la consecución de los resultados técnicos deseados antes mencionados de la forma más sencilla y con gastos mínimos.

En general, debería observarse que un generador de campos magnéticos alternos se podría realizar de diferentes maneras, por ejemplo, con un imán rotatorio o con un generador ac. En este último caso, tal como se muestra en la Fig. 2, el generador de campos magnéticos comprende un generador ac realizado para permitir la preconfiguración

ES 2 333 517 T3

del espectro frecuencial de la señal de salida con componentes espectrales, por lo menos, a dos frecuencias, y un bloque inductivo conectado a la salida de dicho generador ac. Esta solución técnica proporciona la reducción de las dimensiones del aparato debido al uso de tecnologías microelectrónicas actuales. Al realizar esto, las funciones de una serie de bloques electrónicos se combinan finalmente en un procesador (bloque 14 de las Figs. 11 a 13), garantizando el resultado técnico deseado antes mencionado.

Además, la característica de que dicho bloque inductivo del generador de campos magnéticos cumpla las funciones del medidor de inducción magnética, garantiza la compacidad de la solución técnica conseguida, mejora la fiabilidad del aparato, reduce su coste, proporcionando de este modo la base para la consecución del resultado técnico antes mencionado.

Esto se ve además favorecido al realizar dicho bloque inductivo en forma de una bobina de inducción sin núcleo, estando conectado el primer conductor de la bobina con la salida de dicho generador ac, y estando conectado el segundo conductor al chasis. De hecho, la ausencia del núcleo reduce el ruido interno del aparato, elimina el ruido intrínseco de un núcleo, que es debido a la falta de homogeneidad de procesos de magnetización en materiales magnéticos, y reduce el peso y las dimensiones del aparato. Esto además abre las posibilidades para la miniaturización del aparato y la utilización de tecnologías microelectrónicas actuales. Los factores mencionados proporcionan una disminución adicional del umbral de medición, una potenciación de la sensibilidad, y una mejora de la estabilidad y la inmunidad a interferencias del aparato.

La característica de que dicho bloque inductivo comprenda dos bobinas de inducción sin núcleos, estando conectados primeros conductores de dichas bobinas, respectivamente, a la primera y la segunda salidas de dicho generador ac, estando conectados segundos conductores al chasis, y, además, estando conectado el primer conductor de una de las bobinas a la entrada de dicho filtro, posibilita que el filtro 4 se realice con órdenes superiores y factores Q superiores, teniendo en cuenta capacidades e inductancias parásitas existentes habitualmente en los esquemas. Consecuentemente, el aparato posee una mayor estabilidad contra interferencias y, por lo tanto, se garantiza el resultado técnico deseado antes mencionado.

La característica de que los ejes de dichas bobinas estén inclinados uno con respecto a otro da como resultado que los campos magnéticos de los dos componentes espectrales se crucen con cierto ángulo en la muestra. En este caso, la variación del ángulo de cruce en la muestra sometida a prueba proporciona posibilidades adicionales de obtener la eficacia de la interacción no lineal de los componentes espectrales de la señal excitadora con partículas magnéticas 2 de la muestra bajo prueba. Esto favorece una reducción adicional del umbral de medición, un incremento de la sensibilidad, inmunidad y estabilidad a las interferencias del aparato.

La característica de que el ángulo de rotación del eje de la segunda bobina con respecto a la primera sea 90° garantiza las condiciones necesarias para el uso de métodos alternativos para la formación de señales de información, por ejemplo, usando la precesión del espín.

Esto se ve favorecido también porque el regulador 11 de fase se inserta entre la segunda salida del generador 7 de corriente alterna y el primer conductor de la segunda bobina de inducción, introduciéndose en la entrada de control del regulador de fase los datos φ_0 sobre la rotación del eje de la segunda bobina con respecto a la primera. Las características mencionadas conducen también al resultado técnico deseado.

