

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 799 324**

51 Int. Cl.:

G01K 17/00 (2006.01)

G01K 17/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.11.2014 PCT/IB2014/065825**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15068115**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.11.2014 E 14799015 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2020 EP 3066440**

54 Título: **Calorímetro a temperatura estable**

30 Prioridad:

07.11.2013 FR 1360897

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

16.12.2020

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (100.0%)
3, rue Michel-Ange
75016 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**GARDEN, JEAN-LUC;
BROSSE-MARON, PIERRE y
MOIROUX, GAËL**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 799 324 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

Calorímetro a temperatura estable

La invención se refiere al campo de la calorimetría y, más en particular, a un calorímetro a temperatura estable, eficaz y diseñado para muestras de volumen reducido.

5 Ya se conocen numerosos calorímetros, todos para medir las cantidades de calor que intervienen en una reacción química o una transformación de la materia.

En efecto, por ejemplo durante una transformación física, como una transición de fase, se produce un intercambio de calor entre la materia y el exterior, cuyo sentido depende de la naturaleza endotérmica o exotérmica del proceso de transición.

10 Por consiguiente, la medición de las cantidades de calor permite acceder a informaciones sobre el estado estructural de la materia. Es por lo que los calorímetros se utilizan en numerosos campos científicos, en particular la física y la química, y, por lo tanto, en la industria.

Competen especialmente a la metalurgia, para el estudio de las reacciones de oxidorreducción y transiciones térmicas, la química de los polímeros o incluso la bioquímica y la industria agroalimentaria.

15 En particular, en biofísica, la calorimetría es el único método que permite acceder de manera directa a datos termodinámicos (estabilidad termodinámica, energía libre, entropía, etc.) y la presente solicitud de patente se refiere a la calorimetría diferencial de barrido.

Esta técnica de análisis consiste en medir las diferencias de intercambio de calor entre una muestra que se tiene que analizar y una referencia.

20 Una medición diferencial presenta la ventaja de eliminar la mayor parte de las desviaciones térmicas debidas al entorno, sin añadir ruido al sistema. Así, permite detectar únicamente la señal inducida por la transformación termodinámica que se tiene que estudiar.

A modo de ejemplo, en el campo de las ciencias de la vida, para estudiar la evolución termodinámica de una proteína, se logran dos células idénticas, integrándose estas células en el entorno de manera térmicamente equivalente. Una de ellas se llena con un volumen de solución tampón, constituyendo la referencia, y la otra se llena con una solución que comprende la solución tampón y la proteína, constituyendo la muestra.

25 En la práctica, las dos células se disponen en un horno cuya temperatura evoluciona de manera determinada, generalmente según rampas. Esto va a provocar una transformación física de la muestra y, por lo tanto, un flujo de calor intercambiado entre la muestra y el horno. Una medición diferencial entre las dos células de la medición permite determinar la diferencia de flujo de calor entre la muestra y la referencia y obtener, por lo tanto, directamente la señal útil generada por la proteína.

En los aparatos conocidos se utiliza generalmente la técnica de la calorimetría diferencial de barrido o DSC (*Differential Scanning Calorimetry*, en inglés) en la que se prevé una calibración previa a la medición y un barrido de gas inerte para evitar cualquier reacción de la muestra con la atmósfera del horno.

35 Estos aparatos han sido satisfactorios durante mucho tiempo puesto que permiten no solamente medir la cantidad de calor absorbido o liberado durante la transición de fase, sino observar igualmente cambios de fase más complicados, como las transiciones vítreas.

Se pueden citar especialmente los calorímetros comercializados por las compañías Setaram, Mettler Toledo, Netzsch, TA instruments o MicroCal para los más importantes, únicamente con calorímetros DSC destinados a las ciencias de la vida en TA instruments o MicroCal.

40 Estos últimos presentan, sin embargo, los inconvenientes de que soportan especialmente un volumen mínimo de muestra, necesario para que se pueda realizar una medición con el sensor. En efecto, aunque el volumen en la zona de medición no sea más que unos cientos de microlitros, el volumen mínimo es del orden del mililitro, para tener en cuenta a la vez el volumen de la célula de la medición y el volumen mínimo necesario para llevar el producto a la célula.

Este volumen mínimo se revela prohibitivo en el campo de las ciencias de la vida o en el campo farmacéutico, en los que las muestras que se tienen que estudiar están disponibles en cantidades muy reducidas, especialmente por el coste de su síntesis. Además, es preferible que la concentración de moléculas de la muestra sea relativamente reducida, para limitar los problemas de interacción bioquímica y de agregación.

50 La compañía Mettler Toledo ha comercializado recientemente un calorímetro de tipo DSC con el que se puede trabajar con cantidades ínfimas de muestra y con velocidades de escaneo que van hasta 10^5 K/s, pero estos instrumentos únicamente se adaptan a mediciones sobre muestras sólidas.

En la Patente Francesa FR-2 977 034 se describe un sensor de medición calorimétrica diferencial que permite realizar mediciones sobre muestras líquidas o sólidas, presentando un volumen del orden del microlitro. Su utilización contribuye a paliar los inconvenientes de los calorímetros conocidos.

5 Sin embargo, para ello, es además necesario que el calorímetro proporcione, a dicho sensor, un entorno térmico con una estabilidad muy alta.

En otras palabras, para realizar mediciones nanocalorimétricas sobre volúmenes de muestras del orden del microlitro, conviene que el calorímetro permita obtener, al nivel del sensor, una estabilidad de la temperatura del orden de algunas decenas de microkelvins en modo de rampa o en modo isoterma.

10 A menos que se indique lo contrario, la señal útil liberada por el sensor es demasiado reducida con respecto al ruido y la medición no es significativa.

Además, si los calorímetros conocidos proporcionan un entorno térmico estable a los sensores que contienen, esta estabilidad es del orden de unos milikelvins.

Se pueden citar especialmente los aparatos comercializados con la denominación Micro-DSC III por la compañía Sétaram o con la denominación Nano-DSC para TA Instruments.

15 El aparato Micro-DSC III asegura una estabilidad de la medición máxima del orden de 0,5 mK pico a pico. Es adecuado, por lo tanto, para muestras cuyo volumen sea del orden del mililitro, pero no del microlitro.

El aparato de TA Instruments asegura, a su vez, un entorno térmico estable para muestras con un volumen mínimo del orden de 300 μ l.

