

Campo de la invención

La presente pertenece al campo de los instrumentos de medición. Específicamente a aquellos relacionados con la medición por espectrometría aplicados a la detección de microorganismos.

Estado de la técnica

Dentro del estado de la técnica se encontraron ciertas soluciones que sirven de antecedente a la modalidad de la invención que se presenta. Entre ellas, la solicitud US2004021860 "Método para la detección de organismos patógenos" que utiliza un método de análisis por medio de espectroscopía Raman y luego, a partir de la comparación de los tamaños de las partículas se identifica la existencia de ciertos patógeno.

Entre las principales diferencias de la solución encontrada respecto a la pretendida encontramos que, la invención que se busca proteger permite la detección in situ, por medio de un dispositivo portátil; permite la visibilidad inmediata de avance y nivel de infección por HLB en la planta; análisis instantáneo de la muestra por medio del dispositivo.

La patente JP3117905 "Set de pruebas de la enfermedad de enverdecimiento de los cítricos y deficiencia de elementos usando reacción yodo-almidón". Usa un método de prueba reactivo para la identificación de patógenos que se basa en un reconocimiento de las concentraciones de hierro y manganeso contenidas en una parte de la hoja de un árbol de cítricos o similar que padece la enfermedad de enverdecimiento se reducen significativamente en comparación con las de un árbol de sonido, e incluye un "proceso de medición" para medir la concentración que implica la extracción y análisis de una muestra.

Al igual que con la solicitud anterior, este sistema, si bien portátil, no permite la determinación del nivel de avance y contaminación de la hoja; asimismo, en la solución encontrada el resultado no es inmediato.

5 De manera general, se observan algunas soluciones enfocadas en la detección de patógenos en plantas, pero ninguna específicamente para la enfermedad HLB y tampoco por medio de soluciones que comprendan espectrometría y/o análisis de imágenes simultáneamente como lo realiza la invención que se busca proteger.

Así, se identifican como principales características de la solución provista, la posibilidad de
10 realizar la identificación de la enfermedad en campo y de manera inmediata. Igualmente, los componentes de la tecnología permiten el uso de dos modalidades de detección de manera simultáneamente –análisis de imagen y espectroscopía-- , por lo que es posible identificar la presencia de la enfermedad en la hoja y paralelamente pronosticar el alcance de la infección en la planta. Esto facilita la identificación inmediata de ejemplares enfermos
15 y permite la toma de medidas preventivas.

Breve descripción de la invención

El dispositivo funciona a partir de la detección del espectro de fluorescencia producida por la bacteria en las hojas en un rango de 500-1000 nm. Lo que permite hacer una prueba
20 rápida en campo y es capaz de diferenciar la planta enferma con HLB de aquella que tiene otras enfermedades o desnutrición, debido al rango específico de espectro de luz que analiza. Asimismo, se puede realizar un mayor número de pruebas a mayor cantidad de plantas en un cultivo, lo que permite tomar acciones preventivas reales.

25

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Muestra una vista lateral seccionada del dispositivo donde se aprecian los componentes internos.

30

5 Descripción detallada de la invención

La enfermedad Huanglongbing afecta los cultivos de cítricos a nivel mundial. En el caribe colombiano — aún no se extiende hasta el interior del país— se perdió el 90% de los cultivos de cítricos en el 2019 debido a esta enfermedad de origen bacteriano. La misma es muy compleja de detectar en tanto los primeros estadios de la enfermedad en la planta son
10 asintomáticos y adicionalmente, no ha podido cultivarse la bacteria para identificarla. En términos generales, la enfermedad no ha podido ser erradicada en ninguno de los países en que ha sido detectada. Existe una prueba en campo que implica el uso de una tinción con lugol, sin embargo, esta solución es propensa a dar falsos positivos, así como otras soluciones (QPCR) que o son imprecisas, o muy costosas y dispendiosas. De tal forma que
15 la enfermedad es incurable, por lo que todas las acciones existentes son de prevención.

En términos de prevención, una característica buscada es la posibilidad de hacer pruebas in situ, debido a que el análisis de muestras en laboratorio incrementa el tiempo de identificación de la enfermedad en la planta y aumenta el riesgo de contagio y pérdida de
20 plantaciones.

El dispositivo portátil para la identificación temprana de la enfermedad, permite la detección in situ de la enfermedad analizando la hoja de la planta directamente y permite identificar visualmente el grado de propagación de la enfermedad en la planta.

25 El dispositivo funciona a partir de la detección del espectro de fluorescencia producida por la bacteria en las hojas en un rango de 500-1000 nm. Lo que permite hacer una prueba rápida en campo y es capaz de diferenciar la planta enferma con HLB de aquella que tiene otras enfermedades o desnutrición, debido al rango específico de espectro de luz que
30 analiza. Asimismo, se puede realizar un mayor número de pruebas a mayor cantidad de plantas en un cultivo, lo que permite tomar acciones preventivas reales.

La detección procede en dicho rango ya que las hojas infectadas cambian su espectro de emisión fluorescente en el infrarrojo cercano y los lentes que integra el dispositivo están
35 calibrados para dejar pasar cierto espectro de luz. De tal forma que sólo refleja la emisión comprendida en el espectro deseado.