La presencia de la bobina de inducción sin núcleo en el medidor 3 de inducción magnética tiene las mismas ventajas que la presencia de una bobina similar en el bloque inductivo 8. Esta solución es preferible para el aparato descrito, que mide cantidades muy pequeñas, debido tanto a la elevada sensibilidad del aparato necesaria como a una baja amplitud de la señal a la frecuencia escogida, lo cual es el resultado de una interacción combinatoria bajo la condición de no linealidad magnética del material de partículas magnéticas.

Además, para afrontar los problemas en intervalos amplios de parámetros externos y para garantizar la flexibilidad funcional del aparato, el medidor de inducción magnética contiene o bien un elemento sensible magnetorresistivo (magnetoimpedancia) o bien un elemento sensible basado en el efecto Hall. Adicionalmente, es aconsejable realizar dicho medidor de inducción magnética en forma de una estructura microelectrónica plana. Así, se podría realizar basándose en tecnologías microelectrónicas industriales y en producciones en serie, proporcionando de este modo una reducción de los costes, el peso, y las dimensiones del aparato, y una mejora de su fiabilidad.

El resultado técnico deseado se ve favorecido además por el hecho de que el filtro de radiofrecuencia tiene la propiedad de rechazar aquel componente armónico de la señal excitadora que tiene la frecuencia más próxima a la frecuencia combinatoria escogida. La razón es que se elimina la interferencia más peligrosa, que, de otro modo, podría influir en las cascadas sensibles del receptor llevando componentes no lineales hacia el espectro de la señal recibida, y reducir la relación señal/ruido y la fiabilidad de los resultados obtenidos.

Se garantiza una mejora adicional de la calidad de la recepción de información con una reducción simultánea de los requisitos para la calidad del dispositivo por el hecho de que el filtro 4 de radiofrecuencia se hace que sea controlable, estando conectada su entrada de control a la salida del control del generador 7. En este caso, los requisitos para la estabilidad del generador 1 se pueden reducir sustancialmente, ya que la deriva de la frecuencia de la señal excitadora se compensa mediante una sintonización correcta de las características del filtro 4.

ES 2 333 517 T3

La característica de introducir el generador 12 de señales de referencia que tiene la entrada conectada a la salida de dicho generador ac 7, la segunda entrada, de control, conectada a la salida del receptor 5 de señales de salida, y la salida conectada a la segunda entrada de dicho filtro 4 de radiofrecuencia, que se hace que esté sincronizado, garantiza un aumento adicional de la eficacia a la hora de diferenciar señales de información débiles con respecto a ruidos. Esto
5 posibilita que se obtengan condiciones óptimas para la recepción de las señales y que se logre el resultado técnico deseado.

Surgen otras oportunidades de mejorar el aparato a partir de la introducción del bloque 13 de control, cuya primera y cuya segunda salidas están conectadas con entradas de control de dicho generador ac 7 y el filtro 4 de radiofrecuencia,
10 respectivamente, y la entrada del bloque 13 está conectada a la salida de control del receptor 5 de señales de salida. En este caso, el bloque 13 de control, cuyas funciones se pueden cumplir mediante un microprocesador o un ordenador, analiza el cambio de la señal de salida con cambios de parámetros del generador 7 y el filtro 4, y, como consecuencia, genera la acción de control óptima sobre dichos bloques 7 y 4 a través de bucles de realimentación. Al realizar esto, se logran características fundamentales del aparato, se mejora la flexibilidad de funcionamiento y se amplía el área de
15 aplicación.

Surgen otras oportunidades de mejorar el aparato a partir del hecho de que se garantiza la consecución de las funciones de varias combinaciones de bloques en el aparato propuesto, excepto por el bloque inductivo 8, el bloque 6 que forma el resultado, y el filtro 4, a través de la introducción del procesador 14, por ejemplo, realizado en forma de un microprocesador o un ordenador. Al realizar esto, se logran características fundamentales del aparato, se mejora la flexibilidad de funcionamiento, y se amplía el área de aplicación. Además, esto abre la posibilidad de desarrollar laboratorios de alto rendimiento, económicos, móviles, para ensayos masivos.