Ya se han realizado trabajos para poner a punto calorímetros que proporcionen un entorno térmico más estable.

20 Se puede citar especialmente el artículo de Wang et Al. «Nano-watt stabilized DSC and its applications» (*Journal of thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 79 (2005) 605-613).

En este artículo se describe un calorímetro DSC de alta sensibilidad y alta resolución que comprende una serie de recintos con temperatura regulada y metidos unos en otros.

25 Este calorímetro permite asegurar una estabilidad térmica del orden de 2 mK pico a pico para el segundo recinto o de 0,2 mK pico a pico para el tercer recinto situado en el segundo. La estabilidad térmica mejora, por lo tanto, con respecto a la de los aparatos comercializados hasta ahora. Sin embargo, no permite siempre analizar correctamente las muestras cuyo volumen sea del orden del microlitro.

30 La invención tiene por objeto paliar estos inconvenientes proponiendo un calorímetro eficaz, que proporcione un entorno térmico con muy alta estabilidad y especialmente destinado a sensores diseñados para analizar muestras sólidas o líquidas cuyo volumen sea muy reducido, es decir, del orden del microlitro.

Así, la invención se refiere a un calorímetro que comprende al menos un sensor de medición, para alojar al menos una muestra, y al menos tres superficies de regulación de la temperatura, de tamaño decreciente, comprendiendo cada una un soporte y medios de regulación de la temperatura, estando asociada la superficie de tamaño más reducido a al menos dicho sensor, en el que:

35 - una primera superficie comprende igualmente una barrera que forma un primer recinto con el soporte de esta primera superficie, disponiéndose esta última en el exterior del calorímetro, que está desacoplado térmicamente, y permitiendo que los medios de regulación de la temperatura de esta primera superficie aislen el interior del primer recinto de las variaciones de temperatura de dicho exterior,

40 - una segunda superficie está dispuesta en dicho primer recinto y su soporte está térmicamente acoplado al soporte de la primera superficie por las primeras conductancias térmicas que consisten en elementos con efecto Peltier y

45 - una tercera superficie está dispuesta en el interior del segundo recinto definido por dicha segunda superficie acoplada térmicamente a dicha segunda superficie por segundas conductancias térmicas pasivas definiendo un valor adaptado de la constante de tiempo, permitiendo los medios de regulación de la temperatura de esta tercera superficie obtener valores de temperatura necesarios para la obtención de mediciones mediante al menos dicho sensor, en el que las segundas conductancias térmicas definen una constante de tiempo comprendida entre diez y varios cientos de segundos, por ejemplo, del orden de cien segundos.

De manera preferida, las primeras conductancias térmicas son elementos con efecto Peltier de alta potencia y constituyen los medios de regulación térmica de la segunda superficie.

50 En una variante de realización, entre el soporte de la primera superficie y el de la segunda superficie, se dispone otra primera superficie, desacoplada térmicamente de dicha primera superficie.

En otra variante de realización del calorímetro según la invención, entre las superficies segunda y tercera se dispone otra segunda superficie.

En este caso, el acoplamiento por medio de las segundas conductancias térmicas se realiza entre la segunda superficie y dicha otra segunda superficie o entre la tercera superficie y la otra segunda superficie.

- 5 En esta otra misma variante, se prevén terceras conductancias térmicas que, en determinados casos, estén previstas entre la otra segunda superficie y la tercera superficie o entre la otra segunda superficie y la segunda superficie.

Estas terceras conductancias térmicas definen una potencia constante cuyo valor se elige en función del tipo de muestra que se tenga que analizar.

- 10 Se trata, por ejemplo, de elementos con efecto Peltier que definen una fuente fría para el soporte de la otra segunda superficie o el soporte de la tercera superficie.

En un modo de realización preferido, la segunda superficie comprende igualmente una barrera formando un segundo recinto con el soporte de esta segunda superficie, en el que se dispone dicha tercera superficie y eventualmente dicha otra segunda superficie.

- 15 En otro modo de realización del calorímetro, la tercera superficie comprende igualmente una barrera formando otro recinto con el soporte de esta tercera superficie, en el que se dispone al menos dicho sensor.

En otro modo de realización, dicha otra primera superficie comprende un soporte asociado a una barrera, formando un recinto en el que se disponen la segunda superficie, la tercera superficie y eventualmente la otra segunda superficie.

En incluso otro modo preferido de realización del calorímetro, dicha otra segunda superficie está asociada a una barrera formando un tercer recinto en el que se dispone dicha tercera superficie.

- 20 Los medios de regulación de la temperatura de dicha primera superficie están constituidos ventajosamente por un baño de circulación de fluido, especialmente de agua.

Los medios de regulación de la temperatura de la otra primera superficie están constituidos ventajosamente por un baño de circulación de fluido, especialmente del tipo aceite de silicona.

Finalmente, todo el volumen en el interior del primer recinto está a vacío.

- 25 La invención se comprenderá mejor y otros objetivos, ventajas y características de la misma serán más evidentes con la lectura de la descripción que sigue y que se hace teniendo en cuenta los dibujos adjuntos que representan ejemplos no limitantes de realización del calorímetro según la invención y sobre los que:

- la figura 1 es una vista en corte de un primer ejemplo de realización del calorímetro según la invención,
- la figura 2 es una vista en corte similar a la de la figura 1 y que representa una primera variante de realización del calorímetro según la invención,
- la figura 3 es una vista en corte similar a la de la figura 1 y que representa una segunda variante de realización del calorímetro según la invención,
- la figura 4 es una vista en corte similar a la de la figura 1 y que representa una tercera variante de realización del calorímetro según la invención,
- la figura 5 comprende las figuras 5a y 5b, siendo la figura 5a una curva experimental que representa la variación de temperatura en función del tiempo a nivel de la segunda superficie de la segunda variante de realización ilustrada en la figura 3, y siendo la figura 5b una curva idéntica a la de la figura 5a, pero con una escala aumentada por un factor 10,
- la figura 6 comprende las figuras 6a y 6b, siendo la figura 6a una curva experimental que representa la variación de temperatura en función del tiempo al nivel de la tercera superficie de la segunda variante de realización ilustrada en la figura 3, y siendo la figura 6b una curva idéntica a la de la figura 6a, pero con una escala aumentada por un factor 10, y
- la figura 7 es una curva experimental que concierne a una muestra de proteína alfa-lactalbúmina dispuesta en el calorímetro según la invención y representa la potencia generada por la muestra en función de la temperatura.

