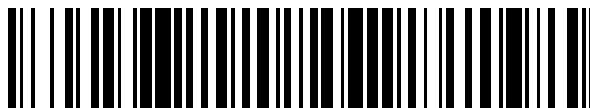


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 425 138**

21 Número de solicitud: 201300559

51 Int. Cl.:

G01N 27/62

(2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

22 Fecha de presentación:

07.06.2013

43 Fecha de publicación de la solicitud:

11.10.2013

Fecha de la concesión:

03.06.2014

45 Fecha de publicación de la concesión:

10.06.2014

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE OVIEDO (100.0%)
C/ San Francisco 3
33003 Oviedo (Asturias) ES**

72 Inventor/es:

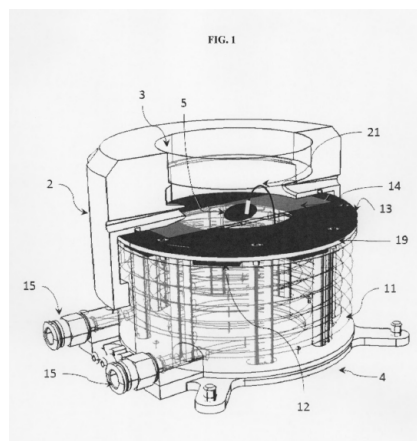
**FERNÁNDEZ GARCÍA, Beatriz;
KONZ, Ioana;
VALENZUELA CASTAÑEDA, Adrián;
FERNÁNDEZ SÁNCHEZ, María Luisa;
PEREIRO GARCÍA, María Rosario y
SANZ MEDEL, Alfredo**

54 Título: **Celda de ablación criogénica con control de la temperatura de la muestra**

57 Resumen:

Celda de ablación criogénica con control de la temperatura de la muestra (5) que comprende una tapa superior extraíble (2) con una ventana transparente al láser (3) y una base de la celda (4) con un sistema de refrigeración interno (12). El sistema también comprende un sistema de refrigeración externo (16), un sensor de temperatura (21), unos medios de control de la temperatura (22) y un sistema de ventilación externo (27). La celda se puede usar en combinación con otros dispositivos como, por ejemplo, un sistema de ablación láser acoplado a un sistema de plasma de acoplamiento inductivo con detección por espectrometría de emisión óptica o de masas.

De aplicación en aquellos sectores en los que se diseñen, produzcan o utilicen celdas de ablación, como por ejemplo el de la maquinaria y equipo mecánico, geología, biología, medicina, arqueología o química.



ES 2 425 138 B2

DESCRIPCIÓN

CELDA DE ABLACIÓN CRIOGÉNICA CON CONTROL DE LA TEMPERATURA DE LA MUESTRA

La presente invención se refiere a una celda de ablación con control de la temperatura de la muestra que comprende una tapa superior extraíble, una base de la celda que a su vez comprende en su interior un sistema de refrigeración interno, un sistema de refrigeración externo, un sensor de temperatura de la muestra, unos medios de control de la temperatura y un sistema de ventilación externo. La celda de la presente invención se puede usar en combinación con otros dispositivos como, por ejemplo, un sistema de ablación láser acoplado a un sistema de plasma de acoplamiento inductivo con detección por espectrometría de emisión óptica o de masas.

La invención resulta de aplicación en aquellos sectores en los que se diseñen, produzcan o utilicen celdas de ablación, como por ejemplo el de la maquinaria y equipo mecánico, geología, biología, medicina, arqueología o química.

ESTADO DE LA TÉCNICA

La celda de ablación criogénica propuesta en la invención está estrechamente relacionada con un método analítico para la detección de elementos traza en muestras sólidas mediante el arrancado de material de la muestra empleando un haz láser. Para la detección de los elementos de interés, una muestra a analizar se dispone en un sistema de ablación láser para ser sometida al arrancado de material por impacto del haz láser sobre su superficie. Posteriormente, el aerosol generado a partir de la muestra es transportado mediante un flujo de gas portador inerte (generalmente helio o argón) hacia un plasma de acoplamiento inductivo (ICP) donde se produce la atomización e ionización del aerosol, permitiendo posteriormente la detección de los iones generados con un espectrómetro de masas (MS).

Los componentes básicos de los que consta un equipo de ablación láser (LA) ICP-MS son: un sistema láser, donde se incluye una óptica de guía del haz láser

(conjunto de lentes y espejos que conducen el haz láser hasta la superficie de la muestra) y una celda de ablación donde se dispone la muestra a analizar, una interfase para el transporte del aerosol generado y, finalmente, un instrumento ICP-MS. Desde los primeros estudios realizados durante la década de 1980 (Gray AL “*Solid sample introduction by laser ablation for inductively coupled plasma source mass spectrometry*” *Analyst* 110 (1985) 551; Arrowsmith P, Hughes SK “*Entrainment and transport of laser ablated plumes for subsequent elemental analysis*” *Appl. Spectrosc.* 42 (1988) 1231), el interés por la técnica LA-ICP-MS ha ido en aumento, de tal modo que actualmente se emplea para el análisis elemental e isotópico en una gran variedad de materiales sólidos (Durrant SF, Ward NI “*Recent biological and environmental applications of laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*” *J. Anal. At. Spectrom.* 20 (2005) 821; Pisonero J, Fernandez B, Günther D “*Critical Revision of GD-MS, LA-ICP-MS and SIMS as Inorganic Mass Spectrometric Methods for Direct Solid Analysis*” *J. Anal. At. Spectrom.* 24 (2009) 1145; Fernandez B, Claverie F, Pecheyran C, Donard OFX “*Direct analysis of solid samples by femtosecond laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*” *Trends Anal. Chem.* 26 (2007) 951). Entre las principales ventajas de la técnica LA-ICP-MS se encuentran su facilidad de manejo, su alta sensibilidad (los límites de detección están en el intervalo comprendido entre los mg/kg y ng/kg) y un rango dinámico de hasta doce órdenes de magnitud, lo que permite la adquisición simultánea de componentes mayoritarios, minoritarios y traza. Además, otra de sus principales características es la elevada resolución espacial, tanto lateral ($\sim 5\ \mu\text{m}$) como en profundidad (del orden comprendido entre 500 nm y $2\ \mu\text{m}$ dependiendo del tipo de láser empleado), por lo que se considera una técnica no destructiva a nivel macroscópico.

Una de las aplicaciones más importantes de la técnica LA-ICP-MS en los últimos años está relacionada con los estudios de “*imaging*”. Esta técnica ofrece la posibilidad de obtener imágenes con una gran resolución lateral directamente de la superficie de la muestra, lo que permite estudiar la distribución elemental de los diferentes analitos (Becker JS, Zoriy M, Matusch A, Wu B, Salber D, Palm C, Becker JS “*Bioimaging of metals by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS)*” *Mass Spectrom. Reviews* 2 (2010) 156). Este tipo de estudios resulta de gran interés en todos los campos relacionados con la biomedicina,

- clínica y biología. Así, se ha demostrado su aplicabilidad a un tipo muy variado de muestras como corteza de árbol (Narewski U, Werner G, Schulz H, Vogt C “*Application of laser ablation inductively coupled mass spectrometry for the determination of major, minor, and trace elements in bark samples*” Fresenius' J. Anal. Chem. 366 (2000) 167), hojas de plantas (Cizdziel J, Bu K, Nowinski P “*Determination of elements in situ in green leaves by laser ablation ICP-MS using pressed reference materials for calibration*” Anal. Methods 4 (2012) 564), piezas dentales (Prohaska T, Latkoczy C, Schultheis G, Teschler-Nicola M, Stingeder G “*Investigation of Sr isotope ratios in prehistoric human bones and teeth using Laser Ablation ICP-MS and ICP-MS after Rb/Sr separation*” J. Anal. At. Spectrom. 17 (2002) 887) y otolitos (Huelga-Suarez G, Fernández B, Moldovan M, Alonso JIG “*Detection of transgenerational barium dual-isotopic marks in salmon otoliths by means of LA-ICP-MS*” Anal. Bioanal. Chem. 405 (2013) 2901).

- Además, la técnica LA-ICP-MS también se emplea cada vez más para la determinación de metales y elementos traza en tejidos de interés biomédico, como tejidos de riñón y corazón (Zoriy M, Matusch A, Spruss T, Becker JS “*Laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry for imaging of copper, zinc, and platinum in thin sections of a kidney from a mouse treated with cis-platin*” Int. J. Mass Spectrom. 260 (2007) 102; Becker JS, Breuer U, Hsieh HF, Osterholt T, Kumtabtim U, Wu B, Matusch A, Caruso JA, Qin Z “*Bioimaging of metals and biomolecules in mouse heart by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry and secondary ion mass spectrometry*” Anal. Chem. 82 (2010) 9528), ganglios linfáticos y tejidos respiratorios (Hare D, Tolmachev S, James A, Bishop D, Austin C, Fryer F, Doble P “*Elemental bio-imaging of thorium, uranium, and plutonium in tissues from occupationally exposed former nuclear workers*” Anal. Chem. 82 (2010) 3176), tejidos de cáncer de próstata y de mama (Giesen C, Waentig L, Mairinger T, Drescher D, Kneipp J, Roos PH, Panneab U, Jakubowski N “*Iodine as an elemental marker for imaging of single cells and tissue sections by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*” J. Anal. At. Spectrom. 26 (2011) 2160) y secciones de tejido cerebral (Zoriy M, Dehnhardt M, Matusch A, Becker JS “*Comparative imaging of P, S, Fe, Cu, Zn and C in thin sections of rat brain tumor as well as control tissues by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*” Spectrochim. Acta

Part B 63 (2008) 375). Dentro de los tejidos biomédicos, en los últimos años ha cobrado gran interés el empleo de la técnica LA-ICP-MS para evaluar tejidos de pacientes afectados por enfermedades neurológicas degenerativas como el Parkinson y el Alzheimer (Matusch A, Depboylu C, Palm C, Wu B, Höglinger GU, Schäfer MK-H, Becker JS “*Cerebral bioimaging of Cu, Fe, Zn, and Mn in the MPTP mouse model of Parkinson’s disease using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*” J. Am. Soc. Mass Spectrom. 21 (2010) 161; Hutchinson RW, Cox AG, McLeod CW, Marshall PS, Harper A, Dawson EL, Howlett DR “*Imaging and spatial distribution of β -amyloid peptide and metal ions in Alzheimer’s plaques by laser ablation-inductively coupled plasma-mass spectrometry*” Anal. Biochem. 346 (2005) 225).

Cuando se lleva a cabo el análisis de tejidos biológicos o biomédicos uno de los aspectos más importantes a tener en cuenta es la preparación de las muestras, así como la posible pérdida de metales de los tejidos durante este proceso. Actualmente, hay dos tipos de procedimientos estándar empleados en los laboratorios para la preparación de secciones de tejidos biomédicos: (i) fijación del tejido en formalina y posteriormente embebido del mismo en parafina y (ii) congelación de la muestra en el estado nativo a temperaturas inferiores a -40°C . En el caso de las muestras embebidas en parafina se ha observado que puede haber pérdidas de algunos elementos durante el proceso de preparación de las muestras. De este modo, se ha demostrado que la concentración de algunos metales (p.ej. Fe) en muestras embebidas en parafina es inferior a las concentraciones detectadas en muestras criogénicas, preparadas de forma nativa (Qin Z, Caruso JA, Lai B, Matusch A, Becker JS “*Trace metal imaging with high spatial resolution: Applications in biomedicine*” Metallomics 3 (2011) 28). Este hecho podría deberse a la lixiviación de los metales de los tejidos en la disolución de formalina o durante el proceso de inclusión en parafina. Sin embargo, el método de congelación del tejido fresco protege el estado nativo de la muestra (especialmente con respecto a la preservación de los analitos que pueden difundir fácilmente). Por lo tanto, podría decirse que el método ideal para la preparación de las muestras es la congelación de las mismas, resultando en este caso imprescindible el empleo de una celda de ablación que permita trabajar a baja temperatura para asegurar de este modo tanto la integridad de las muestras como la exactitud de los análisis.

