

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **3 017 183**

51 Int. Cl.:

G01N 29/12 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

G01N 29/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.01.2020** **PCT/ES2020/070072**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.08.2020** **WO20157364**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.01.2020** **E 20748009 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2025** **EP 3919898**

54 Título: **Procedimiento y sistema para la identificación de partículas basado en mediciones multifrecuencia de placas resonantes**

30 Prioridad:

31.01.2019 ES 201930073

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.05.2025

73 Titular/es:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.00%)
Serrano 117
28006 Madrid, ES**

72 Inventor/es:

**RUZ MARTÍNEZ, JOSÉ JAIME;
MALVAR VIDAL, ÓSCAR;
GIL-SANTOS, EDUARDO;
CALLEJA GÓMEZ, MONTSERRAT y
TAMAYO DE MIGUEL, FRANCISCO JAVIER**

74 Agente/Representante:

ESCUDERO PRIETO, Nicolás Enrique

ES 3 017 183 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

Procedimiento y sistema para la identificación de partículas basado en mediciones multifrecuencia de placas resonantes

Campo de la invención

La presente invención está comprendida en el campo técnico correspondiente a las tecnologías de identificación de partículas de tamaño micro y nanométrico, por medio de procedimientos de medición y caracterización indirecta. Más específicamente, la invención se refiere a un procedimiento y a un sistema para identificar y clasificar partículas individuales en base a los cambios en las diferentes frecuencias de resonancia de estructuras de tipo placa delgada sobre las que se depositan. Estos cambios en las frecuencias de resonancia de las placas están provocados por la adsorción de la partícula a detectar sobre su superficie.

Antecedentes de la invención

La resistencia que un cuerpo determinado ofrece frente a la deformación depende de diferentes factores, principalmente de su módulo de Young, así como de la forma y el tipo de deformación experimentada. Este hecho sugiere la posibilidad de estudiar e identificar partículas individuales deformándolas de diferentes maneras y observando la resistencia que ofrecen frente a la deformación ejercida. La información que se obtiene sobre la partícula cuando se deforma puede ser extremadamente valiosa en determinadas escalas, tales como la escala nanométrica. Por ejemplo, se sabe que la rigidez de los organismos biológicos, tales como los virus, varía de acuerdo con el estado de maduración de los organismos. Algunos estudios indican que las células cancerosas y metastásicas son más blandas que las células sanas, lo que les ayuda a migrar a otras partes del cuerpo más fácilmente. Además, se sabe que la rigidez del virus de la inmunodeficiencia humana disminuye durante el proceso de maduración como mecanismo de activación de la infección. Estos son algunos ejemplos de la importancia de la rigidez en las entidades biológicas, pero, por supuesto, hay muchos más.

En este contexto, la detección e identificación de especies se ha convertido actualmente en un campo muy activo en múltiples áreas de investigación, tales como la química, la biología o las ciencias ambientales, así como en medicina, seguridad y salud. Durante las últimas décadas, la espectrometría de masas (EM) se ha vuelto más popular y ahora es claramente la herramienta principal para la identificación de especies en una muestra. Por lo tanto, como consecuencia del potencial de esta técnica, se han desarrollado numerosas variantes de EM para satisfacer diferentes necesidades y, en la actualidad, el número de aplicaciones de EM es mayor que nunca y continúa creciendo.

Los espectrómetros de masas necesitan fragmentar e ionizar grandes conjuntos moleculares en otros conjuntos más pequeños que posteriormente se detectan, obteniéndose información sobre la relación masa-carga de cada fragmento individual. El resultado es un espectro de masa/carga que se puede analizar y comparar con una base de datos para conocer la composición de la muestra original y permitir su identificación. La EM tiene una resolución muy alta y es altamente eficiente para especies con masas relativamente pequeñas. Sin embargo, medir partículas grandes constituye un verdadero desafío para esta técnica porque que dichas partículas pueden adquirir estados de carga muy diferentes, ampliando los picos del espectro obtenido y haciéndolo muy complejo y, por tanto, difícil de interpretar. Además, los detectores comúnmente usados en este campo, tales como las placas de microcanales, tienen eficiencias de detección bajas para iones de masa alta. En este sentido, los sistemas nanoelectromecánicos (NEMS) se han propuesto recientemente como una nueva variante de espectrometría de masas que supera el problema de la medición de partículas grandes. Los sensores basados en NEMS se han desarrollado y estudiado durante décadas y se han propuesto en la literatura con muchas formas y aplicaciones diferentes, demostrando su potencial como sensores de masa ultrasensibles con resolución de masas sin precedentes. El principio de funcionamiento principal de los NEMS como sensores de masa es que cada vez que una partícula se deposita en su superficie, sus frecuencias de resonancia se modifican en una cantidad que es proporcional a la masa del analito (véase, por ejemplo, el documento US 2014/156224 A1, y Sage, E., *et al.* Nat. Commun., 2015, 6 (1), p. 1-5). Este efecto es completamente independiente del estado de carga de la partícula, lo que hace que la EM basada en NEMS sea muy adecuada para medir partículas con carga neutra, tales como virus o células bacterianas cercanas a su estado natural, dado que una fuerte ionización podría provocar cambios importantes en su estructura biológica. Otra ventaja de esta técnica es que los resultados son mucho más fáciles de interpretar, ya que miden directamente la masa de las partículas y no el espectro masa-carga.

Además de la masa, se ha demostrado que los NEMS también se puede usar para obtener información sobre la rigidez del analito relacionada con su estructura interna y su composición. Es evidente que este hecho mejorará el potencial de la EM basada en NEMS porque la posibilidad de extraer dos coordenadas ortogonales (masa y rigidez) mejorará considerablemente la capacidad de distinción de los sistemas de detección basados en esta técnica. En este sentido, algunos resonadores tipo palanca ("*cantilever*") ya se han usado como detectores de la espectrometría de masa y rigidez nanomecánica (MS-NS), pero con algunos inconvenientes. Por ejemplo, la solicitud de patente internacional WO 2017/178672 A1 describe un procedimiento para obtener la posición de

absorción, masa y rigidez de una partícula depositada sobre la superficie de un resonador en base al cambio relativo en la frecuencia de resonancia de dicho resonador en varios modos de vibración flexural; es decir, vibraciones 1D fuera del plano. Dicho procedimiento se usa para obtener los espectros de masas de la bacteria *E. coli* mostrados en Malvar, O., *et al.* "Mass and stiffness spectrometry of nanoparticles and whole intact bacteria by multimode nanomechanical resonators" [Nat. Commun., 2016, 7 (1), p. 13452] debido a la forma cilíndrica característica de estos organismos unicelulares.

También se ha predicho teóricamente el desplazamiento en la frecuencia de resonancia debido a la adsorción de moléculas sobre micro y nanopalanques. Tamayo, J. *et al.* "Effect of the adsorbate stiffness on the resonance response of microcantilever sensors" [Appl. Phys Lett., 2006, 89, 224104] demostró que el efecto de la rigidez del adsorbato puede ser comparable o incluso mayor que el efecto de la masa, produciendo desplazamientos en la frecuencia positivos.

También se han usado nanocables en MS-NS (véase, por ejemplo, Gil-Santos, E., *et al.*, "Nanomechanical mass sensing and stiffness spectrometry based on two-dimensional vibrations of resonant nanowires", Nat Nanotechnol., 2010, 5 (9), p. 641-645).

Como se menciona, la información sobre la rigidez del analito es muy útil y representa claramente una mejora potencial para las técnicas de EM conocidas. En este campo, la técnica más usada para estudiar la rigidez de una muestra es la microscopía de fuerza atómica. Sin embargo, esta técnica es tediosa, ya que consume mucho tiempo y es bastante invasiva. Por lo tanto, en el campo de la invención se plantea actualmente la necesidad de desarrollar nuevos procedimientos que permitan deformar partículas de tamaño nanométrico de forma controlable, fiable, rápida y no invasiva, extrayendo toda la información posible sobre dicha deformación con fines de identificación y caracterización de las citadas partículas.

