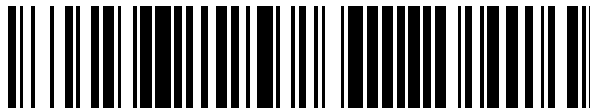


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 798 767**

51 Int. Cl.:

G01B 9/02 (2006.01)

G01N 21/23 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.05.2011 PCT/US2011/036021**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2011 WO11149662**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.05.2011 E 11787103 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.04.2020 EP 2577220**

54 Título: **Aparato y procedimiento de interrogación óptica**

30 Prioridad:

25.05.2010 US 800873

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

14.12.2020

73 Titular/es:

PRUNERI, VALERIO (33.3%)

Paseo de Lormont 25, 3-5

08860 Castelldefels (Barcelona) , ES;

JOFRE CRUANYES, MARC (33.3%) y

MARTINEZ CORDERO, PEDRO ANTONIO (33.3%)

72 Inventor/es:

BARBAROSSA, GIOVANNI;

PRUNERI, VALERIO;

JOFRE CRUANYES, MARC;

MARTINEZ CORDERO, PEDRO ANTONIO y

LUCA JANNER, DAVIDE

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 798 767 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

Aparato y procedimiento de interrogación óptica

Campo de la invención

5 La invención se refiere a aparatos y procedimientos de interrogación de las propiedades ópticas de un conjunto de volúmenes de sonda.

Antecedentes de la invención

10 El índice refractivo de un volumen de sonda es en general un número complejo que comprende una parte real y una parte imaginaria que dependen ambas de las coordenadas del espacio. La compleja distribución espacial del índice refractivo de un volumen de sonda es denominada en la presente memoria "propiedades ópticas" de ese volumen de sonda.

15 Es necesario interrogar las propiedades ópticas de un conjunto de volúmenes de sonda en diversas aplicaciones, incluyendo el diagnóstico biomédico, la genómica, la proteómica, el descubrimiento de medicamentos, la secuenciación del ADN, el almacenamiento de datos ópticos, la ciencia de los materiales, la salud y la seguridad en el trabajo, la lucha antiterrorista civil o militar, el campo de batalla, la electroforesis, la cromatografía analítica, el procesamiento semiconductor, la metrología, la falsificación, el procesamiento de alimentos, la ciencia forense, la aplicación de la ley, la vigilancia del medio ambiente, la microscopía, la espectroscopía de masas, la dinámica microfluídica y la citometría de flujo. En muchas de estas aplicaciones son comparadas las propiedades ópticas de un volumen de sonda que incluye una muestra de un material de interés (volumen de sonda de especímenes objetivo) con las propiedades ópticas de un volumen de sonda que incluye una muestra de un material de referencia (volumen de sonda de muestra de referencia). De este modo, un enfoque conveniente es determinar las propiedades ópticas comparativas del volumen de sonda de espécimen objetivo en relación con uno o varios volúmenes de sonda de muestra de referencia. Por ejemplo, un grupo de moléculas de un primer tipo (primer espécimen objetivo) ocupa una porción de un volumen de sonda de un espécimen objetivo. Una solución de un grupo de moléculas de un segundo tipo (segundo espécimen objetivo) en un líquido (tercer espécimen objetivo) es administrada al volumen de sonda de espécimen objetivo y después es lavada. El aparato revela si ha sido producida una reacción entre el primer y el segundo tipo de moléculas por la interrogación de las propiedades ópticas del volumen de sonda de especímenes objetivo, que puede haber cambiado si el segundo tipo de moléculas ha ocupado parte de este al unirse al primer tipo de moléculas. Los aparatos y procedimientos conocidos para llevar a cabo esta comparación a menudo implican el uso de múltiples mediciones, múltiples haces de sonda separados, aparatos complejos para barrido o cambio de las posiciones de haces de sonda, u otros enfoques relativamente complejos para realizar las múltiples mediciones comparativas.

35 El documento JP2004061614 proporciona un controlador de flujo luminoso con el que el cizallamiento es fácilmente, precisamente y continuamente variado sin requerimiento de ningún mecanismo mecánico. El flujo luminoso de luz linealmente polarizada es separado en flujos luminosos desviados con un elemento birrefringente de un lado de aislamiento que tiene un miembro electroóptico. También, estos flujos luminosos pueden estar desviados con un elemento birrefringente de un lado de superposición que tiene otro miembro electroóptico a través de un objeto de observación y puede hacerse que tengan incidencia sobre un elemento de superposición. Los índices refractivos de los miembros electroópticos respectivos con respecto al flujo luminoso son eléctricamente variados con una parte variable de índice refractivo de un lado de aislamiento y una parte variable de índice refractivo de un lado de superposición. La parte variable de índice refractivo de un lado de aislamiento es controlada para lograr un cizallamiento especificado y la parte variable de índice refractivo de un lado de superposición es controlada para superponer los flujos luminosos en el elemento de superposición.

45 El documento US2005/152030 es un ejemplo de un procedimiento de realización de microscopía de contraste por interferencia diferencial sobre un espécimen. El microscopio de contraste por interferencia diferencial incluye un conjunto de cizallamiento de haces que incluye un componente de cizallamiento de haces. El conjunto de cizallamiento de haces proporciona un vector de cizalla variable sin un movimiento del componente de cizallamiento de haces. Este procedimiento recoge al menos dos imágenes con iluminación respectivamente que tiene primeras y segundas direcciones de cizalla de haces con relación a una orientación giratoria del espécimen, determina datos asociados con una distribución de intensidad de cada una de las imágenes recogidas, y calcula valores que tienen una distribución especial sustancialmente independiente de la orientación giratoria del espécimen.

55 El documento JP10161031 es otro ejemplo de un procedimiento de medición de muestras biológicas utilizando un microscopio de contraste por interferencia diferencial que es variable en cantidad de cizallamiento. Dicho microscopio está constituido para que el haz de luz de una fuente de iluminación tras ser convertido por un primer medio de polarización en una luz lineal polarizada sea separado por un medio de polarización en dos luces lineales polarizadas transmitidas a través de un cuerpo, que tienen direcciones ortogonales de polarización realizadas por un segundo medio de polarización para interferir entre sí y formar una imagen.

Declaración de la invención

Un primer aspecto de la invención se refiere a un procedimiento de interrogación de volúmenes de sonda de espécimen objetivo de acuerdo con la reivindicación 1.

Un segundo aspecto de la invención se refiere a un aparato de interrogación de volúmenes de sonda de espécimen objetivo de acuerdo con la reivindicación 8.

5 Utilizando un haz de sonda adecuadamente formateado de acuerdo con la invención, la comparación puede ser realizada convenientemente utilizando, por ejemplo, un haz de una sola fuente y una sola medición. Un volumen X de sonda de espécimen objetivo, y los volúmenes A y/o B de sonda de muestra de referencia, pueden ser expuestos en paralelo al haz de sonda formateado. El resultado obtenido es una comparación simultánea de las propiedades ópticas del volumen X de sonda de espécimen objetivo y las propiedades ópticas de los volúmenes A o B de sonda de muestra de referencia. Este es sólo un ejemplo del uso del haz de sonda formateado de la invención para comparación de propiedades ópticas de volúmenes de sonda.

10 En el haz de sonda formateado proporcionado por la invención, un único haz de fuente óptica puede ser convertido por medio de elementos ópticos pasivos en un par de haces de sonda parcialmente cizallados formateados en múltiples pares de haces de sonda completamente cizallados. Los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y los volúmenes de sonda de muestra de referencia están dispuestos en un conjunto de rejilla y manta conocido expuestos a los múltiples pares de haces de sonda completamente cizallados. Tras la exposición, los múltiples haces de los pares de haces de sonda completamente cizallados son recombinados, produciendo patrones de interferencia que revelan relaciones entre las propiedades ópticas de los volúmenes de sonda seleccionados en el conjunto de rejilla.

15 El haz de sonda formateado proporcionado por la invención tiene la propiedad única de que contiene un par de haces de sonda parcialmente cizallados que es formateado en un conjunto de pares de haces de sonda completamente cizallados. El par de haces de sonda parcialmente cizallados es definido como compuesto por dos haces, un primer haz de sonda parcialmente cizallado y un segundo haz de sonda parcialmente cizallado, en el que los primeros y segundos haces están superpuestos parcialmente. El par de haces de sonda completamente cizallado es definido como compuesto por dos haces que son porciones del mismo par de haces de sonda parcialmente cizallados, el primer haz de sonda completamente cizallado y el segundo haz de sonda completamente cizallado, con los primeros y segundos haces separados lateralmente sin superposición. La referencia en el presente documento a un haz de sonda formateado significa genéricamente el haz óptico en todo el aparato, es decir, el haz de fuente, el haz formateado que comprende los pares de haces de sonda parcial y completamente cizallados, y el haz combinado en la región de detección.

20 Con el fin de definir la invención, un haz óptico formateado es definido como que tiene una cizalla parcial. Esto permite la formación de un haz óptico que tiene un par de haces cizallado con superposición parcial y también múltiples pares de haces cizallados sin superposición.

Breve descripción del dibujo

La invención puede entenderse mejor cuando es considerada en conjunto con los dibujos, en los que:

35 La Fig. 1 es un diagrama esquemático que muestra los elementos ópticos utilizados para formar un haz de sonda óptico formateado con cizallamiento parcial de acuerdo con una primera realización de la invención;
 La Fig. 2 es una vista en perspectiva de un aparato construido con los elementos de la Fig. 1;
 La Fig. 3 es una vista en perspectiva de un componente del haz de sonda formateado que atraviesa el aparato de la Fig. 2 que ilustra el haz de sonda parcialmente cizallado, el haz OE, en un primer estado de polarización;
 40 La Fig. 4 es una vista en perspectiva de un componente del haz de sonda formateado que atraviesa el aparato de la Fig. 2 que ilustra el haz de sonda parcialmente cizallado, haz EO, en un segundo estado de polarización;
 5 muestra la combinación de los componentes del haz de sonda formateado de las Figs. 3 y 4, mostrando el par de haces de sonda parcialmente cizallados, el haz OE y el haz EO;
 La figura 6 ilustra esquemáticamente el formateo del haz óptico de la Fig. 5 en un conjunto de 25 elementos de interrogación caracterizados por cizallamiento completo de acuerdo con un ejemplo de una posible rejilla de interrogación;
 45 La Fig. 7 muestra uno de los elementos de interrogación de la Fig. 6 que muestra el par de haces de sonda completamente cizallados, el haz sub-OE y el haz sub-EO;
 La Fig. 8 es un diagrama de conjunto de elementos de interrogación en la región fuente del haz de sonda formateado;
 50 La Fig. 9 es un diagrama de conjunto de elementos de interrogación en la región parcialmente cizallada del haz de sonda formateado;
 La Fig. 10 es un diagrama de conjunto de elementos de interrogación en la región combinada del haz de sonda formateado;
 55 La Fig. 11 es un diagrama de conjunto de elementos de interrogación en la región de detección del haz de sonda formateado;
 La Fig. 12 es un diagrama que muestra un conjunto de rejilla de sitios potenciales para volúmenes de sonda de espécimen objetivo y volúmenes de sonda de muestra de referencia organizados en la región parcialmente cizallada del haz de sonda formateado;

La Fig. 13 es un diagrama similar al de la Fig. 12 que muestra sitios alternativos;

La Fig. 14 es una vista en perspectiva de un elemento de interrogación individual y un espécimen objetivo colocado como es mostrado en el portador de especímenes objetivo que ocupa parcialmente el volumen de sonda de espécimen objetivo del elemento de interrogación;

5 La Fig. 15 es una vista similar a la de la Fig. 14 con un segundo espécimen objetivo añadido al primer espécimen objetivo;

La Fig. 16 es una vista en perspectiva de un aparato similar al de la Fig. 2 con un modulador de fase añadido;

Las Figs. 17 y 18 son vistas en perspectiva de un aparato de haz de sonda formateado alternativo en el que el haz de sonda formateado está parcialmente cizallado en una sola dirección;

10 Las Figs. 19 y 20 son vistas en perspectiva de un aparato de haz de sonda alternativo en el que el haz de sonda formateado está parcialmente cizallado en una sola dirección.

Las Figs. 21 y 22 son vistas en perspectiva de un aparato de haz de sonda alternativo en el que el haz de sonda formateado está parcialmente cizallado en una sola dirección.

Descripción detallada de la invención

15 La Fig. 1 es una disposición esquemática de los componentes para producir el haz de sonda formateado con cizallamiento parcial de acuerdo con una realización de la invención. El haz de sonda formateado es representado con 11 y en la ilustración es ilustra simplemente la dirección del haz de sonda formateado a través de los diversos elementos 12 a 18. Debe entenderse que los bloques 12 a 18 representan los elementos ópticos descritos y no son ilustrativos del tamaño o las características físicas de esos componentes. Además, los elementos pueden estar espaciados unos de otros, pero preferentemente están en proximidad en un conjunto óptico integrado, como es ilustrado con más detalle a continuación. En el aparato de la Fig. 1 el haz de sonda, tal como está formateado, sufre la división y desplazamiento de los haces divididos. Por consiguiente, la línea 11 indica solo una dirección general del haz de sonda a través de los diversos elementos de la Fig. 1.

20 El aparato puede funcionar con 11 orientado verticalmente, como sugiere la figura, u horizontalmente. Alternativamente, 11 puede ser tanto vertical como horizontal, con el haz reflejado o refractado de uno a otro entre la región fuente y la región de detección.

La fuente inicial del haz de sonda (no mostrado) puede ser una fuente de haz óptico aproximadamente plano con baja coherencia espacial y baja coherencia temporal. Puede ser un LED, un láser o cualquier otra fuente lumínica adecuada para interrogar al menos un volumen de sonda de espécimen objetivo.

30 El elemento 12 de la Fig. 1 es un polarizador de haces para polarizar el haz de fuente en un haz polarizado que puede ser dividido en dos componentes. Los componentes son designados, por comodidad, como haz E (haz extraordinario) y haz O (haz ordinario). Los elementos ópticos mostrados esquemáticamente en la Fig. 1 son preferentemente transparentes al haz de fuente y funcionan por transmisión. Sin embargo, pueden ser obtenidas funciones equivalentes utilizando elementos ópticos refractivos o reflectantes convenientemente dispuestos, o con combinaciones de elementos refractivos y reflectantes.

35 El elemento 13 es un cristal birrefringente (BC) con un eje birrefringente inclinado con respecto a la dirección 11. El efecto del elemento 13 es desplazar lateralmente la dirección de propagación del haz E, manteniéndola preferentemente paralela a la dirección 11, y dejando intacta la dirección de propagación del haz O. El desplazamiento (no ilustrado en la Fig. 1) se conoce en el presente documento como cizallamiento. Por cizallamiento se entiende el movimiento de un eje en particular desde un eje on a un eje off, en el que el eje on es preferentemente paralelo al eje off pero desplazado con respecto a este. La cantidad de desplazamiento depende de la forma del elemento 13, el ángulo de inclinación y las propiedades ópticas del dispositivo birrefringente. Las propiedades y la operación de los dispositivos birrefringentes son bien conocidas y no es necesario abordarlas en la presente memoria.

