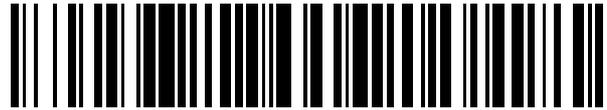


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 462**

51 Int. Cl.:

G01N 15/02 (2006.01)

G01N 21/31 (2006.01)

G01N 21/51 (2006.01)

G01N 21/57 (2006.01)

G01N 21/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07721888 .1**

96 Fecha de presentación: **02.02.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **1982159**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.10.2008**

54 Título: **Dispositivo de medida para la determinación del tamaño, de la distribución de tamaños y de la cantidad de partículas en la gama nonoscópica**

30 Prioridad:

06.02.2006 DE 102006005574

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

10.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

10.12.2012

73 Titular/es:

**JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT
FRANKFURT AM MAIN (100.0%)
SENCKENBERGANLAGE 31
60325 FRANKFURT AM MAIN, DE**

72 Inventor/es:

**MÄNTELE, WERNER;
VOGEL, VITALI;
KLEIN, OLIVER y
SCHRÖDER, LEA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 392 462 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

Dispositivo de medida para la determinación del tamaño, de la distribución de tamaños y de la cantidad de partículas en la gama nanoscópica.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para la determinación de la heparina, en particular en muestras de sangre y de suero sanguíneo heparinizadas, mediante el empleo de luz dispersa.

Los métodos ópticos para la determinación del tamaño de las partículas ya se están empleando con gran profusión. En estos métodos, la dispersión de la luz ocupa un espacio considerable. Para ello se aprovechan los conocimientos obtenidos por las teorías de dispersión de Rayleigh, Mie, Debye, Rayleigh-Gans y Fraunhofer. Mientras que la teoría de dispersión de Rayleigh solamente es aplicable para tamaños de partículas menores que aproximadamente 1/10 de la longitud de onda de la luz incidente, y supone la existencia de un único centro de dispersión, en cambio la teoría de dispersión de Mie es aplicable a tamaños de partículas dentro de un campo de 0,1 a 10 veces la longitud de onda de medida. La teoría de dispersión de Mie sin embargo es muy compleja y requiere unos ordenadores de gran potencia. Las teorías de dispersión de Debye, Rayleigh, Gans y Fraunhofer parten sin embargo de hipótesis simplificadas y por lo tanto son menos complejas, pero generalmente solo son adecuadas para la determinación de partículas de mayor tamaño.

20 En MIGNANI ET AL: "Spectral nephelometry for the geographic classification of Italian extra virgin olive oils" (Nefelometría espectral para la clasificación geográfica de aceites de oliva virgen extra italianos) SENSORS AND ACTUATORS B, ELSEVIER SEQUOIA S.A., CH, Tomo 111-112, 11 de Noviembre de 2005, páginas 363-369, se da a conocer una medición de espectros de dispersión de diferentes muestras de aceite de oliva con cuatro fuentes de luz de banda ancha de funcionamiento alternante, bajo diferentes ángulos respecto al eje de unión entre la muestra y el detector. Los datos obtenidos se evalúan sirviéndose de un método de estadística multivariante, de tal modo que se puedan agrupar y diferenciar los aceites de oliva según su procedencia.

25 En MIGNANI A G ET AL: "Scattered colorimetry and multivariate data processing as an objective tool for liquid mapping" (Colorimetría dispersa y tratamiento de datos multivariante como herramienta objetiva para el mapeado de líquidos) PROC SPIE INT SOC OPT ENG; PROCEEDINGS OF SPIE - THE INTERNATIONAL SOCIETY FOR OPTICAL ENGINEERING; 17TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON OPTICAL FIBRE SENSORS, OFS-17 2005, Tomo 5855, PARTE I, 2005, Páginas 38-41 se da a conocer una medición de espectros de dispersión de diferentes muestras de líquidos tales como por ejemplo aceites de oliva o aceites de azurita empleando cuatro fuentes de luz de banda ancha que funcionan de modo alternante con diferentes ángulos respecto al eje de unión entre la muestra y el detector. Los datos obtenidos se evalúan sirviéndose del método de la estadística multivariante, de tal modo que se obtenga un espacio parametral con coordenadas estadísticamente independientes, que están clasificadas de acuerdo con su significancia. Esto permite realizar una clasificación mutua de los líquidos investigados.

35 El documento US 5 808 738 A da a conocer un sistema de medida óptico para la caracterización de macromoléculas en una solución. Para ello se ilumina la muestra desde una fuente de luz de banda ancha y la radiación dispersada por la muestra así como la radiación absorbida se investigan espectralmente bajo diferentes ángulos con relación al rayo incidente. Estos datos se emplean para determinar las propiedades físicas de las macromoléculas.

40 El documento WO 01/20304 A2 da a conocer un sistema de medida óptico para la caracterización de superficies polucionadas en el cual la vía óptica despejada que se requiere para la medición se limpia mediante un flujo continuo de un fluido de limpieza. Para ello pueden estar integrados diversos métodos de medición tales como por ejemplo interferometría, elipsometría y reflectometría.

45 El documento WO 03/062800 A2 da a conocer un aparato portátil para la determinación de las características de reflexión de superficies. Para ello se explora ópticamente la superficie que se trata de investigar, bajo diferentes ángulos de incidencia y en distintos campos de longitudes de onda. A partir de los valores de medición obtenidos se determinan las propiedades de reflexión características de la superficie.

El documento US 2001/0052975 A1 da a conocer un método de medida para la identificación de irregularidades en superficies, en el cual se evalúa la dispersión de un rayo de luz que incide perpendicularmente así como la absorción de un rayo de luz de incidencia rasante. Para ello las longitudes de onda de los dos rayos pueden ser distintas para facilitar la separación de los resultados.

