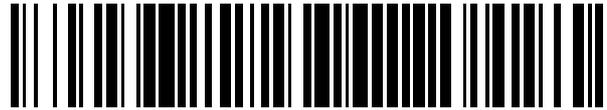


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 907**

51 Int. Cl.:

**G01N 1/28**

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.02.2018 E 18157049 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3376202**

54 Título: **Separación de líquido en gotas y material sedimentado encerrado en las mismas**

30 Prioridad:

**16.03.2017 DE 102017105600**

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

**02.04.2020**

73 Titular/es:

**BRUKER DALTONIK GMBH (100.0%)  
Fahrenheitstrasse 4  
28359 Bremen, DE**

72 Inventor/es:

**SCHÜRENBERG, MARTIN y  
VOSSGRÖNE, ALEXANDER**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 751 907 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**

Separación de líquido en gotas y material sedimentado encerrado en las mismas

**Campo de la invención**

5 La invención se refiere a métodos para el trasvase de un líquido a partir de gotas individuales que están en una configuración predefinida (especialmente regular) sobre un sustrato liso y tienen material sedimentado encerrado en las mismas. El método puede usar una máscara de un material absorbente con una forma sustancialmente rectangular que tiene un patrón predeterminado (regular) de hendiduras u orificios con el fin de separar el líquido y el material sedimentado encerrado en las mismas.

**Antecedentes de la invención**

10 Es necesario separar con precaución el líquido del material sedimentado encerrado en el mismo para que se elimine la menor cantidad posible de material sedimentado junto con el líquido en el proceso de separación, al tiempo que los constituyentes sedimentados (es decir, todavía en suspensión) se encuentren todavía para su trasvase con el líquido.

15 La técnica anterior se explica con referencia a un aspecto especial. No obstante, no se comprende como limitación. Los desarrollos adicionales útiles y las modificaciones de lo que se conoce como técnica anterior se pueden usar anteriormente y más allá del alcance comparativamente estrecho de la presente introducción, y resultará fácilmente evidente para el experto en la técnica del presente campo tras la lectura de la siguiente divulgación.

20 Los ensayos preliminares han mostrado que los microorganismos que están suspendidos en una gota de líquido de nutriente en un sustrato liso se acumulan en un sedimento de microorganismos tras un tiempo de espera relativamente corto (o "tiempo de reposo") de hasta una hora. Los microorganismos que se sedimentan en un tipo de "biopelícula" se pueden separar con precaución a partir del líquido residual y la materia particulada suspendida restante, poniendo una tela absorbente en contacto con las gotas, por ejemplo. Después de esta "deshidratación", es posible la determinación fiable de las especies de microorganismos con una medición espectrométrica de masas posterior, como se muestra en la solicitud internacional PCT/DE2016/100561 que porta el número de publicación WO-A1-2018099500.

25 Este descubrimiento resultó asombroso porque, en contra de las expectativas, se encontró que el sedimento celular de los microorganismos de interés no se eliminó junto con el líquido de trasvase. El presente descubrimiento permite el cultivo (o incubación) de microorganismos que favorecen la proliferación y la separación para la medición analítica en el mismo sustrato, tal como una placa de soporte de muestra para la inserción de la fuente de iones de un espectrómetro de masas.

30 Todavía no se ha desarrollado una explicación científica completa para el presente comportamiento microbiano en una gota de un sustrato liso. Se asume, no obstante, que las interacciones físicas entre la superficie de la placa y las células de los microorganismos, y el proceso de adhesión provocado por las propiedades bioquímicas y biofísicas de la superficie celular de los microorganismos, son responsables de la unión preferida o sedimentación sobre el sustrato.

La lectura de la divulgación siguiente sugiere a la persona experta en la técnica objetivos adicionales a lograr por medio de la invención.

**35 Sumario de la invención**

Generalmente, la invención se refiere a métodos de trasvase de líquido a partir de gotas individuales que están en una configuración predefinida (especialmente regular) sobre un sustrato liso y tienen material sedimentado encerrado en las mismas, como se define en las reivindicaciones independientes 1 y 8.

40 De acuerdo con un primer aspecto que se define en la reivindicación independiente 1, la invención se refiere a un método en el que una máscara de material absorbente que preferentemente tiene un patrón de hendiduras u orificios que corresponde al menos en parte a la configuración predefinida de las gotas individuales, se coloca encima del sustrato liso de tal manera que el centro de las hendiduras u orificios y el centro de las gotas estén sustancialmente por encima uno de otro en cada caso. Los bordes de las hendiduras u orificios entran en contacto con las partes periféricas de las gotas individuales en cada caso, al tiempo que el material sedimentado permanece sin contacto y, de este modo, el líquido es trasvasado al interior del material absorbente.

