

TÍTULO DE PATENTE NO. 327595

Titular(es): UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
Domicilio: Lascurain de Retana No. 5, Col. Centro, 36000, Guanajuato, Guanajuato, MÉXICO
Denominación: DISPOSITIVO FOTOACÚSTICO UNIVERSAL PARA LA MEDICIÓN *IN VITRO* E *IN SITU* DE CONCENTRACIÓN DE SUBSTANCIAS Y PARTÍCULAS EN MEDIOS LÍQUIDOS
Clasificación: Int.CI.8: H01J49/26
Inventor(es): GERARDO GUTIERREZ JUAREZ; MIGUEL ÁNGEL JOSÉ GONZÁLEZ MARTÍNEZ; JESUS ALBERTO MENDOZA TORRES

SOLICITUD

Número:	Fecha de presentación:	Hora:
MX/a/2010/012708	22 de noviembre de 2010	12:56

PRIORIDAD

País:	Fecha:	Número:
--------------	---------------	----------------

Vigencia: Veinte años

Fecha de Vencimiento: 22 de noviembre de 2030

La patente de referencia se otorga con fundamento en los artículos 1º, 2º fracción V, 6º fracción III, y 59 de la Ley de la Propiedad Industrial.

De conformidad con el artículo 23 de la Ley de la Propiedad Industrial, la presente patente tiene una vigencia de veinte años improrrogables, contada a partir de la fecha de presentación de la solicitud y estará sujeta al pago de la tarifa para mantener vigentes los derechos.

Quien suscribe el presente título lo hace con fundamento en lo dispuesto por los artículos 6º fracciones III y 7º bis 2 de la Ley de la Propiedad Industrial (Diario Oficial de la Federación (D.O.F.) 27/06/1991, reformada el 02/08/1994, 25/10/1996, 26/12/1997, 17/05/1999, 26/01/2004, 16/06/2005, 25/01/2006, 06/05/2009, 06/01/2010, 18/06/2010, 28/06/2010, 27/01/2012 y 09/04/2012); artículos 1º, 3º fracción V inciso a), 4º y 12º fracciones I y III del Reglamento del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 14/12/1999, reformado el 01/07/2002, 15/07/2004, 28/07/2004 y 7/09/2007); artículos 1º, 3º, 4º, 5º fracción V inciso a), 16 fracciones I y III y 30 del Estatuto Orgánico del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (D.O.F. 27/12/1999, reformado el 10/10/2002, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007); 1º, 3º y 5º inciso a) del Acuerdo que delega facultades en los Directores Generales Adjuntos, Coordinador, Directores Divisionales, Titulares de las Oficinas Regionales, Subdirectores Divisionales, Coordinadores Departamentales y otros subalternos del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial. (D.O.F. 15/12/1999, reformado el 04/02/2000, 29/07/2004, 04/08/2004 y 13/09/2007).

Fecha de expedición: 29 de octubre de 2014

LA DIRECTORA DIVISIONAL DE PATENTES

NAHANNY CANAL REYES



2010/12708

327595
29/10/14

1

Dispositivo Fotoacústico Universal para la Medición *in Vitro* e *in situ* de

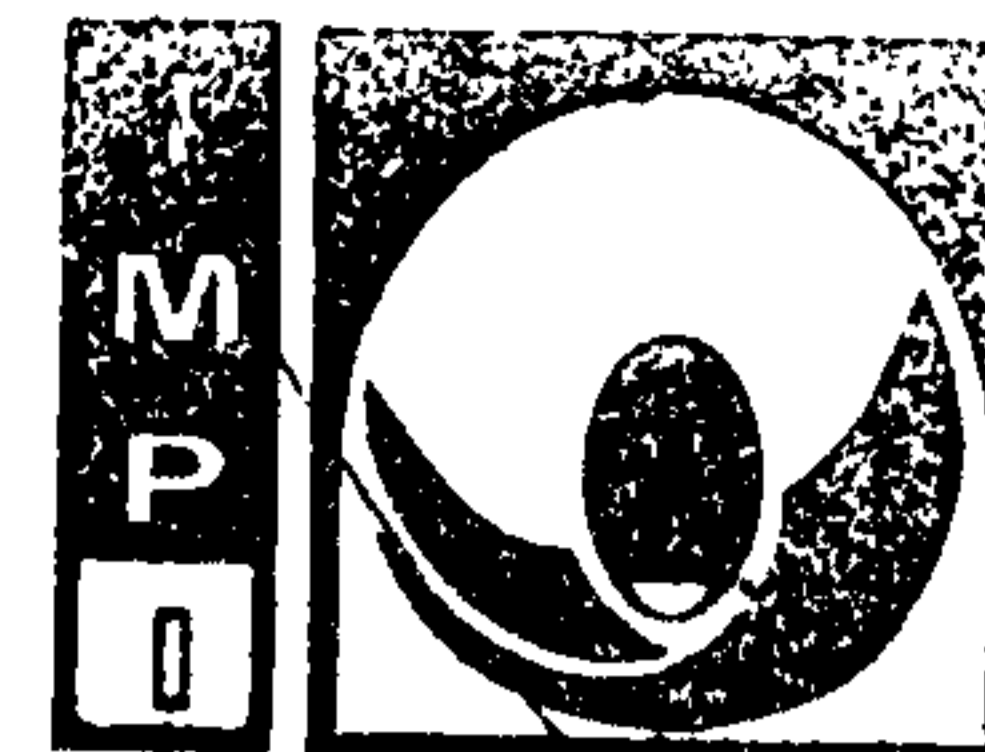
Concentración de Sustancias y Partículas en Medios Líquidos



DESCRIPCIÓN

OBJETO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se compone de múltiples diseños de un sistema y de un dispositivo de análisis que, mediante el uso de espectroscopia fotoacústica pulsada (PPAS, por sus siglas en inglés) y una metodología de uso del mismo, permiten la determinación de los niveles de concentración de sustancias, partículas y/o corpúsculos en toda la generalidad de mezclas donde la mencionadas sustancias, partículas y/o corpúsculos de interés se encuentren
- 10 suspendidos en medios líquidos, ya sea que estas mezclas sean solo absorbentes-no esparsoras o que sean turbias (absorbentes-esparsoras), ya sea que sean de baja absorbancia o de muy alta, con coeficientes de absorción óptica de hasta 600cm^{-1} , incluso. Este alcance de aplicabilidad general para mezclas en medios líquidos es posible debido a las características de los diseños del sistema y del dispositivo, que permiten que estos adapten la metodología
- 15 de análisis a las características de cada tipo de muestra. Los múltiples diseños del sistema y del dispositivo propuestos en esta solicitud son, en su mayoría, adecuados para análisis *in vitro*, aunque también se presentan diseños alternativos del dispositivo, que son adecuados para análisis *in situ*.



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

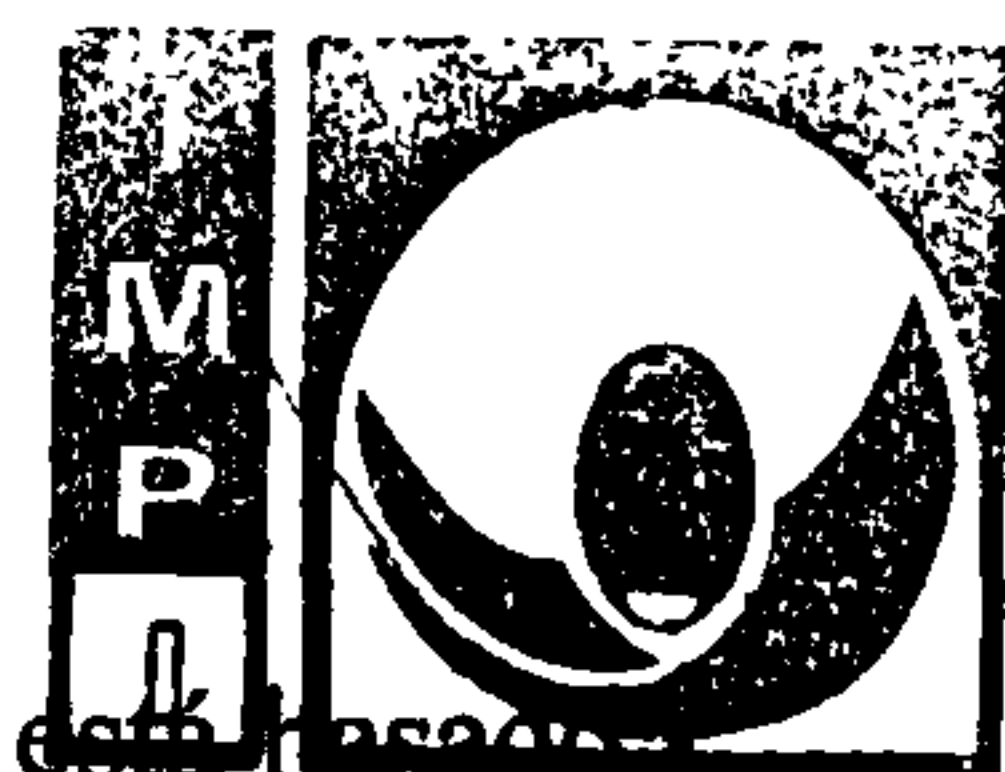
ANTECEDENTES

Es deseable el contar con técnicas y dispositivos versátiles y efectivos que tengan la aplicabilidad más general posible para medir la concentración de diversas sustancias y/o partículas suspendidas en medios líquidos. Esto es así ya que el conocimiento de estas concentraciones es de vital importancia para el control de procesos y verificación de calidad en distintas industrias como la química, de alimentos, la farmacéutica, y para la toma de decisiones en áreas como la medicina; donde, por citar un ejemplo, la concentración de determinada sustancia o el número de células de cierto tipo presentes en un fluido biológico, proporciona información valiosa sobre el estado de salud de un paciente.

10

Una de las técnicas ya establecidas, de aplicación más general en este sentido, es la espectroscopia de transmisión en el rango electromagnético ultravioleta-visible, comúnmente conocida como espectroscopia UV/VIS. Esta técnica presenta, sin embargo, una limitación inherente, que es el que no es posible utilizarla para medir la concentración de componentes en muestras que además de absorción de radiación, presentan el fenómeno de esparcimiento; con esto nos referimos a muestras en las que la luz no sigue una trayectoria recta, sino que se difunde aleatoriamente por todo el medio. A estas muestras, que presentan tanto absorción como esparcimiento de radiación electromagnética, se les llama muestras turbias. Este tipo de comportamiento es típico de coloides y suspensiones, y se puede observar, por ejemplo, en mezclas como las que componen la leche de vaca. Como veremos, una de las virtudes del sistema y múltiples diseños del dispositivo por nosotros inventado, es que no presenta esta limitación de la espectroscopia UV/VIS y extiende los alcances del actual estado del arte.

20



El sistema y los múltiples diseños del dispositivo por nosotros propuesto, está basado en la PPAS. La PPAS es una espectroscopia que tiene su fundamento físico en el efecto fotoacústico, el cual consiste en la generación de ondas de presión, o acústicas, por parte de la materia, cuando ésta absorbe radiación electromagnética. Existen dos categorías en las que se puede clasificar la espectroscopia fotoacústica, los cuales dependen de la forma en que incide la radiación. Si la fuente de radiación es continua, y ésta se modula a una frecuencia determinada, se le llama espectroscopia fotoacústica modulada (o PAS en el dominio de frecuencias). Por otro lado, si la fuente radiación es pulsada se le llama espectroscopia fotoacústica pulsada (o PAS en el dominio de temporal).

10

Existen a la fecha diversas patentes que han sido concedidas a la aplicación de la PPAS para la medición de concentración de diversas sustancias; a la vez que existen también diversas solicitudes recientes para mejoras a aplicaciones particulares de la técnica. La mayoría de éstas tienen el objetivo de lograr ser capaces de realizar la determinación de los niveles de concentración de glucosa u oxigenación en sangre humana *in vivo* e *in situ* de manera no invasiva. Como la descrita por US6'484,044B1, que propone un método y aparato para la mencionada detección de glucosa *in vivo*, o de otras sustancias, a través de la generación del efecto fotoacústico, utilizando radiación láser en dos longitudes de onda diferentes en la región comprendida entre los 2.5 μ m y los 25 μ m; las cuales, indica, deben coincidir con picos y/o valles del espectro de absorción de la sustancia de interés.

20



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

A su vez US 6'498,942B1 describe un dispositivo y método para la medición de los niveles de oxigenación sanguínea *in vivo* a través de la generación del efecto fotoacústico con radiación láser pulsada en longitudes de onda comprendidas entre los 600nm y los 1400nm. El diseño del mismo sugiere el uso de una sonda que funcione al mismo tiempo como conducto de la radiación láser, y alojamiento del sensor ultrasónico, de forma que se tenga un estimulador-sensor integrado para realizar las mediciones. El modelo de utilidad CN 201244025 (Y) desarrolla aún mas la idea del sensor-estimulador integrado para la generación y detección del fenómeno fotoacústico pulsado. Este modelo de utilidad, dada la miniaturización, presenta las ventajas de portabilidad y, potencialmente, bajo costo, y en principio se cita como una creación tecnológica que se podría utilizar en aplicaciones tales como detección de oxígeno y/o glucosa en la sangre y detección de fallas industriales, entre otras.

Adicionalmente, solicitudes como CN 101467884 (A) sugieren además de la detección del efecto fotoacústico, utilizar un detector fotoeléctrico para cuantificar la radiación esparcida por las muestras e incluirla también en el análisis para determinar la concentración de glucosa en sangre.

JP 2008145262 (A) por otro lado, provee de un dispositivo para la medición de concentraciones que utiliza espectroscopia fotoacústica modulada o PAS modulada, y requiere de la utilización de una muestra estándar, la cual se mide y compara con la muestra



que está siendo analizada; esto para reducir los errores en la calibración debidos a variables extrínsecas a la concentración.

Los métodos y dispositivos mencionados anteriormente describen medios que buscan realizar la medición de concentración de ciertos tipos de sustancias; particularmente de glucosa y oxígeno en sangre *in vivo* e *in situ* de manera no invasiva.

Cabe destacar, sin embargo, que de acuerdo al conocimiento actualmente disponible del estado del arte, no existe a la fecha un solo dispositivo o método fotoacústico que sea exitoso en determinar la concentración de glucosa en la sangre ya sea *in vivo* o *in vitro*, dentro del rango de concentración fisiológico, siendo muchas (todas, de hecho) de estas patentes, concedidas a mejoras e innovaciones a la técnica que se encuentran aún a la espera de un descubrimiento o innovación mayor en el estado del arte que les permita ser útiles en este objetivo.

15

PROBLEMA TÉCNICO A RESOLVER

Nuestra invención por otro lado, se plantea un objetivo que es al mismo tiempo mas modesto, pero que es también más general, y que cumple a cabalidad; que es el de proveer de múltiples diseños de un sistema y de un dispositivo que, al implementar una serie de particularidades a la técnica fotoacústica pulsada, permiten adaptarla a gran diversidad de circunstancias y así aplicarla de manera general para la determinación tanto *in vitro* como *in situ* de los niveles de concentración de sustancias, partículas y/o corpúsculos en medios líquidos. Ejemplos de

20



tales mezclas pueden ser, enunciando, pero no limitando: soluciones, coloides, dispersiones, emulsiones, suspensiones y partículas y/o corpúsculos, tales como células, suspendidas en medios fisiológicos.

5 BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

En la presente invención se provee de múltiples diseños de ensamble de un sistema y de dispositivos de análisis por PPAS y un método de uso que permiten determinar los niveles de concentración de sustancias, partículas y/o corpúsculos de interés que se encuentren suspendidos en mezclas en medios líquidos. Tales mezclas pueden ser tanto aquellas que presentan el fenómeno de absorción de la radiación electromagnética, como aquellas que presentan a la vez el fenómeno de absorción y esparcimiento de ésta, llamadas también muestras turbias.

Los diseños de los sistemas y dispositivos presentados son, en su mayoría, útiles para la medición y análisis *in vitro* de las mezclas, aunque también se presentan diseños alternativos para medición y análisis *in situ* de las mismas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1A. Forma preferente de llevar a cabo la invención. Sistema de medición de concentración con sensor piezoeléctrico para detección en modo lateral.

(1) Láser pulsado, preferentemente sintonizable.



- (2) Haz láser.
- (3) Sistema óptico de enfoque y colimado (para aumentar o disminuir el diámetro del haz láser y colimarlo).
- (4) Celda fotoacústica.
- 5 (5) Ventana de acceso a la radiación láser.
- (6) Sensor piezoeléctrico para detección en modo lateral (perpendicular la camino óptico del haz láser y adyacente al mismo).
- (7) Sistema de agitación.
- (8) Sensor de temperatura (termómetro, termopar, pirómetro, etc.)
- 10 (9) Sistema de regulación de temperatura (resistencia, etc., retroalimentado por el sensor de temperatura).
- (10) Osciloscopio.
- (11) Computadora.

15 **Figura 1B. Forma preferente de llevar a cabo la invención. Sistema de medición de concentración con sensor piezoeléctrico para detección en modo lateral y con sistema de flujo.**

- (12) Sistema de flujo (Bomba peristáltica, etc.)

20 **Figura 1C. Forma preferente de llevar a cabo la invención. Sistema de medición de concentración con sensor piezoeléctrico para detección en modo lateral, con sistema de flujo y reservorio.**



(13) Contenedor o reservorio.

Figura 1D. Forma preferente de llevar a cabo la invención. Sistema de medición de
5 concentración con sensor piezoeléctrico para detección en modo frontal o de transmisión.

(14) Sensor piezoeléctrico de las mismas características que en (6) en posición
frontal al punto de incidencia del láser (para detección en modo de
transmisión).

10

Figura 2A. Señales típicas obtenidas para muestras absorbentes-no esparsoras con
diferentes concentraciones del elemento de interés, a absorbancias bajas.

Figura 2B Curva típica de la Concentración vs. Amplitud máxima de la señal
15 fotoacústica, obtenida para muestras absorbentes-no esparsoras con diferentes
concentraciones del elemento de interés, a absorbancias bajas.

Figura 3A. Señales típicas obtenidas para muestras turbias (absorbentes-esparsoras)
con diferentes concentraciones del elemento de interés, a absorbancias bajas.

20

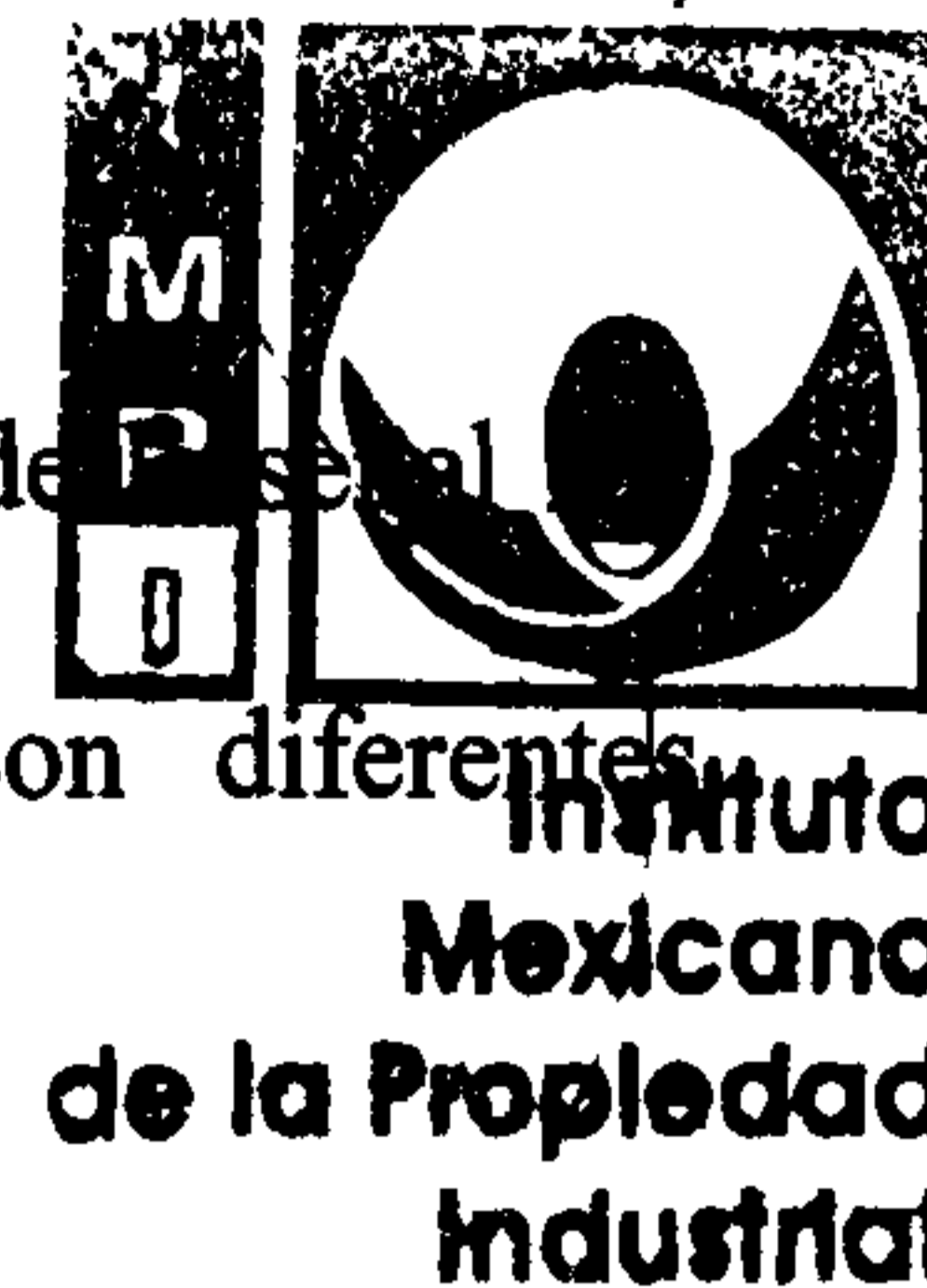


Figura 3B. Curva típica para la Concentración vs. Amplitud máxima de la señal (fotoacústica), obtenida para muestras turbias (absorbentes-esparsoras) con diferentes concentraciones del elemento de interés, a absorbancias bajas.

