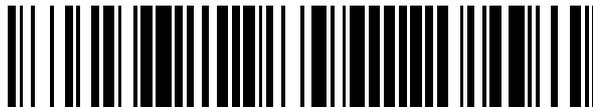


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 369 847**

51 Int. Cl.:
G01N 21/35 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03028276 .8**
96 Fecha de presentación: **12.01.1998**
97 Número de publicación de la solicitud: **1411344**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.04.2004**

54 Título: **MÉTODO Y APARATO DE MEDIDA DE ISÓTOPOS ESTABLES POR ESPECTROSCOPIA.**

30 Prioridad:
14.01.1997 JP 484497
14.01.1997 JP 484597

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.12.2011

73 Titular/es:
**OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD.
9, KANDATSUKASA-CHO 2-CHOME CHIYODA-KU
TOKYO 101-8535, JP**

72 Inventor/es:
**Mori, Masaaki;
Kubo, Yasuhiro y
Tsutsui, Kazunori**

74 Agente: **de Elizaburu Márquez, Alberto**

ES 2 369 847 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método y aparato de medida de isótopos estables por espectroscopía.

Campo técnico de la invención

5 Los análisis isotópicos son útiles para el diagnóstico de una enfermedad en una aplicación médica, en la que se pueden determinar las funciones metabólicas de un cuerpo vivo midiendo un cambio en la concentración o en la relación de concentraciones de un isótopo después de la administración de un fármaco que contiene el isótopo. En los otros campos, los análisis isotópicos se usan para estudios de la fotosíntesis y metabolismo de plantas, y para el seguimiento ecológico en una aplicación geoquímica.

10 La presente invención se refiere a métodos y aparato de medida de isótopos estables para medir espectroscópicamente la concentración o la relación de concentraciones de un gas isotópico en base a las características de absorción de la luz del isótopo.

Antecedentes de la técnica

Se sabe generalmente que la úlcera gástrica y la gastritis son causadas por una bacteria denominada helicobacter pylori (HP) así como por el estrés.

15 Si la HP está presente en el estómago de un paciente, se debe administrar un antibiótico o similares al paciente para el tratamiento de eliminación de la bacteria. Por lo tanto, es indispensable comprobar si el paciente tiene HP. La HP tiene una fuerte actividad de ureasa para descomponer la urea en dióxido de carbono y amoníaco.

El carbono tiene isótopos que tienen números de masa 12, 13 y 14, entre los cuales el ^{13}C que tiene un número de masa de 13 es fácil de manejar debido a su no radiactividad y estabilidad.

20 Si la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ como producto metabólico final o la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ a $^{12}\text{CO}_2$ en el aliento de un paciente se mide satisfactoriamente después de que la urea marcada con el isótopo ^{13}C se administra al paciente, se puede confirmar la presencia de la HP.

Sin embargo, la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ a $^{12}\text{CO}_2$ en el dióxido de carbono natural es 1:100. Por lo tanto, es difícil determinar la relación de concentraciones en el aliento del paciente con alta precisión.

25 Se han conocido métodos para determinar la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ a $^{12}\text{CO}_2$ por medio de espectroscopía de infrarrojos (véanse las publicaciones de patente japonesa examinadas No. 61-42219 (1986) y No. 61-42220 (1986)).

30 En el método descrito en la publicación de patente japonesa examinada No. 61-42220, se proporcionan dos celdas que tienen respectivamente un camino largo y un camino corto, cuyas longitudes de camino se ajustan de tal modo que la absorción de luz por el $^{13}\text{CO}_2$ en una celda es igual a la absorción de luz por el $^{12}\text{CO}_2$ en la otra celda. Los haces de luz transmitidos a través de las dos celdas se conducen a los detectores, en los que se miden las intensidades luminosas a longitudes de onda que aseguran la máxima sensibilidad. Según este método, la relación de absorción de luz para la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ a $^{12}\text{CO}_2$ en dióxido de carbono natural se puede ajustar a 1. Si se cambia la relación de concentraciones, también cambia la relación de absorción de luz en la cantidad del cambio en la relación de concentraciones. De este modo, el cambio en la relación de concentraciones se puede determinar midiendo el cambio en la relación de absorción de luz.

35 El documento EP-A-0 584 897 describe un método para analizar espectrométricamente un gas isotópico. Este documento enseña la medida de una relación de concentraciones de dióxido de carbono (isótopos $^{12}\text{CO}_2$ / $^{13}\text{CO}_2$) midiendo las luces, cada una de las cuales van a través de cada recipiente relleno con un gas que se va a analizar, el volumen de cada recipiente es diferente. La dependencia de la medida de la concentración $^{13}\text{CO}_2$ / $^{12}\text{CO}_2$ de la concentración de $^{12}\text{CO}_2$ se reduce usando un filtrado óptico adicional por medio de un gas de medida de isótopo puro.

40 El documento US-A- 5 146 294 describe un procedimiento para medir la relación isotópica ($^{12}\text{CO}_2$, $^{13}\text{CO}_2$) alimentando un gas de medida que contiene el gas que se va a examinar, y un gas de referencia alternativamente a una celda de medida. El gas de muestra se diluye por medio de un gas metrológicamente neutro añadido al gas que se va a examinar, generando por ello un gas de medida mezclando estos dos gases. La relación de mezcla del gas de medida se varía cambiando la parte del gas inerte añadido de tal modo que el contenido determinado de la sustancia de un isótopo en el gas de referencia y en el gas de medida es esencialmente el mismo.

Descripción de la invención

50 Sin embargo, el método para determinar la relación de concentraciones según la bibliografía anteriormente mencionada tiene el siguiente inconveniente.

Se deben preparar curvas de calibración para determinar las concentraciones de $^{12}\text{CO}_2$ y $^{13}\text{CO}_2$ usando muestras gaseosas que cada una tiene una concentración conocida de $^{12}\text{CO}_2$ y muestras gaseosas que cada una tiene una concentración de $^{13}\text{CO}_2$ conocida.

5 Para preparar la curva de calibración para la concentración de $^{12}\text{CO}_2$, se miden las absorbancias de $^{12}\text{CO}_2$ para diferentes concentraciones de $^{12}\text{CO}_2$. Las concentraciones de $^{12}\text{CO}_2$ y las absorbancias de $^{12}\text{CO}_2$ se representan como abscisa y ordenada, respectivamente, y se determina la curva de calibración por el método de mínimos cuadrados.

La curva de calibración para la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ se prepara de la misma manera que se describe anteriormente.

10 La concentración de $^{13}\text{CO}_2$ o la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ (que se entiende aquí como concentración de $^{13}\text{CO}_2$ /concentración de $^{12}\text{CO}_2$) en el aliento como muestra gaseosa de ensayo se determina típicamente por medio de espectroscopía de infrarrojos. En este caso, dado que un gas de muestra de ensayo, o aliento es exhalado por un cuerpo vivo como resultado del metabolismo, el aliento contiene vapor de agua en una concentración próxima a la saturación.

15 En la espectroscopía de infrarrojos, la absorción de radiación infrarroja con una particular longitud de onda por una muestra gaseosa de ensayo se utiliza para la determinación de la absorbancia de la muestra gaseosa de ensayo.