45 Una gran ventaja en comparación con la técnica anterior es que el líquido procedente de grandes números de gotas (iguales) se puede eliminar simultáneamente con una máscara de material absorbente. Como sustrato liso, se puede revestir una placa de soporte de muestra con gotas de líquido en una diversidad o incluso una totalidad de puntos, por ejemplo, y mediante aplicación de la máscara con el patrón de hendiduras u orificios, es posible separar las partículas sedimentadas en todas las gotas de forma simultánea a partir del líquido que, de lo contrario, interferirían con el procesado posterior. Además, el diseño de la máscara con las hendiduras u orificios cuyas dimensiones se adaptan, en el sentido más amplio, al tamaño de las gotas objeto de absorción garantiza que el líquido se pueda trasvasar simultáneamente sobre la circunferencia completa de la gota (360°), lo cual acelera el proceso y optimiza la utilización de la absorción de líquido del material de máscara.

Una ventaja adicional es que – a diferencia de una placa o tela de material absorbente sin hendiduras u orificios – se puede escoger la separación vertical entre el material absorbente de la máscara y el sustrato liso para que sea más o menos la deseada. Incluso es posible escoger la presión con la que se aplica la máscara al sustrato liso más o menos según se desee. Esto aumenta la robustez de manipulación de forma considerable. Otras realizaciones del método que usan placas rígidas de material absorbente, sin que estén perfiladas necesariamente con hendiduras o perforadas con orificios, se describen a continuación de forma adicional.

Las gotas, en particular, pueden contener principalmente líquido que se usa en métodos de preparación de muestra y métodos de procesado de muestra para espectroscopia de infrarrojos o espectrometría de masas. Las gotas pueden contener líquido de nutriente, por ejemplo, y el material sedimentado puede comprender microorganismos cultivados en la presente gota de líquido de nutriente y se puede precipitar a continuación. La separación del líquido de nutriente de los microorganismos sedimentados puede, en particular, servir como etapa de procesado de una muestra para identificación por espectroscopia de infrarrojos o espectrometría de masas (por ejemplo, por medio de espectroscopia de transmisión de IR o espectrometría de masas de tiempo de vuelo MALDI), de acuerdo con especies/subespecies, u otra caracterización de los microorganismos, tal como la determinación rápida de resistencia/sensibilidad de los microorganismos frente a sustancias antimicrobianas.

De manera adicional o alternativa, las gotas pueden contener un líquido de lavado usado para un procedimiento de procesado de muestra (por ejemplo, una disolución acuosa o agua desionizada pura) u otro medio de procesado de líquido. Por ejemplo, el líquido de lavado de los puntos de muestra que se han revestido con una muestra previamente seca o con una sustancia de matriz seca y la muestra se pueden trasvasar con la máscara. Preferentemente, el líquido de lavado se escoge de manera que la sustancia de matriz o la estructura reticular cristalina de matriz con cristales de muestra intercalados no se disuelva, por ejemplo, con una preparación de afinidad por ácido  $\alpha$ -ciano-4-hidroxicinámico para desalación in situ (como se muestra en Gobom y col., Anal. Chem. 73, 2001, 434-438).

En diversas realizaciones, se puede usar una placa metálica o cerámica como sustrato liso. Las posibles placas son, en particular, planchas de acero inoxidable pulido o modificaciones de las mismas, tal como las denominadas placas de anclaje (AnchorChip™; Bruker Daltonik GmbH), que contienen secuencias de áreas liófilas y liófilas delimitadas y alternantes sobre el sustrato de acero inoxidable. La placa puede ser reutilizable o desechable.

En el análisis espectroscópico o de espectrometría masas en particular, se pueden disponer 48, 96, 384 o 1536 gotas individuales con un patrón predefinido (y regular) sobre el sustrato liso. El material sedimentado encerrado en las gotas individuales puede contener microorganismos, por ejemplo.

Los volúmenes normales de gota pueden ser de aproximadamente uno a doce microlitros. Estos volúmenes en las gotas de conformación uniforme corresponden aproximadamente a un diámetro de dos a tres milímetros por encima del sustrato liso. Por supuesto, también es posible diseñar el sustrato liso con puntos de gota preferidos, por ejemplo, áreas circulares lipófilas en el entorno liófilo. El diámetro de las gotas se ajusta posteriormente por sí mismo para adaptarse a la dimensión del área circular liófila, como sucede con las placas de anclaje estandarizadas de tipo AnchorChip™.

En diversas realizaciones, la máscara y el sustrato liso se pueden mover ligeramente uno con respecto al otro (indicado como ligero movimiento de limpieza horizontal) con el fin de garantizar que todas las gotas individuales entren en contacto con las hendiduras correspondientes o bordes de orificios y, de este modo, se garantice la eliminación eficaz (por ejemplo, teniendo en cuenta la falta de precisión cuando se aplican las gotas). Tan pronto como se produce el contacto, el líquido se trasvasa desde la gota en un tiempo muy reducido por medio de las fuerzas capilares del material absorbente; el material sedimentado, por otra parte, permanece en el sitio sobre el sustrato liso y se puede tratar o procesar de forma adicional.

Preferentemente, el diámetro promedio de gota puede ser ligeramente mayor que el diámetro de hendidura u orificio. Si se usan diferentes volúmenes de gota para diferentes procedimientos, es posible proporcionar máscaras correspondientes que tengan tamaños diferentes. En los casos en los que las gotas están dispuestas sobre parches particularmente hidrófilos en entornos hidrófobos (por ejemplo, placas AnchorChip™), los diámetros de las hendiduras u orificios son consiguientemente menores que los parches de anclaje.