La influencia de otras características distintivas del aparato propuesto según la invención sobre la consecución del resultado técnico deseado ya se ha clarificado anteriormente en la descripción referente al método del análisis. Por lo tanto, esta materia no se describe aquí.
25

De este modo, se muestra que el resultado técnico deseado se logra de hecho debido a las características distintivas del aparato propuesto. Los experimentos realizados han demostrado la viabilidad del método y el aparato propuestos.
30

Aplicabilidad industrial

El método y el aparato propuestos se pueden usar para análisis biológicos y químicos, y también para el desarrollo de sensores químicos y biológicos.
35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Método de análisis de una mezcla de componentes biológicos y/o químicos, que comprende:

- 5 - seleccionar un componente para fijar partículas magnéticas al mismo o un componente que ya está fijado a partículas magnéticas, siendo este componente seleccionado o bien el analito o bien otro componente que permite generar datos cuantitativos sobre la evaluación del contenido del analito en la mezcla que se está analizando,
- 10 - disponer espacialmente dicho componente seleccionado, y agrupar este componente en un volumen de sonda,
- fijar partículas magnéticas a dicho componente seleccionado o usar dicho componente seleccionado que ya está fijado a partículas magnéticas,
- 15 - exponer dichas partículas magnéticas a un campo magnético,
- registrar una señal debida a la inducción magnética producida por dichas partículas magnéticas como consecuencia de su exposición al campo magnético,
- 20 - evaluar el contenido del analito en la mezcla que se está analizando a partir del valor de dicha señal,

caracterizado porque:

- 25 - dicho campo magnético es alterno, y su espectro se preconfigura con por lo menos dos componentes espectrales en dos frecuencias diferentes, por lo menos uno de dichos componentes espectrales tiene una amplitud que garantiza una dependencia no lineal de dicha inducción magnética con respecto a la intensidad de dicho campo magnético;
- dicha señal se está registrando a una frecuencia que es una combinación lineal de las frecuencias de los componentes espectrales, durante la exposición de dichas partículas magnéticas a dicho campo magnético.
- 30 2. Método según la reivindicación 1, **caracterizado** porque dicha combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales es la suma o la diferencia de estas frecuencias.

35 3. Método según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la combinación lineal de frecuencias de dichos componentes espectrales se define mediante la siguiente relación:

$$f_i = mf_1 + nf_2$$

40 en la que:

- f_1 y f_2 son las frecuencias de los componentes espectrales de dicho campo magnético,
- n y m son enteros positivos o negativos diferentes de cero.

45 4. Método según la reivindicación 3, en el que m es igual a uno y n es igual a más o menos dos.

50 5. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque las amplitudes A_h y A_l de dichos componentes espectrales, que pertenecen, respectivamente, a las frecuencias superior e inferior, se seleccionan según la relación $A_l/A_h > 2$.

6. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado** porque los vectores de intensidad del campo magnético pertenecientes a, por lo menos, dichos dos componentes espectrales, se orientan de forma no colineal entre sí.

55 7. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado** porque las partículas magnéticas se realizan con un material magnético blando.

60 8. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado** porque las partículas magnéticas son superparamagnéticas.

9. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, **caracterizado** porque en dicho volumen de sonda se forma una superficie de trabajo, y dicho componente seleccionado se está disponiendo espacialmente a través de la unión de este componente a la superficie de trabajo.

65 10. Método según la reivindicación 9, **caracterizado** porque la superficie de trabajo se forma a través del llenado del volumen de sonda con microgránulos.

11. Método según la reivindicación 10, **caracterizado** porque dichos microgránulos se realizan con polietileno.

ES 2 333 517 T3

12. Método según la reivindicación 9, **caracterizado** porque la superficie de trabajo se forma a través del llenado del volumen de sonda con una estructura capilar-porosa.