- 45 Los elementos comunes a las diferentes figuras se ilustrarán por las mismas referencias.

La figura 1 representa un calorímetro según la invención que comprende tres superficies de regulación de la temperatura.

La primera superficie 1 comprende un soporte 10 y una barrera 11.

ES 2 799 324 T3

Se define, por lo tanto, un recinto en el que se disponen otras superficies de regulación de la temperatura.

Esta primera superficie está en contacto con el exterior del calorímetro. Su primera función es, por lo tanto, aislar el interior 12 del recinto de las variaciones de temperatura de este entorno.

- 5 En la práctica, la barrera 11 se realiza de un material que presenta una conductividad térmica muy buena. Se regula la temperatura mediante el soporte 10 al que está acoplado térmicamente. La pared exterior de la barrera y del soporte se recubre con un aislante térmico para asegurar un desacoplamiento térmico entre la primera superficie y el exterior.

Además, el recinto definido por el soporte y la barrera están cerrados herméticamente. Puede, por lo tanto, asociarse a un dispositivo de bombeo para establecer un vacío secundario en el interior 12 del recinto, es decir, una presión comprendida entre 10^{-3} mbar y 10^{-7} mbar o entre 10^{-1} Pa y 10^{-5} Pa.

- 10 El hecho de poner el recinto a vacío permite anular las relaciones térmicas por conducción y por convección entre las diferentes superficies en el interior del recinto definido por la primera superficie y también entre la primera superficie y las otras. El único acoplamiento térmico de interferencia es entonces la radiación térmica que el calorímetro según la invención permite liberar.

En la práctica, los recintos presentes en el interior de este primer recinto están igualmente a vacío.

- 15 El soporte 10 está constituido por una placa de metal que presenta una buena conductividad térmica y una buena difusividad térmica.

Este metal puede ser especialmente el aluminio.

- 20 Los medios de regulación de la temperatura están asociados al soporte 10. Estos medios de regulación están constituidos ventajosamente por un baño con circulación de fluido, especialmente de agua (no representado en la figura 1), asociado a un termómetro.

Permiten aislar el interior del primer recinto de las variaciones de temperatura del exterior y, así, estabilizar la temperatura de todo el volumen en el interior del primer recinto.

Los medios de este tipo están diseñados para regular la temperatura unas decenas de milikelvins aproximadamente.

- 25 El calorímetro según la invención comprende una segunda superficie de regulación 2, dispuesta en el interior 12 del primer recinto.

En el ejemplo ilustrado en la figura 1, la segunda superficie 2 comprende un soporte 20 y una barrera 21 que definen un segundo recinto.

Sin embargo, la barrera 21 podría omitirse.

El soporte 20 de la segunda superficie consiste en una placa de un material que es muy buen conductor del calor.

- 30 Puede realizarse especialmente de cobre, como la barrera 21.

La segunda superficie está acoplada térmicamente a la primera superficie mediante las conductancias térmicas 23.

Estas conductancias térmicas pueden consistir en fugas térmicas asociadas a los medios de regulación que consisten, por ejemplo, en medios de calentamiento asociados a un termómetro o un baño de circulación de fluido asociado a un termómetro.

- 35 Estas fugas térmicas pueden estar constituidas, por ejemplo, por soportes mecánicos, definiendo la geometría de los soportes y el valor de la conductividad térmica del material utilizado una conductancia térmica de valor adaptado.

- 40 Estas conductancias térmicas pueden consistir igualmente en elementos con efecto Peltier de gran potencia que cumplan también la función de medios de regulación de la temperatura de esta segunda superficie. Por los elementos con efecto Peltier de gran potencia, se entiende uno o varios elementos con efecto Peltier con una potencia fría necesaria para absorber toda potencia térmica que provenga de superficies insertadas en la superficie 1. Un orden de las dimensiones podría ser de varias centenas de vatios hasta un kilovatio.

Los elementos con efecto Peltier se asocian a un termómetro.

Definen una constante del tiempo comprendida entre 100 s y 1000 s.

- 45 Los elementos de este tipo están diseñados para regular la temperatura de algunos milikelvins a algunas decenas de milikelvins aproximadamente.

Es ventajoso prever elementos con efecto Peltier para regular la temperatura de la segunda superficie. En efecto, estos elementos permiten disminuir considerablemente la temperatura del soporte 20, pudiendo ser la temperatura

menor que 0 °C.

Esto permite obtener una temperatura baja igualmente al nivel del soporte 30.

5 En general, la cara fría de los elementos con efecto Peltier 23 está en contacto con el soporte 20 y la cara caliente está en contacto con el soporte 10. La corriente que alimenta los elementos 23 se ajusta en función de la temperatura de la segunda superficie 2, para regular de manera apropiada la temperatura de esta segunda superficie 2.

Los elementos con efecto Peltier 23 tienen por función igualmente absorber las potencias de regulación de la(s) superficie(s) de regulación dispuesta(s) en el interior 22 del recinto definido por esta segunda superficie.

Finalmente, el calorímetro según la invención comprende una tercera superficie 3 que está dispuesta en el interior 22 del recinto definido por la segunda superficie.

10 Esta tercera superficie 3 comprende un soporte 30 y una barrera 31 que definen un tercer recinto. En el interior 32 de este tercer recinto está dispuesto un sensor 4 de medición calorimétrica diferencial, por ejemplo, del tipo descrito en la Patente Francesa FR-2 977 034.

La invención no está limitada a esta aplicación.

15 El recinto podría comprender especialmente varios sensores de medición diferencial, un sensor con al menos dos termómetros o incluso un sensor no diferencial con un solo termómetro.

El soporte 30 y la barrera 31 están realizados de un material que es muy buen conductor del calor, especialmente de cobre.

La barrera 31 podría omitirse.

20 Esta tercera superficie 3 tiene temperatura regulada por medios de calentamiento (no representados en la figura 1). Estos medios de calentamiento permiten establecer los niveles de temperatura necesarios para el buen funcionamiento del sensor 4.

Así, estos medios pueden crear una rampa de temperatura, por ejemplo, comprendida entre 0,01 °C/min y 100 °C/min o incluso establecer un modo isoterma.

25 Combine indicar aquí que el sensor descrito en la Patente Francesa FR 2 977 034 funciona bien con rampas de temperatura abruptas.