Se puede proporcionar un bastidor o una guía vertical para el sustrato liso, en cuyo interior se inserta la máscara, lo cual contribuye a guiar y alinear la máscara a medida que se baja sobre la configuración de gota. El bastidor se puede fijar a la máscara, por ejemplo, doblando un borde personalizado de proyección del material absorbente y posteriormente mediante impregnación del mismo con un material plástico que posteriormente se endurece. El bastidor también se puede unir a la circunferencia externa de la máscara usando un plástico moldeado por inyección.

En diversas realizaciones de los métodos, la máscara consiste en una tela gruesa y flexible de material absorbente que se monta lateralmente de forma tensa en un bastidor de soporte adjunto (tipo membrana).

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención tal y como se define por medio de la reivindicación independiente 8, se coloca una placa rígida (y lisa) de un material absorbente encima del sustrato liso usando una cresta espaciadora, que se coloca lateralmente con respecto a una configuración predefinida, de manera que se evite que el material absorbente y el sustrato liso entren en contacto al tiempo que se facilita que las partes que sobresalen de las gotas

individuales entre en contacto con el material absorbente, como resultado del líquido que se trasvasa dentro del mismo. La cresta espaciadora se puede diseñar y configurar para mantener una distancia de aproximadamente un tercio a aproximadamente la mitad del diámetro de gota por encima de la superficie del sustrato liso, por ejemplo. Las ventajas principales de la presente variante son que (i) no existe alineación especial de la configuración predefinida y la placa rígida necesaria y (ii) apenas nada de desgaste o desgarro de la superficie del sustrato liso que porta las gotas ya que funciona completamente sin contacto físico.

Huelga decir que todas las características e implementaciones explicadas previamente en el contexto del primer aspecto no aplican igualmente a la presente variante, en caso de ser aplicable.

Mediante el uso de la placa rígida y la cresta espaciadora, se pueden separar simultáneamente las partículas sedimentadas en todas las gotas a partir del líquido que, de lo contrario, interferirían con el procesado posterior. Tanto pronto como tenga lugar el contacto, se trasvasa el líquido desde la gota en un tiempo muy reducido por medio de las fuerzas capilares del material absorbente; por otra parte, el material sedimentado permanece en el sitio sobre el sustrato liso (sin contacto) y se puede tratar o procesar de forma adicional.

Se puede proporcionar un receptáculo que alberga el sustrato liso y que comprende la cresta espaciadora, tal como un saliente mayor que rodea la configuración predefinida sobre la periferia completa (360°). Adicional o alternativamente, la cresta espaciadora puede estar ubicada en la superficie de la placa cerca de los bordes de la misma que miran hacia el sustrato liso, lo que facilitaría los requisitos de diseño del receptáculo, por ejemplo. Si se usan diferentes volúmenes de gota para diferentes procedimientos, a modo de ejemplo, es posible proporcionar placas rígidas con crestas espaciadoras correspondientes que sean de diferentes tamaños.

Para el uso en los métodos presentados anteriormente, si resulta de aplicación, la máscara de material absorbente puede tener forma sustancialmente rectangular, con un patrón predefinido (especialmente regular) de hendiduras u orificios.

Preferentemente, la máscara está fabricada a partir de un material rígido. Puede estar fabricada a partir de un papel de filtro perforado o perfilado, un material no tejido o cartón, por ejemplo. Los materiales son particularmente apropiados para procedimientos automatizados de trasvase de líquido. Usando dispositivos de manipulación especialmente adaptados tales como brazos de robots, es posible retirar fácilmente las máscaras rígidas de un lugar de almacenamiento, fijarlas en el interior de un receptáculo adaptado, transportarlas hasta la etapa de eliminación de líquido y posteriormente dejarlas en el lugar deseado, y eliminarlas, si fuese necesario.

Para producir las máscaras, es posible tomar una longitud de material absorbente, cortar las piezas de la máscara con un tamaño que se ajuste al contorno externo deseado de la máscara y posteriormente presionar o cortar el patrón predefinido de hendiduras u orificios en las mismas, por medio de perforación, por ejemplo. En particular, si se va a usar en un laboratorio microbiológico, resulta recomendable escoger las dimensiones externas de la máscara de manera que el líquido eliminado, junto con cualesquiera microorganismos que puedan estar suspendidos en el mismo, no puedan penetrar en el borde externo o la parte superior de la máscara, incluso cuando el líquido se absorbe por completo, con el fin de que la máscara se pueda sujetar y mover sin riesgo alguno de contaminación.

#### Breve descripción de las ilustraciones

La invención se comprende mejor haciendo referencia a las figuras siguientes. Los elementos de las ilustraciones no necesariamente están a escala, sino que pretenden ilustrar fundamentalmente los principios de la invención (de forma fundamentalmente sistemática). En las figuras, números de referencia iguales designan elementos correspondientes en las diferentes vistas.

La Figura 1 es un diagrama esquemático de una realización a modo de ejemplo de una máscara de un material absorbente con 96 orificios (dispuestos en 8 filas y 12 columnas).

