

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 776 702**

21 Número de solicitud: 201930073

51 Int. Cl.:

G01N 29/12 (2006.01)

G01N 33/48 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

31.01.2019

43 Fecha de publicación de la solicitud:

31.07.2020

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC) (100.0%)**

**Serrano 117
28006 Madrid ES**

72 Inventor/es:

**RUZ MARTÍNEZ, José Jaime;
MALVAR VIDAL, Óscar;
GIL-SANTOS, Eduardo;
CALLEJA GÓMEZ, Montserrat y
TAMAYO DE MIGUEL, Francisco Javier**

74 Agente/Representante:

ESCUDEO PRIETO, Nicolás

54 Título: **MÉTODO Y SISTEMA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PARTÍCULAS BASADO EN MEDICIONES MULTIFRECUENCIA DE PLACAS RESONANTES**

57 Resumen:

Método y sistema para la identificación de partículas basado en mediciones multifrecuencia de placas resonantes.

La invención se refiere a un método de identificación de adsorbato depositados sobre placas resonantes, donde dicho método comprende la realización de los siguientes pasos: i) se calcula una masa y posición candidatas del adsorbato, despreciando el efecto de rigidez a partir de la medición de las frecuencias de la placa y del previo conocimiento de la masa de la placa; ii) se utilizan los valores calculados como punto inicial para calcular los valores finales de masa, posición del adsorbato y los distintos coeficientes de rigidez a partir de la medida de las frecuencias de la placa; iii) se comparan los valores de la masa candidata del adsorbato y de los coeficientes calculados con un conjunto de valores de referencia previamente almacenados, correspondientes a un catálogo de adsorbato conocidos; se identifica el adsorbato depositado en la placa como aquél perteneciente al catálogo que presenta mayor similitud con los valores obtenidos.

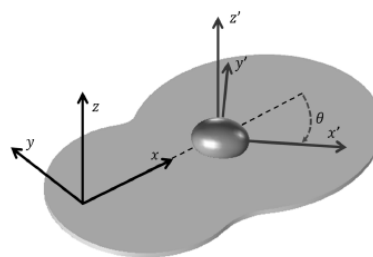


FIG. 1

DESCRIPCIÓN**MÉTODO Y SISTEMA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE PARTÍCULAS BASADO EN MEDICIONES MULTIFRECUENCIA DE PLACAS RESONANTES****CAMPO DE LA INVENCION**

5

La presente invención se enmarca en el campo técnico correspondiente a las tecnologías de identificación de partículas de tamaño micro y nanométrico, mediante procedimientos de medida y caracterización indirecta. Más concretamente, la invención se refiere a un método y a un sistema para identificar y clasificar partículas individuales, a partir de los cambios en las diferentes frecuencias de resonancia de estructuras de tipo placa delgada sobre las que se depositan. Estos cambios en las frecuencias de resonancia de las placas son producidos por la adsorción de la partícula a detectar sobre su superficie.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

La resistencia que un cuerpo determinado ofrece a las deformaciones depende de diferentes factores, entre ellos principalmente del módulo de Young, así como de la forma y el tipo de deformación experimentada. Este hecho sugiere la posibilidad de estudiar e identificar partículas individuales deformándolas de diferentes maneras y observando la resistencia que ofrecen a la deformación ejercida. La información que se obtiene de la partícula al deformarla puede ser extremadamente valiosa en determinadas escalas, tales como la escala nanométrica. Por ejemplo, se sabe que los organismos biológicos, como los virus, varían su rigidez según su estado de maduración. También algunos estudios indican que las células cancerosas y metastásicas son más blandas que las células sanas, lo que las ayuda a migrar a otras partes del cuerpo más fácilmente. Se sabe, asimismo, que el virus de la inmunodeficiencia humana, por ejemplo, reduce su rigidez durante el proceso de maduración, como un mecanismo de activación para la infección. Estos son algunos ejemplos de la importancia de la rigidez en las entidades biológicas pero, por supuesto, hay muchos más.

20

25

30

A este contexto, la detección e identificación de especies se ha convertido actualmente en un campo muy activo en múltiples áreas de investigación, tales como la química, la biología o las ciencias ambientales, así como en medicina, seguridad y salud. Durante las últimas décadas, la espectrometría de masas (EM) ha ido ganando popularidad y ahora es claramente la principal herramienta para la identificación de especies en una muestra. Así, como consecuencia del potencial de esta técnica, se han desarrollado numerosas variantes

35

de la EM para satisfacer diferentes necesidades y, actualmente, la cantidad de aplicaciones de la EM es mayor que nunca y sigue creciendo.

Los espectrómetros de masas necesitan fragmentar e ionizar grandes conjuntos
5 moleculares en otros más pequeños que posteriormente se detectan, obteniéndose información sobre la relación masa-carga de cada fragmento individual. El resultado es un espectro de masa/carga que puede analizarse y compararse con una base de datos, para conocer la composición de la muestra original y permitir su identificación. La EM tiene una resolución realmente alta y una buena eficiencia para especies con masas relativamente
10 pequeñas. Sin embargo, medir grandes partículas constituye un verdadero desafío para esta técnica, porque dichas partículas pueden adquirir estados de carga muy diferentes, ampliando los picos del espectro obtenido y haciéndolo muy complejo y, por tanto, difícil de interpretar. Además, los detectores comúnmente utilizados en este campo, como son las placas de microcanales, tienen eficiencias de detección bajas para iones de alta masa. En
15 este sentido, los sistemas nanoelectromecánicos (NEMS) se han propuesto recientemente como una nueva variante de espectrometría de masas que supera el problema de la medición de partículas grandes. Los sensores basados en NEMS se han desarrollado y estudiado durante décadas y se han propuesto en la literatura con muchas formas y aplicaciones diferentes, demostrando su potencial como sensores de masa ultrasensibles
20 con resolución de masas sin precedentes. El principio de funcionamiento principal de los NEMS como sensores de masa es que, cada vez que una partícula se deposita en su superficie, sus frecuencias de resonancia se modifican en una cantidad que es proporcional a la masa del analito. Este efecto es completamente independiente del estado de carga de la partícula, lo que hace que la EM basada en NEMS sea muy adecuada para medir
25 partículas de carga neutra, como virus o células bacterianas cercanas a su estado nativo, ya que una fuerte ionización podría causar cambios importantes en su estructura biológica. Otra ventaja de esta técnica es que los resultados son mucho más fáciles de interpretar, ya que miden directamente la masa de las partículas y no el espectro de masa-carga.

30 Además de la masa, se ha demostrado que los NEMS también se pueden utilizar para obtener información sobre la rigidez del analito que se relaciona con su estructura interna y su composición. Es evidente que este hecho mejorará el potencial de la EM basada en NEMS porque la posibilidad de la extracción de dos coordenadas ortogonales (masa y rigidez) mejorará notablemente la capacidad de distinción de los sistemas de detección
35 basados en esta técnica. En este sentido, algunos resonadores de tipo palanca o “cantiléver” (de su término en inglés) ya se han utilizado como detectores de la

espectrometría nanomecánica de masa y rigidez (MS-NS), con los que se ha medido con éxito, por ejemplo, el módulo de Young de bacterias *E. coli*.

Como se ha mencionado, la información sobre la rigidez del analito es muy útil y claramente supone una mejora potencial para las técnicas de EM conocidas. En este ámbito, la técnica más utilizada para estudiar la rigidez de una muestra es la microscopía de fuerza atómica. Sin embargo, esta técnica es tediosa, ya que consume mucho tiempo y es realmente invasiva. Por lo tanto, en el campo de la invención se plantea actualmente la necesidad de desarrollar nuevos métodos que permitan deformar partículas de tamaño nanométrico de forma controlable, confiable, rápida y no invasiva, extrayendo toda la información posible de dicha deformación, con fines de identificación y caracterización de las citadas partículas.

