



(51) Clasificación Internacional de Patentes:
G01N 21/55 (2014.01) BOIL 3/00 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/IB20 14/064220

(22) Fecha de presentación internacional:
3 de septiembre de 2014 (03.09.2014)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
P20130103 135
4 de septiembre de 2013 (04.09.2013)

AR

(71) Solicitantes: CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS Y TECNICAS (CONICET) [AR/AR]; Av. Rivadavia 2358 4 piso, Buenos Aires, C1034ACP (AR). COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA [AR/AR]; Av. del Libertador 8250, Buenos Aires, C1429BNP (AR). INIS BIOTECH LLC [US/US]; 203 NE Front Street, Suite 101, Milford, Kent County, Delaware 19963 (US).

(72) Inventor: TOGNALLI, Nicolás Gerardo; Juan B. Justo 1448, Súnchales - Prov. de Santa Fe, S2322EFD (AR).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

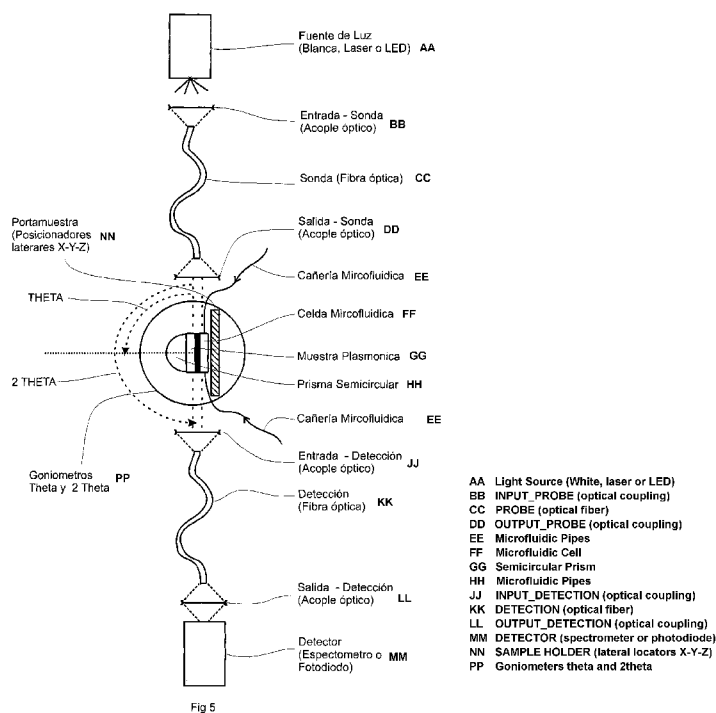
(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))

(54) Title: AUTOMATED OPTOMECHANICAL PLATFORM FOR MOLECULAR DETECTION BY SURFACE PLASMON RESONANCE

(54) Título : PLATAFORMA OPTOMECAÁNICA AUTOMATIZADA PARA DETECCIÓN MOLECULAR POR RESONANCIA DE PLASMONES SUPERFICIALES



(57) Abstract: An automated optomechanical platform for molecular detection by surface plasmon resonance allows working with the particular conditions necessary to excite the plasmon resonance. This makes it possible to optimize parameters to maximize sensitivity and improve detection of different analytes immersed in different matrices. For example, the detection of chemicals in water requires a different equipment configuration than that necessary for toxin detection in bovine milk. The platform comprises a light source, optiefal fibers, a pair of goniometers, a sensor, and an automated microfluidic device.

(57) Resumen: Una plataforma optomecánica automatizada para detección molecular por resonancia de plasmones superficiales que permite trabajar con las condiciones particulares que son necesarias para excitar la resonancia plasmónica. Esto posibilita optimizar parámetros para maximizar la sensibilidad y mejorar la detección de distintos analitos inmersos en diferentes matrices. Así, por ejemplo, la detección de productos químicos en agua requiere de una configuración del equipo diferente que la necesaria para la detección de toxinas en leche vacuna. La plataforma comprende una fuente de luz, fibras ópticas, un par de goniómetros, un sensor y un dispositivo microfluídico automatizado.



PLATAFORMA OPTOMECÁNICA AUTOMATIZADA PARA
DETECCIÓN MOLECULAR POR RESONANCIA DE PLASMONES
SUPERFICIALES

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una plataforma automatizada con optomecánica y microfluidica para detección molecular por resonancia de plasmones superficiales.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Como es sabido en física, un plasmón es un cuanto de oscilación del plasma. El plasmón es la cuasipartícula resultado de la cuantización de las oscilaciones del plasma, de la misma forma que un fotón o un fonón son cuantizaciones de ondas electromagnéticas y mecánicas. Por tanto, los plasmones son oscilaciones de la densidad del gas de Fermi (gas de electrones libres), usualmente a frecuencias ópticas. También pueden interactuar con un fotón para crear una tercera cuasipartícula llamada polaritón de plasma. Como los plasmones son la cuantización clásica de las oscilaciones del plasma, la mayoría de sus propiedades pueden ser derivadas de las ecuaciones de Maxwell.

Los plasmones son explicados clásicamente usando el modelo de Drude de los metales. El metal es tratado como un cristal tridimensional de iones positivos, junto a un gas de electrones deslocalizado que se mueve en esta red de iones que forman un potencial periódico.

Los plasmones tienen un rol importante en las propiedades ópticas de los metales. La luz es reflejada cuando la frecuencia es inferior a la frecuencia de plasma, debido a que los electrones en el metal apantallan el campo eléctrico incidente. La luz de frecuencia superior a la frecuencia de plasma es transmitida, debido a que los electrones del metal no pueden responder tan rápidamente para poder apantallar el campo. En la mayoría de los metales, la frecuencia de plasma está en el ultravioleta, haciéndolos brillantes (reflectivos) en el rango de la luz visible. Algunos metales, como lo es el cobre o el oro, presentan transiciones electrónicas de bandas en el rango visible, por lo cuál algunas longitudes de onda del visible (colores) son absorbidas, emitiendo su color característico. En semiconductores, la frecuencia de plasma de los electrones en la banda de valencia está usualmente en lo profundo del ultravioleta, razón por la cuál son también materiales reflectivos.