Las Figuras 2A-2C proporcionan una ilustración equivalente de una realización de los métodos.

La Figura 3 es un diagrama esquemático de una realización a modo de ejemplo de una máscara de un material absorbente con hendiduras en lugar de orificios.

Las Figuras 4A y 4B proporcionan una ilustración equivalente del uso de una máscara con bastidor correspondiente o guía vertical con la finalidad de alineación y guía.

Las Figuras 5A-5C presentan otra ilustración de una realización adicional de los métodos.

#### Descripción detallada

Aunque se ha ilustrado y explicado la invención con referencia a un número de realizaciones diferentes, los expertos en la técnica reconocerán que se pueden realizar diversos cambios en forma y detalle sin apartarse por ello del alcance de las consideraciones técnicas como se define en las reivindicaciones adjuntas.

La Figura 1 muestra una vista en planta de una máscara de forma rectangular (10), que tiene una matriz de 96 orificios

(12) dispuestos en una rejilla de nueve milímetros, en una configuración de ocho filas por doce columnas. No obstante, también se pueden concebir matrices más pequeñas (por ejemplo 48) o más grandes (por ejemplo 384). Generalmente, la matriz puede corresponder a la configuración de puntos de muestra en un soporte de muestra estándar y convencional para ionización, por medio de desorción láser asistida por matriz (MALDI). Las dimensiones de la máscara (10) pueden ser de 127,76 mm (longitud) x 85,48 mm (anchura), que corresponden a una placa de microvaloración, con un espesor de alrededor de dos a cinco milímetros.

La Figura 2A muestra una configuración de gotas iguales (14) en una fila de ocho sobre un sustrato liso que puede corresponder a una placa (16) de soporte de muestra MALDI. Una máscara (10) de un material absorbente, que tiene una matriz de orificios (12) dispuestos en sentido opuesto a todas las gotas (14), se encuentra ubicada por encima del sustrato liso. Cada punto de muestra sobre la placa de soporte (16), de este modo, tiene un orificio opuesto (12). La máscara (10) se mueve lentamente hacia el sustrato, donde las gotas (14) entran en contacto con el material absorbente en los bordes de orificio una vez que la máscara ha bajado hasta un cierto punto, de forma que el líquido se elimina de las gotas (14) lateralmente por medio de fuerzas capilares, Figura 2B.

El movimiento de bajada puede concluir cuando la máscara (10) se encuentra dispuesta sobre el sustrato liso, como se muestra; también es posible mantener la máscara (10) ligeramente por encima del sustrato sin que se produzca contacto alguno. Esto puede evitar la dispersión lateral del líquido de la gota en el espacio que existe entre la máscara (10) y el sustrato, lo cual puede conducir a la contaminación mutua de las gotas individuales (14). Con el fin de garantizar que cada gota (14), incluso cuando se aplica de forma ligeramente asimétrica o no cubre todo el punto de muestra, entre en contacto con el material absorbente de la máscara (10), se puede mover la máscara (10) lateral y frontalmente de manera ligera, como viene indicado por la flecha de doble sentido (18).

La absorción lateral del líquido a partir de la gota, partiendo de la mitad de la misma, se completa en un período de tiempo muy reducido, normalmente unos pocos segundos hasta alrededor de un minuto como máximo. Posteriormente, la máscara (10) se puede elevar de nuevo y retirar, Figura 2C. El líquido eliminado se mantiene de forma segura en la matriz capilar de la máscara (10), para que así no haya riesgo de una nueva caída a medida que se produce la elevación, contaminando con ello el sustrato liso. Por el contrario, es una forma muy segura y fiable de eliminar el líquido. Típicamente la máscara parcialmente saturada (10) se elimina como consumible, lo cual resulta particularmente ventajoso para aplicaciones de microbiología. No obstante, también se podría lavar y posteriormente reutilizar cuando resulte apropiado.

El material sedimentado, tal como microorganismos, que queda encerrado en las gotas (14) no se elimina cuando el líquido se trasvasa con precaución con ayuda de fuerzas capilares. No se produce contacto con los bordes de los orificios (12) (o hendiduras), sino que permanece en el centro del punto sobre la superficie del sustrato liso sobre el cual se depositaron las gotas (14). El material sedimentado, ahora libre en gran medida de líquido, se encuentra disponible para el procesamiento posterior, tal como la preparación de muestra para ionización por medio de desorción láser asistida por matriz o etapas de proceso similares.

La Figura 3 muestra una vista lateral esquemática de una fila de ocho hendiduras que, por ejemplo, se han comprimido para dar lugar a una tela de máscara rígida tal como un material no tejido. Cuando las hendiduras se diseñan de manera apropiada y se adaptan a la forma de gota esperada, el líquido puede entrar en contacto no solo con el borde (como en la versión de orificio) sino también con la parte inferior de la hendidura, o al menos partes de la superficie de la hendidura, lo cual puede acelerar el proceso de eliminación. Debido a que las gotas no resultan visibles a través de la máscara en la presente realización, es preciso tener precaución para que la máscara esté alineada correctamente – en particular, cuando esto se hace de forma manual – con la matriz de gotas sobre el sustrato liso.