5 Figura 4A. Señales fotoacústicas de muestras absorbentes-no esparsoras en un rango de concentraciones y absorbancias amplio del elemento absorbedor.

10 Figura 4B. Amplitud máxima de la señal fotoacústica en función de la concentración de muestras absorbentes-no esparsoras, en el rango de concentraciones del elemento absorbedor mostrado en la Figura 4A.

Figuras 5A y 5B. Señales fotoacústicas obtenidas para muestras turbias (absorbentes-esparsoras) en un rango de concentraciones y absorbancias amplio del elemento absorbedor.

15 Figura 5C. Amplitud máxima de la señal fotoacústica en función de la concentración de muestras turbias (absorbentes-esparsoras), en el rango de concentraciones del elemento absorbedor mostrado en las Figuras 5A y 5B.

20 Figura 6. Segmento de sistema con múltiples sensores. Forma alternativa donde el haz láser de estimulación es dividido por medio de un sistema de espejos reflectores y espejos semitransparentes.



- (1501) Espejo semitransparente primario.
- (1601) Espejo reflector primario.
- (202A) Haz secundario A
- (202B) Haz secundario B
- 5 (1502A) Espejo semitransparente secundario A
- (1502B) Espejo semitransparente secundario B
- (1602A) Espejo reflector secundario A.
- (1602B) Espejo reflector secundario B.
- (203A) Haz terciario A
- 10 (203B) Haz terciario B
- (203C) Haz terciario C
- (203D) Haz terciario D
- (6A) Sensor piezoeléctrico A para detección en modo lateral.
- (6B) Sensor piezoeléctrico B para detección en modo lateral.
- 15 (6C) Sensor piezoeléctrico C para detección en modo lateral.
- (6D) Sensor piezoeléctrico D para detección en modo lateral.

Figura 7. Segmento de sistema con múltiples sensores y láseres de estimulación.

- (1A) Láser pulsado A
- 20 (1B) Láser pulsado B
- (1C) Láser pulsado C
- (1D) Láser pulsado D



(14A) Sensor piezoeléctrico A para detección en modo de transmisión.

(14B) Sensor piezoeléctrico B para detección en modo de transmisión.

(14C) Sensor piezoeléctrico C para detección en modo de transmisión.

(14D) Sensor piezoeléctrico D para detección en modo de transmisión.

5

Figura 8A. Dispositivo en versión portátil para análisis *in vitro* con pantalla. Parte interna.

(17) Unidad de procesamiento y control

(18) Batería o fuente de poder.

10

Figura 8B. Dispositivo en versión portátil para análisis *in vitro* con pantalla. Parte externa.

(19) Pantalla

(20) Controles

15

Figura 9. Efecto de modificación a nivel local (región de incidencia del haz láser) de la concentración del objeto de interés, por efecto de dispersión o degradación de las partículas o corpúsculos; observado al realizar múltiples mediciones en la misma posición a bajas concentraciones.

20

(A₀) Estado inicial A₀

(A₁) Estado A₁



(A₂) Estado A₂

(A₃) Estado A₃

(A₄) Estado A₄

(A₅) Estado A₅

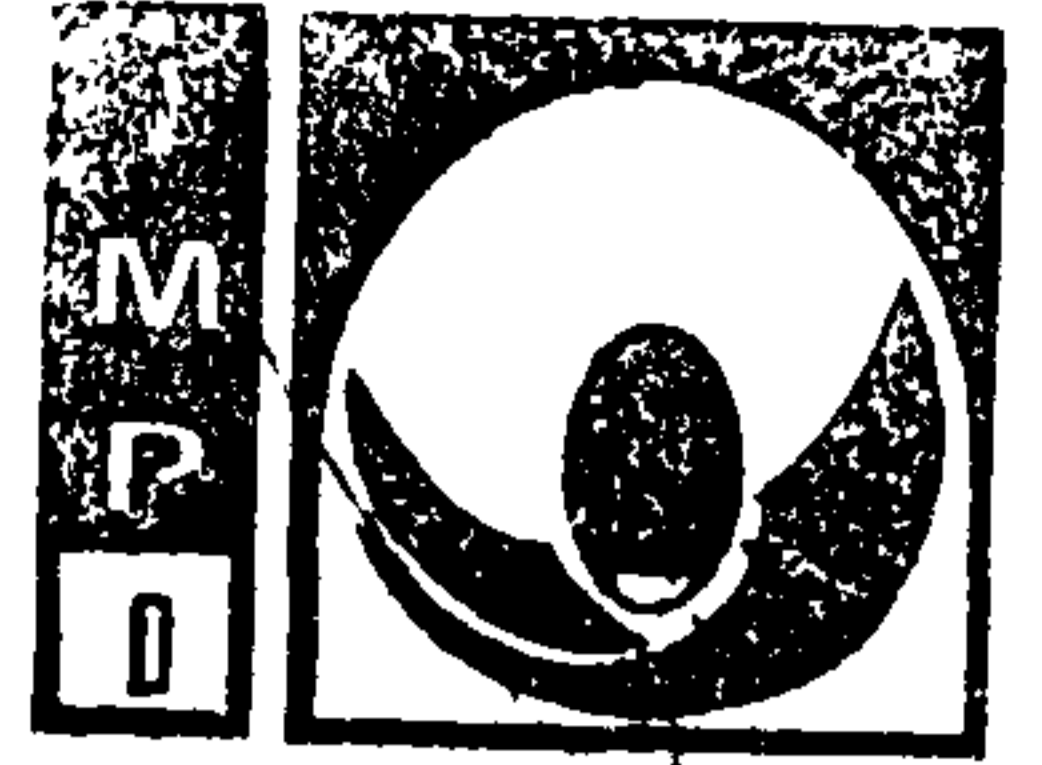
5

Figura 10. Dispositivo en versión portátil, para medición *in situ* sin sistema de flujo.

Figura 11. Dispositivo en versión portátil, para medición *in situ* con sistema de flujo.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La principal aportación de esta invención es el presentar múltiples diseños de un sistema y un dispositivo que, basado en el uso de principios de espectroscopia fotoacústica pulsada (PPAS), permiten la determinación general de los niveles de concentración de sustancias, partículas y/o corpúsculos que se encuentren suspendidos y formen parte de mezclas en medios líquidos. El logro de tal propósito es posible gracias a que adaptaciones particulares de la técnica, implementadas en los múltiples diseños del sistema y dispositivo propuestos, permiten adecuarla para este fin. Dentro de los diseños propuestos se presentan principalmente versiones del sistema y dispositivo que son útiles para análisis *in vitro*, aunque también se presentan diseños alternativos del dispositivo que son adecuados para análisis *in situ*. Por lo que el interés de protección se centra principalmente en los múltiples diseños del sistema y dispositivo propuestos, tanto como en su funcionalidad y metodología de uso.



En la presente solicitud de patente se utilizarán a menudo los conceptos ópticos de transmitancia y absorbancia, por lo que resulta conveniente especificar en esta parte de la misma a que nos referimos con tales conceptos.

5

Transmitancia (T): Es la razón entre las intensidades final del haz $I(z)$ e incidente, o inicial I_0 al atravesar un haz de luz una muestra. Z representa el grosor de la muestra

$$T = \frac{I(z)}{I_0}$$

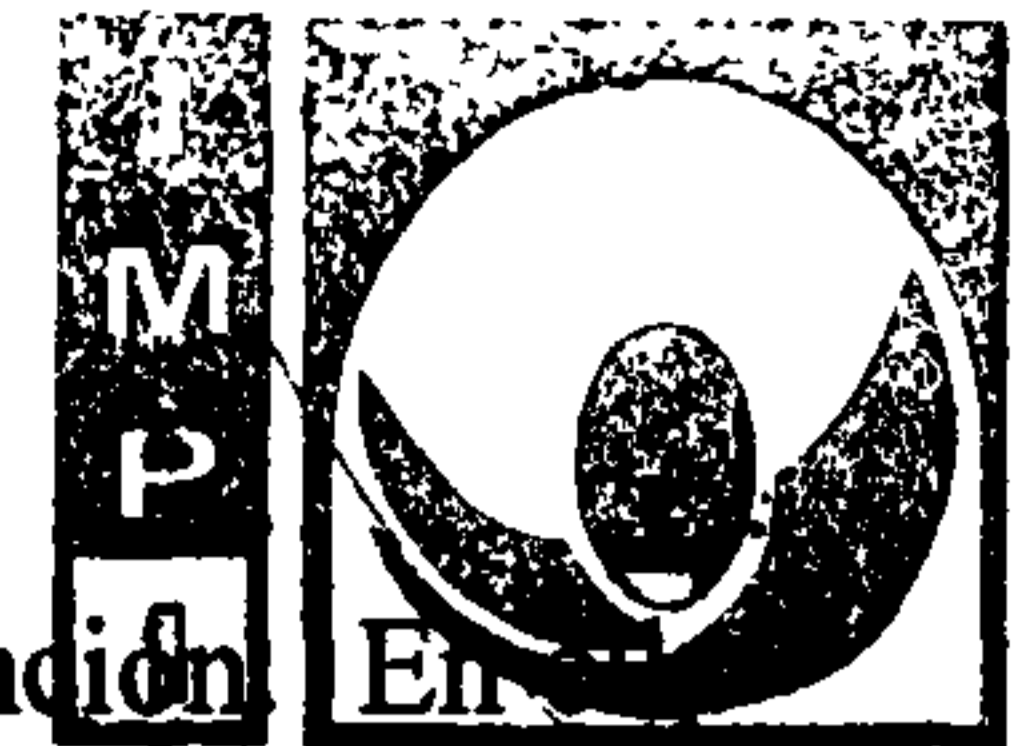
10

La transmitancia es una magnitud sin dimensiones, que adopta valores entre cero y uno. También suele ser expresada como un porcentaje.

15

Absorbancia (A_λ): Se define como el menos logaritmo en base decimal de la transmitancia, y es una forma práctica de expresar la proporción de luz absorbida al pasar por un medio; en especial cuando la proporción de luz absorbida es muy alta, (mayor al 99%, por citar un ejemplo). Matemáticamente ésta definición se expresa como:

$$A_\lambda = -\log_{10} T = \log_{10} \frac{I_0}{I(z)}$$



En la Figura 1A se muestra la forma preferente de llevar a cabo la invención se muestra el uso de un láser pulsado (1), el cual puede ser un láser de Nd: YAG tal como el de la línea Brillant de la marca Quantel, o preferentemente uno de tipo sintonizable como los de la línea Rainbow de la misma marca, compuestos por un oscilador paramétrico óptico (OPO). Éste produce un haz láser (2) que será usado como fuente de estimulación. De manera opcional en ocasiones puede ser conveniente el ser capaz de variar el diámetro del haz láser (2), lo cual puede ser logrado con un sistema óptico de enfoque y colimado (3), el cual puede estar formado por un sistema de lentes móviles o puede ser simplemente un expansor de haz láser, ambos conocidos en la técnica. La radiación láser, una vez seleccionado un diámetro adecuado para el haz, y colimado, es dirigida hacia una celda fotoacústica (4). Naturalmente que para hacer incidir el haz láser (2) en la celda fotoacústica (4), además del método de colocar la celda (4) directamente frontal a la salida del láser pulsado (1), se pueden usar otros métodos tales como pueden ser el dirigir el haz láser (2) con un sistema de espejos o la utilización de fibra óptica, los cuales no se ilustran, pero serán evidentes a los conocedores en la técnica. La celda fotoacústica (4) provee un espacio adecuado para la generación y detección del efecto fotoacústico. Tal celda puede ser elaborada de un material transparente a las longitudes de onda del láser de estimulación o preferentemente puede contar con una ventana de acceso a la radiación láser (5) la cual puede ser intercambiable y hecha de un material de alta transmitancia de acuerdo a la longitud de onda específica de estimulación que se utilice. Esto presenta además las ventajas de que la ventana de acceso a la radiación láser (5) puede ser lo suficientemente delgada (del orden de

100 micrómetros) como para minimizar aun mas los efectos de absorción que todos los materiales presentan de manera natural e inevitable.



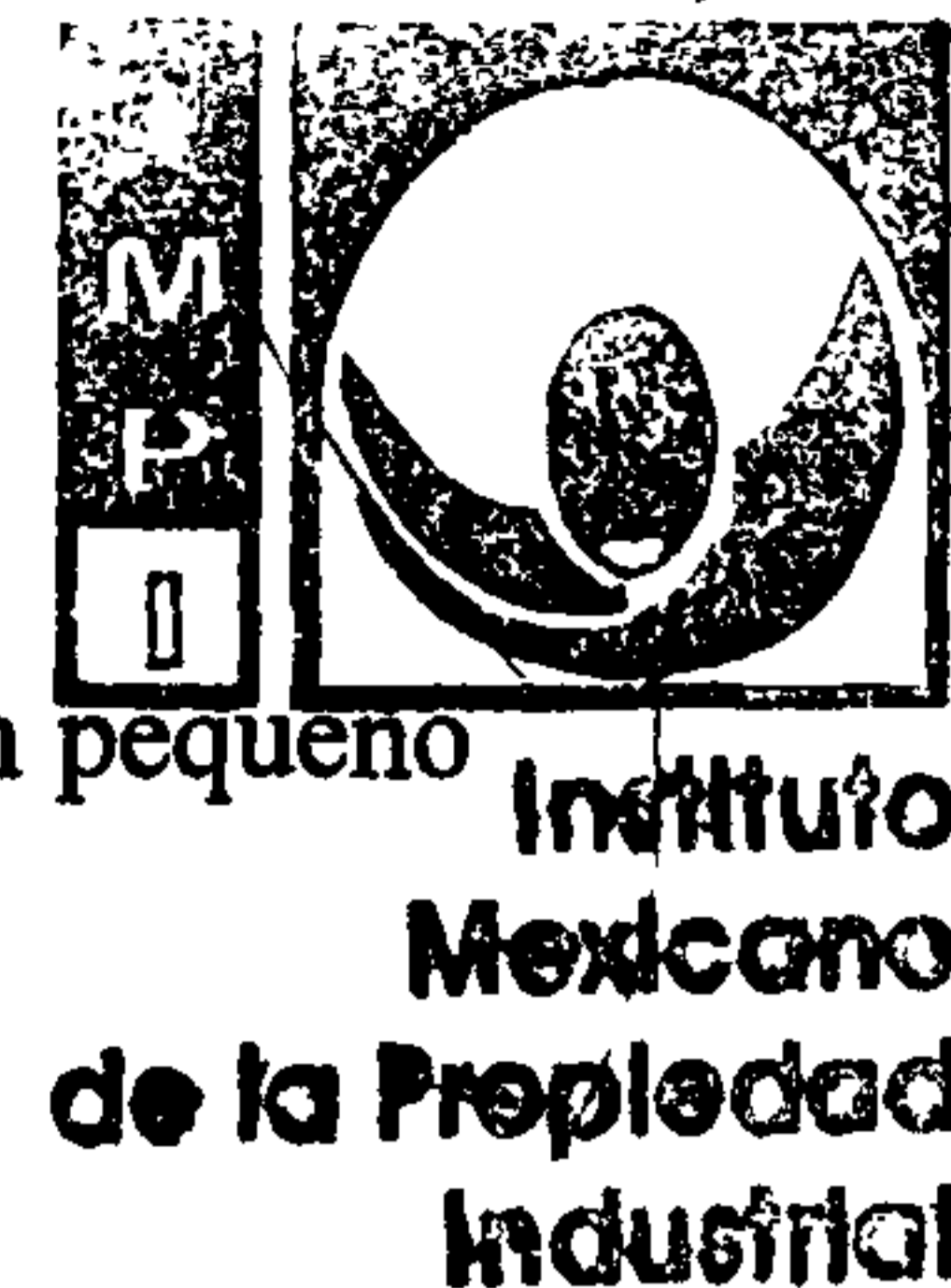
En la Figura 1A se aprecia también la presencia de un sensor piezoeléctrico para
5 detección en modo lateral (6), que puede ser como el Olympus NDT A310S de Panametrics
Inc., u otro que resulte adecuado, el cual se encuentra fuera del camino óptico del haz láser y
perpendicular al mismo. Esta colocación del sensor es especialmente conveniente para la
medición de concentración en mezclas de baja absorbancia óptica, en las que el láser pulsado
genera ondas acústicas de tipo cilíndrico. Un factor importante a tomar en cuenta en el
10 diseño de la celda fotoacústica (4), para decidir el lugar de colocación del sensor
piezoeléctrico (6) en la misma, es que la distancia relativa entre el sensor piezoeléctrico (6) y
las fronteras del medio líquido (las paredes de la celda fotoacústica (4) y la frontera líquido-
aire) debe ser mayor a la distancia entre el espacio de incidencia del haz láser (2), donde se
genera el efecto fotoacústico y el sensor (6). De esta forma se logra que al arribar la señal
15 fotoacústica (PA, por sus siglas en inglés) al sensor, el pulso inicial este libre del efecto de
interferencia que se produce debido a las reflexiones de las ondas acústicas en las fronteras
del medio líquido, las cuales dificultan el análisis.

Debe destacarse que uno de los aspectos mas relevantes de la presente invención
20 proviene de que durante nuestras investigaciones notamos que, particularmente para el caso
de detección y medición de partículas y/o corpúsculos suspendidos en medios líquidos a muy
bajas concentraciones, el hecho de realizar múltiples mediciones en el mismo punto, con el



objeto de obtener una medición mas exacta, por ejemplo por promediación de señales, modifica la distribución y concentración a nivel local del objeto que es medido, de forma que no se obtiene un valor real de su concentración. Esto se ilustra esquemáticamente en la Figura 9, donde se ve como el efecto de sucesivas pulsaciones del láser de estimulación cambia la concentración del objeto de interés en la región iluminada. Esto puede deberse a una combinación tanto de efectos de desplazamiento inducidos por la presión PA, tanto como a efectos de degradación inducidos por la radiación en el objeto medido. En esta invención se proponen múltiples soluciones a este problema. Una de ellas es la de proveer de un sistema de agitación (7), tal como puede ser un agitador magnético u de otro tipo de los conocidos en la técnica. Esto tiene además la ventaja de ampliar la diversidad de muestras analizables, ya que uno de los requisitos esenciales en las muestras es que estas no presenten efectos de aglomeración y que tengan una distribución macroscópicamente homogénea, de forma que la concentración de la sustancia, partícula o corpúsculo de interés en la región analizada por el láser no sea esencialmente diferente de su nivel de concentración en el resto de las regiones de volumen que componen la muestra. Sin embargo, es suficiente con que este requisito se cumpla solo de manera temporal al momento de realizar la medición, lo cual se logra con el sistema de agitación (7).

En algunos casos puede ser suficiente para resolver este problema, y más conveniente, el proveer de un sistema de flujo (12) que resulte apropiado dentro de los conocidos en la técnica, tal como puede ser, por ejemplo, el que se obtiene con el uso de una bomba peristáltica. Tal modo alternativo de construcción, se ilustra esquemáticamente en las figuras



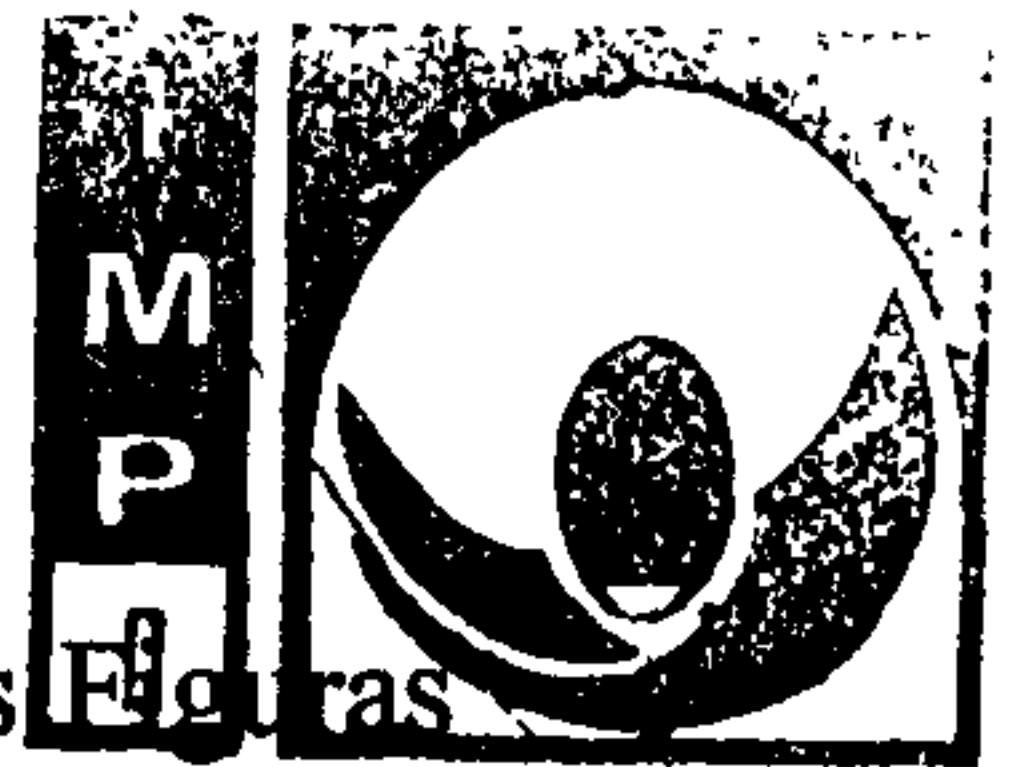
1B y 1C, donde se ilustra el sistema de flujo (12) el cual puede contar, o no, con un pequeño contenedor o reservorio (13) de la muestra.