Los plasmones de superficie son aquellos plasmones que están confinados a las superficies y que forman un polaritón cuando interactúan con la luz. Ocurren en la interfaz entre un dieléctrico y un metal. Permiten explicar las anomalías en la difracción de una red de difracción metálica (Anomalía de Wood) y también son útiles en la espectroscopia Raman de superficie entre otras aplicaciones. La resonancia de plasmones superficiales es utilizado en bioquímica para el estudio de mecanismos y la cinética de los enlaces entre los ligandos y los receptores (i.e. el enlace entre un sustrato y una enzima).

Recientemente, los plasmones de superficie son usados para controlar los colores de los materiales, esto es posible debido a que la forma de la superficie controla el tipo de plasmones superficiales que se pueden acoplar y propagar a través de ella. Esto a su vez controla la interacción de la luz con la superficie. Estos efectos son fáciles de ver en los vitrales que adornan las catedrales medievales. En este caso, el color está

dado por nanopartículas metálicas que interactúan con el campo óptico para dar al vidrio su color radiante. Estos efectos han sido manipulados para ser usados tanto en el rango visible como en las microondas. Muchas investigaciones son adelantadas en el rango de las microondas porque es posible diseñar mecánicamente superficies materiales con patrones del orden de algunos pocos centímetros que son útiles para estas longitudes de ondas. En cambio, para crear plasmones superficiales en el rango óptico implica producir superficies con detalles menores a los 1000 nm. Esto es mucho más difícil de construir y sólo ha sido posible de fabricar de manera controlada recientemente gracias a la nanotecnología.

Los plasmones son considerados como medios de transmisión de información en microprocesadores y chips de computadoras ya que pueden alcanzar altas frecuencias (de hasta 100 THz, mientras que los cables convencionales alcanzan las decenas de GHz). Los plasmones involucran movimientos rápidos de los electrones a través del sólido, pero la pérdida óhmica desaparece.

Los plasmones también son candidatos para ser usados en tecnologías de alta resolución (i.e. litografía) y microscopía debido a sus reducidas longitudes de onda. Ambas aplicaciones han tenido demostraciones exitosas en diferentes laboratorios. Además, los plasmones superficiales tiene la capacidad de confinar la luz en dimensiones muy reducidas, lo que les postula para muchas nuevas aplicaciones.

Los plasmones superficiales son muy sensibles a las propiedades de los materiales en que se propagan. Esto ha llevado a que sean usados creciendo films de pocos nanómetros y controlando las propiedades en función del espesor y nanoestructura. Compañías como Biacore han comercializado instrumentos que operan con estos principios. Plasmones superficiales ópticos son investigados para su uso en la producción de maquillajes entre otros usos.

RESUMEN DE LA INVENCION

Es el objeto de la presente invención, proveer una plataforma desarrollada que permite trabajar con las condiciones particulares que son necesarias para excitar la resonancia plasmónica. Esto posibilita optimizar parámetros para maximizar la sensibilidad y mejorar la detección de distintos analitos inmersos en diferentes matrices. Así, por ejemplo, la detección de agroquímicos en agua requiere de una configuración del equipo diferente que la necesaria para la detección de toxinas en leche vacuna. Esta flexibilidad convierte a esta plataforma en una herramienta importantísima para el desarrollo de métodos de detección y sensado de contaminantes en laboratorios de análisis e investigación y ya se encuentra en condiciones de ser comercializada. Por otra parte, sirve también como punto de partida para una reingeniería de nuevos equipos SPR más compactos, robustos y que sean concebidos para dar respuesta a necesidades específicas pero en condiciones de campo, es decir, en ambientes más hostiles fuera de los laboratorios.

Tanto los cambios de configuración que se realizan a través de rutinas de control, como los algoritmos de medición, y los procesos de carga e inyección de muestras y fluidos se encuentran debidamente automatizados mediante un software. Esta componente del desarrollo posibilita el total control de las facilidades previstas por diseño. Esto posiciona a este prototipo como un instrumento sumamente versátil y potente para el trabajo en laboratorios de análisis e investigación. Convirtiéndolo también en una plataforma de desarrollo de nuevos productos menos versátiles pero más robustos, compactos y optimizados para resolver un problema específico de análisis y detección molecular en condiciones de campo.

DESCRIPCION DE LOS DIBUJOS

Para mayor claridad y comprensión del objeto de la presente invención, se lo ha ilustrado en varias figuras, en las que se ha representado el mismo en una de las formas preferidas de realización, todo a título de ejemplo, en donde:

La figura 1 es una imagen de la plataforma objeto de la presente invención;

La figura 2 muestra el panel de control para realizar las determinaciones de resonancias plasmónicas en función del ángulo incidente;

La figura 3 muestra Panel de control para realizar mediciones de SPR en tiempo real utilizando la fuente de luz láser y el sistema totalmente automatizado de microfluidica e inyección de muestra.

La figura 4 muestra el Panel de control para realizar mediciones de SPR en tiempo real utilizando la fuente de luz blanca, el espectrómetro y el sistema totalmente automatizado de microfluidica e inyección de muestra.

La figura 5 es un esquema de los componentes optomecánicos de la plataforma objeto de la presente invención; y

La figura 6 es un esquema que ilustra las conexiones de la microfluidica de la plataforma de la figura 1.

DESCRIPCION DETALLADA DEL EJEMPLO DE REALIZACION

Actualmente el equipo se encuentra operativo en un 100%. Esto quiere decir que todos los componentes previstos están en funcionamiento y que se han realizado las rutinas de control de componentes mecánicos y de adquisición de datos necesarios para

automatizar de manera total el proceso de medición por SPR, incluso implementando un sistema totalmente automatizado para la inyección de muestra.