La solución técnica de la presente solicitud se describirá en detalle a continuación en

5 combinación con realizaciones específicas. Sin embargo, debe entenderse que los elementos, estructuras y características en una realización también pueden incorporarse ventajosamente en otras realizaciones sin descripción adicional.

Así, es posible reordenar los componentes mencionados sin que se afecte el principio de funcionamiento y configurarlos bajo otra forma. Por ello, la configuración comprende ciertas secuencias lógicas (e.g. Lente – filtro – cámara; o lente – filtro – micro espectrómetro) que no son modificables; y otras, como la ubicación de esos componentes en una u otra recámara, que pueden alterarse y obtener el mismo resultado.

15 En la descripción de la presente solicitud, el orden de mención de los componentes se utiliza únicamente con fines descriptivos, y no puede entenderse que indique o implique la importancia relativa de los mismos, o que indiquen implícitamente el número de características técnicas indicadas. La relación de orientación o posición indicada por los términos "anterior", "posterior", "frontal", etc. se basa en la relación de orientación o posición mostrada en las figuras aportadas.

En una modalidad preferida de la invención, esta tiene forma de pistola, con una abertura de entrada (1), un conducto (2), una recámara anterior (3) ubicada bajo el conducto, una recámara posterior (4) en el mango (5) y un botón de accionamiento (6) ubicado en el mango y conectado a un módulo de control (7).

En el interior de su recámara posterior, el dispositivo comprende una fuente de alimentación (8) que en la modalidad solicitada de la invención consiste en una batería recargable acoplada a la recámara posterior (4) integrada al mango (5) o agarre.

También en esa recámara, se integra el módulo electrónico (7) o de control que comprende un procesador y que en la modalidad mostrada de la invención consiste en un computador de placa reducida.

35 El dispositivo comprende además, una cámara (10) y un microespectrómetro (11) que en la modalidad provista de la invención, están dispuestos en la recámara posterior (4).

5 El botón de accionamiento (6) funciona como un switch que activa el módulo de control (9) para que envíe la señal de encendido a dos bombillos led (12) ubicados en el extremo frontal del dispositivo y en una acción simultánea accione la cámara (10) para que capture la imagen y el microespectrómetro (11) para que tome el espectro.

10 Los dos bombillos led (12), se encuentran dispuestos en el extremo frontal del dispositivo en extremos opuestos de la abertura (1) y emiten luz violeta y azul, respectivamente, a 400 y 480 nm para la excitación de los componentes de la hoja que se está analizando. La hoja, al ser excitada con los rayos de luz, emite una fluorescencia perceptible en cierto rango de espectro.

15

La emisión fluorescente de la hoja atraviesa la entrada frontal (1) del dispositivo y es filtrada a través de un total de tres lentes (13) (14) (15), un primer lente frontal (13) y dos lentes posteriores (14) (15) que cumplen la función de redirigir el haz de luz hacia los componentes de procesamiento. El lente frontal (13) está ubicado en la entrada (1) del dispositivo y los
20 posteriores en la recámara posterior (4). El lente (13) de la entrada frontal es cóncavo para absorber la mayor cantidad de fluorescencia posible y es el primero en filtrar la emisión fluorescente de la hoja.

La emisión filtrada por el primer lente (13), atraviesa un divisor de haz (16) ubicado
25 diagonalmente en el conducto de entrada (2) del dispositivo. La postura diagonal del divisor de haz obedece a la función de enviar dos haces de luces en direcciones distintas. El divisor de haz se encuentra ubicado entre los dos lentes (restantes) posteriores (14) (15).

Opcionalmente, cada lente (14) (15) se posiciona a un lado distinto del divisor de haz (16),
30 uno (14) en posición horizontal y el otro (15) en posición vertical, debido a la configuración del dispositivo. El divisor de haz (16), divide la emisión fluorescente en dos haces de luces de igual intensidad que atraviesan los lentes posteriores (14) (15).

Después de atravesar los lentes posteriores (14) (15), el haz de luz debe también atravesar
35 sendos filtros (14A) (15A) que, opcionalmente, se disponen en posición vertical. El primer filtro (15A) se ubica detrás del lente vertical (15) que se aloja en el conducto de entrada (2) del dispositivo; el segundo filtro (14A) se dispone debajo del lente posterior (14) en posición horizontal ubicado en la recámara anterior (3). Los filtros (14A) (15A) cumplen la función de

5 bloquear la luz de excitación reflejada y dejar pasar solamente el espectro infrarrojo deseado.

Debajo del lente posterior (14) que se encuentra en la recámara anterior (3), en posición horizontal, se ubica un espejo (17) que refleja el haz de luz y lo redirige hacia el filtro (14A)
10 que le corresponde, debido a que éste último se encuentra dispuesto verticalmente.

En otra modalidad de la invención, se puede prescindir del espejo (17) ubicando el espectrómetro (11) y el filtro (14A) justo debajo del lente horizontal (14).

15 Los filtros son intercambiables según el tipo de luz que se quiera bloquear. En una modalidad preferida de la invención, los filtros usados bloquean la luz hasta 550nm.