La presente invención proporciona una solución a dicha necesidad mediante un novedoso procedimiento para la identificación de partículas basado en el cambio de frecuencia de diferentes modos de vibración de una placa debido a la rigidez de la partícula adsorbida. El procedimiento es completamente válido para cualquier geometría de placa y para cualquier modo de vibración, dentro o fuera del plano, y abre la puerta a nuevas aplicaciones en espectrometría de entidades biológicas, así como a la identificación de nanopartículas con excelente precisión. La invención propone, por lo tanto, una técnica general para la identificación precisa de partículas basada en los cambios de frecuencia de los diferentes modos de vibración de las placas debido a la masa y la rigidez de la partícula adsorbida. Además, la técnica se puede usar muy eficazmente, incluso para distinguir partículas con la misma masa y módulo de Young, pero con una forma diferente, proporcionando por lo tanto una herramienta nueva y poderosa para el estudio de la rigidez de entidades biológicas individuales, así como para la identificación precisa de partículas en espectrometría nanomecánica.

Breve descripción de la invención

Como se describe en la sección precedente, un primer objetivo de la presente invención se refiere a un procedimiento para identificar un adsorbato (expresión que se usará a continuación en el presente documento para designar cualquier partícula o sustancia a identificar) de masa M_a depositado sobre una placa de masa M_p , en el que dicha placa puede vibrar con diferentes modos de vibración, y en el que, para dichos modos, su correspondiente frecuencia de resonancia f_0 se desplace en una determinada cantidad Δf al depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma.

Dicho procedimiento se define en la reivindicación 1 y comprende las siguientes etapas:

- calcular una masa candidata y una posición candidata del adsorbato a partir de la medición del cambio de frecuencia de una pluralidad de modos de vibración de la placa y del conocimiento previo de la masa de la placa M_p . En esta primera etapa, se desprecia el efecto de la rigidez del adsorbato, de modo que el cambio Δf se determina como sigue:

$$\frac{\Delta f}{f_0} \approx -\frac{1}{2} \frac{M_a}{M_p} (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2);$$

en el que $\hat{u}$ y $\hat{v}$ son desplazamientos adimensionales a lo largo de un sistema de ejes en el plano de la placa, y $\hat{w}$ es el desplazamiento adimensional a lo largo del eje perpendicular al plano de la placa;

- usar los valores calculados como punto inicial para calcular los valores finales de la masa M'_a , posición del adsorbato y los diversos coeficientes de rigidez γ' dependientes de las propiedades mecánicas y de la geometría del adsorbato y de la geometría de la placa a partir de la medición del cambio de frecuencia de varios modos de vibración de la placa (en este caso no se desprecia la rigidez) y usar la energía de deformación U_a del adsorbato en función del tensor de deformación en la posición de adsorción, $\varepsilon_{xx,yy,xy}(x_0, y_0)$, obtenido a partir del desplazamiento $(\hat{u}, \hat{v}, \hat{w})$ en el plano (x, y) definido por la placa para un subconjunto de modos resonantes, como

sigue:

$$U_a = \gamma'_x \varepsilon_{xx}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_y \varepsilon_{yy}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_{xxyy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) + \gamma'_{xyxy} \varepsilon_{xy}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_{xxxy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0) + \gamma'_{yyxy} \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0);$$

- 5 - comparar los valores de la masa candidata del adsorbato M'_a y de los coeficientes γ' calculados en la etapa anterior con un conjunto de valores de referencia $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$ que se calculan a partir de la transformación al sistema de referencia de la placa de valores previamente almacenados, correspondientes a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa con una orientación dada en un plano de referencia (x', y') ;

- 10 - identificar el adsorbato depositado en la placa como el adsorbato perteneciente al catálogo cuyos valores M'_a y γ' son los más similares a los valores $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$.

Se obtiene con ello un procedimiento que permite identificar tanto la masa del adsorbato depositado como su forma y orientación en el espacio tridimensional, a diferencia de otras técnicas conocidas que solo permiten calcular la masa y/o proyecciones bidimensionales y, por lo tanto, restringidas de la forma del adsorbato mencionado. Por lo tanto, la presente técnica permite discriminar entre partículas que pueden tener tamaños diferentes, pero cuya proyección es idéntica en un plano de detección (por ejemplo, con las técnicas actuales, no sería posible distinguir la forma de un disco de la forma de una placa rectangular para el caso de una proyección en alzado).

20 De acuerdo con el procedimiento de la invención, las componentes γ' medidas en el sistema de referencia de la placa se refieren a las componentes γ medidas en el sistema de referencia del adsorbato (las que aparecen en el catálogo), que está rotado un ángulo θ sobre el eje z, por medio de la expresión:

$$\begin{aligned} \gamma'_x &= \gamma_x \cos^4 \theta + \gamma_y \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \gamma_{xxyy} \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \gamma_{yyxy} \sin^2 \theta \cos^2 \theta \\ \gamma'_y &= \gamma_y \cos^4 \theta + \gamma_x \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta + \gamma_{xxyy} \cos^2 \theta \sin^2 \theta + \gamma_{yyxy} \sin^2 \theta \cos^2 \theta \\ \gamma'_{xy} &= (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 2\theta + (\gamma_x + \gamma_y) \sin^2 2\theta - \gamma_{xxyy} + (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxyy} &= \frac{1}{2} (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \sin^2 2\theta + \gamma_{xxyy} + \frac{1}{2} (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxyy} &= (\gamma_x - \gamma_y + (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2} ((\gamma_{xxyy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta + (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta) \\ \gamma'_{yyxy} &= (\gamma_x - \gamma_y - (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2} ((\gamma_{xxyy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta - (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta). \end{aligned}$$

En un modo de realización preferente del procedimiento de la invención, los modos de vibración resonante comprenden modos de vibración fuera de plano y/o dentro de plano.

- 30 De acuerdo con el procedimiento de la invención, se seleccionan solo modos de vibración resonante que experimentan un cambio negativo en la frecuencia con el depósito del adsorbato.

De acuerdo con el procedimiento de la invención en el que se miden $N > 2$ modos en total, y M es el conjunto de dichos modos con cambio negativo de frecuencia, para calcular la posición de adsorción en el primer paso se minimiza la siguiente función:

$$F_0 = \sum_{m \in M} \left(\frac{\delta f_m}{\sqrt{\sum_{k \in M} \delta f_k^2}} - \frac{\Phi_m^T \Delta^T}{\sqrt{\sum_{k \in M} (\Phi_k^T \Delta^T)^2}} \right)^2,$$

40 en la que δf_m es el desplazamiento de la frecuencia relativa del modo m-ésimo medido experimentalmente, y en la que:

$$\begin{aligned} \Phi_n &= \left[-d_n^2, \frac{\varepsilon_{xxn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{yyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}} \right], \\ \Delta &= \left[1, \frac{2M_p \gamma'_x}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_y}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{xy}}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{xxyy}}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{xxyy}}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{yyxy}}{M_a} \right], \end{aligned}$$

45 $d_n^2 = \hat{u}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{v}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{w}_n(x_0, y_0)^2$ es el cuadrado del desplazamiento total de la placa, y los valores $(x_0, y_0) \in \Omega$ que minimizan la función $F_0(x, y)$ son la primera estimación de la posición de adsorción.