40 En la figura 1, y en las figuras posteriores, el dispositivo birrefringente puede ser denominado "BC" o cristal birrefringente. Sin embargo, puede ser un cristal o polímero birrefringente o un material adecuadamente estructurado. Son conocidos una variedad de dispositivos birrefringentes. Cualquier dispositivo birrefringente adecuado puede ser utilizado para formatear el haz de sonda de acuerdo con la invención. Sólo es necesario producir el cizallamiento del haz E con respecto al haz O. (Los expertos en la técnica comprenderán que los haces E y O son intercambiables en esta descripción a condición de que el intercambio se haga de manera consistente).

45 El haz de sonda atraviesa entonces un segundo BC 14. El segundo BC tiene un eje óptico que yace en un plano paralelo a la dirección 11 y es ortogonal al plano en el que yace el eje óptico del primer BC. La función del BC 14 es cizallar el haz O con respecto al haz E Análogamente a la descrita con relación al BC 13. Es preferente que la cizalla producida por los BC 13 y 14 sea la misma, de modo que se produzca un desplazamiento uniforme en ambas direcciones laterales. (Si la dirección de 11 es la dirección z, el BC 13 puede desplazar el haz E en la dirección x, mientras que el BC 14 desplaza el haz O en la dirección y). Sin embargo, las compensaciones pueden ser diferentes.

50 Asimismo, aunque es preferente que los BC 13 y 14 tengan ejes ópticos que yazgan en planos paralelos a la dirección 11 y sean ortogonales entre sí, de modo que los desplazamientos se produzcan en las direcciones x e y, las desviaciones siendo paralelas a la dirección 11 u ortogonales entre sí pueden seguir dando como resultado un

dispositivo útil.

5 El haz de sonda se encuentra ahora en la región formateado con cizallamiento parcial y contiene pares de haces ópticos parcialmente cizallados y parcialmente superpuestos y pares de haces ópticos completamente cizallados y no superpuestos. El haz de sonda en este estado es denominado en la presente memoria con formato con cizallamiento parcial.

10 Los pares de haces parcialmente cizallados y los pares de haces completamente cizallados del haz de sonda formateado son propagados a través de los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y los volúmenes de sonda de muestra de referencia y pueden intersectar un portador de especímenes objetivo. El portador puede tener una variedad de formas que incluyen simplemente un plano imaginario, es decir, especímenes objetivo y las muestras de referencia pueden estar en el espacio. Más típicamente, los especímenes objetivo y las muestras de referencia son montadas en una placa transparente. Los materiales siendo analizados pueden estar contenidos en recipientes de muestra tal como ampollas de vidrio o plástico.

15 Tras la propagación a través de los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y los volúmenes de sonda de muestra de referencia, los pares de haces parcialmente cizallados y los pares de haces completamente cizallados del haz de sonda formateado son combinados para producir patrones de interferencia que indican las propiedades ópticas de los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y los volúmenes de sonda de muestra de referencia. Esto es logrado convenientemente sometiendo el haz formateado a la función inversa de las ópticas formateadas. De este modo, los haces atraviesan BC 15 y 16, cada uno con el eje óptico adecuadamente orientado.

20 El haz combinado, ahora un conjunto de patrones de interferencia, después de pasar a través de un polarizador 17, es "leído" por el conjunto de detectores 18. El conjunto de detectores puede ser cualquier tipo de dispositivo de formación de imágenes que funcione para revelar y/o registrar los patrones de interferencia.

25 Una disposición de elementos como los descritos en la Fig. 1 es mostrada en perspectiva en la Fig. 2, siendo una realización del aparato de interrogación con cizallamiento parcial. Este comprende: un primer polarizador, medios para cizallar parcialmente el haz de fuente por división de amplitud, en lo sucesivo denominados "medio de cizallamiento", en un par parcialmente superpuesto y relativamente paralelo de haces de sonda en un primer y un segundo estado de polarización ortogonal, en lo sucesivo denominados "haz OE" y "haz EO", respectivamente, significa combinar sustancialmente dicho haz OE y haz EO en un haz combinado, en lo sucesivo denominado "medio de combinación", un segundo polarizador con su eje polarizador sustancialmente paralelo al eje polarizador del primer polarizador y un medio de detección.

30 Como una realización del medio de cizallamiento, este comprende un primer módulo de cizallamiento que comprende dos cristales birrefringentes (BC) sustancialmente idénticos con su eje óptico en un ángulo mayor que cero con respecto a sus caras de entrada y de salida y con sus secciones principales cruzadas sustancialmente a 90°.

35 Como una realización de los medios de combinación, comprende: un segundo módulo de cizallamiento, preferentemente de la misma configuración que el primer módulo de cizallamiento, pero en cualquier caso proporcionando una función equivalente, giró sustancialmente 180° con respecto al primer módulo de cizallamiento.

La siguiente tabla enumera un ejemplo de los parámetros de diseño para la realización mostrada en la Fig. 2.

Tabla 1

Fuente lumínica	LED desnudo
Tamaño de la fuente lumínica	~ 0,5 mm x ~ 0,5 mm
Longitud de onda de centro de la fuente lumínica	~ 600 nm
Ancho completo en medio máximo de la fuente lumínica	~ 30 nm
Distancia entre la fuente lumínica y el 1° polarizador	~ 45 mm
Tamaño del haz de fuente	~ 10 mm de diámetro
Cristal birrefringente (BC)	YVO ₄ con un ángulo de walk-off de ~ 6°
Tamaño de cada BC	~ 10 mm x ~ 10 mm x ~ 0,5 mm
Tamaño de cada polarizador	~ 10 mm x ~ 10 mm x ~ 0,15 mm

(continuación)

Intervalo entre el 1° polarizador y el 1° BC	en proximidad
Espesor de los medios de cizallamiento (que comprenden los 1° y 2° BC)	~ 1,00 mm
Tamaño de cizalla efectiva	~ 70 mm (el tamaño de cizalla de cada BC es ~ 50 mm)
Intervalo entre los medios de cizallamiento y los medios de combinación	~ 2,5 mm
Espesor de los medios de combinación (que comprenden los 3° y 4° BC)	~ 1,00 mm
Intervalo entre el 2° polarizador y el 4° BC	en proximidad
Intervalo entre el 2° polarizador y los medios de detección	~ 0,7 mm
Tamaño del conjunto de medios de detección	~ 3,5 mm x ~ 4,5 mm
Tamaño de cada medio de detección	~ 2,8 mm x ~ 2,8 mm

5 Para mayor claridad, los dos componentes del haz de sonda formateada del aparato de interferencia de cizallamiento parcial de la Fig. 2 son mostrados por separado en las Figs. 3 y 4, y comprenden el haz de fuente, los haces E y O a través de los BC y los polarizadores, el par de haces de sonda con cizallamiento parcial, el haz OE y el haz EO, y el haz combinado. También para mayor claridad, en la Fig. 5 es mostrada la superposición parcial entre el haz OE y el haz EO.

10 El haz de fuente, como es mostrado en la Fig. 2, está parcialmente cizallado por el medio de cizallamiento en el haz OE y el haz EO, que están superpuestos parcialmente y son propagados a través del volumen entre el medio de cizallamiento y el medio combinado. Los dos haces son combinados entonces por el medio de combinación en el haz combinado. Al combinarse y pasar por el segundo polarizador, los dos haces interfieren y producen un patrón de interferencia que revela las propiedades ópticas del volumen entre el medio de cizallamiento y el medio de combinación. El patrón de interferencia es detectado por el conjunto de medios de detección.

15 En la realización mostrada en las Figs. 2-4 el haz OE y el haz EO son desplazados con respecto al haz de fuente a lo largo de las direcciones de la cizalla introducida por el segundo BC y el primer BC, respectivamente. Dado que las direcciones de la cizalla introducida por el primer y el segundo BC son perpendiculares, el medio de cizallamiento introduce una "cizalla efectiva" que es $\sqrt{2}$ el tamaño de la cizalla introducida por cualquiera de los BC y a lo largo de una dirección en aproximadamente 45° con respecto a la dirección de cualquier cizalla.

20 La sección transversal del haz de fuente en las Figs. 2-4 es mostrada como un cuadrado. Sin embargo, en la invención pueden ser usados haces ópticos de cualquier forma adecuada. Típicamente, la sección transversal del haz óptico será cuadrilateral. Sin embargo, puede ser redonda u ovalada, u otra forma útil.

25 En una realización, como es mostrado en la Fig. 6, el haz de fuente puede ser considerado equivalente a un conjunto de haces de subfuente que tienen una sección transversal cuadrada con un tamaño que, en la dirección de cizallamiento, coincide con el tamaño del cizallamiento, y son cizallados por el medio de cizallamiento en un conjunto de pares de haces de sonda completamente cizallados, denominados en lo sucesivo haces sub-OE y haces sub-EO, que luego son combinados por el medio de combinación en un conjunto de haces subcombinados. Cada haz de sonda completamente cizallado representa un sitio para un volumen de sonda de espécimen objetivo o un volumen de sonda de muestra de referencia.

30 La Fig. 6 muestra una matriz de haces de subfuente de 5 x 5 que aloja 25 pares de haces de sonda completamente cizallados. Se entenderá que en la sección formateada del aparato cada par de volumen de sonda completamente cizallado está representado por un par correspondiente de haces de sonda completamente cizallados. El conjunto puede ser de cualquier tamaño adecuado. Reconociendo que la región formateada del haz no tiene divisiones inherentes, el conjunto de 5 x 5 es principalmente una cuestión de elección. Refleja el área del haz dedicada a cada sitio de interrogación y el número de sitios de interrogación que el aparato está diseñado para interrogar en una sola etapa de interrogación o en una sola etapa de interrogación de una secuencia de etapas. El tamaño y la forma de los 35 pares de volumen de sonda completamente cizallada de la Fig. 6 son iguales. Sin embargo, el conjunto puede contener cualquier disposición de pares de volumen de sonda, cada uno con la misma o diferente forma y/o tamaño.

40 Como se desprende de la figura, el tamaño de cizalla de un haz de sonda parcialmente cizallado con respecto al otro determina la relación entre el área de superposición y el área total del haz. Esa relación puede variar mucho de acuerdo con la aplicación de la interrogación. Sin embargo, en un procedimiento y aparato típicos de acuerdo con la invención, esa relación de área será preferentemente mayor que 25 %.

La Fig. 7 muestra un haz de subfuente aislado de la matriz. Es evidente que el par de haces de sonda completamente cizallados correspondiente, el haz sub-OE y el haz sub-EO, no están superpuestos y son propagados a través de dos regiones separadas del volumen entre los medios de cizallamiento y los medios de combinación. En la realización mostrada en la Fig. 2, la invención de hecho hace que el aparato de interferencia con cizallamiento parcial funcione como un aparato de interferencia con cizallamiento completo para el haz de subfuente aislado y, por lo tanto, como un conjunto de aparatos de interferencia con cizallamiento completo para el conjunto de haces de subfuente.

En la realización mostrada en la Fig. 2, la invención dedica un único medio de detección a la detección de la salida de interferencia de cada aparato de interferencia con cizallamiento completo, y de hecho hace que el aparato de interrogación con cizallamiento parcial funcione como un conjunto de aparatos de interrogación con cizallamiento completo que interrogan las propiedades ópticas del conjunto de cualquiera de las dos regiones separadas del volumen en comparación con el conjunto de la otra región. En otras palabras, cualquiera de las dos regiones separadas puede ser un volumen de sonda de espécimen objetivo o un volumen de sonda de muestra de referencia.

La Fig. 8 muestra el mapa del conjunto de haces de subfuente. El conjunto de haces de subfuente corresponde al conjunto de pares de haces de sonda completamente cizallados del aparato. La Fig. 9 muestra el mapa del conjunto de pares de haces sub-OE y de haces sub-EO completamente cizallados en el haz de sonda formateado. La Fig. 10 muestra el mapa del conjunto de haces subcombinados. La Fig. 11 muestra el mapa del conjunto de medios de detección.

La invención proporciona un único aparato de interferencia con cizallamiento parcial que comprende un único medio de cizallamiento y un único medio de combinación, pero proporciona un conjunto de aparatos de interferencia con cizallamiento completo cuyas salidas de interferencia son detectadas por un conjunto de medios de detección para interrogar a un conjunto de volúmenes de sonda de espécimen objetivo en comparación con un conjunto de volúmenes de sonda de muestra de referencia.

Debido al solapamiento parcial entre los haces OE y EO, algunos haces sub-OE son superpuestos con algunos haces sub-EO. Por ejemplo, el subhaz OE (3,3) es superpuesto con el subhaz EO (2,2) como puede ser observado en la Fig. 9. Por lo tanto, un volumen de sonda de espécimen objetivo que se encuentre dentro del solapamiento entre los haces OE y EO puede ser interrogado en comparación con dos volúmenes de sonda de muestra de referencia.

Esta característica de la invención puede ser explicada con la ayuda de la Fig. 12, que muestra el mapa de un ejemplo de un conjunto de volúmenes de sonda de espécimen objetivo y un conjunto de volúmenes de sonda de muestra de referencia T_i y R_i , respectivamente, con $i=1$ a 15. El volumen de sonda de espécimen objetivo T_8 puede ser interrogado en comparación con el volumen de sonda de muestra de referencia R_1 con los subhaces EO(2,2) y OE(2,2) de la Fig. 9 que son propagados a través del volumen de sonda de espécimen objetivo y el volumen de sonda de muestra de referencia, respectivamente, y también en comparación con el volumen de sonda de muestra de referencia R_8 con los subhaces OE(3,3) y EO(3,3) de la Fig. 9 que se propagan a través del volumen de la sonda de muestra objetivo y el volumen de la sonda de muestra de referencia respectivamente. Los dos pares son combinados en los subhaces combinados C(2,2) y C(3,3) de la Fig. 10 que son detectados por dos medios de detección D(2,2) y D(3,3) respectivamente, de la Fig. 11.

Análogamente, un volumen de sonda de muestra de referencia que se encuentre dentro de la superposición entre los haces OE y EO puede ser usado como referencia para dos volúmenes de sonda de espécimen objetivo separados. Por ejemplo, con la ayuda de la Fig. 9 y la Fig. 12, el volumen de sonda de muestra de referencia R_7 puede ser usado como referencia para la interrogación del volumen de sonda de espécimen objetivo T_7 con los subhaces OE(2,3) y EO(2,3) de la Fig. 9 propagándose a través del volumen de sonda de espécimen objetivo y del volumen de sonda de muestra de referencia, respectivamente, y del volumen de sonda de espécimen objetivo T_{14} con los subhaces EO(3,4) y OE(3,4) de la Fig. 9 que se propagan a través de la sonda espécimen objetivo y el volumen de la sonda de muestra de referencia, respectivamente.