20 La Fig. 5 es un gráfico obtenido representando los valores medidos de los cambios de la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a las humedades de las muestras gaseosas de ensayo que tienen diferentes humedades que varían de 0% a 100% en la que la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a una muestra gaseosa de 0% de humedad se usa como muestra gaseosa de referencia.

Como se puede ver en el gráfico, los valores medidos de la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ no son iguales, sino que varían dependiendo de la humedad.

25 Por lo tanto, si la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ o la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ de una muestra gaseosa de ensayo que contiene humedad se mide ignorando este hecho, el valor medido es aparentemente mayor que el verdadero valor.

30 En el análisis espectrométrico de infrarrojos, la concentración de $^{12}\text{CO}_2$ en una muestra de aliento obtenida antes de la administración del fármaco se calcula a partir de la absorbancia del $^{12}\text{CO}_2$ medida en base a la curva de calibración de $^{12}\text{CO}_2$, mientras que la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ en la muestra de aliento se calcula a partir de la absorbancia del $^{13}\text{CO}_2$ medida en base a la curva de calibración del $^{13}\text{CO}_2$. Las concentraciones de $^{12}\text{CO}_2$ y $^{13}\text{CO}_2$ en la muestra de aliento obtenida después de la administración del fármaco se determinan de la misma manera.

Si las concentraciones de CO_2 en las dos muestras de aliento son sustancialmente iguales, es posible usar intervalos más estrechos de la curva de calibración de $^{12}\text{CO}_2$ y de la curva de calibración de $^{13}\text{CO}_2$. De este modo, se puede mejorar la precisión de la medida usando intervalos limitados de las curvas de calibración.

35 Para la igualación de las concentraciones de CO_2 en las dos muestras de aliento, se debe diluir una de las muestras de aliento. Se usa típicamente como gas para dilución (denominado de aquí en adelante "gas diluyente") nitrógeno gaseoso que no exhibe absorción en la región de infrarrojos del espectro de radiación (se usa nitrógeno gaseoso como gas diluyente en la realización de la invención descrita en la publicación de patente japonesa sin examinar No. 8-58052 (1996) que fue presentada previamente a la presente invención).

40 En este método de dilución, sin embargo, la muestra de aliento diluida tiene una relación diferente de gases componentes a la muestra de aliento sin diluir, porque el gas diluyente solo contiene nitrógeno pero la muestra de aliento contiene oxígeno, humedad, etc., así como nitrógeno.

Como resultado, la diferencia en la relación de gas componente influye en la determinación de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ y en las relaciones de concentración entre $^{12}\text{CO}_2$ y $^{13}\text{CO}_2$, de modo que los valores medidos pueden ser erróneos.

45 Es, por lo tanto, otro objetivo de la presente invención proporcionar un método para analizar espectrométricamente un gas isotópico, en el que una muestra de aliento como muestra gaseosa de ensayo que contiene una pluralidad de gases componentes se introduce en una celda y se miden con precisión las concentraciones de los gases componentes por medio de espectrometría diluyendo la muestra gaseosa de ensayo de tal manera que la composición del gas componente en la muestra gaseosa de ensayo no cambia.

50 Para conseguir este objetivo, se proporciona un método de medida de isótopos estables para analizar espectrométricamente un gas isotópico, en el que se analizan dos muestras gaseosas de ensayo de un solo sujeto y, si la concentración de CO_2 de una de las muestras gaseosas de ensayo es más alta que la concentración de CO_2 de la otra muestra gaseosa de ensayo, esa muestra gaseosa de ensayo se diluye con aire (aire atmosférico) hasta un nivel de concentración de CO_2 que es equivalente al de la otra muestra gaseosa de ensayo para la medida de las

relaciones de concentraciones $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en las respectivas muestras gaseosas de ensayo (reivindicación 1).

En este método, las dos muestras de aliento se analizan con la condición de que las muestras de aliento tienen el mismo nivel de concentración de CO_2 . Esto hace posible usar intervalos reducidos de las curvas de calibración. Además, la composición del gas componente en la muestra de aliento no cambia con la dilución porque se usa aire como gas diluyente. Como resultado, se puede mejorar la precisión de medida.

Los métodos según las presentes reivindicaciones 2 y 3 proporcionan cada uno un procedimiento más específico para el método para analizar espectrométricamente el gas isotópico según la reivindicación 1 y cada uno está basado en la precondition de que se introduce una primera muestra gaseosa de ensayo en una sola celda para la medida de la intensidad de la luz transmitida a través de ella y, después de que se descarga de la celda la primera muestra gaseosa de ensayo, se introduce una segunda muestra gaseosa de ensayo en la celda para la medida de la intensidad de la luz transmitida a través de ella.

Como se describe anteriormente, las concentraciones de CO_2 en las dos muestras gaseosas de ensayo se pueden igualar diluyendo cualquiera de las dos muestras gaseosas de ensayo para no cambiar la composición del gas componente de la muestra de aliento. Esto hace posible usar intervalos limitados de las curvas de calibración de $^{12}\text{CO}_2$ y $^{13}\text{CO}_2$. La precisión de las curvas de calibración se incrementa a medida que se estrechan los intervalos de las curvas de calibración que se van a usar. Por lo tanto, la precisión de la medida se puede mejorar limitando los intervalos de las curvas de calibración que se van a usar.

Descripción de los dibujos

La Fig.1 es un diagrama de bloques que ilustra la construcción general de un aparato para analizar espectrométricamente un gas isotópico.

Las Figs. 2A a 2D son diagramas que ilustran los caminos del flujo de gas en el aparato para analizar espectrométricamente el gas isotópico. Particularmente las Figs. 2A y 2C son diagramas que ilustran los caminos del flujo del gas que se van a emplear cuando se limpia una celda haciendo pasar a través de ella un gas de referencia limpio. La Fig. 2B es un diagrama que ilustra el camino del flujo del gas que se va a emplear cuando se aspira un gas base a un inyector 21 de gas de una bolsa de muestra de aliento y a continuación se expulsa mecánicamente dentro el camino del flujo de gas con un caudal constante. La Fig. 2D es un diagrama que ilustra un camino del flujo de gas que se va a emplear cuando se aspira gas de la muestra al inyector 21 desde una bolsa de muestreo de aliento y a continuación se expulsa mecánicamente dentro del camino del flujo de gas con un caudal constante.

Las Figs. 3A a 3E son diagramas que ilustran caminos de flujo de gas en el aparato para analizar espectrométricamente el gas isotópico. Particularmente, las Figs. 3A y 3D son diagramas que ilustran los caminos de flujo de gas que se van a emplear cuando se limpia una celda haciendo pasar a través de ella un gas de referencia limpio. La Fig. 3B-1 es un diagrama que ilustra un camino del flujo de gas que se va a emplear cuando se aspira una cantidad predeterminada del gas de referencia al inyector 21 de gas. La Fig. 3B-2 es un diagrama que ilustra un camino del flujo de gas que se va a emplear cuando se aspira una cantidad predeterminada de aire al inyector 21 de gas con una válvula de 3 pasos V4 abierta al aire atmosférico. La Fig. 3C es un diagrama que ilustra un camino del flujo de gas que se va a emplear cuando se aspira un gas base al inyector 21 de gas desde una bolsa de muestreo de aliento y a continuación se expulsa mecánicamente al camino del flujo de gas con un caudal constante. La Fig. 3E es un diagrama que ilustra un camino del flujo de gas que se va a emplear cuando se aspira una muestra de gas al inyector 21 de gas desde una bolsa de muestreo de aliento y se inyecta mecánicamente al camino del flujo de gas con un caudal constante.