Cuando los elementos 23 son elementos con efecto Peltier de alta potencia, la temperatura del soporte 30 puede ser menor que 0 °C, especialmente puede estar comprendida entre -50 °C y 0 °C.

Esto permite disponer una franja más grande de temperaturas para fijar la temperatura de partida de la rampa de temperatura que será aplicada al nivel de la tercera superficie.

30 Por otra parte, esta tercera superficie 3 se acopla térmicamente a la segunda superficie 2, mediante las conductancias térmicas 33.

Estas conductancias se eligen de manera apropiada para definir una constante de tiempo comprendida entre 10 s y varias centenas de segundos. En la práctica, esta constante de tiempo se elige que sea relativamente elevada, por ejemplo del orden de 100 segundos.

35 Contrariamente a los elementos con efecto Peltier, estas conductancias térmicas 33 son pasivas, es decir que no pueden utilizarse para regular la temperatura de la tercera superficie.

Pueden presentar especialmente la forma de U y realizarse de cobre recocido.

Cabe señalar que estas conductancias térmicas no contribuyen a la rigidez mecánica del conjunto puesto que son flexibles.

40 Así, estas conductancias térmicas 33 permiten crear un aislamiento térmico muy eficaz entre la segunda superficie y la tercera superficie, pudiéndose regular esta última, así, a unos 0,01 mK aproximadamente.

45 En la práctica, lo que permite crear un gradiente térmico entre la segunda superficie y la tercera superficie, típicamente del orden de 1 °C, gracias a medios de calentamiento específicos previstos a nivel del soporte 30. Se diseñan para proporcionar una potencia P tal que $P = K\Delta T$, donde K es el valor de las conductancias térmicas 33 e ΔT el gradiente de temperatura.

La asociación de estas tres superficies de regulación permite obtener una estabilidad de la temperatura del orden de algunos microkelvins en el interior del recinto que encierra al sensor de medición calorimétrica diferencial.

Este resultado se debe especialmente a la presencia de las conductancias 33 térmicas entre la segunda superficie 2 y la tercera superficie 3, asegurando estas conductancias térmicas un gran aislamiento de la tercera superficie con respecto a las perturbaciones térmicas exteriores.

La figura 2 representa una variante de la realización del calorímetro según la invención.

- 5 La figura 2 muestra que se dispone otra primera superficie de regulación de temperatura 1a entre la primera superficie 1 y la segunda superficie 2.

Esta superficie 1a permite aislar mejor la segunda superficie 2 del entorno exterior.

Esta superficie 1a comprende un soporte 10a que está asociado mecánicamente al soporte 10, por ejemplo, por los vástagos 12a.

- 10 La conexión mecánica está diseñada para evitar el acoplamiento térmico entre los soportes 10 y 10a. Para ello, los vástagos pueden realizarse especialmente de acero inoxidable o de plástico.

Este soporte 10a está constituido igualmente por una placa de metal que presenta muy buena conductividad térmica, especialmente de cobre.

- 15 Este soporte 10a está regulado térmicamente por un baño de circulación de fluido, especialmente de aceite de silicona (no representado en la figura 2). Esto permite regular el soporte 10a a temperaturas por debajo de 0 °C.

Como se indicó anteriormente, los medios de este tipo están diseñados para regular la temperatura a unas decenas de milikelvins aproximadamente.

Una barrera (no representada en la figura 2) podría estar asociada al soporte 10a. Entonces se realiza de un material que presenta muy buena conductividad térmica.

- 20 Esta otra superficie 1a está desacoplada térmicamente de la primera superficie 1, los medios de regulación de la temperatura de la primera superficie 1 y de la superficie 1a siendo independientes entre sí y estando asociados los soportes 10 y 10a mecánicamente sin acoplamiento térmico.

En la figura 2 se muestra que, en esta variante de realización, es la superficie 1a la que sirve de baño térmico a los elementos 23.

- 25 En otras palabras, esta otra superficie 1a constituye una referencia térmica para la segunda superficie 2 y a una temperatura estable.

Esta temperatura de referencia es, por ejemplo, menor que 0 °C.

La segunda superficie 2 y la tercera superficie 3 presentan la misma estructura que la descrita con referencia a la figura 1. No se describirán, por lo tanto, con más detalle.

- 30 La figura 3 ilustra otra variante de realización del calorímetro descrito en la figura 1.

Como se muestra en la figura 3, la primera superficie 1 y la segunda superficie 2 presentan la misma estructura que la que se ha descrito con referencia a la figura 1. Estas dos superficies no se describirán, por lo tanto, de nuevo con detalle.

- 35 En la variante ilustrada, otra segunda superficie 2a de regulación está prevista entre la segunda superficie 2 y la tercera superficie 3.

Esta otra superficie 2a comprende un soporte 20a y una barrera 21a definiendo un recinto.

Allí incluso, el soporte 20a y la barrera 21a se realizan de un material que es muy buen conductor del calor. Se puede tratar especialmente de cobre.

En el interior 22a de este recinto se dispone la tercera superficie 3 que contiene el sensor 4.

- 40 En la práctica, la barrera 21a podría omitirse.

Así, en esta variante, las conductancias térmicas 33 no están situadas entre el soporte 20 de la segunda superficie y el soporte 30 de la tercera superficie, sino entre el soporte 20a de la superficie suplementaria 2a y el soporte 20 de la segunda superficie 2.

- 45 Estas conductancias térmicas 33 desempeñan la misma función que anteriormente, es decir, definir una constante de tiempo comprendida entre 10 s y varias centenas de segundos y especialmente del orden de la centena de segundos. Esto permite realizar un aislamiento térmico muy eficaz entre la segunda superficie 2 y la superficie complementaria 2a. Es posible entonces regular de manera muy precisa la temperatura de la superficie complementaria 2a, gracias a

los medios de regulación que tiene asociados (no representados en la figura 3).

Por otra parte, entre el soporte 20a y el soporte 30 de la tercera superficie, se prevén conductancias térmicas 23a, constituidas aquí por elementos con efecto Peltier.

5 Estos elementos 23a permiten proporcionar una potencia constante al nivel de la tercera superficie 3, lo que permite definir una temperatura media antes de que el sensor 4 realice una medición.

Permite igualmente definir una constante de tiempo adaptada, comprendida entre 100 s y 1000 s.

