

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 797 753**

51 Int. Cl.:

G01R 33/46 (2006.01)

G01R 33/465 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.09.2015 PCT/EP2015/070837**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2016 WO16038190**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2015 E 15771524 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 3194996**

54 Título: **Método para extraer información codificada en un resultado de una medición de RMN**

30 Prioridad:

12.09.2014 DE 102014218354

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

03.12.2020

73 Titular/es:

NUMARES AG (100.0%)

Am BioPark 9

93053 Regensburg, DE

72 Inventor/es:

HUBER, FRITZ y

PFAHLERT, VOLKER

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 797 753 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 para extraer información codificada en un resultado de una medición de RMN

5 La invención se refiere a un método para extraer información codificada en un resultado de una medición de RMN.

Hasta nuestros días, todavía es un desafío extraer información codificada en el resultado de una medición de RMN. Por lo tanto, los métodos de la técnica anterior a menudo se basan en representar gráficamente el resultado de una medición de RMN en la forma de un espectro de RMN. Este espectro se evalúa a continuación por un experto en la materia que tenga experiencia a largo plazo en la evaluación de espectros. El experto en la materia puede decidir cuál de las líneas observadas en el espectro de RMN puede asignarse a una sustancia específica. Al hacerlo, a menudo se hacen comparaciones con espectros de RMN anteriormente obtenidos de sustancias puras.

15 De acuerdo con las técnicas de la técnica anterior, también es tarea de una persona experimentada y experta en la materia decidir cuáles de las líneas observadas en un espectro de RMN deben considerarse como líneas "buenas" en las que se puede confiar. De esta forma, hay muchas etapas manuales que deben tomarse al evaluar adecuadamente el resultado de una medición de RMN, en el que la mayoría de esas etapas necesitan un trabajo manual de una persona experimentada experta en la materia.

20 Schonberger T. et al.: "Guide to NMR Method Development and Validation - Part I: Identification and Quantification, Technical Report No. 01/2014" (disponible en: [http://www.eurolab.org/documents/EURO-LAB %20Technical %20Report %20NMR %20Method %20Development %20and %20Validation %20Mav %202014 final.pdf](http://www.eurolab.org/documents/EURO-LAB%20Technical%20Report%20NMR%20Method%20Development%20and%20Validation%20Mav%202014%20final.pdf)) describe enfoques generales para registrar y evaluar los espectros de RMN. En particular, los enfoques se basan en la adquisición de datos de medición de RMN de una muestra y de una muestra de calibración de referencia.

25 Es un objetivo de la presente invención proporcionar un método para extraer automáticamente información codificada en un resultado de una medición de RMN.

30 Este objetivo se logra mediante un método que tiene las características de la reivindicación 1. Tal método para extraer información codificada en un resultado de una medición de RMN permite extraer automáticamente dicha información y comprende las etapas explicadas a continuación. En una primera etapa, se proporciona un primer espectro de RMN de una muestra. La muestra contiene al menos un constituyente. La muestra puede, por ejemplo, ser una muestra de fluidos corporales tal como sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, etc. Sin embargo, el método instantáneo no está restringido a extraer información obtenida de una muestra de fluido corporal.

35 El primer espectro de RMN comprende información sobre la muestra. De ese modo, esta información codificada puede dividirse en subconjuntos.

40 En la segunda etapa, se proporciona un segundo espectro de RMN de una muestra de calibración. Esta muestra de calibración contiene al menos un constituyente de una concentración conocida.

El segundo espectro de RMN comprende información codificada en la muestra de calibración y sus constituyentes.

45 Debería observarse que la primera etapa puede hacerse antes que la segunda etapa. Como alternativa, la segunda etapa puede hacerse antes que la primera etapa. Para realizar el método descrito instantáneamente, no es necesario un orden específico de estas etapas.

50 Después de haber proporcionado el segundo espectro de RMN, se calcula un factor de conversión. Este factor de conversión es indicativo de una dependencia entre la información codificada en la muestra de calibración y la concentración del al menos un constituyente de la muestra de calibración. De esta forma, el factor de conversión puede tener en cuenta las especificaciones de dispositivo de medición de RMN, ya que estas especificaciones están codificadas en el segundo espectro de RMN como parte inherente de la información codificada en la muestra de calibración.