La Fig. 4 es un gráfico preparado de tal manera que se prepararon gases de muestra que tienen diferentes humedades y un gas base que tiene una humedad de 0% mezclando un gas de CO_2 que tiene una concentración de $^{13}\text{CO}_2$ predeterminada y que no contiene humedad y un gas de CO_2 que tiene la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ predeterminada y contiene humedad, y diferencias ΔV entre un valor de salida para la humedad del gas base y valores de salida para las humedades de los gases de muestra detectadas por un sensor 19 de humedad y las diferencias entre la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ en el gas base y las relaciones de concentraciones en los gases de muestra determinadas en base a la curva de calibración se representaron como abscisa y ordenada, respectivamente.

La Fig.5 es un gráfico que ilustra una relación entre la humedad y la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ para el gas de muestra que tiene diferentes humedades.

Descripción de como llevar a cabo la invención

Con referencia a los dibujos adjuntos, se describirán aquí a continuación realizaciones de la presente invención que están adaptadas para un caso en el que la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ en una muestra de aliento se determina espectroscópicamente después de la administración de un fármaco de diagnóstico de urea marcado con un isótopo de ^{13}C .

I. Ensayo de muestreo de aliento

5 Antes de que se administre a un paciente el fármaco de diagnóstico de urea, se recoge aliento del paciente en una bolsa de muestreo de aliento. El volumen de la bolsa de muestreo de aliento es de alrededor de 250 ml. A continuación, se administra oralmente el fármaco de diagnóstico de urea al paciente, y después de un intervalo de 10 a 15 minutos, se recoge aliento del paciente en otra bolsa de muestreo de aliento de la misma manera que el muestreo de aliento previo.

Las bolsas de muestreo de aliento obtenidas antes y después de la administración de fármaco se unen respectivamente a boquillas predeterminadas de un aparato para analizar espectrométricamente un gas isotópico, y se realiza el siguiente control automático.

10 II. Aparato para analizar espectrométricamente gas isotópico

La Fig.1 es un diagrama de bloques que ilustra la construcción general del aparato para analizar espectrométricamente el gas isotópico.

15 La bolsa de muestreo de aliento que contiene la muestra de aliento recogida después de la administración del fármaco (denominada de aquí en adelante "gas de muestra") y la bolsa de muestreo de aliento que contiene la muestra de aliento recogida antes de la administración del fármaco (denominada de aquí en adelante "gas base") se unen respectivamente a las boquillas predeterminadas del aparato. La bolsa de muestreo de aliento que contiene el gas base está conectada a una válvula V3 a través de una conducción de metal o resina (denominada de aquí en adelante simplemente "conducción"), mientras que la bolsa de muestreo de aliento que contiene la muestra de gas está conectada a una válvula V2 a través de una conducción.

20 Un gas de referencia (cualquier gas que no exhibe absorción a la longitud de onda de medida, por ejemplo, nitrógeno gaseoso) se suministra de un depósito al aparato. El gas de referencia fluye a través de una válvula 31 de escape a presión, una válvula V0, un regulador 32 y un medidor de flujo 33, y se separa hacia una celda 11c de referencia a través de una válvula 35 de aguja y hacia una primera celda 11a de muestra para medir la absorbancia del $^{12}\text{CO}_2$ a través de una válvula V1 y una válvula 36 de retención.

25 Un inyector 21 de gas (volumen: 70 cm^3) para inyectar cuantitativamente el gas de muestra o el gas base se conecta a un camino del flujo entre la válvula V1 y la primera celda 11a de muestra vía una válvula V4 de tres vías. El inyector 21 de gas es un dispositivo de tipo jeringa que tienen un pistón y un cilindro. El pistón se mueve por la cooperación de un motor M1, un tornillo de alimentación conectado al motor M1 y una tuerca fijada al pistón.

30 Como se muestra en la Fig. 1, una cámara 11 de celda tiene la primera celda 11a de muestra que tiene una longitud más corta para medir la absorbancia del $^{12}\text{CO}_2$, una segunda celda 11b que tiene una longitud más larga para medir la absorbancia del $^{13}\text{CO}_2$, y la celda 11c de referencia a través de la que se pasa el gas de referencia. La primera celda 11a de muestra comunica con la segunda celda 11b de muestra. Se introduce gas en la primera celda 11a de muestra y a continuación en la segunda celda 11 b de muestra, y se descarga de ella. El gas de referencia se introduce en la celda 11c de referencia. A continuación, una porción del gas de referencia fluye dentro de una caja 10 que contiene la cámara 11 de celda y se descarga de ella, y la otra porción del gas de referencia fluye a un dispositivo L de fuente de radiación infrarroja y se descarga de él. Específicamente, la primera y segunda celda de muestra 11a y 11b tienen longitudes de 13 mm y 250 mm, respectivamente, y la celda 11c de referencia tiene una longitud de 236 mm.

35 Una conducción de descarga que se extiende desde la segunda celda 11b de muestra está provista de un sensor 18 de O_2 y un sensor 19 de humedad. Usables como sensor 18 de O_2 son los sensores de oxígeno comercialmente disponibles, por ejemplo, un sensor de gas de electrolito sólido tal como un sensor de circonia y un sensor de gas electroquímico tal como un sensor de celda galvánica. Usables como sensor 19 de humedad son los sensores comercialmente disponibles tales como los que utilizan una resistencia cerámica porosa y una resistencia polimérica.

40 El dispositivo L de fuente de radiación de infrarrojos tiene dos guías de onda 23a y 23b para guiar un haz infrarrojo. La generación de la radiación infrarroja se puede conseguir arbitrariamente, por ejemplo, se puede usar un calentador cerámico (temperatura superficial: 450°C) y similares. Se proporciona un obturador 22 rotatorio para bloquear y dejar pasar periódicamente los haces infrarrojos adyacente al dispositivo L de fuente de radiación infrarroja. Un camino óptico a lo largo del cual se transmite un haz infrarrojo emitido del dispositivo L de fuente de radiación infrarroja a través de la primera celda 11a de muestra y la celda 11c de referencia se denomina aquí "primer camino óptico", mientras que el camino óptico a lo largo del que se transmite un haz infrarrojo a través de la segunda celda 11b de muestra se denomina aquí "segundo camino óptico".

45 Un carácter D de referencia denota un detector del haz infrarrojo para detectar los haces infrarrojos transmitidos a través de las celdas. El detector D del haz infrarrojo tiene un primer filtro 24a de interferencia y un primer elemento 25a de detección dispuesto en el primer camino óptico, y un segundo filtro 24b de interferencia y un segundo elemento 25b de detección dispuesto en el segundo camino óptico.