En la práctica, estos elementos con efecto Peltier 23a pueden alimentarse en la corriente para definir una temperatura media de partida de experiencia que sea negativa, especialmente comprendida entre -30 °C y 0 °C.

Los elementos con efecto Peltier podrían utilizarse para regular la temperatura de la tercera superficie.

10 Sin embargo, en el ámbito de la invención, parece ventajoso no utilizar estos elementos con efecto Peltier para regular la temperatura de la tercera superficie 3.

La regulación de esta tercera superficie se efectúa entonces mediante elementos de calentamiento y un termómetro.

El soporte 20a está mecánicamente asociado al soporte 20 mediante arandelas Belleville (no representadas en la figura 3).

15 Estas arandelas permiten asegurar una fuerza mecánica constante sobre los elementos con efecto Peltier 23 sin acoplar térmicamente los soportes 20a y 20 puesto que no son conductores del calor.

Por supuesto, la calorimetría ilustrada en la figura 3 podría igualmente modificarse para incluir la variante ilustrada en la figura 2.

En la figura 4 se ilustra incluso otra variante del calorímetro ilustrado en la figura 1.

20 Este calorímetro presenta la variante de realización ilustrada en la figura 2. En efecto, está prevista una superficie complementaria 1a entre la primera superficie 1 y la primera superficie 2.

Estas tres superficies 1, 1a y 2 presentan la misma estructura que la que se ha descrito con referencia a las figuras 1 y 2 y no se describirán, por lo tanto, con más detalle.

25 En la figura 4 se muestra que en el calorímetro incluye otra superficie suplementaria 2a, tal como se ha descrito con referencia a la figura 3.

Sin embargo, en esta variante de realización, las conductancias térmicas 33 están previstas entre la superficie complementaria 2a y la tercera superficie 3 y no entre la superficie complementaria 2a y la segunda superficie 2. Sin embargo, desempeñan la misma función que la que se ha descrito con referencia a la figura 3.

30 Por otra parte, los elementos con efecto Peltier 23a están previstos entre el soporte 20a y el soporte 20 de la segunda superficie y no entre el soporte 30 de la tercera superficie y el soporte 20a de la superficie complementaria 2a, como en la figura 3.

Así, el calorímetro según la invención está constituido por varias superficies de regulación de la temperatura que están metidas unas en otras. Se trata, por lo tanto, de una configuración de tipo «muñecas rusas».

35 En general, cuando la barrera se asocia a un soporte, es ventajoso que se acople perfectamente a este soporte para asegurar una temperatura homogénea en el recinto así definido.

Cada superficie de regulación permite atenuar por un factor dado las variaciones de temperatura de la habitación en la que se dispone el calorímetro.

En dicho sistema, el entorno inmediato de una superficie se define por la superficie que lo soporta o lo contiene.

Por otra parte, las regulaciones de cada superficie son independientes entre sí y no perturban su entorno inmediato.

40 En la práctica, cada superficie de regulación permite atenuar por un factor de 10 a 100 las variaciones de su entorno inmediato.

Especialmente gracias a la presencia de las conductancias térmicas 33, el calorímetro según la invención asegura una estabilidad de la temperatura del orden de 10^{-5} K al nivel del sensor de medición 4.

45 Así, el calorímetro según la invención permite mejorar la estabilidad de la temperatura por un factor comprendido entre 10 y 100, con respecto a los aparatos conocidos.

Esto surge especialmente de las figuras 5 y 6 en que se muestra la regulación de la temperatura en función del tiempo de las superficies 2a y 3 del calorímetro ilustrado en la figura 3, estando reguladas estas dos superficies alrededor de una temperatura constante.

- 5 En la figura 5 se muestra que la fluctuación de temperatura al nivel de la superficie 2a es de $\pm 0,1$ mK, mientras que en la figura 6 se muestra que la fluctuación de la temperatura es de $\pm 0,01$ mK al nivel de la superficie 3.

El calorímetro según la invención permite mejorar, por lo tanto, la estabilidad de la temperatura por un factor 10 con respecto al calorímetro descrito en el artículo precitado de Wang.

Permite, por lo tanto, realizar mediciones sobre las muestras cuyo volumen sea del orden del microlitro, utilizando un sensor de medición apropiado, incluso para materiales que emitan señales débiles.

- 10 Esto se deduce de la figura 7, que es un ensayo de desnaturalización térmica de una proteína alfa-lactalbúmina.

Una muestra de esta proteína ha sido objeto de medición de la temperatura diferencial en un calorímetro según la invención, tal como se ilustra en la figura 3.

- 15 Esta muestra presentó una masa de proteínas de 20 μg diluida en un disolvente para obtener un volumen de 2 μl . Su concentración de proteínas fue, por lo tanto, de 10 mg/ml. Se sometió, como referencia, a una rampa de temperatura de 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

El calorímetro permite medir, en función del tiempo, una temperatura diferencial de la que se deduce una potencia (mW) ilustrada en la figura 7.

En la curva ilustrada en la figura 7 se muestra que a una temperatura de 71 grados, la proteína considerada se desnaturaliza.

- 20 El calorímetro según la invención permite, por lo tanto, realizar mediciones con muestras de volumen muy reducido, incluso con productos que emitan señales débiles, como los materiales biológicos.

Cabe señalar que, en el artículo antes citado de Wang, el material ensayado no es una muestra biológica.

Esto resulta particularmente interesante en el campo de la biofísica y de las ciencias de la vida donde las diferencias de temperatura para medir son ínfimas.