50 La comparación de ambas señales permite efectuar una distinción de partículas sedimentadas y de defectos de sustrato.

De acuerdo con una primera forma de realización de dispositivos de medida conocidos destinados a determinar el tamaño de partículas dentro de la gama nanoscópica mediante la dispersión de la luz, se recurre a una fuente de luz monocromática, es decir luz láser, y a una pluralidad de detectores que están dispuestos con ángulos distintos

respecto a la probeta que se trata de medir. Un dispositivo de esta clase se encuentra descrito por ejemplo en el documento DE 696 00 969 T2. En este caso se emplea un instrumento de refracción de láser compuesto, mediante el cual se pueden generar de modo selectivo señales dispersas individuales. El procedimiento descrito en este documento permite efectuar la medición de distribuciones de tamaños de partículas por medio de la dispersión de la luz.

De forma similar se pueden determinar según el documento DE 197 24 228 A1 unas distribuciones de tamaños de partículas y unas concentraciones de partículas sirviéndose de fuentes de luz moduladas eléctricamente por medio de la detección de la radiación dispersada bajo diferentes ángulos de dispersión. Para una longitud de onda individual fija se va ajustando sucesivamente el ángulo de dispersión mediante la rotación de un espejo, y se detecta la respectiva proporción de luz dispersa.

De acuerdo con una segunda forma de realización de dispositivos de medida conocidos destinados a la determinación de tamaños de partículas o distribuciones de tamaños de partículas sirviéndose de una fuente de luz monocromática, no se emplean detectores individuales dispuestos en posiciones fijas sino en un campo con una pluralidad de detectores. Por ejemplo, de acuerdo con el dispositivo de medida dado a conocer en el documento DE 195 10 034 A1 se reproduce un rayo láser dispersado en una muestra de partícula dispersa en un campo de fotodetectores dispuestos en el plano focal del dispositivo de reproducción y se conduce a un dispositivo de evaluación. El dispositivo de medida hallado deberá permitir realizar una forma de construcción lo más compacta posible y con mayor estabilidad óptica posible. Por otra parte el diámetro del rayo de medición se debe poder adaptar de modo fiable a las necesidades del respectivo campo de medida, de modo que se puedan determinar también colectivos de partículas extensos hasta bajar a partículas finísimas en cuanto a su distribución de tamaños.

Una tercera forma de realización de dispositivos de medida conocidos para la determinación del tamaño de partículas o de la distribución de tamaños de partículas mediante la dispersión de la luz se puede deducir del documento US 6.137.572, en el cual mediante la dispersión de luz dinámica que aprovecha la extensión doppler de la luz dispersa en comparación con la luz láser irradiada de banda estrecha, con lo cual se vuelve a incrementar considerablemente la sensibilidad para la determinación del tamaño de partículas.

Por último, según otra forma de realización de un dispositivo de medida conocido por el estado de la técnica, se pueden determinar tamaños de partículas o densidades de partículas por la vía de las mediciones de interferencia tales como por ejemplo las conocidas por los documentos DE 199 54 702 A 1 y DE 195 25 847 A 1. En los procedimientos descritos en estos documentos se genera una imagen de interferencia con luz coherente de un láser, pudiendo estimarse a continuación a partir de las muestras de interferencia obtenidas, las deseadas indicaciones relativas a la densidad y tamaño de partículas. Así por ejemplo, el dispositivo según el documento DE 195 25 847 A1 se puede equipar con una unidad de desviación que permite modificar una dirección de rayo láser que efectúa la iluminación, de tal modo que este rayo láser se conduce durante la medición en un determinado campo angular alrededor de la partícula que se trata de medir.

Los procedimientos ópticos empleados hasta la fecha para la determinación del tamaño de partículas o para la determinación de las distribuciones del tamaño de partículas tienen unos aparatos complejos y además no permiten efectuar mediciones resueltas en el tiempo, o no las permiten realizar sin más.

Por este motivo sería deseable poder recurrir a dispositivos de medida para la determinación del tamaño de las partículas en la gama nanoscópica mediante radiación dispersa, que no adolezca de los inconvenientes del estado de la técnica.

Por este motivo la presente invención se basaba en el objetivo de facilitar un procedimiento con un dispositivo de medida para la determinación del tamaño y la distribución de tamaños de partículas dentro de la gama nanoscópica, mediante luz dispersa, en particular mediante la dispersión de la luz, que de modo sencillo y al mismo tiempo seguro permita la determinación independiente de la densidad de partículas y del tamaño de las partículas, para poder determinar por lo tanto de modo más rápido y seguro la proporción de heparina, en particular en sangre heparinizada o muestras de sangre heparinizadas.

De acuerdo con ello se halló un dispositivo de medida para la determinación del tamaño, de la distribución de tamaños y/o de la concentración de partículas nanoscópicas u oquedades en una muestra para la medición, del grado de enturbiamiento de tales muestras para la medición por medio de la determinación de las intensidades dependientes de la longitud de onda y del ángulo de dispersión, de una radiación de medida dispersada en una muestra para la medición, comprendiendo un dispositivo de alojamiento para una muestra para la medición que se trata de medir, un detector, comprendiendo por lo menos una entrada al detector, una unidad de evaluación y por lo menos dos fuentes de radiación separadas respectivamente entre sí y distanciadas de la muestra para la medición que presentan un espectro de longitudes de ondas múltiples y/o un espectro continuo y cuyas intensidades de radiación son ajustables y/o determinables, emitiéndose desde las fuentes de radiación respectivamente un haz de rayos esencialmente paralelos en dirección hacia la muestra para la medición, estando orientados o pudiendo