Debe notarse que una de las variables extrínsecas a la concentración que mas influyen en la medición es la temperatura, dado que el coeficiente de absorción óptica, el cual determina la capacidad de una sustancia de absorber determinada longitud de onda de radiación es dependiente de la misma, y a que a ciertos niveles la temperatura puede degradar algunos de los componentes de la muestra, y así cambiar su absorbancia. Es por esto que en la presente invención se incluye un sistema de regulación de temperatura (9) el cual es retroalimentado por un termómetro (8), tal sistema puede ser una parrilla eléctrica controlada por un termostato u cualquier otro sistema de los conocidos en la técnica que sea útil para este propósito. En nuestras investigaciones observamos que en general se puede obtener buena reproducibilidad para muestras cuya temperatura en diferentes mediciones no varíe en más de ± 0.1 K.

15

La señal fotoacústica obtenida por el sensor piezoeléctrico (6) es enviada a un osciloscopio (10) con una frecuencia de respuesta en el orden de decenas de MHZ, tal como el modelo DPO 2014 de 100 MHz, 1GS/s de la marca Tektronix, y posteriormente la señal de Voltaje vs. Tiempo, capturada en el mismo, es enviada para su análisis a una computadora (11) donde se determina la concentración.

20



La colocación del sensor piezoeléctrico respecto al haz láser mostrada en las Figuras 1A, 1B y 1C es ilustrativa mas no limitativa. La construcción del sistema puede ser modificada de acuerdo al tipo de muestras que se busque analizar. Por ejemplo para el análisis de muestras con absorbancias bajas resulta conveniente el modo lateral, que se ilustra en las mencionadas Figuras 1A, 1B y 1C, ya que el colocar directamente el sensor piezoeléctrico en el camino óptico del haz láser (2) provocaría que grandes cantidades de radiación incidieran directamente sobre el sensor (6), lo que podría dañarlo, además de que la señal PA obtenida se debería en su mayoría a la producida directamente por la incidencia del haz láser (2) sobre el sensor (6). Sin embargo, para muestras con alta absorbancia, mayor o igual a 4 por ejemplo, esta misma absorbancia protege al sensor. Las ondas acústicas generadas en este caso son de tipo esférico, y una colocación frontal al punto de incidencia del láser permite una mejor captura de la señal PA. En la figura 1D se muestra este tipo de sistema, con un sensor piezoeléctrico para detección en modo de transmisión (14).

En la Figura 2A se muestran 3 señales PA típicas, obtenidas para distintas concentraciones de una sustancia de baja absorbancia en un medio líquido absorbente-no esparsor. Con baja absorbancia nos referimos a muestras donde el coeficiente de absorción óptica de la mezcla es del orden de $1 \times 10^{-1} \text{ cm}^{-1}$ y en la cual los cambios de concentración de la sustancia de interés provocan cambios en el coeficiente de absorción óptica de la mezcla del orden de $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$ para la longitud de onda con que la muestra es irradiada. En la Figura 2A se puede apreciar que la señal inicia a los $13 \mu\text{s}$ de disparado el pulso láser, lo cual indica que, dado que el medio líquido utilizado en este caso es agua, en la que la velocidad de

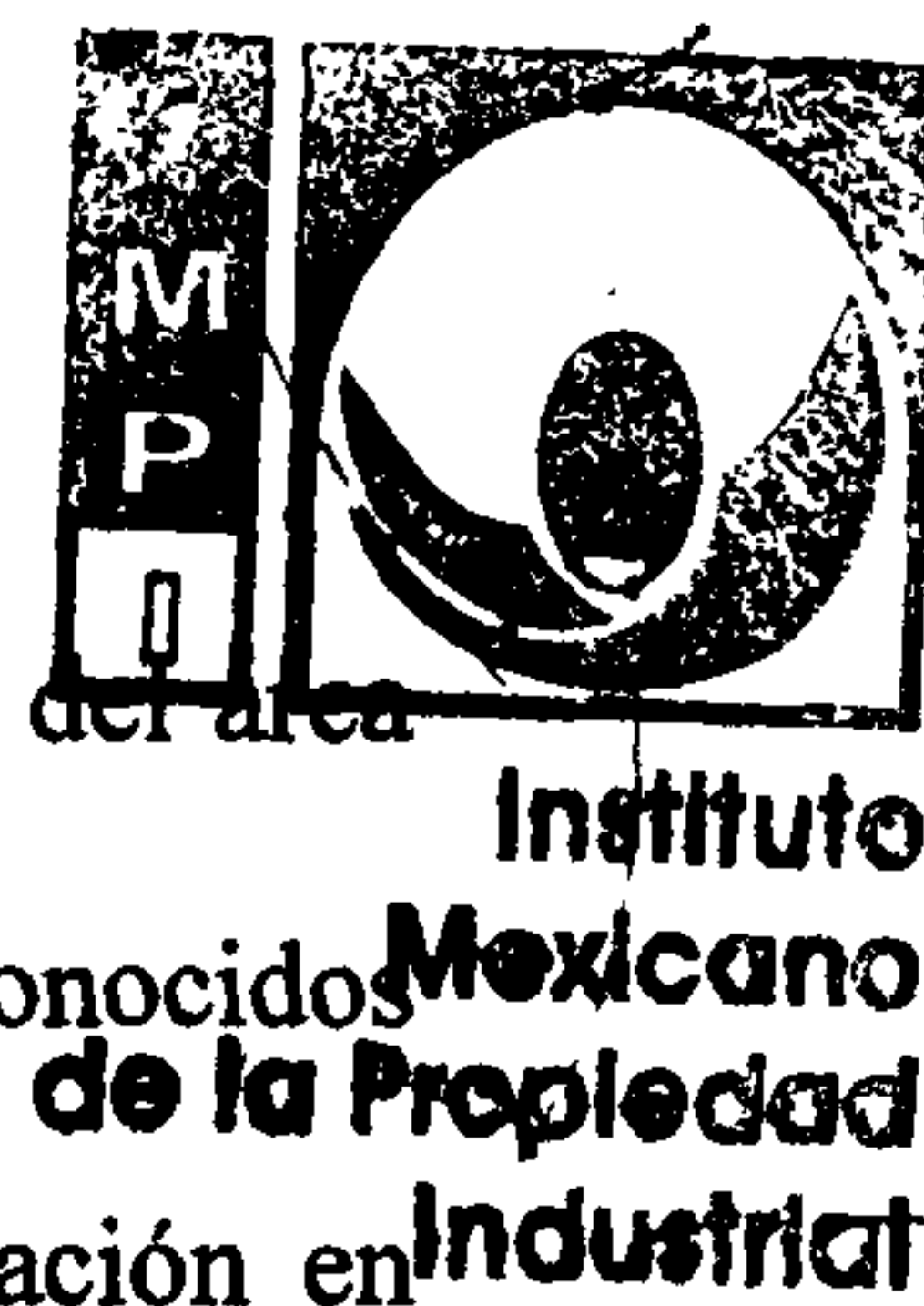


la onda PA es de $1.5\text{mm}/\mu\text{s}$, el sensor se encuentra a una distancia de 19.5mm del punto de generación de la señal PA. Así mismo, se puede apreciar cómo el valor máximo de la amplitud, y el mínimo, dependen claramente de la concentración de la sustancia de interés.

La señal se muestra libre del efecto de interferencia con ondas acústicas reflejadas en la frontera del medio hasta los $24\mu\text{s}$ debido a que, como se señaló anteriormente, se construyó la celda fotoacústica (4) de forma que las distancias sensor(6)-fronteras, retrasaran la aparición de reflexiones acústicas.

En la Figura 2B se muestra un ajuste lineal para puntos experimentales obtenidos para distintas concentraciones de una sustancia de baja absorbanza (donde los cambios en la concentración de la sustancia de interés provocan cambios en el coeficiente de absorción óptica de la mezcla del orden de $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^{-1}$, a la longitud de onda con que la muestra es irradiada) en un medio absorbente-no espesor. Los puntos graficados corresponden al primer pico, o máximo, de las señales PA, tales como las mostradas en la Figura 2A. Las barras de error mostradas corresponden a la desviación estándar obtenida para el promedio de diez mediciones realizadas para cada concentración medida.

Cabe mencionar que en nuestros experimentos a baja absorbanza, el primer pico de la señal PA, o máximo, fue uno de los parámetros que mostró mayor correlación con la concentración. Como se verá, sin embargo, en distintas condiciones se pueden usar otros parámetros de la curva que correlacionen mejor la señal PA obtenida con la concentración, tales como pueden ser, por ejemplo, el valor del segundo pico, o mínimo; el valor absoluto de



la diferencia de amplitud pico-pico para el máximo y el mínimo; el valor absoluto del área bajo la curva; la pendiente entre valores absolutos máximos, u otro de los métodos conocidos en la técnica utilizados para análisis de espectro para determinación de concentración en espectroscopia de absorción ultravioleta/visible (UV/VIS) que resulten adecuados, u otro método de correlación matemático los cuales serán evidentes a un conocedor en la técnica.

En términos generales la metodología propuesta para la determinación de concentraciones utilizando el sistema o los diseños del dispositivo propuesto, requieren la utilización de una curva de calibración que esté en función del o los parámetros que resulten adecuados de la señal PA, de acuerdo al tipo de muestra. Tales curvas de calibración pueden ser construidas fácilmente de forma manual o automatizada, creando o utilizando software adecuado para este propósito. Estas curvas de calibración pueden ser creadas por el usuario al mismo tiempo que se podrían proporcionar para los tipos de muestras mas comunes en bases de datos, ya sea en software para PC o programadas en los circuitos de algunas de las variantes de diseños del dispositivo propuestas. En la presente solicitud de patente se ilustra, a manera de ejemplo, la elaboración de tales curvas de calibración utilizando mínimos y máximos de la señal PA y realizando ajustes, lineal para bajas absorbancias, y logarítmico para altas absorbancias.

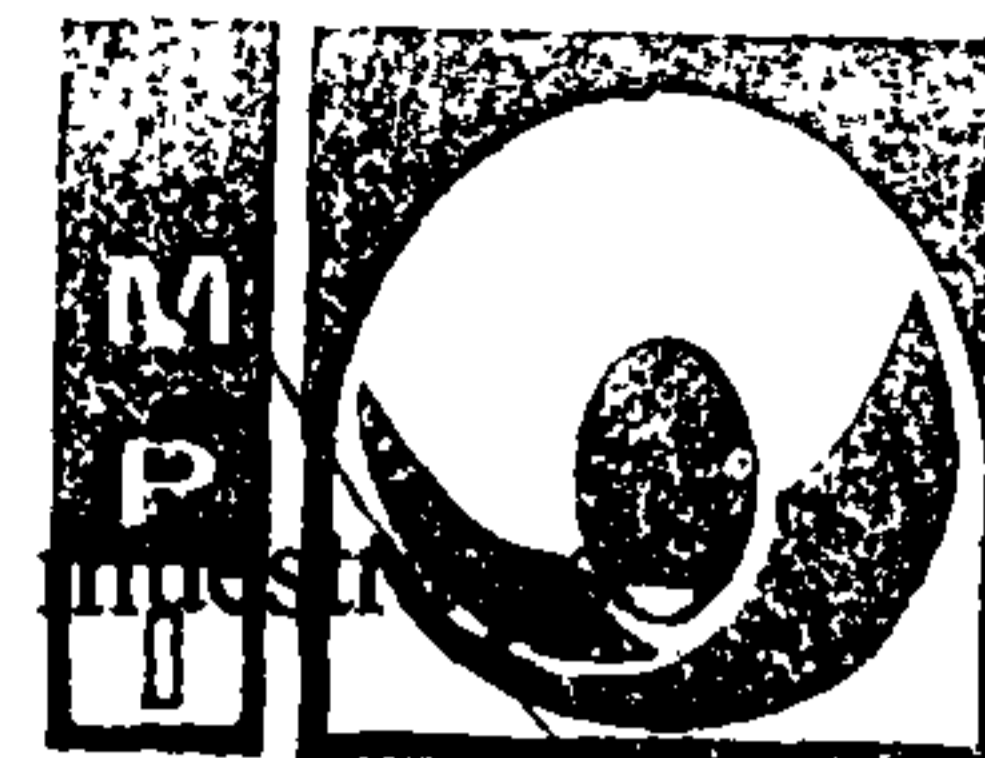
En la Figura 3A se muestran 4 señales PA típicas, obtenidas para distintas concentraciones de una sustancia de baja absorbancia en un medio líquido turbio, absorbente-esparsor. Como puede apreciarse, para el caso de muestras en medios líquidos absorbentes-



esparsores, se obtiene la señal PA desde el momento en que se dispara el pulso láser. Esto debe a que, por efectos del esparcimiento, el haz láser (2) se difunde en el medio, y ocasiona simultáneamente la generación del efecto fotoacústico en múltiples regiones, llegando incluso una parte de la radiación al mismo sensor piezoeléctrico (6). En consecuencia, se observa una señal PA en tiempos cercanos a cero. La señal más importante y de mayor amplitud sigue proviniendo, sin embargo, de la región misma de incidencia directa del láser sobre la muestra. Esta señal arriba al sensor (6) a los $13\mu\text{s}$ y, como se puede apreciar, su amplitud máxima es fuertemente dependiente de la concentración. Otro aspecto importante que se puede observar en la Figura 3A, es que la magnitud de la señal PA se atenúa, comparada con la de la figura 2A, donde no hay esparcimiento, esto es debido a que la radiación efectiva que incide directamente sobre la muestra se reduce por los efectos del esparcimiento.

En la Figura 3B se muestra un ajuste lineal para puntos experimentales obtenidos para distintas concentraciones de una sustancia de baja absorbancia en un medio absorbente-esparsores. Los puntos graficados corresponden al promedio del valor del pico más alto, o máximo de las señales PA para diez mediciones realizadas para cada concentración. Esto para señales tales como las mostradas en la Figura 3A.

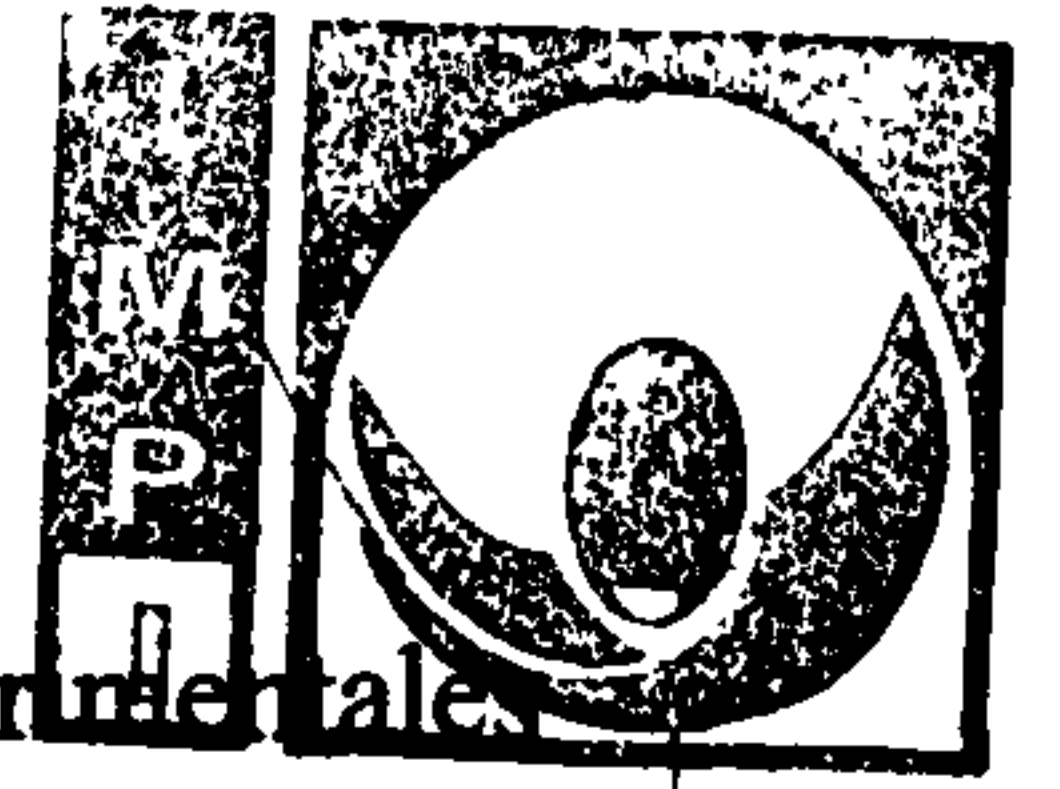
En la Figura 4A se muestran señales PA típicas correspondientes al promedio de 16 pulsos para cada concentración medida de la sustancia de interés, obtenidas para muestras absorbentes-no esparsores en un rango amplio de absorbancias. Con esto nos referimos a



mezclas con absorbancias bajas, (donde el coeficiente de absorción óptica de la muestra del orden de $1 \times 10^{-1} \text{cm}^{-1}$ y donde cambios en la concentración de la sustancia de interés provocan cambios en el coeficiente de absorción óptica de la mezcla del orden de 10^3cm^{-1} para la longitud de onda con que la muestra es irradiada) a muy altas, donde el coeficiente de absorción óptica alcanza valores de hasta 600cm^{-1} , incluso, para la longitud de onda con que se irradie a la mezcla. La razón de tomar 16 señales para cada concentración y promediarlas se debe a que la promediación de señales en este caso permite una determinación más exacta. En ellas se puede apreciar como el segundo pico es el que muestra mayor correlación con la concentración. Debe hacerse notar que el hecho de que en la Figura 4A el primer pico sea negativo, y el segundo positivo, a diferencia de lo que ocurre en la Figura 2A, solo es debido a la polaridad utilizada en el osciloscopio. En todo caso lo importante es destacar que, para el caso de rangos amplios en las absorbancias, el valor absoluto del segundo pico muestra mayor correlación con la concentración de la sustancia de interés que el primer pico.

En la Figura 4B se muestra una grafica \log_{10} -lineal Concentración vs. Voltaje donde los puntos graficados corresponden al valor absoluto del segundo pico, o máximo de las señales PA mostradas en la figura 4A.

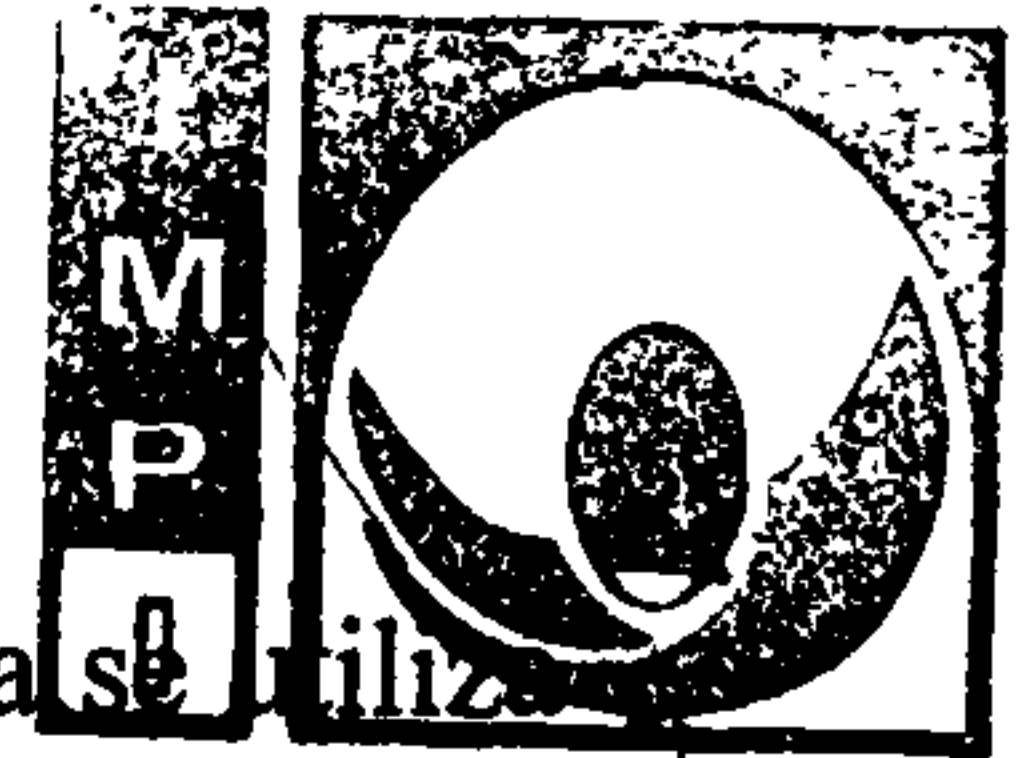
En las Figuras 5A y 5B se muestran Señales PA típicas obtenidas para muestras turbias, absorbentes-esparsoras, con diferentes concentraciones del elemento de interés en un rango amplio de concentraciones. Las señales mostradas fueron obtenidas con un solo pulso.



En la Figura 5C se muestra una grafica Log_{10} -Lineal para los puntos experimentales obtenidos correspondientes al valor absoluto del segundo pico, o máximo, de las señales mostradas en las figuras 5A y 5B. Es de destacar que estos valores fueron obtenidos para muestras turbias (absorbentes-esparsoras) y para una concentración máxima donde el coeficiente de absorción estimado para la sustancia de interés a la longitud de onda irradiada es de 600cm^{-1} .

Es, al ser capaz de determinar concentraciones de sustancias en estas condiciones, que nuestras adaptaciones particulares a la técnica fotoacústica, nuestro sistema y los múltiples diseños del dispositivo por nosotros propuesto, muestran sus mayores virtudes, pues superan ampliamente dos de las principales limitaciones de una de las técnicas mas conocidas en el estado del arte, la espectroscopia UV/VIS; que son las de ser capaz de ser útil en la caracterización de muestras turbias, absorbentes y esparsoras, y el ser capaz de analizar muestras en un rango tan amplio para la absorbancia. La espectroscopia UV/VIS funciona adecuadamente hasta absorbancias menores o iguales a 4 a lo sumo, mientras que nuestro método, sistema y diseños del dispositivo propuesto, permiten analizar muestras con absorbancias mayores a 250, con coeficientes de absorción óptica del orden de 600cm^{-1} .

Una forma alternativa de obtener múltiples mediciones y evitar el problema descrito anteriormente, de que se pueda modificar la concentración del objeto de interés por el efecto de mediciones sucesivas, es el medir cada vez en distintos puntos.