Cabe señalar que los haces que se propagan a través del volumen de la sonda de muestra objetivo T_8 de la Fig. 12 son los subhaces EO(2,2) y OE(3,3) de la Fig. 9, y que los haces que se propagan a través del volumen R_1 de la sonda de muestra de referencia de la Fig. 12 son los subhaces EO(1,1) y OE(2,2) de la Fig. 9, es decir, los haces sub-OE o los haces sub-EO pueden propagarse a través del volumen de la sonda de muestra objetivo y el volumen de la sonda de muestra de referencia.

Algunos volúmenes de sonda de espécimen objetivo del ejemplo mostrado en la Fig. 12 pueden ser interrogados en comparación con un solo volumen de sonda de muestra de referencia. Por ejemplo, el volumen de la sonda de muestra de espécimen objetivo T_4 de la Fig. 12 sólo puede ser interrogado en comparación con el volumen R_4 de la sonda de muestra de referencia de la Fig. 12 con los subhaces OE(4,1) y EO(4,1) de la Fig. 9, respectivamente.

Análogamente, algunos volúmenes de sonda de muestra de referencia en el ejemplo mostrado en la Fig. 12 pueden ser usados como referencia para un solo volumen de sonda de espécimen objetivo. Por ejemplo, el volumen de sonda de muestra de referencia R_{13} de la Fig. 12 sólo puede ser usado como referencia para la interrogación del volumen de sonda de espécimen objetivo T_{13} de la Fig. 12 con los subhaces EO(3,5) y OE(3,5) de la Fig. 9, respectivamente.

Al diseñar correctamente el aparato de interrogación, como se ilustra aquí, es posible interrogar todos los volúmenes

de sonda de muestras objetivo de una matriz en comparación con al menos uno o dos volúmenes de sonda de muestra de referencia de una matriz de volúmenes de sonda de muestra de referencia.

La Fig. 13 muestra el mapa de otro ejemplo de un conjunto de volúmenes de sonda de espécimen objetivo y un conjunto de volúmenes de sonda de muestra de referencia. El ejemplo muestra cómo los grupos de volúmenes de sonda de muestras objetivo pueden ser alineados en cualquier dirección de cizallamiento, por ejemplo, T2 y T3 a lo largo de la dirección de cizallamiento del segundo cristal y T5, T7 y T9 a lo largo de la dirección de cizallamiento del primer cristal. El ejemplo también muestra cómo pueden ser interrogados los volúmenes de sonda de espécimen objetivo con un tamaño que, a lo largo de la dirección perpendicular a cualquiera de las direcciones de cizallamiento, es mayor que el tamaño del cizallamiento, por ejemplo, T1 que es el doble del tamaño de cizallamiento a lo largo de la dirección de cizallamiento del segundo cristal, y T4 que es el doble del tamaño de cizallamiento a lo largo de la dirección de cizallamiento del primer cristal. De este modo, dos o más medios de detección pueden estar dedicados a la detección de la salida de interferencia entre el haz sub-OE y el haz sub-EO propagándose a través del volumen de sonda de espécimen objetivo más grande y el volumen de sonda de muestra de referencia.

El ejemplo también muestra cómo los volúmenes de sonda de espécimen objetivo pueden ser contiguos sin dejar entre sí volúmenes de sonda de muestra de referencia, es decir, T6, T7, T8 y T9, a condición de que haya volúmenes de sonda de muestra de referencia que puedan ser usados para la interrogación, es decir, R5, R6, R11 y R12, respectivamente.

El haz de fuente única preferentemente es relativamente plano para asegurar que los subhaces que son propagados a través de los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y los volúmenes de sonda de muestra de referencia no se crucen entre sí y, de este modo, no interfieran entre sí. En general, el haz de fuente preferentemente tiene una baja coherencia espacial y una baja coherencia temporal para evitar el ruido de interferencia espurio. Sin embargo, puede tener una coherencia espacial alta y una coherencia temporal alta tal como, por ejemplo, un haz láser.

Puede ser necesario o no que el haz de fuente esté relativamente polarizado en función de si el aparato de interferencia con cizallamiento parcial está basado en la polarización o no. Algunas fuentes están intrínsecamente polarizadas, sin embargo, otras, tal como el sol o los LED, no lo están y, en tal caso, es necesario incluir un polarizador en el aparato de interferencia de cizallamiento parcial si es necesario polarizar el haz de fuente. Por consiguiente, un haz de fuente y un polarizador deben ser considerados equivalentes a un haz de fuente polarizado y viceversa.

La cuantificación de las propiedades ópticas de los volúmenes de sonda de especímenes objetivo en comparación con los volúmenes de sonda de muestras de referencia puede ser lograda con una técnica denominada "extracción de fase". Tal técnica requiere que la fase relativa entre los haces cizallados sea modulada o desplazada con un modulador o desplazador de fase. Puede ser realizada en cualquier sitio del aparato entre el primer polarizador y el segundo polarizador o entre la fuente y el segundo polarizador si el haz de fuente está polarizado y no es requerido el primer polarizador. Por ejemplo, la Fig. 16 muestra un modulador de fase añadido a la realización de la Fig. 2 entre el primer polarizador y el primer cristal birrefringente.

Las realizaciones útiles del desplazador o modulador de fase dependen de si el cizallamiento del haz de fuente está basado en la polarización o no. Estas incluyen: una célula de cristal líquido, una célula electroóptica, una célula termoóptica, una célula fotoelástica, una fibra monomodo de mantenimiento de la polarización (PM) envuelta alrededor de un cilindro piezoeléctrico, que gira una placa de ondas entre los medios de cizallamiento y combinación y la sintonización electroóptica o térmica o la inclinación mecánica de un cristal birrefringente del aparato de interferencia con cizallamiento parcial.

El desplazamiento o modulación relativo de fase también permite que la relación señal-ruido del aparato de interrogación sea incrementada proporcionalmente a la raíz cuadrada del número de medidas de desplazamiento de fase.

Además de la realización del aparato de interferencia mostrada en la Fig. 2, en la presente invención pueden ser usados otros medios de cizallamiento, medios de combinación y medios de detección. Por ejemplo, las Figs. 17 y 18 ilustran otra forma de aparato con cizallamiento parcial. En el aparato de la Fig. 17 es usado un módulo de cizallamiento parcial con un solo cizallamiento parcial, y el haz, como es ilustrado en la Fig. 18, es desplazado en una sola dirección lateral. Esto produce un haz de sonda formateado como ha sido descrito anteriormente, pero con una sola cizalla. El aparato de la Fig. 17 tiene tres dispositivos birrefringentes. El desplazamiento del haz utilizado para producir el par de haces de sonda parcialmente cizallados, y el desplazamiento complementario para combinar el par de haces de sonda parcialmente cizallados, requieren sólo dos dispositivos birrefringentes. Sin embargo, se observará que, si los dos cristales birrefringentes son del mismo tipo, las trayectorias ópticas para los dos componentes del haz de sonda formateado en la Fig. 17 son diferentes. La "trayectoria óptica" en este contexto es la longitud de la trayectoria del haz multiplicada por el índice refractivo del volumen a través del cual es desplazado. Si este aparato es usado con una fuente de baja coherencia, es conveniente añadir un medio de compensación para compensar la diferencia en la longitud de la trayectoria óptica. El medio de compensación en el aparato de la Fig. 17 es un tercer BC, por el que el haz con la trayectoria óptica más corta a través del aparato "ve" una trayectoria óptica adicional que es más larga que la trayectoria óptica añadida a la longitud de la trayectoria óptica más larga. De este modo, las trayectorias ópticas de los dos haces están sustancialmente igualadas.

Las Figs. 19 y 20 son vistas en perspectiva de un aparato con cizallamiento parcial alternativo en el que el haz de sonda formateado es parcialmente cizallado en una sola dirección. Sin embargo, los primeros y segundos BC son de un tipo diferente, es decir, uno es positivo y el otro negativo, o viceversa. Si los dos cristales son diseñados adecuadamente, la cizalla lateral puede coincidir sustancialmente y la trayectoria óptica de los dos componentes del haz de sonda formateado puede ser sustancialmente igualada.

Las Figs. 21 y 22 son vistas en perspectiva de otro aparato con cizallamiento parcial alternativo en el que el haz de sonda formateado es parcialmente cizallado en una sola dirección. En este caso, los primeros y segundos cristales birrefringentes son del mismo tipo, es decir, ambos son positivos o negativos, y están fabricados preferentemente con la misma oblea. Un elemento giratorio de polarización, tal como una placa de media onda o un rotador de Faraday, es insertado entre los dos cristales de modo que la dirección de polarización de cada haz parcialmente cizallado sea girada 90 grados. Como resultado, el haz ordinario que sale del primer cristal entrará en el segundo como un haz extraordinario, y el haz extraordinario que sale del primer cristal entra en el segundo como un haz ordinario. En consecuencia, la cizalla lateral puede ser sustancialmente igualada y la trayectoria óptica de los dos componentes del haz de sonda formateado puede ser sustancialmente igualada.

En la realización mostrada en la Fig. 2, los medios de cizallamiento y los medios de combinación están compensados intrínsecamente en términos de la longitud de la trayectoria óptica. Cabe señalar que un medio de compensación de la longitud de la trayectoria óptica separado puede ser añadido al aparato de interrogación y puede ser colocado en cualquier sitio del aparato entre el primer polarizador y el segundo polarizador, o entre la fuente y el segundo polarizador si el haz de fuente está polarizado y no hay necesidad del primer polarizador, a condición de que sea sustancialmente compensado el aparato de interferencia con cizallamiento parcial. Si es usado un haz láser como haz de fuente, no es necesario compensar el aparato de interrogación.

El eje de polarización del segundo polarizador, si se requiere después del medio de combinación, es preferentemente paralelo (como es mostrado en la Fig. 2) u ortogonal al eje de polarización del primer polarizador, si el aparato de interferencia requiere uno, o a la dirección de polarización del haz de fuente polarizado. También puede ser a lo largo de cualquier otra dirección a condición de que el polarizador polarice las dos polarizaciones ortogonales de los haces o subhaces EO y OE.

La ventaja de estas realizaciones que utilizan cristales birrefringentes idénticos, como en el aparato de la Fig. 2, es que pueden ser fabricados a partir de la misma oblea, de modo que la orientación y el espesor de su eje óptico pueden estar bien adaptados para asegurar una realineación espacial sustancial de los haces cizallados, así como una igualación sustancial de la trayectoria óptica de los dos componentes del haz de sonda formateado.

Los cristales birrefringentes, en general, pueden tener birrefringencia positiva o negativa y ser uniaxiales o biaxiales.

El medio de detección es cualquier dispositivo que utilice cualquier efecto optoeléctrico para convertir la energía radiante electromagnética en una señal eléctrica como es conocida por los expertos en la técnica. Los medios de detección indican indistintamente un solo medio de detección o un grupo de medios de detección a condición de que los medios de detección de un grupo sean dedicados a la interrogación del mismo volumen de sonda de espécimen objetivo en comparación con el mismo volumen de sonda de muestra de referencia.

Alternativamente, los medios de detección pueden ser solo una observación visual, si el observador es capaz de identificar un patrón determinado.

Las propiedades ópticas de los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y/o los volúmenes de sonda de muestra de referencia pueden ser comparadas para producir mediciones relativas. Por ejemplo, un grupo de moléculas de un primer tipo (primer espécimen objetivo) ocupa una porción de un volumen de sonda de unos especímenes objetivo (Fig. 14). Una solución de un grupo de moléculas de un segundo tipo (segundo espécimen objetivo) en un líquido (tercer espécimen objetivo) es administrada al volumen de sonda de espécimen objetivo y después es lavada. El aparato revela si ha sido producida una reacción entre los dos tipos de moléculas comparando las propiedades ópticas del volumen de sonda de muestra de referencia que no han cambiado, con las propiedades ópticas del volumen de sonda de espécimen objetivo que pueden haber cambiado si el segundo tipo de moléculas ha ocupado una porción del volumen de sonda del espécimen objetivo uniéndose al primer tipo de moléculas (Fig. 15).

En algunas aplicaciones puede ser preferente disponer especímenes objetivo en un portador, como es mostrado en las Fig. 14 y 15, de modo que puedan, por ejemplo, ser almacenados en conjunto, cargados y descargados en conjunto del aparato. En algunas otras aplicaciones puede ser preferente disponer especímenes objetivo directamente sobre una parte del aparato.

En algunas aplicaciones puede ser preferente retirar los especímenes objetivo del aparato de interrogación y sustituirlos por otros especímenes objetivo. En otras aplicaciones puede ser conveniente integrar algunos especímenes objetivo y el aparato de interrogación de forma permanente.

Una ventaja de la invención es que interroga las propiedades ópticas de un conjunto de volúmenes de sonda de espécimen objetivo en comparación con un conjunto de volúmenes de sonda de muestra de referencia que pueden ser conocidos y/o controlados independientemente de los volúmenes de sonda de especímenes objetivo. Esto es

particularmente útil en varias aplicaciones. Por ejemplo, en las aplicaciones que implican reacciones químicas algunas moléculas de interés pueden ocupar los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y otras los volúmenes de sonda de muestra de referencia. Las moléculas de control conocidas, por ejemplo, por ser inertes en ciertos eventos de interés, pueden ocupar los volúmenes de sonda de muestra de referencia.

5 Otra ventaja de la invención es que permite el equivalente óptico de lo que en la electrónica integrada es denominado generalmente "rechazo en modo común". Debido a la estrecha proximidad entre los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y los volúmenes de sonda de muestra de referencia, las perturbaciones ambientales observadas por ambos volúmenes son sustancialmente las mismas y, por lo tanto, no inducen el ruido de desplazamiento de fase que de otro modo sería revelado por el aparato.

10 Otra ventaja de la invención es el rango de dimensiones de los volúmenes de sonda de espécimen objetivo y los volúmenes de sonda de muestra de referencia que puede interrogar. La invención puede interrogar volúmenes de sonda de espécimen objetivo en comparación con volúmenes de sonda de muestra de referencia que a lo largo de la dirección de propagación de la luz pueden abarcar desde unos pocos nanómetros hasta varios milímetros, dependiendo del diseño y la aplicación. Esta es una ventaja significativa en comparación con los aparatos y procedimientos que interrogan volúmenes de sonda de muestras objetivo con campos evanescentes. Típicamente, estos están limitados a un rango muy estrecho de volúmenes de sonda de espécimen objetivo en el orden de la longitud de onda del haz de fuente.