En otro modo de realización preferente del procedimiento de la invención, la comparación de los valores de la masa candidata del adsorbato M'_a y de los coeficientes y' con el conjunto de valores de referencia $\{M_a^D, (y')^D\}$ se calcula mediante el estimador de similitud $I(\theta)$:

$$I(\theta) = \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^I) (M_a^D - M_a)^2 + \sum_{i=2}^7 \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^I) \left((y_i')^D - \frac{M_a}{2M_p} \Delta^i \right)^2,$$

en el que el superíndice D se refiere a los valores del catálogo de adsorbatos. El valor θ que minimiza $I(\theta)$ es el valor más probable de la orientación del adsorbato.

En otro modo de realización preferente del procedimiento de la invención, los adsorbatos son partículas inorgánicas, virus, bacterias, proteínas y/o células.

Un segundo objeto de la invención se refiere a un sistema como se define en la reivindicación 5, para identificar un adsorbato de masa M_a depositado en una placa de masa M_p , en el que dicha placa puede vibrar con una pluralidad de modos de vibración y en el que, para cada uno de dichos modos, su correspondiente frecuencia de resonancia f_0 se desplaza en una cantidad Δf en base al desplazamiento $(\hat{u}, \hat{v}, \hat{w})$ de la placa en el correspondiente modo de vibración tras depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma, en el que dicho sistema comprende:

- una o más placas;

- medios de deposición para depositar uno o más adsorbatos sobre las placas (por ejemplo, dichos medios pueden comprender una o más cámaras de vacío y un sistema de ionización y/o electronebulización, encargado de pulverizar las muestras sobre las placas); y

- medios de medición para medir el desplazamiento de la frecuencia de resonancia cuando el adsorbato se deposita en una de las placas, para una pluralidad de modos de vibración de las mismas (por ejemplo, dichos medios pueden comprender materiales piezoeléctricos para realizar el barrido de frecuencia y/o uno o más lazos de seguimiento de fase, o PLL; y uno o más láseres enfocados sobre las placas y configurados para emitir un haz sobre las mismas, que se recibe por un fotodetector y posteriormente se amplifica para su lectura).

Dicho sistema comprende medios de *software* y *hardware* para registrar y procesar datos, configurados para leer los datos generados por los medios de medición y para almacenar un conjunto de valores de referencia $\{M_a, Y\}$, correspondiente a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa con una orientación dada en un plano de referencia (x', y') , estando configurados los medios de *software* y *hardware* además para realizar un procedimiento para identificar adsorbatos de acuerdo con cualquiera de los modos de realización descritos en el presente documento.

En un modo de realización preferente del sistema de la invención, dicho sistema comprende un espectrómetro de masas.

Un tercer objeto de la invención se refiere a un programa informático como se define en la reivindicación 11, que incorpora una pluralidad de etapas de un procedimiento de acuerdo con cualquiera de los modos de realización en el presente documento, que se puede implementar a través de medios de *software* y *hardware* para registrar y procesar datos de un sistema de acuerdo con cualquiera de los modos de realización descritos en el presente documento.

Descripción de los dibujos

La figura 1 muestra un diagrama de una placa con un adsorbato en la parte superior. El sistema de referencia de la placa se representa como (x, y, z) y el sistema de referencia del adsorbato se representa como (x', y', z') . Este último sistema de referencia se rota un ángulo θ con respecto al primer sistema de referencia.

La figura 2 muestra geometrías de la placa de tipo palanca y seis configuraciones de adsorbato diferentes usadas para la prueba de concepto del procedimiento de la invención en un modo de realización preferente de la misma. La figura también representa la malla usada para los cálculos numéricos de las simulaciones FEM correspondientes.

La figura 3 muestra simulaciones de elementos finitos de los primeros doce modos de vibración fuera del plano de la placa de tipo palanca de forma cuadrada con un coeficiente de Poisson de 0,28, así como la relación de cada frecuencia con la frecuencia fundamental de la placa.

La figura 4 muestra resultados de las identificaciones obtenidas después de aplicar el procedimiento de

identificación de la invención, de acuerdo con un modo de realización preferente de la misma, en base a la posición de adsorción. Las regiones más oscuras representan las posiciones donde la identificación es incorrecta y las regiones más claras representan las posiciones donde la identificación es exitosa. Se puede observar que, para formas cuadradas, cúbicas y de barra, la identificación es correcta para casi toda la placa, pero en posiciones muy cercanas a las esquinas o bordes de la placa, la identificación presenta errores. Para el caso del disco, el área de identificación exitosa no es tan exitosa como para las otras partículas debido a la alta similitud entre los parámetros de rigidez del disco y del cuadrado.

Descripción detallada de la invención

Como se describe en la sección correspondiente a los antecedentes de la invención, una placa que tiene una geometría arbitraria puede vibrar con modos y frecuencias muy diferentes. Cuando se clasifican estas vibraciones en diferentes categorías, normalmente se hace una distinción entre vibraciones "fuera del plano" y vibraciones "en el plano". Las vibraciones fuera del plano son aquellas vibraciones para las que el desplazamiento principal tiene lugar perpendicularmente al plano de la placa y en las que se desprecian los desplazamientos de otro tipo. Además, cuando los desplazamientos principales se producen en el mismo plano que la placa, esto se denomina modo de vibración en el plano. La flexión y los modos torsionales de placas de tipo palanca son ejemplos de modos fuera del plano, mientras que los modos de respiración radiales de las placas de tipo disco son ejemplos de modos de vibración en el plano. En general, y como se muestra en la figura 1, es posible definir un sistema de coordenadas en el que las direcciones x e y están en el plano de la placa y dirección z es perpendicular al plano de la placa. En este sistema, el desplazamiento de cada punto de la placa en direcciones x , y y z se puede describir por un conjunto de funciones $u(x,y)$, $v(x,y)$ y $w(x,y)$, respectivamente. Para modos fuera de plano, $u(x,y)$ y $v(x,y)$ son mucho más pequeños que $w(x,y)$, donde estos se pueden despreciar, mientras que, para modos en el plano, $w(x,y)$ es mucho más pequeño que $u(x,y)$ y $v(x,y)$, donde este se puede despreciar. Las frecuencias y formas de los modos de vibración de la placa dependen de su geometría y de sus propiedades mecánicas. Asimismo, para un modo de vibración dado, la frecuencia correspondiente a dicho modo se puede obtener usando el procedimiento de Rayleigh-Ritz, que básicamente establece que la energía cinética media por ciclo de oscilación debe ser igual a la energía de deformación media por ciclo de oscilación. Cualquiera que sea la naturaleza de la oscilación, cuando una pequeña partícula se adsorbe en la superficie de la placa, surgen dos efectos diferentes:

(i) la masa total del sistema aumenta y, por lo tanto, la frecuencia debe disminuir para mantener constante la energía cinética media por ciclo de oscilación; y

(ii) como la partícula está en contacto con la superficie de la placa, se deforma junto con la placa y, por lo tanto, aumenta la energía de deformación media por ciclo de oscilación. Para mantener un equilibrio correcto entre las energías cinética media y de deformación, la frecuencia del sistema debe aumentar en consecuencia. En otras palabras, la masa de la partícula hace que la frecuencia disminuya y la rigidez de la partícula hace que la frecuencia aumente.

Teniendo en cuenta estos efectos y asumiendo que el tamaño de la partícula es mucho más pequeño que el tamaño del resonador, el cambio de frecuencia relativa se puede expresar como:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \left(\frac{T_a}{T_p} - \frac{U_a}{U_p} \right), \quad (\text{Ec. 1})$$

en la que T es la energía cinética media por ciclo de oscilación, U es la energía de deformación media por ciclo de oscilación y los subíndices p y a corresponden a la placa y al adsorbato, respectivamente. El efecto de la masa de las partículas en las frecuencias de resonancia de la placa corresponde a la parte de energía cinética de la ecuación 1.