55 Posteriormente, el factor de conversión calculado se aplica a la información codificada del primer espectro de RMN. Esto se logra multiplicando el primer espectro de RMN por el factor de conversión. De esta forma, el factor de conversión puede verse como un factor para escalar el espectro de RMN con el fin de lograr una estandarización del primer espectro de RMN considerando las especificaciones de dispositivo de medición de RMN que están codificadas en el factor de conversión y, por lo tanto, pueden considerarse o corregirse usando el factor de conversión.

60 Posteriormente, se calcula un valor de validez para una parte o la totalidad de la información codificada del primer espectro de RMN. Para este fin, la información codificada se divide en diferentes subconjuntos. Un subconjunto es una parte elegida arbitrariamente de la información codificada, por ejemplo, una parte que se relaciona con un grupo específico de señales de protones del al menos un constituyente de la muestra.

De ese modo, la etapa de calcular el valor de validez se realiza mediante varias subetapas. Estas subetapas son a) definir un criterio de prueba, b) aplicar el criterio de prueba a al menos a una línea de RMN del espectro de RMN de la muestra, y c) determinar exactamente cómo la al menos una línea de RMN del espectro de RMN de la muestra coincide con el criterio de prueba. Esto contrasta con las técnicas de la técnica anterior en las que la calidad o la bondad de una línea de RMN se define regularmente por una persona que realiza el análisis de RMN o la evaluación de datos de RMN de acuerdo con su habilidad y experiencia personal, pero no con respecto a los criterios de prueba predefinidos. De esta forma, es posible aplicar el método descrito instantáneamente de manera automática a los espectros de RMN clásicos.

El criterio de prueba a definir y aplicar es al menos uno del grupo que consiste en el ancho de línea, forma de línea y distancia a una línea adyacente.

El valor de validez es representativo de la idoneidad de un primer subconjunto de la información codificada a separar de un segundo subconjunto de la información codificada. De esta forma, el valor de validez indica si los diferentes subconjuntos considerados pueden distinguirse entre sí o no. Si el primer subconjunto se relaciona con un primer grupo de señales de protones y el segundo subconjunto se relaciona con un segundo grupo de señales de protones, esta etapa del método permite asignar un valor de validez al primer subconjunto que indica su distinción o capacidad de distinción del segundo subconjunto.

Por último, el valor de validez se asigna al subconjunto de la información codificada para el que se ha calculado. De esta forma, el resultado final es una representación de subconjuntos individuales de la información de la muestra, cuya información se codifica en el primer espectro de RMN, en el que se asigna un valor de validez individual a cada subconjunto de información. De ese modo, todos los subconjuntos pueden resumir toda la información codificada en el primer espectro de RMN o solo una parte de la información codificada en el primer espectro de RMN.

Expresado en otras palabras, el valor de validez es una medida de la información en la muestra que puede extraerse del primer espectro de RMN. El valor de validez no indica la diferencia entre áreas de dos curvas que no se superponen entre sí después de una operación de ajuste. En su lugar, el valor de validez indica si una solución matemática de cierto problema está bien elegida o si otra solución matemática del mismo problema sería igualmente buena. Si la solución está bien elegida, el valor de validez es alto. Si otra solución matemática fuera igualmente buena o solo ligeramente peor, el valor de validez es bajo. Si uno imaginara todas las soluciones posibles para un problema subyacente (es decir, para separar la información una de otra) en un panorama energético, el valor de validez puede verse como una medida de si la solución elegida o la asignación de una parte específica de la información codificada en el primer espectro de RMN a un cierto subconjunto de información alcanza un mínimo local o absoluto en el panorama energético.

De esta forma, el valor de validez es una medida de la fiabilidad y la importancia del subconjunto de información considerado.

En una realización, el método comprende además una etapa de generar una lista de subconjuntos de información sobre la muestra. Esta lista puede, por ejemplo, ser una lista numérica o puede representarse gráficamente en la forma de un espectro cuantificado. La lista de subconjuntos comprende un valor cualitativo para cada información de subconjunto. Este valor cualitativo es el valor de validez anteriormente calculado. La lista contiene además un valor cuantitativo para cada subconjunto de información codificada. Este valor cuantitativo es indicativo de una concentración de uno del al menos un constituyente de la muestra, las señales de RMN que forman parte directa o indirectamente del subconjunto considerado de información codificada. No es necesario incluir cada subconjunto de información existente de la información codificada en el primer espectro de RMN en la lista. En su lugar, la lista puede comprender solo una parte de toda la información codificada en el primer espectro de RMN.