La presente invención proporciona una solución a dicha necesidad, mediante un novedoso método para la identificación de partículas basado en el cambio en la frecuencia de diferentes modos de vibración de una placa debido a la rigidez de la partícula adsorbida. El método es completamente válido para cualquier geometría de la placa y para cualquier modo de vibración, dentro o fuera del plano, y abre la puerta a nuevas aplicaciones en espectrometría de entidades biológicas, así como a la identificación de nanopartículas con excelente precisión. La invención propone, así, una técnica general para la identificación precisa de partículas, basada en los cambios de frecuencia de los diferentes modos de vibración de las placas debido a la masa y la rigidez de la partícula adsorbida. Además, la técnica se puede usar de manera muy efectiva incluso para distinguir partículas con la misma masa y módulo de Young, pero con una forma diferente, proporcionando por tanto una herramienta nueva y poderosa para el estudio de la rigidez de entidades biológicas individuales, así como para la identificación precisa de partículas en espectrometría nanomecánica.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LA INVENCION

Un primer objeto de la presente invención se refiere, tal y como se ha descrito en el apartado precedente, a un método de identificación de un adsorbato (expresión que se utilizará en adelante para designar cualquier partícula o sustancia que se desee identificar) de masa M_a , depositado sobre una placa de masa M_p , donde dicha placa comprende un conjunto de modos de vibración y donde, para dichos modos, su frecuencia de resonancia f_0 correspondiente se ve desplazada una cierta cantidad Δf al depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma.

Ventajosamente, dicho método comprende la realización de los siguientes pasos:

- se calcula una masa y una posición candidatas del adsorbato a partir de la medición del cambio en frecuencia de una pluralidad de modos de vibración de la placa y previo conocimiento de la masa de la placa M_p . En este primer paso se desprecia, preferentemente, el efecto de la rigidez de tal manera que el cambio Δf viene dado en la forma:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \frac{M_a}{M_p} (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2);$$

donde $\hat{u}$ y $\hat{v}$ son los desplazamientos adimensionales a lo largo de un sistema de ejes en el plano de la placa, y $\hat{w}$ el desplazamiento adimensional a lo largo del eje perpendicular al plano de la placa.

- se utilizan los valores calculados como punto inicial para calcular los valores finales de masa M'_a , posición del adsorbato y los distintos coeficientes de rigidez γ' dependientes de las propiedades mecánicas y de la geometría del adsorbato y de la geometría de la placa a partir de la medición del cambio en frecuencia de varios modos de vibración de la placa (en este caso no se desprecia la rigidez) y usando la energía de deformación U_a del adsorbato en función del tensor de deformación en la posición de adsorción, $\varepsilon_{xx,yy,xy}(x_0, y_0)$, obtenido a partir del desplazamiento ($\hat{u}$, $\hat{v}$, $\hat{w}$) en el plano (x, y) definido por la placa para un subconjunto de modos resonantes, , en la forma:

$$U_a = \gamma'_x \varepsilon_{xx}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_y \varepsilon_{yy}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_{xxyy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) + \gamma'_{xy} \varepsilon_{xy}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_{xxxy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0) + \gamma'_{yyxy} \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0);$$

- se comparan los valores de la masa candidata del adsorbato M'_a y de los coeficientes γ' calculados en el paso anterior con un conjunto de valores de referencia $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$ que se calculan a partir de la transformación al sistema de referencia de la placa de unos valores previamente almacenados, correspondientes a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa con una determinada orientación en un plano de referencia (x', y');

- se identifica el adsorbato depositado en la placa como aquél perteneciente al catálogo cuyos valores M'_a y γ' presentan mayor similitud con los valores $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$.

Se consigue con ello un método que permite identificar tanto la masa del adsorbato depositado como su forma y orientación en el espacio tridimensional, a diferencia de otras técnicas conocidas que únicamente permiten calcular la masa, y/o proyecciones bidimensionales y, por tanto, restringidas de la forma del citado adsorbato. La presente técnica permite, por tanto, discriminar entre partículas que pueden tener distintos tamaños,

pero cuya proyección es idéntica en un plano de detección (por ejemplo, con las técnicas actuales no resultaría posible distinguir la forma de un disco de la de una placa rectangular, para el caso de una proyección en alzado).

- 5 En una realización preferente del método de la invención, se relacionan las componentes γ' medidas en el sistema de referencia de la placa, con las componentes γ medidas en el sistema de referencia del adsorbato (las que aparecen en el catalogo) que está rotado un ángulo θ en torno al eje z, mediante la expresión:

$$\begin{aligned}\gamma'_x &= \gamma_x \cos^4 \theta + \gamma_y \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \gamma_{xxxxy} \cos^3 \theta \sin \theta - \gamma_{yyxy} \sin^3 \theta \cos \theta \\ \gamma'_y &= \gamma_y \cos^4 \theta + \gamma_x \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta + \gamma_{xxxxy} \cos^3 \theta \sin \theta + \gamma_{yyxy} \sin^3 \theta \cos \theta \\ \gamma'_{xy} &= (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 2\theta + (\gamma_x + \gamma_y) \sin^2 2\theta - \gamma_{xxxxy} + (\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxyy} &= \frac{1}{2}(\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \sin^2 2\theta + \gamma_{xxyy} + \frac{1}{2}(\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxxxy} &= (\gamma_x - \gamma_y + (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2}((\gamma_{xxxxy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta + (\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta) \\ \gamma'_{yyxy} &= (\gamma_x - \gamma_y - (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2}((\gamma_{xxxxy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta - (\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta).\end{aligned}$$

10

En otra realización preferente del método de la invención, los modos de vibración resonante comprenden modos de vibración fuera de plano y/o dentro del plano.

- 15 En otra realización preferente del método de la invención, se seleccionan sólo modos de vibración resonante que experimentan un cambio negativo de frecuencia con la deposición del adsorbato.

- 20 En otra realización preferente del método de la invención donde se miden $N > 2$ modos en total, y M es el conjunto de dichos modos con cambio de frecuencia negativo, para calcular la posición de adsorción en el primer paso se minimiza la siguiente función:

$$F_0 = \sum_{m \in M} \left(\frac{\delta f_m}{\sqrt{\sum_{k \in M} \delta f_k^2}} - \frac{\Phi_m^1 \Delta^1}{\sqrt{\sum_{k \in M} (\Phi_k^1 \Delta^1)^2}} \right)^2,$$

donde δf_m es el desplazamiento de la frecuencia relativa del modo m-ésimo medido experimentalmente, y donde:

$$\begin{aligned}\Phi_n &= \left[-d_n^2, \frac{\varepsilon_{xxn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{yyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}} \right], \\ \Delta &= \left[1, \frac{2M_p \gamma_x'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_y'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{xy}'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{xxyy}'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{xxxxy}'}{M_a}, \frac{2M_p \gamma_{yyxy}'}{M_a} \right],\end{aligned}$$

25

$d_n^2 = \hat{u}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{v}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{w}_n(x_0, y_0)^2$ es el cuadrado del desplazamiento total de la placa, y los valores $(x_0, y_0) \in \Omega$ que minimizan la función $F_0(x, y)$ son la primera estimación de la posición de adsorción.

En otra realización preferente del método de la invención, la comparación de los valores de la masa candidata del adsorbato M'_a y de los coeficientes γ' con el conjunto de valores de referencia $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$ se calcula mediante el estimador de similitud $I(\theta)$:

$$5 \quad I(\theta) = \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^1) (M_a^D - M_a)^2 + \sum_{i=2}^7 \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^i) \left((\gamma_i')^D - \frac{M_a}{2M_p} \Delta^i \right)^2,$$

donde el superíndice D se refiere a los valores del catálogo de adsorbatos. El valor θ que minimiza $I(\theta)$ es el valor más probable de la orientación del adsorbato.

10 En otra realización preferente del método de la invención, los adsorbatos son partículas inorgánicas, virus, bacterias, proteínas y/o células.