- orientarse los haces de rayos dirigidos hacia la muestra para la medición procedentes de diferentes fuentes de radiación, con ángulos diferentes con relación al eje entre la entrada del detector y la muestra para la medición. Para ello los rayos esencialmente paralelos pueden abandonar por ejemplo la fuente de radiación de forma directa, o en el caso de que la fuente de radiación no genere directamente rayos paralelos, se pueden obtener tales rayos
- 5 paralelos también de forma indirecta empleando medios auxiliares adecuados dispuestos a continuación, por ejemplo lentes. Las por lo menos dos fuentes de radiación distanciadas entre sí y distanciadas de la muestra para la medición tienen preferentemente un emplazamiento fijo. Por lo general no se modifica durante la medición el emplazamiento de la fuente de radiación con relación a otra fuente de radiación próxima o a otras fuentes de radiación próximas, así como con respecto a la muestra para la medición.
- 10 El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención es especialmente adecuado para determinar de una forma sencilla y segura el tamaño, la distribución de tamaños y/o la concentración o densidad de partículas dentro de la gama nanoscópica, que están presentes en una muestra para la medición. La muestra para la medición que contiene estas partículas nanoscópicas puede tener para ello forma viscosa, fluida o gaseosa. Las muestras para la medición viscosas comprenden entre otras también las que tengan una consistencia semisólida o
- 15 pastosa. A título de ejemplo se citan para aquello cremas o pastas (dentífricas). También se consideran muestras para la medición cuerpos de muestras sólidos no transparentes que tengan por lo menos una superficie que se pueda medir mediante una radiación dispersa, en particular una radiación luminosa dispersa, así como cuerpos de muestras sólidos transparentes o traslúcidos que contengan partículas nanoscópicas u oquedades. Estos cuerpos de muestras citados en último lugar pueden ser por ejemplo muestras que contengan inclusiones en forma de
- 20 partículas nanoscópicas u oquedades. Como oquedades se consideran por ejemplo las inclusiones en forma de burbuja, por ejemplo inclusiones de aire. De este modo se puede verificar por ejemplo la calidad de cuerpos de vidrios tales como lentes. Como dispositivo de alojamiento para una muestra para la medición viscosa, fluida o gaseosa que contenga partículas nanoscópicas, se puede recurrir por ejemplo a probetas de medida o a células de paso continuo. El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención es por lo tanto
- 25 adecuada tanto para el funcionamiento en régimen discontinuo o también continuo.
- En una forma de realización especialmente preferida, con por lo menos una fuente de radiación, en particular todas las fuentes de radiación del dispositivo de medida, el dispositivo de alojamiento para la muestra para la medición o de los cuerpos de probetas así como la entrada al detector tienen posiciones fijas entre sí. El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención ofrece por lo tanto la ventaja de no requerir ningún
- 30 componente móvil y se diferencia en esta realización por ejemplo de un dispositivo de medida convencional con un goniómetro. De este modo se consigue una forma de construcción de diseño sencillo y al mismo tiempo compacto, seguro y robusto que garantiza de forma permanente un funcionamiento sin averías.
- Las fuentes de radiación están alejadas preferentemente equidistantes del dispositivo de alojamiento o del lugar de la muestra para la medición. Muy preferentemente, las fuentes de radiación están situadas sobre el contorno exterior de una esfera o semiesfera (imaginaria), del perímetro de una circunferencia o de un cilindro, orientadas
- 35 hacia el punto central de la esfera, de la circunferencia o del cilindro donde se ha de posicionar preferiblemente la muestra para la medición. Muy preferentemente se sitúa también la entrada al detector en el perímetro de una tal esfera o semiesfera o de una circunferencia de esta clase. Las fuentes de radiación, en particular también junto con el detector o la entrada al detector están situadas preferentemente en un mismo plano.
- 40 Para las fuentes de radiación se puede recurrir a fuentes de radiación convencionales mediante las cuales se pueda generar un espectro de longitudes de onda múltiples o continuo. Son adecuadas por ejemplo unas fuentes de radiación que emitan radiación electromagnética dentro del campo visible. De acuerdo con una forma de realización preferente, las fuentes de radiación son diodos luminosos, en particular diodos luminosos de luz blanca. Por principio se consideran como fuentes de radiación en el sentido de la presente invención aquellas que puedan
- 45 emitir radiación electromagnética que vaya desde la radiación UV hasta la radiación infrarroja próxima. Para ello basta naturalmente si las fuentes de radiación cubren solamente una parte del espectro de radiaciones antes citado.
- Con el fin de garantizar que desde una fuente de radiación incide un haz de rayos esencialmente paralelos sobre la muestra para la medición que se trata de medir, se dispone por ejemplo una lente colimadora adecuada entre la
- 50 fuente de radiación y la muestra para la medición. Para enfocar el rayo disperso sobre la entrada al detector también puede estar prevista una lente colimadora entre la muestra para la medición y esta entrada al detector, determinándose la distancia a la entrada al detector de acuerdo con su distancia focal. Las fuentes de radiación de los dispositivos de medida empleados en el procedimiento conforme a la invención o los haces de rayos que incidan sobre la muestra para la medición no tienen que generar o comprender necesariamente una radiación coherente,
- 55 con el fin de que se pueda determinar en las muestras para la medición el tamaño, la distribución de tamaños y/o la concentración de las partículas nanoscópicas. La generación de rayos paralelos ya basta para el dispositivo empleado en el procedimiento conforme a la invención.

De acuerdo con otra forma de realización se puede obtener una fuente de radiación, en particular todas las fuentes de radiación, también por medio de un conductor emisor de radiación, por ejemplo de un cable de fibra óptica.