55

5 El primer filtro 24 a de interferencia (anchura de banda: alrededor de 20 nm) transmite radiación infrarroja que tiene una interferencia de alrededor de 4.280 nm para la medida de la absorbancia del $^{12}\text{CO}_2$. El segundo filtro 24b de interferencia (anchura de banda: alrededor de 50 nm) transmite radiación infrarroja que tiene una interferencia de alrededor de 4.412 nm para la medida de la absorbancia del $^{13}\text{CO}_2$. Usables como primero y segundo elemento de detección 25a y 25b son cualquier elemento capaz de detectar radiación infrarroja, por ejemplo, un sensor de infrarrojos semiconductor tal como PbSe.

El primer filtro 24a de interferencia y el primer elemento 25a de detección están alojados en un envase 26a lleno de un gas inerte tal como Ar. Similarmente, el segundo filtro 24b de interferencia y el segundo elemento 25b de detección están alojados en un envase 26b lleno de un gas inerte.

10 Todo el detector D del haz infrarrojo se mantiene a una temperatura constante (25°C) por medio de un calentador y un elemento 27 Peltier. Los elementos de detección en los envases 26a y 26b se mantienen a 0°C por medio de un elemento Peltier.

La cámara 11 de la celda está formada de acero inoxidable, y emparedada vertical o lateralmente entre calentadores 13.

15 La cámara 11 de la celda tiene dos capas superpuestas. La primera celda 11a de muestra y la celda 11c de referencia están dispuestas en una capa, y la segunda celda 11b está dispuesta en la otra capa. El primer camino óptico se extiende a través de la primera celda 11a de muestra y la celda 11c de referencia que están dispuestas en serie, y el segundo camino óptico se extiende a través de la segunda celda 11b de muestra. Los caracteres de referencia 15, 16 y 17 denotan ventanas de transmisión de zafiro a través de las que se transmite la radiación infrarroja.

20 La cámara 11 de la celda se mantiene a temperatura constante (40°C) controlando los calentadores 13.

III. Procedimiento de medida.

25 En la medida, las concentraciones de CO_2 del gas base y del gas de muestra se ajustan a sustancialmente el mismo nivel. Para este propósito, las concentraciones de CO_2 del gas base y del gas de muestra se miden en una medida preliminar. Si la concentración de CO_2 medida preliminarmente del gas base es más alta que la concentración de CO_2 medida preliminarmente del gas de muestra, la concentración de CO_2 del gas base se mide después de que el gas base se diluye hasta un nivel de concentración de CO_2 equivalente al del gas de muestra, y a continuación se mide la concentración de CO_2 del gas de muestra en la medida principal.

30 Si, en la medida principal, la concentración de CO_2 medida preliminarmente del gas base es más baja que la concentración de CO_2 medida preliminarmente del gas de muestra, la concentración de CO_2 del gas base se mide tal como está, y la concentración de CO_2 del gas de muestra se mide después de que el gas de muestra se diluye hasta un nivel de concentración de CO_2 equivalente al del gas base.

35 El procedimiento de medida incluye la medida del gas de referencia, la medida del gas base preliminar, la medida del gas de referencia, la medida del gas de muestra preliminar, la medida del gas de referencia, la medida del gas base, la medida del gas de referencia, la medida del gas de muestra y la medida del gas de referencia: que se van a realizar en este orden.

III-1. Medida del gas base preliminar

40 El camino del flujo de gas y la cámara 11 de la celda en el aparato para analizar espectrométricamente el gas isotópico se limpian haciendo pasar a través de ellos el gas de referencia limpio, y se mide una intensidad de la luz de referencia.

45 Más específicamente, el gas de referencia se aspira dentro del inyector 21 de gas con la válvula V4 de tres vías abierta hacia el lado de la cámara 11 de la celda y con la válvula V1 abierta como se muestra en la Fig. 2 A, y continuación se expulsa mecánicamente dentro del camino del flujo del inyector 21 de gas con la válvula V1 cerrada para limpiar la primera celda 11a de muestra y la segunda celda 11b de muestra. El gas de referencia se hace pasar constantemente a través de la celda 11c de referencia.

50 A su vez, el gas base se aspira dentro del detector 21 desde la bolsa de muestreo de aliento con la válvula V3 abierta como se muestra en la Fig. 2B, y a continuación se expulsa mecánicamente dentro del camino del flujo del inyector 21 de gas con un caudal constante. En este momento, se mide la intensidad de la luz transmitida a través del gas base por medio de los elementos de detección 25a y 25b, y se determina la concentración de CO_2 del gas base a partir de su absorbancia en base a la curva de calibración.

III-2. Medida del gas de la muestra preliminar

El camino del flujo de gas y la cámara 11 de la celda en el aparato para analizar espectrométricamente el gas isotópico se limpian haciendo pasar a través de ellos el gas de referencia limpio, y se mide la intensidad de la luz de

referencia.

Más específicamente, el gas de referencia se aspira dentro del inyector 21 de gas con la válvula V1 abierta como se muestra en la Fig. 2C, y a continuación se expulsa mecánicamente dentro del camino del flujo del inyector 21 de gas con la válvula V1 cerrada para limpiar la primera celda 11a de muestra y la segunda celda 11b de muestra.

5 A su vez, el gas de muestra se aspira dentro del inyector 21 de la bolsa de muestreo de aliento con la válvula V2 abierta como se muestra en la Fig. 2D, y a continuación se expulsa mecánicamente dentro del camino del flujo del inyector 21 de gas con un caudal constante. En este momento, se mide la intensidad de la luz transmitida a través del gas base por medio de los elementos de detección 25a y 25b, y se determina la concentración de CO₂ del gas de muestra a partir de su absorbancia en base a la curva de calibración.

10 III-3. Medida de referencia

Se cambia el camino del flujo de gas, y a continuación se hace pasar el gas de referencia a través de él para limpiar el camino del flujo del gas y la cámara 11 de la celda. Después de un intervalo de alrededor de 30 segundos, se miden las intensidades por medio de cada uno de los elementos de detección 25a y 25b.

15 Más específicamente, el gas de referencia se aspira dentro del inyector 21 de gas con la válvula V1 abierta como se muestra en la Fig. 3A, y a continuación se expulsa dentro del camino del flujo del inyector 21 de gas con la válvula V1 cerrada para limpiar la primera celda 21a de muestra y la segunda celda 21b de muestra. En este momento, se miden las intensidades de la luz transmitida a través del gas de referencia por medio del elemento de detección 25a y del elemento de detección 25b. Las intensidades luminosas obtenidas de este modo por el primer y segundo elemento de detección 25a y 25b están representadas por ¹²R₁ y ¹³R₁, respectivamente.

20 III-4. Medida del gas base

La concentración de CO₂ del gas base obtenida por el primer elemento de detección 25a en "III-1. Medida del gas base preliminar" se compara con la concentración de CO₂ del gas de muestra obtenida por el primer elemento de detección 25a en "III-2. Medida del gas de muestra preliminar". Si la concentración de CO₂ del gas base es más alta que la concentración de CO₂ del gas de muestra, el gas base se diluye con el aire o gas de referencia en el inyector 21 de gas hasta un nivel de concentración de CO₂ equivalente al del gas de muestra, y a continuación se realiza la medida de la intensidad de la luz en el gas base diluido de este modo.