Por otro lado, aunque no resulta imprescindible emplear una celda criogénica para el análisis de otro tipo de muestras sólidas (p.ej. estructuras óseas, implantes o muestras geológicas), se ha observado que las prestaciones obtenidas empleando un control estricto de la temperatura de la muestra a lo largo del análisis son superiores a los análisis hechos sin control de la temperatura (Zoriy MV, Kayser M, Izmer A, Pickhardt C, Becker JS “*Determination of uranium isotopic ratios in biological samples using laser ablation inductively coupled plasma double focusing sector field mass spectrometry with cooled ablation chamber*” Inter. J. Mass Spectrom. 242 (2005) 297). De esta manera, el campo de aplicación de las celdas de ablación que operan a baja temperatura es muy amplio y no está únicamente restringido a muestras de tejidos biomédicos.

Actualmente existen varios tipos de celdas de ablación que permiten trabajar a baja temperatura, por ejemplo las descritas por Zoriy MV, Kayser M, Izmer A, Pickhardt C, Becker JS “*Determination of uranium isotopic ratios in biological samples using laser ablation inductively coupled plasma double focusing sector field mass spectrometry with cooled ablation chamber*” Int. J. Mass Spectrom. 242 (2005) 297, Müller W, Shelley JMG, Rasmussen SO “*Direct chemical analysis of frozen ice cores by UV-laser ablation ICPMS*” J. Anal. At. Spectrom. 26 (2011) 2391 y Feldmann J, Kindness A, Ek P “*Laser ablation of soft tissue using a cryogenically cooled ablation cell*” J. Anal. At. Spectrom. 17 (2002) 813. Sin embargo, en todas ellas, el control de la temperatura de la muestra y la refrigeración de la misma tienen lugar de manera indirecta, es decir, sin un control de la temperatura que se produce en la propia muestra sometida a la acción del haz láser.

En las celdas de ablación disponibles, el enfriamiento de la muestra tiene lugar sobre el soporte en el que se dispone la muestra a analizar y es la temperatura de este soporte la que es controlada por los sistemas de refrigeración. El control exacto y continuo de la temperatura de la muestra es un aspecto crucial para asegurar la integridad de la muestra durante el análisis (el cual puede llegar a durar más de 20 horas cuando se hacen estudios de *imaging*), especialmente tratándose de muestras de tejidos preparados en su forma nativa. Además, estas celdas de ablación no permiten monitorizar la temperatura de la muestra y, por lo tanto, ésta puede sufrir cambios

debido a los importantes efectos térmicos que ejerce el haz láser en la muestra durante el análisis. De este modo, los resultados obtenidos de los análisis por LA-ICP-MS carecen de exactitud y precisión y no son representativos de la muestra.

Por otro lado, un aspecto importante a la hora de hacer estudios de *imaging* sobre muestras con estructuras a escala micrométrica (p.ej. inclusiones en muestras geológicas o distribución de metales en secciones de tejidos humanos) es la necesidad de llevar a cabo una correcta visualización de la muestra. Las celdas de ablación que permiten trabajar a baja temperatura disponen de una base de la celda opaca por lo que la iluminación de la muestra se realiza únicamente a través de la parte superior de la celda, resultando en muchos casos insuficiente para llevar a cabo análisis con una buena resolución lateral y poder distinguir así microestructuras.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una celda de ablación con control de la temperatura de la muestra, que se puede usar en combinación con otros dispositivos como por ejemplo, un sistema de ablación láser acoplado a un sistema de plasma de acoplamiento inductivo con detección por espectrometría de emisión óptica o de masas.

La celda de ablación de la presente invención comprende:

- Una tapa superior extraíble que permite la disposición de una muestra dentro de la celda de ablación. La tapa a su vez comprende una ventana transparente al láser por donde penetra el haz que permite la ablación de la muestra. La tapa también dispone de al menos una abertura para la entrada de gas de arrastre y al menos una abertura para la salida de gas de arrastre. El gas de arrastre sirve para transportar el aerosol con partículas que se forma a partir de la ablación de la muestra hacia la salida de la celda de ablación. Este aerosol es apto para ser analizado por ejemplo empleando instrumentos de espectrometría de emisión óptica y de masas. Preferiblemente, el gas de arrastre es un gas inerte, como por ejemplo helio o argón, de forma que no interfiere en el análisis del material de interés.

- Una base de la celda que a su vez comprende en su interior un intercambiador de calor interno, un sistema de refrigeración interno, una placa refrigeradora sobre el sistema de refrigeración interno y un portamuestras sobre la placa refrigeradora. El intercambiador de calor interno proporciona un foco frío en el interior de la celda, que se enfría gracias al suministro constante de un fluido refrigerante que proviene del exterior. Por otra parte, el sistema de refrigeración interno permite regular de forma dinámica e inmediata la temperatura de la muestra que se sitúa sobre el portamuestras, manteniéndola dentro de un rango apropiado para el proceso de ablación. El sistema de refrigeración interno trasiega calor desde el foco frío al foco caliente, el cual aparece debido a la potencia del haz láser que incide sobre la muestra, calentándola. La placa refrigeradora transmite la temperatura de regulación proporcionada por el sistema de refrigeración interno al portamuestras, sobre el que se dispone la muestra. La base de la celda también comprende una ventana transparente a la luz y un sistema de conexión del intercambiador de calor interno y el sistema de refrigeración externo por el que penetra un fluido refrigerante.
- Un sistema de refrigeración externo que a su vez comprende un intercambiador de calor externo y unos medios de bombeo de un fluido refrigerante que permiten llevar a cabo la circulación del fluido refrigerante a través del intercambiador de calor interno de la base de la celda y del intercambiador de calor externo. A los efectos de esta invención y su descripción, los medios de bombeo pueden ser cualquier sistema para trasegar un fluido, como por ejemplo una bomba radial, controlada electrónicamente, asociada a unos conductos que transportan el fluido bombeado.
- Un sensor de temperatura de la muestra que permite controlar de forma directa su temperatura.
- Un sistema de ventilación externo que impulsa un fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser de la tapa superior extraíble. El sistema de ventilación permite mantener unas condiciones óptimas de

trabajo disminuyendo por ejemplo los efectos de difracción o reflexión asociados a fenómenos de condensación sobre la ventana transparente al láser.

- Unos medios de control de temperatura de todo el sistema.

5 En una realización preferida, la tapa superior extraíble y la base de la celda son de un material aislante térmico. La selección de un material con un coeficiente de transmisión térmica apropiado influye directamente en la cinética de transmisión de calor debida al fuerte gradiente térmico que se puede dar entre el interior y el exterior de la celda. Este aspecto repercute directamente en el dimensionamiento y la
10 configuración de los diferentes subsistemas de la celda, como por ejemplo en los medios de control de temperatura, el intercambiador de calor interno o el sistema de refrigeración interno. En una realización más preferida, el material aislante térmico es un compuesto de poliamida.

 En otra realización preferida, la ventana transparente al láser comprende un
15 cristal de cuarzo. El cristal de cuarzo ofrece unas propiedades ideales para la transmisión de un haz láser típicamente utilizado en procesos de ablación. Además, el cristal de cuarzo facilita la visión del interior de la celda y permite la iluminación de la muestra por la parte superior. En una realización más preferida, el cristal de cuarzo permite la transmisión de una longitud de onda electromagnética en el rango
20 comprendido entre 1064 nm y 193 nm.

 En otra realización preferida, la abertura para la entrada de gas de arrastre consiste en un orificio único. En otra realización preferida, la abertura para la entrada de gas de arrastre consiste en cuatro orificios de entrada.

 En otra realización preferida, la abertura para la salida de gas de arrastre
25 consiste en un orificio único. En una realización más preferida, el orificio único tiene forma de embudo recolector. En otra realización preferida, la abertura para la salida de gas consiste en cuatro orificios de salida.

 La selección entre uno o cuatro orificios para la entrada o la salida y la materialización de la salida en forma de embudo, depende del tamaño de la tapa y, por
30 lo tanto, del volumen de la celda de ablación y, sobre todo, de las características del

gas de arrastre y los medios para impulsarlo. En algunas aplicaciones, como por ejemplo en estudios de *imaging*, la obtención de un flujo laminar del gas de arrastre con el aerosol es determinante para obtener un buen resultado analítico.

En una realización específica, el intercambiador de calor interno es un serpentín. Un intercambiador de calor en forma de serpentín es una solución muy
5 eficiente, aumentando la capacidad de intercambio de calor en un volumen de espacio muy reducido. Por otro lado, permite además que el intercambiador de calor se pueda disponer en un espacio cercano a la pared interna de la celda, de forma que deja despejado un gran volumen en el interior de la misma.

10 Al igual que con la selección de materiales aislantes, otros componentes del sistema necesitan una selección de materiales de acuerdo a criterios de transmisión térmica, de forma que propicien una cinética térmica rápida. Entre los atributos que se ven relacionados con esta selección se encuentra la rapidez de reacción para el control de temperatura del sistema. Una selección de materiales optimizada permite limitar la
15 variación térmica de la muestra en el tiempo con una precisión de, incluso, décimas de grado.

En una realización más específica, el serpentín es de un material conductor térmico. En una realización aún más específica, el material conductor térmico es un metal o una aleación de metales, como por ejemplo aluminio.

20 En otra realización específica, el sistema de refrigeración interno comprende al menos 4 elementos Peltier. Los elementos Peltier son dispositivos que permiten trasegar calor, regular la temperatura de la muestra y que además pueden estar controlados mediante señales de control. Preferidamente, los elementos Peltier se disponen de forma anular alrededor del eje vertical de la muestra, en un número de
25 entre cuatro y ocho elementos. En una realización más específica, el sistema además comprende una placa aislante de un material aislante térmico que separa térmicamente la cara fría y la cara caliente de los elementos Peltier. En una realización aún más específica, el material aislante térmico es un compuesto de poliamida. La placa aislante de un material aislante térmico, como por ejemplo un compuesto de
30 poliamida, tiene la función de aislar las dos caras de los Peltiers del sistema de

refrigeración interno con el fin de que no exista convección entre ambas zonas de borde. De esta manera es posible incrementar la eficiencia del conjunto y obtener una refrigeración óptima de la muestra.

5 En otra realización específica, la placa refrigeradora es de un material conductor térmico. En una realización más específica, el material conductor térmico es metal o una aleación de metales, como por ejemplo cobre.