La cámara (10) y el micro espectrómetro (11) reciben, cada uno, un haz de luz. Ello permite el uso de dos metodologías de análisis (análisis de imágenes y de espectro)
20 simultáneamente, lo que incrementa la exactitud en la identificación de la enfermedad en la hoja y permite pronosticar el grado de expansión de la enfermedad en la planta.

Opcionalmente, la cámara (10) se encuentra dispuesta detrás del filtro (15A) ubicado en el conducto de entrada (2) y recibe solamente el haz en la frecuencia infrarroja deseada, que en la modalidad provista de la solución es de 550nm o superior.

25 Opcionalmente, el microespectrómetro (11) se ubica detrás del filtro (14A) de la recámara anterior (3) que a su vez se dispone frente al espejo (17) para recibir el haz de luz.

La cámara (19) y el microespectrómetro (11) están conectados al módulo de control (7), lo que permite su accionamiento con la activación del switch (6), así como el procesamiento de datos generados por ambos componentes.

30 En el caso del espectrómetro (11), el módulo de control (7) determina el espectro de emisión en un rango de frecuencia y de esta forma puede hacerse un pronóstico de la presencia de la bacteria a partir del cambio de coloración en los componentes de la hoja, particularmente de la clorofila.

En el caso de la cámara (10), esta toma la foto al momento de emisión del haz de luz de
35 los bombillos led (12), de tal manera que la imagen se filtra a través de los lentes (14) (15), los filtros (14A) (15A) y el divisor de haz (16). Luego, la imagen es procesada a través del

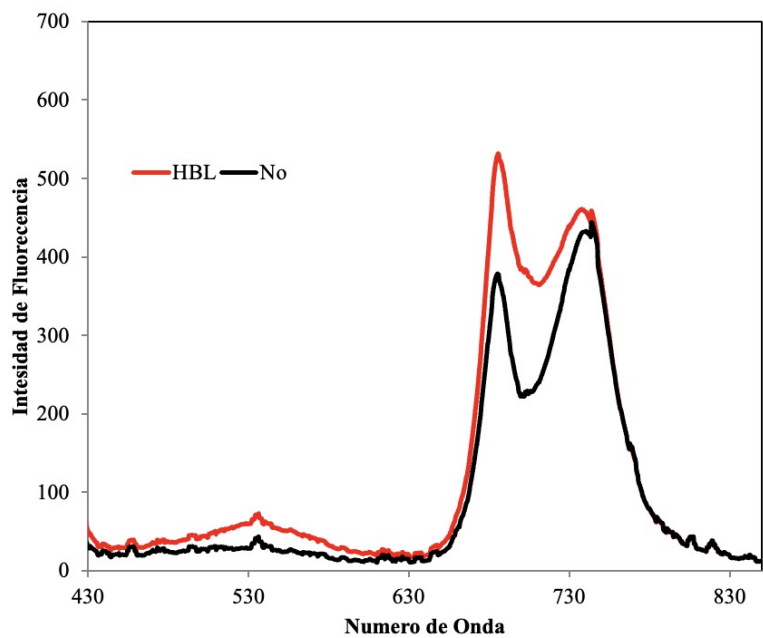
5 módulo de control (7) y se determinan los sitios de afectación de la hoja y el porcentaje de afectación de la hoja.

La imagen tomada por la cámara (10) y la predicción del porcentaje de afectación calculado a partir del espectro, se reflejan en una pantalla (18), opcionalmente ubicada en la parte superior del dispositivo y conectada al módulo de control (7) y a la batería (8)
10 respectivamente.

De esta forma, la conjugación de tecnologías del dispositivo permite identificar la afectación de la planta y en la misma medida el grado de infección de manera inmediata en campo.

EJEMPLO

15 En un ejemplo de aplicación de la invención en la modalidad provista, se acerca la abertura de la pistola (1) a una distancia de la hoja que no supere los 2 cm y se acciona el botón (6) (switch). Los bombillos (12) iluminan la hoja que refleja la luz de excitación en forma de luminiscencia. La luminiscencia es captada por el primer lente (13) y dirigida hacia el divisor de haz (16), que lo fracciona en dos mitades idénticas y redirige cada haz hacia los lentes
20 posteriores (14) (15). En el recorrido que realiza el haz desde el lente (15) ubicado en el conducto (2), atraviesa un filtro (15A) y llega a la cámara (10) que en ese momento toma la fotografía; el segundo haz, atraviesa el lente (14) ubicado en la recámara anterior (3), se refleja en un espejo (17) y se redirecciona hacia el filtro (14A) que antecede al microespectrómetro (11). Al atravesar el filtro (14A), el microespectrómetro (11) adquiere el
25 espectro en la frecuencia programada. Tanto la cámara (10) como el espectrómetro (11) envían los datos adquiridos al módulo de control (7) para su procesamiento y éste a su vez refleja la información procesada en la pantalla (18) del dispositivo. El análisis permite determinar la presencia de la bacteria y el grado de afección en la hoja con una sensibilidad del 97% y una especificidad del 95%, tal y como se muestra en las gráficas a continuación.



5