En una realización, la información sobre la muestra y/o la información sobre la muestra de calibración comprende inherentemente información sobre al menos una influencia ambiental que ha sido relevante durante la obtención de los resultados de medición de RMN respectivos. La influencia ambiental se elige en particular del grupo que consiste en pH, temperatura, osmolaridad, estabilidad del campo magnético de RMN y estabilidad de detector de RMN.

En una realización, uno no trata de minimizar tal influencia ambiental, sino más bien medir la influencia ambiental tal como es. Asumiendo que la influencia ambiental es la misma tras medir la muestra y tras medir la muestra de calibración, puede suponerse que el efecto de la influencia ambiental en el primer espectro de RMN y en el segundo espectro de RMN es el mismo. Después, el factor de conversión da cuenta automáticamente de la influencia ambiental tras aplicar el factor de conversión al primer espectro de RMN. De esta forma, por medio del factor de conversión, la influencia ambiental se cancela automáticamente sin necesidad de considerar de otro modo esta influencia ambiental.

En una realización, las propiedades de la muestra tales como el pH, la temperatura y la osmolaridad son las mismas para la muestra y la muestra de calibración.

En una realización, el valor cuantitativo que es indicativo de una concentración de uno del al menos un constituyente

de la muestra, es un valor de concentración en una unidad del SI. Para dar ejemplos, mol/l, mmol/l, nmol/l y pmol/l son unidades de concentración SI adecuadas.

5 En una realización, el umbral se define para diferenciar valores de validez significativos ("buenos") de valores de validez insignificantes ("malos"). En una realización, cada subconjunto de información codificada que tiene un valor de validez por encima de un umbral predefinido se considera un valor de validez significativo que corresponde a una señal específica-constituyente del primer espectro de RMN. Si el valor de validez está por debajo del umbral predefinido, se considera que el subconjunto de información respectivo no es específico para un cierto constituyente del primer espectro de RMN.

10 En una realización, el al menos un constituyente de la muestra tiene una identidad desconocida cuando se obtiene el primer espectro de RMN. De esta forma, no es necesario identificar el constituyente antes de verificar si la información sobre este constituyente en el primer espectro de RMN puede o no estar bien separada de otra información contenida en el primer espectro de RMN. De esta forma, no es necesaria una identificación de sustancia para realizar el método descrito instantáneamente.

15 En una realización, el método descrito comprende además una etapa de identificar el al menos un constituyente de la muestra y asignar el constituyente identificado a al menos uno de los subconjuntos de información de la muestra. Por otro lado, es posible trabajar con nombres claros de al menos algunos de los constituyentes que componen la muestra en lugar de usar nombres genéricos tal como constituyente A, constituyente B, etc.

20 Habitualmente, la persona que realiza un análisis de RMN de la muestra no conoce la concentración de los diferentes constituyentes que componen la muestra para obtener el primer espectro de RMN. De esta forma, en una realización, la concentración del al menos un constituyente no se conoce tras obtener el primer espectro de RMN. Esto hace que el método descrito instantáneamente sea factible para casi cualquier análisis de muestra. Sin embargo, si la persona que realiza el análisis de RMN de la muestra o evalúa el primer espectro de RMN conoce la concentración del al menos un constituyente, esto no influye negativamente en el método a realizar.

25 Al realizar el método descrito instantáneamente, no es necesario realizar una transformación de Fourier en la descomposición por inducción libre (FID) para obtener un espectro de RMN como primer resultado. En su lugar, un espectro de RMN puede considerarse como una construcción auxiliar que es necesaria para el análisis de RMN manual.

30 En una realización, el primer espectro de RMN y el segundo espectro de RMN se generan en el mismo dispositivo de RMN.

35 Esto hace que sea específicamente fácil compensar cualquier influencia del dispositivo de RMN en la medición aplicando el factor de conversión al primer espectro de RMN, ya que en esta realización se espera que las influencias del dispositivo de RMN sobre el primer espectro de RMN y el segundo espectro de RMN sean las mismas de tal manera que su efecto se codifique en el factor de conversión. En general, el método descrito es un método independiente del dispositivo, que puede realizarse en dispositivos de RMN que funcionan a cualquier frecuencia. Las frecuencias adecuadas son frecuencias en un intervalo de 300 MHz a 1 GHz, tales como 400 MHz, 500 MHz, 600 MHz, 700 MHz, 750 MHz, 800 MHz, 850 MHz, 900 MHz o 950 MHz.