Un segundo objeto de la invención se refiere a un sistema de identificación de un adsorbato de masa M_a depositado en una placa de masa M_p , donde dicha placa comprende una pluralidad de modos de vibración y donde, para cada uno de dichos modos, su frecuencia de resonancia f_0 correspondiente se ve desplazada una cantidad Δf en función del desplazamiento $(\hat{u}, \hat{v}, \hat{w})$ de la placa en el modo de vibración correspondiente, al depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma, donde dicho sistema comprende:

- una o más placas;
- 20 - medios de deposición de uno o más adsorbatos sobre las placas (por ejemplo, dichos medios pueden comprender una o varias cámaras de vacío y un sistema de ionización y/o electro spray, encargado de pulverizar las muestras sobre las placas); y
- medios de medición del desplazamiento de la frecuencia de resonancia cuando se deposita el adsorbato en una de las placas, para una pluralidad de modos de vibración de las mismas (por ejemplo, dichos medios pueden comprender materiales piezoeléctricos para realizar el barrido de frecuencias y/o uno o más lazos de seguimiento de fases, o PLLs; y uno o más láseres enfocados sobre las placas, y configurados para emitir un haz sobre las mismas, que es recibido por un fotodetector y amplificado posteriormente para su lectura).

30 Ventajosamente, dicho sistema comprende medios software y hardware de registro y procesamiento de datos, configurados para la lectura de los datos generados por los medios de medición, y para el almacenamiento de un conjunto de valores de referencia $\{M_a, \gamma\}$, correspondientes a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa con una determinada orientación en un plano de referencia (x', y') , estando los medios software

y hardware configurados, adicionalmente, para la realización de un método de identificación de adsorbatos según cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

5 En una realización preferente del sistema de la invención, dicho sistema comprende un espectrómetro de masas.

Un tercer objeto de la invención se refiere a un programa de ordenador que incorpora una pluralidad de etapas de un método según cualquiera de las realizaciones del presente documento, implementables a través de los medios software y hardware de registro y
10 procesamiento de datos de un sistema según cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento.

Los objetos de la presente invención se refieren, asimismo, a los métodos, sistemas, y programa de software descritos en las reivindicaciones de la presente solicitud.
15

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 muestra un esquema de una placa con un adsorbato en la parte superior. El sistema de referencia de la placa está representado como (x, y, z) y el sistema de referencia
20 del adsorbato como (x', y', z') . Este último se gira un ángulo θ con respecto al primero.

La Figura 2 muestra geometrías de la placa de tipo palanca y seis configuraciones de adsorbato diferentes utilizadas para una prueba de concepto del método de la invención, en una realización preferente de la misma. En la figura, se ha representado también la malla
25 utilizada para los cálculos numéricos de las simulaciones FEM correspondientes.

La Figura 3 muestra simulaciones de elementos finitos de los primeros doce modos de vibración fuera del plano de la placa de tipo palanca con forma cuadrada con un coeficiente de Poisson de 0.28, así como la relación de cada frecuencia con la frecuencia fundamental
30 de la placa.

La Figura 4 muestra resultados de las identificaciones obtenidas después de aplicar el método de identificación de la invención, según una realización preferente de la misma, en función de la posición de adsorción. Las regiones más oscuras representan las posiciones
35 donde la identificación es incorrecta y las claras representan las posiciones donde la identificación es exitosa. Se puede ver que, para formas cuadradas, cúbicas y de barra, la

identificación es correcta para casi toda la placa, pero en las posiciones muy cerca de las esquinas o bordes de la placa la identificación presenta errores. Para el caso del disco, el área de identificación exitosa no resulta tan exitosa como para las otras partículas debido a la gran similitud entre los parámetros de rigidez del disco y del cuadrado.

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Como se ha descrito en el apartado correspondiente a los antecedentes de la invención, una placa de geometría arbitraria puede vibrar con modos y frecuencias muy diferentes. A la hora de clasificar estas vibraciones en diferentes categorías, se suele distinguir entre las vibraciones “fuera del plano” y las vibraciones “en el plano”. Las vibraciones fuera del plano son aquéllas para las cuales el desplazamiento principal tiene lugar perpendicularmente al plano de la placa, y donde otro tipo de desplazamientos son despreciables. Por otro lado, cuando los desplazamientos principales se producen en el mismo plano que la placa, nos referimos a un modo de vibración en el plano. La flexión y los modos torsionales de placas de tipo palanca son ejemplos de modos fuera del plano, mientras que los modos de respiración radiales de las placas de tipo disco son ejemplos de modos de vibración en el plano. Con carácter general, y tal como se muestra en la Figura 1, es posible definir un sistema de coordenadas donde las direcciones x e y están en el plano de la placa y la dirección z es perpendicular al plano de la placa. En este sistema, el desplazamiento de cada punto de la placa en las direcciones x , y y z se puede describir por un conjunto de funciones $u(x,y)$, $v(x,y)$ y $w(x,y)$, respectivamente. Para modos fuera de plano, $u(x,y)$ y $v(x,y)$ son mucho más pequeños que $w(x,y)$, pudiendo éstos ser despreciados mientras que, para los modos en el plano, $w(x,y)$ es mucho más pequeño que $u(x,y)$ y $v(x,y)$, pudiendo éste ser despreciado. Las frecuencias y las formas de los modos de vibración de la placa dependen de su geometría y de sus propiedades mecánicas. Asimismo, para un modo de vibración dado, la frecuencia correspondiente a dicho modo se puede obtener utilizando el método de Rayleigh-Ritz, que básicamente establece que la energía cinética media por ciclo de oscilación debe ser igual a la energía de deformación media por ciclo de oscilación. Cualquiera que sea la naturaleza de la oscilación, cuando una pequeña partícula se adsorbe en la superficie de la placa, surgen dos efectos diferentes:

- (i) la masa total del sistema aumenta y, por lo tanto, la frecuencia debe disminuir para mantener constante la energía cinética media por ciclo de oscilación; y
- (ii) como la partícula está en contacto con la superficie de la placa, se deforma junto con la placa y, por lo tanto, aumenta la energía de deformación media por ciclo de oscilación. Para mantener el equilibrio correcto entre las energías cinética media y de

deformación, la frecuencia del sistema debe aumentar en consecuencia. En pocas palabras, la masa de la partícula hace que la frecuencia disminuya y la rigidez de la partícula hace que la frecuencia aumente.

- 5 Teniendo en cuenta estos efectos y suponiendo que el tamaño de la partícula es mucho más pequeño que el tamaño del resonador, el cambio de frecuencia relativa se puede expresar como:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \left(\frac{T_a}{T_p} - \frac{U_a}{U_p} \right), \quad (\text{Ec. 1})$$

- 10 donde T es la energía cinética media por ciclo de oscilación, U es la energía de deformación media por ciclo de oscilación y los subíndices p y a corresponden a la placa y adsorbato, respectivamente. El efecto de la masa de partículas en las frecuencias resonantes de la placa corresponde a la parte de energía cinética de la Ecuación 1.

La energía cinética T_p de la placa se puede expresar como:

15
$$T_p = \frac{1}{2} A_n^2 \omega_n^2 M_p, \quad (\text{Ec. 2})$$

donde M es la masa, ω_n es la frecuencia angular de vibración de la placa y A_n es una amplitud arbitraria. Suponiendo que la partícula es mucho más pequeña que la placa, el desplazamiento a lo largo de la partícula se puede considerar constante, por tanto podemos expresar la energía cinética del adsorbato como:

20
$$T_a = \frac{1}{2} A_n^2 \omega_n^2 M_a (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2), \quad (\text{Ec. 3})$$

donde $\hat{u}$, $\hat{v}$ and $\hat{w}$ son el desplazamiento no dimensional del correspondiente modo de vibración y (x_0, y_0) son las coordenadas de la posición de adsorción en la placa. Usando la Ecuación 1 podemos finalmente expresar el efecto de la masa del adsorbato en la frecuencia de resonancia de la placa como:

25
$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \frac{M_a}{M_p} (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2). \quad (\text{Ec. 4})$$