5 13. Método según la reivindicación 9, **caracterizado** porque la superficie de trabajo se forma a través del llenado del volumen de sonda con un material capilar-poroso en forma de una tira o un tubo.

10 14. Método según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 13, **caracterizado** porque la superficie de trabajo se forma con la inmovilización de un reactivo en la misma, que es capaz de unir el analito de una manera selectiva, y, a través de este reactivo, dicho componente seleccionado se une a la superficie de trabajo.

15 15. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, **caracterizado** porque dicho volumen de sonda se forma a partir de varias zonas separadas espacialmente, y se garantiza la posibilidad de registrar dicha señal para cada una de dichas zonas.

20 16. Método según la reivindicación 15, **caracterizado** porque, en dichas zonas, se forma una superficie de trabajo y, en esta superficie de trabajo, se inmovilizan varios reactivos, que son capaces de unir varios analitos selectivamente y, a través de los cuales, componentes seleccionados se unen a la superficie de trabajo, y, a partir del registro de dicha señal para cada una de dichas varias zonas, se obtiene la información sobre el contenido de varios analitos en la mezcla que se está analizando.

25 17. Método según la reivindicación 16, **caracterizado** porque dichas zonas se forman como agrupaciones bidimensionales de celdas de reacción, o como placas de titulación.

30 18. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, **caracterizado** porque el agrupamiento se realiza a través de exposición a un campo magnético no homogéneo.

35 19. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, **caracterizado** porque el agrupamiento se realiza a través de filtración o sedimentación.

40 20. Método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, **caracterizado** porque se introduce la generación de una señal de referencia en un armónico de dicha frecuencia del campo magnético, usándose esta señal de referencia para una filtración sincronizada y para escoger dicha señal que se está registrando.

45 21. Aparato para el análisis de una mezcla de componentes biológicos y/o químicos, estando fijado por lo menos uno de ellos a partículas magnéticas, comprendiendo dicho aparato:

- un volumen (2) de sonda,

50 - un generador (1) de campos magnéticos adaptado para inducir en el volumen de sonda un campo magnético,

- unos medios (3) de medición adaptados para cuantificar las partículas magnéticas dentro del volumen de sonda mediante la medición de la inducción magnética producida por dichas partículas magnéticas dentro del volumen de sonda,

55 **caracterizado** porque: el generador de campos magnéticos está adaptado además para inducir un campo magnético que se preconfigura con por lo menos dos componentes espectrales a dos frecuencias diferentes y para las que las partículas magnéticas poseen una respuesta no lineal al campo magnético, y los medios de medición están adaptados además para medir la inducción magnética producida por dichas partículas a una frecuencia escogida que es una combinación lineal de las frecuencias de los componentes espectrales.

60 22. Aparato según la reivindicación 21, **caracterizado** porque dicha combinación lineal de las frecuencias de dichos componentes espectrales es la suma o la diferencia de estas frecuencias.

65 23. Aparato según la reivindicación 21, **caracterizado** porque la combinación lineal de frecuencias de dichos componentes espectrales se define mediante la siguiente relación:

$$f_i = mf_1 + nf_2$$

60 en la que:

- f_1 y f_2 son las frecuencias de los componentes espectrales de dicho campo magnético,

65 - n y m son enteros positivos o negativos diferentes de cero.

24. Aparato según la reivindicación 23, **caracterizado** porque m es igual a uno y n es igual a más o menos dos.

ES 2 333 517 T3

25. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 24, **caracterizado** porque los medios de medición comprenden:

5 - un medidor (3) de inducción magnética;

- un receptor (5) de señales de salida;

10 - un filtro (4) de radiofrecuencia cuya entrada está conectada a la salida del medidor de inducción magnética, y la salida del filtro está conectada al receptor de señales de salida, sintonizándose el filtro para dejar pasar la señal a la frecuencia escogida;

- un bloque (6) que genera el resultado, cuya entrada está conectada a la salida del receptor de señales de salida.