15 Otra ventaja de la invención es que puede utilizar un haz de fuente con baja coherencia espacial y baja coherencia temporal. Por lo tanto, es relativamente inmune a los efectos adversos que típicamente generan los haces de fuente muy coherentes, tal como los haces láser. Estos incluyen motas, patrones de difracción óptica y otros efectos de interferencia de luz espuria, por ejemplo, reflejos no deseados que típicamente deterioran el rendimiento de la interrogación óptica.

20 Otra ventaja de la invención es que un desplazador o modulador de fase única es suficiente para desplazar o modular la fase relativa entre los haces de los pares de haces completamente cizallados del conjunto de aparatos de interferencia con cizallamiento completo.

25 En resumen, el procedimiento y aparato de la invención están diseñados para interrogar las propiedades ópticas de los volúmenes de sonda de espécimen objetivo en comparación con las propiedades ópticas de los volúmenes de sonda de muestra de referencia. El procedimiento consiste en la división y cizallamiento de un haz de fuente óptica para producir un haz óptico formateado que comprende un primer y un segundo haz de sonda parcialmente cizallado, exposición de simultáneamente al menos un volumen de sonda de espécimen objetivo y al menos un volumen de sonda de muestra de referencia al haz óptico formateado, combinación de los componentes del primer y segundo haz óptico, y detección de un patrón de interferencia producido por los componentes del haz óptico combinado. Las características exactas del procedimiento reivindicado son definidas en la reivindicación independiente 1.

30 El aparato comprende un medio de cizallamiento para división y cizallamiento de un haz de fuente óptica para producir un haz óptico formateado que comprende un primer y un segundo haz de sonda parcialmente cizallado, un medio de combinación para recombinar los primeros y segundos componentes del haz óptico para producir un haz óptico combinado, y un detector óptico para detectar un patrón de interferencia en el haz óptico combinado. La definición anterior tiene por objeto transmitir una relación entre los primeros y segundos haces ópticos en la que al menos uno de los dos haces ópticos está cizallado (desplazado) con respecto al otro. En la disposición de la Fig. 2, ambos haces ópticos divididos están desplazados. Sin embargo, debe entenderse que en las realizaciones útiles de la invención sólo es necesario que un haz óptico esté desplazado con respecto al otro haz de manera que los dos haces ópticos estén superpuestos parcialmente. Las características exactas del aparato reivindicado son definidas en la reivindicación independiente 8.

35 Al concluir la descripción detallada es evidente que pueden ser realizadas diversas modificaciones adicionales de esta invención por los expertos en la técnica, a condición de que estas modificaciones estén dentro del ámbito de la invención definida por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de interrogación de volúmenes de sonda de espécimen objetivo que comprende:
 - 5 división y cizallamiento de un haz de fuente óptica para producir un haz óptico formateado (11) que comprende un primer haz de sonda y un segundo haz de sonda, por el que el primer haz de sonda y el segundo haz de sonda están superpuestos parcialmente, y en el que el haz óptico formateado tiene un conjunto de rejilla de pares de volumen de sonda (T1, T2,..., T15, R1, R2,..., R15) que comprende un conjunto de volúmenes de sonda de espécimen objetivo (T1, T2,..., T15) y un conjunto de volúmenes de sonda de muestra de referencia (R1, R2,..., R15);
 - 10 exposición de al menos un volumen de sonda de espécimen objetivo (T1, T2,..., T15) y al menos un volumen de sonda de muestra de referencia (R1, R2,..., R15) del conjunto de rejilla de pares de volumen de sonda (T1, T2,..., T15, R1, R2,..., R15) al haz óptico formateado,
 - 15 combinación del primer haz de sonda y el segundo haz de sonda para producir un haz óptico combinado, y detección de un patrón de interferencia en el haz óptico combinado por un conjunto (18) de dispositivos de detección, en el que el conjunto de dispositivos de detección individuales corresponde al conjunto de pares de volumen de sonda (T1, T2,..., T15, R1, R2,..., R15).
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el primer haz de sonda y el segundo haz de sonda en el haz óptico formateado son paralelos.
3. El procedimiento de la reivindicación 2, en el que el primer haz de sonda y el segundo haz de sonda son cizallados.
4. El procedimiento de la reivindicación 2, en el que el haz de fuente óptica es polarizado para producir un haz óptico polarizado.
5. El procedimiento de la reivindicación 4, en el que el haz óptico polarizado es dividido y cizallado utilizando al menos un dispositivo birrefringente (13, 14).
6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el conjunto de rejilla contiene pares de volumen de sonda en el que uno del par es una porción del primer haz de sonda y el otro del par es una porción del segundo haz de sonda.
7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el primer haz de sonda y el segundo haz de sonda son combinados utilizando al menos un dispositivo birrefringente (15, 16).
8. Un aparato de interrogación de volúmenes de sonda de espécimen objetivo que comprende:
 - 30 un medio de cizallamiento para división y cizallamiento de un haz de fuente óptica para producir un haz óptico formateado que comprende un primer haz de sonda y un segundo haz de sonda, en el que el primer haz de sonda y el segundo haz de sonda están superpuestos parcialmente, un medio de combinación para combinación del primer haz de sonda y el segundo haz de sonda para producir un haz óptico combinado,
 - 35 medios de detección para detección de un patrón de interferencia en el haz óptico combinado, y un portador de muestras colocado para intersecar el haz óptico formateado, en el que el portador de muestras comprende un conjunto de pares de espécimen objetivo y muestras de referencia y los medios de detección comprenden un conjunto (18) de dispositivos de detección, siendo el conjunto de dispositivos de detección individuales correspondiente al conjunto de pares de espécimen objetivo y muestras de referencia del portador de muestras.
9. El aparato de la reivindicación 8, en el que el primer haz de sonda y el segundo haz de sonda en el haz óptico formateado son paralelos.
10. El aparato de la reivindicación 8, en el que el haz de fuente óptica es cizallado en dos direcciones.
11. El aparato de la reivindicación 8 que incluye además un polarizador de haces óptico (12) para polarizar el haz de fuente en un haz polarizado que puede ser dividido en dos componentes.
12. El aparato de la reivindicación 10, en el que el medio de cizallamiento comprende un primer dispositivo birrefringente (13) para cizallar el haz de fuente óptica en una primera dirección lateral para producir un par de haces de sonda parcialmente cizallados y un segundo dispositivo birrefringente (14) para cizallar el par de haces de sonda parcialmente cizallados en una dirección lateral aproximadamente perpendicular a la primera dirección lateral.
13. El aparato de la reivindicación 12, en el que el medio de combinación comprende un primer dispositivo birrefringente (15) para cizallar el haz de haz óptico formateado en una primera dirección lateral para producir un par de haces de sonda parcialmente cizallados y un segundo dispositivo birrefringente (16) para cizallar el par de haces de sonda parcialmente cizallados en una dirección lateral aproximadamente perpendicular a la primera dirección lateral.
14. El aparato de la reivindicación 8, en el que el haz de fuente óptica tiene una baja coherencia espacial y una baja coherencia temporal.

15. El aparato de la reivindicación 8, en el que el haz de fuente óptica es un LED o un láser.
 16. El aparato de la reivindicación 8, en el que la longitud de la trayectoria óptica recorrida por el primer haz es sustancialmente la misma que la longitud de la trayectoria óptica del segundo haz óptico.
 17. El aparato de la reivindicación 8 que comprende además un medio de compensación para compensar o ajustar la longitud relativa de la trayectoria óptica de los dos haces ópticos parcialmente cizallados.
- 5