5 También puede estar previsto que el detector represente un detector de longitudes de onda múltiples, en particular un espectrómetro de rejilla con detección de un conjunto de diodos o CCD. El detector del dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención es adecuado para captar una pluralidad de diferentes señales dispersas o señales de luz dispersa consecutivas entre sí en el tiempo. Estas señales se pueden a continuación analizar y almacenar en la unidad de evaluación en función de su longitud de onda y de su intensidad, en particular teniendo en cuenta su secuencia en el tiempo. En una forma de realización, la entrada al detector puede ser un componente integral del detector. En este caso la radiación dispersa incide directamente sobre el detector. De forma alternativa, la entrada al detector puede estar unida o puede unirse con el detector, por ejemplo a través de por lo menos un conductor de recepción de radiación, por ejemplo en forma de un conductor de fibra óptica.

15 El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención está diseñado preferentemente de tal modo que las fuentes de radiación se puedan conectar y desconectar de modo sucesivo. Las fuentes de radiación se actúan por lo tanto preferentemente de modo consecutivo, de modo que preferentemente incida sobre la muestra para la medición en un determinado momento solo la radiación procedente de una única fuente de radiación. La muestra de radiación y la intensidad inicial de las distintas fuentes de radiación están situadas o bien en la unidad de evaluación o se transmiten a ésta en tiempo próximo para ser empleados en un algoritmo de evaluación.

20 Se prefiere especialmente una forma de realización tal en la que las intensidades dependientes de la longitud de onda y del ángulo de dispersión de la radiación dispersa en una muestra para medición se puedan detectar con resolución en el tiempo.

Los haces de rayos de las fuentes de radiación contiguas entre sí encierran preferentemente un ángulo dentro de un campo de unos 20° a 40°.

25 Se obtienen especialmente unos resultados suficientemente satisfactorios en cuanto a la determinación segura del tamaño, de la distribución de tamaños y/o de la concentración por ejemplo de partículas de muestras de medición, si se trabaja por lo menos con cuatro, en particular con por lo menos cinco fuentes de radiación. Para ello es ventajoso si las intensidades de radiación de las fuentes de radiación se pueden ajustar individualmente. Ahora bien, con el dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención se pueden obtener también sin problemas resultados de medida satisfactorios con solamente dos fuentes de radiación.

30 La calidad del dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención se puede incrementar por ejemplo si resulta posible variar la intensidad de radiación de una fuente de radiación dentro de un ciclo de medida. Si una fuente de radiación se activa por ejemplo dos veces dentro de un ciclo de medida, es decir si se enciende y apaga dos veces, la intensidad de la radiación emitida en estos dos procesos de radiación puede ser diferente.

35 Con el dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención se pueden determinar de forma sencilla y segura el tamaño, la distribución de tamaños y/o la concentración de partículas nanoscópicas en una muestra para medición, por ejemplo de consistencia viscosa, fluida o gaseosa. En el sentido de la presente invención se debe entender por partícula nanoscópica o partículas en el campo nanoscópico, unas partículas tales que tengan un tamaño del orden de un nanómetro hasta la longitud de onda de la radiación empleada.

40 El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención es además especialmente adecuado para la determinación del grado de enturbamiento de líquidos, en particular de líquidos de proceso, de cerveza, vino, zumos de frutas, cerveza fermentada de trigo o también de aguas residuales así como de materiales sólidos transparentes que contengan partículas u oquedades nanoscópicas. En general se pueden medir todos los fluidos que se puedan enturbiar con partículas nanoscópicas o partículas en suspensión.

45 El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención es también adecuado para determinar el grado de rugosidad o brillo de las superficies de cuerpos de probetas sólidas.

50 Con ayuda del dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención se puede determinar por ejemplo también el tamaño, la distribución de tamaños y/o la cantidad de los vehículos portadores de los medicamentos en el uso de la formulación de estos medicamentos. Este aspecto no es de escasa importancia por cuanto el tamaño y la distribución de tamaños de los vehículos portadores que generalmente se emplean en la formulación de los medicamentos son esenciales para la eficacia y la velocidad de cesión de estos medicamentos en el organismo. Si por ejemplo durante la formulación de los medicamentos llegan a producirse la aglomeración de los vehículos portadores, esto lleva consigo por lo general una menor eficacia de la forma de aplicación buscada

para el medicamento. El dispositivo de medida conforme a la invención garantiza por primera vez un control sencillo, económico y fiable del comportamiento de los vehículos portadores en la formulación de los medicamentos.

5 El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención es además adecuado para el control del proceso en la fabricación de emulsiones, suspensiones o soluciones.

El dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención puede emplearse además también como fluorímetro, en particular como micro fluorímetro.

10 Es especialmente ventajoso que el dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención permita efectuar con resolución de tiempo la determinación del tamaño, de la distribución de tamaños y/o de la cantidad o de las concentraciones de partículas en una muestra para la medición.

15 Un procedimiento relacionado con la invención es la determinación del tamaño, distribución de tamaños y/o concentración de partículas u oquedades en la gama nanoscópica en una muestra para la medición transparente o viscosa o líquida o gaseosa, la determinación del grado de enturbamiento de tales muestras para la medida o del grado de rugosidad de superficies sólidas de muestras para la medición no transparentes, comprendiendo los siguientes pasos

a) Preparación del dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención,

b) Disposición de una muestra para la medición que se trata de medir en el dispositivo de alojamiento para la muestra para la medición,

20 c) En especial, irradiación sucesiva de la muestra para la medición mediante por lo menos dos fuentes de radiación, comprendiendo la radiación de un espectro de longitudes de onda múltiples o un espectro continuo, mediante haces de rayos a base de rayos esencialmente paralelos,

d) Detección de la radiación dispersada en la muestra para la medición bajo un determinado ángulo, mediante un detector que comprende una entrada del detector, y

25 e) Evaluación de las intensidades de señal detectadas de la radiación dispersa en una unidad de evaluación en función de la longitud de onda y en el ángulo, para la determinación del tamaño, distribución de tamaños y/o concentración de las partículas nanoscópicas presentes en la muestra para la medición o el grado de rugosidad de superficies sólidas.