Un diseño alternativo para permitir esto se muestra en la Figura 6. En ella se utiliza un sistema de espejos para dividir el haz láser (2). Esto es útil para cuando solo se cuenta con un láser pulsado (1). En este diseño, el haz láser (2) es dirigido hacia un espejo semitransparente primario (1501) el cual tiene la propiedad de permitir el paso, a través de él, del 50% de la radiación, mientras que el otro 50% es reflejado. El 50% que es transmitido es dirigido a un espejo reflector primario (1601) que refleja el 100% de la radiación que recibe. Esto divide el haz láser (2) en dos haces secundarios (202A) y (202B) que tienen un 50% de la energía del haz original (2).

Este sistema de división del haz puede ser usado múltiples veces, hasta tener el número de haces necesario. En la Figura 6 se ilustra como estos haces secundarios (202A) y (202B) pueden dirigirse nuevamente a espejos semitransparentes secundarios (1502A) y (1502B) y la parte de la radiación transmitida a espejos reflectores secundarios (1602A) y (1602B), los cuales reflejan idealmente el 100% de la radiación láser, de forma que se haga llegar a la muestra 4 haces terciarios (203A), (203B), (203C), (203D) cada uno con 1/4 de la energía de haz láser original (2). Correspondientemente la señal generada por cada uno de estos haces terciarios puede ser detectada por un sensor piezoeléctrico (6A), (6B), (6C) y (6D). Es evidente que una vez dividido el haz se pueden usar también múltiples métodos para hacer incidir la radiación sobre la muestra, tales como el uso de espejos adicionales o de guías ópticas (fibras ópticas).



Naturalmente, también es posible, y en algunos casos es más conveniente, mover el punto de incidencia del haz láser (2) y el sensor piezoeléctrico (6) y/o (14), simultáneamente, para realizar cada medición.

- 5 Un diseño alternativo más se muestra en la Figura 7, donde se utiliza un láser de estimulación (1A), (1B), (1C) y (1D) y un sensor (14A), (14B), (14C) y (14D) para cada punto que es medido. En este caso pueden usarse láseres pulsados compactos de tipo semiconductor.
- 10 La colocación del o los sensores piezoeléctricos ya sea para detección en modo lateral (6) o en modo de transmisión (14) mostrada en las figuras 1A, 1B, 1C, 1D, 6, 7, 8A, 10 y 11 deben entenderse como solo ilustrativas, pudiendo los sensores colocarse en un modo u otro para cada uno de los diseños mostrados, según sea conveniente en cada caso, de acuerdo al tipo de muestra que se busque analizar.
- 15
- 20 En la Figura 8A y 8B se muestran el interior y exterior, respectivamente, de una versión compacta y portátil del dispositivo, adecuada para el análisis de muestras *in vitro*. En el dispositivo el control de los diversos componentes involucrados en el proceso de análisis, la adquisición de datos de los sensores, la comunicación con el usuario a través de la pantalla (19) y los controles (20) y la interpretación automatizada de los resultados según la metodología que se ha descrito, puede realizarse en una unidad de procesamiento y control (17) construida y programada *ad hoc* utilizando técnicas conocidas en la electrónica.



Finalmente en las Figuras 10 y 11 se muestra una versión portátil del dispositivo, para análisis *in situ*, de las muestras, sin y con sistema de flujo, respectivamente. Estas versiones son útiles para determinación de concentraciones en grandes contenedores, tales como pueden ser tanques o cisternas, o incluso se pueden usar para medición en presas y lagunas. Presentando, sin embargo, la desventaja de que no son capaces de controlar la temperatura a la que se realizan las mediciones, sino solo de determinarla, además de que al no poder generar temporalmente una distribución macroscópicamente homogénea de manera temporal en las muestras por efectos de agitación, solo se pueden usar en muestras en las que el elemento de interés ya presente esta distribución en la mezcla *per se*. Esto limita la diversidad de muestras analizables respecto a las otras versiones propuestas del dispositivo, lo que se compensa por la conveniencia de poder realizar las mediciones *in situ*, que en determinadas ocasiones es lo único posible o adecuado.

En la presente descripción detallada se ilustra preferentemente el uso del método, sistema y múltiples diseños del dispositivo propuesto para la medición de concentraciones; sin embargo el método, sistema y múltiples diseños del dispositivo propuesto, también pueden ser utilizados para la caracterización de otras propiedades físicas y químicas de las muestras, tales como, enunciando, pero no limitando: la absorbancia, el coeficiente de absorción óptica, la velocidad del sonido en el medio, la profundidad o ubicación de un objeto absorbente de radiación y otras mas las cuales serán evidentes a los conocedores en la técnica, sin requerir modificaciones que se aparten de la esencia de lo previamente descrito,

las cuales deberán entenderse como contenidas dentro del alcance de la presente
tal y como es definido por el alcance de las siguientes reivindicaciones:



REIVINDICACIONES



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

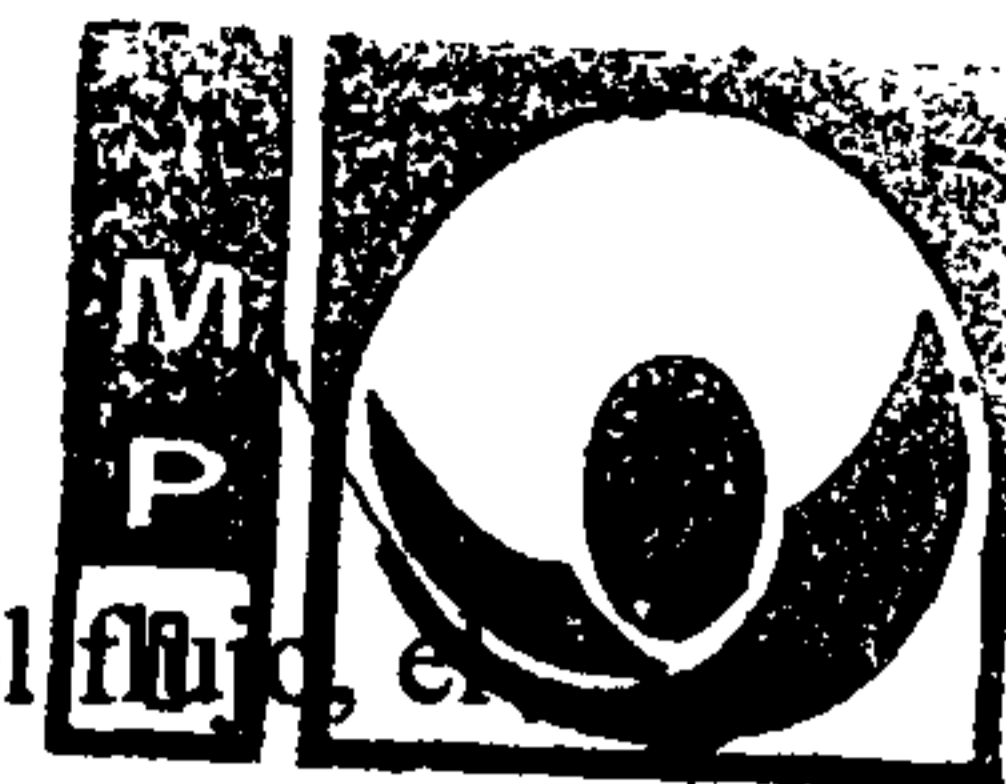
Habiendo descrito suficientemente la presente invención, se considera como novedad y por lo tanto se reclama como de nuestra exclusiva propiedad, lo contenido en las siguientes

5 cláusulas:

- 1.- Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in vitro* e *in situ* de Concentración de Substancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos el cual comprende de un (1) Láser pulsado preferentemente sintonizable, que emite un (2) haz láser, el cual

10 pasa a través de un (3) sistema óptico de enfoque y colimado (para aumentar o disminuir el diámetro del haz láser y colimarlos), y es dirigido hacia una (4) celda fotoacústica la cual cuenta con una (5) ventana transparente a la radiación láser para su acceso a la muestra. Se utiliza un (6) sensor piezoeléctrico para la detección en modo lateral (perpendicular al camino óptico del haz láser y adyacente al mismo), La

15 celda fotoacústica cuenta también con un (7) sistema de agitación, un (8) sensor de temperatura (termómetro, termopar, pirómetro, etc.), y un (9) sistema de regulación de temperatura (resistencia, etc., retroalimentado por el sensor de temperatura). El sensor piezoeléctrico se conecta a un (10) osciloscopio, y éste a su vez a una (11) computadora.
- 20 2.- Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in Vitro* e *in situ* de Concentración de Substancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos, como se reivindica en 1, donde se resuelve el problema técnico para muestras que se caracterizan por



estar en flujo continuo, añadiendo un dispositivo (12) y (13) que provoque el flujo, el cual puede ser preferentemente una bomba, o caída por gravedad.

- 3.- Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in vitro* e *in situ* de Concentración de Substancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos, como se reivindica en 1, donde se resuelve el problema técnico para muestras que se caracterizan por estar a temperatura constante, utilizando una celda fotoacústica (4) aislada y en un baño térmico controlado con un error en la precisión y exactitud menor o igual a $\pm 0.1K$.
- 4.- Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in vitro* e *in situ* de Concentración de Substancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos, como como se reivindica en 1, donde se resuelve el problema técnico para muestras que se caracterizan por requerir múltiples mediciones en diferentes posiciones de la celda fotoacústica (4), añadiendo un sistema de división (1501), (1502A), (1502B), (1601), (1602A) y (1602B) del haz láser (2) y múltiples sensores (6A), (6B), (6C), (6D), (14A), (14B), (14C), y (14D).
- 5.- Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in vitro* e *in situ* de Concentración de Substancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos, como como se reivindica en 1, donde se resuelve el problema técnico para muestras que se caracterizan por requerir múltiples mediciones en diferentes posiciones de la celda



fotoacústica (4), añadiendo un un sistema de múltiples láseres (1A), (1B), y múltiples sensores en disposición perpendicular (6A), (6B), (6C) y (6D), o en disposición frontal (14A), (14B), (14C), y (14D).

- 5 6.- Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in vitro* e *in situ* de Concentración de Substancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos, como se reivindica en 1, 4 y 5, que se caracteriza por las dimensiones de la celda fotoacústica (4) y la separación entre el punto de generación de la onda acústica, las paredes de la celda fotoacústica (4) y la posición de detección del (6) o (14) o los sensores piezoeléctricos
- 10 (6A), (6B), (6C), (6D), (14A), (14B), (14C), y (14D), es tal que permita que la señal fotoacústica generada por la muestra llegue a los sensores antes que la señal fotoacústica reflejada en las paredes de la celda.
- 7.- Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in vitro* e *in situ* de Concentración
- 15 de Substancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos, según la reivindicación 1, 2, 3, 4, y 5 el cual se caracteriza por que puede ser portátil.
- 8.- Método para la determinación de concentraciones de sustancias, partículas y/o corpúsculos en medios líquidos basado en el uso de la PPAS. El método se
- 20 caracteriza por las siguientes etapas:
- (a) **Preparación de la muestra:** La muestra de interés, debe estar en agitación continua por el sistema (7), se expone a la radiación láser (2) pulsada de una



longitud de onda conveniente, la cual al ser absorbida produce el efecto fotoacústico (súbito cambio de temperatura y volumen en la zona iluminada de la muestra, esto origina un cambio de presión en los alrededores en la que se propaga) y posteriormente se detecta con sensores de tipo piezoeléctrico (6).

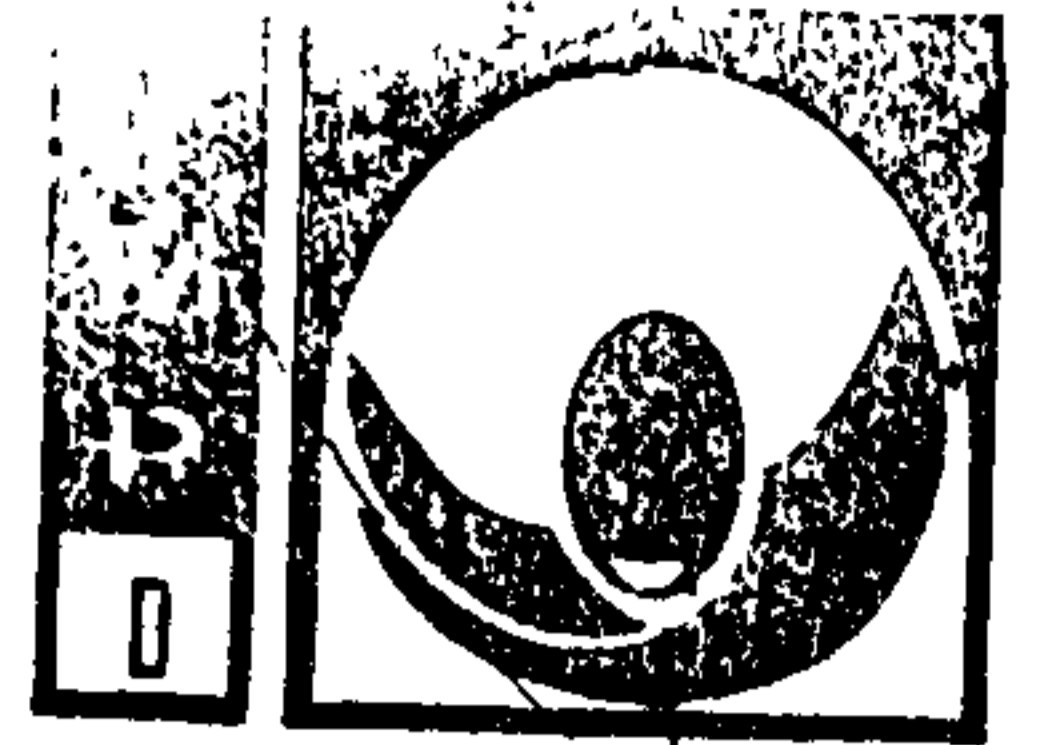
- 5 (b) **Arreglos de instrumentación para de medición de la señal eléctrica generada por el efecto fotoacústico en los sensores piezoeléctricos.** El o los sensores piezoeléctricos transforman la señal mecánica en una señal eléctrica que se interpreta en el osciloscopio (11). La señal eléctrica se almacena preferentemente en una computadora (11) o cualquier dispositivo electrónico de procesamiento (17) para ser analizada.
- 10 (c) **Análisis de la señal eléctrica,** consiste en: (c.1) determinar la amplitud máxima de la señal eléctrica del piezoeléctrico (c.2) graficar la amplitud máxima de la señal eléctrica en función de la concentración de la sustancia a medir (c.3) para muestra en la que no se conoce su concentración, se obtiene la
- 15 señal eléctrica que genere la muestra y se recurre al paso (c.2) para comparar y determinarla.
9. **Los usos del Dispositivo Fotoacústico Pulsado para la Medición *in vitro* e *in situ* de Concentración de Sustancias, Partículas y/o Corpúsculos en Medios Líquidos tal como el reclamado en las cláusula 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 así como el método reclamado en**
- 20 **8, los cuales se caracterizan, mas no se limitan para el control de procesos y verificación de calidad en distintas industrias como la química, de alimentos, la**

farmacéutica, y para la toma de decisiones en medicina. Detectar glucosaminoglicanos en alimentos o plasma sanguíneo, y partículas contaminantes suspendidas en sistemas acuosos, son tres ejemplos de la aplicación de nuestra invención.



- 5 Todo lo anterior en conjunto permite el uso del presente dispositivo, descrito en las reivindicaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7 así como para la determinación de los niveles de concentración de sustancias, partículas y/o corpúsculos en toda la generalidad de mezclas donde las mencionadas sustancias, partículas o corpúsculos de interés se encuentren suspendidos en medios líquidos al momento de la medición, ya sea que estas mezclas sean
- 10 solo absorbentes-no esparsoras o turbias (absorbentes-esparsoras), ya sea que sean de baja absorbancia o de muy alta, con coeficientes de absorción óptica de hasta 600cm^{-1} ; y que, dentro de sus múltiples diseños, este puede ser portátil y adaptable para análisis in situ, incluso.

RESUMEN



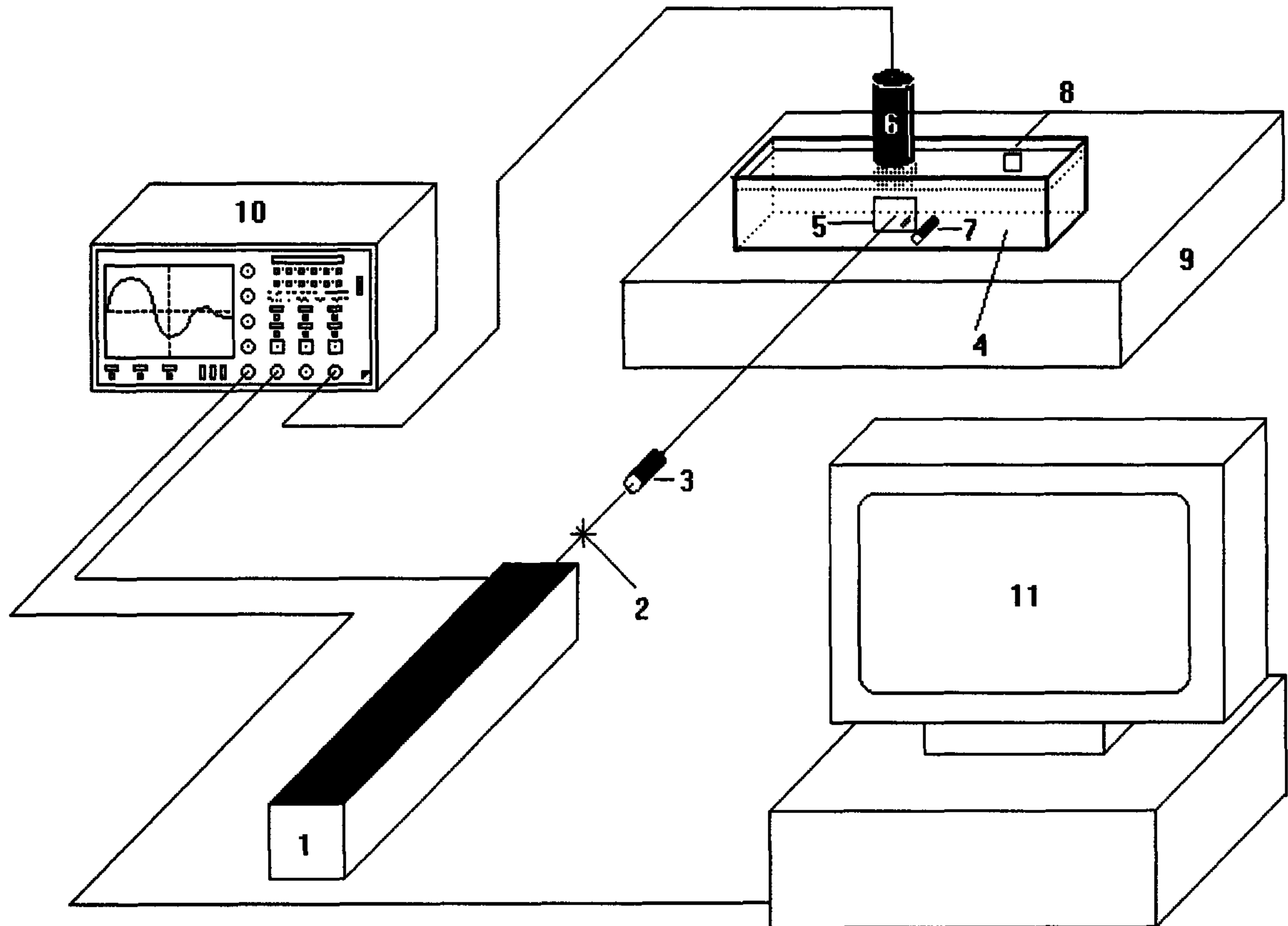
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

Sistema y dispositivo fotoacústico pulsado para análisis *in vitro* e *in situ*, el cual es utilizado para determinar los niveles de concentración de sustancias, partículas y/o corpúsculos en toda la generalidad de mezclas en medios líquidos, ya sea que estas mezclas sean solo absorbentes-no esparsoras o turbias (absorbentes-esparsoras), ya sea que sean de baja absorbancia o de muy alta, con coeficientes de absorción óptica de hasta 600cm^{-1} , incluso. En el sistema y dispositivo la muestra es expuesta a radiación láser pulsada de una longitud de onda conveniente, la cual, al ser absorbida, produce una onda acústica que es detectada y es posible correlacionar con la concentración del elemento de interés. Se controla la temperatura de la muestra y se proveen medios de agitación y de flujo que permiten adaptar la metodología de análisis a cada tipo de muestra. El sistema y dispositivo se pueden utilizar a su vez para la caracterización de otras propiedades físicas y químicas tales como: la absorbancia, el coeficiente de absorción óptica, la velocidad del sonido en el medio y la profundidad o ubicación de un objeto absorbente de radiación entre otras.

