



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 609**

21 Número de solicitud: 200930965

51 Int. Cl.:

G01N 1/18 (2006.01)

G01N 1/42 (2006.01)

G01N 25/00 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **06.11.2009**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **08.07.2011**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
08.07.2011

71 Solicitante/s: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)**
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES

72 Inventor/es: **Elvira Segura, Luis;**
Resa López, Pablo Ismael y
Sierra Sánchez, Carlos José

74 Agente: **Pons Ariño, Ángel**

54 Título: **Método de adquisición y conservación de muestras líquidas.**

57 Resumen:

Método de adquisición y conservación de muestras líquidas.

Basado en la solidificación y congelación sucesiva de muestras (1) líquidas por congelación, para su posterior análisis, almacenamiento y conservación en un mismo recipiente (3). Dicho método comprende las siguientes etapas: a) extracción de muestras (1) líquidas a intervalos de tiempo determinados mediante un sistema automático (2) cualquiera, b) depósito de las muestras (1) líquidas en un recipiente (3) inmerso en una fuente de frío (4) especialmente adaptado para congelar cada muestra (1) de manera casi instantánea según se introducen en el recipiente (3), c) separación de las muestras (1) congeladas, para su posterior análisis o almacenamiento cuando éstas están todavía en su estado sólido, a fin de evitar que se mezclen como resultado de su descongelación.

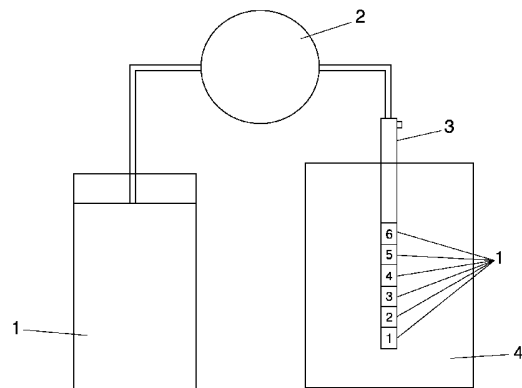


FIG. 1

ES 2 362 609 A1

DESCRIPCIÓN

Método de adquisición y conservación de muestras líquidas.

5 Objeto de la invención

La presente invención pertenece al campo de la investigación científica, y más concretamente a la toma de muestras líquidas realizada en los procesos químicos y biológicos.

10 El objeto principal de la presente invención es un método sencillo y económico para la adquisición y conservación de múltiples muestras líquidas basado en sus sucesivas congelaciones en un único recipiente.

Antecedentes de la invención

15 El seguimiento de procesos químicos y biológicos en líquidos (reacciones enzimáticas, crecimiento de microorganismos, etc.) requiere el análisis de determinados parámetros en función del tiempo. Este tipo de seguimiento constituye un protocolo habitual tanto en el ámbito de la investigación científica como en evaluaciones medioambientales y, por supuesto, en la propia industria, ya sea para el control de calidad de las materias primas, de los productos elaborados, o de fases intermedias de la cadena de producción. Algunas técnicas de análisis pueden ser implementadas
20 en continuo, siendo este el caso de la medida de magnitudes como, entre otras, el pH, el tamaño de partículas, la densidad, la conductividad o la absorbancia.

Sin embargo, hay una gran cantidad de equipos de análisis y técnicas (cromatografía, conteo de microorganismos, radiometría, microscopía, etc.) que requieren la toma discreta de muestras. Actualmente, en muchos de los casos, la
25 toma y almacenamiento de muestras líquidas para su posterior análisis se realiza de forma manual, lo cual exige la dedicación, al menos intermitente, de una persona a lo largo de todo el proceso de seguimiento.

Por otro lado, los sistemas de muestreo automáticos que se comercializan distribuyen las muestras en distintos recipientes, por ejemplo, por medio de dispositivos de carrusel o brazos robotizados. Otras empresas comercializan to-
30 tomamuestras automáticos, principalmente para el análisis de agua y aguas residuales, los cuales incluyen la posibilidad de incorporar dispositivos de carrusel giratorio para múltiples muestras, refrigeradores y congeladores para la conservación de muestras, llenado por gravitación o cambios de presión (p. ej. bombas peristálticas), mezcla de muestras en un mismo recipiente (composite); pero que comprenden tantos contenedores distintos como muestras líquidas finales.