30 De acuerdo con una realización especialmente preferida del procedimiento afín está previsto que, de forma sucesiva, se capten por lo menos dos, en particular una pluralidad de intensidades de la radiación dispersa de por lo menos dos fuentes de radiación de proyección fija para un proceso de medida dependientes de la longitud de onda y del ángulo, especialmente a intervalos de tiempo cortos, de modo que se pueda realizar una medición de la radiación dispersa dispuesta en el tiempo. Una pluralidad de intensidades dependientes de la longitud de onda y del ángulo, en el sentido de la presente invención, se obtienen por ejemplo porque al utilizar por lo menos dos, en particular por lo menos cuatro o cinco fuentes de radiación, se captan las intensidades de por lo menos diez 35 longitudes de onda. En general son suficientes las mediciones de intensidad dependientes del ángulo mediante el empleo de por lo menos dos, en particular cuatro o cinco fuentes de radiación, para unas diez a 256 longitudes de onda, para poder efectuar las afirmaciones deseadas relativas al tamaño, la distribución o concentración de partículas u oquedades nanoscópicas en muestras para la medición. Naturalmente es posible también realizar mediciones con resolución en el tiempo, en las que se miden las intensidades de más de 256 longitudes de onda en 40 función del ángulo de dispersión. Para el procedimiento según la presente invención se puede recurrir por principio hasta a unos 4.000 puntos de medida de longitud de onda. El procedimiento empleado permite por lo tanto obtener la matriz de 3 valores característica de una muestra para la medición en un momento determinado, compuesta por puntos de evaluación del parámetro de ángulo de dispersión/longitud de onda/intensidad.

45 De este modo se tiene la posibilidad de captar en la unidad de evaluación una pluralidad de señales o muestras de señales consecutivas en el tiempo, memorizándolas y en particular analizándolas teniendo en cuenta esta secuencia en el tiempo. Se entiende por intervalos cortos en el sentido de la presente invención los que comprendan por ejemplo separaciones del orden de micro o milisegundos hasta segundos. En consecuencia se pueden captar una pluralidad de señales respectivamente con una separación de microsegundos o milisegundos hasta segundos. Las separaciones entre las distintas mediciones se pueden variar dentro de una serie de 50 mediciones o se pueden mantener constantes. Las separaciones entre mediciones de intensidad consecutivas dependientes del ángulo y de la longitud de onda de la radiación dispersa se pueden por lo tanto elegir tan cortos que, sin más, están disponibles otras modificaciones de las partículas por ejemplo la variación de tamaño, de distribución o concentración a lo largo del tiempo. Por ejemplo se puede efectuar cada diez milisegundos una medición de la intensidad dependiente del ángulo y de la longitud de onda de la radiación dispersada en la muestra

para la medición. Las intensidades dependientes de la longitud de onda se captan preferentemente bajo diferentes ángulos de dispersión y de modo sucesivo. Para ello se van conectando y se vuelven a desconectar por ejemplo sucesivamente diferentes fuentes de radiación. Las fuentes de radiación, preferentemente pero no necesariamente fuentes de radiación respectivamente contiguas entre sí, se van recorriendo para ello de modo sucesivo, de forma que a cada radiación de una determinada fuente de radiación y debido a la proyección de ésta con relación a la muestra para la medición se le pueda asignar un determinado ángulo de dispersión. La intensidad de la radiación de salida de una fuente de radiación también es conocida o se puede determinar. En consecuencia, se puede obtener una medición con resolución en el tiempo, detectando o siguiendo la intensidad dependiente de la longitud de onda en función del ángulo de dispersión a intervalos más cortos, es decir con mayor rapidez de lo que tiene lugar la modificación de las partículas detectadas.

El procedimiento empleado aprovecha especialmente la circunstancia de que las fuentes de radiación del dispositivo de medida se pueden conectar y desconectar de forma sucesiva siguiendo una muestra predeterminada. Las fuentes de radiación contiguas se conectan y desconectan preferentemente siempre de forma sucesiva. Pero por principio la secuencia de los procesos de conexión y desconexión para las fuentes de radiación existentes en un dispositivo de medida se puede elegir libremente, por ejemplo también de modo repetible total o parcialmente y pudiendo ajustarla por lo tanto óptimamente de acuerdo con el respectivo problema de análisis.

Por lo tanto es de especial ventaja si por lo menos las fuentes de radiación, en particular las contiguas, se conectan y desconectan de modo simultáneo o respectivamente una tras otra. Un perfeccionamiento se caracteriza además porque por lo menos una fuente de radiación se conecta y desconecta de modo pulsante y porque por lo menos otra fuente de radiación, en particular todas las restantes fuentes de radiación, están radiando de modo continuo durante el proceso de medición. Para ello es especialmente ventajosa una forma de proceder en la que por lo menos dos, en particular la totalidad de fuentes de radiación se conectan y desconectan de modo síncrono o asíncrono de modo pulsante.

Ha resultado especialmente eficaz utilizar para la evaluación solamente aquellas señales dispersas o señales de luz dispersa que se obtienen cuando solamente está conectada una fuente de radiación. Las señales dispersas o señales de luz dispersa que se obtienen durante los procesos de conexión y desconexión que se solapan, de dos o más fuentes de radiación, se deben preferentemente desprestigiar para la determinación del tamaño, de la distribución de tamaños y/o de la cantidad de partículas en una muestra para la medición o para la determinación de la rugosidad de la superficie de un cuerpo de probeta sólido. Por lo tanto la probeta de medición no se irradia en esta modalidad simultáneamente con dos o varias fuentes de radiación para asegurar de este modo unas señales dispersas o señales de luz dispersa que se puedan evaluar de forma óptima.