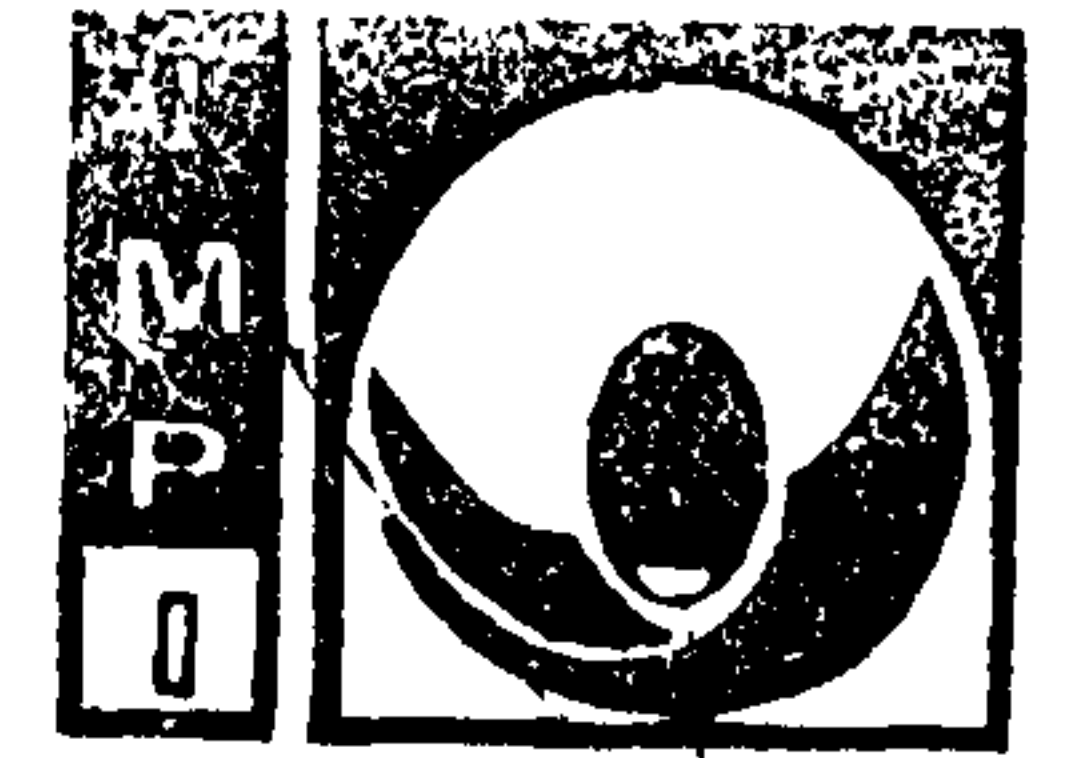
1/19
Figura 1A



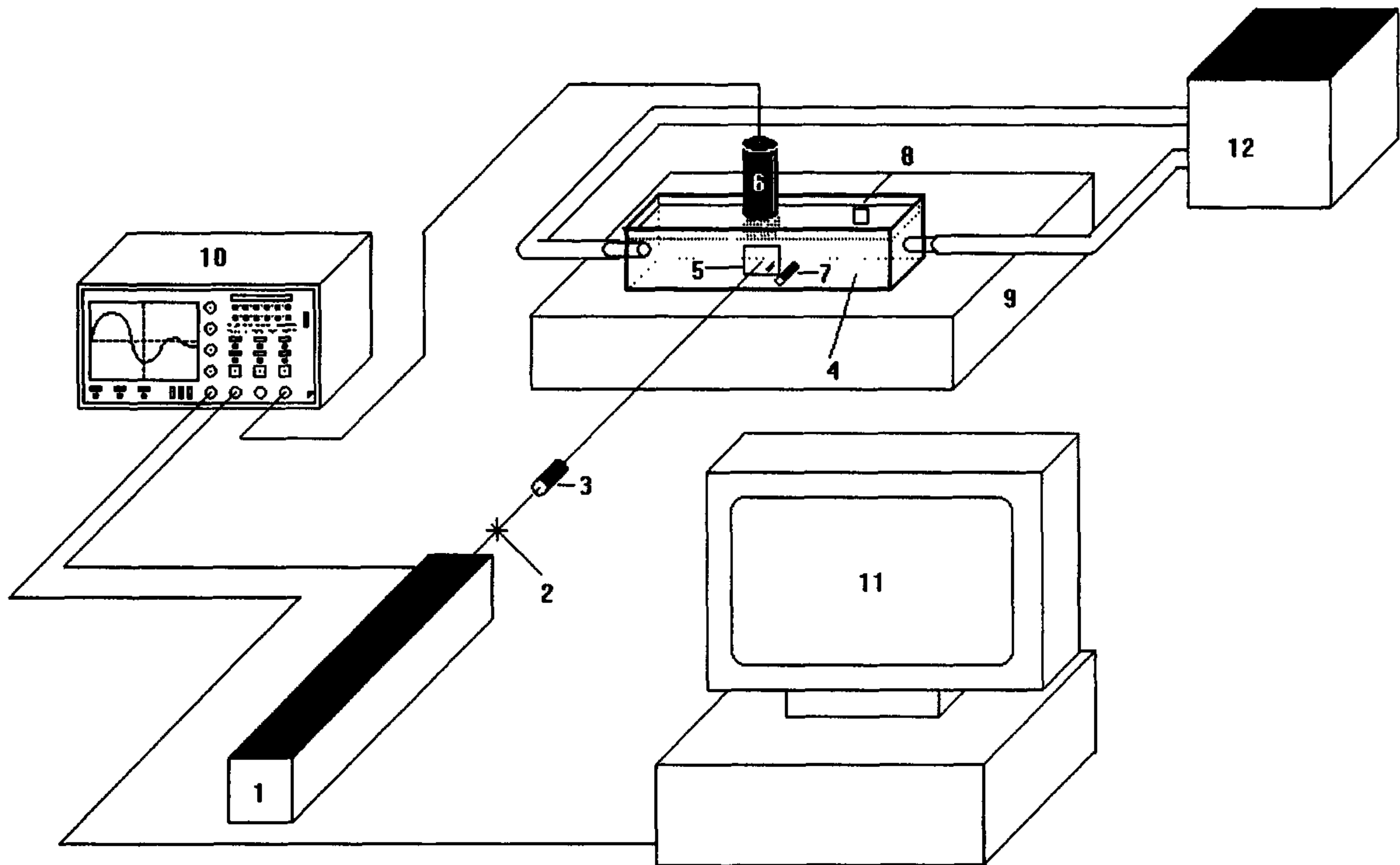
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



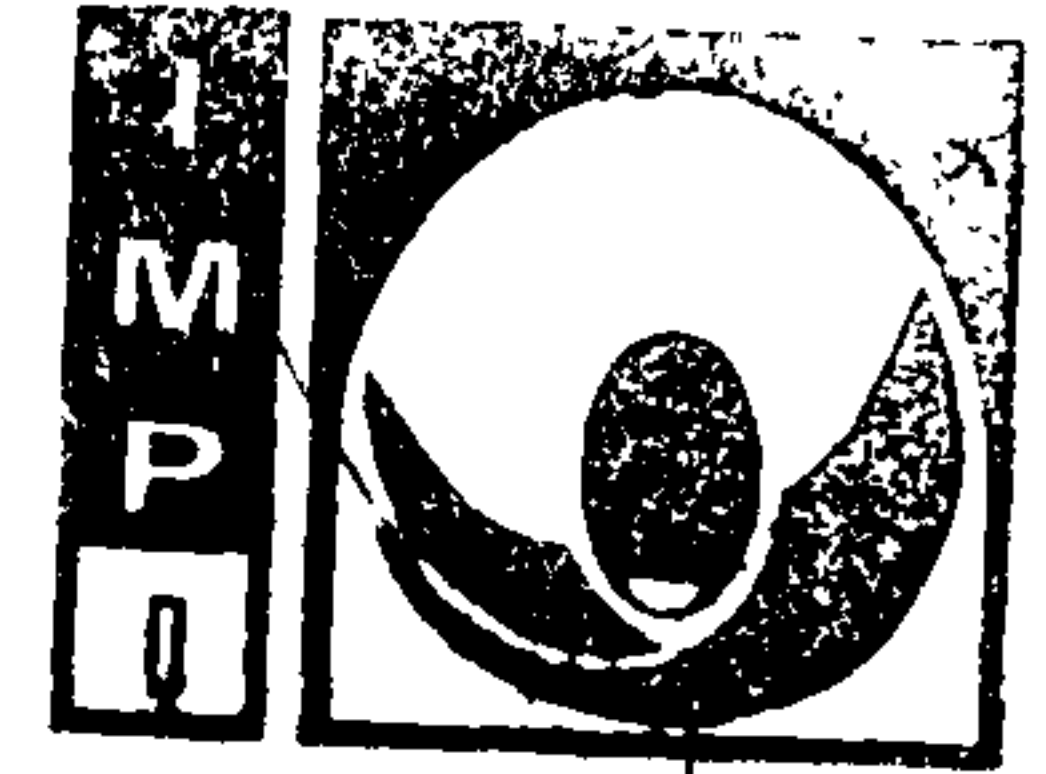
2/19
Figura 1B



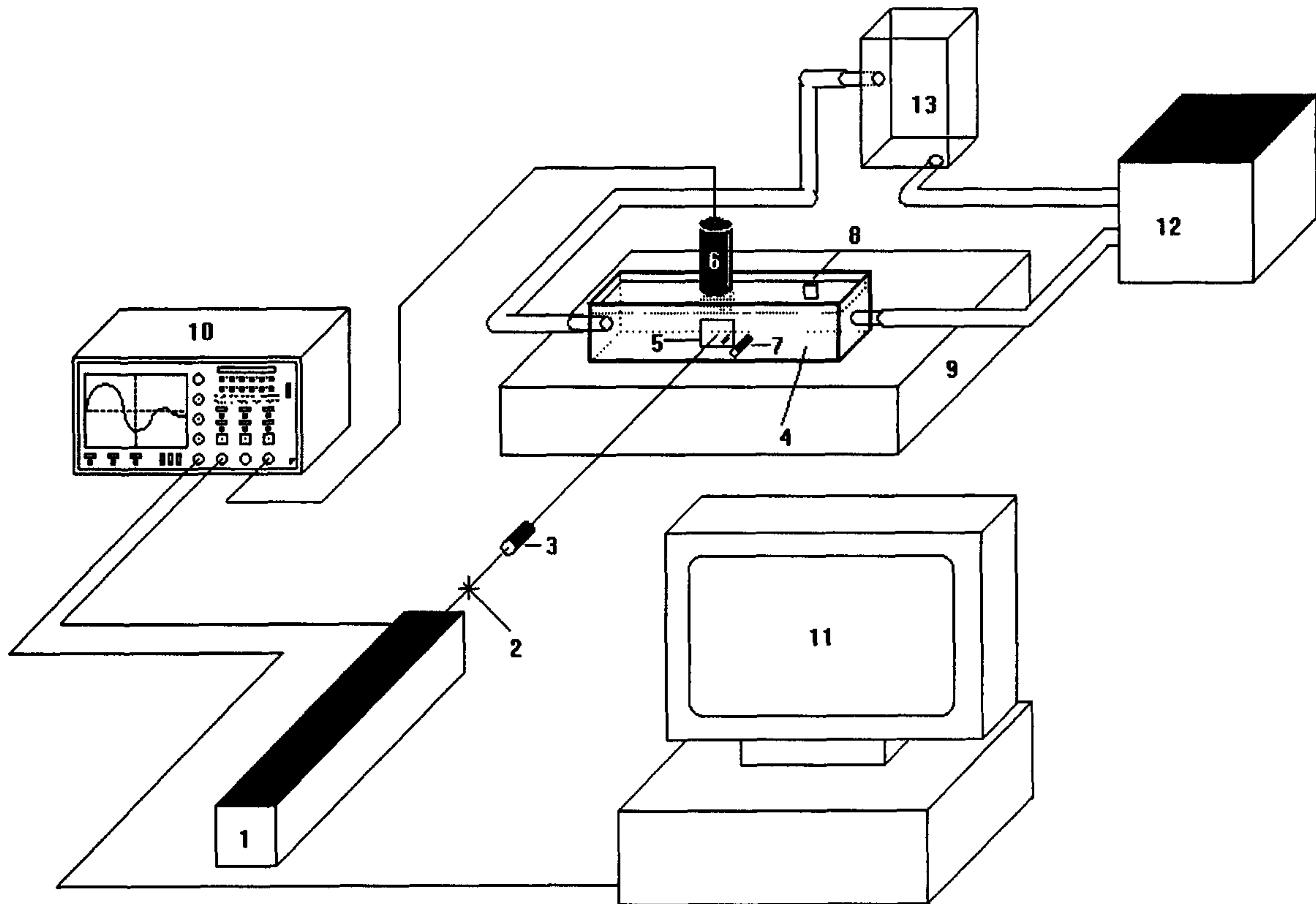
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



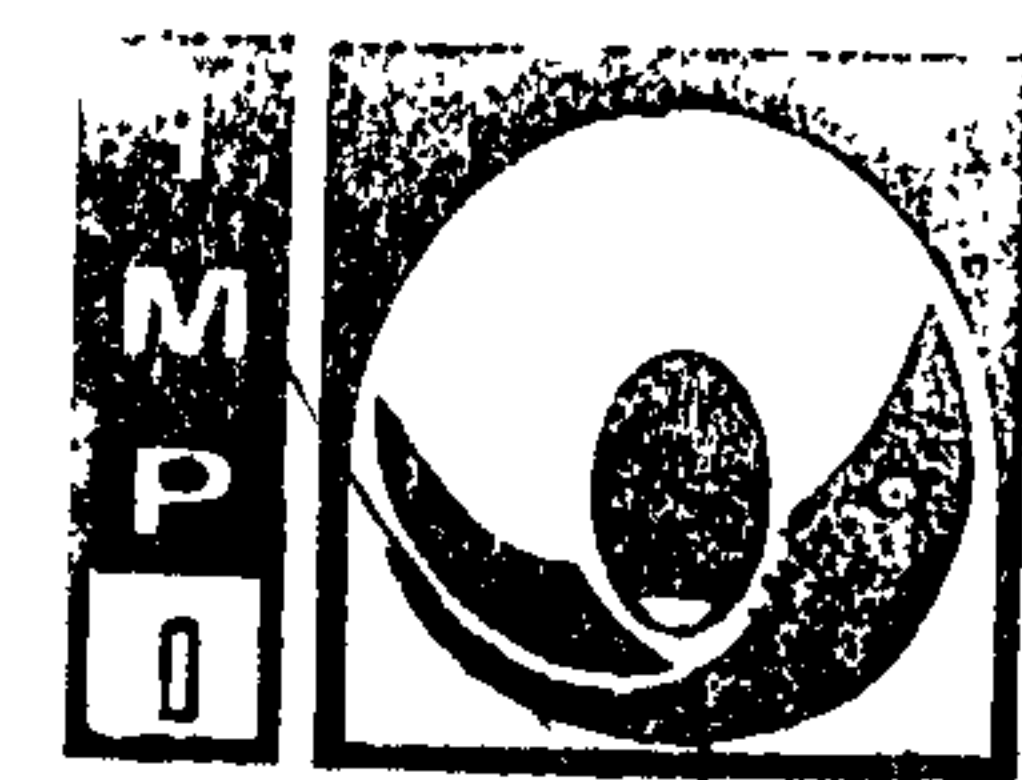
3/19
Figura 1C



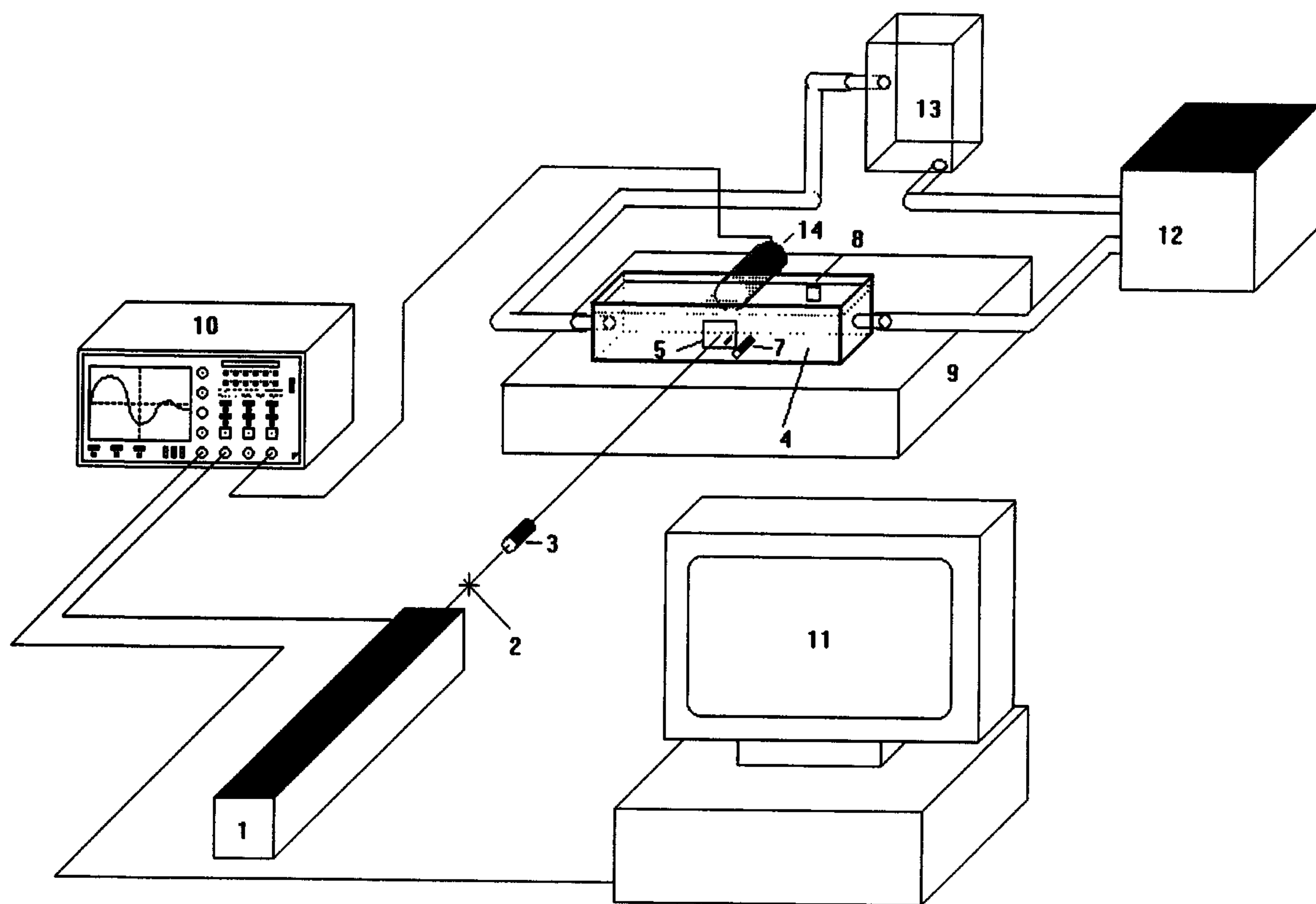
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