En una realización preferida, se escogen las dimensiones de las tiras entre las hendiduras u orificios, en comparación con la separación de las hendiduras u orificios por sí mismos, de manera que los líquidos absorbidos a partir de las diferentes gotas individuales no se junten unos con otros, evitando de este modo la contaminación cruzada. Además, el espesor de la máscara y la anchura de borde lateral se dimensionan preferentemente para que el líquido no se trasvase directamente hasta la parte superior o los bordes. Si se asume que las gotas cilíndricas tienen un volumen de  $\pi r^2 x h$  como en el modelo de los inventores ( $r$  = radio de gota;  $h$  = altura de gota), que se traduce en un anillo cilíndrico alrededor de un orificio, que por motivos de simplicidad tiene el mismo volumen  $2\pi r x d r x h$ , entonces la relación de anchura de anillo  $d r$  con respecto a radio de gota viene dada por  $d r / r = 0,5$ . Esto significa que no existe penetración mutua de líquidos de las gotas individuales vecinas cuando la anchura de las tiras viene dada por:  $s > 2 x d r = 2 x 0,5 x r = r$ . De acuerdo con el presente modelo simple, por tanto, la anchura de tira se escoge preferentemente para que sea mayor que la mitad del diámetro de orificio (o diámetro de hendidura). Se pueden aplicar consideraciones similares al borde y espesor de máscara.

Para hacer que la máscara (10) sea más fácil de manipular, se puede insertar o fijar en un bastidor (20). El bastidor (20) se puede dimensionar para crear un ajuste instantáneo alrededor de un soporte de muestra (16) que contiene una matriz de gotas, por ejemplo, como se muestra en la Figura 4A. Se puede diseñar como artículo desechable, que se elimina junto con la máscara saturada (10), o se puede lavar y reutilizar. Los posibles diseños engloban un bastidor (20) con un contorno interno escalonado, sobre el cual se puede colocar la máscara (10) con sujeción por fricción. Si el bastidor (20) se mueve hacia abajo alrededor del contorno de soporte de muestra, como se ilustra, se establece un contacto con el líquido por debajo de un determinado punto. El bastidor (20) tiene además la ventaja de que

proporciona una alineación y guía fiables de la matriz de orificios con respecto a la matriz de gotas. Si el contorno interno del bastidor (20) y el contorno externo del soporte de muestra (16) no están dimensionados para el encaje perfecto, sino que tienen cierto juego, se puede ejecutar un ligero movimiento lateral con el fin de garantizar que el líquido de todas las gotas entre en contacto con la máscara.

- 5 En una realización alternativa, se puede fijar el bastidor a la máscara. Se puede doblar un borde personalizado de proyección de material absorbente y posteriormente se puede impregnar con un material plástico, por ejemplo, que posteriormente se endurece para conferir estabilidad y rigidez (versión monolítica). El bastidor, si resulta apropiado, se puede también unir a la circunferencia externa de la máscara usando un plástico moldeado por inyección.

- 10 En la versión mostrada en la Figura 4B, se puede insertar un soporte de muestra (16), como sustrato liso que soporta la matriz de gotas, en una guía vertical (22) que rodea todos sus lados. La máscara (10) posteriormente puede tener dimensiones similares al soporte de muestra (16) y deslizarse lentamente debajo del soporte de muestra (16) desde la abertura superior de la guía vertical. Los rebajes de la fijación en las paredes de la guía vertical (no mostrados) pueden facilitar la inserción y retirada del soporte de muestra (16) y la máscara (10).

- 15 En otra implementación de los principios explicados en la presente memoria, la Figura 5A muestra de nuevo una configuración de gotas iguales (14) en una fila de ocho sobre un sustrato liso que puede corresponder a un soporte (16) de muestra MALDI, similar a la Figura 2A. Se coloca una placa rígida (24) de material absorbente, sin ningún perfil, por encima del sustrato liso. La placa (24) se mueve lentamente hacia el sustrato, de manera que las partes que sobresalen de las gotas (14) entren en contacto con el material absorbente una vez que la placa (24) ha bajado para reposar sobre la cresta espaciadora (26), que se ubica lateralmente en un receptáculo (28) que alberga el sustrato liso. La distancia por encima de la superficie del sustrato liso que mantiene la cresta espaciadora (26) puede ser de aproximadamente un tercio a aproximadamente la mitad del diámetro de gota, por ejemplo. El contacto periférico facilita la eliminación de líquido de las gotas (14) por medio de fuerzas capilares, Figura 5B. No se requiere una alineación especial de la placa (24) y las gotas (14) en la presente variante.

- 25 En lugar de colocar la cresta espaciadora en un receptáculo (28), se podría montar lateralmente sobre la superficie de la placa rígida (24) que mira hacia el propio sustrato liso, como viene indicado por el contorno punteado. Este diseño alternativo permite una mejor capacidad de adaptación a diferentes tamaños de gota, en particular cuando la placa (24) está diseñada como consumible. Con el fin de acelerar la aspiración del líquido al interior del material absorbente de la placa rígida (24) en los puntos de contacto, se puede mover lateralmente la placa (24) y frontalmente de forma ligera, como viene indicado por la flecha de doble sentido (18).