15 26. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 25, **caracterizado** porque el generador (1) de campos magnéticos comprende un generador (7) de corriente alterna (ac) realizado para permitir la preconfiguración del espectro frecuencial de su señal de salida con componentes espectrales a dos frecuencias, y un bloque inductivo (8) conectado a la salida de dicho generador ac, siendo la salida del bloque inductivo (8) la salida del generador de campos magnéticos.

20 27. Aparato según las reivindicaciones 25 y 26, **caracterizado** porque dicho bloque inductivo (8) actúa como dicho medidor de inducción magnética.

25 28. Aparato según la reivindicación 26 ó 27, **caracterizado** porque dicho bloque inductivo está realizado en forma de una bobina (9) de inducción sin núcleo, estando conectado el primer conductor de la bobina a la salida de dicho generador ac y estando conectado el segundo conductor al chasis.

30 29. Aparato según la reivindicación 25 y la reivindicación 26 ó 27, **caracterizado** porque dicho bloque inductivo comprende dos bobinas (9, 10) de inducción sin núcleos, estando conectados, respectivamente, los primeros conductores de dichas bobinas a la primera y la segunda salida de dicho generador ac, estando conectados los segundos conductores de las bobinas (9, 10) al chasis, y, además, estando conectado el primer conductor de una de dichas bobinas a la entrada de dicho filtro de radiofrecuencia.

35 30. Aparato según la reivindicación 29, **caracterizado** porque los ejes de dichas bobinas (9, 10) están inclinados uno con respecto a otro.

31. Aparato según la reivindicación 30, **caracterizado** porque el ángulo entre los ejes de dichas bobinas es 90°.

40 32. Aparato según la reivindicación 29, **caracterizado** porque un regulador (11) de fase está insertado entre una de las salidas de dicho generador ac (7) y el primer conductor asociado de una de dichas bobinas, estando provisto, dicho regulador (11) de fase, de una entrada de control para introducir los datos sobre el ángulo que forma el eje de esta bobina con el eje de la otra bobina.

45 33. Aparato según la reivindicación 25 ó las reivindicaciones 25 y 26, **caracterizado** porque el medidor de inducción magnética comprende un elemento inductivo sin núcleo, no siendo, dicho elemento, parte de dicho generador de campos magnéticos.

50 34. Aparato según la reivindicación 25 ó la reivindicación 25 y cualquiera de las reivindicaciones 26 a 32, **caracterizado** porque el medidor de inducción magnética comprende un elemento sensible magnetorresistivo (magnetoimpedancia).

35. Aparato según la reivindicación 25 ó la reivindicación 25 y 26, **caracterizado** porque el medidor de inducción magnética comprende un elemento sensible basado en el efecto Hall.

55 36. Aparato según la reivindicación 25 ó las reivindicaciones 25 y 26, **caracterizado** porque el medidor de inducción magnética está realizado en forma de una estructura microelectrónica plana.

60 37. Aparato según la reivindicación 25 ó la reivindicación 25 y cualquiera de las reivindicaciones 27 a 36, **caracterizado** porque el filtro (4) de radiofrecuencia tiene la propiedad de rechazar la señal de aquella de las frecuencias de dichos componentes espectrales que es la más próxima a dicha frecuencia escogida.

65 38. Aparato según la reivindicación 25 ó la reivindicación 25 y cualquiera de las reivindicaciones 26 a 37, **caracterizado** porque el filtro (4) de radiofrecuencia tiene la propiedad de rechazar la señal de aquella de las frecuencias de dichos componentes espectrales que es la más próxima a dicha frecuencia escogida, y, además, el filtro (4) de radiofrecuencia es controlable, estando conectada la entrada de control del filtro (4) de radiofrecuencia a la salida de control de dicho generador ac (7).