40 La invención descrita instantáneamente se refiere en un aspecto también a un método de medición de RMN que tiene las características de la reivindicación 7. Este método de medición de RMN comprende un método para extraer información codificada en un resultado de una medición de RMN de acuerdo con las explicaciones anteriores. Además, comprende las etapas explicadas a continuación. En primer lugar, se obtiene un resultado de calibración (es decir, el segundo espectro de RMN) realizando una medición de RMN de una muestra de calibración por medio de un dispositivo de RMN usando unas configuraciones específicas del dispositivo de RMN. De ese modo, la muestra de calibración tiene una concentración definida y conocida de al menos un constituyente. Un espectrómetro de RMN es un dispositivo de RMN adecuado para realizar esta medición de RMN.

45 En otra etapa del método, se obtiene un resultado de muestra (es decir, el primer espectro de RMN) realizando una medición de RMN de una muestra por medio del mismo dispositivo de RMN, que usa la misma configuración del dispositivo de RMN que para obtener el resultado de la calibración.

50 Esto es posible, para obtener en primer lugar el resultado de calibración o para obtener en primer lugar el resultado de muestra. Sin embargo, las configuraciones del dispositivo de RMN deberían ser las mismas en cada caso.

55 Después de obtener un primer resultado de muestra, la etapa de obtener un resultado de muestra se repite para una pluralidad de muestras con el fin de obtener una pluralidad de resultados de muestra.

60 En otra etapa del método, se calcula un factor de conversión que es indicativo de una dependencia entre la información sobre la muestra de calibración codificada en el resultado de calibración y la concentración del al menos un constituyente de la muestra de calibración. Este factor de conversión se aplica a continuación a cada resultado de

muestra obtenido. Al hacerlo, el resultado de muestra puede multiplicarse por el factor de conversión.

Después, se calcula un valor de validez para al menos un subconjunto de la información codificada del resultado de muestra para cada resultado de muestra. Este valor de validez es representativo de la idoneidad de un primer subconjunto de la información codificada en el resultado de muestra a separar de un segundo subconjunto de la información codificada en el resultado de muestra.

Por último, el valor de validez se asigna al subconjunto de la información codificada en el resultado de muestra para el que se ha calculado. Esta etapa se realiza para cada resultado de muestra obtenido anteriormente.

En una realización, el método de medición de RMN comprende etapas adicionales. En una de estas etapas adicionales, se obtiene un resultado de control. Esto se logra realizando una medición de RMN de una primera muestra de control por medio del dispositivo de RMN usando las mismas configuraciones del dispositivo de RMN que para obtener el resultado de calibración. De ese modo, la primera muestra de control tiene una concentración definida y conocida con respecto a al menos un constituyente. Esta etapa de obtener el primer resultado de control se realiza antes de obtener el primer resultado de muestra.

En esta realización, el método de medición de RMN comprende además la etapa adicional de obtener un segundo resultado de control realizando una medición de RMN de una segunda muestra de control por medio del dispositivo de RMN usando las mismas configuraciones del dispositivo de RMN que para obtener el resultado de calibración. De ese modo, la segunda muestra de control tiene una vez más una concentración definida y conocida con respecto a al menos un constituyente. La etapa de obtener la segunda muestra de control se realiza después de que se haya obtenido el último resultado de muestra.

En una realización, la etapa de obtener el primer resultado de control se realiza entre la obtención del resultado de calibración y el primer resultado de muestra. De esta forma, una secuencia de resultados a obtener dentro de una realización del método de medición de RMN podría ser la siguiente:

- resultado de calibración
- resultado de control
- primer resultado de muestra
- resultados de muestras intermedias
- resultado de última muestra
- segundo resultado de control.