- 30 Como se ha expuesto anteriormente, la absorción del líquido procedente de las gotas (14) se completa en un tiempo muy reducido, normalmente de unos pocos segundos a alrededor de un minuto como máximo. Posteriormente, se puede elevar de nuevo la placa (24) parcialmente saturada y se puede retirar, Figura 5C. El líquido eliminado se mantiene de forma segura en la matriz capilar de la placa (24), para que así no haya riesgo de una nueva caída a medida que se produce la elevación, contaminando así el sustrato liso. Por el contrario, es una forma muy segura y fiable de eliminar el líquido.

- 40 El material sedimentado, tal como microorganismos, que queda encerrado en las gotas (14) no se elimina cuando el líquido se trasvasa con precaución con ayuda de las fuerzas capilares. Por medio de una cresta espaciadora (26) que mantiene la superficie de la placa rígida (24) a una distancia, por ejemplo, de aproximadamente un tercio a aproximadamente la mitad del diámetro de gota, por encima del sustrato liso, no se produce contacto alguno con el material absorbente de la placa (24), sino que permanece en el centro del punto sobre la superficie del sustrato liso sobre el cual se depositaron las gotas (14). El material sedimentado, ahora en gran medida libre de líquido, se encuentra disponible para el procesamiento posterior tal como la preparación de muestra para ionización por medio de desorción láser asistida por matriz o etapas de proceso similares, como se ha explicado con anterioridad.

- 45 Se pueden concebir realizaciones adicionales de la invención además de los diseños descritos a modo de ejemplo. Con el conocimiento de la presente divulgación, la persona experta en la técnica será capaz de diseñar fácilmente métodos de procesamiento de muestra ventajosos adicionales para la medición por espectroscopía de infrarrojos o espectrometría de masas, usando un método de ionización por desorción, que estén incorporados en el alcance de protección de las reivindicaciones, incluyendo cualesquiera equivalentes posibles cuando sea el caso.

**REIVINDICACIONES**

1. Un método de trasvase de un líquido a partir de gotas individuales que están en una configuración predefinida sobre un sustrato liso y que tienen material sedimentado encerrado en las mismas, en el que se coloca una máscara de material absorbente que comprende un patrón de hendiduras u orificios, que se corresponde con la configuración predefinida de gotas individuales, por encima del sustrato liso de tal forma que el centro de las hendiduras u orificios y el centro de las gotas se encuentren sustancialmente por encima uno de otro en cada caso, y los bordes de las hendiduras u orificios entren en contacto en cada caso con las partes periféricas de las gotas individuales como resultado de que el líquido es trasvasado al interior del material absorbente.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la máscara y el sustrato liso se mueven ligeramente uno con respecto al otro para garantizar que todas las gotas individuales entran en contacto con las hendiduras o bordes de orificio correspondientes.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el diámetro promedio de gota está predefinido por un área hidrófila sobre el sustrato liso y es ligeramente mayor que el diámetro de hendidura u orificio.
4. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la máscara de material absorbente es de forma sustancialmente rectangular.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la máscara se fabrica a partir de un material rígido.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 4 o 5, en el que la máscara se fabrica a partir de papel de filtro, un material no tejido o cartón, que está perforado o perfilado.
7. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 4 a 6, en el que la máscara se adapta o se fija a un bastidor para contribuir a la guía y alineación de la misma.
8. Un método de trasvase de un líquido a partir de gotas individuales que están en una configuración predefinida sobre un sustrato liso y tienen material sedimentado encerrado en las mismas, en el que se coloca una placa rígida de un material absorbente por encima del sustrato liso usando una cresta espaciadora, que se ubica lateralmente con respecto a la configuración predefinida, de tal manera que se evita el contacto entre el material absorbente y el sustrato liso al tiempo que se facilita que las partes que sobresalen de las gotas individuales entren en contacto con el material absorbente, como resultado de que el líquido es trasvasado al interior.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el sustrato liso queda albergado en un receptáculo de sustrato liso que comprende la cresta espaciadora.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cresta espaciadora se ubica en la superficie de placa cerca de los bordes de la placa.
11. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la placa metálica o cerámica se usa como sustrato liso.
12. El método de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 11, en el que 48, 96, 384 o 1536 gotas individuales se disponen con un patrón regular sobre el sustrato liso.
13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en el que el material sedimentado encerrado en las gotas individuales contiene microorganismos.
14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que el volumen de una gota está entre aproximadamente uno y doce microlitros.
15. El método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que las gotas comprenden al menos un líquido de nutriente y un líquido de lavado.