39. Aparato según las reivindicaciones 25 y 26 ó las reivindicaciones 25 y 26 y cualquiera de las reivindicaciones 29 a 38, **caracterizado** porque está insertado un generador (12) de señales de referencia, el cual está conectado a

ES 2 333 517 T3

través de su entrada a la salida de dicho generador ac (7), a través de la segunda entrada, de control, a la salida del receptor (5) de señales de salida, y, a través de su salida, a la segunda entrada de dicho filtro (4) de radiofrecuencia, haciéndose que dicho filtro esté sincronizado.

- 5 40. Aparato según las reivindicaciones 25 y 26 ó las reivindicaciones 25 y 26 y cualquiera de las reivindicaciones 27 a 38, **caracterizado** porque está insertado un generador (12) de señales de referencia, estando conectada una salida del generador de señales de referencia, que produce una señal armónica a una frecuencia combinatoria, con la entrada de dicho filtro sincronizado, realizándose este filtro en forma de un multiplicador.
- 10 41. Aparato según las reivindicaciones 25 y 26 ó las reivindicaciones 25 y 26 y cualquiera de las reivindicaciones 27 a 36, **caracterizado** porque está insertado un bloque (13) de control, cuyas primera y segunda salidas están conectadas a las entradas de control de dicho generador ac (7) y dicho filtro (4) de radiofrecuencia, respectivamente, y la entrada está conectada a la salida de control del receptor (5) de señales de salida.
- 15 42. Aparato según la reivindicación 39, **caracterizado** porque el generador de señales de referencia y el receptor de señales de salida están realizados en forma de un procesador (14).
- 20 43. Aparato según la reivindicación 39, **caracterizado** porque el generador (12) de señales de referencia, el receptor (5) de señales de salida, y dicho generador ac (7) se realizan en forma de un procesador (14).
- 25 44. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 43, **caracterizado** porque dicho volumen (2) de sonda consta de varias zonas separadas espacialmente, estando provista, cada una de estas zonas, de unos medios de medición independientes.
- 30 45. Aparato según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 43, **caracterizado** porque dicho volumen (2) de sonda consta de varias zonas separadas espacialmente y dichos medios de medición están adaptados para posibilitar pruebas sucesivas de dichas zonas.
- 35 46. Aparato según una de las reivindicaciones 25 y 26, **caracterizado** porque el generador ac (7) y el receptor (5) de señales de salida están realizados en forma de un procesador (14).

35

40

45

50

55

60

65

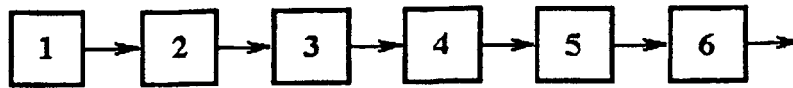


Fig. 1

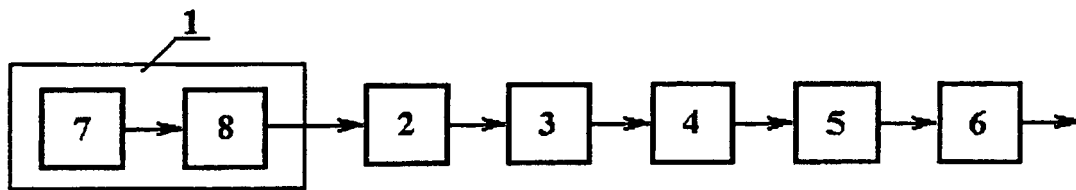


Fig. 2

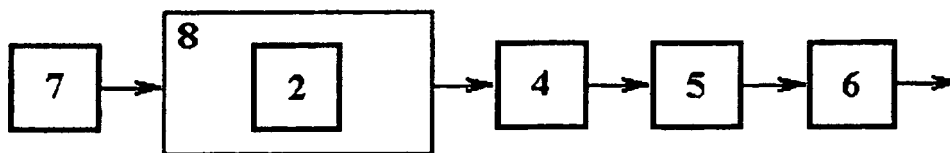


Fig. 3.