- La deformación de la placa cuando ésta está vibrando se transfiere al adsorbato que está depositado en su superficie. La superficie de contacto entre el adsorbato y la placa desempeña un papel crucial en la transmisión de la deformación. La deformación implica, 30 una variación espacial de los desplazamientos y, por lo tanto, un área de contacto que es, por ejemplo, muy estrecha en x , apenas puede transferir deformación en dicha dirección x , porque los desplazamientos son constantes para todos los propósitos prácticos en un espacio tan estrecho. Ello implica que, para una superficie de contacto que es perpendicular a la dirección z , ninguna de las componentes z de la deformación será transferida al

adsorbato. Dado el estado de la deformación en el plano de la placa en la posición de adsorción $\varepsilon_{xx}(x_0, y_0)$, $\varepsilon_{yy}(x_0, y_0)$ y $\varepsilon_{xy}(x_0, y_0)$, el estado final de deformación dentro del adsorbato será proporcional sólo a estas tres cantidades. Las constantes de proporcionalidad dependerán de la geometría del adsorbato y también de la naturaleza del modo de vibración. Debido a que el grosor de la placa se considera pequeño en comparación con sus otras dimensiones, el estado mecánico de la placa se puede describir con la aproximación de la tensión plana, y la energía de deformación media de la placa se puede expresar como:

$$U_p = \frac{1}{2} \frac{E_p}{(1-\nu_p^2)} \int_{V_p} \left((\varepsilon_{xx} + \varepsilon_{yy})^2 - 2(1-\nu)(\varepsilon_{xx}\varepsilon_{yy} - \varepsilon_{xy}^2) \right) dV, \quad (\text{Ec. 5})$$

donde E y ν son el módulo de Young y el coeficiente de Poisson de un material perfectamente isotrópico. Si el material es elásticamente anisotrópico, la Ecuación 5 anterior debe transformarse de acuerdo con las relaciones tensión-deformación del material anisotrópico. La energía de tensión dentro del adsorbato es cuadrática con la deformación. Como se ha mencionado anteriormente, la deformación del adsorbato es proporcional a los componentes en el plano de las deformaciones de la placa en el punto de adsorción y, por lo tanto, una expresión general de la energía de deformación dentro del adsorbato es:

$$U_a = \gamma_x \varepsilon_{xx}(x_0, y_0)^2 + \gamma_y \varepsilon_{yy}(x_0, y_0)^2 + \gamma_{xxyy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) + \gamma_{xy} \varepsilon_{xy}(x_0, y_0)^2 + \gamma_{xxxy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0) + \gamma_{yyxy} \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0), \quad (\text{Ec. 6})$$

donde los coeficientes γ son constantes que dependen de las propiedades mecánicas y la geometría del adsorbato y de la geometría de la placa. Una característica clave de la Ecuación 6 es que los coeficientes γ son completamente independientes de la posición de adsorción y el modo de vibración y, por lo tanto, son excelentes candidatos para una identificación precisa del adsorbato, en otras palabras, conforman una “huella dactilar” de rigidez del adsorbato, que puede ser determinada experimentalmente. Sin embargo, dado que estos coeficientes dependen de la geometría del adsorbato, en un caso general, cambiarán si la orientación del adsorbato es diferente con respecto al sistema de coordenadas en el que se define el modo y, por lo tanto, las deformaciones. Así que, para conformar dicha huella dactilar de modo unívoco para el adsorbato, la orientación real debe ser resuelta. Esto se puede hacer si definimos la citada huella en un sistema de referencia fijo para el adsorbato (por ejemplo, un sistema de referencia como el mostrado en la Figura 1). Ello puede hacerse, por ejemplo, aplicando una rotación al tensor de tensión. Los nuevos coeficientes γ' medidos en el sistema de referencia de la placa están relacionados con el conjunto único de coeficientes γ definido en el sistema de referencia fijado al adsorbato de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
\gamma'_x &= \gamma_x \cos^4 \theta + \gamma_y \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \gamma_{xxx} \cos^3 \theta \sin \theta - \gamma_{yyx} \sin^3 \theta \cos \theta \\
\gamma'_y &= \gamma_y \cos^4 \theta + \gamma_x \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta + \gamma_{xxx} \cos^3 \theta \sin \theta + \gamma_{yyx} \sin^3 \theta \cos \theta \\
\gamma'_{xy} &= (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 2\theta + (\gamma_x + \gamma_y) \sin^2 2\theta - \gamma_{xxy} + (\gamma_{xxx} - \gamma_{yyx}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\
\gamma'_{xxy} &= \frac{1}{2}(\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \sin^2 2\theta + \gamma_{xxy} + \frac{1}{2}(\gamma_{xxx} - \gamma_{yyx}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\
\gamma'_{xxyy} &= (\gamma_x - \gamma_y + (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2}((\gamma_{xxx} + \gamma_{yyx}) \cos 2\theta + (\gamma_{xxx} - \gamma_{yyx}) \cos 4\theta) \\
\gamma'_{yyx} &= (\gamma_x - \gamma_y - (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2}((\gamma_{xxx} + \gamma_{yyx}) \cos 2\theta - (\gamma_{xxx} - \gamma_{yyx}) \cos 4\theta),
\end{aligned}
\tag{Ec. 7}$$

- 5 donde θ es el ángulo entre los dos sistemas de coordenadas (ver Figura 1). De este modo, el conjunto de coeficientes $\{\gamma_x, \gamma_y, \gamma_{xy}, \gamma_{xxyy}, \gamma_{xxx}, \gamma_{yyx}\}$ se utilizará en la presente invención como una huella dactilar única del adsorbato. Estudiando la Ecuación 7 anterior hay algunas consecuencias que se pueden deducir. Por ejemplo, la proyección de un adsorbato regular en el plano de la placa tiene dos líneas de simetría ortogonales (esto es una buena aproximación en el caso de la mayoría de los adsorbatos de interés) y cuando dicho adsorbato está orientado a 45 grados con respecto al sistema de coordenadas de la placa, se deben cumplir dos condiciones, (i) $\gamma'_x = \gamma'_y$ y (ii) $\gamma'_{xxy} = \gamma'_{yyx}$, y estas condiciones implican además que $\gamma_{xxx} = \gamma_{yyx} = 0$. Por lo tanto, para un adsorbato que no es extremadamente irregular, tenemos cuatro parámetros únicos $\gamma_x, \gamma_y, \gamma_{xy}$ and γ_{xxyy} , que
- 10 permitirán su identificación de forma unívoca. Los coeficientes γ_{xxx} y γ_{yyx} son, por su parte, indicativos de la irregularidad del adsorbato. Un caso aún más simple es cuando el adsorbato tiene simetría azimutal alrededor del eje z. En este caso, la Ecuación 7 debe ser independiente del ángulo de orientación y, en ese caso, $\gamma_x = \gamma_y$ y $\gamma_{xxyy} = 2\gamma_x - \gamma_{xy}$, y el número de coeficientes únicos se reduce a dos. Es evidente entonces que las cantidades
- 15 $(\gamma_x - \gamma_y)$ y $(2\gamma_x - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy})$ son coeficientes indicativos de la asimetría del adsorbato.
- 20

La presente invención permite, adicionalmente, calcular la posición de adsorción, la masa y los diferentes coeficientes de rigidez del adsorbato a partir de los cambios de frecuencia relativos de varios modos de vibración mediante cálculo numérico. No obstante, la extracción de toda la información útil de los cambios de frecuencia relativa de varios modos de vibración de una placa no es una tarea exenta de complejidad a priori, debido al elevado número de parámetros involucrados en el problema. Un problema de optimización general con una gran cantidad de variables puede involucrar, en cualquier caso, un coste computacional alto. Sin embargo, hay algunas peculiaridades que se pueden utilizar en diferentes realizaciones preferentes de la invención, para simplificar dicha optimización. Es importante notar que el cambio de frecuencia relativa tiene una dependencia lineal de todos

25

30

los parámetros del problema, excepto las coordenadas de posición (x_0, y_0) . Esto implica que la posición debe calcularse con precisión para evitar grandes incertidumbres en el resto de los parámetros. Para el tipo de adsorbatos de interés típico, el efecto de la masa es generalmente mucho mayor que el efecto de la rigidez, por lo tanto, se puede hacer una primera buena estimación de la posición de adsorción despreciando el efecto de rigidez. Ello simplifica enormemente el problema de optimización. Una vez realizada esta estimación, los parámetros de rigidez se pueden incluir posteriormente como una pequeña perturbación del problema inicial. De esta manera, se transforma el problema de optimización en subproblemas más pequeños y más simples, que pueden ser resueltos secuencialmente.