25 Más específicamente, una cantidad predeterminada del gas de referencia se aspira dentro del inyector 21 de gas con la válvula V1 abierta como se muestra en la Fig. 3B-1. A su vez, el gas base se aspira dentro del inyector 21 de gas con la válvula V3 abierta como se muestra en la Fig. 3C, y se mezcla con el gas de referencia. Dado que las concentraciones de CO₂ de las dos muestras de aliento se ajustan a sustancialmente el mismo nivel diluyendo de este modo el gas base con el gas de referencia, se pueden estrechar los intervalos de las curvas de calibración de ¹²CO₂ y ¹³CO₂ que se van a usar.

30 Alternativamente, se puede aspirar una cantidad predeterminada de aire dentro del inyector 21 de gas con la válvula V4 de tres vías abierta al aire atmosférico como se muestra en la Fig. 3B-2. A su vez, el gas base se aspira dentro del inyector 21 con la válvula V4 de tres vías abierta a la cámara de la celda y con la válvula V3 abierta como se muestra en la Fig. 3C, y a continuación se mezcla con el aire.

35 Dado que las concentraciones de CO₂ de las dos muestras de aliento se ajustan a sustancialmente el mismo nivel diluyendo de este modo el gas base con el aire, se pueden estrechar los intervalos de las curvas de calibración de ¹²CO₂ y ¹³CO₂ que se van a usar.

40 Se debe advertir que el procedimiento de medida que emplea el método de dilución mostrado en la Fig. 3B-2 está caracterizado porque las concentraciones de CO₂ de las dos muestras de aliento se ajustan a sustancialmente el mismo nivel, y no requiere necesariamente emplear una etapa de mantener constantemente la concentración de CO₂ a un nivel constante como se describe en la publicación de patente japonesa examinada No. 4-124141 (1992). El uso de intervalos limitados de las curvas de calibración se puede conseguir simplemente ajustando las concentraciones de CO₂ del gas base y del gas de muestra a sustancialmente el mismo nivel. Dado que las concentraciones de CO₂ del gas base y del gas de muestra pueden variar dentro de un intervalo de 1% a 6% en la medida real, es muy complicado mantener siempre las concentraciones de CO₂ a un nivel constante.

45 Si la concentración de CO₂ del gas base es más baja que la concentración de CO₂ del gas de muestra, el gas base no se diluye, sino que el gas base se somete a la medida tal como está.

50 El gas base se expulsa mecánicamente dentro del camino del flujo del inyector 21 de gas con un caudal constante y, en este momento, se realiza la medida de la intensidad de la luz por medio de los elementos de detección 25a y 25b.

Las intensidades de la luz obtenidas de este modo por el primer y segundo elementos de detección 25a y 25b se representan por ¹²B y ¹³B, respectivamente.

III-5. Medida de referencia

La limpieza del camino del flujo de gas y las celdas y la medida de la intensidad de la luz en el gas de referencia se realizan de nuevo empleando el camino del flujo mostrado en la Fig. 3D.

5 Las intensidades de luz obtenidas de este modo por el primer y segundo elemento de detección 25a y 25b se representan por $^{12}R_2$ y $^{13}R_2$, respectivamente.

III-6. Medida del gas de muestra

10 Si el gas base se diluye en "III-4. Medida del gas base", el gas base se aspira dentro del inyector 21 desde la bolsa de muestreo de aliento como se muestra en la Fig. 3E, y a continuación se expulsa mecánicamente dentro del camino del flujo desde el inyector 21 de gas con un caudal constante. En este momento, se miden las intensidades de la luz por medio de los elementos de detección 25a y 25b.

Si el gas base no se diluye en "III-4. Medida del gas base", el gas de la muestra se diluye con el gas de referencia o aire hasta un nivel de concentración de CO₂ equivalente al del gas base en el inyector 21 de gas, y a continuación se miden las intensidades de la luz transmitida a través del gas de muestra por medio de los elementos detectores 25a y 25b.

15 Las intensidades de la luz obtenidas de este modo por el primer y segundo elemento de detección 25a y 25b se representan ^{12}S y ^{13}S , respectivamente.

III-7. Medida del gas de referencia.

La limpieza del camino del flujo del gas y las celdas y la medida de la intensidad de la luz del gas de referencia se realizan de nuevo.

20 Las intensidades de la luz obtenidas de este modo por el primer y segundo elemento de detección 25a y 25b se representan por $^{12}R_3$ y $^{13}R_3$, respectivamente.

IV. Procesamiento de datos

IV-1. Cálculo de absorbancias del gas base

25 La absorbancia del $^{12}CO_2$ $^{12}Abs(B)$ y la absorbancia del $^{13}CO_2$ $^{13}Abs(B)$ del gas base se calculan en base a las intensidades de la luz transmitida $^{12}R_1$ y $^{13}R_1$ para el gas de referencia, las intensidades de la luz transmitida ^{12}B y ^{13}B para el gas base y las intensidades de la luz transmitida $^{12}R_2$ y $^{13}R_2$ para el gas de referencia obtenido según el procedimiento de medida anteriormente mencionado.

La absorbancia del $^{12}CO_2$ $^{12}Abs(B)$ se calcula de la siguiente ecuación:

$$^{12}Abs(B) = -\log [2 \times ^{12}B / (^{12}R_1 + ^{12}R_2)]$$

30 La absorbancia del $^{13}CO_2$ $^{13}Abs(B)$ se calcula de la siguiente ecuación:

$$^{13}Abs(B) = -\log [2 \times ^{13}B / (^{13}R_1 + ^{13}R_2)]$$

35 Dado que el cálculo de las absorbancias está basado en las intensidades de la luz obtenidas en la medida del gas base y las medias $(R_1+R_2)/2$ de las intensidades de la luz obtenidas en las medidas de referencia realizadas antes y después de la medida del gas base, se puede eliminar la influencia de una desviación (una influencia en la medida relacionada con el tiempo). Por lo tanto, cuando se enciende el aparato, no hay necesidad de esperar hasta que el aparato llegue a un equilibrio térmico completo (usualmente tarda varias horas), de modo que la medida puede empezar inmediatamente después de encender el aparato.

IV-2. Cálculo de absorbancias del gas de muestra

40 La absorbancia del $^{12}CO_2$ $^{12}Abs(S)$ y la absorbancia del $^{13}CO_2$ $^{13}Abs(S)$ del gas de muestra se calculan en base a las intensidades de la luz transmitida $^{12}R_2$ y $^{13}R_2$ para el gas de referencia, las intensidades de la luz transmitida ^{12}S y ^{13}S para el gas de muestra y las intensidades de la luz transmitida $^{12}R_3$ y $^{13}R_3$ para el gas de referencia obtenido según el procedimiento de medida anteriormente mencionado.