Con el procedimiento afín descrito anteriormente así como con el procedimiento de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención se pueden por lo tanto captar, memorizar y evaluar intensidades dependientes de la longitud de onda y del ángulo de la radiación dispersada en una probeta de medición. Mediante teorías de dispersión conocidas para partículas tales como dispersión Mie, dispersión Rayleigh o dispersión Rayleigh-Gans-Debye se puede efectuar entre otras una adaptación de los parámetros de estas teorías de dispersión tal como al radio de las partículas que realizan la dispersión o su índice de refracción mediante procedimientos de mínimo cuadrático. De acuerdo con una forma de realización se puede captar dentro del marco de una evaluación cualitativa o semicualitativa la intensidad dependiente de la longitud de onda y del ángulo de la radiación dispersa, y a continuación en función de estas dos variables se puede memorizar en forma de un campo de líneas características. A continuación de esto puede tener lugar un calibrado absoluto por medio de las muestras de medición de concentración conocida y el tamaño de partículas conocido. Por último se puede utilizar un análisis de gradientes para determinar la modificación de la densidad de los centros de dispersión y de su tamaño. Este campo de líneas características representa en este caso una función continua y unívoca de dos variables.

En cirugía, por ejemplo en cirugía cardíaca o también en otras intervenciones quirúrgicas tales como trasplantes, se reduce notablemente la coagulación de la sangre durante la intervención con ayuda de heparina aplicada por vía intravenosa, de modo que en el organismo está presente lo que se llama sangre heparinizada. Para ello se emplea por lo general heparina de alto peso molecular no fraccionada. La dosificación de la heparina tiene lugar por lo general de modo empírico según el peso del cuerpo del paciente (aprox. 1,5 a 1,8 mm/kg). Las cantidades de heparina determinadas de este modo representan por lo general una aportación de heparina que no está adaptada de modo óptimo a las circunstancias individuales.

Por este motivo, se comprueba en la actualidad la cantidad de heparina presente en la sangre durante la operación sirviéndose de los llamados ensayos ACT (activated clotting time). Un procedimiento de esta clase se encuentra por ejemplo descrito en el documento EP 1 221 620 A1. Aquí mediante la administración de anticoagulantes adecuados, por ejemplo el factor X_a , se comprueba el tiempo que transcurre hasta la coagulación de la sangre. Este procedimiento requiere unas cantidades relativamente grandes de muestras de sangre, es todavía relativamente impreciso y además requiere mucho tiempo. Una vez terminada una operación, por ejemplo una operación de

bypass, es preciso neutralizar la heparina aplicada que todavía está activa, lo que generalmente se realiza mediante administraciones de protamina. Si la cantidad de heparina había sido determinada de forma errónea o demasiado imprecisa pueden surgir problemas relacionados con la dosificación de una cantidad adecuada de protamina. En el caso de una dosificación insuficiente de protamina no se pueden excluir hemorragias internas, mientras que en el caso de una dosis excesiva de protamina hay que contar con coagulaciones post operativas.

De acuerdo con la presente invención se proporciona un procedimiento para la determinación de la proporción de heparina, especialmente en muestras de sangre heparinizada o suero sanguíneo heparinizado, comprendiendo los pasos siguientes:

a) Presentación de un dispositivo de medida,

b) Disposición de una muestra de sangre o suero sanguíneo, especialmente heparinizado, en el dispositivo de alojamiento para la muestra para la medición, que ya está mezclada con por lo menos un antagonista de la heparina y/o que si se encuentra presente en el dispositivo de alojamiento, se mezcla con por lo menos un antagonista de la heparina formando un complejo de heparina/antagonista,

c) Irradiación, especialmente sucesiva, con por lo menos dos fuentes de radiación, comprendiendo la radiación de un espectro de longitudes de onda múltiples o un espectro continuo, con haces de rayos a base de rayos especialmente paralelos,

d) Detección de la radiación dispersada en la muestra para la medición bajo un determinado ángulo mediante un detector que comprende una entrada al detector, y

e) Evaluación en función de la longitud de onda y del ángulo, de las intensidades de señal detectadas en una unidad de evaluación para determinar la concentración del complejo de heparina/antagonista presente en la muestra para la medición.

Las por lo menos dos fuentes de radiación distanciadas respectivamente entre sí y distanciadas de la muestra para la medición tienen preferentemente un emplazamiento fijo. En este caso no se mueve generalmente la fuente de radiación durante la medición en su posición relativa a otra fuente de radiación contigua o a fuentes de radiación contiguas así como respecto a la muestra para la medición. La determinación de la heparina resulta especialmente ventajosa si se conectan y desconectan de modo simultáneo o respectivamente sucesivo por lo menos dos fuentes de radiación, en particular contiguas. Para ello puede estar previsto especialmente que las fuentes de radiación se conecten y desconecten de modo sucesivo siguiendo una muestra predeterminada. En otro perfeccionamiento de este procedimiento está además previsto que por lo menos una fuente de radiación se conecta y desconecta de modo pulsante y que por lo menos una otra fuente de radiación, en particular todas las otras fuentes de radiación, estén radiando de modo continuo durante el proceso de medición. Para esto es especialmente ventajoso según otra realización, que por lo menos dos, en particular todas las fuentes de radiación se conecten y desconecten de modo síncrono o asíncrono de forma pulsante. Para ello es especialmente ventajoso si para la evaluación se recurre únicamente a aquellas señales de luz dispersa que se obtienen cuando solamente está conectada una fuente de radiación. Una forma de proceder preferente se caracteriza finalmente porque dos o más fuentes de radiación no irradian simultáneamente la muestra para la medición, para obtener unas señales de luz dispersa que se puedan evaluar.