La energía cinética T_p de la placa se puede expresar como:

$$T_p = \frac{1}{2} A_n^2 \omega_n^2 M_p, \quad (\text{Ec. 2})$$

en la que M es la masa, ω_n es la frecuencia de vibración angular de la placa y A_n es una amplitud arbitraria. Suponiendo que la partícula es mucho más pequeña que la placa, el desplazamiento a lo largo de la partícula se puede considerar constante; por lo tanto, la energía cinética del adsorbato se puede expresar como:

$$T_a = \frac{1}{2} A_n^2 \omega_n^2 M_a (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2), \quad (\text{Ec. 3})$$

en la que $\hat{u}$, $\hat{v}$ y $\hat{w}$ son el desplazamiento adimensional del correspondiente modo de vibración y (x_0, y_0) son las

coordenadas de la posición de adsorción en la placa. Usando la ecuación 1, el efecto de la masa del adsorbato sobre la frecuencia de resonancia de la placa se puede expresar en última instancia como:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \frac{M_0}{M_p} (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2). \quad (\text{Ec. 4})$$

La deformación de la placa cuando está vibrando se transfiere al adsorbato que se deposita en su superficie. La superficie de contacto entre el adsorbato y la placa desempeña un papel crucial en la transmisión de la deformación. La deformación implica una variación espacial de los desplazamientos y, por lo tanto, un área de contacto que es, por ejemplo, muy estrecha en x , pudiendo transferir apenas deformación en dicha dirección x , porque los desplazamientos son constantes para todos los propósitos prácticos en un espacio tan estrecho. Esto significa que para una superficie de contacto que es perpendicular a la dirección z , ninguna de las componentes z de la deformación se transferirá al adsorbato. Dado el estado de deformación en el plano de la placa en la posición de adsorción $\varepsilon_{xx}(x_0, y_0)$, $\varepsilon_{yy}(x_0, y_0)$ y $\varepsilon_{xy}(x_0, y_0)$, el estado final de deformación en el adsorbato será proporcional solo a estas tres cantidades. Las constantes de proporcionalidad dependerán de la geometría del adsorbato y también de la naturaleza del modo de vibración. Dado que el espesor de la placa se considera pequeño en comparación con sus otras dimensiones, el estado mecánico de la placa se puede describir con la aproximación de tensión plana, y la energía de deformación media de la placa se puede expresar como:

$$U_p = \frac{1}{2} \frac{E_p}{(1-\nu_p^2)} \int_{V_p} \left((\varepsilon_{xx} + \varepsilon_{yy})^2 - 2(1-\nu)(\varepsilon_{xx}\varepsilon_{yy} - \varepsilon_{xy}^2) \right) dV. \quad (\text{Ec. 5})$$

en la que E y ν son el módulo de Young y el coeficiente de Poisson de un material perfectamente isótropo. Si el material es elásticamente anisótropo, la ecuación 5 anterior se debe transformar de acuerdo con las proporciones tensión-deformación del material anisótropo. La energía de tensión en el adsorbato es cuadrática con la deformación. Como se menciona anteriormente, la deformación del adsorbato es proporcional a las componentes en el plano de las deformaciones de la placa en el punto de adsorción y, por lo tanto, una expresión general de la energía de deformación en el adsorbato es:

$$U_a = \gamma_x \varepsilon_{xx}(x_0, y_0)^2 + \gamma_y \varepsilon_{yy}(x_0, y_0)^2 + \gamma_{xxyy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) + \gamma_{xy} \varepsilon_{xy}(x_0, y_0)^2 + \gamma_{xxyy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0) + \gamma_{yyxy} \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0). \quad (\text{Ec. 6})$$

en la que los coeficientes γ son constantes que dependen de las propiedades mecánicas y de la geometría del adsorbato y de la geometría de la placa. Una característica clave de la ecuación 6 es que los coeficientes γ son completamente independientes de la posición de adsorción y del modo de vibración y, por lo tanto, son excelentes candidatos para una identificación precisa del adsorbato; en otras palabras, forman una "huella dactilar" de rigidez del adsorbato, que se puede determinar experimentalmente. Sin embargo, dado que estos coeficientes dependen de la geometría del adsorbato, en un caso general cambiarán si la orientación del adsorbato es diferente respecto al sistema de coordenadas en el que se define el modo y, por tanto, las deformaciones. Por lo tanto, para formar de forma unívoca dicha huella para el adsorbato, se debe resolver la orientación real. Esto se puede realizar si se define la huella mencionada en un sistema de referencia fijo para el adsorbato (por ejemplo, un sistema de referencia tal como el mostrado en la figura 1). Esto se puede realizar, por ejemplo, aplicando rotación al tensor de tensión. Los nuevos coeficientes γ' medidos en el sistema de referencia de la placa están relacionados con el conjunto único de coeficientes γ definidos en el sistema de referencia fijado para el adsorbato de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \gamma'_x &= \gamma_x \cos^4 \theta + \gamma_y \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \gamma_{xxyy} \cos^2 \theta \sin \theta - \gamma_{yyxy} \sin^2 \theta \cos \theta \\ \gamma'_y &= \gamma_y \cos^4 \theta + \gamma_x \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta + \gamma_{xxyy} \cos^2 \theta \sin \theta + \gamma_{yyxy} \sin^2 \theta \cos \theta \\ \gamma'_{xy} &= (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 2\theta + (\gamma_x + \gamma_y) \sin^2 2\theta - \gamma_{xxyy} + (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxyy} &= \frac{1}{2} (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \sin^2 2\theta + \gamma_{xxyy} + \frac{1}{2} (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxyy} &= (\gamma_x - \gamma_y + (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2} ((\gamma_{xxyy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta + (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta) \\ \gamma'_{yyxy} &= (\gamma_x - \gamma_y - (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2} ((\gamma_{xxyy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta - (\gamma_{xxyy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta). \end{aligned} \quad (\text{Ec. 7})$$

en la que θ es el ángulo entre los dos sistemas de coordenadas (véase la figura 1). El conjunto de coeficientes $\{\gamma_x, \gamma_y, \gamma_{xy}, \gamma_{xxyy}, \gamma_{yyxy}, \gamma_{xxyy}, \gamma_{yyxy}\}$ se usará de este modo en la presente invención como una huella dactilar única del adsorbato. Al estudiar la ecuación 7 anterior, se pueden deducir algunas consecuencias. Por ejemplo, la

proyección de un adsorbato regular en el plano de la placa tiene dos líneas de simetría ortogonales (que es una buena aproximación en el caso de la mayoría de los adsorbatos de interés), y cuando dicho adsorbato se orienta a 45 grados con respecto al sistema de coordenadas de la placa, se deben cumplir dos condiciones, (i) $\gamma'_x = \gamma'_{yy}$ (ii) $\gamma'_{xxy} = \gamma'_{yyx}$, y estas condiciones significan además que $\gamma_{xxy} = \gamma_{yyx} = 0$. Por lo tanto, para un adsorbato que no es extremadamente irregular, existen cuatro parámetros únicos γ_x , γ_y , γ_{xy} y γ_{xxy} , que permitirán la identificación unívoca de los mismos. Los coeficientes γ_{xxy} y γ_{yyx} son, a su vez, indicativos de la irregularidad del adsorbato. Un caso aún más simple es cuando el adsorbato presenta simetría azimutal alrededor del eje z. En este caso, la ecuación 7 debe ser independiente del ángulo libre de orientación y, en ese caso, $\gamma_x = \gamma_y$ y $\gamma_{xxy} = 2\gamma_x - \gamma_{xy}$, y el número de coeficientes únicos se reduce a dos. Es evidente entonces que las cantidades $(\gamma_x - \gamma_y)$ y $(2\gamma_x - \gamma_x - \gamma_{xxy})$ son coeficientes indicativos de la asimetría del adsorbato.