La absorbancia del $^{12}CO_2$ $^{12}Abs(S)$ se calcula de la siguiente ecuación:

$$^{12}Abs(S) = -\log [2 \times ^{12}S / (^{12}R_2 + ^{12}R_3)]$$

45 La absorbancia del $^{13}CO_2$ $^{13}Abs(S)$ se calcula de la siguiente ecuación:

$$^{13}Abs(S) = -\log [2 \times ^{13}S / (^{13}R_2 + ^{13}R_3)]$$

Dado que el cálculo de las absorbancias está basado en las intensidades de la luz obtenidas en la medida del gas base y las medias $(R_1+R_2)/2$ de las intensidades de la luz obtenidas en las medidas de referencia realizadas antes y después de la medida del gas base, se puede eliminar la influencia de una desviación.

IV-3. Cálculo de las concentraciones

5 La concentración de $^{12}\text{CO}_2$ y la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ se calculan usando curvas de calibración.

Las curvas de calibración se preparan en base a la medida realizada usando muestras de gas de ensayo de concentraciones de $^{12}\text{CO}_2$ conocidas y muestras de gas de ensayo de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ conocidas.

10 Para la preparación de la curva de calibración para $^{12}\text{CO}_2$, se miden las absorbancias del $^{12}\text{CO}_2$ para diferentes concentraciones de $^{12}\text{CO}_2$ que varían de alrededor de 0,5% a alrededor de 6%. Las concentraciones de $^{12}\text{CO}_2$ y las absorbancias del $^{12}\text{CO}_2$ se representan como abscisa y ordenada, respectivamente, y se determina una curva aproximada por el método de mínimos cuadrados. Una curva cuadrática aproximada, que incluye errores relativamente pequeños, se emplea como curva de calibración en esta realización.

15 Para la preparación de la curva de calibración para $^{13}\text{CO}_2$, se miden las absorbancias del $^{13}\text{CO}_2$ para diferentes concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ que varían de alrededor de 0,006% a alrededor de 0,07%. Las concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ y las absorbancias del $^{13}\text{CO}_2$ se representan como abscisa y ordenada, respectivamente, y se determina una curva aproximada por el método de mínimos cuadrados. Una curva cuadrática aproximada, que incluye errores relativamente pequeños, se emplea como curva de calibración en esta realización.

20 En sentido estricto, la absorbancia del $^{13}\text{CO}_2$ determinada midiendo individualmente una muestra de gas que contiene $^{12}\text{CO}_2$ y una muestra de gas que contiene $^{13}\text{CO}_2$ puede ser diferente de la absorbancia del $^{13}\text{CO}_2$ determinada midiendo una muestra gaseosa que contiene tanto $^{12}\text{CO}_2$ como $^{13}\text{CO}_2$. Esto es debido a que los filtros de interferencia tienen cada uno una cierta anchura de banda y el espectro de absorción del $^{12}\text{CO}_2$ se solapa parcialmente con el espectro de absorción del $^{13}\text{CO}_2$. Dado que las muestras gaseosas que contienen tanto $^{12}\text{CO}_2$ como $^{13}\text{CO}_2$ van a ser analizadas en este método de medida, el solapamiento de estos espectros se debe corregir en la determinación de las curvas de calibración. Las curvas de calibración que se van a emplear en esta medida se corrigen en el solapamiento de los espectros de absorción.

25 La concentración de $^{12}\text{CO}_2$ y la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ del gas base y la concentración de $^{12}\text{CO}_2$ y la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ del gas de muestra determinadas usando las anteriormente mencionadas curvas de calibración se representan por $^{12}\text{Conc(B)}$, $^{13}\text{Con(B)}$, $^{12}\text{Conc(S)}$ y $^{13}\text{Conc(S)}$, respectivamente.

IV-4. Cálculo de las relaciones de concentraciones

30 Se determina la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ a $^{12}\text{CO}_2$. Las relaciones de concentraciones en el gas base y en el gas de muestra se expresan como $^{13}\text{Con(B)}/^{12}\text{Con(B)}$ y $^{13}\text{Con(S)}/^{12}\text{Con(S)}$, respectivamente.

35 Alternativamente, las relaciones de concentraciones en el gas base y en el gas de muestra se pueden definir como $^{13}\text{Con(B)}/[^{12}\text{Con(B)}+^{13}\text{Con(B)}]$ y $^{13}\text{Con(S)}/[^{12}\text{Con(S)}+^{13}\text{Con(S)}]$, respectivamente. Dado que la concentración de $^{12}\text{CO}_2$ es mucho más alta que la concentración de $^{13}\text{CO}_2$, las relaciones de concentraciones expresadas del modo anterior y en el último modo son sustancialmente las mismas.

IV-5. Determinación del cambio del ^{13}C

La diferencia del ^{13}C entre el gas de muestra y el gas base se calcula de la siguiente ecuación

$$\Delta^{13}\text{C} = [\text{Relación de concentraciones del gas de muestra} - \text{Relación de concentraciones del gas base}] \times 10^3 / \text{Relación de concentraciones del gas base (Unidad : per mill (por mil))}.$$

40 IV-6. Corrección del cambio de ^{13}C

La diferencia $\Delta^{13}\text{C}$ en la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ entre el gas base y el gas de muestra se somete a una corrección para la concentración de vapor de agua (corrección para la humedad) según la presente invención.

45 Para este propósito, la diferencia $\Delta^{13}\text{C}$ en la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ se corrige con el uso de una gráfica preparada representando la diferencia $\Delta^{13}\text{C}$ en las relaciones de concentración de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a las salidas del sensor 19 de humedad.

50 Más específicamente, la preparación de la gráfica se consigue de la siguiente manera. Un gas de equilibrio 3% CO_2/N_2 que tiene una humedad del 0% se introduce en dos bolsas de muestreo de gas, y se carga vapor de agua hasta la saturación en una de las bolsas de muestreo para la preparación de un gas de equilibrio 3% CO_2/N_2 que tiene una humedad de 100%. Mezclando estos dos gases, se preparan cinco gases de muestra que tienen diferentes humedades que varían de 0% a 100% y un gas base que tiene una humedad de 0%. Se obtiene una salida del sensor 19 de humedad que indica la humedad del gas base y las salidas del sensor 19 de humedad que

5 indican las humedades de los gases de muestra. Las diferencias ΔV entre la salida para el gas base y las salidas para los gases de muestra se representan en abscisas. Dado que la humedad del gas base es 0%, las diferencias ΔV en la salida corresponden a valores que indican las humedades de los gases de muestra. A continuación, se representan como ordenada las diferencias en la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ entre el gas base y los gases de muestra. De este modo, se completa la preparación de la gráfica.

Los valores obtenidos experimentalmente se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Humedad del gas de muestra (%)	Salida del sensor del gas base	Salida del sensor del gas de muestra	Diferencia de las salidas de los sensores	Diferencia en la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ (0/00)
0	1,653168	1,541812	-0,111356	-0,2
25	1,789176	2,407378	0,618202	2,34
50	1,925964	3,117390	1,191426	4,28
75	2,022190	3,594348	1,572158	5,60
100	2,110666	3,970968	1,860302	6,32

10 Aunque las salidas del sensor que indica la humedad del gas base deberían ser básicamente del mismo nivel, los valores de salida medidos variaban con una deriva. Esto es debido a que la velocidad de respuesta del sensor 19 de humedad era problemática y la medida se realizó antes de que el sensor 19 de humedad alcanzara el equilibrio completo. Los valores en la Tabla 1 se representan como se muestra en la gráfica de la Fig. 4.