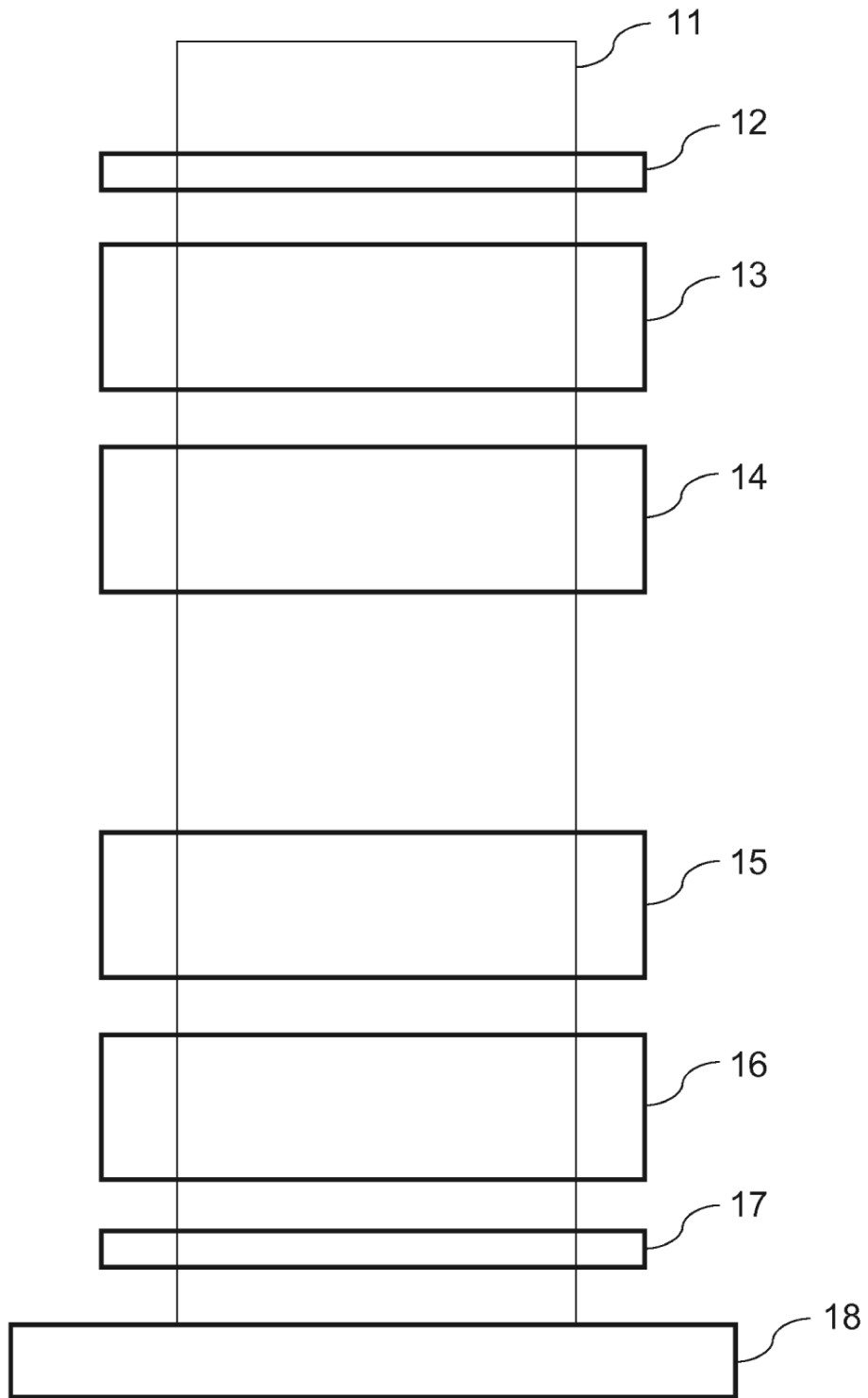


Fig. 1

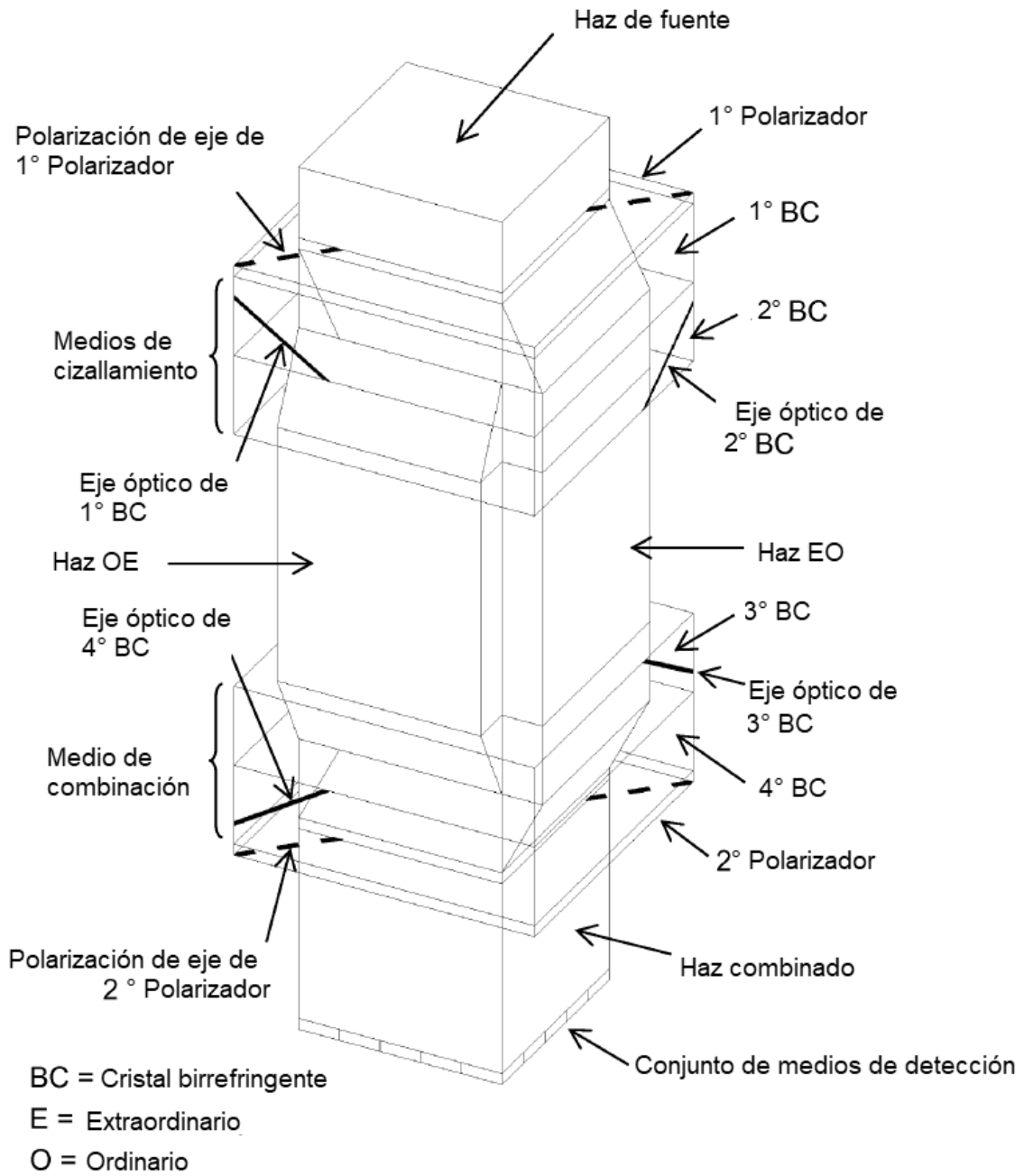
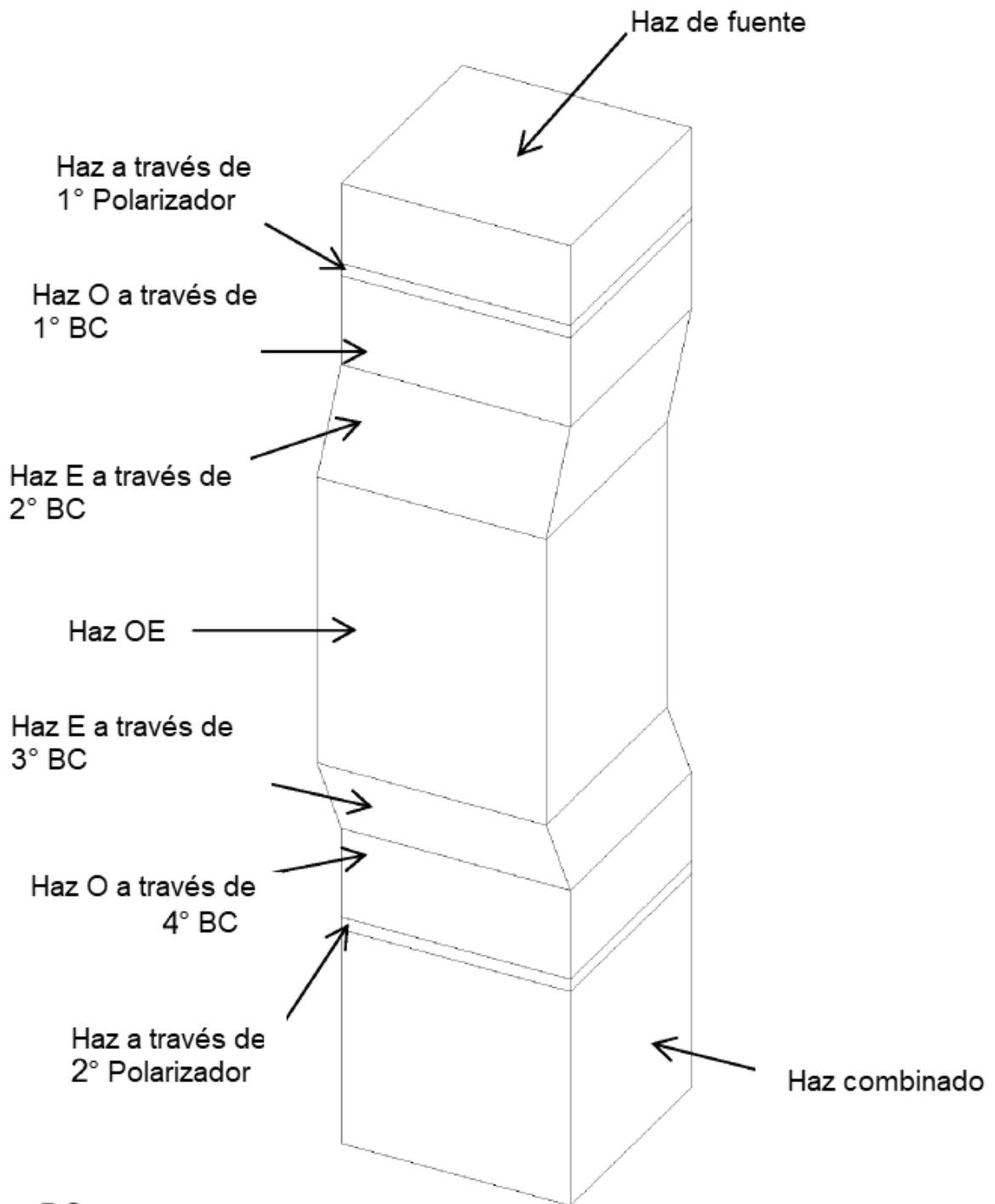


Fig. 2



BC = Cristal birrefringente

E = Extraordinario

O = Ordinario

Fig. 3

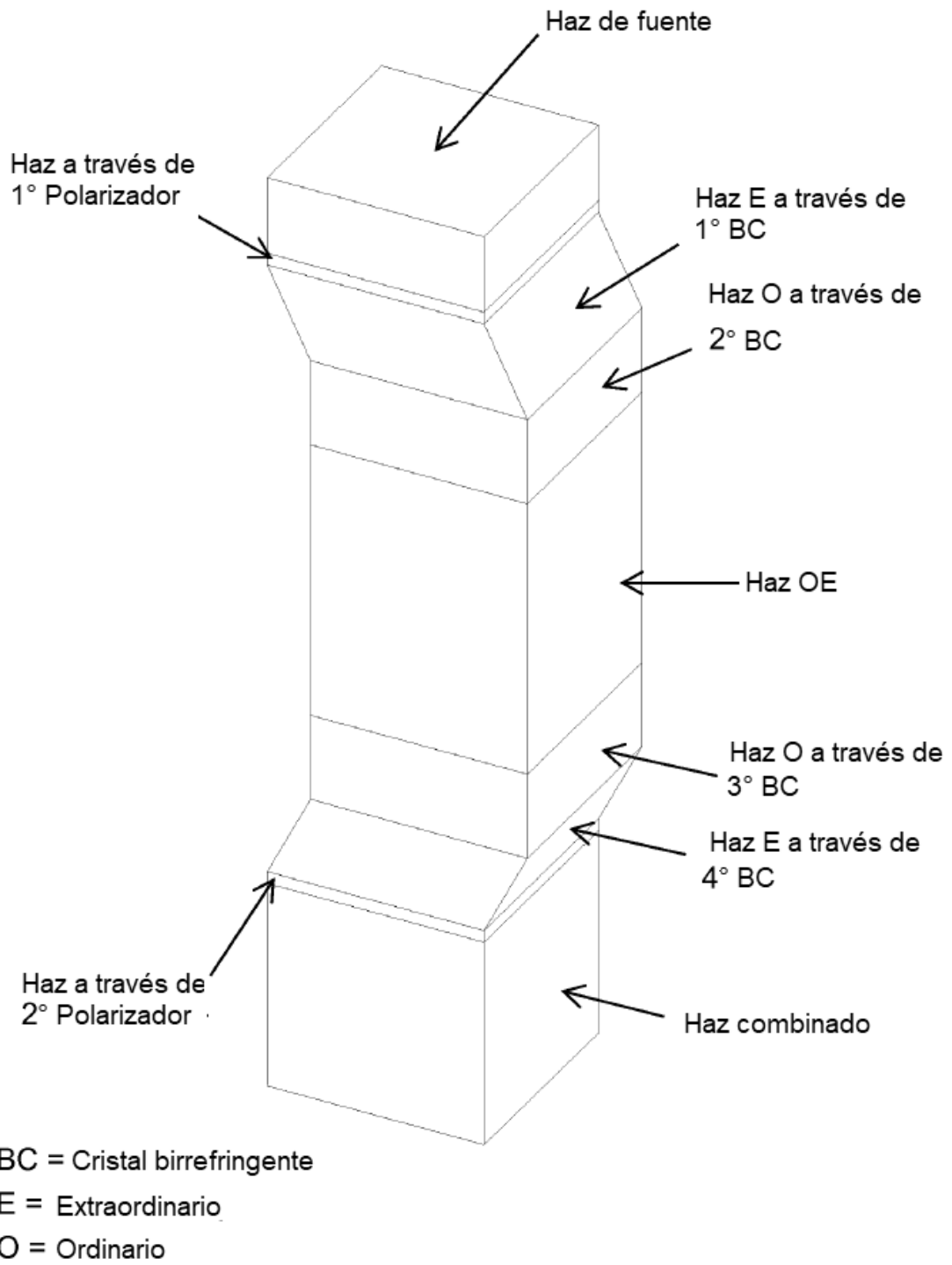


Fig. 4

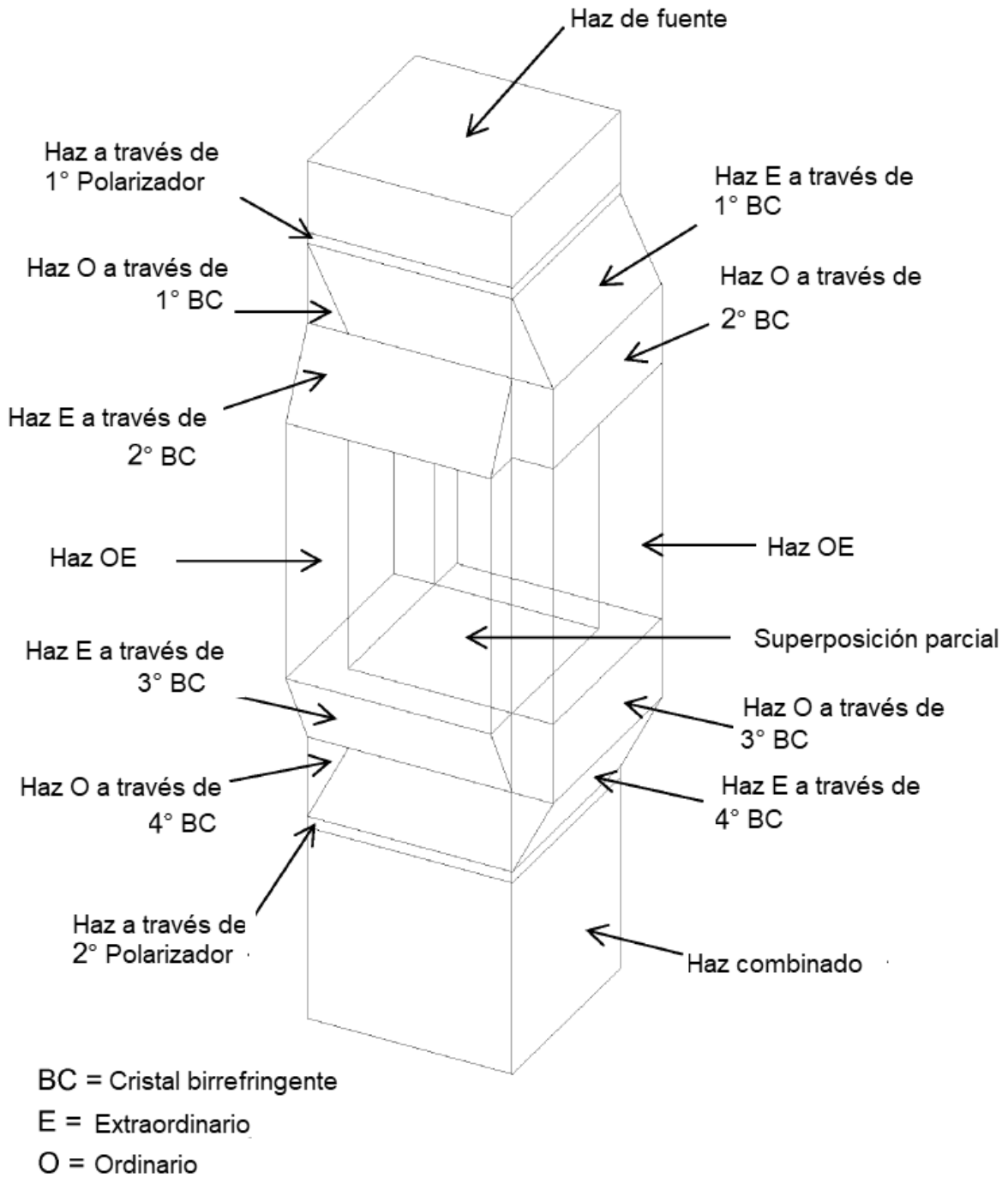


Fig. 5

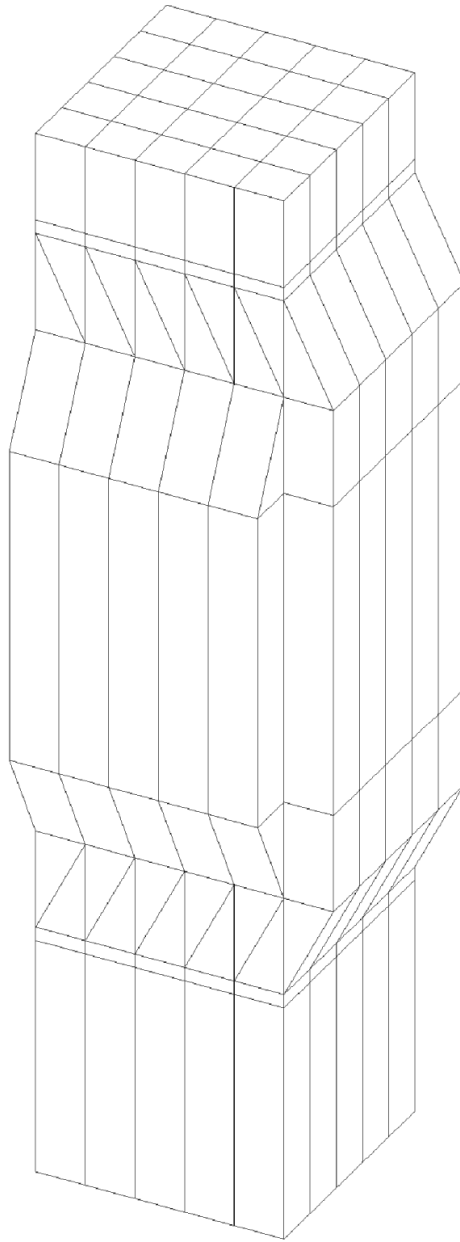
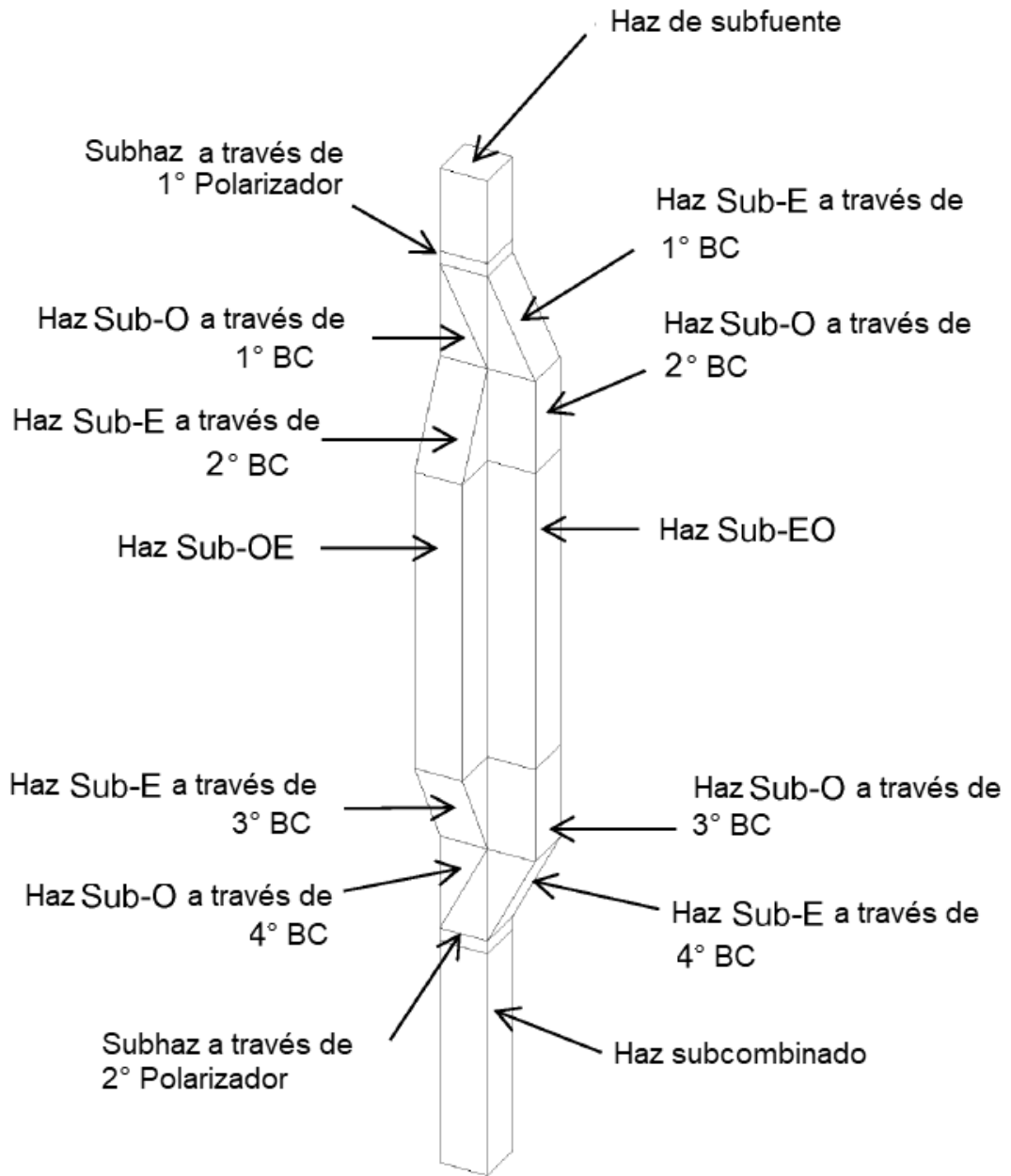