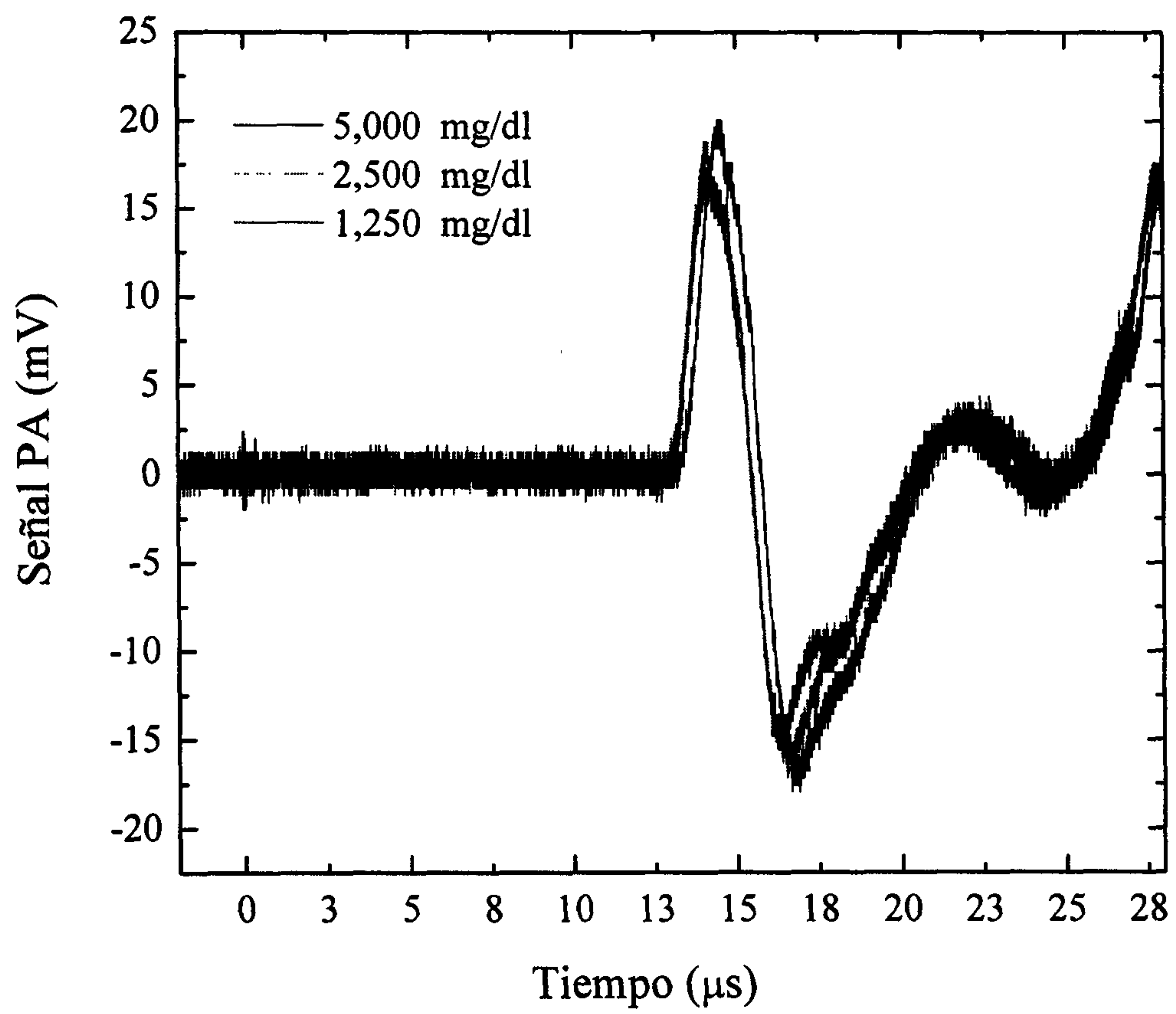
4/19
Figura 1D

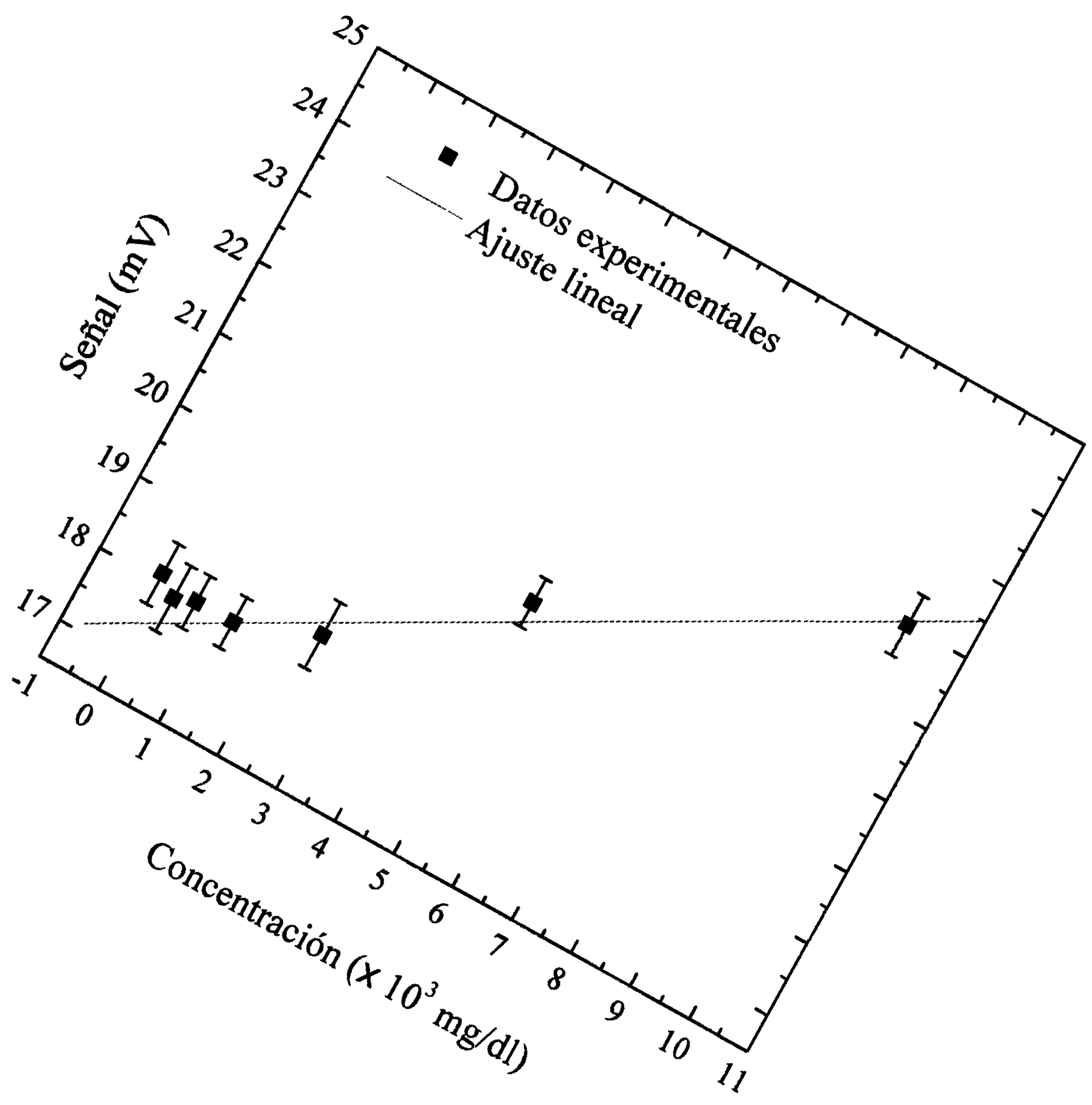


Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial

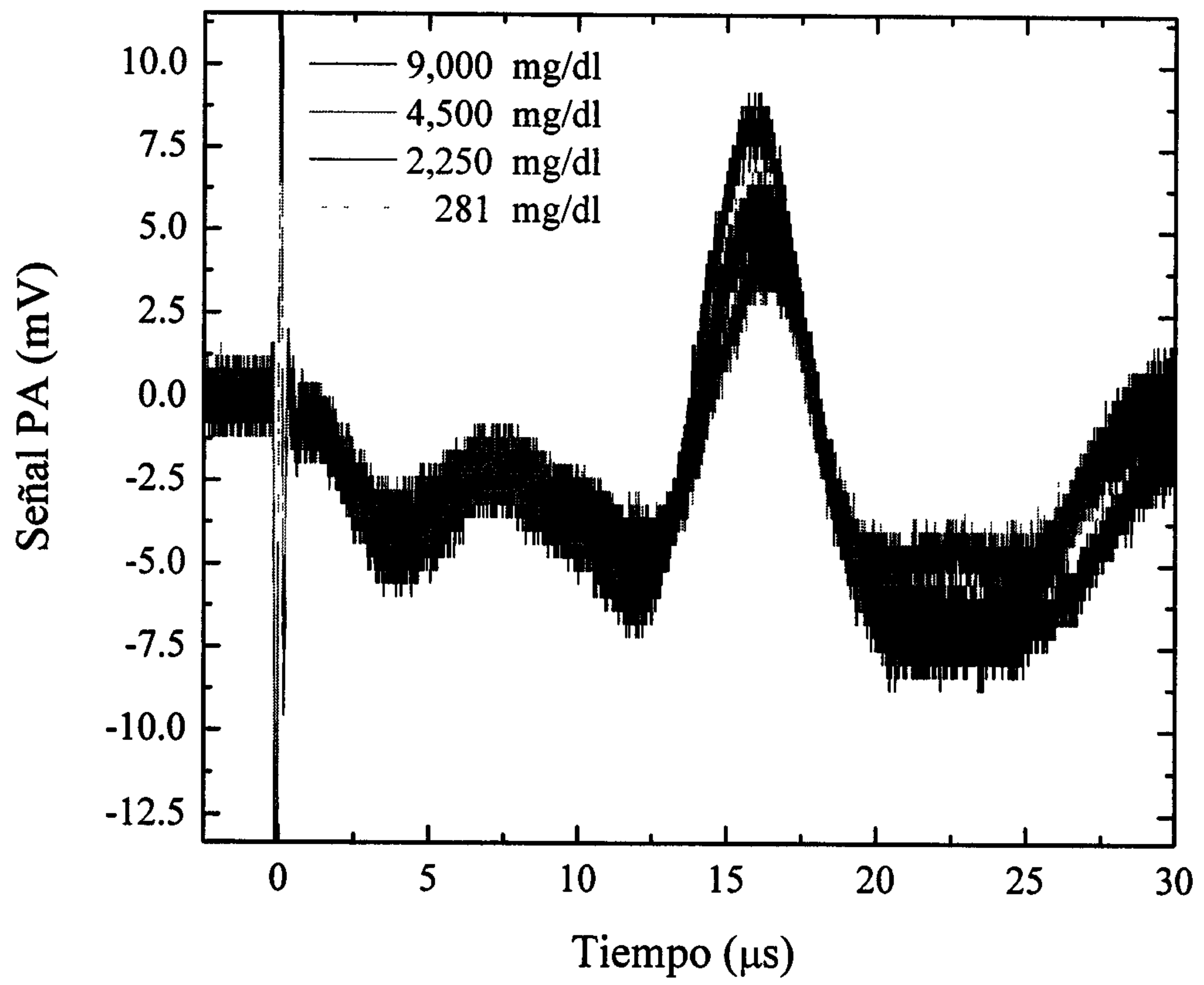


5/19
Figura 2A

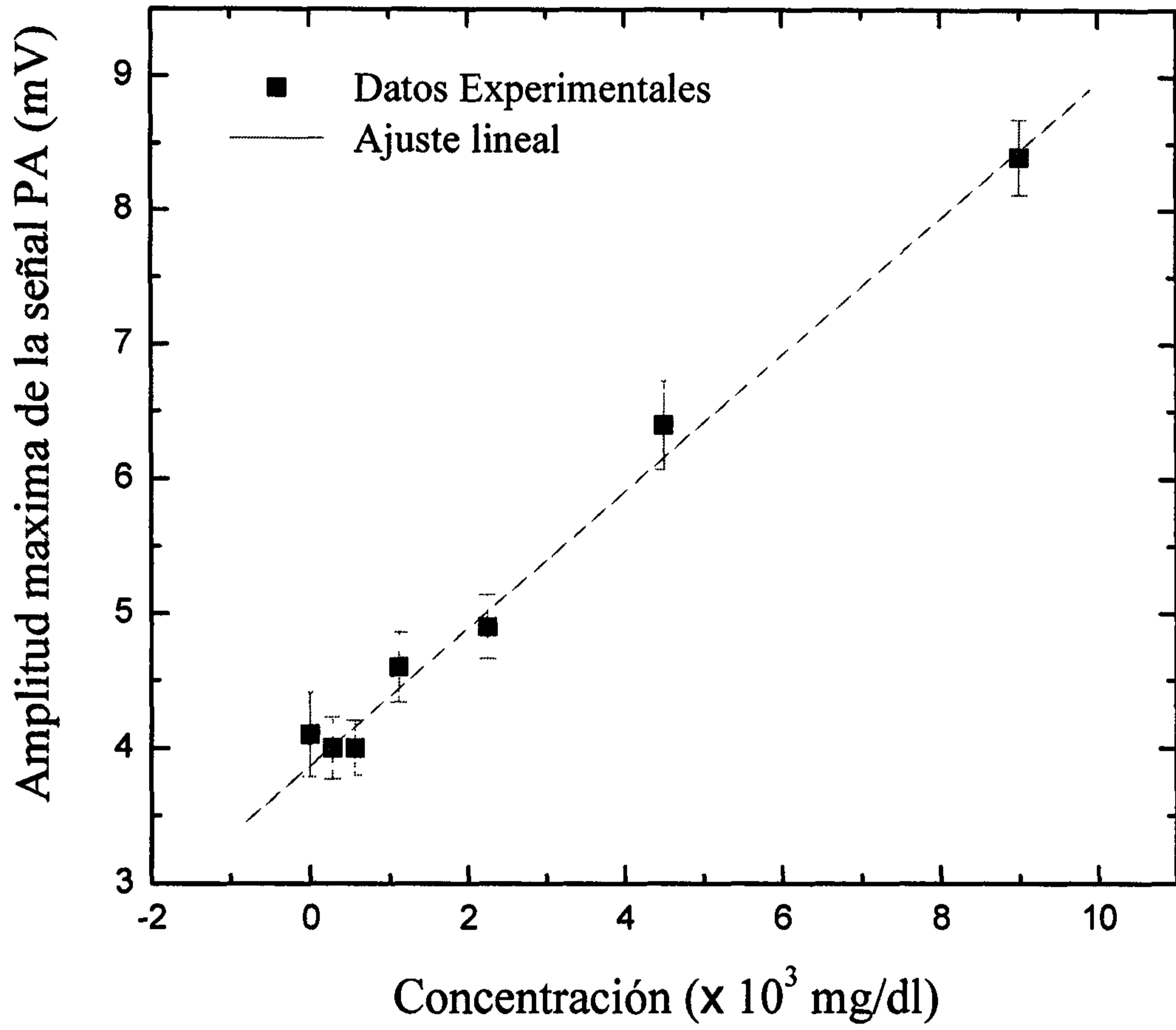




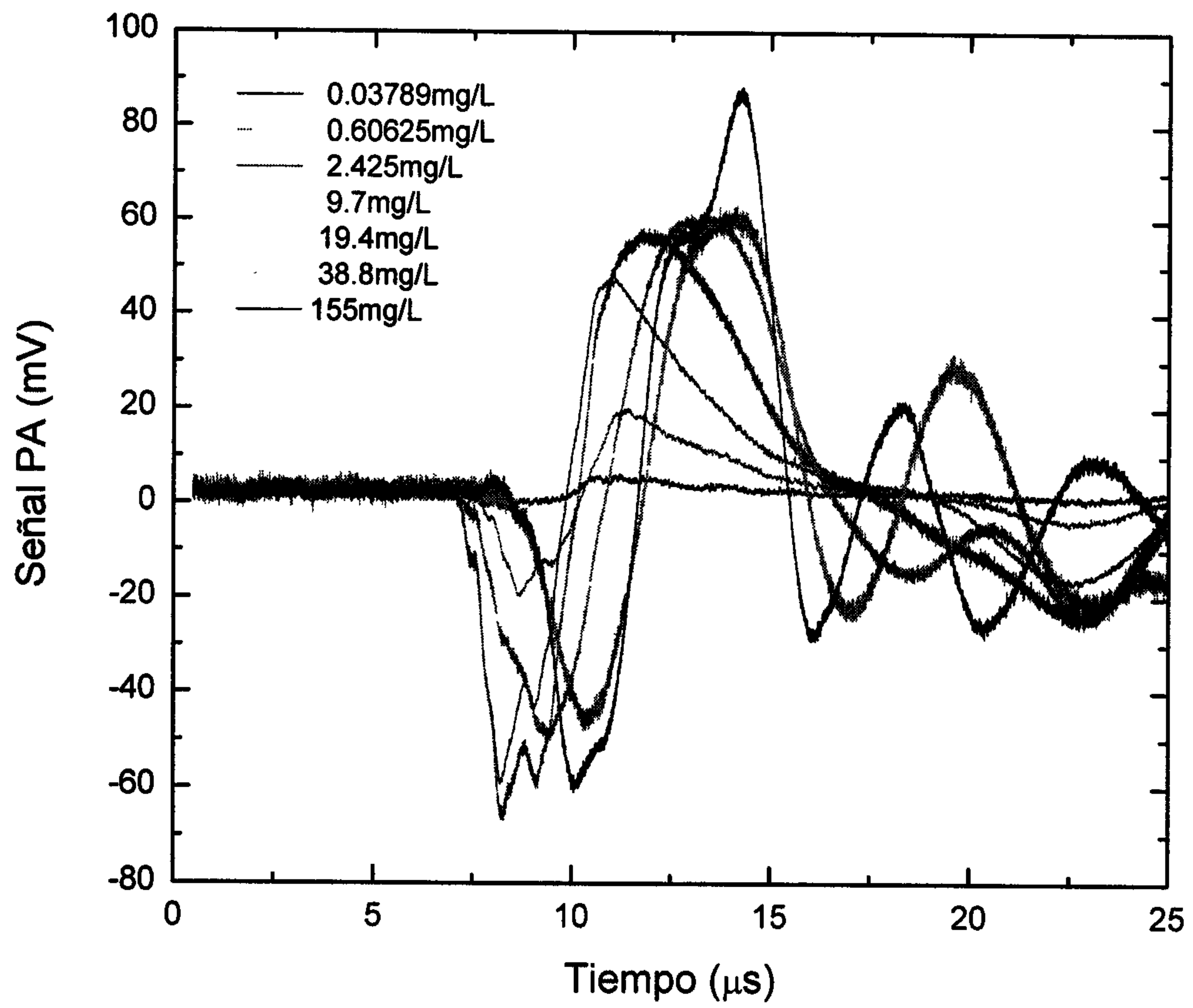
7/19
Figura 3A

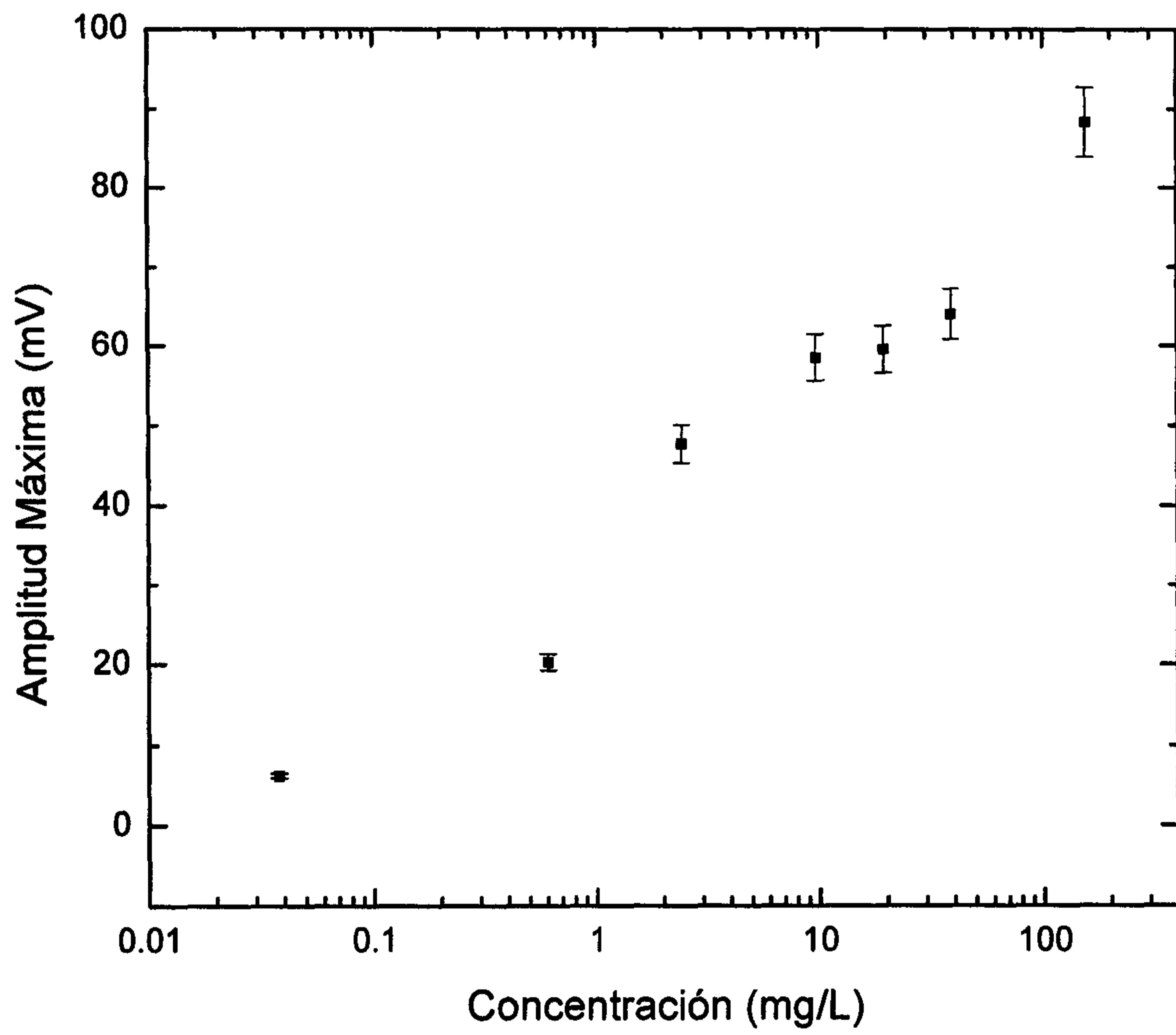


8/19
Figura 3B

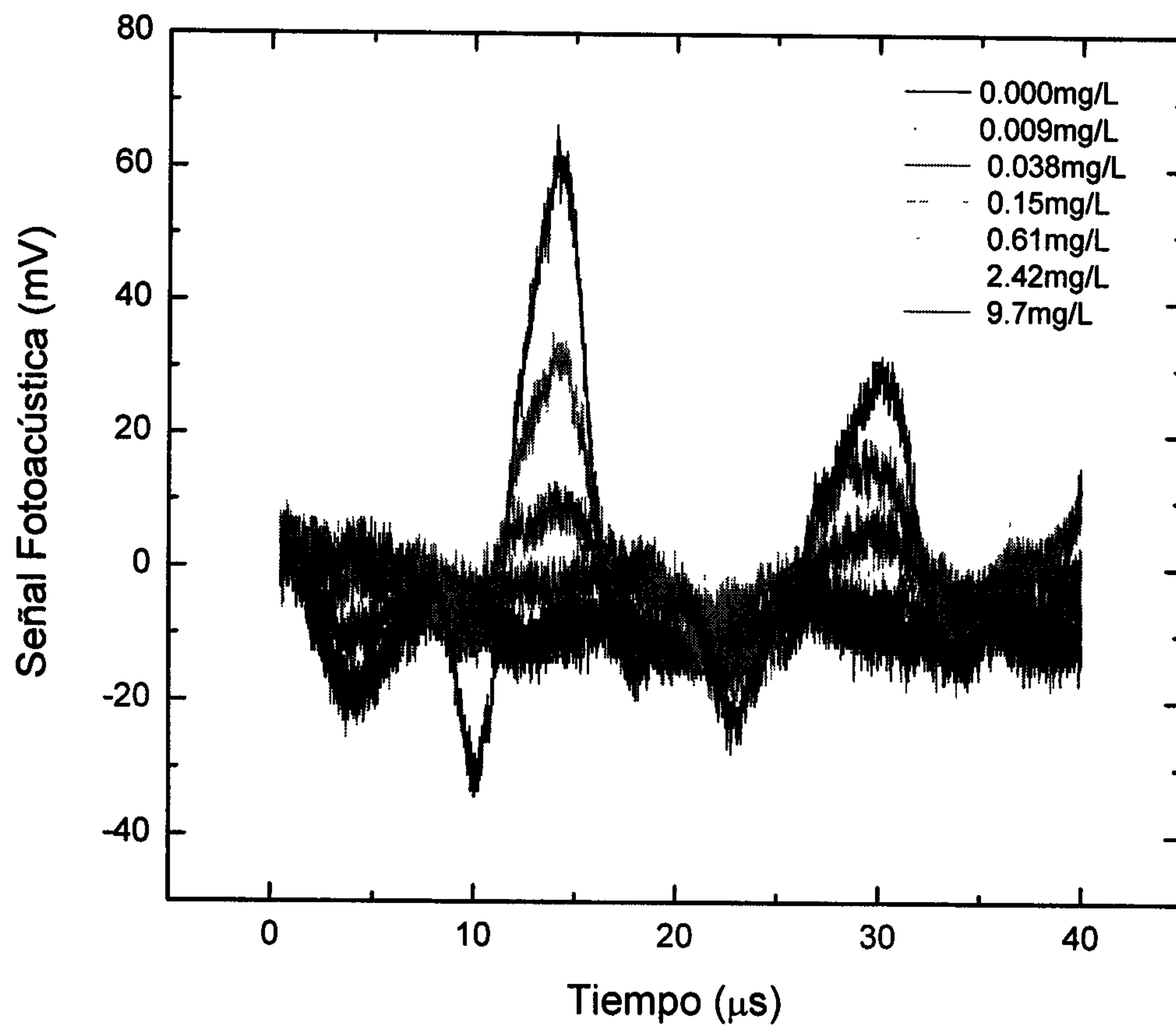


9/19
Figura 4A

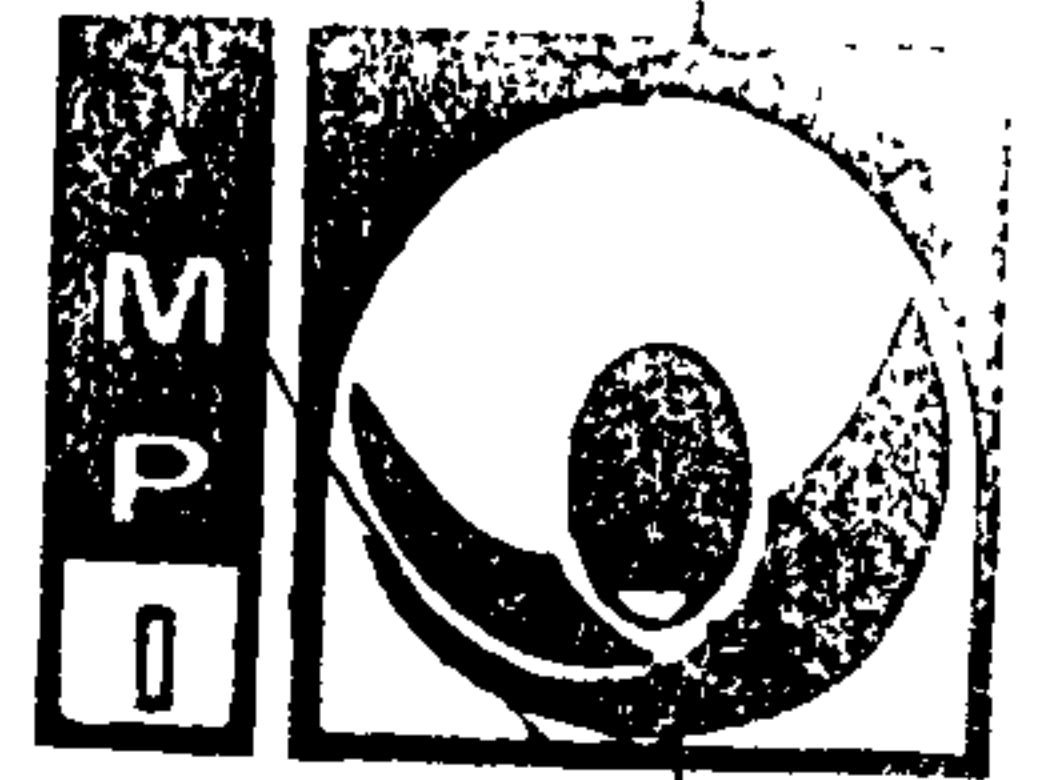