En la figura 1 se observa la plataforma optomecánica objeto de la presente invención. La plataforma optomecánica cuenta con 11 partes principales: Fuentes de luz (blanca o láser, pudiendo ser acotada en rango espectral como la producida por un LED); un acople óptico de entrada a la sonda (ENTRADA_SONDA); una fibra óptica sonda (SONDA); un acople óptico para la salida de la sonda (SALIDA_SONDA); un par de goniómetros automatizados y superpuestos axialmente theta y 2theta; un set de posicionadores laterales que posibilitan movimientos en 3 ejes ortogonales X-Y-Z montados sobre los goniómetros; un brazo mecánico de detección (DETECCIÓN) montado sobre el goniómetro 2theta; un acople óptico de entrada a la fibra de detección (ENTRADA_DETECCIÓN); un fibra óptica para la detección (DETECCIÓN); un acople óptico para la salida de la fibra de detección (SALIDA_DETECCIÓN); detectores (un espectrómetro o un fotodiodo).

El funcionamiento de la plataforma, tal como puede apreciarse de la figura 5 es el siguiente; la luz irradiada por las fuentes de luz (blanca, láser o LED) es focalizada dentro de la fibra óptica SONDA usando el acople óptico ENTRADA_SONDA. La luz viaja a través de la fibra óptica SONDA y al salir es colimada por el acople óptico SALIDA_SONDA para que los rayos de luz viajen de manera paralela.

Los goniómetros coaxiales theta y 2theta están colocados uno sobre el otro y sus ejes de rotación proyectados atraviesan perpendicularmente el haz de luz colimado que sale del acople óptico SALIDA_SONDA. Sobre el goniómetro 2theta se coloca el goniómetro theta, sobre este último se monta un set de posicionadores laterales X-Y-Z que permiten montar la muestra y la celda de microfluidica en la posición adecuada a través de desplazamientos en 3 ejes coordinados ortogonales. Del goniómetro 2theta

sale un brazo mecánico sobre el cual se monta el acople óptico ENTRADA_DETECCIÓN y el extremo de la fibra óptica DETECCIÓN. En condición inicial el haz de luz que sale de SALIDA_SONDA atraviesa imaginariamente el eje de rotación de los goniómetros pasando al ras de la superficie de la muestra plasmónica y entra a través del acople óptico ENTRADA_DETECCIÓN a la fibra DETECCIÓN. La luz viaja a través de la fibra óptica DETECCIÓN. El otro extremo de la fibra óptica DETECCIÓN se encuentra anexado al acople óptico SALIDA_DETECCIÓN, el cual posibilita que la luz que viajó por la fibra DETECCIÓN pueda salir e incidir adecuadamente sobre los detectores (espectrómetro o fotodiodo).

La posición inicial de los goniómetros θ y 2θ a la que se hizo referencia anteriormente corresponde con valores de ángulos $\theta=90^\circ$ y $2\theta=180^\circ$ medidos teniendo como ángulo 0° la posición del haz de luz que sale del acople SALIDA_SONDA y teniendo como eje de rotación al eje de los goniómetros. La plataforma, en cada barrido angular, permite que los goniómetros se muevan de manera tal que el haz de luz incidente (el que sale del acople SALIDA_SONDA) forma un ángulo $0<\theta<90^\circ$ con la normal a la superficie del posicionador Z donde se coloca paralelamente la superficie plasmónica de la muestra y un ángulo $2\theta=2*\theta$ con el brazo de DETECCIÓN.

El sistema de microfluidica de la plataforma cuenta con 6 elementos diferenciados: BOMBA DE INYECCIÓN de fluido de flujo continuo; 4 válvulas de 3 vías que generan el sistema de LOOP DE INYECCIÓN: V1, V2, V3 y V4; al menos 4 BLOQUES DE MICROFLUIDICA para cargar componentes, donde cada uno de estos bloques consta de 1 válvula de 3 vías (V5, V6, V7, V8,...VN, con N igual o mayor que 8) y una microbomba inyectora (B1, B2, B3, B4,... BN-4, con N igual o mayor que 8); ACOPLERES de 3 vías para unir dos canales de microfluidica en uno sólo en una cantidad

igual a la cantidad de BLOQUES DE MICROFLUIDICA del punto anterior menos uno; una CELDA DE MICROFLUIDICA; y CAÑERÍAS DE CONEXIÓN, tal como se observa en la figura 6.

El funcionamiento del sistema se puede resumir de la siguiente manera: la BOMBA DE INYECCIÓN de flujo continuo funciona constantemente haciendo que el fluido del reservorio BASE circule constantemente por donde sea necesario. Inicialmente el fluido del reservorio BASE pasa por VI y V2 llegando a la CELDA DE MICROFLUIDICA donde una de las paredes está conformada por la superficie plasmónica de la muestra sobre la cual se desea medir.

En esta condición diremos que las válvulas V1 y V2 no están activadas (estarán OFF). Para preparar al sistema se realizan dos tareas. Primero, se accionan las válvulas VI, V2, V3 y V4 (estarán ON) para que el fluido que bombea la BOMBA DE INYECCIÓN fluya entre VI, V3, V4 y V2 llegando luego a la CELDA DE MICROFLUIDICA. En segundo lugar, las válvulas VI, V2, V3 y V4 se desactivan (estarán OFF) y, en supuesto de que existan sólo 4 BLOQUES DE MICROFLUIDICA como los descritos en el inciso 3), las microbombas B1, B2, B3 y B4 bombean agua desde uno o más recipientes con agua a través de las válvulas V5, V6, V7 y V8, respectivamente, las cuales no están activadas (estarán en estado OFF), hasta que el líquido pase por las válvulas V3 y V4 y luego llegue al recipiente de RESIDUO. La sección de cañerías entre las válvulas V3 y V4 se llama LOOP DE INYECCIÓN. Para llenar el LOOP DE INYECCIÓN con la muestra que se desea analizar, se bombea líquido de los RECIPIENTE MUESTRA M1, M2 y M3 utilizando las microbombas B1, B2 y B3 con la combinación de bombeos adecuado y activando al mismo tiempo las válvulas V5, V6 y V7 (estarán ON) hasta que la mezcla de fluidos atraviese las válvulas V3 y V4 (estarán OFF) llenando el LOOP DE INYECCIÓN. Posteriormente se inyecta

la muestra que está en el LOOP DE INYECCIÓN en la CELDA DE MICROFLUIDICA activando las válvulas VI, V2, V3 y V4 (posición ON).