10 En una realización preferida, el portamuestras es de vidrio. Además de tener unas propiedades térmicas adecuadas, el vidrio es un material traslúcido, que permite el paso de la luz exterior, como la que proviene de la ventana transparente a la luz situada también en la base de la celda, y de este modo una buena visualización de la muestra. En otra realización preferida, el sistema de conexión del intercambiador de calor interno y del intercambiador de calor externo comprende unos racores. En una realización más preferida, los racores son de metal o una aleación de metales.

15 En otra realización preferida, la ventana transparente a la luz de la base de la celda es un vidrio difusor.

En otra realización preferida, el intercambiador de calor externo también comprende elementos Peltier.

En una realización específica, el fluido refrigerante es polipropilenglicol. En otra realización específica, el fluido refrigerante es aceite de silicona.

20 En otra realización específica, el sensor de temperatura es un termopar en contacto con la muestra.

En otra realización específica, el sensor de temperatura es un pirómetro, que permite detectar directamente la temperatura de la muestra sin contacto, incluso situándose fuera de la celda, a través de la radiación de la misma.

25 En otra realización específica, el sistema además comprende unos medios de iluminación externos que iluminan la muestra a través de la ventana transparente a la luz. Este aspecto es relevante a la hora de analizar muestras con estructuras o defectos a escala micrométrica, donde es necesaria una buena visualización de la superficie de la muestra mediante el complemento con sistemas de visión artificial, como por

ejemplo cámaras o microscopios. En una realización más específica, los medios de iluminación externos comprenden un diodo emisor de luz, como por ejemplo un LED, PLED u OLED.

5 En otra realización específica, el sistema de ventilación externo comprende un ventilador accionado por unos medios motores los cuales pueden materializarse con cualquier sistema capaz de mover el ventilador, como por ejemplo un motor eléctrico electrónicamente controlado.

10 En otra realización específica, el sistema de ventilación externo comprende una cámara a presión que contiene el fluido de ventilación, una conducción que conduce el fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser y unos medios valvulares, como por ejemplo una electroválvula o un regulador hidráulico o neumático, para regular la salida del fluido de ventilación.

15 En otra realización específica, el sistema de ventilación externo comprende un compresor que comprime el fluido de ventilación, una conducción que conduce el fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser y unos medios valvulares para regular la salida del fluido de ventilación. En esta realización preferida, el fluido de ventilación puede ser el aire exterior de la celda, tratado térmicamente o no, comprimido por un compresor y proyectado sobre la ventana transparente al láser.

20 En una realización preferida, los medios de control de temperatura recogen y tratan señales analógicas o digitales capturadas por el sensor de temperatura y envían señales de control analógicas o digitales al sistema de refrigeración interno. En una realización más preferida, los medios de control de la temperatura además envían señales de control al sistema de refrigeración externo. En una realización más preferida, cuando los sistemas de la celda utilizan elementos Peltier, los medios de control de temperatura recogen y tratan señales analógicas o digitales capturadas por
25 el sensor de temperatura y envían señales de control analógicas o digitales a los elementos Peltier, que modifican su dinámica de funcionamiento en función de estas señales eléctricas de control.

En otra realización más preferida, el tratamiento de las señales analógicas o digitales se realiza mediante bloques funcionales de programa o programas de software.

5 En otra realización más preferida, el tratamiento de las señales analógicas o digitales se realiza mediante algoritmos implementados en un ordenador. Este ordenador además puede centralizar el control de otros sistemas relacionados con la ablación, como por ejemplo el sistema láser o el sistema que proporciona el caudal de gas de arrastre.

10 La invención proporciona una celda con un sistema de refrigeración criogénico que permite realizar la ablación láser de muestras previamente criogenizadas a la vez que se mantiene la temperatura de la muestra dentro de un rango de ensayo predeterminado, a pesar de la perturbación térmica que se induce en la propia muestra durante el análisis debido al impacto del haz láser sobre la misma y a la circulación de un gas de arrastre no enfriado a través de la celda de ablación. De esta manera la celda
15 de ablación permite el análisis de tejidos biológicos o biomédicos conservados en su forma nativa, asegurando la integridad de las muestras durante el tiempo en el que ésta se encuentre dispuesta en la celda de ablación.

La invención también proporciona una celda con un sensor de temperatura de la muestra que preferidamente puede ser un termopar en contacto directo con la
20 superficie de la misma o un pirómetro dirigido sobre la superficie de la muestra. La medición de la temperatura de la muestra de forma directa permite un control instantáneo y continuo de la temperatura de la muestra durante el análisis sin necesidad de hacer aproximaciones o lecturas indirectas que podrían falsear los resultados. La medición directa de la temperatura de la muestra además hace que se
25 pueda llevar a cabo un control muy riguroso de la dinámica de la ablación a lo largo del análisis, mediante el reajuste rápido de la temperatura de la muestra empleando el sistema de refrigeración interno.

La configuración que se emplea para llevar a cabo la refrigeración de la muestra dispuesta en la celda de ablación combina un sistema de refrigeración interno
30 con un intercambiador de calor interno y un sistema de refrigeración externo. En una

realización preferida, tanto el sistema de refrigeración externo como el sistema de refrigeración interno comprenden elementos Peltier lo que permite llevar a cabo un ajuste de la temperatura de manera controlada, rápida y precisa. Los medios de control de temperatura recogen y tratan señales analógicas o digitales capturadas por el sensor de temperatura y envían señales de control analógicas o digitales al sistema de refrigeración interno. Los medios de control de temperatura hacen que, por una parte, se pueda monitorizar la temperatura de la muestra y, por otra, controlarla para que esté dentro del rango de trabajo óptimo en todo momento. Mediante una materialización de la invención con elementos Peltier, la respuesta rápida del sistema de refrigeración interno puede asegurar una variación térmica en la muestra de tan solo $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ a lo largo de 17 horas de análisis con el láser. Preferidamente, el sistema de refrigeración interno está formado por ocho elementos Peltier dispuestos de manera anular en la base de la celda, lo que permite refrigerar internamente toda la muestra de manera muy homogénea y permitir además el paso de luz para una mejor visualización de la misma.

En una realización preferida de la invención, la tapa superior extraíble tiene una abertura para la salida de gas con una forma de embudo recolector lo que permite una extracción rápida y eficaz del aerosol generado a partir de la ablación de la muestra. De esta manera se asegura que en la celda de ablación haya un flujo laminar que repercute positivamente en la resolución lateral de los análisis, lo que resulta crucial en estudios de *imaging* al haber una menor mezcla de la información proveniente de diferentes partes de la muestra.

La ventana transparente a la luz permite mejorar la visualización de la muestra dentro de la celda de ablación sobre todo si se emplean medios auxiliares, como por ejemplo un monitor de video asociado al sistema de ablación láser, para optimizar la localización de la zona de impacto y ablación. De esta forma, no solo es posible iluminar la muestra por la parte superior, a través de la ventana transparente al láser, sino que también es posible retro iluminar la misma por la parte inferior, en el caso de que la ventana se disponga en el fondo de la base de la celda. Este aspecto es de crucial importancia a la hora de analizar muestras con estructuras o defectos a escala micrométrica donde es necesaria una buena visualización de la superficie de la

muestra. Para que la luz llegue de manera adecuada a la muestra por la parte inferior, además de la ventana transparente a la luz, en una realización preferida el sistema de refrigeración interno tiene forma de serpentín y el intercambiador de calor interno se dispone anularmente de tal forma que permiten pasar un haz de luz por el centro de la
 5 base de la celda.

La celda de ablación se complementa con un sistema de ventilación externo que impulsa un fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser evitando de este modo problemas de condensación y asegurando así la ablación de la muestra siempre en las mismas condiciones (para las mismas condiciones de contorno como la
 10 misma energía del haz láser), y por lo tanto la calidad y la repetibilidad de los experimentos.

La invención resulta de aplicación en aquellos sectores en los que se diseñen, produzcan o utilicen celdas de ablación, como por ejemplo el de la maquinaria y equipo mecánico, geología, biología, medicina, arqueología o química.

15

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Fig. 1 muestra una vista detallada de una sección de la celda de ablación (1) donde se pueden observar los diferentes componentes y sistemas de la base de la celda (4) y de la tapa superior extraíble (2). La tapa superior extraíble (2) tiene en el centro de la misma una ventana transparente al láser (3). En la base de la celda (4) se puede
 20 observar un intercambiador de calor interno (11) en forma de serpentín, un sistema de refrigeración interno (12) materializado en unos elementos Peltier, una placa refrigeradora (13) sobre el sistema de refrigeración interno (12), un portamuestras (14) sobre la placa refrigeradora (13), un sistema de conexión (15) en forma de racores del
 25 intercambiador de calor interno (11) y el sistema de refrigeración externo (16), el cual no se representa en esta figura, y una ventana transparente a la luz (17) que en la figura no se muestra al estar dispuesta en la cara oculta inferior de la base de la celda (4). La muestra (5) a analizar se coloca en la base de la celda (4) sobre un
 30 portamuestras (14) dispuesto sobre la placa refrigeradora (13). Tanto el portamuestras (14) como la ventana transparente a la luz (17) permiten llevar a cabo una correcta

visualización de la muestra (5) al poder iluminar la misma desde varias direcciones, a través de la ventana transparente al láser (3) y a través de la ventana transparente a la luz (17). De esta forma, unos medios de iluminación externos (18) que se pueden materializar mediante unos LED y que tampoco aparecen representados, emiten una radiación lumínica que se puede introducir por la ventana transparente a la luz (17), mejorando la visualización de la muestra (5). En cuanto a la refrigeración de la muestra, la placa refrigeradora (13), de un material que es buen conductor térmico, está colocada sobre el sistema de refrigeración interno (12) que comprende 8 elementos Peltier. En la figura también se muestra una placa aislante (19) de un material aislante térmico que separa térmicamente la cara fría y la cara caliente de los elementos Peltier. Por otro lado, la celda de ablación (1) dispone de un sensor de temperatura (21), que en la figura se representa mediante un termopar dispuesto directamente sobre la muestra (5), el cual permite llevar a cabo el control exacto y continuo de la temperatura de la misma.

La Fig. 2 muestra una vista descompuesta de los diferentes componentes de la base de una celda (4) similar a la mostrada en la Fig. 1, dispuestos sobre un eje vertical imaginario. Como se puede observar, el sistema de refrigeración interno (12) representado mediante ocho Peltiers puede estar en contacto directo con la placa refrigeradora (13) donde se coloca el portamuestras (14) con la muestra (5). Por lo tanto, la refrigeración de la muestra (5) puede realizarse de manera directa y sin pérdidas. Por otra parte, esta figura muestra claramente la disposición de la placa aislante (19), separando la cara fría y la cara caliente del sistema de refrigeración interno (12), materializado en varios Peltiers, intercalándose con ellos. Además, se muestra en la parte inferior de la base de la celda (4), la ventana transparente a la luz (17) que permite llevar a cabo una correcta visualización de la muestra (5) al poder iluminarse la misma por la parte inferior utilizando unos medios de iluminación externos (18).

La Fig. 3 muestra una vista de la tapa superior extraíble (2) de la celda de ablación (1). En ella se puede observar la ventana transparente al láser (3), la abertura para la entrada de gas (23) y la abertura para la salida de gas (24). Como se puede ver, la abertura para la salida de gas (24) es un orificio único que en la parte interior de la

tapa tiene forma de embudo recolector, lo que permite que el gas de arrastre que transporta un aerosol que comprende material arrancado a partir de la muestra (5) pueda ser extraído de la celda de ablación (1) de una forma rápida y eficaz. De este modo se puede mejorar la resolución lateral de los análisis, lo que resulta crucial en estudios de *imaging*.