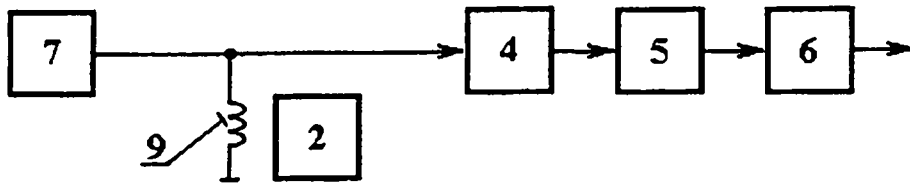


Fig. 4

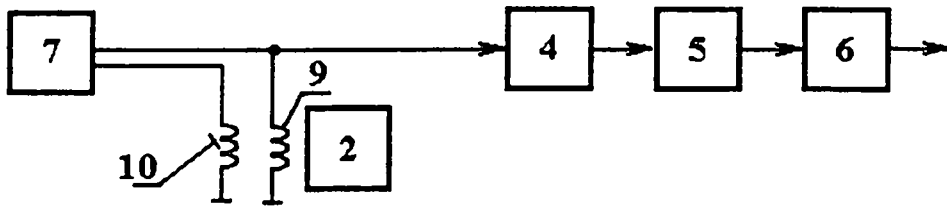


Fig. 5

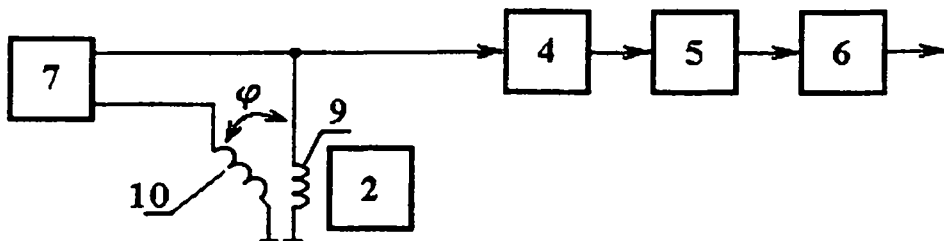


Fig. 6

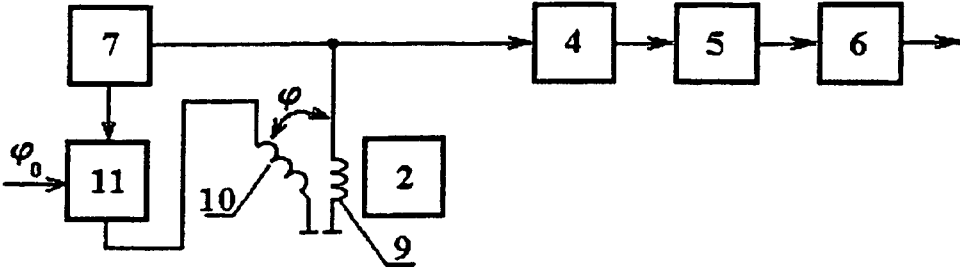


Fig. 7

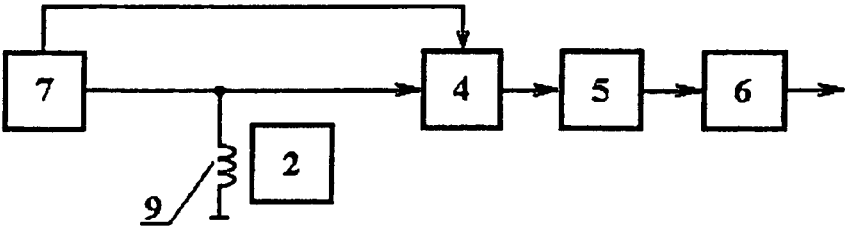


Fig. 8