En esas condiciones se espera a que el fluido que se encuentra en el LOOP DE INYECCIÓN sea empujado hasta la CELDA DE MICROFLUIDICA por el fluido que viene del reservorio BASE por acción de la BOMBA DE INYECCIÓN de flujo continuo. A posteriori, se desactivan las válvulas VI, V2, V3 y V4 (posición OFF). Finalmente, para regenerar la superficie plasmónica y dejar al sistema preparado para una nueva medición se bombea la solución de REGENERACIÓN accionando la microbomba B4 y la válvula V8 (posición ON) hasta que la solución de REGENERACIÓN llene el LOOP DE INYECCIÓN entre V3 y V4. A continuación se activan las válvulas VI, V2, V3 y V4 (posición ON). En esas condiciones se espera a que el fluido que se encuentra en el LOOP DE INYECCIÓN, la solución de REGENERACIÓN, sea empujada hasta la CELDA DE MICROFLUIDICA por el fluido que viene del reservorio BASE por acción de la BOMBA DE INYECCIÓN de flujo continuo. A posteriori, se desactivan las válvulas VI, V2, V3 y V4 (posición OFF) finalizando el proceso de medición.

En la figura 2 se observa el panel de control de una de las rutinas programadas en LabVIEW la cual permite realizar el barrido angular en simultáneo con la adquisición de la señal de reflectividad láser para determinar la posición de la resonancia plasmónica y las condiciones óptimas para realizar las mediciones en función de la matriz líquida en la cual se pretende realizar la detección de moléculas.

En la figura 3 se puede apreciar el panel de control de la rutina programada en LabVIEW que permite realizar mediciones por SPR en tiempo real utilizando una fuente de luz monocromática y el sistema automatizado de microfluidica e inyección de muestra. El gráfico central se refiere a los primeros datos para la detección específica

utilizando un sistema antígeno-anticuerpo modelo. En este caso se detecta la adsorción específica del anticuerpo anti-dinitrofenol (anti-DNP) sobre una monocapa de albúmina de suero bovina (BSA) modificada con dinitrofenol (DNP) previamente inmovilizada sobre el film de Au de 50nm del sistema SPR. El incremento en la señal de 0.56 unidades a más de 0.9 da cuenta del evento de reconocimiento molecular producido. Posteriormente, con la inyección de una solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0.1M se rompe la unión antígeno-anticuerpo ocasionando la regeneración de la superficie original y una disminución de la señal medida hasta un valor cercano a las 0.6 unidades. Esta medición demuestra la viabilidad de la plataforma montada para realizar determinaciones de reconocimiento molecular basado en el uso de un inmunoensayo del tipo antígeno-anticuerpo.

La figura 4 presenta el panel de control para realizar un tipo de medición por SPR en tiempo real complementario al expuesto anteriormente. En este caso se muestra la señal de la posición espectral del mínimo del plasmón medida con el espectrómetro montado en la plataforma luego de excitar al plasmón utilizando la fuente de luz blanca. En este caso, el gráfico superior se refiere a la detección de la fisisorción inespecífica de una monocapa de BSA y su regeneración utilizando una solución de NaOH y Tween. Luego de inyectar el BSA y superar el transitorio (1º pico del gráfico superior) se observa un incremento neto de 0.3nm en la posición espectral del plasmón (0.3nm de corrimiento en el eje vertical). Posteriormente, luego de inyectar la mezcla de NaOH y Tween y superado el transitorio (2º pico del gráfico superior) la superficie se regenera eliminando el BSA fisisorbido observando una disminución de 0.3nm en la posición espectral del plasmón (0.3nm de corrimiento en el eje vertical en sentido opuesto al anterior y recuperando el estado inicial).

REIVINDICACIONES

Habiendo así especialmente descrito y determinado la naturaleza de la presente invención y la forma como la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara reivindicar como de propiedad y derecho exclusivo:

1. Una plataforma optomecánica automatizada para detección molecular por resonancia de plasmones superficiales, estando la plataforma **caracterizada** porque comprende al menos una fuentes de luz, un acople óptico de entrada a la sonda, una fibra óptica sonda; un acople óptico para la salida de la sonda; al menos un par de goniómetros; al menos un juego de posicionadores laterales; un brazo mecánico de detección; un acople óptico de entrada a la fibra de detección; una fibra óptica para la detección; un acople óptico para la salida de la fibra de detección, una pluralidad de detectores y microfluidica automatizada.

2. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicha al menos una fuente de luz es una de un grupo compuesto por luz blanca o láser.

3. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicha al menos una fuente de luz es una fuente acotada en rango espectral producida por un LED.

4. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicho al menos un par de goniómetros son automatizados y superpuestos axialmente θ y 2θ .

5. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada** porque dichos posicionadores laterales permiten el movimiento en los ejes ortogonales X, Y, Z.

6. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizada** porque dicho al menos un posicionador lateral está automatizado.

7. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada** porque dichos detectores son al menos un espectrómetro y un fotodiodo.

8. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada** porque la microfluidica automatizada comprende al menos una bomba de inyección, una pluralidad de válvulas, al menos cuatro bloques de microfluidica; acoples de tres vías, una celda de microfluidica y cañerías de conexión.

9. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizada** porque dicha bomba de inyección es de flujo continuo.

10. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizada** porque dicha pluralidad de válvulas son válvulas de tres vías.

11. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 10, **caracterizada** porque dichas válvulas de tres vías generan un circuito de inyección.

12. La plataforma de acuerdo con la reivindicación 8, **caracterizada** porque dichos al menos cuatro bloques de microfluidica constan, cada uno, de una válvula de tres vías y una microbomba inyectora.