La Fig. 4 muestra una vista cenital general de la celda de ablación (1) y del sistema de refrigeración externo (16), demarcado por un rectángulo formado por una línea punteada. El sistema de refrigeración externo (16) comprende un intercambiador de calor externo (25) y unos medios de bombeo (26). Estos medios de bombeo (26) permiten llevar a cabo la circulación del fluido refrigerante (20) a través de unos conductos aislantes entre el intercambiador de calor interno (11), dispuesto en la base de la celda (4), y el intercambiador de calor externo (25). En la figura se muestran unas flechas que señalan la dirección de circulación del fluido refrigerante (20), el cual circula por el interior de unos conductos aislantes que se conectan con la base de la celda (4) mediante un sistema de conexión (15). De esta manera el fluido refrigerante (20) es enfriado por el intercambiador de calor externo (25) después de que éste haya extraído el calor del sistema de refrigeración interno (12), asegurando así que la temperatura de la muestra (5) permanece siempre constante.

La Fig. 5 muestra una vista de la celda de ablación (1) dispuesta en un sistema de ablación láser. La celda de ablación (1) comprende una tapa superior extraíble (2) con una ventana transparente al láser (3) y una base de la celda (4) donde se coloca la muestra (5) a analizar. La base de la celda (4) puede estar montada sobre un soporte metálico, no representado en la figura, que se puede mover en las tres dimensiones (x, y, z) empleando unos medios motores. De esta manera se puede posicionar con precisión la celda de ablación (1), y por lo tanto la muestra (5), dentro del sistema de ablación láser, de forma controlada. El control del movimiento de la celda de ablación (1) se puede realizar con un software implementado en un ordenador del sistema láser (6). La zona de interés en la muestra (5) se define con exactitud empleando un monitor de vídeo (7), que también puede estar controlado con un software implementado en el ordenador del sistema láser (6). El láser (8) es enfocado mediante unas lentes de enfoque (9) sobre la superficie de la muestra (5). Tras el impacto del láser (8) se forma

un aerosol con partículas procedentes de la muestra (5) que es transportado mediante un flujo de gas de arrastre (10), contenido en un tanque, a través de unas conexiones flexibles. La celda de ablación (1) dispone de un sistema de ventilación externo (27) que impulsa un fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser (3) evitando de este modo problemas de condensación. La celda de ablación (1) se puede usar en combinación con otros dispositivos como, por ejemplo, un sistema de plasma de acoplamiento inductivo con detección por espectrometría de emisión óptica o de masas, donde se introduce el aerosol generado a partir de la muestra (5) y se detecta la presencia de los diferentes elementos de interés

La **Fig. 6** muestra dos diagramas con la evolución de la temperatura de la muestra (5) en la celda de ablación (1) durante un ciclo de enfriamiento hasta alcanzar la temperatura de -20°C . En ambos diagramas (a y b) el eje de ordenadas muestra el tiempo de análisis y el eje de abscisas muestra la temperatura de la muestra (5) medida con el sensor de temperatura (21). El diagrama a) muestra la evolución de la temperatura de la muestra (5) durante los primeros 40 min de análisis y el diagrama b) la evolución de la temperatura durante 17 h. Como se puede observar en el diagrama a), la temperatura de la superficie de la muestra (5) baja en menos de 20 minutos a -20°C . Además, cabe destacar que la temperatura se mantiene estable, con una desviación de solamente $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$, a lo largo de 17 horas de análisis con el láser (8). De este modo, se puede asegurar la integridad de la muestra (5) así como que las condiciones de trabajo se mantienen constantes a lo largo de todo el análisis.

La **Fig. 7** muestra los perfiles de ablación obtenidos por LA-ICP-MS para los isótopos $^{107}\text{Ag}^{+}$ y $^{208}\text{Pb}^{+}$ en el análisis de un vidrio (SRM NIST 612) empleando la celda de ablación (1) de la invención en condiciones criogénicas y trabajando a temperatura ambiente (-20 y $+20^{\circ}\text{C}$, respectivamente). En ambos perfiles el eje de ordenadas muestra el tiempo de análisis y el eje de abscisas la intensidad medida para cada elemento en el ICP-MS. Como se puede observar en el perfil a), la señal de $^{107}\text{Ag}^{+}$ se estabiliza con una desviación estándar temporal relativa (TRSD) menor del 12% trabajando a temperatura ambiente y en condiciones criogénicas. Además, se puede indicar que la precisión (RSD para tres medidas independientes) en la medida de las relaciones isotópicas de $^{109}\text{Ag}^{+}/^{107}\text{Ag}^{+}$ está por debajo de 1,7% con una

desviación del 1,3% de la relación isotópica natural. Para el caso del $^{208}\text{Pb}^+$ (perfil b), la señal se estabiliza con un TRSD del 8% siendo la precisión en la medida de la relación isotópica $^{208}\text{Pb}^+ / ^{206}\text{Pb}^+$ por debajo de 1% (con una desviación del 2,5% de la relación isotópica natural). Cabe destacar que la celda de ablación (1) permite obtener

5 resultados comparables empleando ambas temperaturas de trabajo, en términos de precisión de las señales, exactitud en la medida de relaciones isotópicas y sensibilidad.

La **Fig. 8** muestra una representación de los tiempos de evacuación de la celda de ablación (1) para los elementos $^{59}\text{Co}^+$, $^{107}\text{Ag}^+$, $^{137}\text{Ba}^+$, $^{232}\text{Th}^+$ y $^{238}\text{U}^+$ en el análisis del vidrio SRM NIST 612 a dos temperaturas diferentes, $+20^\circ\text{C}$ y -20°C . El eje de

10 ordenadas muestra los isótopos de cada elemento medidos en el ICP-MS y el eje de abscisas el tiempo de evacuación. Las barras de error de la figura indican la desviación estándar obtenida para 10 análisis independientes. El tiempo de evacuación se define como el tiempo que necesita la señal de cada uno de los isótopos para disminuir desde su máximo valor al 10% de la señal máxima. Este factor permite

15 estudiar la rapidez con la que el aerosol generado en la celda de ablación (1) a partir de la muestra (5) abandona la celda de ablación (1) y es transportado, por ejemplo, a un equipo ICP-MS para su posterior análisis. Cuanto menor sea el tiempo de evacuación, mejor será la resolución lateral al haber una menor mezcla de la información proveniente de diferentes partes de la muestra (5). Como se puede

20 observar en la figura, para todos los elementos se obtienen menores tiempos de evacuación trabajando a -20°C . Además, la reproducibilidad es también mejor a baja temperatura, indicando las óptimas prestaciones analíticas de la celda de ablación (1) en condiciones criogénicas.

La **Fig. 9** muestra las imágenes obtenidas a $+20^\circ\text{C}$ y -20°C para la distribución espacial de varios elementos traza ($^{56}\text{Fe}^+$, $^{63}\text{Cu}^+$, $^{64}\text{Zn}^+$ y $^{127}\text{I}^+$) en un material biológico sintético empleando la celda de ablación (1) conectada a un equipo ICP-MS. Las condiciones experimentales de análisis son: 50 μm diámetro del láser (8), 20 Hz de frecuencia de repetición, 5,6 mJ de energía y 32,5 $\mu\text{m/s}$ velocidad de desplazamiento de la muestra (5). Como se puede ver en las imágenes, en todos los casos se puede

30 observar una distribución homogénea de $^{56}\text{Fe}^+$, $^{63}\text{Cu}^+$, $^{64}\text{Zn}^+$ y $^{127}\text{I}^+$ en la muestra a ambas temperaturas de trabajo: para cada elemento en estudio las imágenes de la izquierda corresponden a los análisis a -20°C y las de la derecha a $+20^\circ\text{C}$.

Comparando las intensidades obtenidas para los diferentes elementos se observa un aumento significativo en la señal de $^{127}\text{I}^+$ para los análisis realizados a -20°C . Además, cabe destacar que se obtiene una mejor resolución lateral trabajando a -20°C para todos los elementos (especialmente para el $^{64}\text{Zn}^+$) lo que indica una mejor
 5 conservación de la muestra durante el tiempo de análisis.

EXPLICACIÓN DE UNA FORMA DE REALIZACIÓN PREFERENTE

Para una mejor comprensión de la presente invención, se expone el siguiente ejemplo de realización preferente, descrito en detalle, que debe entenderse sin carácter
 10 limitativo del alcance de la invención.

EJEMPLO 1

La celda de ablación (1) fue integrada en un sistema de ablación láser acoplado a un equipo ICP-MS para llevar a cabo estudios de *imaging*. La celda de ablación (1)
 15 estaba formada por dos partes: una tapa superior extraíble (2) de un compuesto de poliamida con una ventana transparente al láser (3) y una base de la celda (4), también de un compuesto de poliamida por ser éste un compuesto con baja conductividad térmica. La tapa superior extraíble (2) se unía a la base de la celda (4) mediante una rosca. La ventana transparente al láser (3) se hizo de cuarzo con un recubrimiento
 20 exterior que permitía la transmisión de una longitud de onda electromagnética de 213 nm. La base de la celda (4) se montó sobre un soporte metálico que se puede mover en las tres dimensiones (x, y, z) empleando un sistema auxiliar motorizado. De esta manera se consiguió posicionar con precisión la celda de ablación (1), y por lo tanto la muestra (5), dentro del sistema de ablación láser. El control del movimiento de la
 25 celda de ablación (1) se realizó con un software implementado en el ordenador del sistema láser (6). La zona de interés en la muestra (5) se pudo definir con exactitud empleando un monitor de vídeo (7), controlado también con un software implementado en el ordenador del sistema láser (6). El láser (8) se enfocó mediante unas lentes de enfoque (9) sobre la superficie de la muestra (5). Tras el impacto del
 30 láser (8) se formó un aerosol con partículas procedentes de la muestra (5), el cual se

pudo transportar mediante un flujo de gas de arrastre (10), constituido por helio inerte, a través de unas conexiones flexibles hasta el sistema ICP-MS. Para llevar a cabo el análisis, el láser (8) se disparó siempre en un mismo punto aunque fue posible variar la posición de la muestra (5) en las dimensiones x e y empleando el sistema auxiliar motorizado. Ésta es la estrategia de análisis habitualmente seleccionada para hacer estudios de *imaging* y obtener una buena resolución lateral. Las condiciones experimentales de análisis fueron: 150 μm diámetro del haz láser (8), 10 Hz frecuencia de repetición, 3,5 mJ de energía y 20 $\mu\text{m/s}$ velocidad de desplazamiento de la muestra (5).