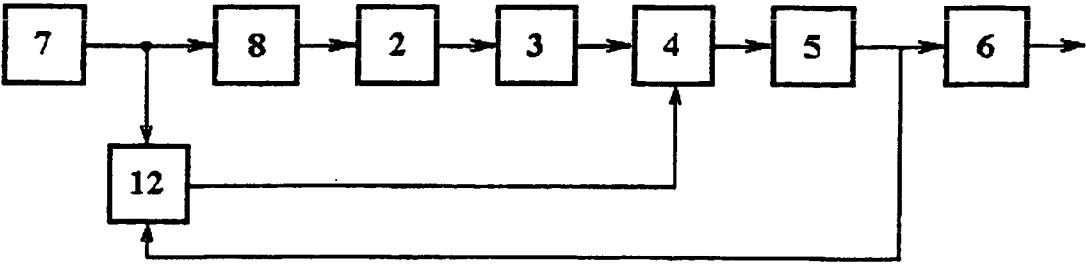


Fig. 9

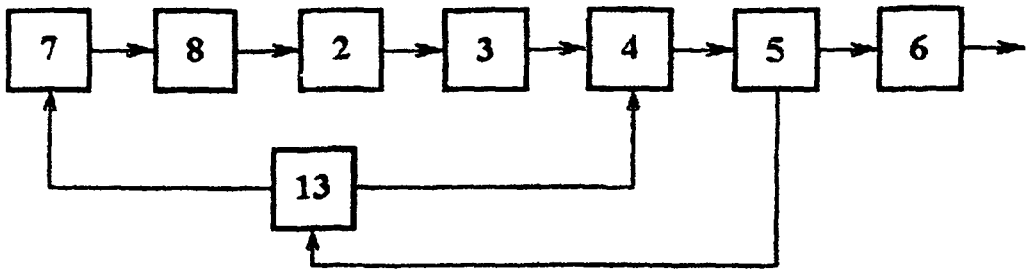


Fig. 10

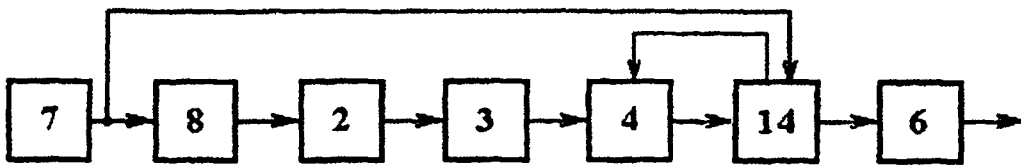


Fig. 11

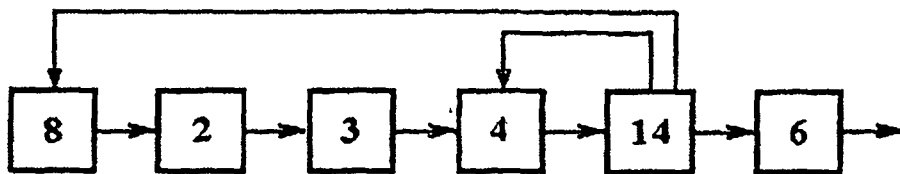


Fig. 12

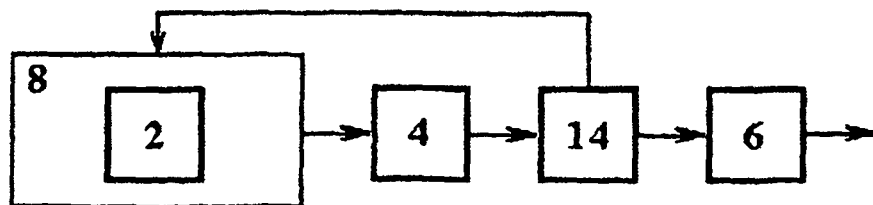


Fig. 13