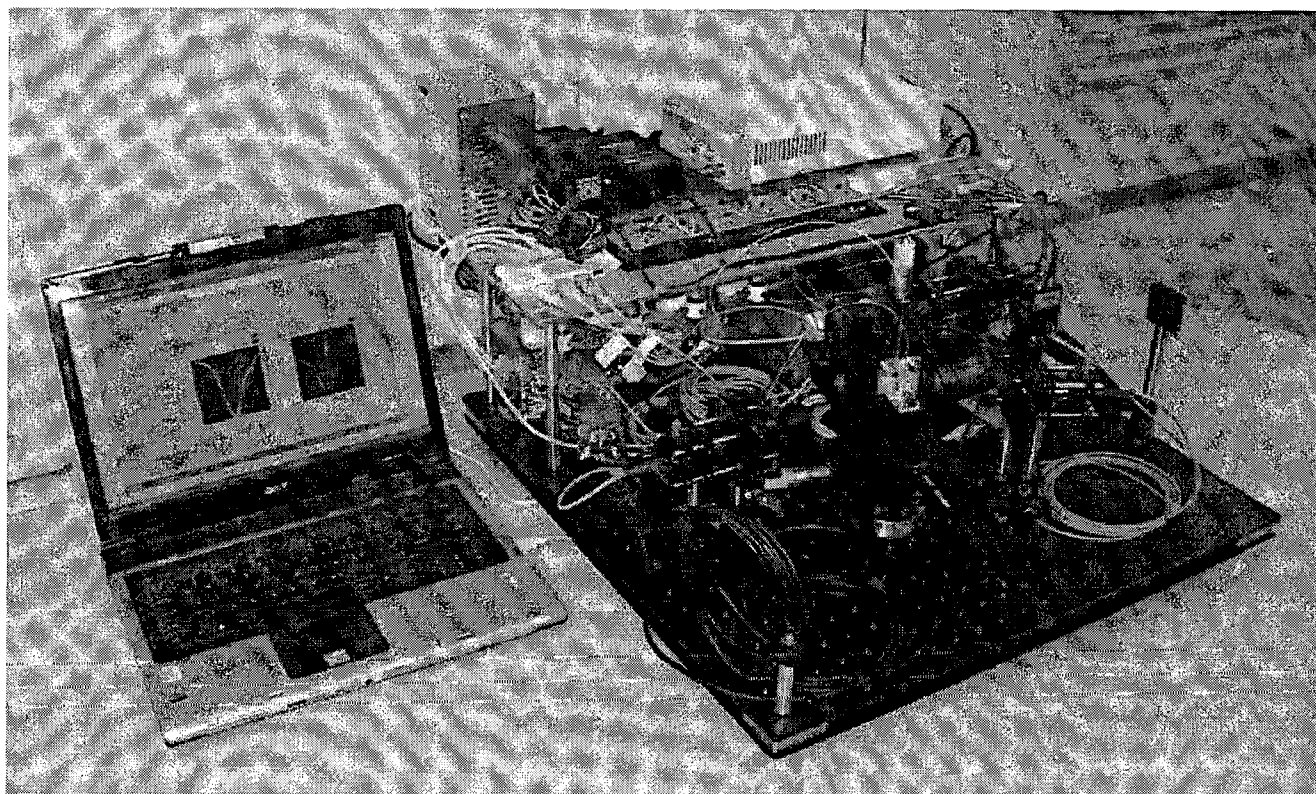


Fig 1

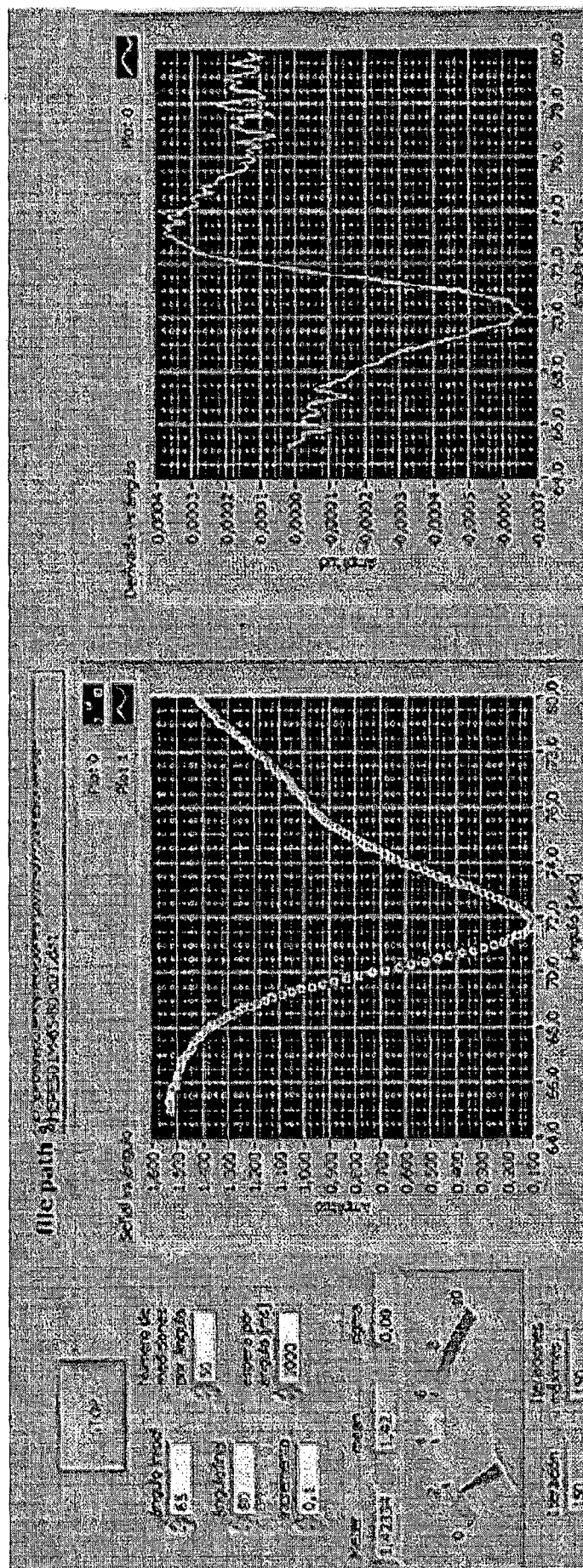


Fig 2

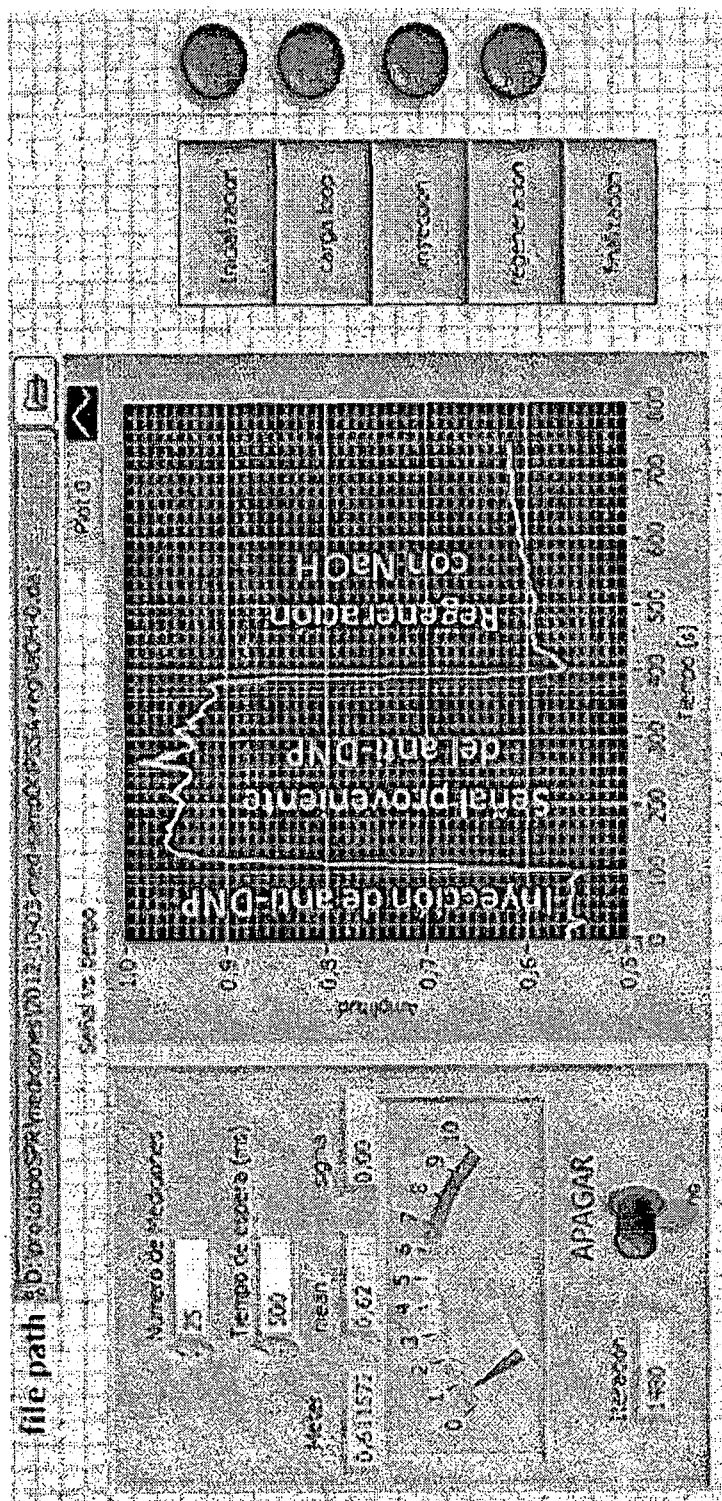


Fig 3

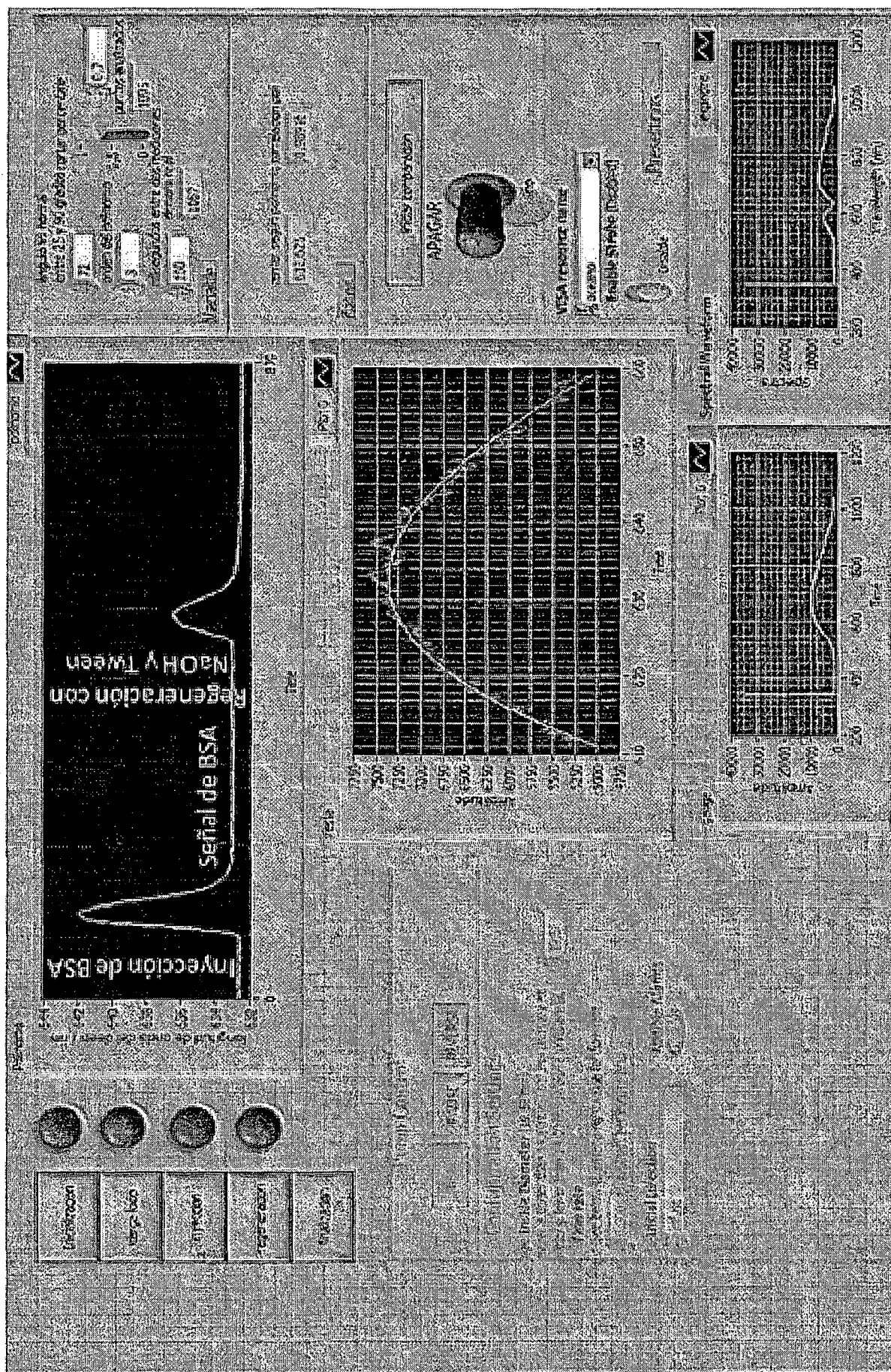


Fig 4

5/6

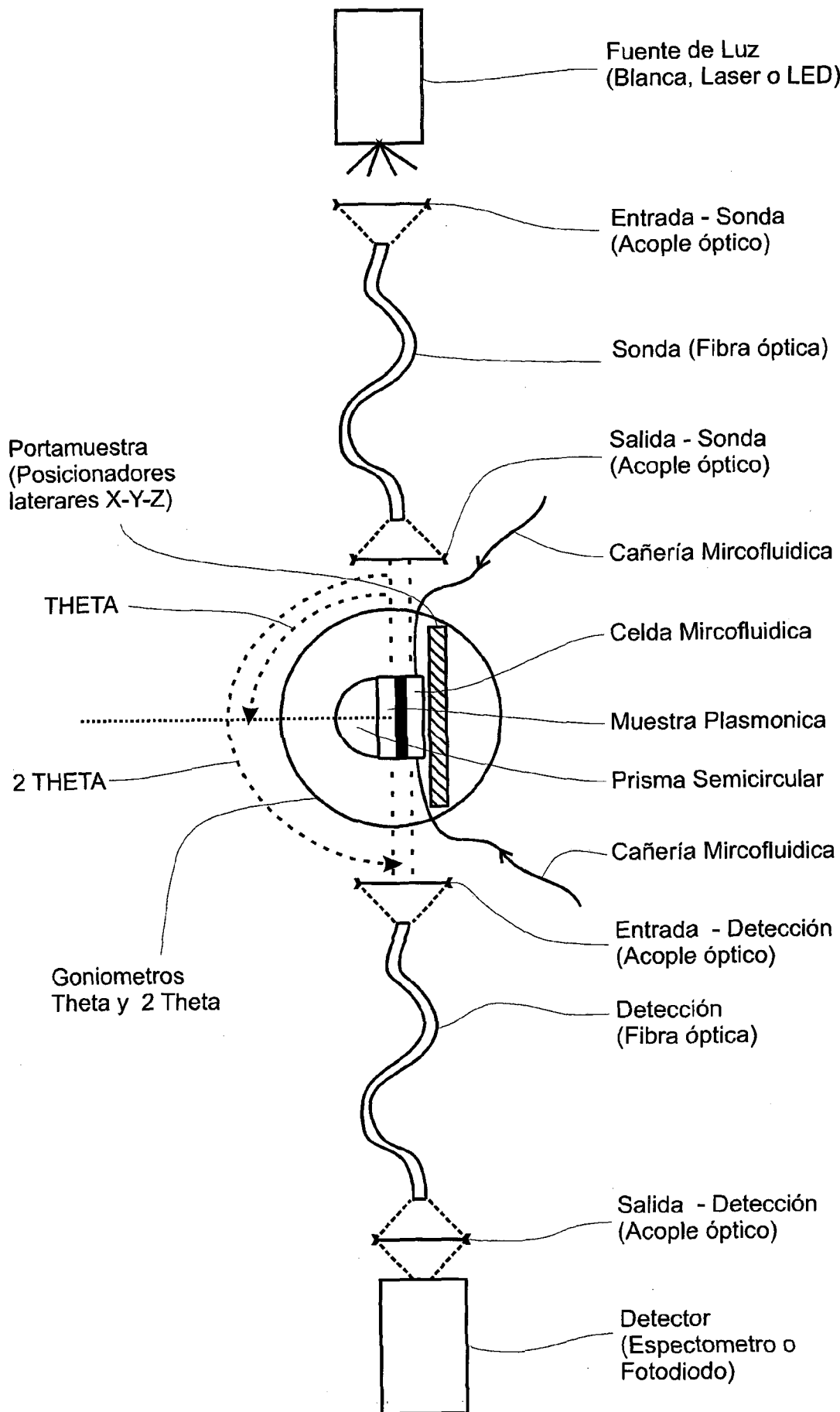


Fig 5

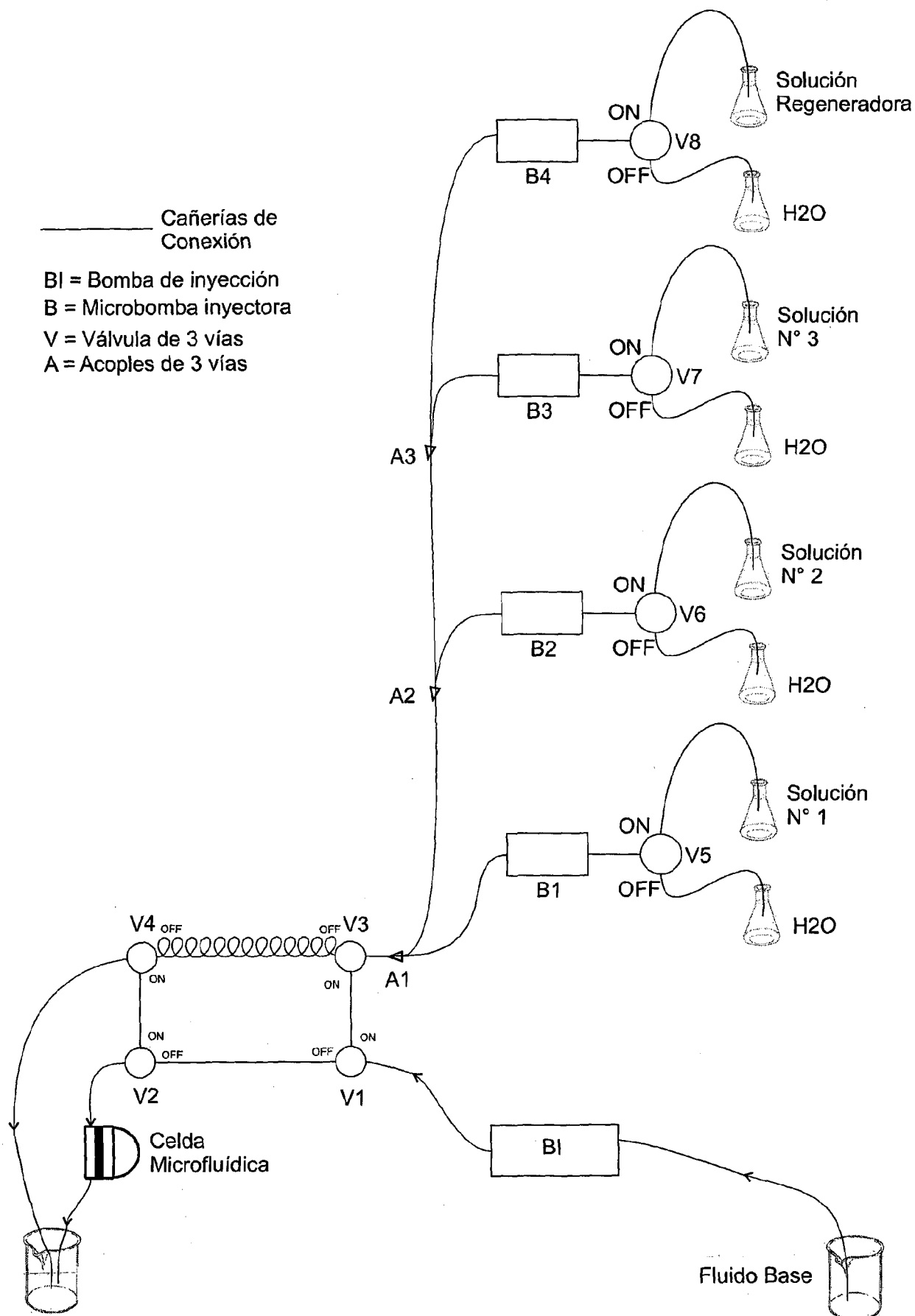


Fig. 6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2014/064220

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 INV. G01N21/55 B01L3/00
 ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N BOIL

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal , WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2011/310383 A1 (MASSON JEAN-FRANCOIS [CA] ET AL) 22 December 2011 (2011-12-22) paragraph [0030] - paragraph [0046] figure 1 -----	1-12
Y	W0 2009/081406 A2 (YISSUM RES DEV CO [IL] ; DAVIDOV DAN [IL] ; AR0ETI BENJAMIN [IL] ; GOLOSO) 2 July 2009 (2009-07-02) page 26, paragraph 3 - page 27, paragraph 1 -----	1-12