La tapa superior extraíble (2) tenía una abertura para la entrada de gas (23) y una abertura para la salida de gas (24). La abertura para la salida de gas (24) era un orificio único que en la parte interior de la tapa tenía forma de embudo recolector, lo que permitió que el gas de arrastre que transportaba el aerosol que comprendía material arrancado a partir de la muestra (5) pudiera ser extraído de la celda de ablación (1) de una forma rápida y eficaz. Como se muestra en la Fig. 8, empleando un vidrio SRM NIST 612 como muestra (5) se obtuvieron tiempos de evacuación menores de 4 segundos para todos los analitos investigados ($^{59}\text{Co}^+$, $^{107}\text{Ag}^+$, $^{137}\text{Ba}^+$, $^{232}\text{Th}^+$ y $^{238}\text{U}^+$), trabajando en condiciones de baja temperatura. De este modo se pudo mejorar la resolución lateral de los análisis empleando baja temperatura y una abertura para la salida de gas (24) con forma de embudo recolector, lo que resulta crucial en estudios de *imaging*.

En la base de la celda (4) se dispuso un intercambiador de calor interno (11) de aluminio en forma de serpentín, un sistema de refrigeración interno (12) materializado con 8 elementos Peltier distribuidos homogéneamente de forma anular, una placa refrigeradora (13) de cobre dispuesta sobre el sistema de refrigeración interno (12), un portamuestras (14) de vidrio sobre la placa refrigeradora (13), un sistema de conexión (15) en forma de racores entre el intercambiador de calor interno (11) y el sistema de refrigeración externo (16), y una ventana transparente a la luz (17) dispuesta en la parte inferior de la base de la celda (4). Además, entre el sistema de refrigeración interno (12) y la placa refrigeradora (13) se dispuso una placa aislante (19) de un compuesto de poliamida que tiene la función de aislar las dos caras de los 8 elementos

Peltier con el fin de que no existiese convección entre ambas en las zonas de borde, incrementando de esta manera la eficiencia del conjunto. De esta manera, el sistema de refrigeración interno (12) permitió alcanzar temperaturas en la muestra (5) de hasta -20°C, lo que aseguraba la integridad de la muestra (5) durante el análisis. Además, para el buen funcionamiento del sistema de refrigeración interno (12) se empleó un serpentín de aluminio como intercambiador de calor interno (11). Un fluido refrigerante (20), formado por polipropilenglicol, circulaba a través del intercambiador de calor interno (11) proporcionando un foco frío a los 8 elementos Peltier para un funcionamiento más eficaz de los mismos. El sistema de conexión (15) de racores metálicos permitió la circulación del fluido refrigerante (20) entre el intercambiador de calor interno (11) y el sistema de refrigeración externo (16).

El sistema de refrigeración externo (16) comprendía un intercambiador de calor externo (25) materializado en un elemento Peltier y unos medios de bombeo (26) materializados mediante una bomba hidráulica de impulsión radial controlada electrónicamente. Estos medios de bombeo (26) permitieron llevar a cabo la circulación del fluido refrigerante (20) a través de unos conductos aislantes entre el intercambiador de calor interno (11) y el intercambiador de calor externo (25). El fluido refrigerante (20) circulaba a través del intercambiador de calor interno (11) proporcionando un foco frío a los 8 elementos Peltier y para enfriar de nuevo este fluido refrigerante (20) se hacía llegar el mismo al intercambiador de calor externo (25).

Se empleó como sensor de temperatura (21) un termopar en contacto directo con la superficie de la muestra (5) para controlar y poder ajustar así la temperatura de análisis. Los medios de control de la temperatura (22) estaban constituidos por un software que recogía y trataba señales digitales capturadas por el sensor de temperatura (21) y enviaba señales de control digitales tanto a los Peltier del sistema de refrigeración interno (12) como al Peltier y la bomba del sistema de refrigeración externo (16). Empleando este sistema de refrigeración controlado en la celda de ablación (1) se pudo llevar a cabo un enfriamiento rápido de la muestra (5). Como se recoge en la Fig. 6, la temperatura de la superficie de la muestra (5) bajó en menos de

20 minutos a -20°C . Además, esta temperatura se mantuvo estable, con una desviación de $\pm 0,2^{\circ}\text{C}$, a lo largo de 17 horas de análisis con el láser (8).

5 Para un correcto funcionamiento de la celda de ablación (1), se empleó un sistema de ventilación externo (27) que impulsaba un fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser (3). El sistema de ventilación externo (27) consistió en un ventilador accionado por un motor eléctrico. Este sistema de ventilación externo (27) permitió mantener unas condiciones óptimas de trabajo eliminando los fenómenos de condensación sobre la ventana transparente al láser al trabajar a baja temperatura.

REIVINDICACIONES

1. Celda de ablación que comprende:

- 5 - una tapa superior extraíble (2) que permite la disposición de una muestra (5) dentro de la celda de ablación (1) que a su vez comprende una ventana transparente al láser (3), una abertura para la entrada de gas (23) de arrastre y una abertura para la salida de gas (24) de arrastre;
- 10 - una base de la celda (4) que a su vez comprende en su interior un intercambiador de calor interno (11), un sistema de refrigeración interno (12), una placa refrigeradora (13) sobre el sistema de refrigeración interno (12), un portamuestras (14) sobre la placa refrigeradora (13), un sistema de conexión (15) del intercambiador de calor interno (11) y el sistema de refrigeración externo (16) y una ventana transparente a la luz (17);
- 15 - un sistema de refrigeración externo (16) que a su vez comprende un intercambiador de calor externo (25) y unos medios de bombeo (26) de un fluido refrigerante (20) que permiten llevar a cabo la circulación del fluido refrigerante (20) a través del intercambiador de calor interno (11) de la base de la celda (4) y del intercambiador de calor externo (25);
- 20 - un sensor de temperatura (21) de la muestra (5);
- un sistema de ventilación externo (27) que impulsa un fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser (3) de la tapa superior extraíble (2);
- unos medios de control de temperatura (22).

2. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la tapa superior extraíble (2) y la base de la celda (4) son de un material aislante térmico.

25 3. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la ventana transparente al láser (3) comprende un cristal de cuarzo.

4. Sistema según la reivindicación 3 caracterizado por que el cristal de cuarzo permite la transmisión de una longitud de onda electromagnética en el rango comprendido entre 1064 nm y 193 nm.
- 5 5. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la abertura para la entrada de gas (23) de arrastre consiste en un orificio único.
6. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la abertura para la entrada de gas (23) de arrastre consiste en cuatro orificios de entrada.
7. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la abertura para la salida de gas (24) de arrastre consiste en un orificio único.
- 10 8. Sistema según la reivindicación 7 caracterizado por que el orificio único tiene forma de embudo recolector.
9. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la abertura para la salida de gas (24) consiste en cuatro orificios de salida.
- 15 10. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el intercambiador de calor interno (11) es un serpentín.
11. Sistema según la reivindicación 10 caracterizado por que el serpentín es de un material conductor térmico.
12. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el sistema de refrigeración interno (12) comprende al menos 4 elementos Peltier.
- 20 13. Sistema según la reivindicación 12 caracterizado por que además comprende una placa aislante (19) de un material aislante térmico que separa térmicamente la cara fría y la cara caliente de los elementos Peltier.
14. Sistema según la reivindicación 2 ó 13 caracterizado por que el material aislante térmico es un compuesto de poliamida.
- 25 15. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la placa refrigeradora (13) es de un material conductor térmico.

16. Sistema según la reivindicación 11 ó 15 caracterizado por que el material conductor térmico es metal o una aleación de metales.
17. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el portamuestras (14) es de vidrio.
- 5 18. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el sistema de conexión (15) comprende unos racores.
19. Sistema según la reivindicación 18 caracterizado por que los racores son de metal o una aleación de metales.
20. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que la ventana transparente a la luz (17) es un vidrio difusor.
- 10 21. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el intercambiador de calor externo (25) comprende elementos Peltier.
22. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el fluido refrigerante (20) es polipropilenglicol.
- 15 23. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el fluido refrigerante (20) es aceite de silicona.
24. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el sensor de temperatura (21) es un termopar.
25. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el sensor de temperatura (21) es un pirómetro.
- 20 26. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que además comprende unos medios de iluminación externos (18) que iluminan la muestra (5) a través de la ventana transparente a la luz (17).
27. Sistema según la reivindicación 26 caracterizado por que los medios de iluminación externos (18) comprenden un diodo emisor de luz
- 25

28. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el sistema de ventilación externo (27) comprende un ventilador accionado por unos medios motores.
- 5 29. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el sistema de ventilación externo (27) comprende una cámara a presión que contiene el fluido de ventilación, una conducción que conduce el fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser (3) y unos medios valvulares para regular la salida del fluido de ventilación.
- 10 30. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que el sistema de ventilación externo (27) comprende un compresor que comprime el fluido de ventilación, una conducción que conduce el fluido de ventilación sobre la ventana transparente al láser (3) y unos medios valvulares para regular la salida del fluido de ventilación.
- 15 31. Sistema según la reivindicación 1 caracterizado por que los medios de control de temperatura (22) recogen y tratan señales analógicas o digitales capturadas por el sensor de temperatura (21) y envían señales de control analógicas o digitales al sistema de refrigeración interno (12).
- 20 32. Sistema según la reivindicación 31 caracterizado por que los medios de control de la temperatura (22) además envían señales de control al sistema de refrigeración externo (16).
33. Sistema según las reivindicaciones 12 ó 21 caracterizado por que los medios de control de temperatura (22) recogen y tratan señales analógicas o digitales capturadas por el sensor de temperatura (21) y envían señales de control analógicas o digitales a los elementos Peltier.
- 25 34. Sistema según la reivindicación 31, 32 ó 33 caracterizado por que el tratamiento de las señales analógicas o digitales se realiza mediante bloques funcionales de programa o programas de software.

35. Sistema según la reivindicación 31, 32 ó 33 caracterizado por que el tratamiento de las señales analógicas o digitales se realiza mediante algoritmos implementados en un ordenador.