35 Todos estos dispositivos y tomamuestras automáticos citados presentan el gran inconveniente de estar basados en complejos sistemas mecánicos de movimiento, susceptibles de averías y fallos, los cuales suponen además un considerable coste económico.

Descripción de la invención

40 Mediante la presente invención se resuelven los inconvenientes anteriormente citados, proporcionando un método sencillo, fiable y económico para la adquisición y conservación de múltiples muestras líquidas en un único recipiente por medio de su congelación sucesiva, sin excluir la posibilidad de emplear varios recipientes.

45 Este método permite abaratar significativamente los costes de producción y mantenimiento, llegando por tanto a un mercado más amplio, siendo de aplicación tanto en el análisis de técnicas continuas (sin necesidad de su implementación en línea), como de técnicas discontinuas, sin tener que requerir además la presencia de una persona.

50 Por otro lado, mediante el método de adquisición y conservación de muestras líquidas aquí descrito se permite realizar un análisis en lote o en "batch" de todas las muestras, por lo que se elimina la necesidad de instalar sistemas de medida en continuo.

El método objeto de invención está basado en la solidificación sucesiva de muestras líquidas por congelación, para su posterior análisis, almacenamiento y conservación en un mismo recipiente. Previamente a su análisis en lotes,
55 dichas muestras son separadas cuando están todavía en su estado sólido, es decir, congeladas.

Dicho método comprende las siguientes etapas:

- 60 a) extracción de muestras líquidas a intervalos de tiempo determinados mediante un sistema automático cualquiera,
- b) depósito de las muestras líquidas en un recipiente inmerso en una fuente de frío, especialmente adaptado para congelar cada muestra de manera casi instantánea según se introducen en el recipiente, y
- 65 c) separación de las muestras congeladas para su posterior análisis o almacenamiento cuando éstas están todavía en su estado sólido, a fin de evitar que se mezclen como resultado de la descongelación.

ES 2 362 609 A1

El recipiente en el que se introducen las muestras líquidas para su congelación secuencial puede estar fabricado en diversos materiales, siendo preferentemente materiales con gran resistencia a bajas temperaturas, térmicamente conductores, poco resistentes al cortado y desechables. Asimismo, la forma de los recipientes puede ser variada, desde geometrías básicas, como cilíndricas o cajas rectangulares, a recipientes contenedores especialmente diseñados para minimizar la superficie entre muestras, mejorando así el contacto con la fuente de frío.

Dicha fuente de frío puede ser nitrógeno o helio líquido, anticongelante por debajo del punto de congelación de las muestras, o equipo de congelación rápida similar.

El depósito de cada una de las muestras líquidas en el recipiente debe realizarse una vez congelada la muestra anterior, y antes de que ésta última se descongele. Dicho depósito puede realizarse de distintas maneras:

- Una primera posibilidad es el uso de equipos automáticos de cambios de presión (tales como pistones, jeringas, bombas peristálticas y otros). El volumen de cada muestra está determinado por el aumento o reducción de la presión.
- Otra posibilidad es el depósito de muestras por gravedad mediante la apertura automática de una válvula, compuerta o similar. El volumen de las muestras en este caso viene determinado por el tiempo de apertura y el caudal.

Además, con el fin de que la muestra recién llegada no descongele la muestra anterior, se puede introducir una fase previa de enfriamiento de forma que la muestra llegue con una temperatura cercana a la de congelación (por ejemplo, $\sim 1^{\circ}\text{C}$ para muestras acuosas).

Por su parte, la separación final de las muestras congeladas puede realizarse de diferentes maneras: cortando el recipiente congelado por unas líneas o puntos de separación existentes en el mismo recipiente, o bien excluyendo parte de los volúmenes cercanos entre muestras, con objeto de asegurar la pureza de las mismas.