De acuerdo con una realización especialmente preferida del procedimiento conforme a la invención, está previsto que se capten por lo menos dos, en particular una pluralidad de intensidades de la radiación dispersa dependiente de la longitud de onda y del ángulo, de una o por lo menos dos fuentes de radiación de modo sucesivo, en particular a intervalos de tiempo breves, de modo que en la radiación dispersa se pueda efectuar una medición con resolución en el tiempo. Las indicaciones hechas anteriormente respecto a la medición con resolución en el tiempo se aplican aquí de modo análogo.

Con el procedimiento conforme a la invención para la determinación de la proporción de heparina. por ejemplo en muestras de sangre o suero sanguíneo heparinizado, se proporciona un método rápido y preciso para la determinación del nivel de heparina. Especialmente en los pacientes con superior sensibilidad a la heparina se pueden ajustar con gran exactitud.

Como antagonista se emplea preferentemente una proteína básica, en particular protamina. Resulta especialmente ventajoso añadir el antagonista en exceso, referido a la cantidad de heparina presente en la muestra para la medición. Con este procedimiento se puede determinar con exactitud el contenido de heparina, mediante la determinación, especialmente con resolución en el tiempo, del enturbiamiento de la muestra de sangre o muestra de suero sanguíneo.

Otros detalles y ventajas de la presente invención se describen a continuación con mayor detalla mediante las figuras citadas a continuación. Estas muestran:

la figura 1, una representación esquemática de un dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención; y

la figura 2, una representación esquemática de una forma de realización afin de un dispositivo de medida empleado en el procedimiento conforme a la invención.

5 De la figura 1 se puede deducir un dispositivo de medida 1 que comprende cuatro fuentes de radiación 2, 4, 6 y 8
 10 distanciadas entre sí, que irradian respectivamente un espectro de longitudes de onda múltiples, en particular un
 espectro continuo. En la forma de realización representada, las fuentes de radiación 2, 4, 6 y 8 así como la unidad
 de alojamiento están situadas en un plano a lo largo del perímetro de una circunferencia. En la zona del punto
 central de la circunferencia está situado el dispositivo de alojamiento de las muestras 26. Las vías de radiación del
 15 transmisor y el receptor discurren en dirección radial con respecto a esta circunferencia. Con el fin de obtener unos
 rayos paralelos o casi paralelos hay después de cada fuente de radiación o luz una lente colimadora 10, 12, 14 y
 18. Los rayos paralelos generados 18, 20, 22 y 24 están todos ellos dirigidos a una muestra 28 existente en una
 cubeta de medida 26 en el centro de la circunferencia (imaginaria). La muestra 28 puede ser por ejemplo cerveza
 de trigo fermentada turbia o aguas residuales que contengan partículas en suspensión. Las fuentes de radiación 2,
 4, 6 y 8 así como la unidad de alojamiento 30 están dispuestas de modo fijo unas respecto a otras al igual que el
 dispositivo de alojamiento de las muestras 26. Los rayos luminosos paralelos de fuentes de radiación contiguas
 encierran un ángulo constante. En el caso presente, el ángulo entre haces de rayos contiguos es cada vez de 30°. Referidos al eje que pasa por el detector 30 y el recinto de alojamiento de la muestra 26, los respectivos haces de rayos se encuentran por lo tanto en un ángulo de 0°, 30°, 60° o 90°. Por medio de la lente colimadora 34 se acopla la radiación dispersa dirigida en sentido hacia la unidad de alojamiento 30 en un fotoconductor y se conduce a un detector. Para ello se puede tratar por ejemplo de un detector CCD que detecta la intensidad de la radiación dispersa incidente en función de la longitud de onda.

Las partículas presentes en la muestra para medición situadas en el recinto de alojamiento de la muestra 26 se miden de acuerdo con una forma de realización de modo que las fuentes de radiación 2, 4, 6 y 8 se conectan y desconectan sucesivamente. De este modo se puede obtener en solo pocos segundos de tiempo de medición y mediante la combinación de distintos ángulos, un conjunto de datos de intensidades dependientes de la longitud de onda y del ángulo, que representa el comportamiento de dispersión de las partículas que se trata de analizar, y esto empleando la totalidad del espectro de emisión de los distintos radiantes. Estos radiantes pueden ser por ejemplo diodos luminosos de luz blanca. De este modo se puede realizar una determinación de la intensidad de la radiación dispersa, con resolución en el tiempo, en función del ángulo de dispersión y de la longitud de onda, empleando la totalidad del espectro de emisión de un radiante. El conjunto de datos obtenido se puede normalizar sin más también a un determinado tamaño absoluto de partículas por ejemplo mediante ultracentrifugación analítica.

La figura 2 muestra una forma de realización de una variante conforme a la invención de un dispositivo de medida 1'. A diferencia del dispositivo de medida según la figura 1, no se mide en el presente dispositivo de medida un líquido de medida presente en un recinto de alojamiento de la muestra, sino la superficie 50 de un cuerpo de probeta sólido 52. Igual que en el dispositivo según la figura 1, las fuentes de radiación 2, 4, 6 y 8 están dispuestas en la periferia de una circunferencia, y orientadas al punto central de esta circunferencia, donde se encuentra al menos también una sección de la superficie 50 del cuerpo de la probeta 52 que se trata de medir. También aquí se asegura que sobre la superficie de la muestra 50 incidan esencialmente radiaciones paralelas mediante el empleo de colimadores 10, 12, 14 y 16. También en la unidad detectora 30 dispone de un colimador 34 y también está situada sobre el perímetro de la circunferencia citada. Las fuentes de radiación 2, 4, 6 y 8 están dispuestas de tal modo que los haces de rayos que parten de éstas encierran un ángulo de 120, 180, 60 o 30° respecto a la superficie de la muestra. La unidad de detección 30 está dispuesta de tal modo en el perímetro de la circunferencia (imaginaria), que se capta la radiación dispersa que se dispersa en el punto central de la circunferencia con un ángulo de 30° referido a la superficie de la muestra. La detección y evaluación tiene lugar esencialmente del mismo modo que en el dispositivo de medida según la figura 1. Con el dispositivo de medida descrito en la figura 2 se puede determinar sin más la rugosidad superficial, la coloración y/o el brillo de superficies de muestras.