FIG. 1

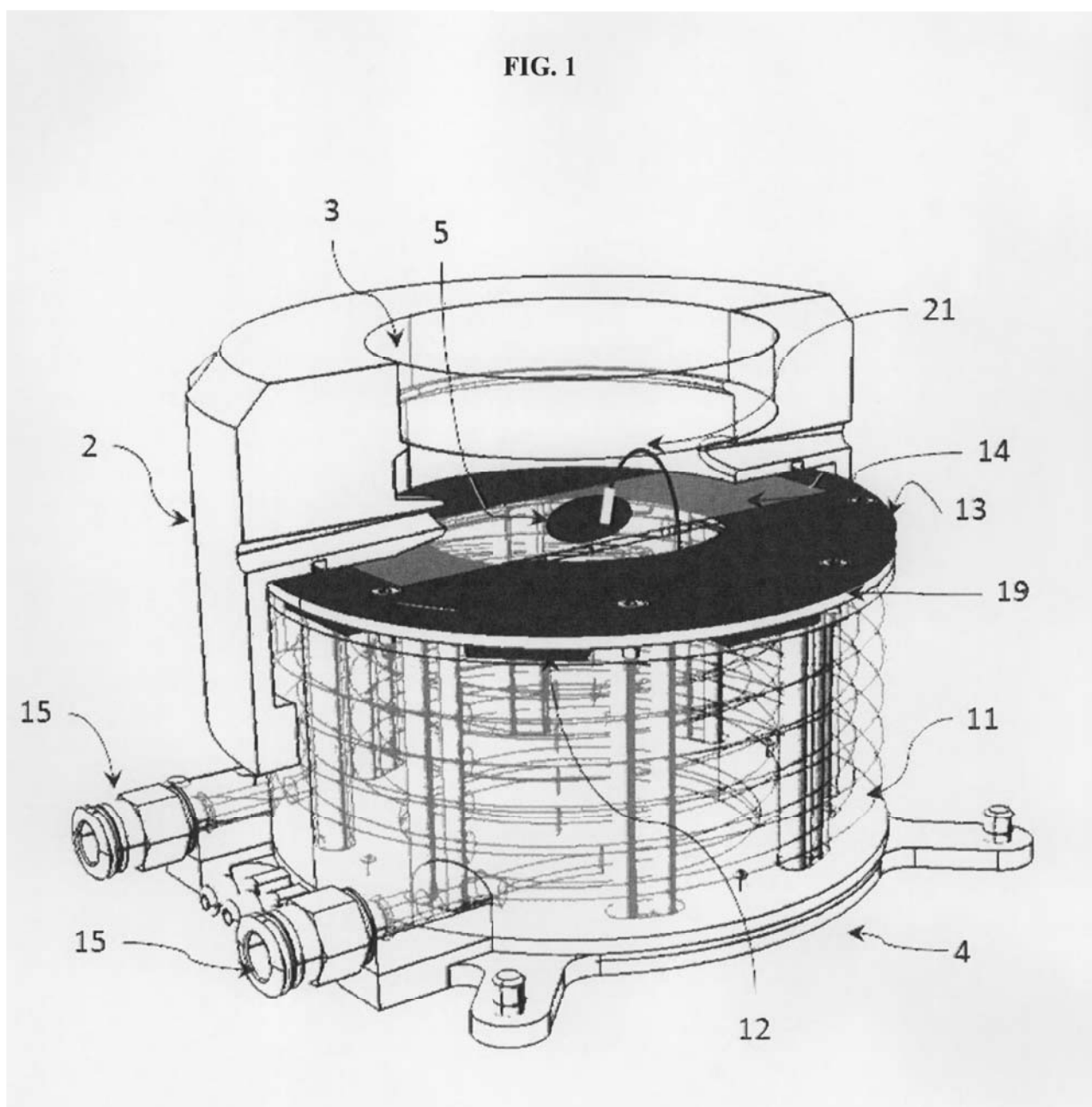


FIG. 2

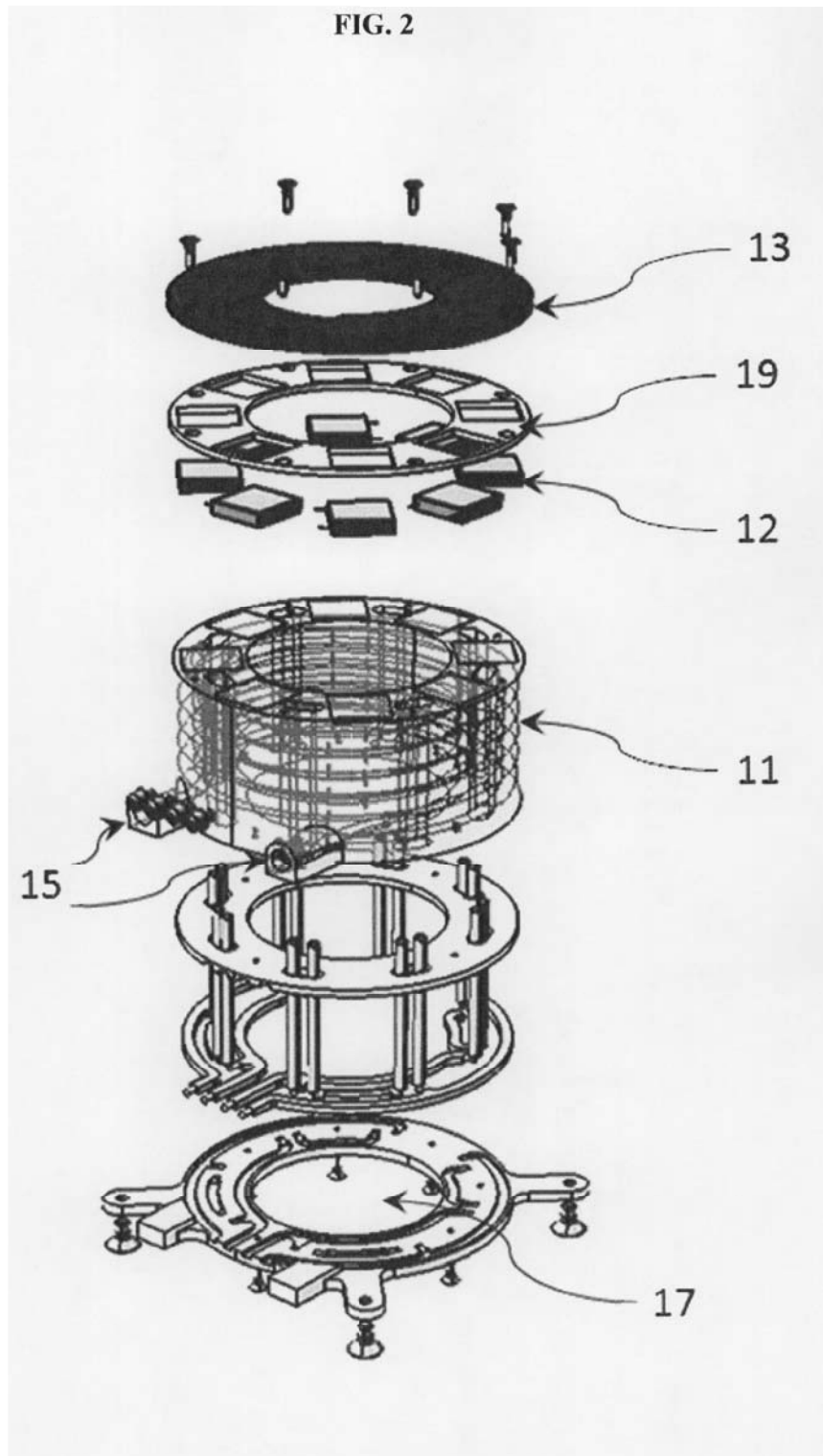


FIG. 3

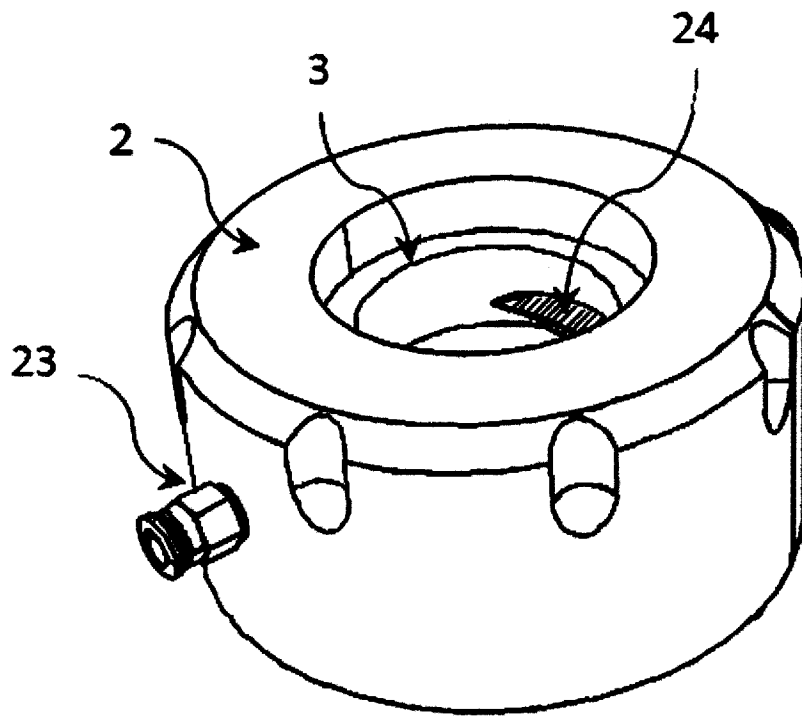


FIG. 4

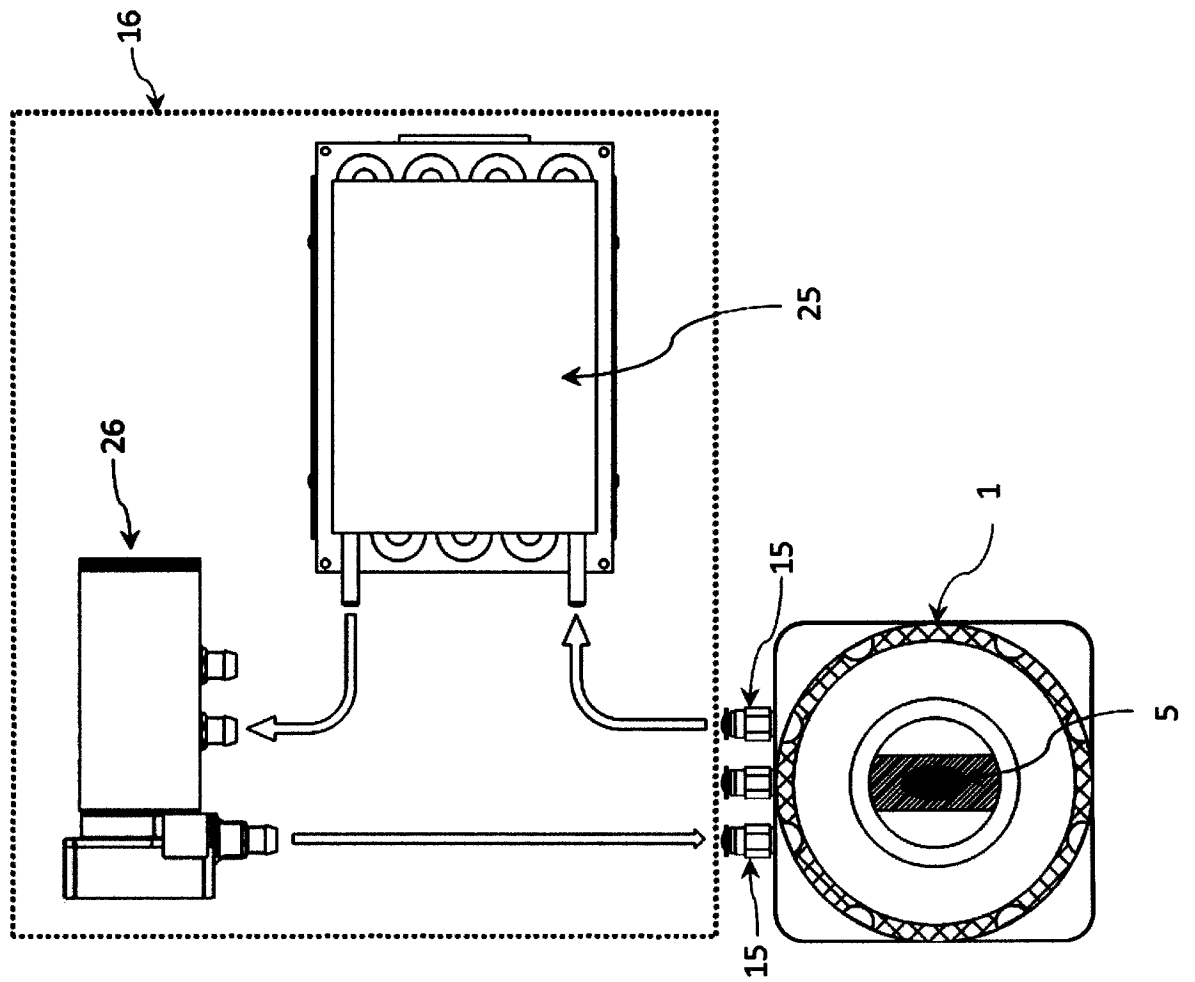


FIG. 5

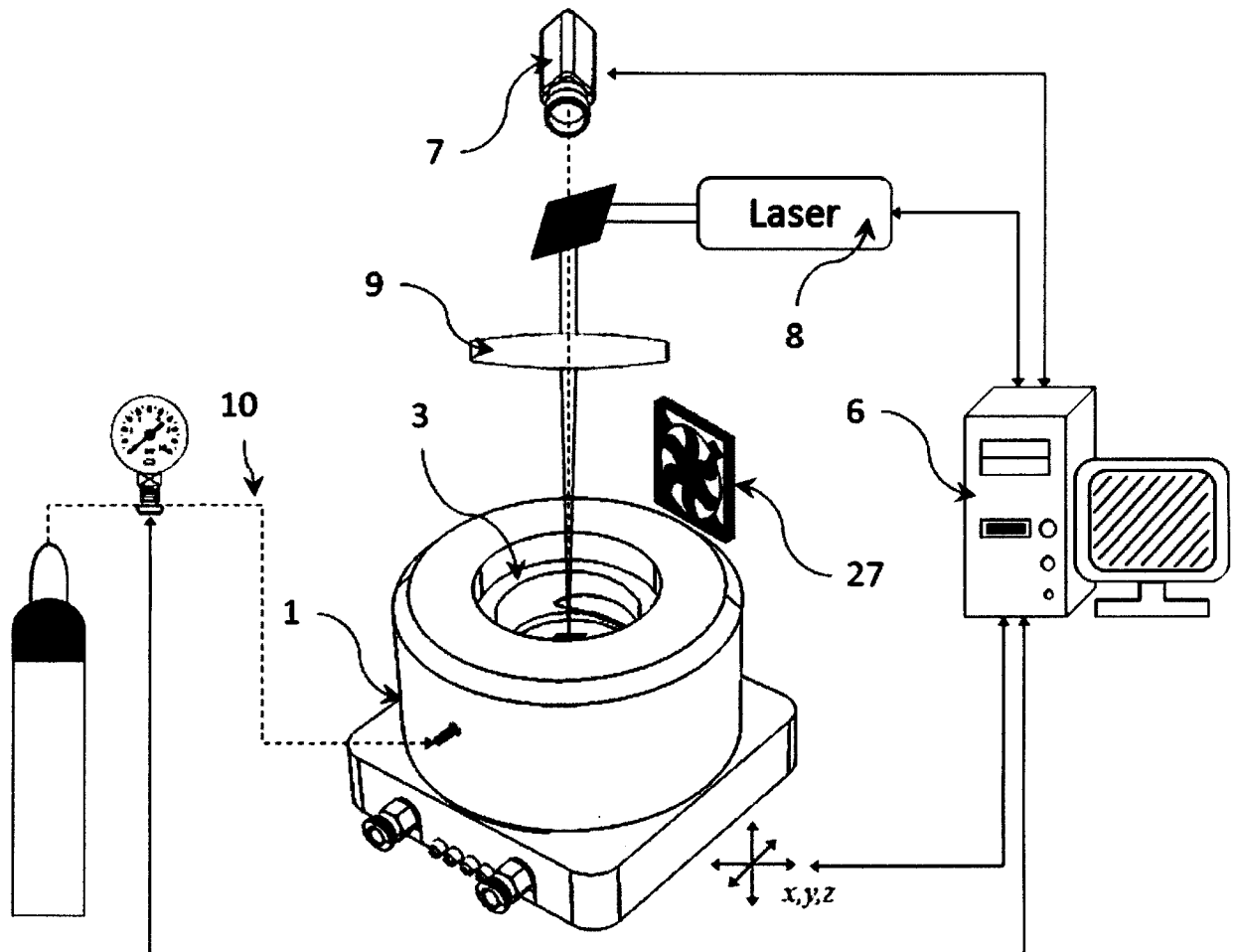


FIG. 6

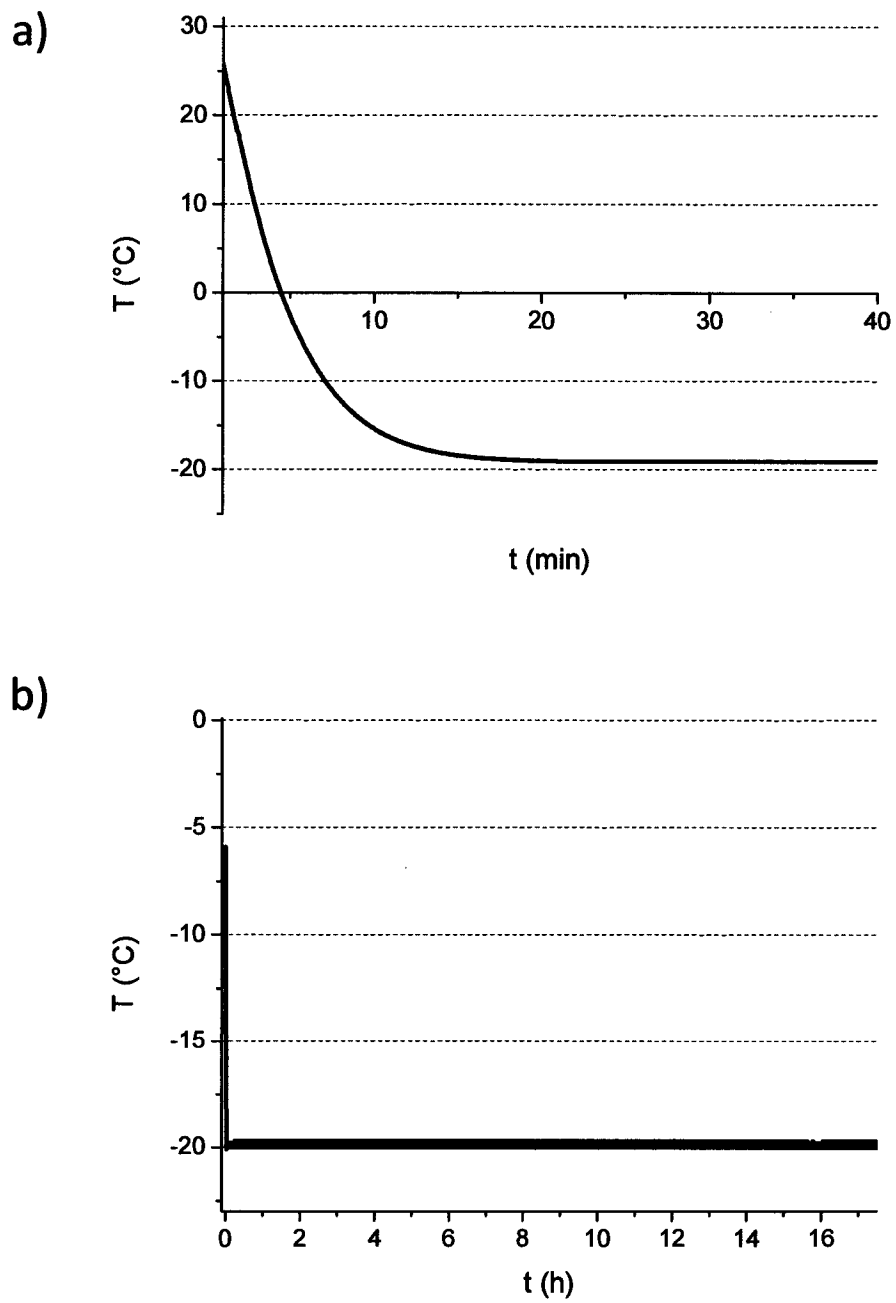


FIG. 7

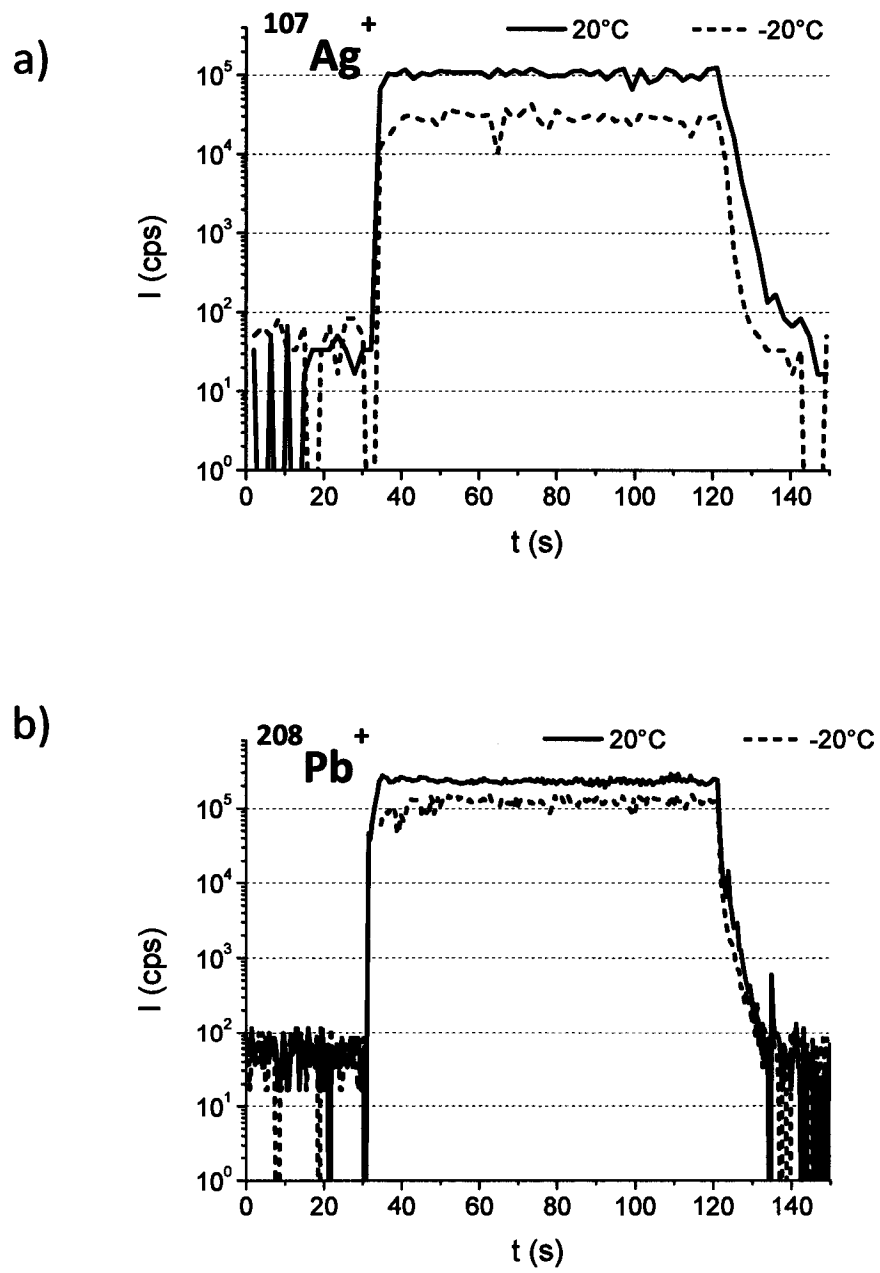


FIG. 8

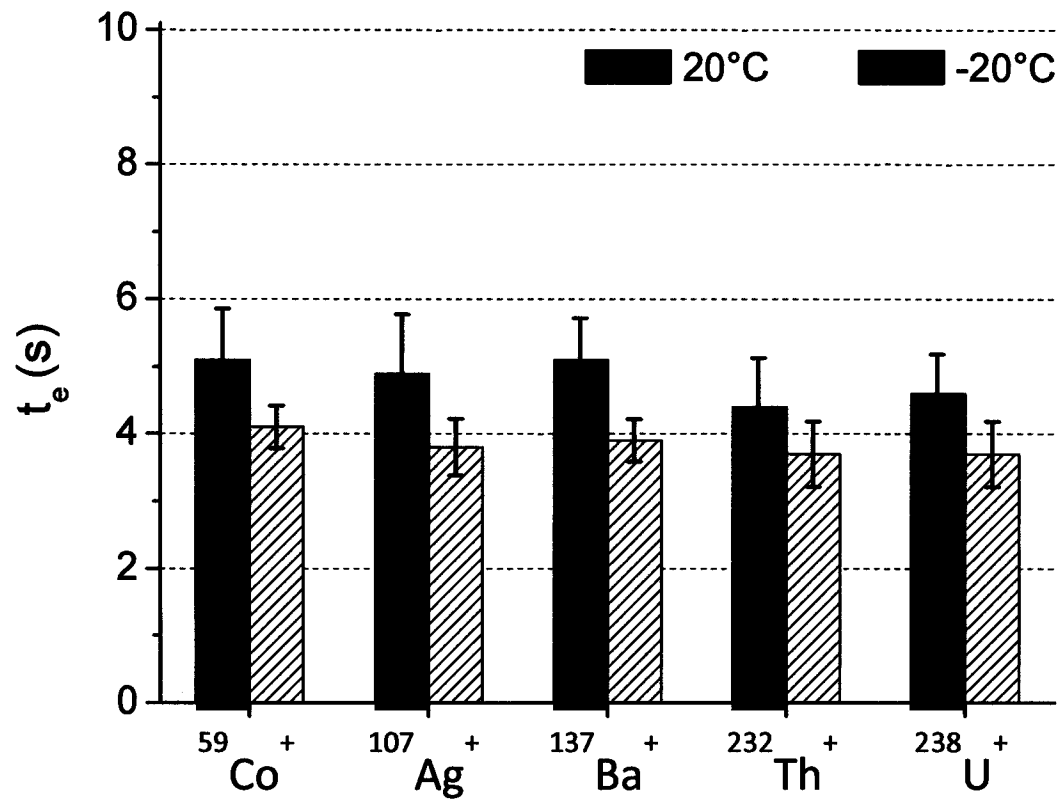
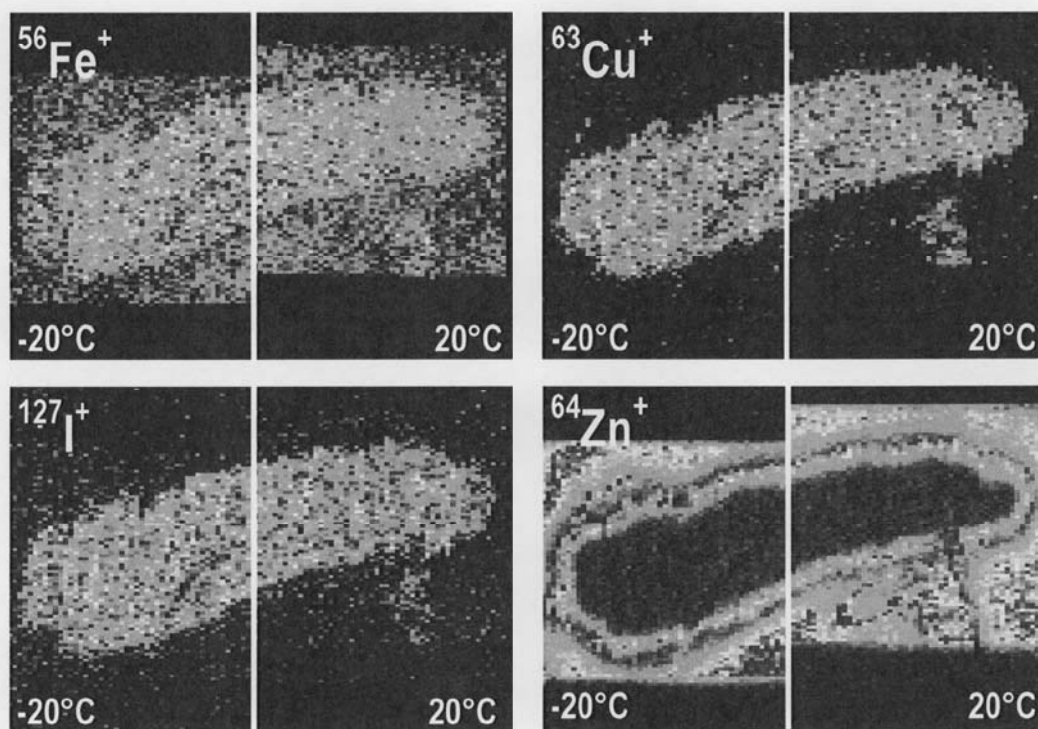


FIG. 9





OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201300559

②② Fecha de presentación de la solicitud: 07.06.2013

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N27/62** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 20040045497 A1 (KRIEWS) 11.03.2004, resumen; párrafos [0010]-[0013],[0015]-[0016],[0019]-[0021],[0032]-[0033],[0038]-[0042]; reivindicaciones 1,3,5,7,8; figuras 1,7,9.	1-35
A	WO 2006106265 A1 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR) 12.10.2006, resumen; página 4, líneas 16-23,32-35; página 5, líneas 1-26; página 7, líneas 28-35; página 8, líneas 4-9; reivindicación 1.	1-35
A	US 20120104244 A1 (UNIVERSITY OF NORTH TEXAS) 03.05.2012, todo el documento.	1-35
A	US 20120074307 A1 (SABINE BECKER AND AGMAR SALBER) 29.03.2012, resumen; párrafos [0014]-[0019]; figuras 1a;1b.	1-35
A	WO 2006076817 A1 (EMPA, EIDGENÖSSISCHE MATERIALPRÜFUNGS- UND FORSCHUNGSANSTALT) 27.07.2006, todo el documento.	1-35

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
30.09.2013

Examinador
M. J. García Bueno

Página
1/5

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

F25B, 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, GOOGLE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 30.09.2013

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-35	SI
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-35	SI
	Reivindicaciones	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 20040045497 A1 (KRIEWS)	11.03.2004
D02	WO 2006106265 A1 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET UNIVERSITE DE PAU ET DES PAYS DE L'ADOUR)	12.10.2006
D03	US 20120104244 A1 (UNIVERSITY OF NORTH TEXAS)	03.05.2012
D04	US 20120074307 A1 (SABINE BECKER AND AGMAR SALBER)	29.03.2012