Fig. 6



BC = Cristal birrefringente
 E = Extraordinario
 O = Ordinario

Fig. 7

	S(5,1)	S(5,2)	S(5,3)	S(5,4)	S(5,5)	
	S(4,1)	S(4,2)	S(4,3)	S(4,4)	S(4,5)	
	S(3,1)	S(3,2)	S(3,3)	S(3,4)	S(3,5)	
	S(2,1)	S(2,2)	S(2,3)	S(2,4)	S(2,5)	
	↑ S(1,1)	S(1,2)	S(1,3)	S(1,4)	S(1,5)	

Fig. 8

		EO(5,1)	EO(5,2)	EO(5,3)	EO(5,4)	EO(5,5)
OE(5,1)	OE(5,2) + EO(4,1)	OE(5,3) + EO(4,2)	OE(5,4) + EO(4,3)	OE(5,5) + EO(4,4)	EO(4,5)	
OE(4,1)	OE(4,2) + EO(3,1)	OE(4,3) + EO(3,2)	OE(4,4) + EO(3,3)	OE(4,5) + EO(3,4)	EO(3,5)	
OE(3,1)	OE(3,2) + EO(2,1)	OE(3,3) + EO(2,2)	OE(3,4) + EO(2,3)	OE(3,5) + EO(2,4)	EO(2,5)	
↑ OE(2,1)	OE(2,2) + EO(1,1)	OE(2,3) + EO(1,2)	OE(2,4) + EO(1,3)	OE(2,5) + EO(1,4)	EO(1,5)	
	OE(1,1)	OE(1,2)	OE(1,3)	OE(1,4)	OE(1,5)	