La presente invención permite además calcular la posición de adsorción, la masa y los diversos coeficientes de rigidez del adsorbato a partir de los cambios relativos de frecuencia de varios modos de vibración por medio de cálculo numérico. Sin embargo, la extracción de toda la información útil sobre los cambios de frecuencia relativa de varios modos de vibración de una placa no es una tarea libre de cuestiones complejas *a priori*, debido al gran número de parámetros implicados en el problema. Un problema con la optimización general con una gran cantidad de variables puede implicar, en cualquier caso, un alto coste computacional. Sin embargo, existen algunas particularidades que se pueden usar en diferentes modos de realización preferentes de la invención para simplificar dicha optimización. Es importante destacar que el cambio de frecuencia relativa presenta una dependencia lineal de todos los parámetros del problema, excepto las coordenadas de posición (x_0, y_0) . Esto significa que la posición se debe calcular con precisión para evitar grandes incertidumbres en el resto de los parámetros. Para el tipo de adsorbatos típicamente de interés, el efecto de la masa es en general mucho mayor que el efecto de la rigidez; por lo tanto, se puede realizar una primera buena estimación de la posición de adsorción, despreciando el efecto de la rigidez. Esto simplifica enormemente el problema de optimización. Una vez se ha realizado esta estimación, los parámetros de rigidez se pueden incluir posteriormente como una pequeña perturbación del problema inicial. De este modo, el problema de optimización se transforma así en subproblemas más pequeños y más simples que se pueden resolver secuencialmente. Para este propósito, es posible definir dos vectores que se usarán durante el proceso:

$$\Phi_n = \left[-d_n^2, \frac{\varepsilon_{xxn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yy n}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{yy n}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xyn}\varepsilon_{yy n}}{2U_{pn}} \right], \quad (\text{Ec. 8})$$

$$\Delta = \left[1, \frac{2M_p\gamma'_x}{M_d}, \frac{2M_p\gamma'_y}{M_d}, \frac{2M_p\gamma'_{xy}}{M_d}, \frac{2M_p\gamma'_{xxy}}{M_d}, \frac{2M_p\gamma'_{yyx}}{M_d}, \frac{2M_p\gamma'_{xyx}}{M_d} \right], \quad (\text{Ec. 9})$$

en los que $d_n^2 = \hat{u}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{v}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{w}_n(x_0, y_0)^2$ es el cuadrado del desplazamiento total. Φ_n , a su vez, es un vector que contiene toda la información sobre el n-ésimo modo de vibración y Δ es el vector que contiene las incógnitas que se buscan y es completamente independiente del modo de vibración y de la posición de adsorción.

Para un ejemplo en el que los modos N en total se están midiendo y dado que la rigidez provoca cambios positivos de frecuencia y la masa provoca cambios negativos de frecuencia, una buena opción para garantizar una estimación precisa es elegir solo los modos que experimentan un cambio negativo en la frecuencia. Donde M es el conjunto de dichos modos con un cambio negativo de frecuencia, para calcular la posición de adsorción se minimiza la siguiente función:

$$F_0 = \sum_{m \in M} \left(\frac{\delta f_m}{\sqrt{\sum_{k \in M} \delta f_k^2}} - \frac{\Phi_m^T \Delta^T}{\sqrt{\sum_{k \in M} (\Phi_k^T \Delta^T)^2}} \right)^2, \quad (\text{Ec. 10})$$

en la que δf_m es el desplazamiento de la frecuencia relativa del modo m-ésimo medido experimentalmente. Los valores $(x_0, y_0) \in \Omega$ que minimizan la función $F_0(x, y)$ son la primera estimación de la posición de adsorción. Cabe destacar que el número mínimo de modos necesarios para esta primera estimación es tres, y al menos uno debe tener una variación considerable a lo largo de la coordenada x y otro a lo largo de la coordenada y para resolver correctamente (x_0, y_0) . La segunda etapa es incluir los términos de rigidez correspondientes a las deformaciones x , y y xy . Los otros tres términos $xxxy$, $xyxy$, $yyxy$ son en general mucho más pequeños que estos tres y se pueden despreciar en esta etapa. A continuación, se busca el mínimo alrededor de la posición calculada previa (x_0, y_0) . La nueva función que se debe minimizar es:

$$F_1 = \sum_{n=1}^N \left(\frac{\delta f_n}{\sqrt{\sum_{k=1}^N \delta f_k^2}} - \frac{\sum_{k=1}^N \Phi_k^1 \Delta^1}{\sqrt{\sum_{k=1}^N (\sum_{i=1}^N \Phi_k^i \Delta^i)^2}} \right)^2. \quad (\text{Ec. 11})$$

Los nuevos valores de posición (x_0, y_0) y el primer cálculo de Δ^i para $i = 2, 3, 4$ se obtienen de la minimización de la ecuación 11. En la siguiente etapa, el resto de los términos de rigidez se pueden incluir simplemente aumentando las sumas en la ecuación 11, de $i = 1$ a $i = 5, 6$ y 7. Es importante mencionar que todo el procedimiento para obtener todas las componentes de Δ se puede dividir en etapas secuenciales. Por ejemplo, después de la primera estimación de la posición, es posible usar los modos en los que, en esa posición, la componente principal de la deformación es la componente x . En ese caso, es necesario incluir solo estos modos de vibración en la ecuación 11 y solo los términos Δ^1 y Δ^2 . Después de esta etapa, es posible incluir la componente y de rigidez, la componente xy y así sucesivamente, siempre garantizando que el valor mínimo encontrado para la función F_1 es menor que en la etapa anterior. La masa se puede calcular usando el modo que tiene el mayor cambio negativo de frecuencia. Siendo q dicho modo, la masa se puede calcular como sigue:

$$M_a = \frac{2M_p \delta f_q}{\sum_{i=1}^N \Phi_q^i \Delta^i}. \quad (\text{Ec. 12})$$

Una aplicación adicional de la técnica de la presente invención en un modo de realización preferente de la misma es poder identificar partículas con muy alta precisión. Cuando existe un conjunto de objetos, la capacidad de distinción de un procedimiento dado crece junto con el número de propiedades que el procedimiento puede medir en base a los elementos del conjunto. La masa y todos los diferentes términos de rigidez hacen de esta técnica una herramienta altamente potente para esta tarea. Para cada partícula del conjunto, se define una base de datos con los valores de M_a , γ_x , γ_y , γ_{xy} , γ_{xxy} , γ_{xyy} y γ_{yyy} que serán necesarios para poder hacer una comparación entre partículas. Sin embargo, las cantidades obtenidas experimentalmente para realizar dicha comparación son M_a , γ_x' , γ_y' , γ_{xy}' , γ_{xxy}' , γ_{xyy}' y γ_{yyy}' . Para realizar la comparación, se usa la ecuación 6 con los valores de la base de datos y se forma la siguiente función:

$$I(\theta) = \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^1) (M_a^D - M_a)^2 + \sum_{i=2}^7 \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^i) \left((\gamma_i)^D - \frac{M_a}{2M_p} \Delta^i \right)^2, \quad (\text{Ec. 13})$$

en la que el superíndice D se refiere a los valores de la base de datos. La ecuación 13 se ha ponderado dando más importancia a aquellos componentes que tienen un valor más alto en el punto de adsorción, para mejorar el éxito de la identificación. No obstante, en otros modos de realización de la invención, se pueden usar asimismo otros estimadores de similitud para la identificación de las partículas. La minimización de la ecuación 13 (o del estimador de similitud elegido, en cada caso) permite calcular el ángulo de orientación para cada partícula del conjunto, siendo la partícula que da el valor mínimo de dicha ecuación muy probablemente la partícula correcta.