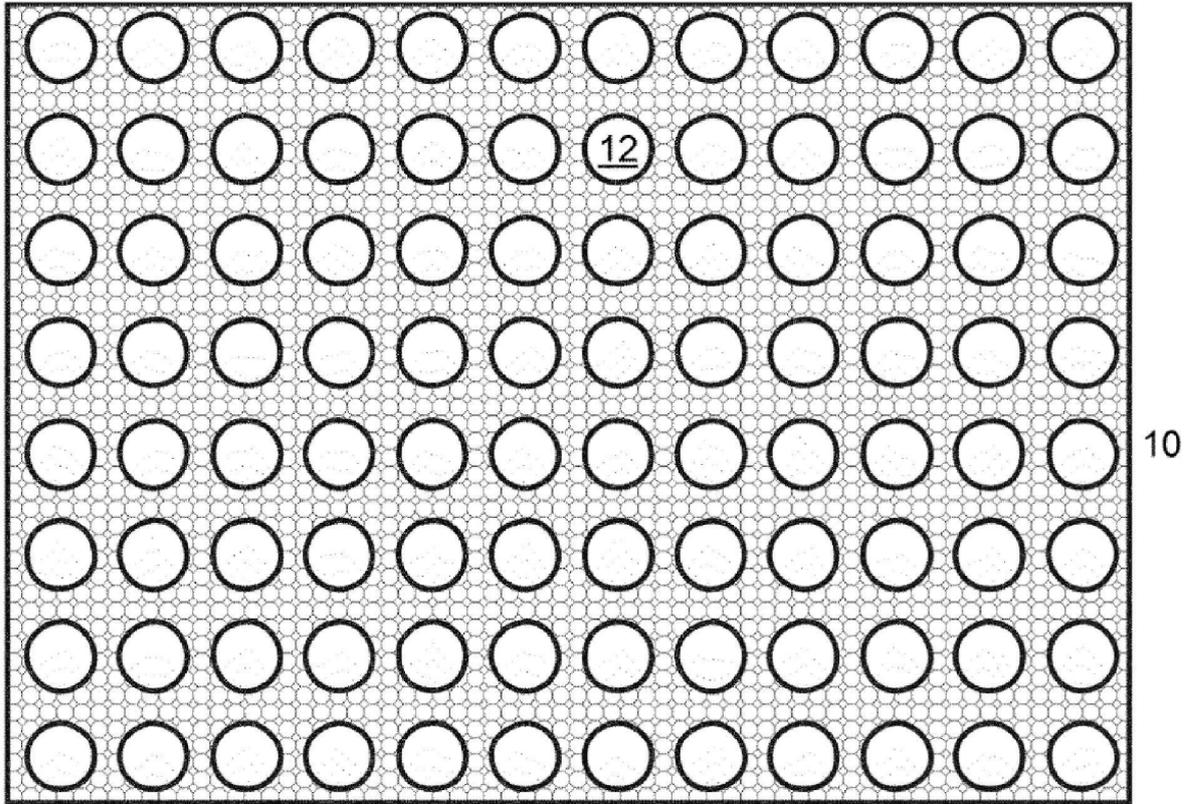


Figura 1

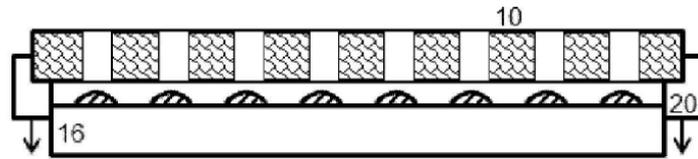


Figura 4A

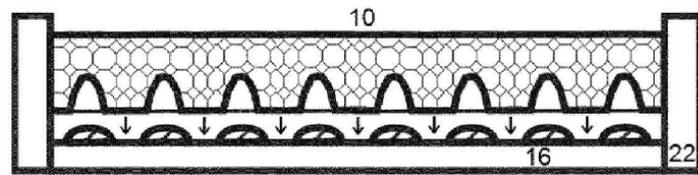


Figura 4B