REIVINDICACIONES

1.- Procedimiento para la determinación de la proporción de heparina en muestras de sangre o de suero sanguíneo, comprendiendo

5 a) la presentación de un dispositivo de medida (1) comprendiendo un dispositivo de alojamiento (26) para una muestra para la medición (28) que se trata de medir, un detector (32), comprendiendo por lo menos una entrada del detector, una unidad de evaluación y por lo menos dos fuentes de radiación (2, 4, 6, 8) distanciadas respectivamente entre sí y distanciadas de la muestra para la medición, que presentan un espectro de longitudes de onda múltiples o un espectro continuo y cuyas intensidades de radiación son ajustables y/o determinables, donde por medio de las fuentes de radiación (2, 4, 6, 8) se pueden emitir sendos haces de rayos (18, 20, 22, 24), de rayos esencialmente paralelos en dirección hacia una muestra para la medición (28), y donde los haces de rayos (18, 20, 22, 24) que se pueden dirigir sobre la muestra para la medición (28), de diferentes fuentes de radiación (2, 4, 6, 8) están orientados o se pueden orientar con diferentes ángulos sobre la muestra para la medición (28), con relación al eje formado entre la unidad detectora (30) y la muestra para la medición (28),

15 b) la disposición de una muestra de sangre o suero sanguíneo (28) en el dispositivo de alojamiento (26) para la muestra para la medición, que ya está mezclada con por lo menos un antagonista de la heparina y/o que cuando está presente en el dispositivo de alojamiento (26) se mezcla con por lo menos un antagonista de la heparina formando un complejo de heparina/antagonista,

20 c) irradiación de la muestra para la medición (28), en particular de forma sucesiva, con por lo menos dos fuentes de radiación (2, 4, 6, 8), comprendiendo la radiación de un espectro de longitudes de onda múltiples o un espectro continuo mediante haces de rayos (18, 20, 22, 24), de rayos especialmente paralelos,

d) detección de la radiación dispersada en la muestra para la medición (28) bajo un determinado ángulo, mediante el detector (32), y

25 e) evaluación de las intensidades de señal detectadas en la unidad de evaluación, en función de la longitud de onda y del ángulo, para determinar la concentración del complejo de heparina/antagonista presente en la muestra para la medición (28).

2.- Procedimiento según la reivindicación 1, **caracterizado porque** el antagonista es una proteína básica, comprendiendo en particular protamina.

3.- Procedimiento según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado porque** el antagonista se añade en exceso con relación a la cantidad de heparina presente en la muestra para la medición (28).

30 4.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque** se determina el contenido de heparina por medio de la determinación, especialmente con resolución en el tiempo, del enturbamiento de la muestra de sangre o de la muestra de suero sanguíneo.

35 5.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado porque** por lo menos una fuente de radiación (2, 4, 6, 8) se conecta y desconecta de modo pulsante y que por lo menos una otra fuente de radiación (2, 4, 6, 8), en particular todas las demás fuentes de radiación (2, 4, 6, 8) están irradiando de modo continuo durante el proceso de medición.

6.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado porque** para la evaluación solamente se recurre a aquellas señales de radiación dispersas que se obtienen cuando solamente está conectada una fuente de radiación (2, 4, 6, 8).

40 7.- Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque** por lo menos se captan sucesivamente, en particular a intervalos de tiempo breves, por lo menos dos, en particular una pluralidad de intensidades de la radiación dispersa procedente de una o por lo menos dos fuentes de radiación (2, 4, 6, 8) de forma sucesiva, dependientes de la longitud de onda y dependientes del ángulo, en particular a intervalos breves, de modo que pueda realizarse una mediación de la radiación dispersa con resolución en el tiempo.

45

Fig. 1

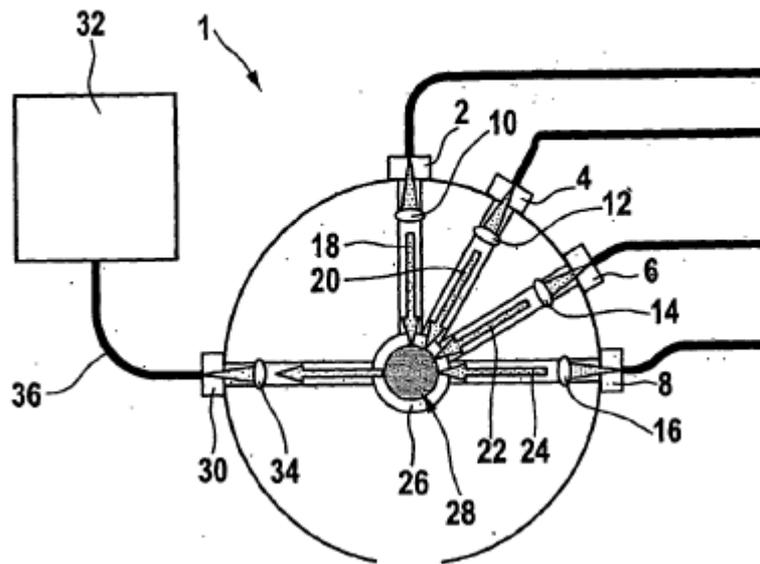


Fig. 2