Fig. 9

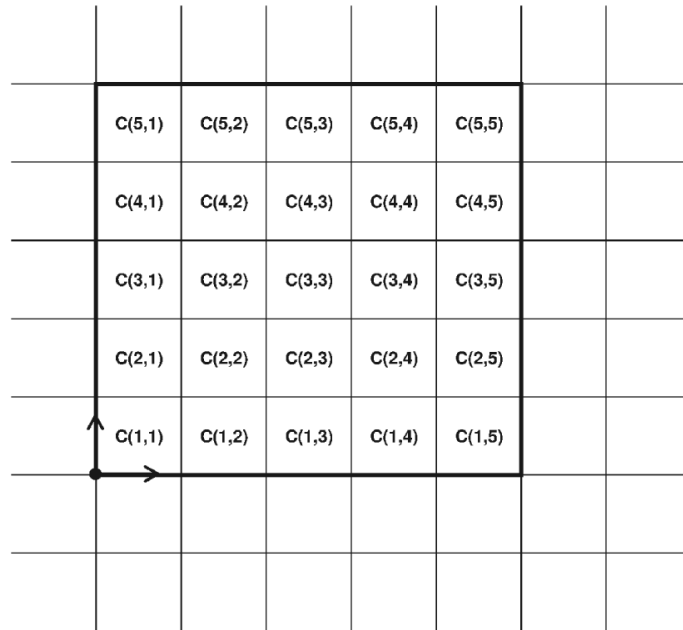


Fig. 10

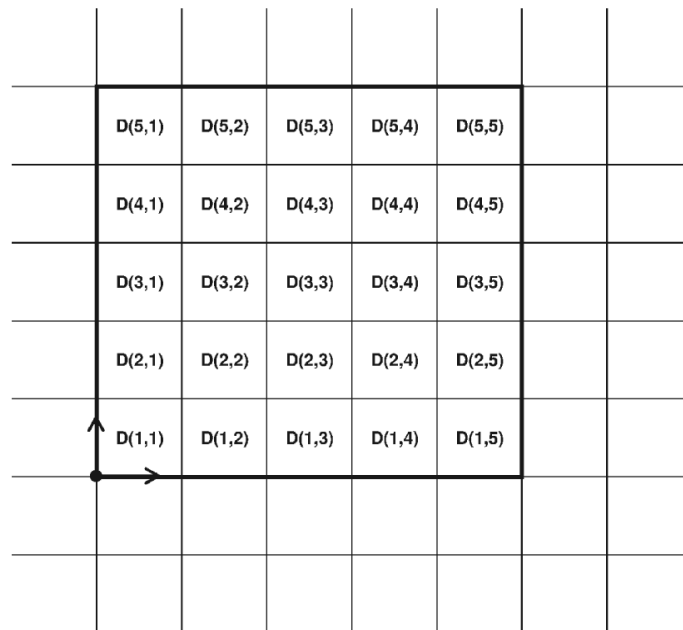


Fig. 11

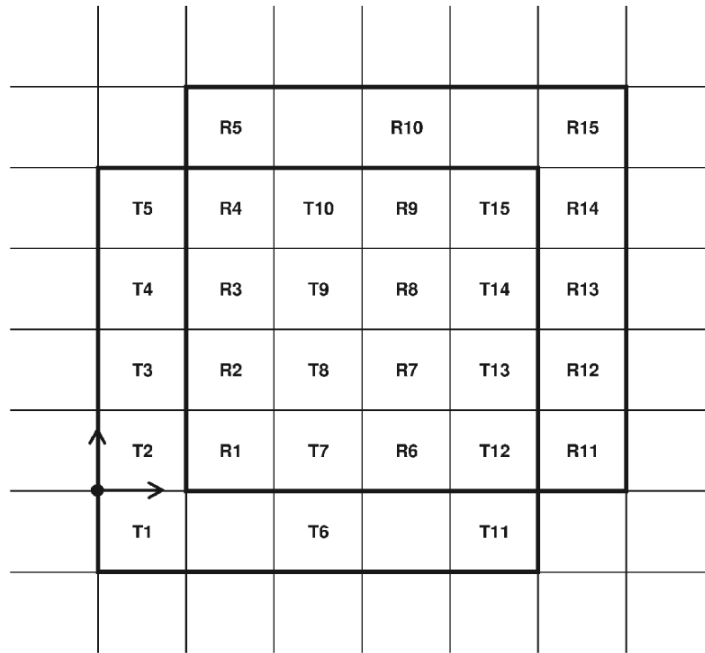


Fig. 12

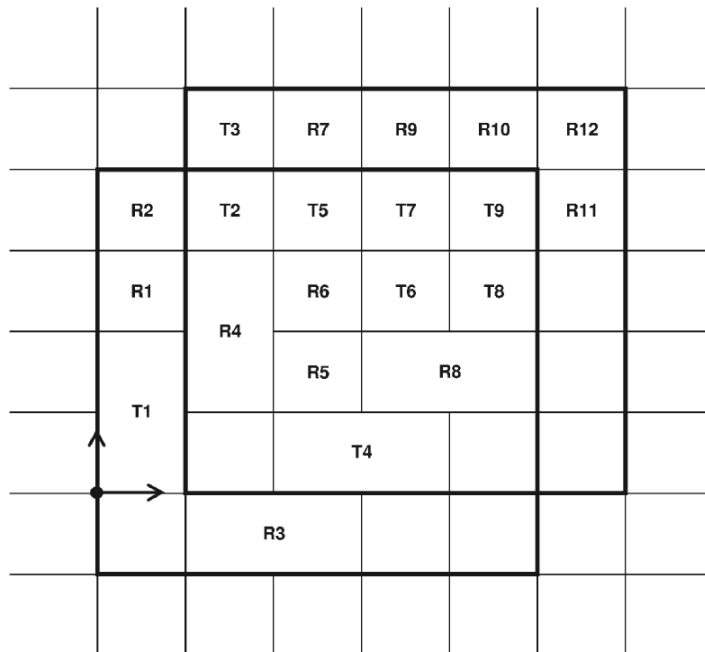


Fig. 13

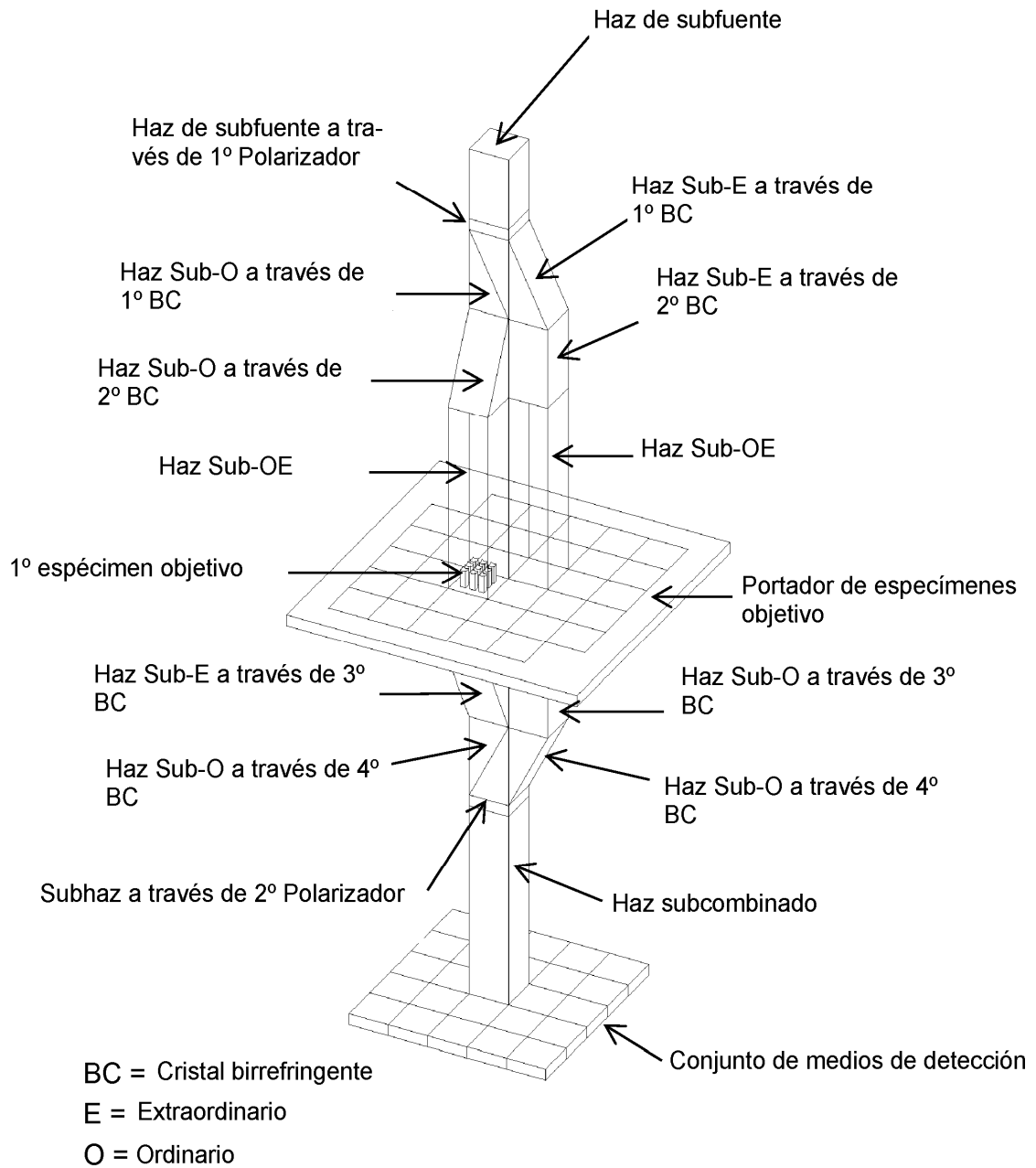


Fig. 14

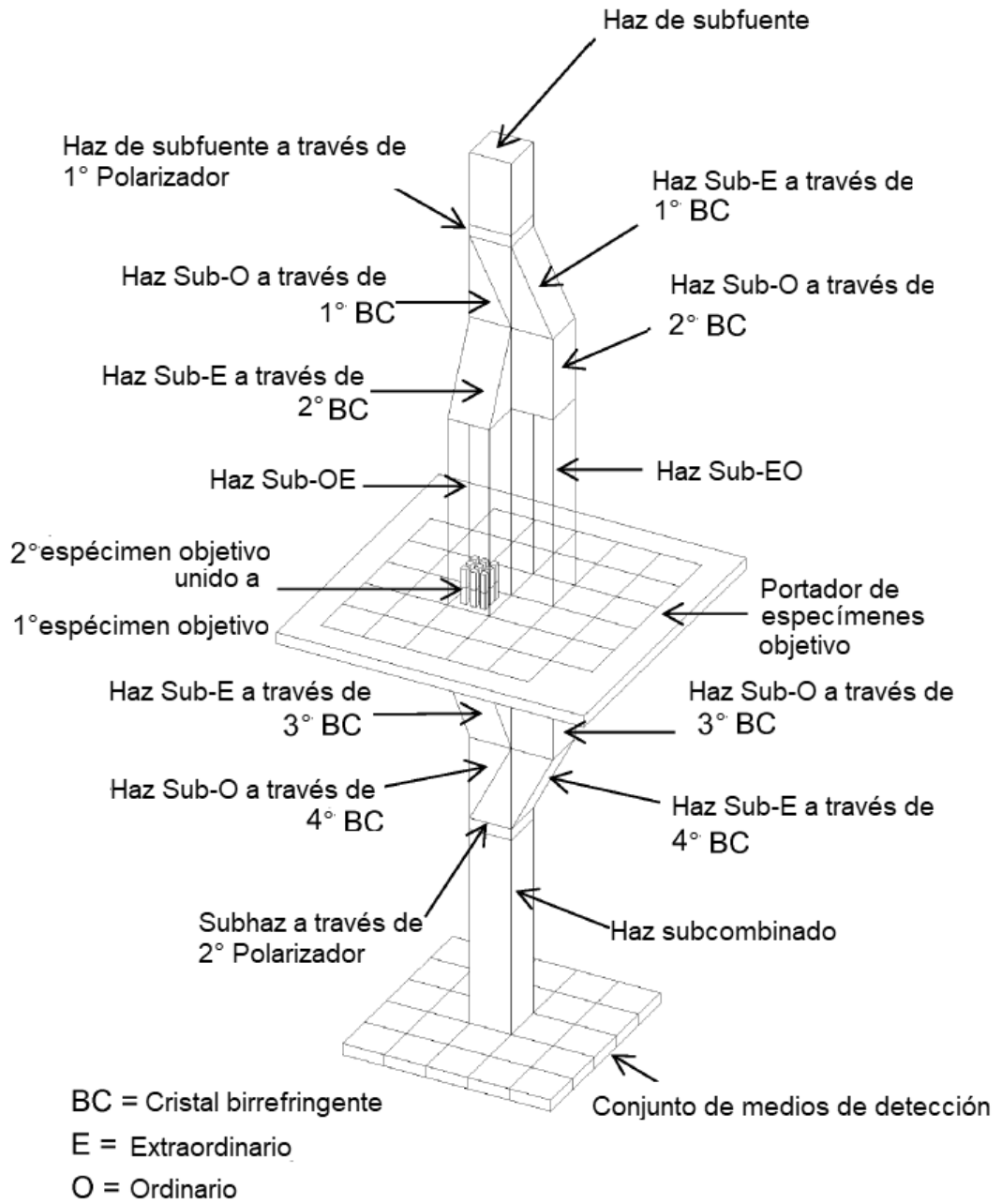


Fig. 15