D05	WO 2006076817 A1 (EMPA, EIDGENÖSSISCHE MATERIALPRÜFUNGS- UND FORSCHUNGSANSTALT)	27.07.2006

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

La presente solicitud de invención consiste en una celda de ablación que comprende una tapa superior extraíble, una base de la celda, un sistema de refrigeración externo, un sensor de temperatura de la muestra, un sistema de ventilación externo y unos medios de control de temperatura.

La tapa superior extraíble comprende una ventana transparente al láser, una abertura para la entrada de gas de arrastre y otra abertura para la salida de dicho gas.

La base de la celda comprende un intercambiador de calor interno, un sistema de refrigeración interno, una placa refrigeradora, un porta muestras, un sistema de conexión del intercambiador de calor interno y el sistema de refrigeración externo y una ventana transparente a la luz.

Además, el sistema de refrigeración externo comprende un sistema de intercambiador de calor externo y medios de bombeo de un fluido refrigerante (reivindicaciones 1-35).

El documento D01 se considera el más representativo del estado de la técnica y consiste en una celda de ablación con una tapa superior extraíble de material aislante que comprende una ventana transparente al láser de cristal de cuarzo que permite la transmisión de una longitud de onda electromagnética de 1064 nm, una abertura para la entrada de gas de arrastre y una abertura para la salida de dicho gas.

El sistema de ablación divulgado en el documento también comprende una base de la celda que comprende un intercambiador de calor en forma de serpentín de material conductor térmico, un sistema de refrigeración, una placa refrigeradora, un portamuestras, y un sistema de conexión del intercambiador de calor con el sistema de refrigeración (ver resumen, párrafos [0010]-[0013], [0015]-[0016], [0019]-[0021], [0032]-[0033], [0038]-[0042], reivindicaciones 1, 3, 5, 7, y 8, y figuras 1, 7 y 9).

El fluido refrigerante utilizado es aceite de silicona (ver párrafo [0013]).