15 Las diferencias $\Delta^{13}\text{C}$ en la relación de concentraciones de $^{13}\text{CO}_2$ entre el gas base y los gases de muestra se corrigen en base al gráfico y las diferencias en la salida del sensor 19 de humedad entre el gas base y los gases de muestra.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método de medida de isótopos estables para analizar espectrométricamente un gas isotópico, que comprende las etapas de introducir una muestra gaseosa de ensayo que contiene dióxido de carbono $^{12}\text{CO}_2$ y dióxido de carbono $^{13}\text{CO}_2$ como gases componentes en una celda, determinar las absorbancias de la luz transmitida a través de ella a longitudes de onda apropiadas para los gases componentes respectivos, determinar las concentraciones de los gases componentes respectivos en la muestra gaseosa de ensayo en base a las curvas de calibración preparadas por medio de la medida de las muestras gaseosas que contiene cada una los gases componentes en concentraciones conocidas, en el que
- 10 se analizan dos muestras gaseosas de ensayo de un solo sujeto y, si la concentración de CO_2 de una de las muestras gaseosas es más alta que la concentración de CO_2 de la otra muestra gaseosa de ensayo, la muestra gaseosa de ensayo se diluye con aire hasta un nivel de concentración de CO_2 que es equivalente al de la otra muestra gaseosa de ensayo, a continuación se miden las absorbancias de la luz transmitida a través de las dos muestras gaseosas de ensayo y se calculan las relaciones de concentraciones $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en las respectivas muestras gaseosas de ensayo.
- 15 2. Un método de medida de isótopos estables para analizar espectrométricamente un gas isotópico según la reivindicación 1, en el que
- (a) se analiza la primera y la segunda muestra gaseosa de ensayo de un solo sujeto y se miden las concentraciones de CO_2 de la primera y la segunda muestra gaseosa de ensayo, y
- 20 (b) si la concentración de CO_2 medida de la primera muestra gaseosa de ensayo es más alta que la concentración de CO_2 medida en la segunda muestra gaseosa de ensayo, la primera muestra gaseosa de ensayo se diluye con aire hasta un nivel de concentración de CO_2 equivalente al de la segunda muestra gaseosa de ensayo, a continuación se mide la relación de concentraciones $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en la primera muestra gaseosa de ensayo.
- (c) se mide la relación de concentraciones $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en la segunda muestra gaseosa de ensayo.
- 25 3. Un método de medida de isótopos estables para analizar espectrométricamente un gas isotópico según la reivindicación 1, en el que
- (a) se analiza la primera y la segunda muestra gaseosa de ensayo de un solo sujeto y se miden las concentraciones de CO_2 de la primera y segunda muestra gaseosa de ensayo, y
- 30 (b) si la concentración de CO_2 medida de la primera muestra gaseosa de ensayo es más baja que la concentración de CO_2 medida en la segunda muestra gaseosa de ensayo, se mide la relación de concentraciones $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en la primera muestra gaseosa de ensayo, y
- (c) la segunda muestra gaseosa de ensayo se diluye con aire hasta un nivel de concentración de CO_2 equivalente al de la primera muestra gaseosa de ensayo, a continuación se mide la relación de concentraciones $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en la segunda muestra gaseosa de ensayo.