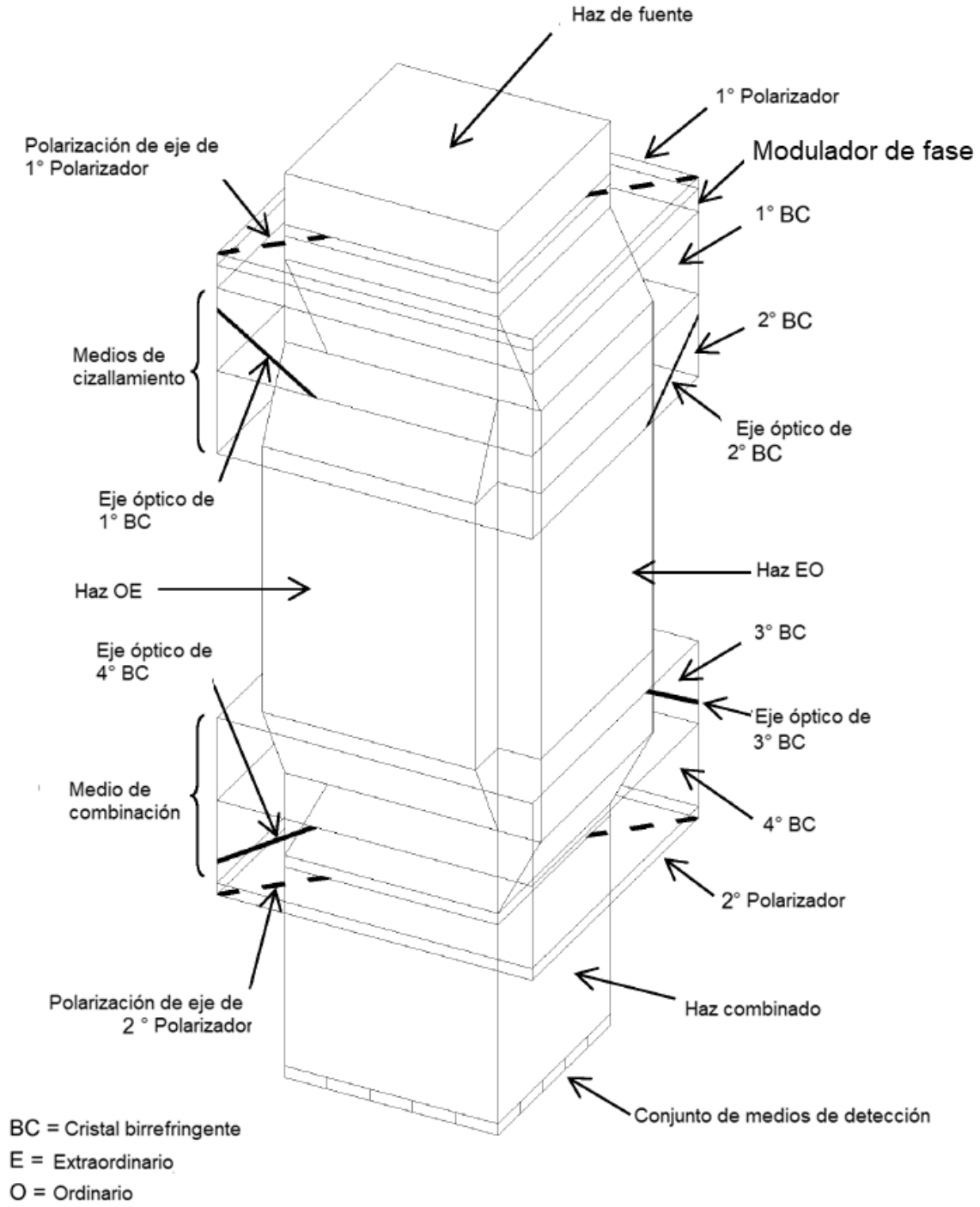


Fig. 16

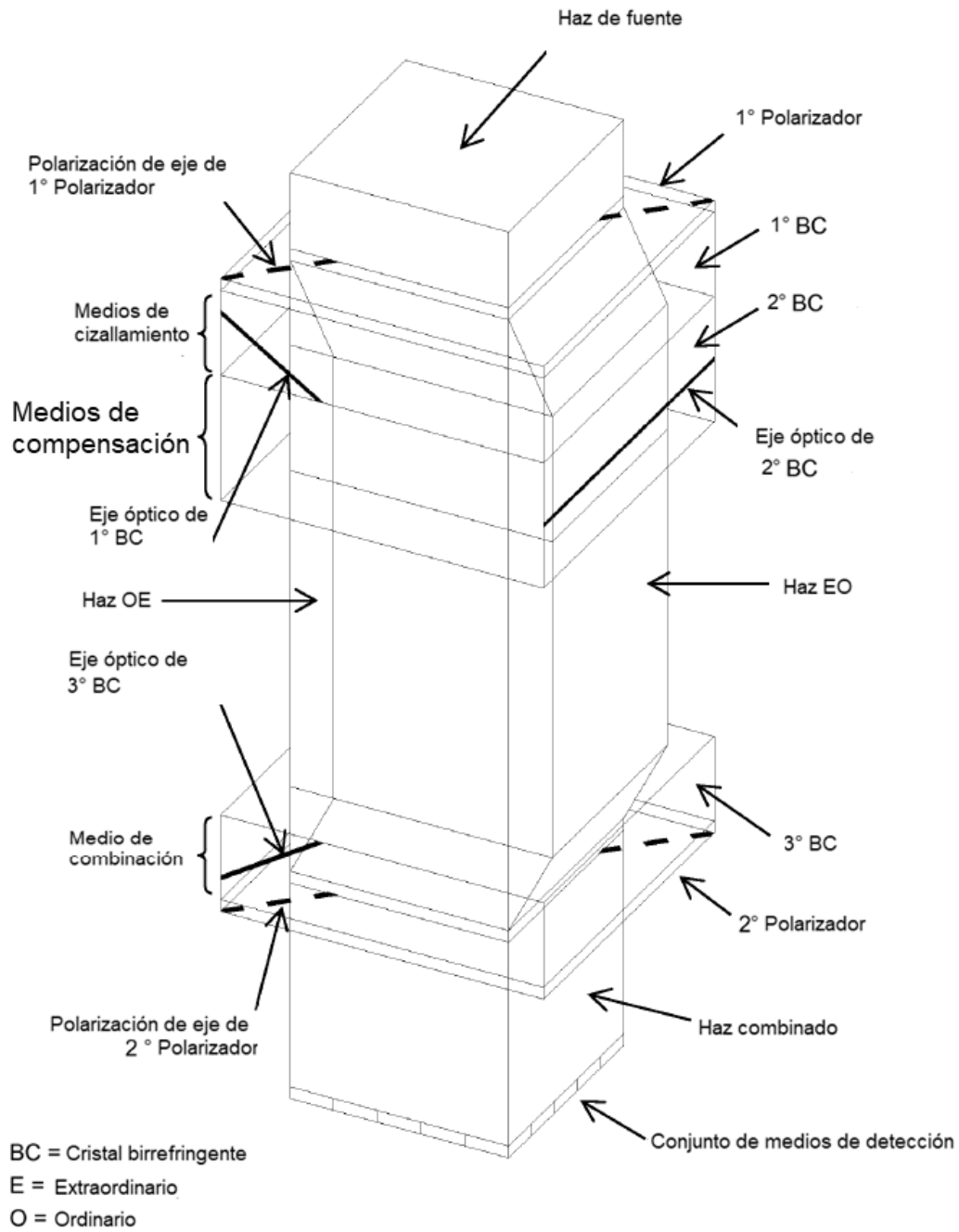


Fig. 17

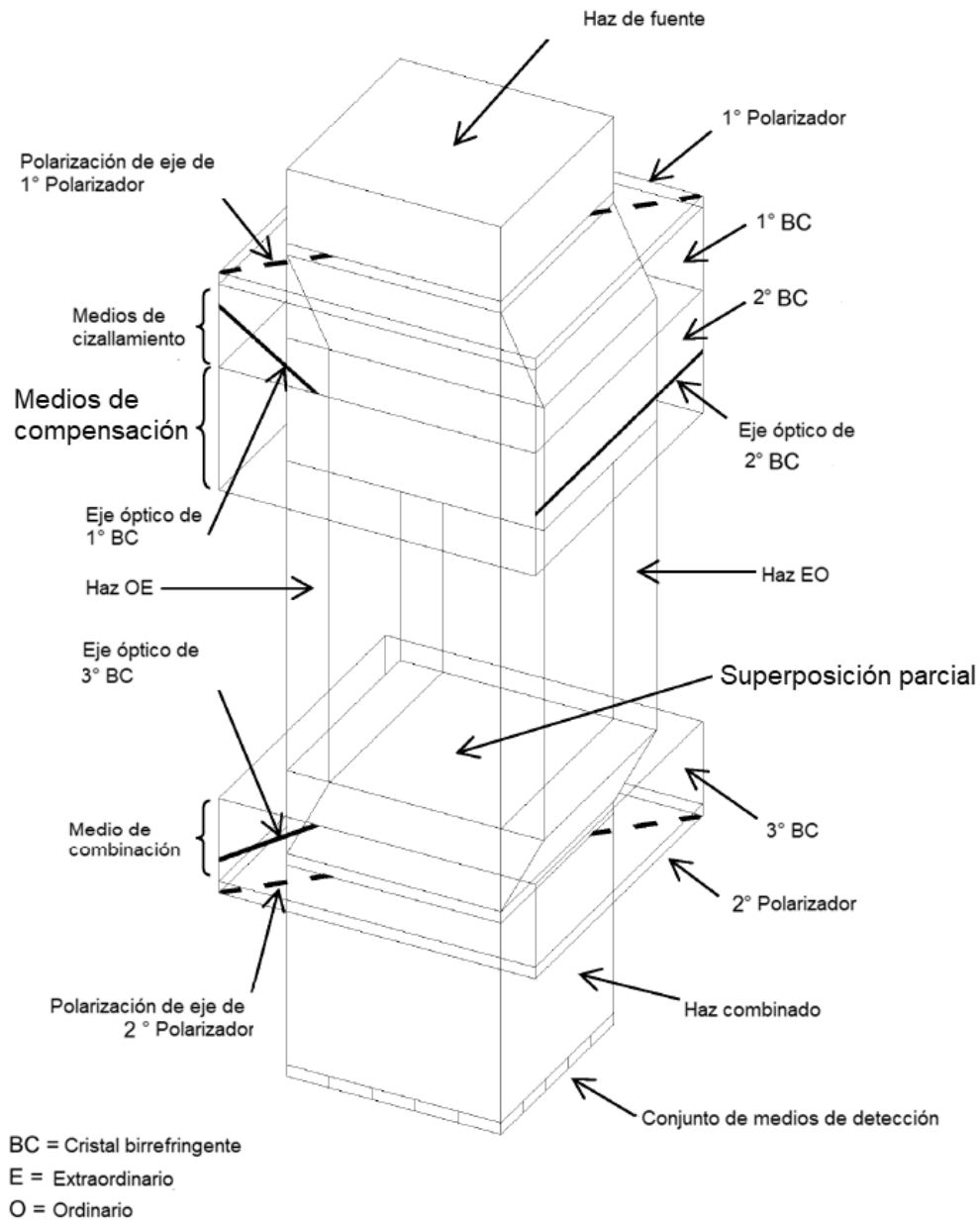


Fig. 18

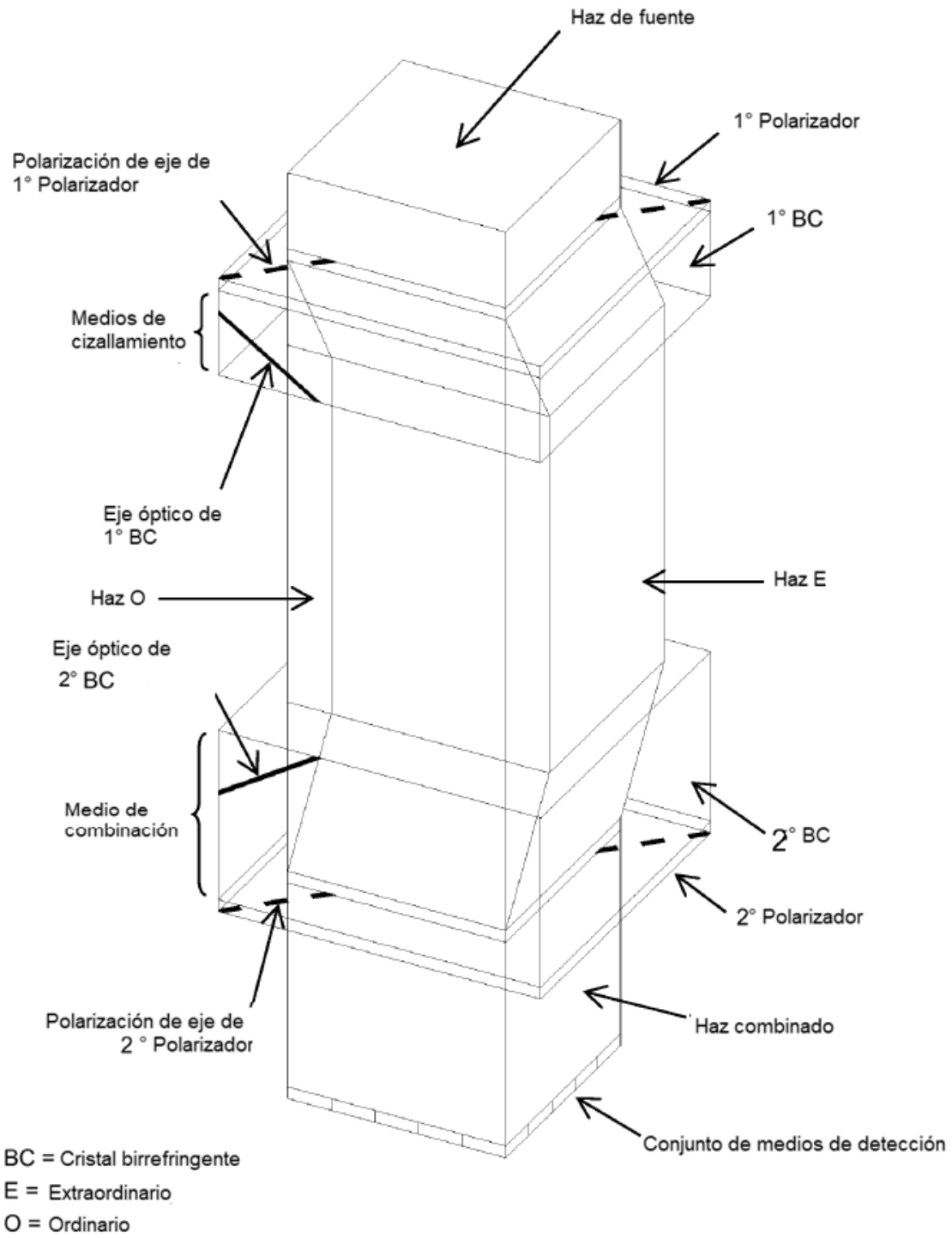


Fig. 19

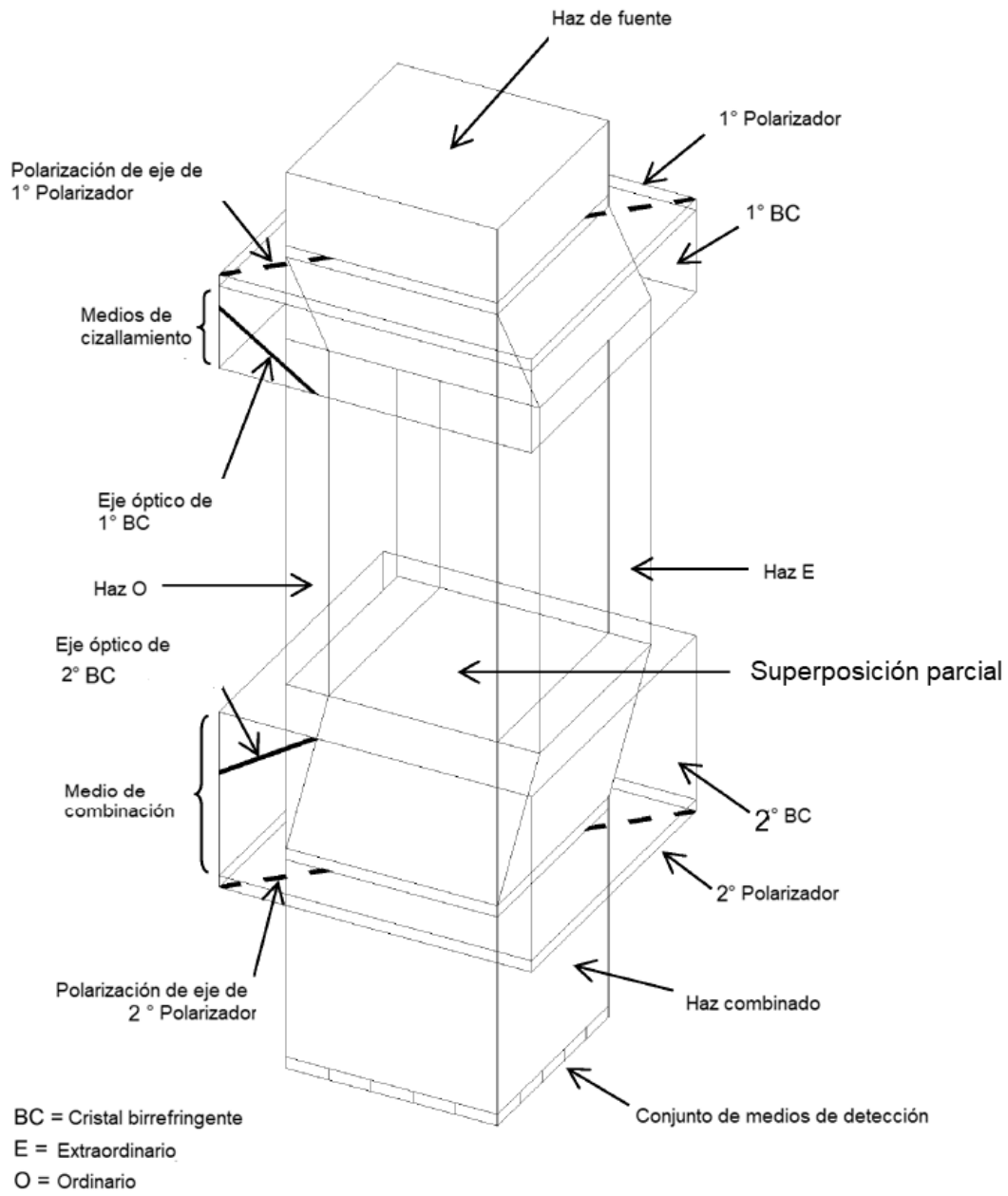


Fig. 20

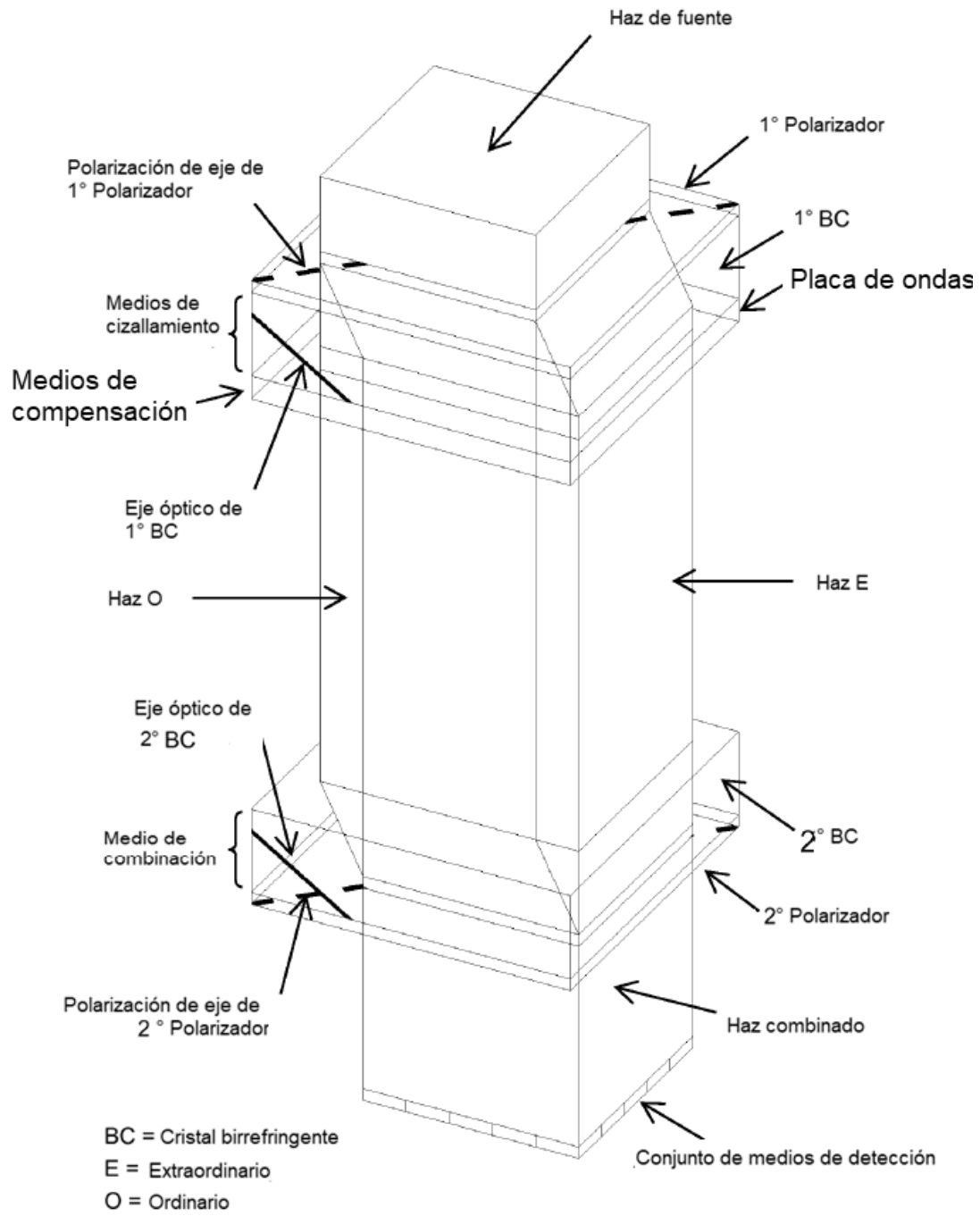


Fig. 21

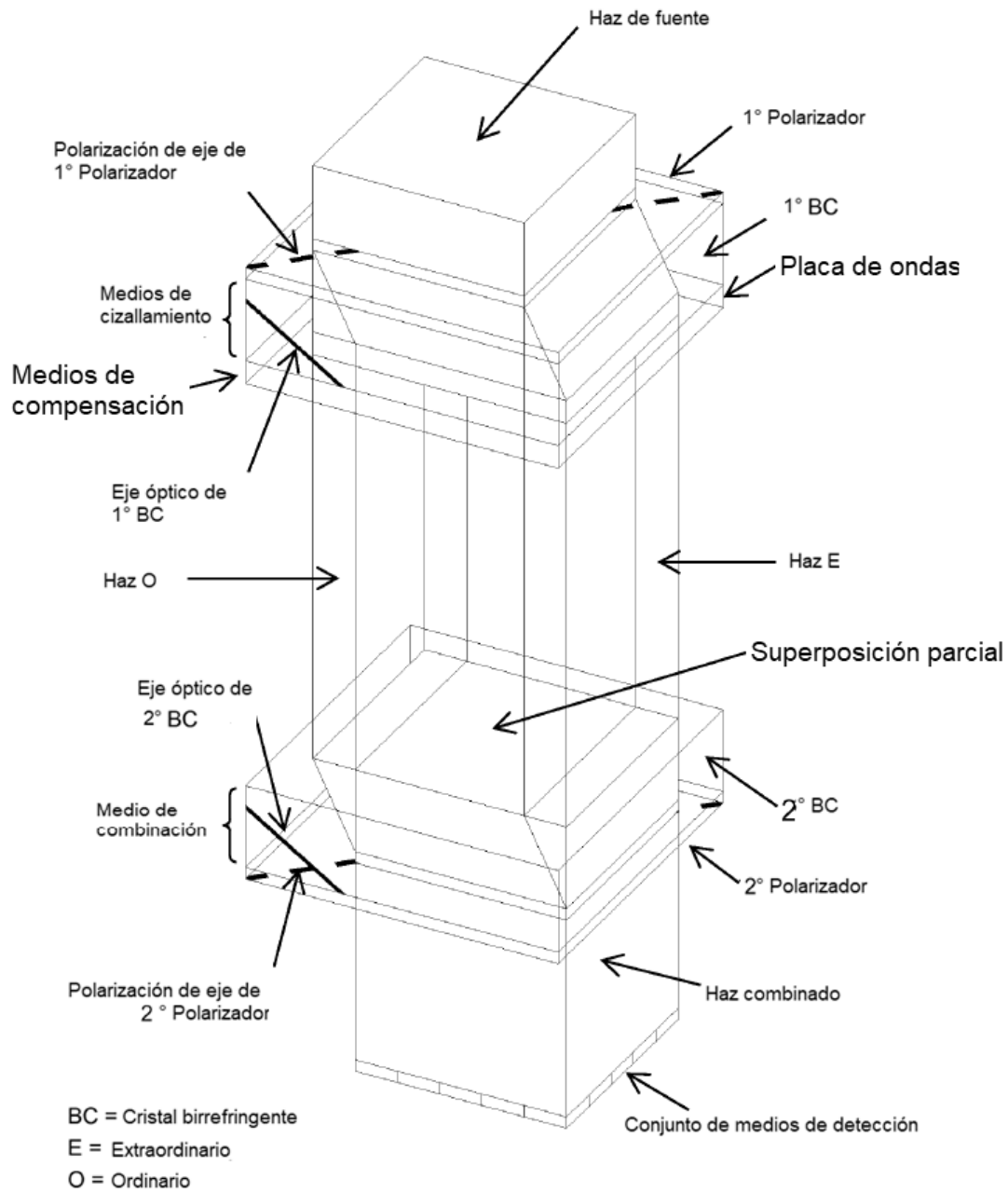


Fig. 22