Con este objetivo, es posible definir dos vectores que se utilizarán durante el proceso:

$$\Phi_n = \left[-d_n^2, \frac{\varepsilon_{xxn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{yyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}} \right], \quad (\text{Ec. 8})$$

$$\Delta = \left[1, \frac{2M_p\gamma_x'}{M_a}, \frac{2M_p\gamma_y'}{M_a}, \frac{2M_p\gamma_{xy}'}{M_a}, \frac{2M_p\gamma_{xxy}'}{M_a}, \frac{2M_p\gamma_{xxy}'}{M_a}, \frac{2M_p\gamma_{yyxy}'}{M_a} \right], \quad (\text{Ec. 9})$$

donde $d_n^2 = \hat{u}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{v}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{w}_n(x_0, y_0)^2$ es el cuadrado del desplazamiento total.

Φ_n , por su parte, es un vector que contiene toda la información sobre el n -ésimo modo de vibración y Δ es el vector que contiene las incógnitas que estamos buscando, y es completamente independiente del modo de vibración y la posición de adsorción.

Para un ejemplo en el que estamos midiendo N modos en total y, dado que la rigidez produce cambios de frecuencia positivos y la masa produce cambios de frecuencia negativos, una buena opción para asegurar una estimación precisa es elegir sólo los modos que experimentan un cambio negativo en la frecuencia. Siendo M el conjunto de dichos modos con cambio de frecuencia negativo, para calcular la posición de adsorción, se minimiza la siguiente función:

$$F_0 = \sum_{m \in M} \left(\frac{\delta f_m}{\sqrt{\sum_{k \in M} \delta f_k^2}} - \frac{\Phi_m^1 \Delta^1}{\sqrt{\sum_{k \in M} (\Phi_k^1 \Delta^1)^2}} \right)^2, \quad (\text{Ec. 10})$$

donde δf_m es el desplazamiento de la frecuencia relativa del modo m -ésimo medido experimentalmente. Los valores $(x_0, y_0) \in \Omega$ que minimizan la función $F_0(x, y)$ son la primera estimación de la posición de adsorción. Debe notarse que el número mínimo de modos necesarios para esta primera estimación es tres, y al menos uno debe tener una variación notable a lo largo de la coordenada x y otro a lo largo de la coordenada y para resolver (x_0, y_0) correctamente. El segundo paso es incluir los términos de rigidez correspondientes a las deformaciones x , y y xy . Los otros tres términos $(xxyy, xxxy, yyxy)$ son generalmente mucho más pequeños que estos tres y se pueden despreciar en este paso. A continuación,

se busca el mínimo alrededor de la posición calculada anterior (x_0, y_0) . La nueva función que debe minimizarse es:

$$F_1 = \sum_{n=1}^N \left(\frac{\delta f_n}{\sqrt{\sum_{k=1}^N \delta f_k^2}} - \frac{\sum_{i=1}^4 \Phi_n^i \Delta^i}{\sqrt{\sum_{k=1}^N (\sum_{i=1}^4 \Phi_k^i \Delta^i)^2}} \right)^2. \quad (\text{Ec. 11})$$

5 A partir de la minimización de la Ecuación 11, se obtienen los nuevos valores de posición (x_0, y_0) y el primer cálculo de Δ^i para $i = 2, 3, 4$. En el siguiente paso se puede incluir el resto de los términos de la rigidez simplemente incrementando las sumas en la Ecuación 11, de $i = 1$ a $i = 5, 6$ y 7 . Es importante mencionar que todo el procedimiento para obtener todos los componentes de Δ se puede dividir en pasos secuenciales. Por ejemplo, después
10 de la primera estimación de la posición, es posible usar los modos en los que, en esa posición, el componente principal de la deformación es el componente x . En ese caso, se debe incluir sólo estos modos de vibración en la Ecuación 11 y sólo los términos Δ^1 y Δ^2 . Después de este paso, es posible incluir el componente y de la rigidez, el componente xy y así sucesivamente, siempre asegurando que el valor mínimo encontrado para la función F_1
15 es más bajo que en el paso anterior. La masa se puede calcular utilizando el modo que tiene el mayor cambio negativo en la frecuencia. Siendo q dicho modo, la masa puede ser calculada como sigue:

$$M_a = \frac{2M_p \delta f_q}{\sum_{i=1}^7 \Phi_q^i \Delta^i}. \quad (\text{Ec. 12})$$

20 Una aplicación adicional de la técnica de la presente invención, en una realización preferente de la misma, es poder identificar partículas con mucha precisión. Cuando tenemos un conjunto de objetos, la capacidad de distinción de un método dado crece junto con la cantidad de propiedades que el método puede medir a partir de los elementos del conjunto. La masa y todos los diferentes términos de rigidez hacen de esta técnica una
25 herramienta sumamente poderosa para esta tarea. Para cada partícula del conjunto, se define una base de datos con los valores de M_a , γ_x , γ_y , γ_{xy} , γ_{xxyy} , γ_{xxxy} y γ_{yyxy} que serán necesarios para poder hacer una comparación entre partículas. Sin embargo, las cantidades obtenidas experimentalmente para realizar dicha comparación son M_a , γ_x' , γ_y' , γ_{xy}' , γ_{xxyy}' , γ_{xxxy}' y γ_{yyxy}' . Para hacer la comparación, usamos las Ecuaciones 6 con los valores de la
30 base de datos y se forma la siguiente función:

$$I(\theta) = \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^1) (M_a^D - M_a)^2 + \sum_{i=2}^7 \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^i) \left((\gamma_i)^D - \frac{M_a}{2M_p} \Delta^i \right)^2, \quad (\text{Ec. 13})$$

donde el superíndice D se refiere a los valores de la base de datos. La Ecuación 13 se ha ponderado dando más importancia a aquellos componentes que tienen un valor más alto en el punto de adsorción, para mejorar el éxito de la identificación. No obstante, en otras realizaciones de la invención, otros estimadores de similitud pueden ser igualmente utilizados para la identificación de las partículas. La minimización de la Ecuación 13 (o del

5
10
15
20
25

Como ejemplo no limitativo de una realización preferente de la invención, se ilustra a continuación el proceso de identificación de cuatro partículas con la misma masa, el mismo módulo de Young, el mismo volumen pero una forma diferente, utilizando las vibraciones fuera del plano de una placa de tipo palanca de forma cuadrada. En dicho ejemplo, se han realizado simulaciones de elementos finitos de una placa con dicha forma y la adsorción de cuatro partículas con formas diferentes: un disco, un cuadrado, un cubo y una barra con tres orientaciones diferentes (ver Figura 2, donde se representan las diferentes situaciones). Todas las partículas tienen una densidad de 1000 kg/m^3 , un módulo de Young de 5 GPa , coeficiente de Poisson de 0.25 y un volumen de $0.025 \mu\text{m}^3$. La placa tipo palanca utilizada está hecha de silicio con un lado de $50 \mu\text{m}$ y espesor de 200 nm . Debido a la similitud de las cuatro partículas, la identificación presenta una complejidad alta, por lo que se utilizan los primeros doce modos fuera de plano para los cálculos (ver representación de dichos modos en la Figura 3). Para otros casos en los que las partículas a identificar no son tan similares, el número de modos necesarios para tener predicciones precisas sería, en principio, menor. Por su parte, para la placa cuadrada de tipo palanca se elige el eje x perpendicular al borde fijo de la misma, con origen en el borde anclado y a través del eje central de la placa. Como se ha mencionado, la Figura 3 muestra los primeros doce modos fuera de plano de la placa, calculados por simulaciones de elementos finitos para un material con un coeficiente de Poisson de 0.28 .