A	EP 1 630 544 A1 (FUJI PHOTO FILM CO LTD [JP]) 1 March 2006 (2006-03-01) paragraph [0053] - paragraph [0054] figures 4,8 -----	1-12



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) on which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 November 2014

Date of mailing of the international search report

05/12/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Krametz , Edeltraud

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2014/064220

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2011310383 AI	22-12-2011	CA 2738688 AI	08-04-2010
		CN 102227626 A	26-10-2011
		EP 2335050 AI	22-06-2011
		US 2011310383 AI	22-12-2011
		Wo 2010037227 AI	08-04-2010

Wo 2009081406 A2	02-07-2009	US 2011188043 AI	04-08-2011
		Wo 2009081406 A2	02-07-2009

EP 1630544 AI	01-03-2006	EP 1630544 AI	01-03-2006
		JP 2006064514 A	09-03-2006
		US 2006044563 AI	02-03-2006

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/IB2014/064220

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

INV. G01N21/55 B01L3/00

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

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

G01N B01L

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

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

EPQ-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
Y	US 2011/310383 A1 (MASSON JEAN-FRANCOIS [CA] ET AL) 22 Diciembre 2011 (2011-12-22) párrafo [0030] - párrafo [0046] figura 1	1-12
Y	W0 2009/081406 A2 (YISSUM RES DEV C0 [IL]; DAVIDOV DAN [IL]; AR0ETI BENJAMIN [IL]; GOLOS0) 2 July 2009 (2009-07-02) page 26, paragraph 3 - page 27, paragraph 1	1-12
A	EP 1 630 544 A1 (FUJI PHOTO FILM C0 LTD [JP]) 1 March 2006 (2006-03-01) paragraph [0053] - paragraph [0054] figures 4,8	1-12

☐ En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T"	documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y"	documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&"	documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.		
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.		

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional
27 Noviembre 2014

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional
05/12/2014

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional

Funcionario autorizado

N° de fax

N° de teléfono

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/IB2014/064220

Documento de patent citado en el inform de búsqueda	Fecha de publication	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publication
US 2011310383 Al	22-12-2011	CA 2738688 Al	08-04-2010
		CN 102227626 A	26-10-2011
		EP 2335050 Al	22-06-2011
		US 2011310383 Al	22-12-2011
		Wo 2010037227 Al	08-04-2010

Wo 2009081406 A2	02-07-2009	US 2011188043 Al	04-08-2011
		Wo 2009081406 A2	02-07-2009

EP 1630544 Al	01-03-2006	EP 1630544 Al	01-03-2006
		JP 2006064514 A	09-03-2006
		US 2006044563 Al	02-03-2006