El número de resultados de la muestra no está limitado. Un número adecuado de todos los resultados de muestra (incluidos el primer y el último resultado de muestra) es de 2 a 1000, en particular 5 a 500, en particular 10 a 250, en particular de 20 a 150, en particular 30 a 100, en particular 40 a 95, en particular 50 a 93, en particular 60 a 90, en particular 70 a 80.

En una realización, la muestra de calibración y al menos una de la primera muestra de control y la segunda muestra de control tienen una composición idéntica. En otra realización, la primera muestra de control y la segunda muestra de control tienen una composición idéntica. Esto reduce el trabajo que se gastará en la producción de la muestra de calibración y/o la o las muestras de control, pero aún permite una calibración altamente precisa de todo el método de medición de RMN, así como para controlar la estabilidad del dispositivo de RMN mientras se realiza el método de medición de RMN.

Cualquiera de las realizaciones alternativas mencionadas anteriormente puede combinarse de cualquier manera deseada y razonable. Además, pueden aplicarse a cualquiera de los métodos descritos, incluso si solo se describen con respecto a uno de los métodos.

Los detalles de los aspectos de la presente invención se explicarán a continuación con respecto a una realización a modo de ejemplo y una figura adjunta. En la figura:

La figura 1 muestra una tabla que comprende diferentes subconjuntos de información como ejemplo de un resultado obtenido por una realización del método instantáneo.

La figura 1 muestra una lista tipo tabla de subconjuntos de información, en la que un valor cualitativo en la forma de un valor de validez se asigna a cada subconjunto. Además, a cada subconjunto se le asigna un valor cuantitativo en la forma de concentración en mmol/l y, por lo tanto, en una unidad del SI.

En la realización a modo de ejemplo de la figura 1, cada subconjunto de información corresponde a una línea específica en un espectro de RMN de tal manera que pueda asignarse un desplazamiento químico medio al subconjunto. De esta forma, cada subconjunto se caracteriza por un desplazamiento químico medio que puede asignarse a este subconjunto de información en el espectro de RMN correspondiente. Sin embargo, no es necesario transformar la información de un resultado de RMN en un espectro de RMN para diferenciar los subconjuntos de

información individuales. En su lugar, estos subconjuntos de información también pueden definirse en otras formas de representación del resultado de RMN subyacente.

5 El valor de validez de acuerdo con la realización a modo de ejemplo de la figura 1 puede estar entre 0 (mala validez) y 1 (buena validez). Se definió un umbral de 0,75. Los valores de validez que se localizan por encima del intervalo de 0,75 indican que el subconjunto de información respectivo puede estar bien separado de otros subconjuntos de información con los que se ha comparado. Habitualmente, el valor de validez se calcula para un primer subconjunto de información adyacente a otro subconjunto de información del que debería separarse el primer subconjunto de información.

10 Instantáneamente, el subconjunto de información A tiene un valor de validez de 0,90. Esto indica que este subconjunto de información puede estar bien separado del subconjunto de información B, que es el subconjunto de información más próximo al subconjunto de información A si los subconjuntos de información están representados en un espectro.

15 Si el valor de validez fuera inferior a 0,75 (que no es el caso de los subconjuntos de información representados en la figura 1), el subconjunto de información correspondiente no podría estar bien separado del subconjunto de información más adyacente. Por lo tanto, el subconjunto de información respectivo no sería adecuado para asociarse con ciertos compuestos ni con una cierta concentración. En su lugar, representaría una información poco clara y, por
20 lo tanto, indefinida que no podría evaluarse fácilmente en el resultado de medición de RMN respectivo.

El método descrito instantáneamente es un método independiente del dispositivo. Puede realizarse una cuantificación de un componente de la muestra antes de identificar este componente o puede omitirse por completo.

REIVINDICACIONES

1. Método para extraer información de un espectro de RMN, que comprende las siguientes etapas:

- 5 a) proporcionar un primer espectro de RMN de una muestra que contiene al menos un constituyente, comprendiendo el primer espectro de RMN información sobre la muestra, en donde la información comprende unos subconjuntos, en donde cada subconjunto es una parte elegida arbitrariamente de la información,
 b) proporcionar un segundo espectro de RMN de una muestra de calibración que contiene al menos un
 10 constituyente de concentración conocida, comprendiendo el segundo resultado información sobre la muestra de calibración,
 c) calcular un factor de conversión que sea indicativo de una dependencia entre la información sobre la muestra de calibración y la concentración del al menos un constituyente de la muestra de calibración,
 d) multiplicar el primer espectro de RMN por el factor de conversión,
 e) después de la etapa d), calcular un valor de validez para al menos un subconjunto de la información del primer
 15 espectro de RMN y asignarlo al subconjunto de la información para el que se ha calculado, siendo el valor de validez representativo de la idoneidad de un primer subconjunto de la información a separar de un segundo subconjunto de la información,

en el que la etapa de calcular el valor de validez se realiza mediante las siguientes subetapas:

- 20 • definir un criterio de prueba, en donde el criterio de prueba es al menos uno del grupo que consiste en un ancho de línea definido, una forma de línea definida y una distancia definida a una línea adyacente,
 • aplicar el criterio de prueba a al menos una línea de RMN del espectro de RMN de la muestra, y
 • determinar con qué exactitud la al menos una línea de RMN del espectro de RMN de la muestra coincide con el
 25 criterio de prueba.

2. Método de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** comprende además la siguiente etapa: generar una lista de subconjuntos de información sobre la muestra, que comprende un valor cualitativo para cada subconjunto de información en la forma de valor de validez, y un valor cuantitativo para cada subconjunto de información que es indicativo de una concentración de uno del al menos un constituyente de la muestra.

3. Método de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado por que** el valor cuantitativo es un valor de concentración en una unidad del SI.

4. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** comprende además la siguiente etapa: identificar el al menos un constituyente de la muestra y asignar el constituyente identificado a al menos uno de los subconjuntos de información de la muestra.

5. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el al menos un constituyente de la muestra es un constituyente cuya concentración se desconoce tras obtener el primer espectro de RMN.

6. Método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el primer espectro de RMN y el segundo espectro de RMN se generan en el mismo dispositivo de RMN.

7. Método de acuerdo con la reivindicación 1, que contiene las etapas de:

- a) realizar una medición de RMN de una muestra de calibración por medio de un dispositivo de RMN usando unas configuraciones específicas del dispositivo de RMN, teniendo la muestra de calibración una concentración definida y conocida con respecto a al menos un constituyente para proporcionar dicho segundo espectro de RMN,
 b) realizar una medición de RMN de una muestra por medio del dispositivo de RMN usando las mismas configuraciones del dispositivo de RMN que para obtener el espectro de calibración de RMN, para obtener dicho primer espectro de RMN,
 c) repetir la etapa anterior del método para una pluralidad de muestras,
 d) calcular una vez un factor de conversión que sea indicativo de una dependencia entre la información de la muestra de calibración y la concentración del al menos un constituyente de la muestra de calibración,
 e) realizar las etapas d) y e) de la reivindicación 1 para cada uno de los espectros de RMN de las muestras.

8. Método de acuerdo con la reivindicación 7, **caracterizado por que** una etapa para obtener un primer espectro de RMN de control realizando una medición de RMN de una primera muestra de control por medio del dispositivo de RMN usando las mismas configuraciones del dispositivo de RMN que para obtener el espectro de calibración de RMN, teniendo la primera muestra de control una concentración definida y conocida con respecto a al menos un constituyente, se realiza antes de obtener el primer espectro de RMN de las muestras, y **por que**

una etapa para obtener un segundo espectro de RMN de control realizando una medición de RMN de una segunda muestra de control por medio del dispositivo de RMN usando las mismas configuraciones del dispositivo de RMN

que para obtener el espectro de calibración de RMN, teniendo la segunda muestra de control una concentración definida y conocida con respecto a al menos un constituyente, se realiza después de obtener el último espectro de RMN de las muestras.

- 5 9. Método de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizado por que** la muestra de calibración y al menos una de entre la primera muestra de control y la segunda muestra de control tienen una composición idéntica.

Subconjunto de información	Desplazamiento químico medio / ppm	Valor de validez	Concentración / (mmol/l)
A	1,174	0,90	1,1
B	1,310	0,95	4,2
C	2,132	0,97	3,5
D	2,198	0,91	2,1
E	2,330	0,85	1,6
F	2,513	0,76	0,4
G	2,767	0,78	8,5
H	3,096	0,93	4,2
I	3,105	0,95	1,5
J	3,222	0,97	3,6
K	3,378	0,91	5,1

FIG 1