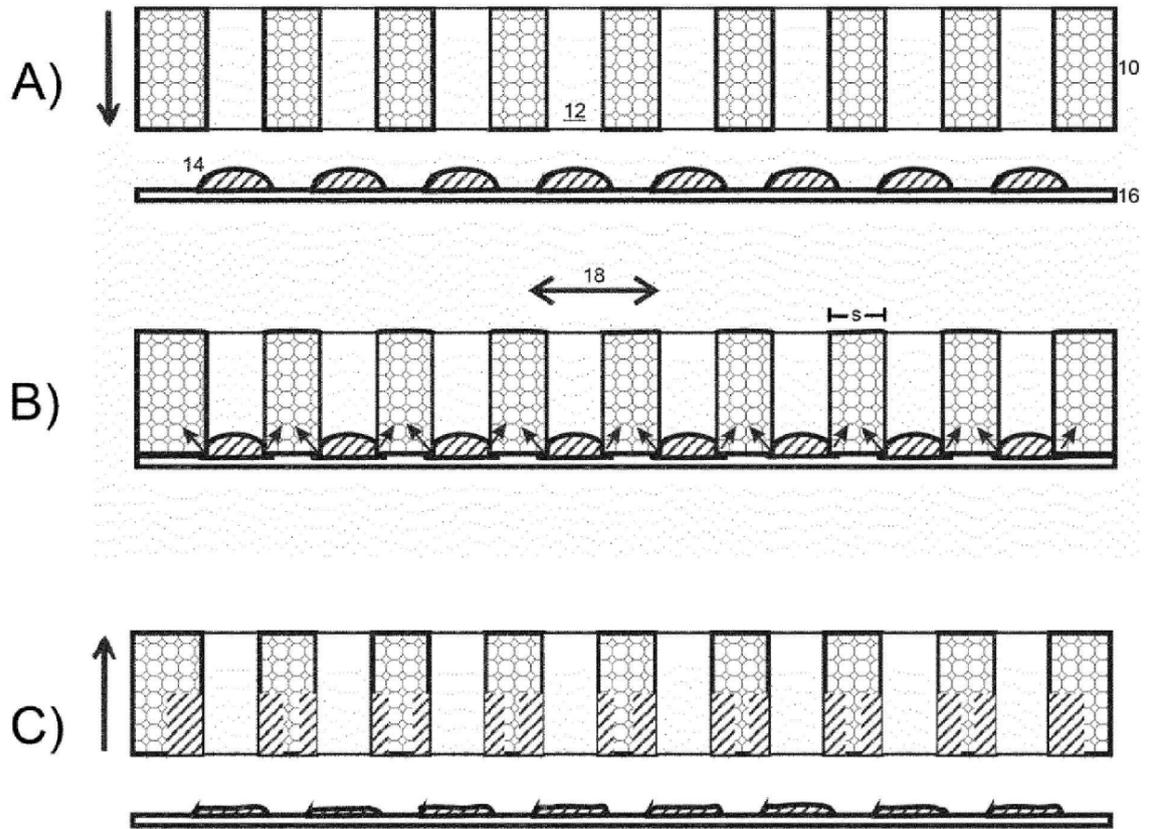


Figura 2

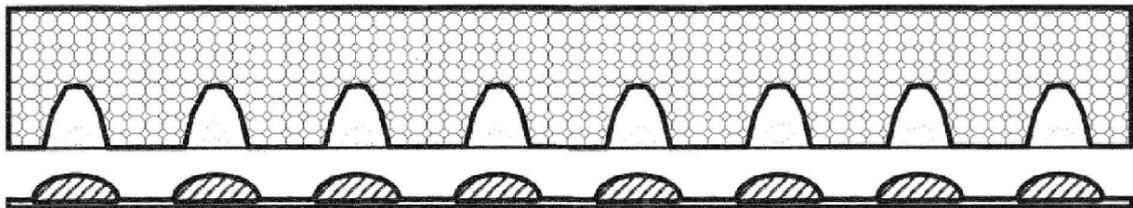


Figura 3

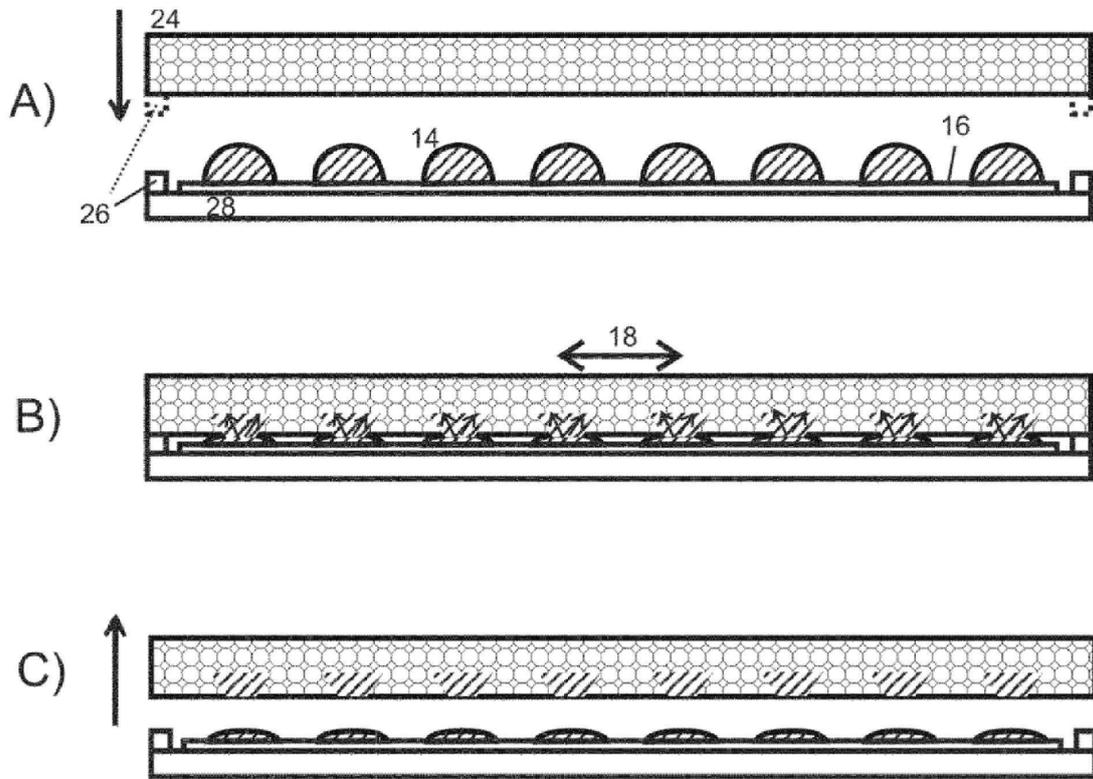


Figura 5