30

Para este tipo de modos de vibración, el único desplazamiento relevante es $\hat{w}(x_0, y_0)$ y las deformaciones en la posición de adsorción son proporcionales a las curvaturas de la placa:

$$\varepsilon_{xx}(x_0, y_0) = -\frac{h}{2} \frac{\partial^2 w(x_0, y_0)}{\partial x^2}, \quad \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) = -\frac{h}{2} \frac{\partial^2 w(x_0, y_0)}{\partial y^2}, \quad \varepsilon_{xy}(x_0, y_0) = -\frac{h}{2} \frac{\partial^2 w(x_0, y_0)}{\partial x \partial y}, \quad (\text{Ec. 14})$$

donde h es el espesor de la placa. Para todas las partículas propuestas, los coeficientes γ_{xxxx} y γ_{yyyy} son cero y, por lo tanto, tendrán solo cuatro parámetros de rigidez. Para mayor

comodidad, se definen los parámetros γ de modo que el cambio de frecuencia relativa debido a la rigidez, cuando la orientación es cero, viene dado por la expresión:

$$\left(\frac{\Delta f_n}{f_{0n}}\right)_s = \frac{K}{\Lambda_n^4} \left[\gamma_x \left(\frac{\partial^2 \hat{w}_n(x_0, y_0)}{\partial x^2} \right)^2 + \gamma_y \left(\frac{\partial^2 \hat{w}_n(x_0, y_0)}{\partial y^2} \right)^2 + \gamma_{xy} \left(\frac{\partial^2 \hat{w}_n(x_0, y_0)}{\partial x \partial y} \right)^2 + \gamma_{xxyy} \frac{\partial^2 \hat{w}_n(x_0, y_0)}{\partial x^2} \frac{\partial^2 \hat{w}_n(x_0, y_0)}{\partial y^2} \right], \quad (\text{Ec. 15})$$

- 5 donde $K = \frac{E_a V_a (1 - \nu_p^2)}{2 E_p V_p}$ y Λ_n es un número dependiente del modo que proviene de la integración en la Ecuación 5. Anteriormente a las simulaciones de prueba, los cuatro coeficientes de rigidez $K\gamma_x$, $K\gamma_y$, $K\gamma_{xy}$ y $K\gamma_{xxyy}$ se han calculado mediante simulaciones de elementos finitos (FEM) para las cuatro partículas, para completar la base de datos representada en la Tabla 1, a continuación:

10

Partícula	$M_a/2M_c$ (ppm)	$K\gamma_x$ (ppm)	$K\gamma_y$ (ppm)	$K\gamma_{xy}$ (ppm)	$K\gamma_{xxyy}$ (ppm)
Disco	10.7342	2.6144	2.6144	4.4922	0.7367
Cuadrado	10.7342	2.6509	2.6509	4.3671	0.7182
Cubo	10.7342	0.6339	0.6339	1.5262	0.0778
Barra	10.7342	3.0169	0.5112	2.0858	0.1317

Tabla 1. Parámetros de la base de datos obtenidos por FEM para las cuatro partículas utilizadas para la prueba de identificación.

- 15 La prueba de identificación consiste, pues, en calcular el cambio de frecuencia relativa de los doce modos de vibración debido a la adsorción de cada una de las partículas mediante simulaciones de elementos finitos. Los valores obtenidos se utilizan para calcular todos los parámetros aplicando el problema inverso. Luego, haciendo uso de la base de datos mostrada en la Tabla 1, se aplica el algoritmo de identificación antes descrito, a fin de
- 20 identificar la partícula correspondiente. Este procedimiento se aplica para las seis configuraciones de partículas diferentes y variando la posición de adsorción en toda la superficie de la placa.

- El éxito de la identificación aplicando el método de la invención se representa en la Figura 4.
- 25 El porcentaje de éxito de identificación es del 60.5%, 98.4% 96.3%, 99.5%, 98.7% y 99.3% para el disco, cuadrado, cubo, barra a 0 grados, barra a 45 grados y barra a 90 grados, respectivamente. Excepto en el caso del disco, el pequeño porcentaje faltante del resto de los casos corresponde a los puntos de adsorción donde la resolución de la rigidez es pobre, principalmente las esquinas y los bordes de la placa . Si la masa de las partículas no fuera la
- 30 misma, los puntos cercanos a los bordes y las esquinas libres también tendrían una

identificación altamente exitosa. Las dos esquinas en el extremo sujetado de la placa son bastante críticas porque, en estos puntos, sólo el componente x de la rigidez es lo suficientemente grande como para ser medido con precisión y, en este caso, con un grupo similar de partículas, la identificación con un solo parámetro no se puede realizar. En el caso
5 del disco, el porcentaje de éxito es menor que en el resto de las partículas. Ello se debe a la extrema similitud entre el disco y el cuadrado, como se puede ver en la Tabla 1. Casi todos los puntos perdidos para el disco se deben a la identificación incorrecta de un cuadrado (38.8%). El hecho de que los coeficientes de rigidez del cuadrado no sean completamente axisimétricos (tienen una pequeña dependencia del ángulo de orientación), da una pequeña
10 variación con el ángulo de orientación y el disco se puede confundir fácilmente con un cuadrado con 45 grados de orientación.

En conclusión, la presente invención plantea una técnica novedosa para la identificación y clasificación de partículas con una precisión extremadamente alta, basada en los cambios
15 de frecuencia relativa que sufren las vibraciones de las placas cuando estas partículas se adsorben en su superficie. Debido a las características especiales que presentan estas estructuras resonantes, podemos distinguir partículas con la misma masa y el módulo de Young, pero con una forma diferente que es algo que no resulta posible con los métodos conocidos en este campo. La invención constituye, por tanto, un importante avance para el
20 campo de la espectrometría nanomecánica, que puede tener aplicaciones relevantes tales como la identificación y clasificación de virus, bacterias o materia particulada, mejorando considerablemente la capacidad de distinción de los procedimientos del estado de la técnica.

REIVINDICACIONES

1.- Método de identificación de un adsorbato de masa M_a , depositado sobre una placa de masa M_p , donde dicha placa comprende un conjunto de modos de vibración y donde, para dichos modos, su frecuencia de resonancia f_0 correspondiente se ve desplazada una cierta cantidad Δf al depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma;

estando dicho método **caracterizado por que** comprende la realización de los siguientes pasos:

- se calcula una masa y una posición candidatas del adsorbato a partir de la medición del cambio en frecuencia de una pluralidad de modos de vibración de la placa, previo conocimiento de la masa de la placa M_p , despreciándose el efecto de la rigidez, de tal manera que el cambio Δf viene dado en la forma:

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \frac{M_a}{M_p} (\hat{u}(x_0, y_0)^2 + \hat{v}(x_0, y_0)^2 + \hat{w}(x_0, y_0)^2);$$

donde $\hat{u}$ y $\hat{v}$ son los desplazamientos adimensionales a lo largo de un sistema de ejes en el plano de la placa, y $\hat{w}$ el desplazamiento adimensional a lo largo del eje perpendicular al plano de la placa;

- se utilizan los valores de masa y posición calculados como punto inicial para calcular los valores finales de masa M'_a , de la posición del adsorbato y de una pluralidad de coeficientes de rigidez γ' dependientes de las propiedades mecánicas y de la geometría del adsorbato y de la geometría de la placa, a partir de la medición del cambio en frecuencia de una pluralidad de modos de vibración de la placa y usando la energía de deformación U_a del adsorbato en función del tensor de deformación en la posición de adsorción, $\varepsilon_{xx,yy,xy}(x_0, y_0)$, obtenido a partir del desplazamiento $(\hat{u}, \hat{v}, \hat{w})$ en el plano (x, y) definido por la placa para un subconjunto de modos resonantes, , en la forma:

$$U_a = \gamma'_x \varepsilon_{xx}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_y \varepsilon_{yy}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_{xxyy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) + \gamma'_{xyxy} \varepsilon_{xy}(x_0, y_0)^2 + \gamma'_{xxxy} \varepsilon_{xx}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0) + \gamma'_{yyxy} \varepsilon_{yy}(x_0, y_0) \varepsilon_{xy}(x_0, y_0);$$

- se comparan los valores de la masa candidata del adsorbato M'_a y de los coeficientes γ' calculados en el paso anterior con un conjunto de valores de referencia $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$ que se calculan a partir de la transformación al sistema de referencia de la placa de unos valores previamente almacenados, correspondientes a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa con una determinada orientación en un plano de referencia (x', y') ;

- se identifica el adsorbato depositado en la placa como aquél perteneciente al catálogo cuyos valores M'_a y γ' presentan mayor similitud con los valores $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$.