FIG. 1

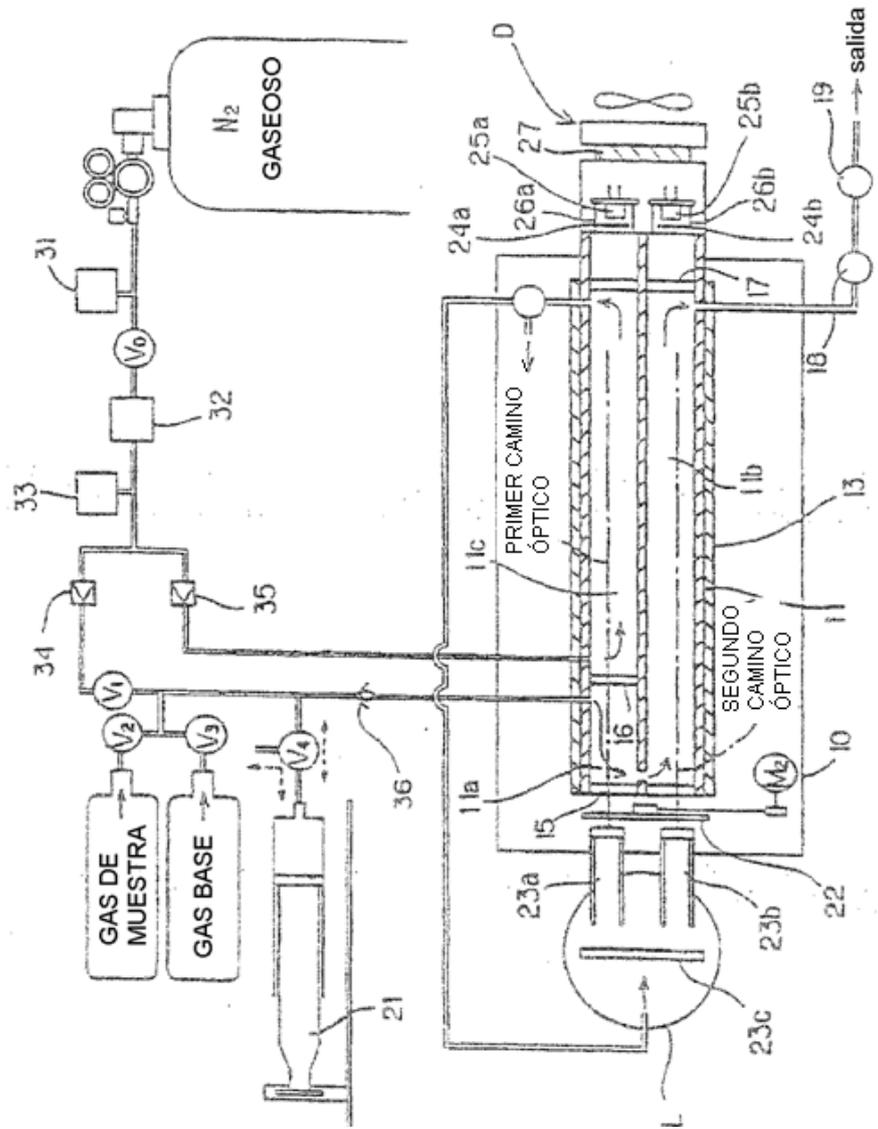


FIG. 2 A

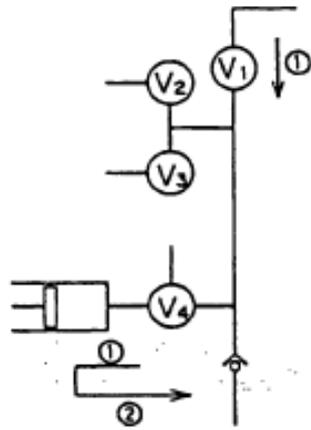


FIG. 2 B

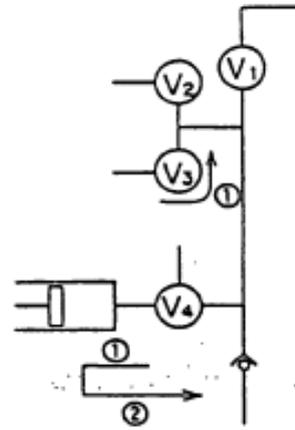


FIG. 2 C

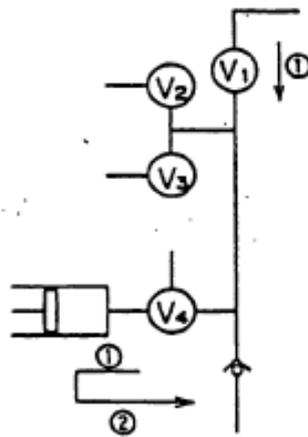


FIG. 2 D

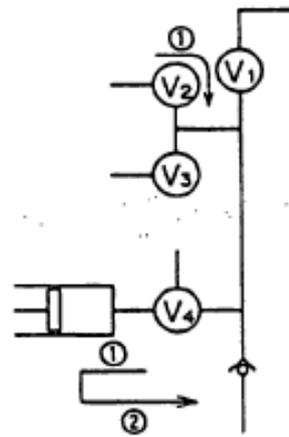


FIG. 3 A

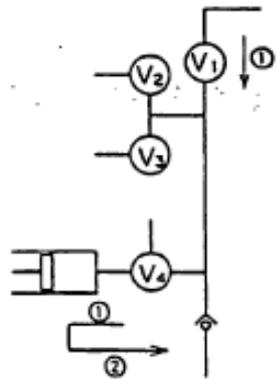


FIG. 3 B-1

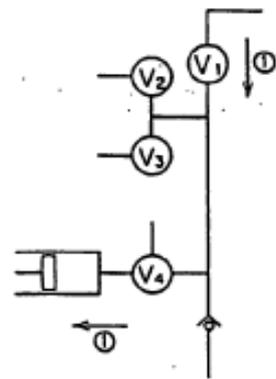


FIG. 3 B-2

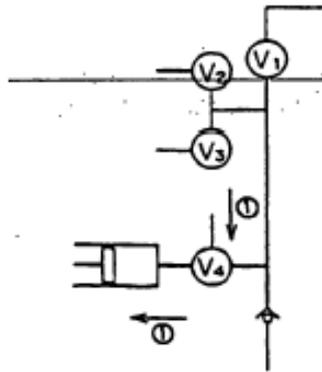


FIG. 3 C

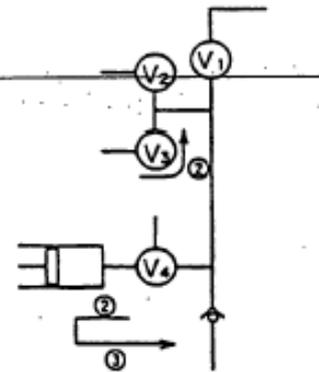


FIG. 3 D

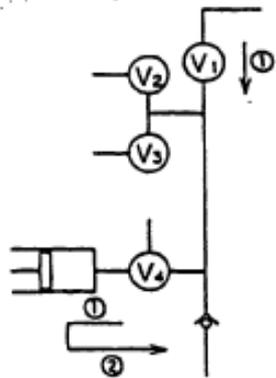


FIG. 3 E

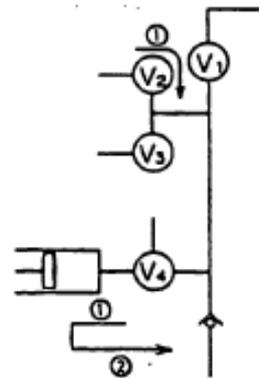


FIG. 4

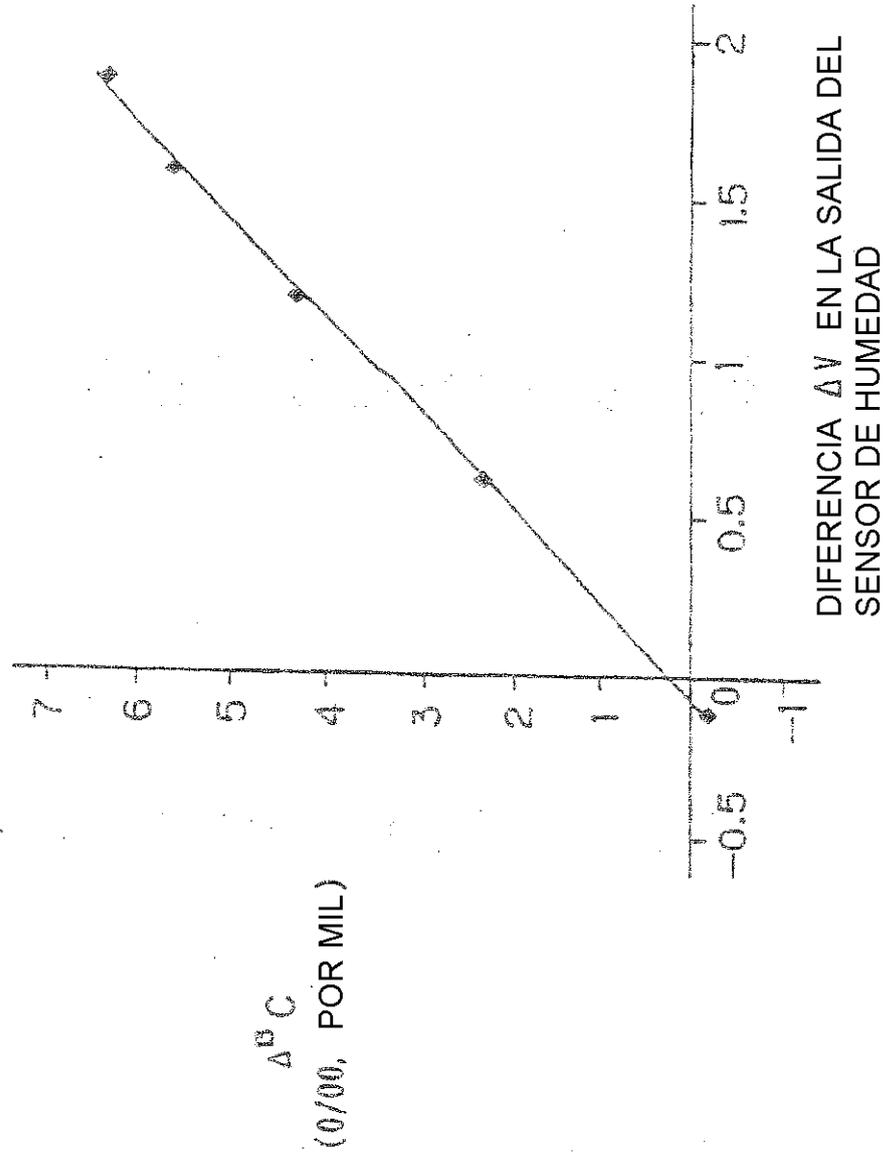


FIG. 5