El documento D02 consiste en un aparato laser de análisis directo para el microanálisis de muestras, que comprende una cámara de ablación con una ventana óptica, un orificio de entrada del gas de arrastre y un orificio de salida, unos medios de enfoque y un porta muestras entre otros (ver resumen, página 4, líneas 16-23 y 32-35, página 5, líneas 1-26, página 7, líneas 28-35, página 8, líneas 4-9, y reivindicación 1).

El documento D03 consiste en un sistema LA-ICP-MS para muestras refrigeradas antes del análisis (ver todo el documento).

El documento D04 consiste en una cámara de ablación por láser adecuada para su uso en una unidad de disección micro asistida por láser convencional (ver resumen, párrafos [0014]-[0019] y figuras 1a y 1b).

El documento D05 consiste en un dispositivo para el análisis de la ablación por láser que comprende una boquilla giratoria que gira alrededor de un eje de rotación. El gas de arrastre se expulsa a la cámara de ablación y su trayectoria es helicoidal asegurando un buen lavado de la cámara y aumentando el porcentaje de partículas sometidas a la ablación en el analizador (ver todo el documento).

1.- NOVEDAD (Art. 6.1 Ley 11/1986) Y ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 8.1 Ley 11/1986).

La presente solicitud de invención difiere de los documentos D01-D05 en que los sistemas de ablación divulgados no comprenden los sensores y medios de control de temperatura, ni una ventana transparente a la luz en la base de la celda.

Dichas características implican un efecto mejorado comparado con el estado de la técnica, ya que el control exacto y continuo de la temperatura de las muestras de tejidos es un aspecto crucial para asegurar la integridad de la muestra durante el análisis siendo los resultados más exactos y precisos, y, por otro lado, la iluminación de la muestra mejora con la ventana en la zona de la base de la celda consiguiendo así una buena resolución lateral y una mejor distinción de las microestructuras.

Además, no se considera obvio que un experto en la materia obtenga la invención a partir de los documentos mencionados anteriormente.

Por lo tanto se considera que las reivindicaciones 1-35 son nuevas e implican actividad inventiva en el sentido de los artículos 6.1 y 8.1 Ley 11/1986.