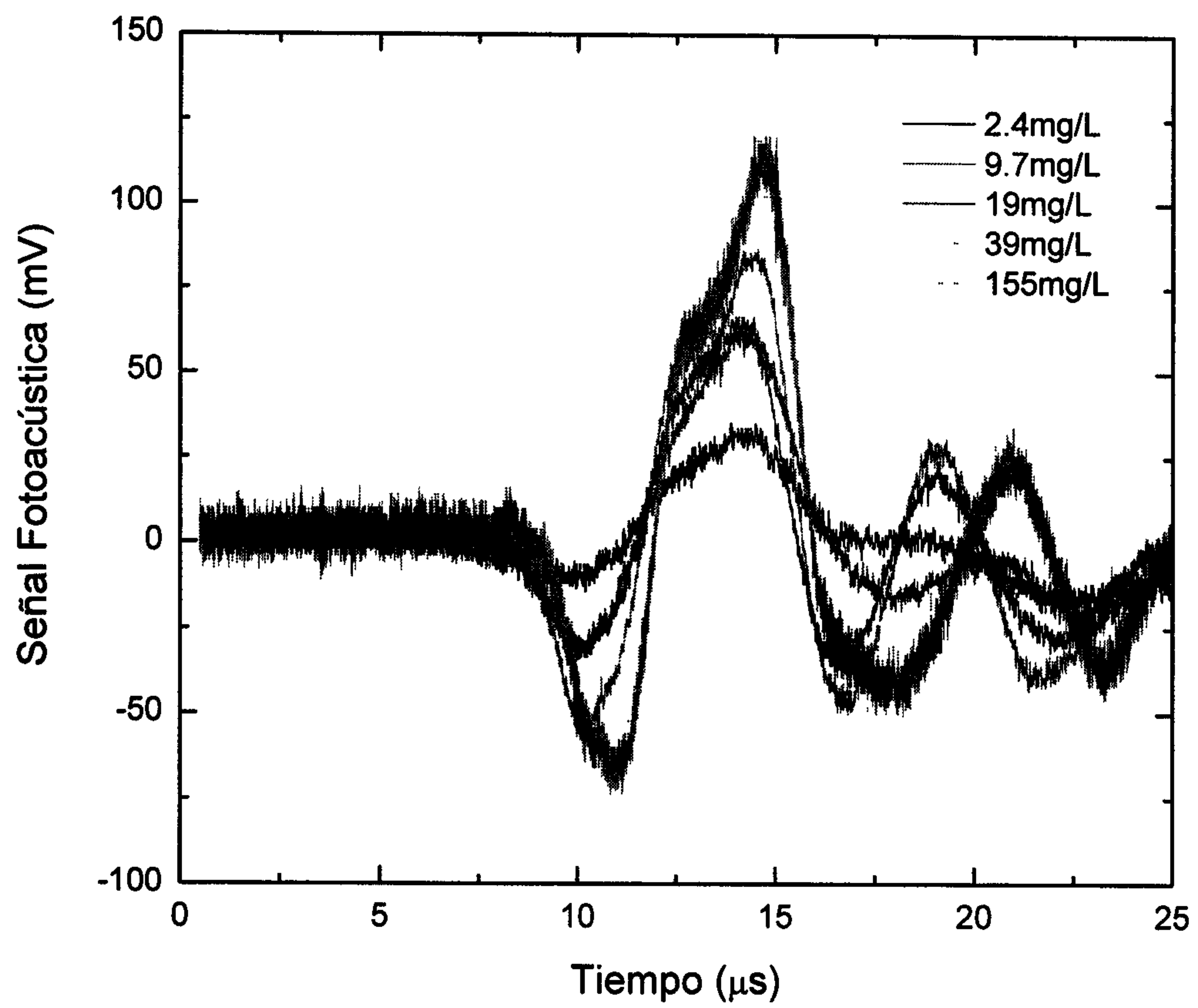
11/19
Figura 5A



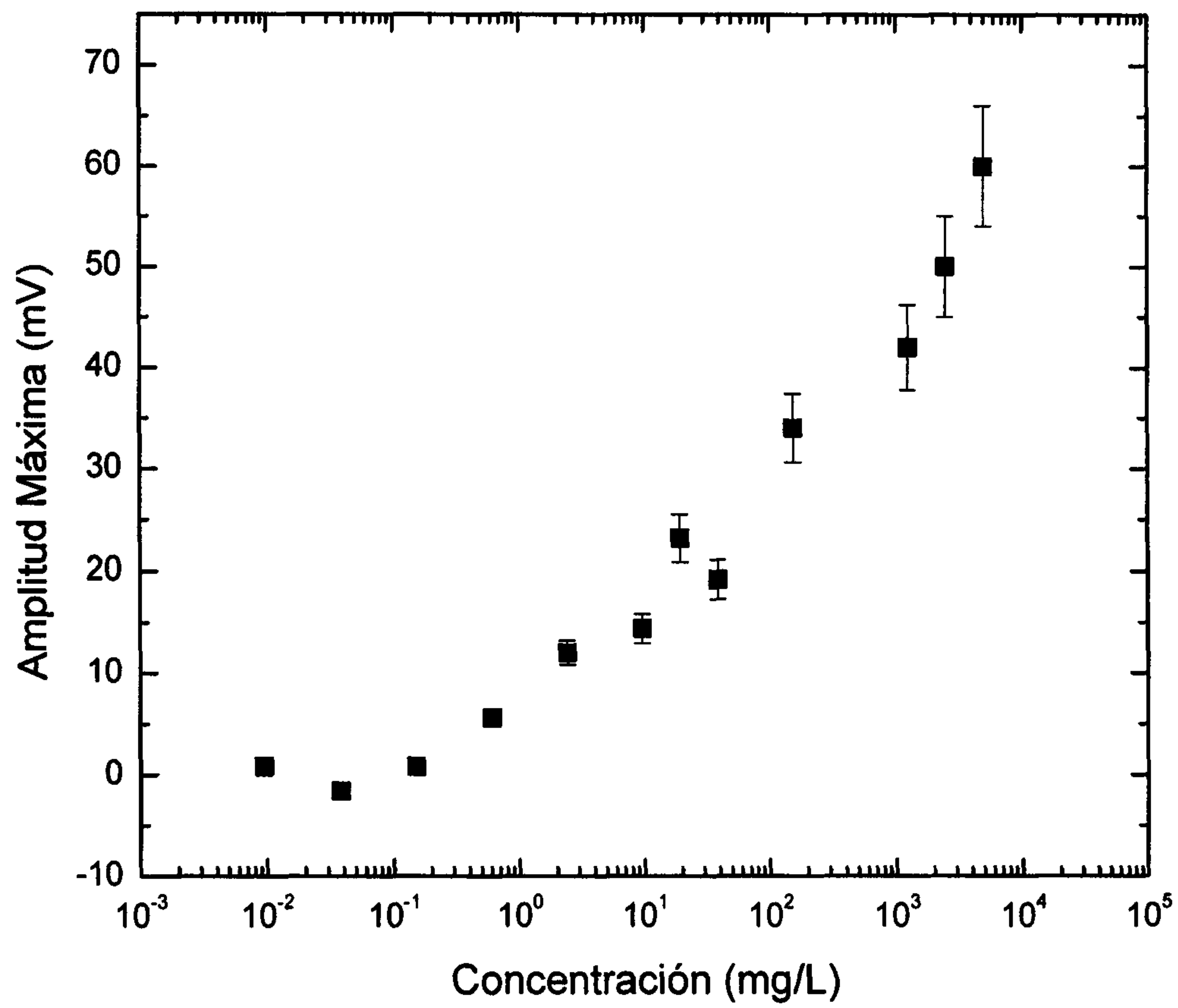
12/19
Figura 5B



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



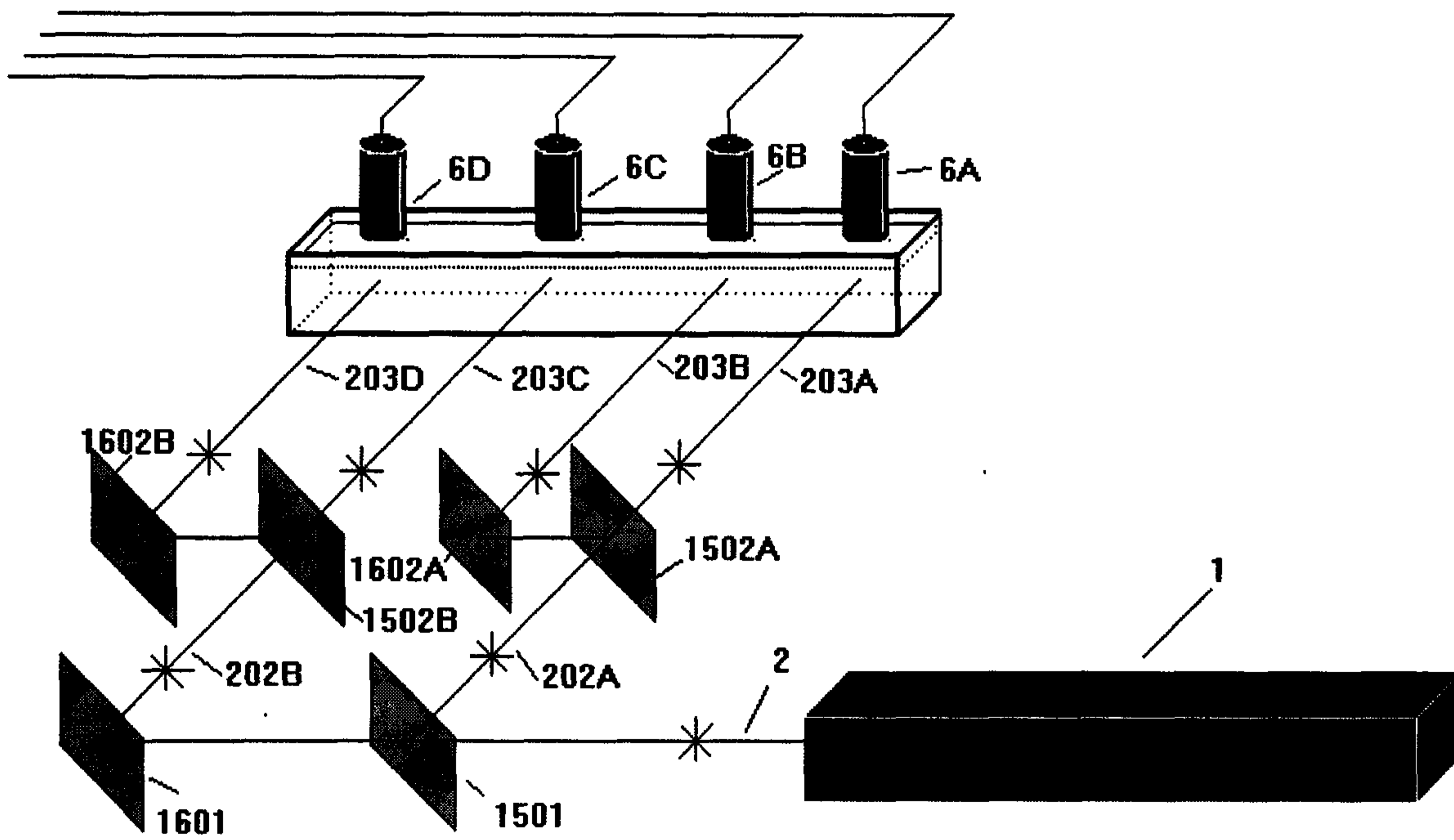
13/19
Figura 5C

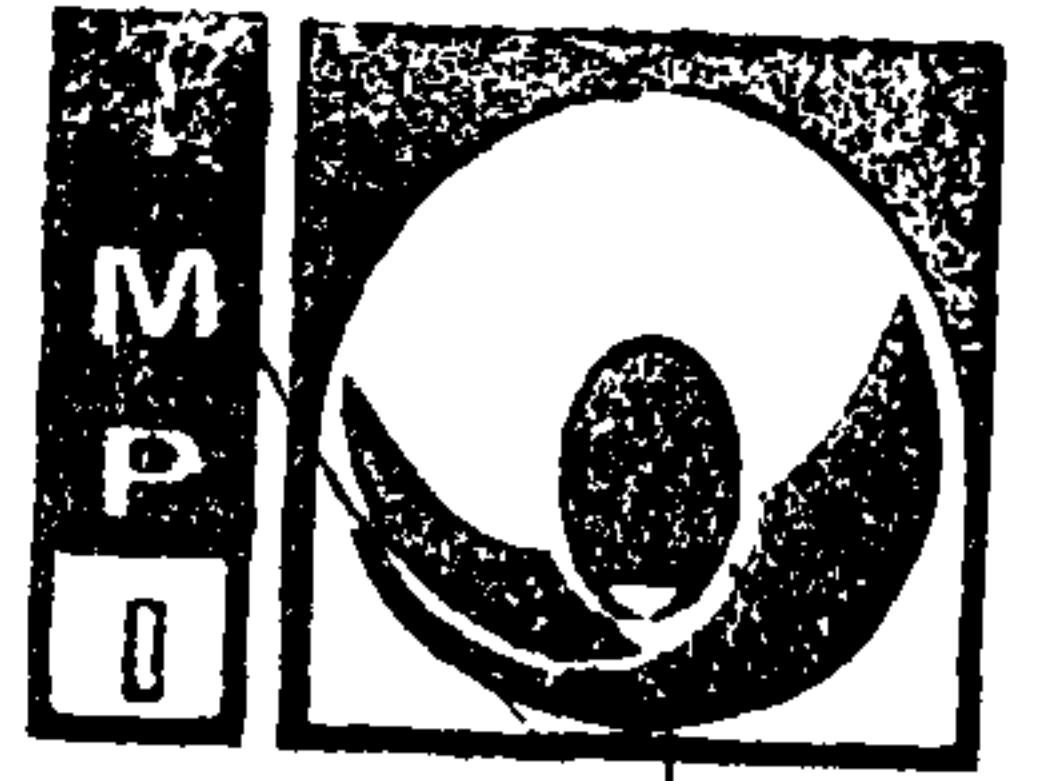


14/19
Figura 6

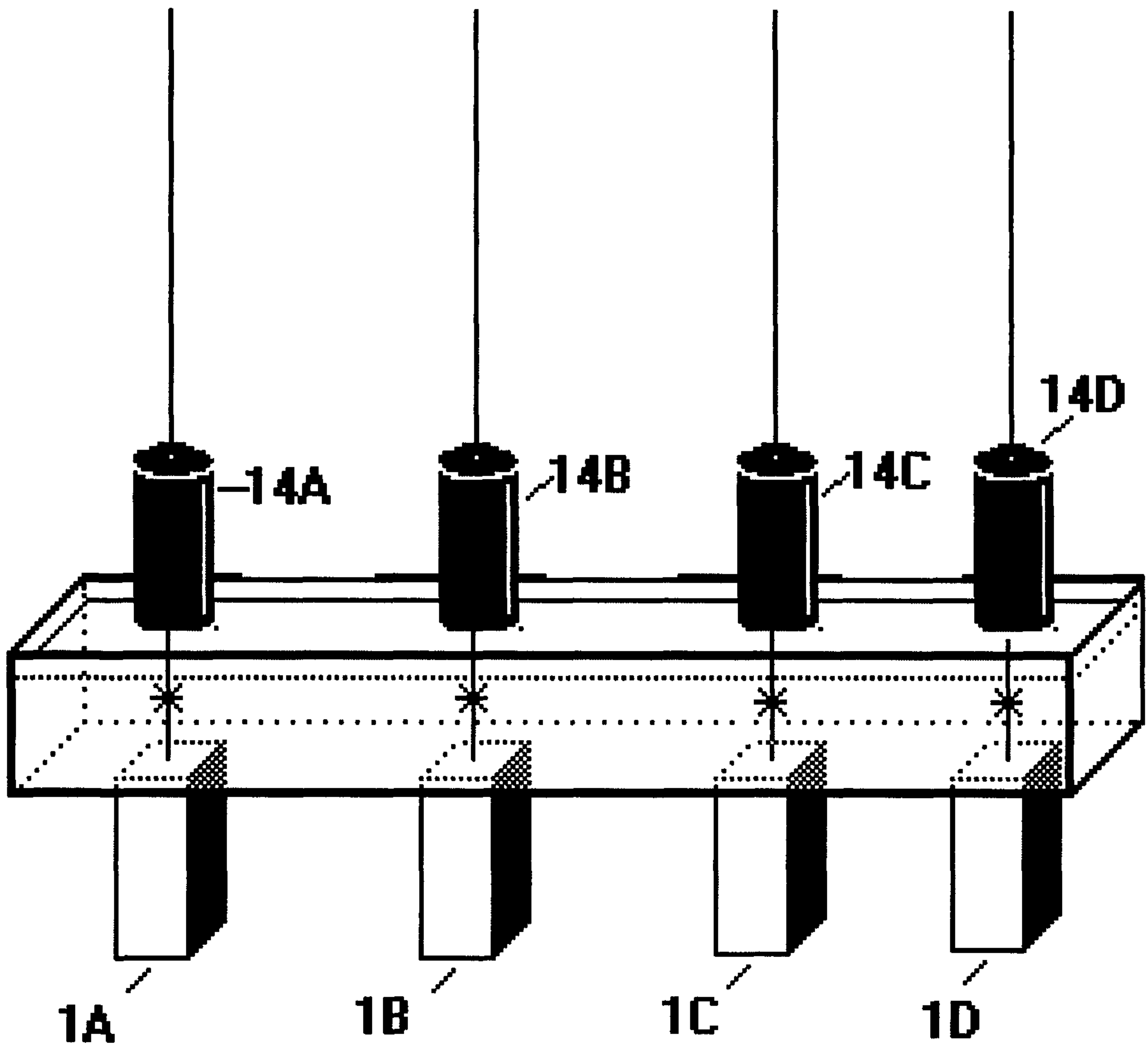


Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial





Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



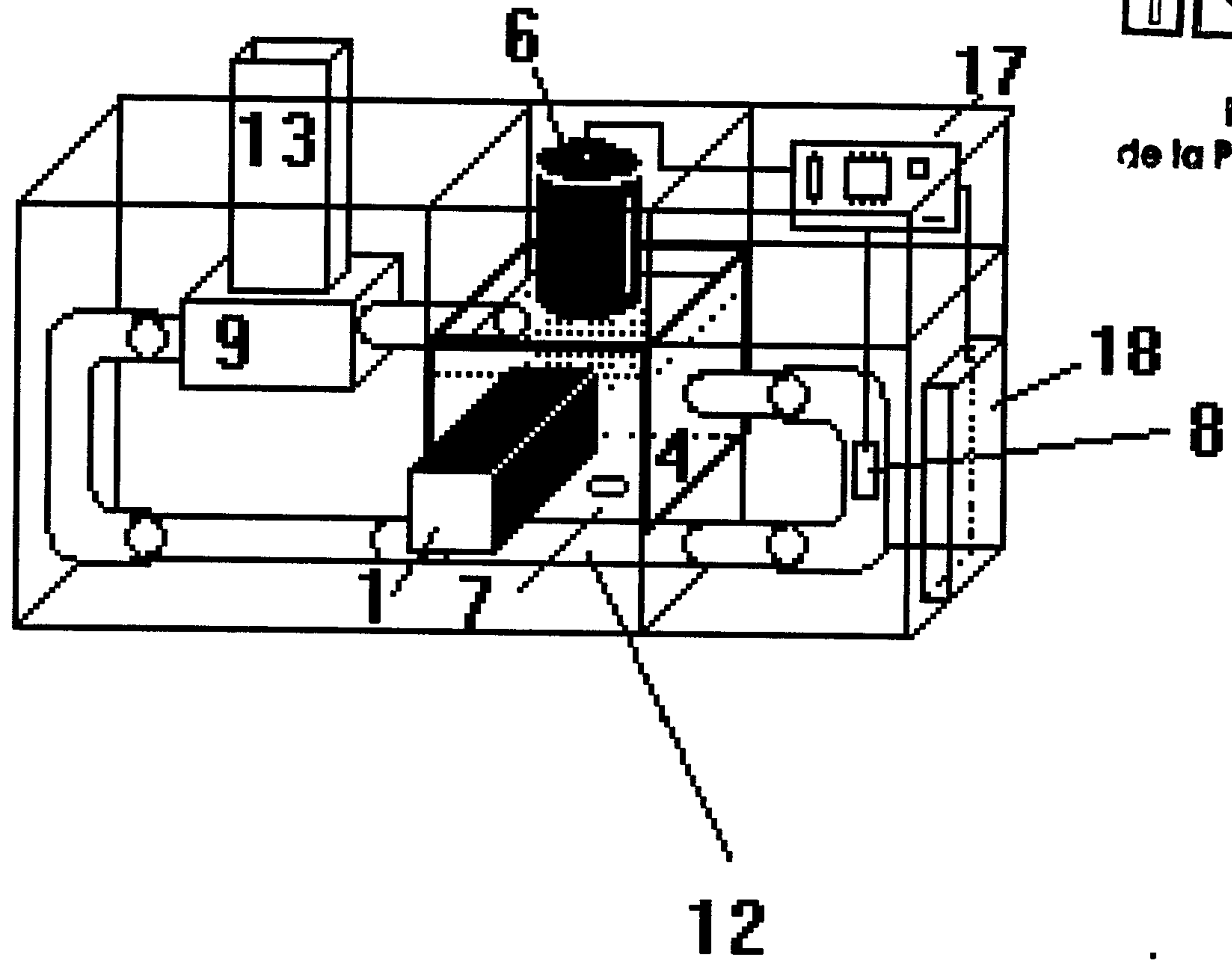