Como ejemplo no limitante de un modo de realización preferente de la invención, se ilustra a continuación el proceso de identificación de cuatro partículas con la misma masa, el mismo módulo de Young, el mismo volumen pero diferente forma, usando vibraciones fuera del plano de una placa cuadrada de tipo palanca. En dicho ejemplo se han realizado simulaciones por elementos finitos de una placa con dicha forma y la adsorción de cuatro partículas con formas diferentes, es decir, un disco, un cuadrado, un cubo y una barra con tres orientaciones diferentes (véase la figura 2, en la que se representan las diferentes situaciones). Todas las partículas tienen una densidad de 1000 kg/m^3 , un módulo de Young de 5 GPa , coeficiente de Poisson de 0,25 y un volumen de $0,025 \mu\text{m}^3$. La placa de tipo palanca usada está hecha de silicio con un lado que mide $50 \mu\text{m}$ y un espesor de 200 nm . Debido a la similitud de las cuatro partículas, la identificación presenta una alta complejidad, por lo que para los cálculos se usan los primeros doce modos fuera de plano (véase la representación de dichos modos en la figura 3). Para otros casos en los que las partículas a identificar no son tan similares, el número de modos necesarios para tener predicciones precisas sería, en principio, menor. A su vez, para la placa de tipo palanca cuadrada se elige el eje x perpendicular al borde fijo de la misma, con origen en el borde anclado y a través del eje central de la placa. Como se menciona, la figura 3 muestra los primeros doce modos fuera de plano de la placa, calculados por simulaciones de elementos finitos para un material con un coeficiente de Poisson de 0,28.

Para este tipo de modos de vibración, el único desplazamiento relevante es $\hat{w}(x_0, y_0)$ y las deformaciones en la posición de adsorción son proporcionales a las curvaturas de la placa:

$$\varepsilon_{xx}(x_0, y_0) = -\frac{h}{2} \frac{\partial^2 \hat{w}(x_0, y_0)}{\partial x^2}, \quad \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) = -\frac{h}{2} \frac{\partial^2 \hat{w}(x_0, y_0)}{\partial y^2}, \quad \varepsilon_{xy}(x_0, y_0) = -\frac{h}{2} \frac{\partial^2 \hat{w}(x_0, y_0)}{\partial x \partial y}, \quad (\text{Ec. 14})$$

en la que h es el espesor de la placa. Para todas las partículas propuestas, los coeficientes γ_{xxx} y γ_{yyy} son cero y por lo tanto solo tendrán cuatro parámetros de rigidez. Para mayor comodidad, se definen los parámetros γ de modo que el cambio de frecuencia relativa debido a la rigidez, cuando la orientación es cero, se define por la expresión:

$$\left(\frac{\Delta f_n}{f_{n0}}\right)_0 = \frac{K}{\Lambda_n} \left[\gamma_x \left(\frac{\partial^2 \psi_n(x_0, y_0)}{\partial x^2} \right) + \gamma_y \left(\frac{\partial^2 \psi_n(x_0, y_0)}{\partial y^2} \right) + \gamma_{xy} \left(\frac{\partial^2 \psi_n(x_0, y_0)}{\partial x \partial y} \right) + \gamma_{xyxy} \frac{\partial^2 \psi_n(x_0, y_0)}{\partial x^2} \frac{\partial^2 \psi_n(x_0, y_0)}{\partial y^2} \right] \quad (\text{Ec. 15})$$

en la que $K = \frac{E_{av} (1-\nu_p^2)}{2E_p V_p}$ y Λ_n es un número dependiente del modo que proviene de la integración en la ecuación 5.

Antes de las simulaciones de prueba, los cuatro coeficientes de rigidez $K\gamma_x$, $K\gamma_y$, $K\gamma_{xy}$ y $K\gamma_{xyxy}$ se han calculado mediante simulaciones de elementos finitos (FEM) para las cuatro partículas, para completar la base de datos representada en la tabla 1 a continuación:

Partícula	$M_a/2M_c(\text{ppm})$	$K\gamma_x(\text{ppm})$	$K\gamma_y(\text{ppm})$	$K\gamma_{xy}(\text{ppm})$	$K\gamma_{xyxy}(\text{ppm})$
Disco	10,7342	2,6144	2,6144	4,4922	0,7367
Cuadrado	10,7342	2,6509	2,6509	4,3671	0,7182
Cubo	10,7342	0,6339	0,6339	1,5262	0,0778
Barra	10,7342	3,0169	0,5112	2,0858	0,1317

Tabla 1. Parámetros de la base de datos obtenidos por FEM para las cuatro partículas usadas para la prueba de identificación.

La prueba de identificación consiste por lo tanto en calcular el cambio de frecuencia relativa de los doce modos de vibración debido a la adsorción de cada una de las partículas por medio de simulaciones de elementos finitos. Los valores obtenidos se usan para calcular todos los parámetros aplicando el problema inverso. A continuación, usando la base de datos mostrada en la tabla 1, se aplica el algoritmo de identificación descrito anteriormente para identificar la partícula correspondiente. Este procedimiento se aplica para las seis configuraciones de partículas diferentes y variando la posición de adsorción en toda la superficie de la placa.

El éxito de la identificación aplicando el procedimiento de la invención se representa en la figura 4. El porcentaje de éxito de identificación es de un 60,5 %, 98,4 %, 96,3 %, 99,5 %, 98,7 % y 99,3 % para el disco, cuadrado, cubo, barra a 0 grados, barra a 45 grados y barra a 90 grados, respectivamente. Excepto en el caso del disco, el pequeño porcentaje que falta en el resto de los casos corresponde a los puntos de adsorción donde la resolución de rigidez es pobre, principalmente las esquinas y los bordes de la placa. Si la masa de las partículas no es la misma, los puntos cercanos a las esquinas y bordes libres también tendrían una identificación altamente exitosa. Las dos esquinas en el extremo asegurado de la placa son bastante críticas porque en estos puntos, solo el componente x de rigidez es lo suficientemente grande para medirse con precisión y, en este caso, con un grupo similar de partículas, no se puede realizar la identificación con un solo parámetro. En el caso del disco, el porcentaje de éxito es menor que en el resto de partículas. Esto se debe a la extrema similitud entre el disco y el cuadrado, como se puede observar en la tabla 1. Casi todos los puntos perdidos para el disco se deben a la identificación incorrecta de un cuadrado (38,8 %). El hecho de que los coeficientes de rigidez del cuadrado no sean completamente axisimétricos (tienen una pequeña dependencia del ángulo de orientación) da lugar a una pequeña variación con el ángulo de orientación, y el disco se puede confundir fácilmente con un cuadrado con una orientación de 45 grados.

En conclusión, la presente invención propone una técnica novedosa para la identificación y clasificación de partículas con una precisión extremadamente alta basada en los cambios de frecuencia relativa experimentados por las vibraciones de las placas cuando estas partículas se adsorben en su superficie. Debido a las características especiales que tienen estas estructuras resonantes, es posible distinguir partículas con la misma masa y módulo de Young, pero con una forma diferente, lo que no es posible con los procedimientos conocidos en este campo. Por lo tanto, la invención constituye un importante avance para el campo de la espectrometría nanomecánica, que puede tener aplicaciones relevantes tales como la identificación y clasificación de virus, bacterias o material particulado, mejorando considerablemente la capacidad de distinción de los procedimientos del estado de la técnica.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para identificar un adsorbato de masa M_a depositado sobre una placa resonante de masa M_p , en el que dicha placa puede vibrar con diferentes modos de vibración, y en el que, para dichos modos, la frecuencia de resonancia correspondiente f_0 se desplaza una determinada cantidad Δf tras depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma;

comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:

- medir el cambio de frecuencia de una pluralidad de modos de vibración de la placa resonante;
- calcular una primera estimación de la posición de adsorción (x_0, y_0) a partir de la medición del cambio de frecuencia de los modos de vibración de la placa resonante, con conocimiento previo de la masa de la placa M_p , despreciándose el efecto de la rigidez del adsorbato, de modo que se minimice la siguiente función:

$$F_0 = \sum_{m \in M} \left(\frac{\delta f_m}{\sqrt{\sum_{k \in M} \delta f_k^2}} + \frac{d_m^2}{\sqrt{\sum_{k \in M} d_k^4}} \right)^2,$$

donde M es el conjunto de dichos modos con un cambio negativo de frecuencia, δf_m es el desplazamiento de la frecuencia relativa del modo m -ésimo medido experimentalmente, y donde:

$d_m^2 = \hat{u}_m(x_0, y_0)^2 + \hat{v}_m(x_0, y_0)^2 + \hat{w}_m(x_0, y_0)^2$ es el cuadrado del desplazamiento total de la placa resonante en el modo m -ésimo;

- calcular una primera estimación de la masa de adsorbato M_a a partir de la medición del cambio de frecuencia de los modos de vibración de la placa resonante y de la primera estimación de la posición de adsorción, por medio de la siguiente ecuación:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \frac{M_a}{M_p} (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2);$$

donde $\hat{u}$ y $\hat{v}$ son desplazamientos adimensionales a lo largo de un sistema de ejes en el plano de la placa resonante, y $\hat{w}$ es el desplazamiento adimensional a lo largo de un eje perpendicular al plano de la placa resonante;

- calcular la posición de adsorción, la masa de adsorbato M_a y una pluralidad de coeficientes de rigidez γ' dependiente de las propiedades mecánicas y la geometría del adsorbato y de la geometría de la placa minimizando la siguiente función:

$$F_1 = \sum_{n=1}^N \left(\frac{\delta f_n}{\sqrt{\sum_{k=1}^N \delta f_k^2}} - \frac{\sum_{i=1}^7 \Phi_n^i \Delta^i}{\sqrt{\sum_{k=1}^N (\sum_{i=1}^7 \Phi_k^i \Delta^i)^2}} \right)^2$$

usando las primeras estimaciones de la posición de adsorción y la masa del adsorbato como punto de partida, y en la que:

$$\Phi_n = \left[-d_n^2, \frac{\epsilon_{xxn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\epsilon_{yyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\epsilon_{xyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\epsilon_{xxn}\epsilon_{yyn}}{2U_{pn}}, \frac{\epsilon_{xxn}\epsilon_{xyn}}{2U_{pn}}, \frac{\epsilon_{yyn}\epsilon_{xyn}}{2U_{pn}} \right],$$

$$\Delta = \left[1, \frac{2M_p \gamma_x'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_y'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{xy}'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{xxyy}'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{xxyx}'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{yyxy}'}{M_a} \right],$$

$$d_n^2 = \hat{u}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{v}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{w}_n(x_0, y_0)^2,$$

U_{pn} es la energía de deformación de la placa resonante, dada por:

$U_{pn} = \frac{1}{2} \frac{E_p}{(1-\nu_p^2)} \int_{V_p} \left((\epsilon_{xxn} + \epsilon_{yyn})^2 - 2(1-\nu_p)(\epsilon_{xx}\epsilon_{yy} - \epsilon_{xy}^2) \right) dV$, en la que E y ν son el módulo de Young y el coeficiente de Poisson de un material perfectamente isótropo;

ϵ_{xx} , ϵ_{yy} , y ϵ_{xy} son componentes de deformación en el plano de la placa resonante en la posición de adsorción (x_0, y_0) ; y

donde γ_x' , γ_y' , γ_{xy}' , γ_{xxyy}' , γ_{xxyx}' y γ_{yyxy}' se refieren a una pluralidad de coeficientes de rigidez $\{\gamma_x, \gamma_y, \gamma_{xy}, \gamma_{xxyy}, \gamma_{xxyx}, \gamma_{yyxy}\}$ definidos en un sistema de referencia fijado para el adsorbato como sigue:

$$\begin{aligned}
 \gamma_x' &= \gamma_x \cos^4 \theta + \gamma_y \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \gamma_{xxy} \cos^3 \theta \sin \theta - \gamma_{yyxy} \sin^3 \theta \cos \theta \\
 \gamma_y' &= \gamma_y \cos^4 \theta + \gamma_x \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta + \gamma_{xxy} \cos^3 \theta \sin \theta + \gamma_{yyxy} \sin^3 \theta \cos \theta \\
 \gamma_{xy}' &= (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 2\theta + (\gamma_x + \gamma_y) \sin^2 2\theta - \gamma_{xxy} + (\gamma_{xxy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\
 \gamma_{xxyy}' &= \frac{1}{2}(\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \sin^2 2\theta + \gamma_{xxyy} + \frac{1}{2}(\gamma_{xxy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\
 \gamma_{xxy}' &= (\gamma_x - \gamma_y + (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2}((\gamma_{xxy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta + (\gamma_{xxy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta) \\
 \gamma_{yyx}' &= (\gamma_x - \gamma_y - (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2}((\gamma_{xxy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta - (\gamma_{xxy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta)
 \end{aligned}$$

donde θ es el ángulo entre el sistema de referencia de la placa resonante y el sistema de referencia fijado para el adsorbato, y $\{\gamma_x, \gamma_y, \gamma_{xy}, \gamma_{xxyy}, \gamma_{xxy}, \gamma_{yyxy}\}$ son dependientes de las propiedades mecánicas y la geometría del adsorbato y de la geometría de la placa;

- comparar los valores de la masa de adsorbato M_a y de los coeficientes γ' calculados en la etapa anterior con un conjunto de valores de referencia $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$ que se calculan a partir de la transformación al sistema de referencia de la placa resonante de valores previamente almacenados correspondientes a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa con una orientación dada en un plano de referencia (x', y') con respecto al sistema de referencia fijado para el adsorbato;

- identificar el adsorbato depositado sobre la placa resonante como el adsorbato perteneciente al catálogo, cuyos valores M_a y γ' son los más similares a los valores de referencia $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$.

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación precedente, en el que los modos de vibración resonante comprenden modos de vibración fuera de plano y/o dentro de plano.

3. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la comparación de los valores de la masa candidata del adsorbato M_a y de los coeficientes γ' con el conjunto de valores de referencia previamente almacenados $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$ se calcula por medio del estimador de similitud $I(\theta)$:

$$I(\theta) = \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^1) (M_a^D - M_a)^2 + \sum_{i=2}^7 \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^i) \left((\gamma_i)^D - \frac{M_a}{2M_p} \Delta^i \right)^2,$$

donde el superíndice D se refiere a los valores del catálogo de adsorbatos, y donde el valor θ que minimiza $I(\theta)$ es el valor más probable de la orientación del adsorbato.

4. El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los adsorbatos son partículas inorgánicas, virus, bacterias, proteínas y/o células.

5. Un sistema para identificar un adsorbato de masa M_a depositado en una placa resonante de masa M_p , en el que dicha placa puede vibrar con una pluralidad de modos de vibración y en el que, para cada uno de dichos modos, la frecuencia de resonancia correspondiente f_0 se desplaza una cantidad Δf en base a un desplazamiento adimensional $(\hat{u}, \hat{v}, \hat{w})$ de la placa resonante en el modo de vibración correspondiente tras depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma, en el que dicho sistema comprende:

- una o más placas resonantes;

- medios de deposición para depositar uno o más adsorbatos sobre las placas resonantes;

- medios de medición para medir el desplazamiento de la frecuencia de resonancia cuando el adsorbato se deposita sobre una de las placas para una pluralidad de modos de vibración de las mismas; y

- medios de *software* y *hardware* para registrar y procesar datos, configurados para leer los datos generados por los medios de medición y para almacenar un conjunto de valores de referencia $\{M_a, \gamma'\}$, correspondiente a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa resonante con una orientación dada en un plano de referencia (x', y') con respecto a un sistema de referencia fijado para el adsorbato, estando configurados los medios de *software* y *hardware* además para realizar un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

6. El sistema de acuerdo con la reivindicación precedente, en el que dicho sistema comprende un espectrómetro de masas.

7. El sistema de acuerdo con la reivindicación precedente, en el que los medios de deposición para depositar uno o más adsorbatos sobre las placas resonantes comprenden una o más cámaras de vacío y un sistema de ionización y/o electrospray adecuado para pulverizar adsorbatos sobre las placas resonantes.

8. El sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-6, en el que los medios de medición para medir el desplazamiento de la frecuencia de resonancia comprenden materiales piezoeléctricos para realizar el barrido de frecuencia y/o uno o más lazos de seguimiento de fase; y uno o más láseres enfocados sobre las placas resonantes y configurados para emitir un haz sobre las mismas.

5

9. El sistema de acuerdo con la reivindicación precedente, que comprende además un fotodetector adecuado para recibir el haz láser reflejado por las placas resonantes.

10. El sistema de acuerdo con la reivindicación precedente, que comprende un amplificador conectado al fotodetector y adecuado para amplificar posteriormente la señal para su lectura.

10

11. Un programa informático que comprende instrucciones que, cuando se ejecutan en un ordenador, hacen que el ordenador realice un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, implementado a través de un sistema de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5-10.

DIBUJOS

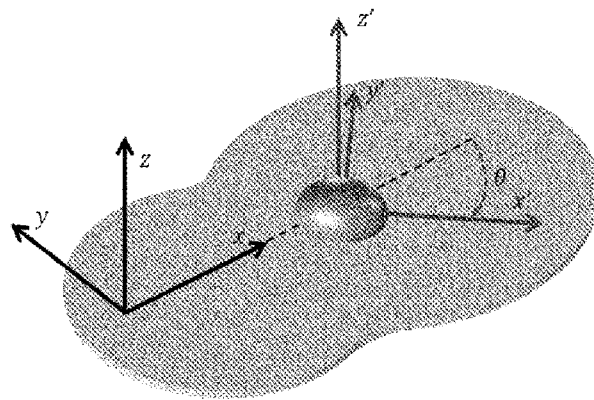


FIG. 1

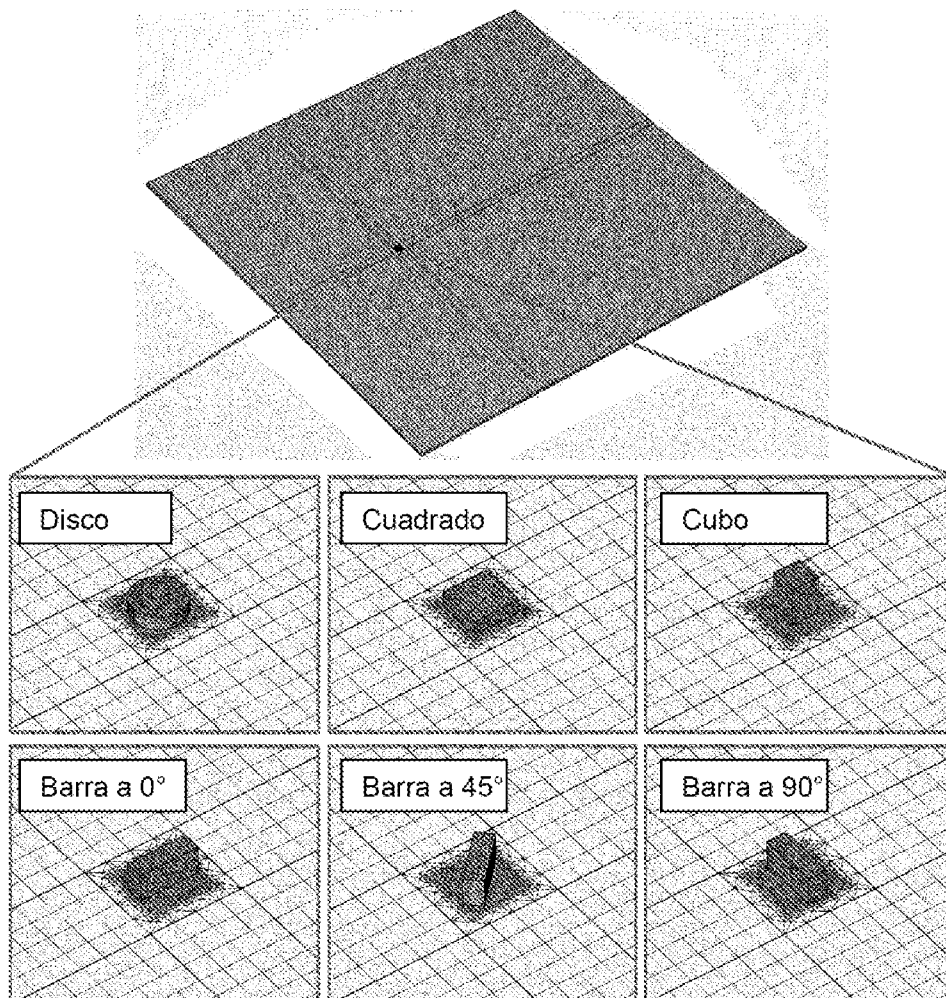


FIG. 2

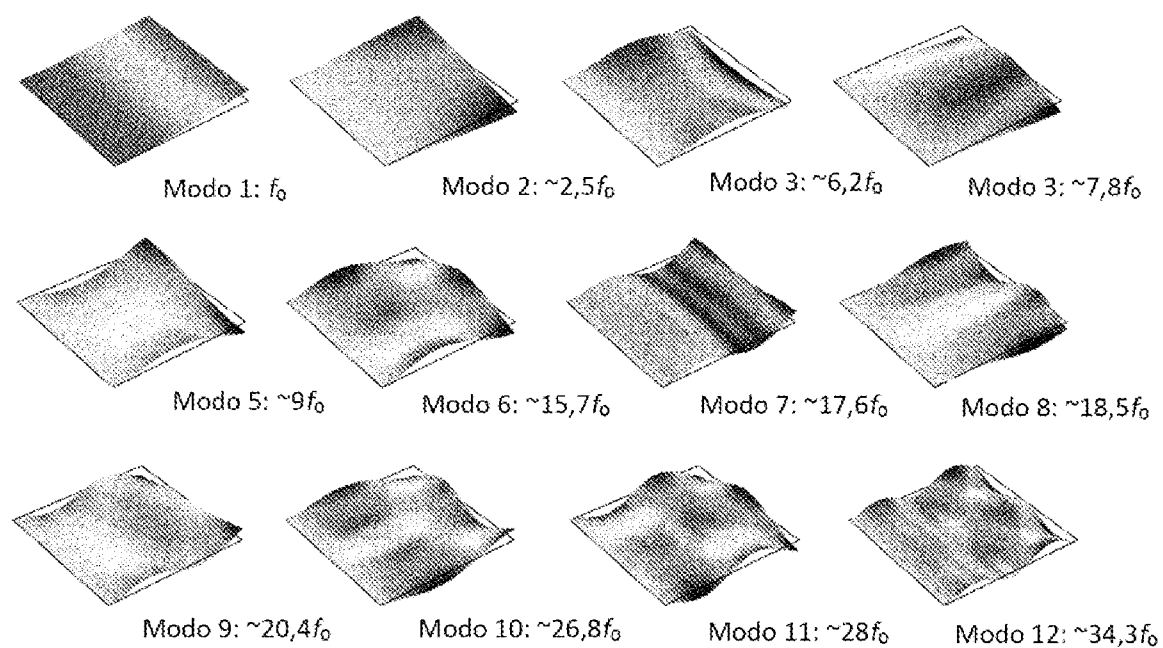


FIG. 3

		Part. real Part. calc.					
		Disco	Cuadrado	Cubo	Barra 0°	Barra 45°	Barra 90°
Disco	Disco						
	Cuadrado						
	Cubo						
	Barra						

FIG. 4