5 2.- Método según la reivindicación anterior, donde se relacionan las componentes γ' medidas en el sistema de referencia de la placa, con las componentes γ medidas en el sistema de referencia del adsorbato pertenecientes al catálogo de adsorbatos, que está rotado un ángulo θ en torno al eje z, mediante la expresión:

$$\begin{aligned}\gamma'_x &= \gamma_x \cos^4 \theta + \gamma_y \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta - \gamma_{xxxxy} \cos^3 \theta \sin \theta - \gamma_{yyxy} \sin^3 \theta \cos \theta \\ \gamma'_y &= \gamma_y \cos^4 \theta + \gamma_x \sin^4 \theta + (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 \theta \sin^2 \theta + \gamma_{xxxxy} \cos^3 \theta \sin \theta + \gamma_{yyxy} \sin^3 \theta \cos \theta \\ \gamma'_{xy} &= (\gamma_{xy} + \gamma_{xxyy}) \cos^2 2\theta + (\gamma_x + \gamma_y) \sin^2 2\theta - \gamma_{xxxxy} + (\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxyy} &= \frac{1}{2} (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \sin^2 2\theta + \gamma_{xxyy} + \frac{1}{2} (\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos^2 2\theta \sin^2 2\theta \\ \gamma'_{xxxxy} &= (\gamma_x - \gamma_y + (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2} ((\gamma_{xxxxy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta + (\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta) \\ \gamma'_{yyxy} &= (\gamma_x - \gamma_y - (\gamma_x + \gamma_y - \gamma_{xy} - \gamma_{xxyy}) \cos 2\theta) \sin 2\theta + \frac{1}{2} ((\gamma_{xxxxy} + \gamma_{yyxy}) \cos 2\theta - (\gamma_{xxxxy} - \gamma_{yyxy}) \cos 4\theta).\end{aligned}$$

10 3.- Método según la reivindicación anterior, donde los modos de vibración resonante comprenden modos de vibración fuera de plano y/o dentro del plano.

15 4.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde se seleccionan sólo modos de vibración resonante que experimentan un cambio negativo de frecuencia con la deposición del adsorbato.

20 5.- Método según la reivindicación anterior, donde se miden $N > 2$ modos en total, y M es el conjunto de dichos modos con cambio de frecuencia negativo y donde, para calcular la posición de adsorción en el primer paso, se minimiza la siguiente función:

$$F_0 = \sum_{m \in M} \left(\frac{\delta f_m}{\sqrt{\sum_{k \in M} \delta f_k^2}} - \frac{\Phi_m^1 \Delta^1}{\sqrt{\sum_{k \in M} (\Phi_k^1 \Delta^1)^2}} \right)^2,$$

donde δf_m es el desplazamiento de la frecuencia relativa del modo m-ésimo medido experimentalmente, y donde:

$$\begin{aligned}\Phi_n &= \left[-d_n^2, \frac{\varepsilon_{xxn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xyn}^2}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{yyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{xxn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}}, \frac{\varepsilon_{yyn}\varepsilon_{xyn}}{2U_{pn}} \right], \\ \Delta &= \left[1, \frac{2M_p \gamma'_x}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_y}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{xy}}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{xxyy}}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{xxxxy}}{M_a}, \frac{2M_p \gamma'_{yyxy}}{M_a} \right],\end{aligned}$$

$d_n^2 = \hat{u}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{v}_n(x_0, y_0)^2 + \hat{w}_n(x_0, y_0)^2$ es el cuadrado del desplazamiento total de la placa, y los valores $(x_0, y_0) \in \Omega$ que minimizan la función $F_0(x, y)$ son la primera estimación de la posición de adsorción.

6.- Método según la reivindicación anterior, donde para calcular la posición de adsorción final, la masa M'_a y los distintos coeficientes γ' , se minimiza la siguiente función:

$$F_1 = \sum_{n=1}^N \left(\frac{\delta f_n}{\sqrt{\sum_{k=1}^N \delta f_k^2}} - \frac{\sum_{i=1}^7 \Phi_n^i \Delta^i}{\sqrt{\sum_{k=1}^N \left(\sum_{i=1}^7 \Phi_k^i \Delta^i \right)^2}} \right)^2$$

5

7.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la comparación de los valores de la masa candidata del adsorbato M_a y de los coeficientes γ' con el conjunto de valores de referencia $\{M_a^D, (\gamma')^D\}$ previamente almacenados se calcula mediante el estimador de similitud $I(\theta)$:

$$I(\theta) = \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^1) (M_a^D - M_a)^2 + \sum_{i=2}^7 \sum_{n=1}^N \text{abs}(\Phi_n^i) \left((\gamma_i)^D - \frac{M_a}{2M_p} \Delta^i \right)^2,$$

donde el superíndice D se refiere a los valores del catálogo de adsorbatos, y donde el valor θ que minimiza $I(\theta)$ es el valor más probable de la orientación del adsorbato.

8.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde los adsorbatos son partículas inorgánicas, virus, bacterias, proteínas y/o células.

9.- Método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores donde, en el paso correspondiente al cálculo de los valores finales de masa M'_a , de la posición del adsorbato y de la pluralidad de coeficientes de rigidez γ' , se tiene en cuenta el efecto de la rigidez mediante un método de perturbaciones respecto a la identificación inicial.

10.- Sistema de identificación de un adsorbato de masa M_a depositado en una placa de masa M_p , donde dicha placa comprende una pluralidad de modos de vibración y donde, para cada uno de dichos modos, su frecuencia de resonancia f_0 correspondiente se ve desplazada una cantidad Δf en función del desplazamiento no dimensional $(\hat{u}, \hat{v}, \hat{w})$ de la placa en el modo de vibración correspondiente, al depositar el adsorbato en una posición de adsorción (x_0, y_0) de la misma, donde dicho sistema comprende:

- una o más placas;
- medios de deposición de uno o más adsorbatos sobre las placas;
- medios de medición del desplazamiento de la frecuencia de resonancia cuando se deposita el adsorbato en una de las placas, para una pluralidad de modos de vibración de las mismas;

estando dicho sistema caracterizado por que comprende medios software y hardware de registro y procesamiento de datos, configurados para la lectura de los datos generados por los medios de medición, y para el almacenamiento de un conjunto de valores de referencia $\{M_a, \gamma\}$, correspondientes a un catálogo de adsorbatos conocidos depositados sobre la placa con una determinada orientación en un plano de referencia (x', y') , estando los medios software y hardware configurados, adicionalmente, para la realización de un método según cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

10 11.- Sistema según la reivindicación anterior, donde dicho sistema comprende un espectrómetro de masas.

15 12.- Sistema según la reivindicación anterior, donde los medios de deposición de uno o más adsorbatos sobre las placas comprenden una o varias cámaras de vacío y un sistema de ionización y/o electro spray, adaptado para pulverizar los adsorbatos sobre las placas.

20 13.- Sistema según cualquiera de las reivindicaciones 10-11, donde los medios de medición del desplazamiento de la frecuencia de resonancia comprenden materiales piezoeléctricos para realizar el barrido de frecuencias y/o uno o más lazos de seguimiento de fases; y uno o más láseres enfocados sobre las placas, y configurados para emitir un haz sobre las mismas.

25 14.- Sistema según la reivindicación anterior, que comprende adicionalmente un fotodetector adaptado para recibir el haz láser reflejado por las placas.

15.- Sistema según la reivindicación anterior, que comprende un amplificador conectado al fotodetector y adaptado para amplificar la señal posteriormente para su lectura.