- 25 Los signos de referencia introducidos después de las características técnicas que figuran en las reivindicaciones solo se proporcionan para facilitar la comprensión de estas últimas y no para limitar el alcance.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Calorímetro que comprende al menos un sensor (4) de medición, para recibir al menos una muestra y al menos tres superficies (1, 2, 3) de regulación de la temperatura, de tamaño decreciente, comprendiendo cada una un soporte (10, 20, 30) y medios de regulación de la temperatura, estando asociada la superficie de tamaño más reducido a al menos dicho sensor (4), en el que:
- una primera superficie (1) comprende igualmente una barrera (11) que forma un primer recinto con el soporte (10) de esta primera superficie, disponiéndose esta última en el exterior del calorímetro que está desacoplado térmicamente y permitiendo los medios de regulación de la temperatura de esta primera superficie aislar el interior (12) del primer recinto de las variaciones de temperatura de dicho exterior,
 - 10 - una segunda superficie (2) está dispuesta en el interior (12) de dicho primer recinto y su soporte (20) está térmicamente acoplado al soporte (10) de la primera superficie por las primeras conductancias térmicas (23) que consisten en elementos con efecto Peltier,
 - 15 - una tercera superficie (3) está dispuesta en el interior del segundo recinto definido por la segunda superficie y está acoplada térmicamente a dicha segunda superficie (2) por las segundas conductancias térmicas (33), que son pasivas y definen un valor adaptado de la constante de tiempo, permitiendo los medios de regulación de la temperatura de esta tercera superficie obtener valores de temperatura necesarios para la obtención de mediciones por al menos dicho sensor,
- en el que las segundas conductancias térmicas definen una constante de tiempo comprendida entre diez segundos y varios cientos de segundos, por ejemplo, del orden de unos cien segundos.
- 20 2. Calorímetro según la reivindicación 1, en el que las primeras conductancias térmicas (23) son elementos con efecto Peltier de alta potencia y constituyen medios de regulación de la temperatura de la segunda superficie (2).
3. Calorímetro según la reivindicación 1 o 2, en el que entre el soporte (10) de la primera superficie y el soporte (20) de la segunda superficie está dispuesta otra primera superficie (1a), desacoplada térmicamente de dicha primera superficie.
- 25 4. Calorímetro según una de las reivindicaciones 1 a 3, en el que entre las superficies segunda y tercera (2, 3) está dispuesta otra segunda superficie (2a).
5. Calorímetro según la reivindicación 4, en el que las segundas conductancias térmicas (33) están dispuestas entre el soporte (20) de la segunda superficie y el soporte (20a) de la otra segunda superficie (2), estando previstas terceras conductancias térmicas (23a) entre el soporte (20a) de la otra segunda superficie (2a) y el soporte (30) de la tercera superficie (3).
- 30 6. Calorímetro según la reivindicación 4, en el que las segundas conductancias térmicas (33) están dispuestas entre el soporte (20a) de la otra segunda superficie (2a) y el soporte (30) de la tercera superficie (3), estando previstas terceras conductancias térmicas (23a) entre el soporte (20) de la segunda superficie (2) y el soporte (20a) de la otra segunda superficie (2a).
- 35 7. Calorímetro según la reivindicación 5 o 6, en el que las terceras conductancias térmicas (23a) definen una potencia constante cuyo valor se elige en función del tipo de muestra que se tenga que analizar.
8. Calorímetro según la reivindicación 7, en el que dichas terceras conductancias térmicas (23a) son elementos con efecto Peltier que definen una fuente fría para el soporte (20a) o el soporte (30).
- 40 9. Calorímetro según una de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la segunda superficie (2) comprende igualmente una barrera (21) que forma un segundo recinto con el soporte (20) de esta segunda superficie, en el interior (22) de la cual se dispone dicha tercera superficie (3) y eventualmente dicha otra segunda superficie (2a).
10. Calorímetro según las reivindicaciones 1 a 9, en el que dicha tercera superficie comprende igualmente una barrera (31) formando otro recinto con el soporte (30) de esta tercera superficie, en el interior (32) del que se dispone al menos dicho sensor (4).
- 45 11. Calorímetro según las reivindicaciones 3 a 10, en el que dicha otra primera superficie (1a) comprende un soporte (10a) asociado a una barrera formando un recinto en el que se disponen la segunda superficie y la tercera superficie y eventualmente dicha otra segunda superficie.
12. Calorímetro según una de las reivindicaciones 4 a 11, en el que dicha otra segunda superficie (2a) está asociada a una barrera (21a) que forma un tercer recinto en el interior (22a) del que se dispone dicha tercera superficie (3).
- 50 13. Calorímetro según una de las reivindicaciones 1 a 12, en el que los medios de regulación de la temperatura de dicha primera superficie (1) están constituidos por un baño de circulación de fluido, especialmente de agua.

14. Calorímetro según una de las reivindicaciones 3 a 13, en el que los medios de regulación de la temperatura de la otra primera superficie (1a) están constituidos por un baño de circulación de fluido, especialmente del tipo aceite de silicona.

5 15. Calorímetro según una de las reivindicaciones 1 a 14, en donde todo el volumen en el interior (12) del primer recinto está a vacío.

Fig.1

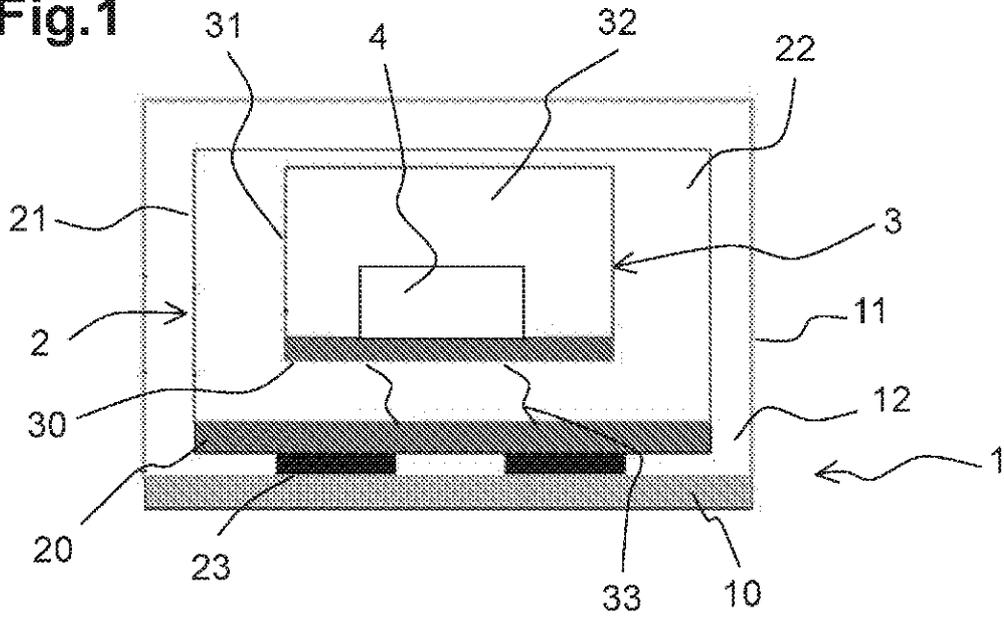
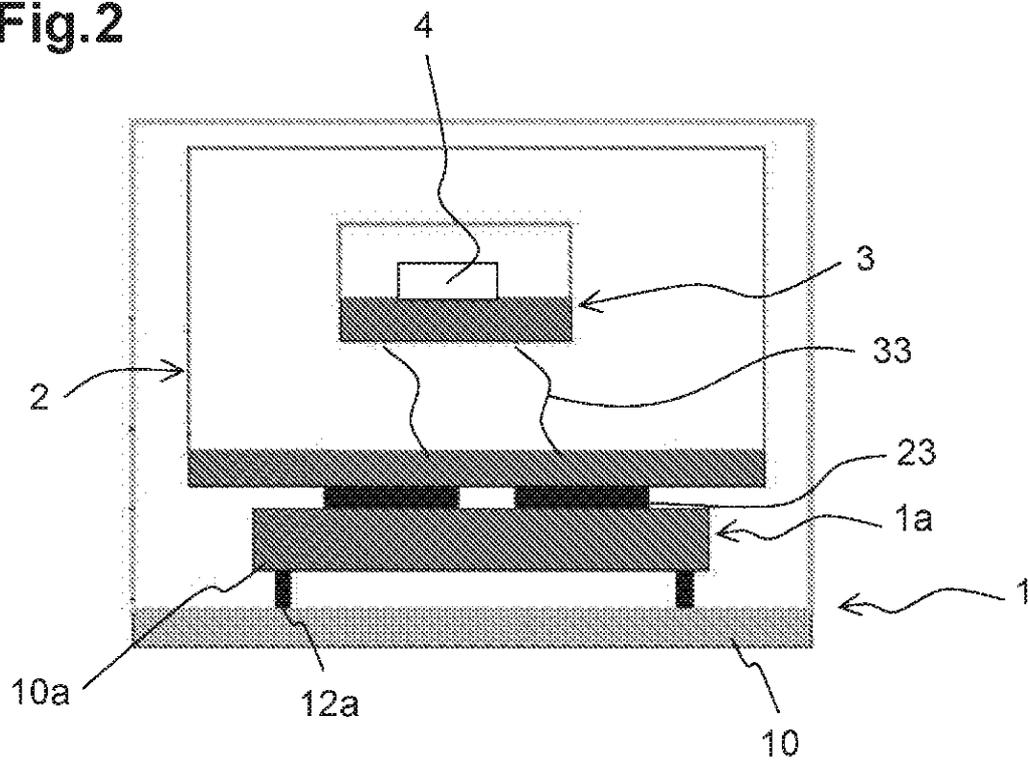
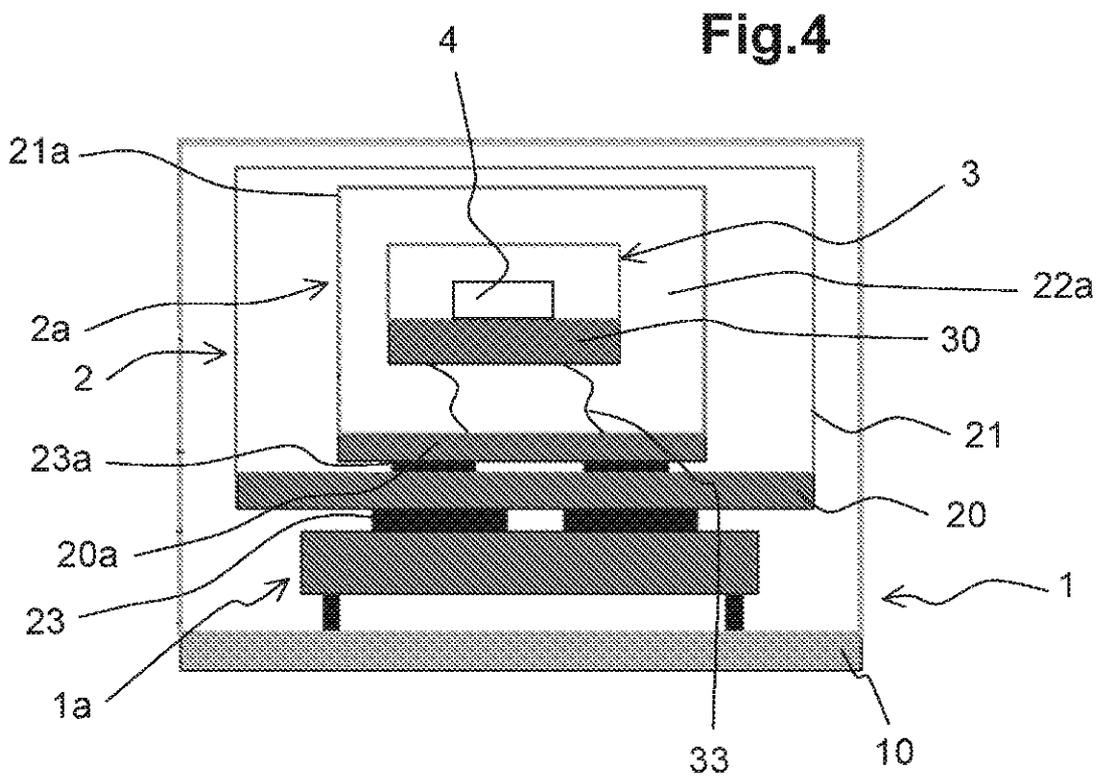
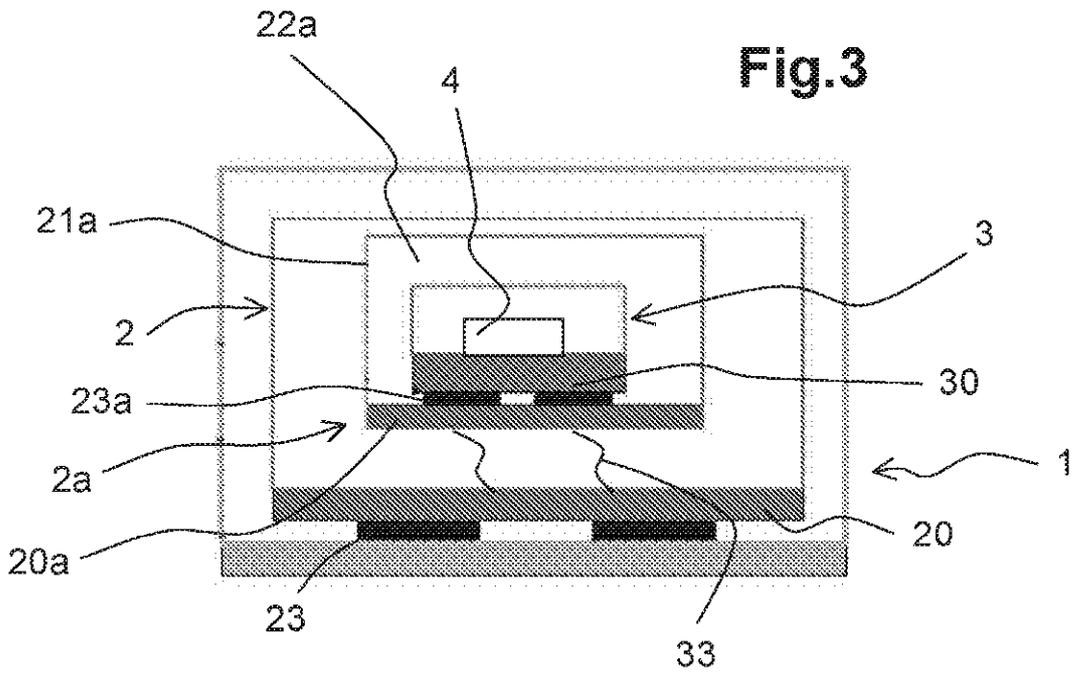


Fig.2





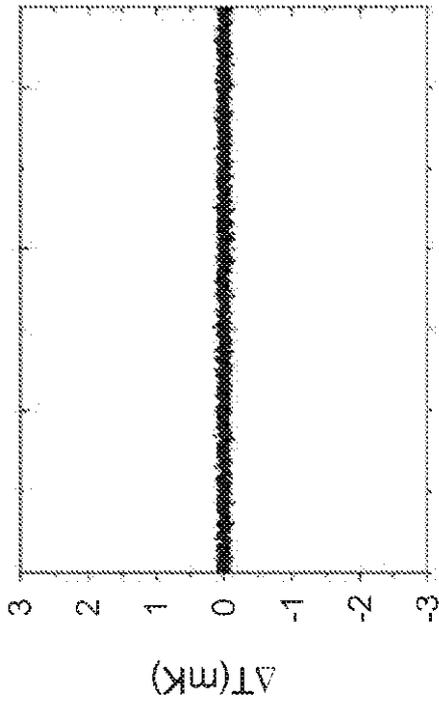


Fig.5a

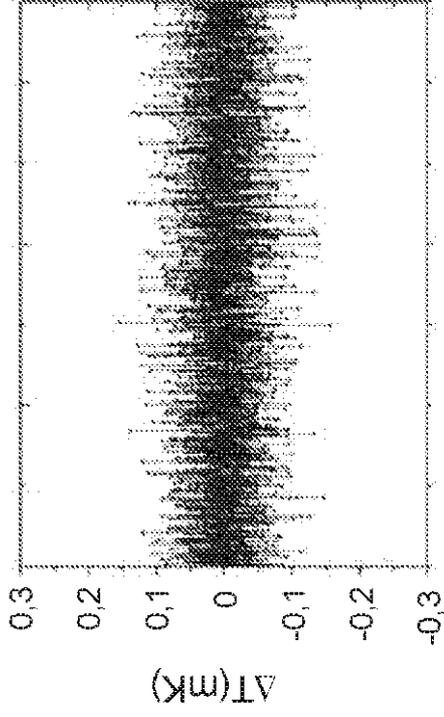


Fig.5b

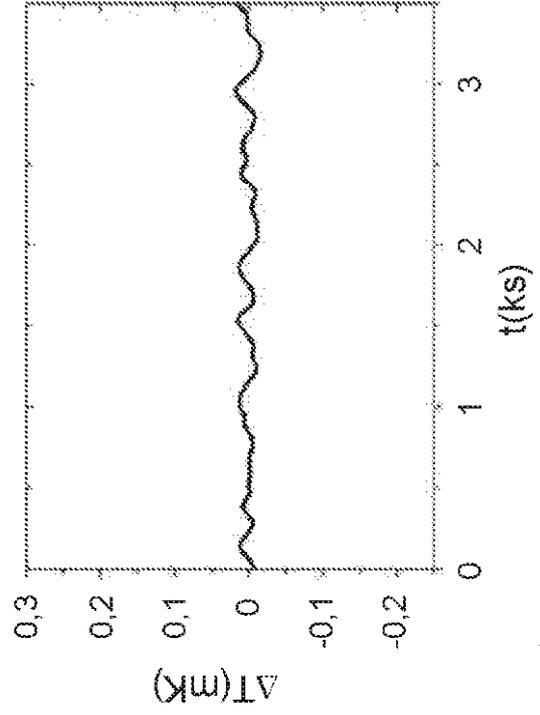


Fig.6a

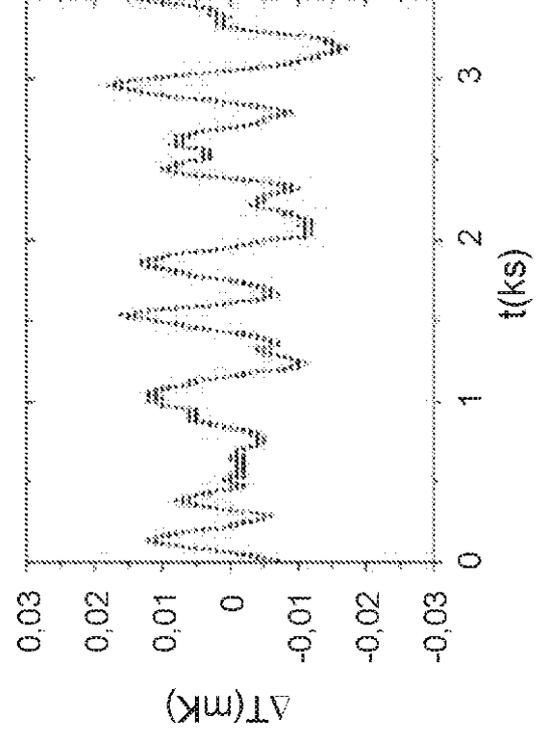


Fig.6b

Fig.7