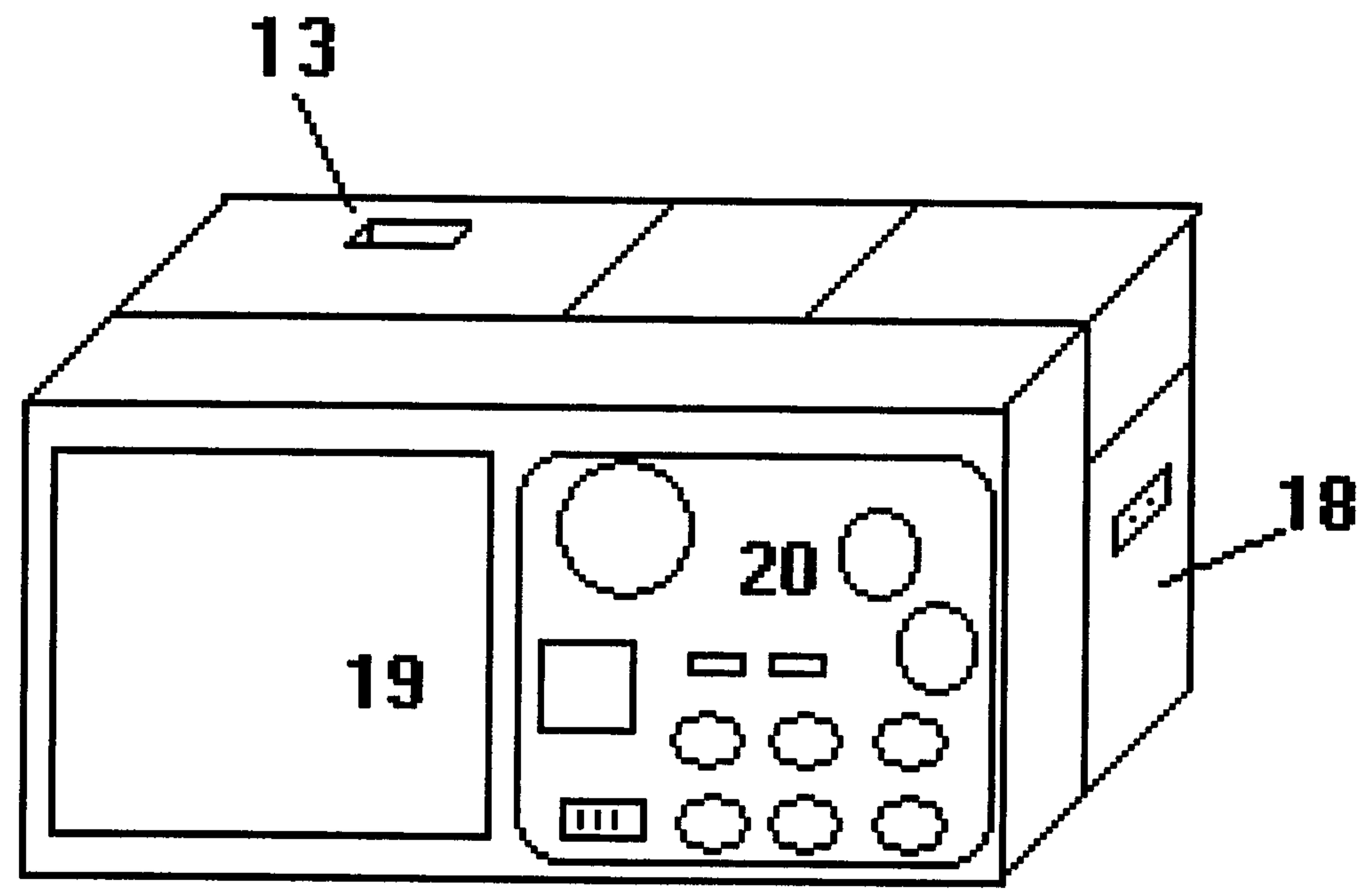
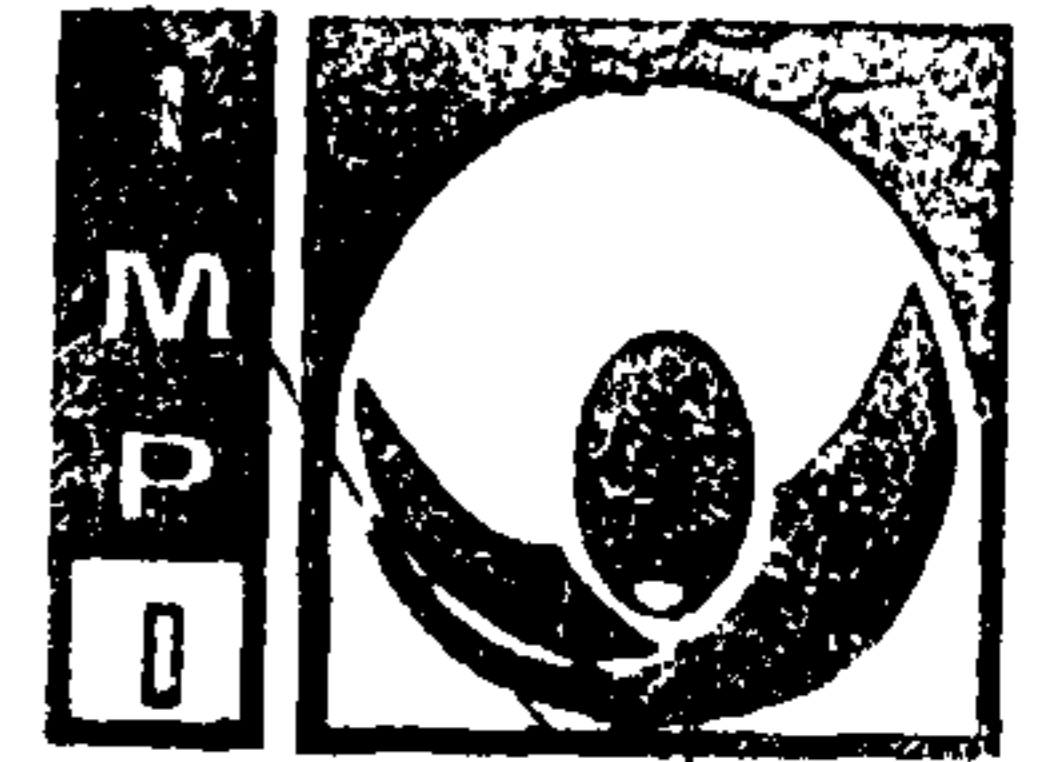
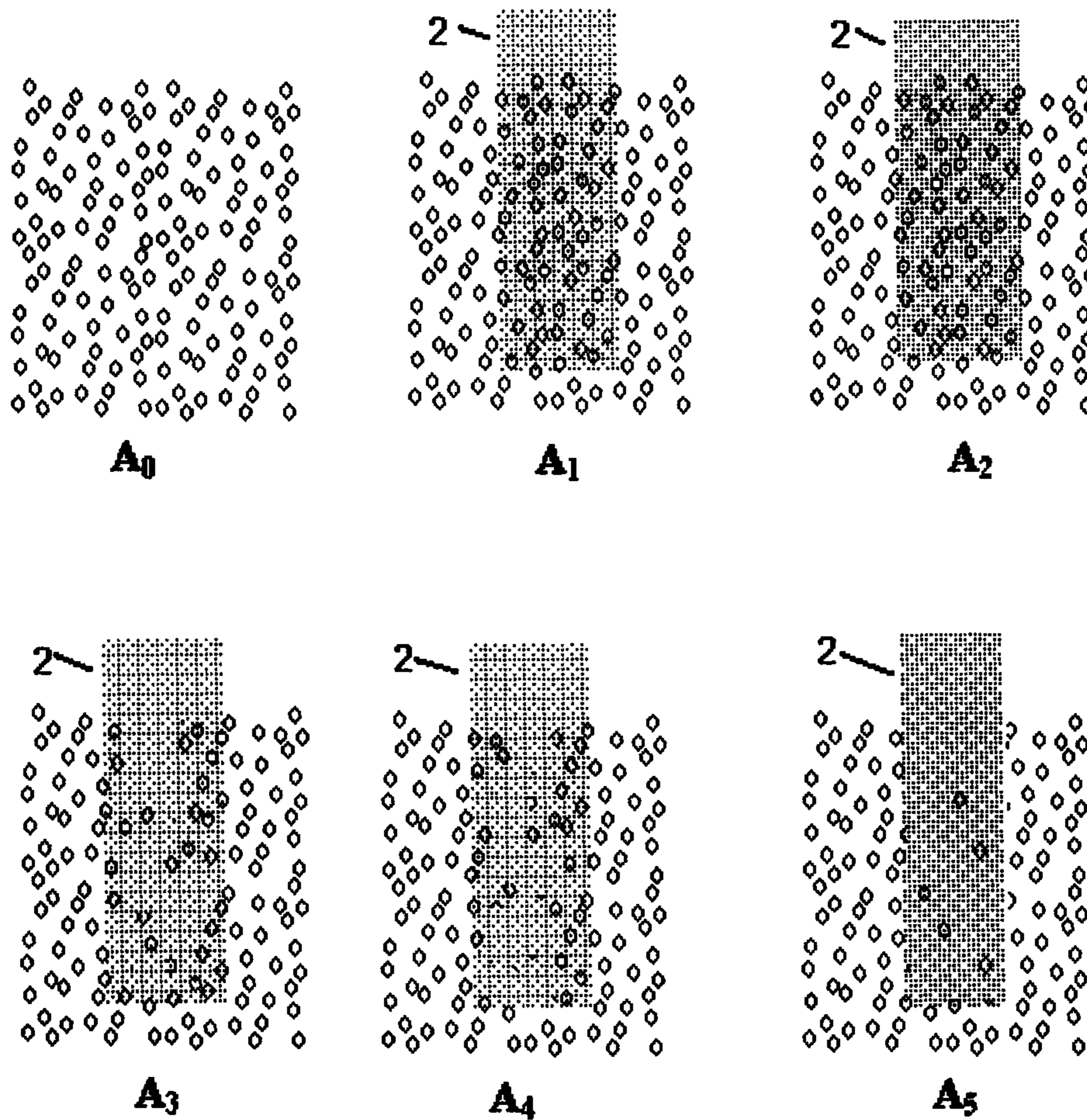


Figura 8B

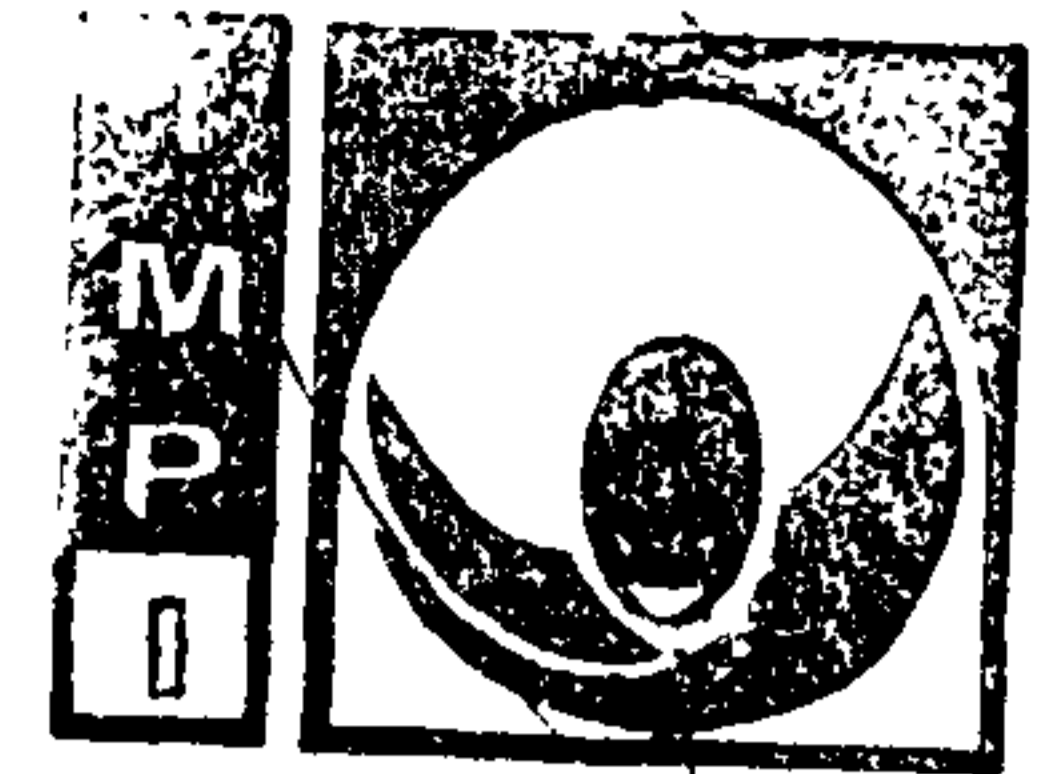




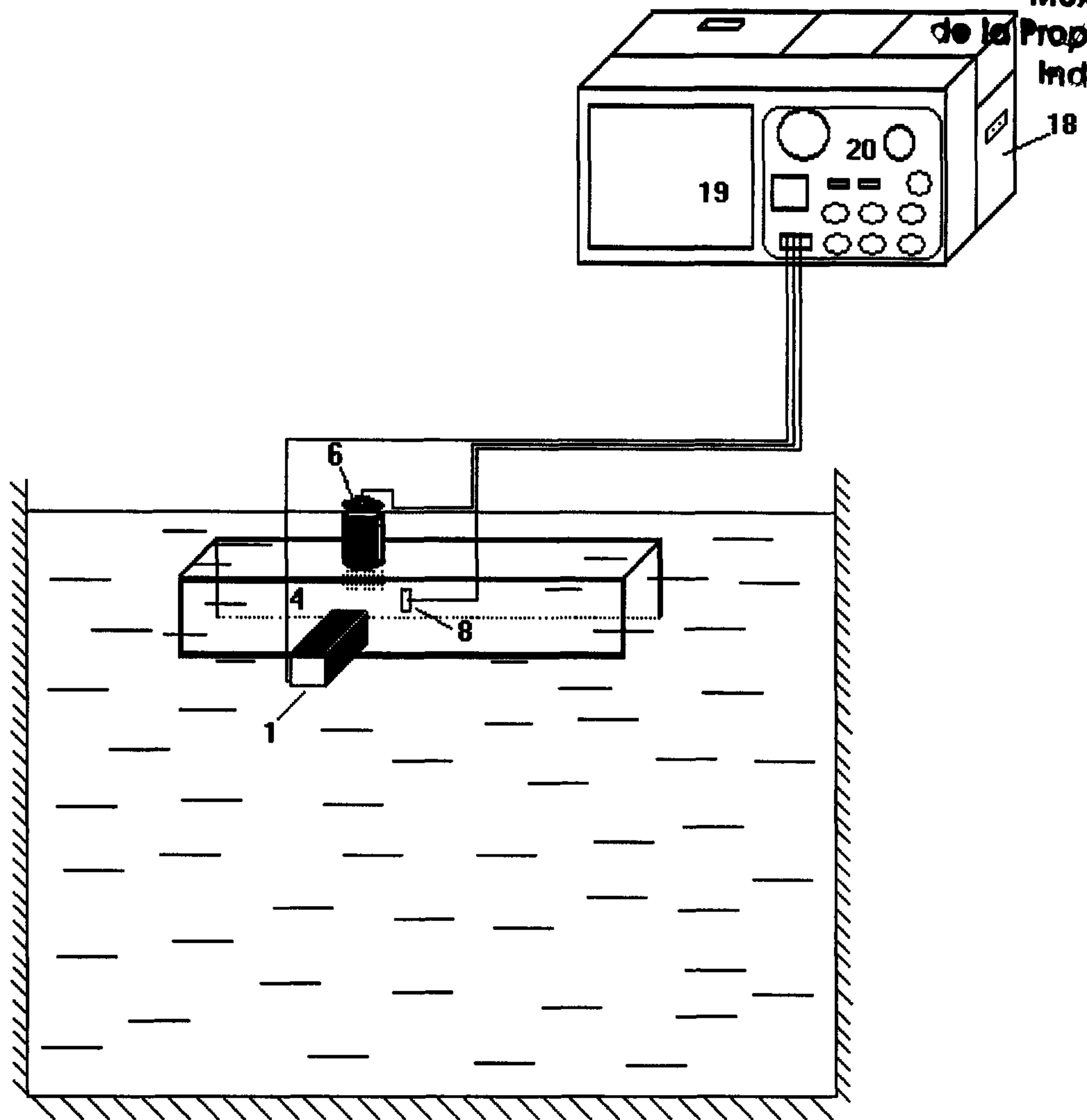
Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



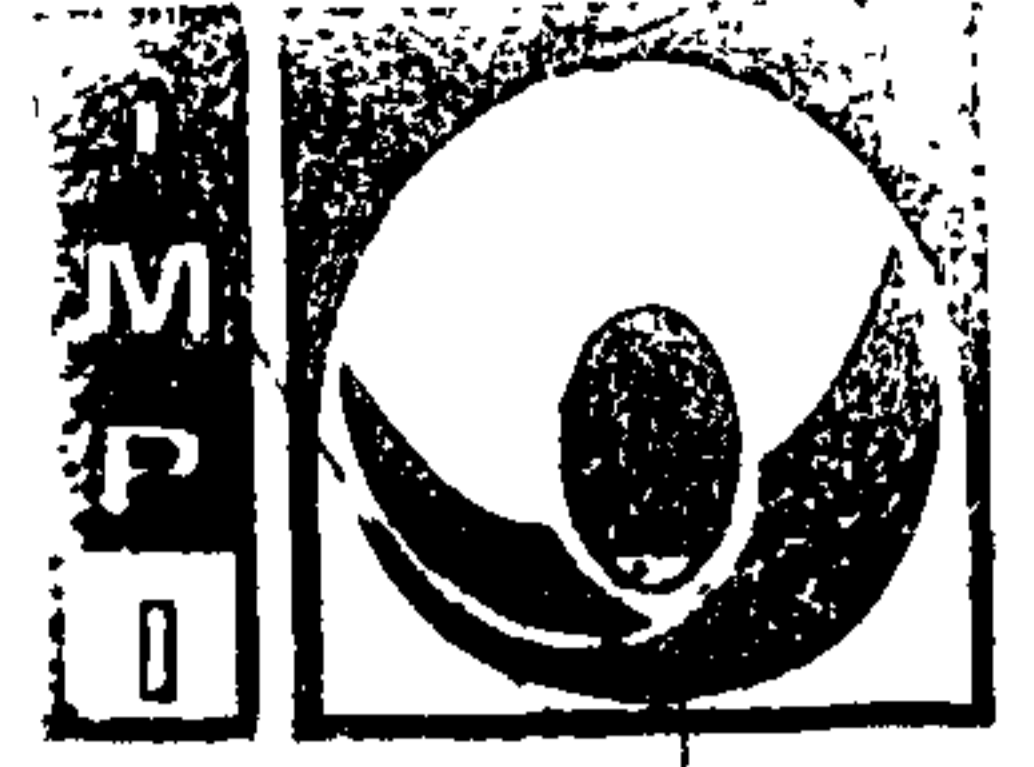
18/19
Figura 10



Instituto
Mexicano
de la Propiedad
Industrial



19/19
Figura 11



Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial