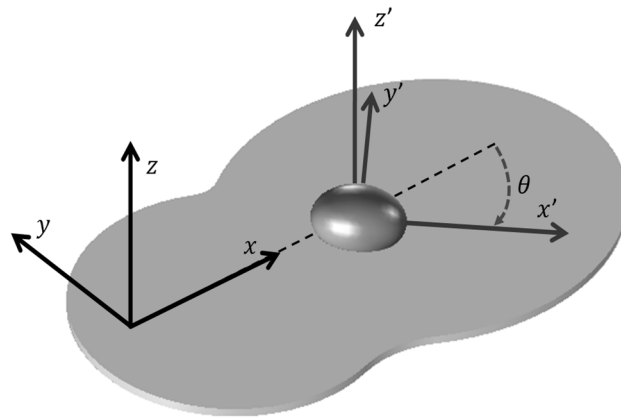


FIG. 1

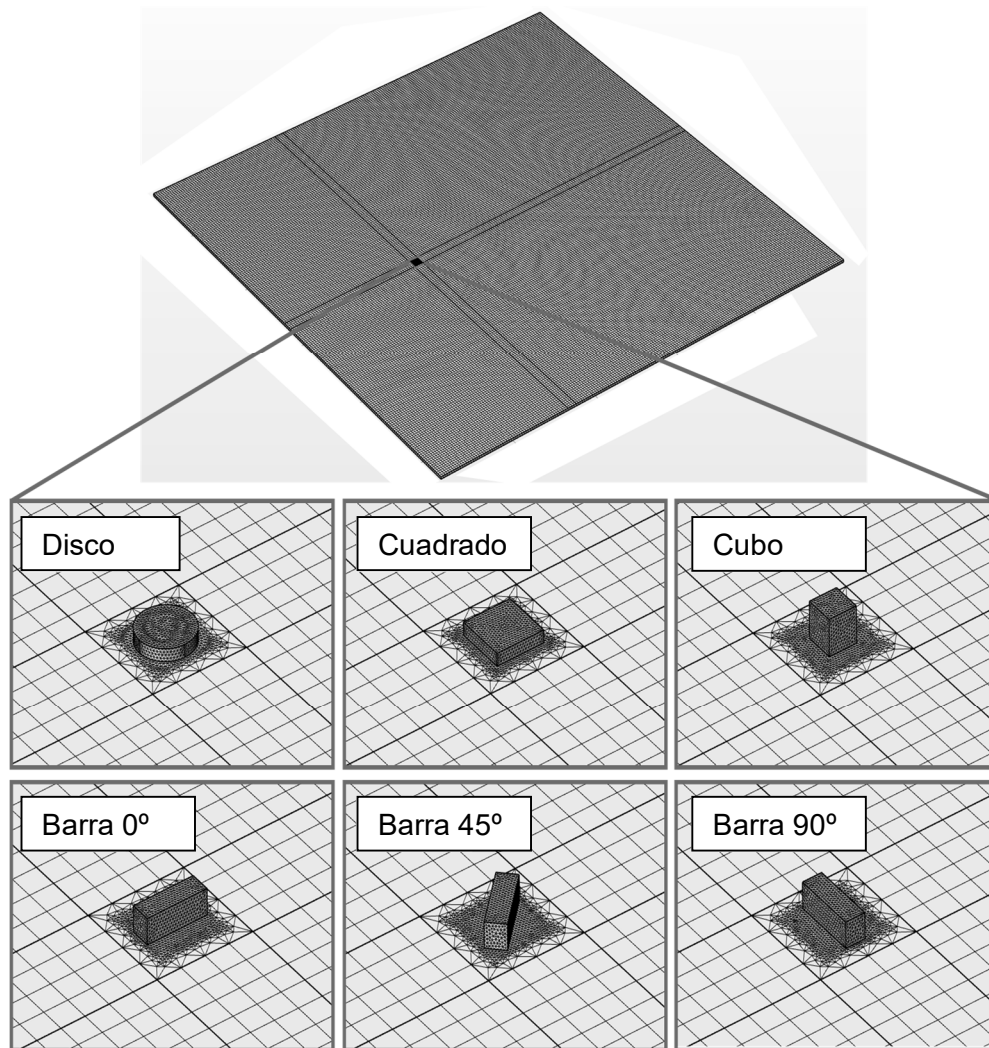


FIG. 2

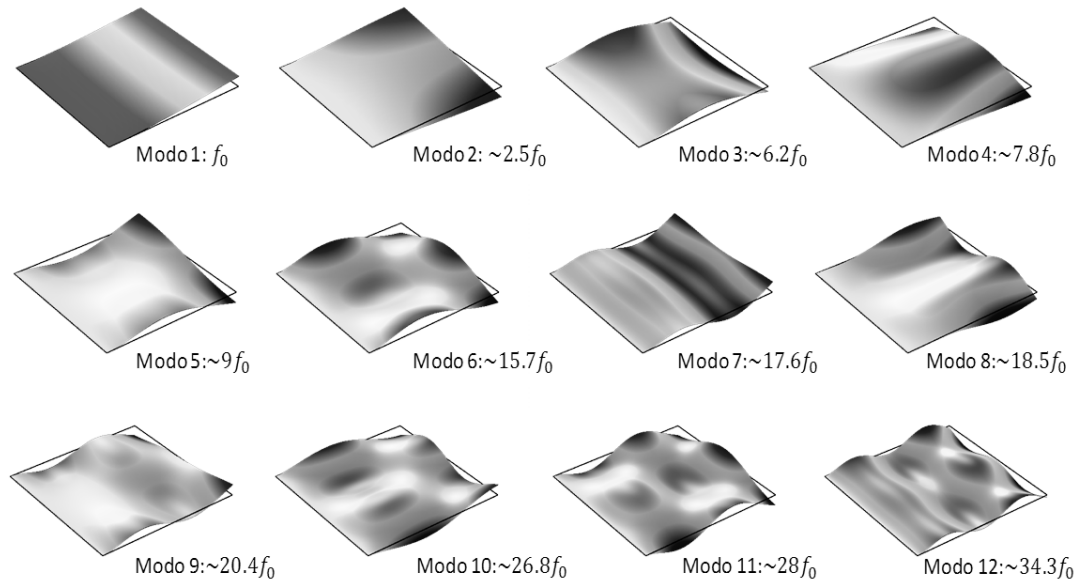


FIG. 3

		Part. Real Part. Calc.					
		Disco	Cuadrado	Cubo	Barra 0°	Barra 45°	Barra
Disco							
Cuadrado							
Cubo							
Barra							

FIG. 4



- ②① N.º solicitud: 201930073
②② Fecha de presentación de la solicitud: 31.01.2019
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: **G01N29/12** (2006.01)
G01N33/48 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	MALVAR et al. Mass and stiffness spectrometry of nanoparticles and whole intact bacteria by multimode nanomechanical resonators. Nature Communications, 11/11/2016, N° 13452, Páginas 1-8 [en línea][recuperado el 03/02/2020].	1-15
A	GIL SANTOS, et al. Nanomechanical mass sensing and stiffness spectrometry based on two-dimensional vibrations of resonant nanowires. Nature Nanotechnology, 08/08/2010, Vol. 5, Páginas 641-645 [en línea][recuperado el 03/02/2020].	1-15
A	TAMAYO et al. Effect of the adsorbate stiffness on the resonance response of microcantilever sensors. APPLIED PHYSICS LETTERS, 01/12/2006, Vol. 89, N° 224104, Páginas 1-3 [en línea][recuperado el 03/02/2020].	1-15
A	DOHN et al. Mass and position determination of attached particles on cantilever based mass sensors. REVIEW OF SCIENTIFIC INSTRUMENTS, 31/10/2007, Vol. 78, N° 103303, Páginas 1-3 [en línea][recuperado el 03/02/2020].	1-15
A	ILIC et al. Mechanical resonant immunospecific biological detector. APPLIED PHYSICS LETTERS, 24/05/2000, Vol. 77, N° 3, Páginas 450-452 [en línea][recuperado el 03/02/2020].	1-15
A	SAGE et al. Neutral particle mass spectrometry with nanomechanical systems. Nature Communications, 10/03/2015, Vol. 6, N° 6482, Páginas 1-5 [en línea][recuperado el 03/02/2020].	1-15
A	US 2006223171 A1 (CRAIGHEAD HAROLD G et al.) 05/10/2006	1-15
A	WO 2006031072 A1 (KOREA INST SCI & TECH et al.) 23/03/2006	1-15
A	WO 03091458 A1 (PENN STATE RES FOUND) 06/11/2003	1-15
A	WO 2004029625 A2 (INTEL CORP) 08/04/2004	1-15

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
03.02.2020

Examinador
F. Bejarano Durán

Página
1/2

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

G01N

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

INVENES, EPODOC, Internet