Asimismo, la presente invención contempla la posibilidad de la incorporación de una etapa intermedia previa a la congelación, consistente en válvulas de vías, tubos de distinto calibre u otros dispositivos automáticos de distribución de líquidos, ya sea para el mezclado de las muestras con otros componentes (por ejemplo, glicerol o cualquier otro agente crioprotector), o para la distribución de las muestras en varios recipientes (por ejemplo, cuando el volumen total de las muestras exceda el volumen de un único recipiente).

35 Descripción de los dibujos

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, de acuerdo con un ejemplo preferente de realización práctica de la misma, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde, con carácter ilustrativo y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

Figura 1.- Muestra una vista general esquemática del principio de funcionamiento del método de adquisición y conservación de muestras líquidas objeto de invención.

Figura 2.- Muestra una vista del recipiente en el que se depositan las diferentes muestras líquidas para una vez congeladas realizar su posterior separación.

Realización preferente de la invención

En la figura 1 se pueden apreciar los elementos básicos que intervienen en el método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de la presente invención. Dicho método comprende las siguientes etapas:

- a) extracción de muestras (1) líquidas a intervalos de tiempo determinados mediante un sistema automático (2) cualquiera,
- b) depósito de las muestras (1) líquidas en un recipiente (3) inmerso en una fuente de frío (4) especialmente adaptado para congelar cada muestra (1) de manera casi instantánea según se introducen en el recipiente (3), y
- c) separación de las muestras (1) congeladas, para su posterior análisis o almacenamiento cuando éstas están todavía en su estado sólido, a fin de evitar que se mezclen como resultado de su descongelación, tal y como se puede apreciar en la figura 2, en la cual se han eliminado los volúmenes existentes entre las diferentes muestras (1) para asegurar la pureza de las mismas.

65

REIVINDICACIONES

5 1. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas **caracterizado** porque está basado en las sucesivas congelaciones de dichas muestras (1) en un único recipiente (3), y que comprende las siguientes etapas:

- 10 a) extracción de muestras (1) líquidas a intervalos de tiempo determinados mediante un sistema automático (2) de extracción,
- 10 b) depósito de las muestras (1) líquidas en el recipiente (3), el cual está inmerso en una fuente de frío (4) y está especialmente adaptado para congelar cada muestra (1) de manera casi instantánea según se introducen en el recipiente (3), y
- 15 c) separación de las muestras (1) congeladas, para su posterior análisis o almacenamiento cuando éstas están todavía en su estado sólido, a fin de evitar que se mezclen como resultado de su descongelación.

20 2. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado** porque el recipiente (3) está fabricado en materiales con gran resistencia a bajas temperaturas, térmicamente conductores, poco resistentes al cortado y desechables.

20 3. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado** porque el depósito de cada una de las muestras (1) líquidas en el recipiente (3) se realiza una vez congelada la muestra anterior, y antes de que ésta última se descongele.

25 4. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 **caracterizado** porque el depósito de muestras (1) se realiza mediante un equipo automático de cambio de presión.

30 5. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con la reivindicación 4 **caracterizado** porque el equipo automático de cambio de presión está constituido por pistones, jeringas, bombas peristálticas o similares.

35 6. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 **caracterizado** porque el depósito de muestras (1) se realiza por gravedad mediante la apertura automática de una válvula, compuerta o similar.

40 7. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado** porque las muestras (1) se mezclan en proporciones adecuadas con otros componentes previamente a su congelación, tales como agentes crioprotectores, mediante el uso de válvulas de vías, tubos de distinto calibre, o cualquier otro dispositivo automático.

45 8. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado** porque las muestras (1) se distribuyen en distintos recipientes previamente a su congelación mediante el uso de válvulas de vía o cualquier otro dispositivo automático.

50 9. Método de adquisición y conservación de muestras (1) líquidas de acuerdo con la reivindicación 1 **caracterizado** porque la separación de muestras (1) se realiza eliminando volúmenes existentes entre las diferentes muestras (1) para asegurar la pureza de las mismas.

50

55

60

65

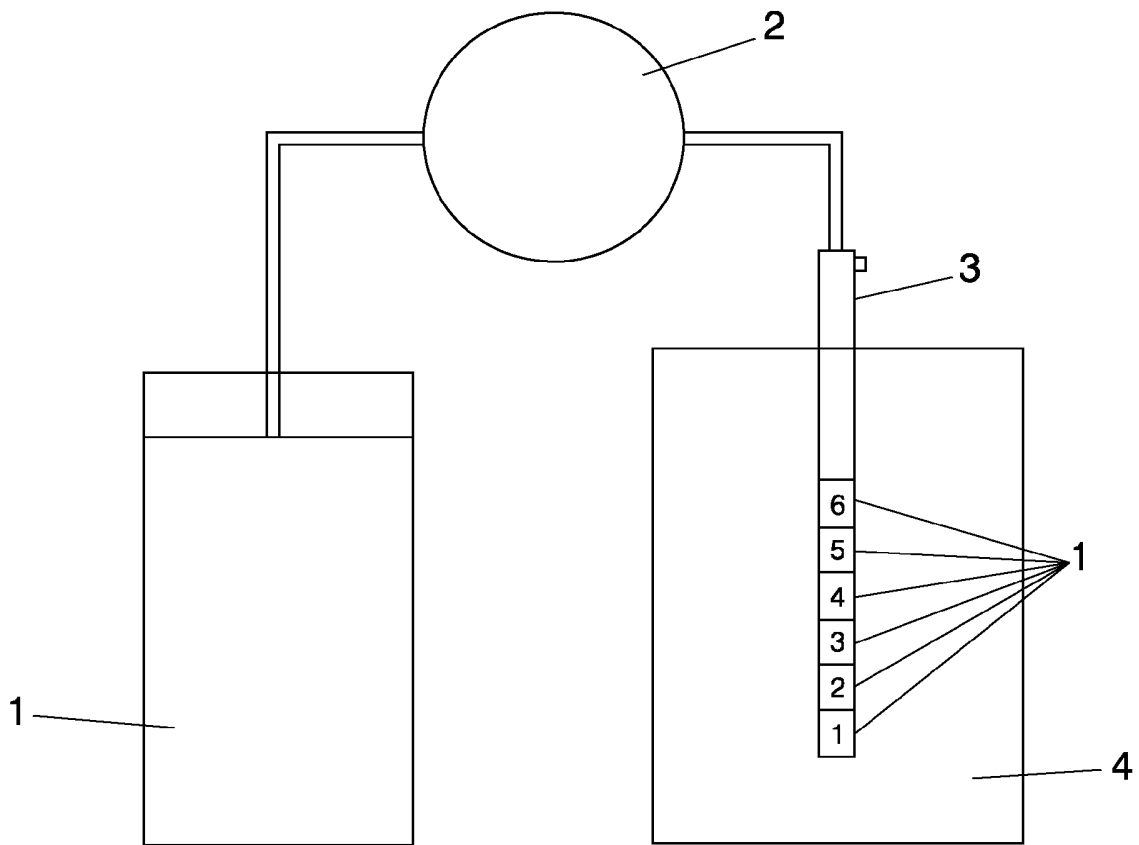


FIG. 1

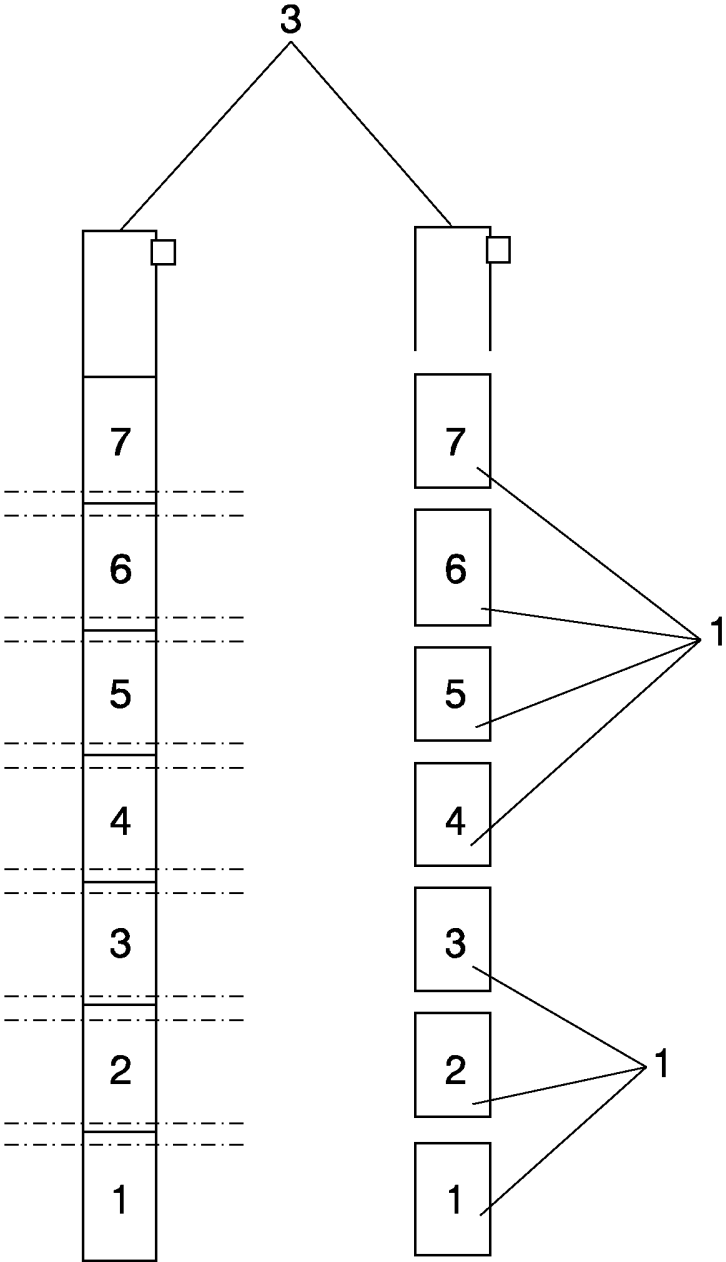


FIG. 2



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 200930965

22 Fecha de presentación de la solicitud: 06.11.2009

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

5 Int. Cl. : Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 2009029341 A1 (FUHR et al.) 29.01.2009, párrafo [0004]; reivindicaciones 30-32.	1-9
A	US 7461671 B2 (EHWALD et al.) 09.12.2008, columna 1, líneas 55-60; ejemplo 6.	1-9
A	WO 2004008109 A1 (CELENTIS LTD et al.) 22.01.2004, figura 1; reivindicaciones 1,2,6,7.	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
30.05.2011

Examinador
V. Balmaseda Valencia

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

G01N1/18 (2006.01)

G01N1/42 (2006.01)

G01N25/00 (2006.01)

G01N33/00 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

G01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, XPESP, NPL, HCAPLUS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 30.05.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-9 Reivindicaciones	SI NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-9 Reivindicaciones	SI NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 2009029341 A1 (FUHR et al.)	29.01.2009
D02	US 7461671 B2 (EHWALD et al.)	09.12.2008
D03	WO 2004008109 A1 (CELENTIS LTD et al.)	22.01.2004

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la presente invención es un método de adquisición y conservación de muestras líquidas.

El documento D01, relativo a un soporte para la criopreservación de muestras biológicas, describe un método de criopreservación que comprende el depósito de las muestras sobre sus respectivos soportes, la conexión de los mismos a un soporte de almacenamiento y someter dicho soporte a una temperatura muy reducida (párrafo [0004], reivindicaciones 30-32).

El documento D02 describe un colector automático de muestras que permite la congelación de muestras casi inmediata en el momento en que se introducen en sus respectivos recipientes (columna 1, líneas 55-60; ejemplo 6).

El documento D03 describe un procedimiento de preparación de muestras que comprende la congelación de las mismas y su procesado mecánico (reivindicaciones 1, 2, 6 y 7).

Ninguno de los documentos citados divulga un método de adquisición y conservación de muestras líquidas basado en las sucesivas congelaciones de las muestras en único recipiente de manera casi instantánea según se introducen en dicho recipiente y, a continuación, la separación de las muestras recogidas.

Además, no sería obvio para un experto en la materia el desarrollo de dicho método a partir de los documentos citados. En consecuencia, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-9 es nuevo e implica actividad inventiva conforme establecen los Artículos 6.1 y 8.1 de la L.P.