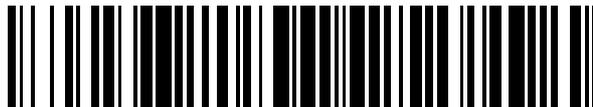


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 579 774**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

G01N 21/03 (2006.01)

G01N 21/77 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2008 E 08772697 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.06.2016 EP 2176645**

54 Título: **Detección de fluorescencia usando una fibra óptica microestructurada**

30 Prioridad:

24.07.2007 US 951553 P

26.07.2007 US 952063 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

16.08.2016

73 Titular/es:

**ADELAIDE RESEARCH & INNOVATION PTY LTD.
(100.0%)
WYATT HOUSE (KPMG HOUSE), LEVEL 7 115
GRENFELL STREET
ADELAIDE, S.A. 5000, AU**

72 Inventor/es:

**MONRO, TANYA;
SMITH, STEPHEN, WARREN;
AFSHAR VAHID, SHAHRAAM;
EBENDORFF-HEIDEPRIEM, HEIKE y
RUAN, YINLAN**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 579 774 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Detección de fluorescencia usando una fibra óptica microestructurada

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a la detección óptica. En una forma particular, la presente invención se refiere a un sensor de tipo de fluorescencia basado en tecnología de fibra óptica.

Referencias

La presente invención está relacionada con las siguientes solicitudes de patente:

Publicación PCT No. WO2007/041792, titulada "Fabricación de nanocables", presentada el 12 de octubre de 2006.

10 Publicación PCT No. WO2007/041791, titulada "Método y dispositivo para formar una fibra microestructurada", presentada el 12 de octubre de 2006.

El contenido de cada uno de los siguientes documentos es también relevante.

Rost, F. W. D., *Fluorescent Microscopy*, Cambridge University Press, Cambridge, UK (1992).

Snyder, A. W y Love, J. D., *Optical Waveguide Theory*, Chapman and Hall, 2-6 Boundary Row, Londres SE1 8HN, UK, (1995).

15 Marcuse, D., *Journal of Lightwave Technology*, 6, 1273-1279 (1988).

Washburn, E. W., *Physical Review*, 17, 273-283 (1921).

Agrawal, P., *Nonlinear Fiber Optics*, Academic Press, (2007).

Afshar, V. S., Warren-Smith, S. C., Monro, T. M., "Enhancement of fluorescence-based sensing using microstructured optical fibres", *Optics Express*, 15, 17891-17901 (2007).

20 Ruan, Y., Schartner, E. P., Ebendorf-Heidepriem, H., Hoffman, P., Monro, T. M., "Detection of quantum-dot labeled proteins using soft glass microstructured optical fibers", *Optics Express*, 15, 17819-17826 (2007).

Afshar, V. S., Ruan, Y., Warren-Smith, S. C., Monro, T. M., "Enhanced fluorescence sensing using microstructured optical fibres: a comparison of forward and backward collection modes", *Optics Letters*, 33, 1473-1475 (2008).

25 Afshar, V.S., Ruan, Y., Warren-Smith, S. C., Ebendorf-Heidepriem, H., Monro, T. M., "Highly efficient fluorescence sensing using microstructured optical fibers; general model and experiment", 19ª Conferencia internacional sobre sensores de fibra óptica, Perth, Australia, 14-18 de abril de 2008, *Proceedings of SPIE*, 7004, 149 (2008).

Warren-Smith, S. C., Afshar, V. S., Monro, T. M., "Highly-efficient fluorescence sensing using microstructured optical fibers; side-access and thin-layer configurations", 19ª Conferencia internacional sobre sensores de fibra óptica, Perth, Australia, 14-18 de abril de 2008, *Proceedings of SPIE*, 7004, 99 (2008).

30 Monro, T. M., Ruan, Y., Ebendorf-Heidepriem, H., Foo, H., Hoffman, P., Moore, R. C., "Antibody immobilization within glass microstructured fibers: a route to sensitive and selective biosensors", 19ª Conferencia internacional sobre sensores de fibra óptica, Perth, Australia, 14-18 de abril de 2008, *Proceedings of SPIE*, 7004, (Post Deadline Paper) (2008).

35 Warren-Smith, S. C., Afshar, V. S., Monro, T. M., "Theoretical study of liquid-immersed exposed-core microstructured optical fibers for sensing", *Optics Express*, 16, 12, 9034-9045 (2008).

Antecedentes

40 Pueden utilizarse dispositivos de detección ópticos para detectar pequeñas concentraciones de materiales químicos o biológicos y éstos tienen así muchas aplicaciones en las áreas de control de contaminación, defensa, detección de corrosión, detección de explosivos, vigilancia de la calidad del agua, detección biológica y control de calidad en la fabricación. Ha habido una pluralidad de intentos de crear un dispositivo de detección sobre la base de tecnología de fibra óptica empleando los principios de absorción y espectroscopia de fluorescencia. Como se apreciaría por los expertos en la materia, la sensibilidad de tal dispositivo basado en fibra óptica se refiere principalmente a la fracción de potencia del campo de modo guiado que está disponible para solaparse con el material a detectar.

45 Dependiendo de la estructura o configuración geométrica del sensor basado en fibra, puede variar ampliamente la fracción de la luz guiada que está disponible para interacciones de materiales. Una pluralidad de intentos de desarrollar un sensor basado en fibra han hecho uso de colas evanescentes del campo modal (detección evanescente) o, alternativamente, de la porción central de un modo guiado dentro de un núcleo de aire. Algunos

ejemplos de sensores basados en fibra que utilizan principios de detección basados en evanescencia incluyen fibras estrechadas, fibras en forma de D, fibras ópticas microestructuradas (MOFs), fibras de cristal fotónico (PCF) e incluso nanocables en los que casi todos los modos llegan a estar disponibles para la detección. Otros ejemplos de geometrías de guía de onda que pueden proporcionar acceso a interacciones de luz-materia para detección que no dependen necesariamente de hacer uso del campo evanescente, incluyen tubos capilares y fibras de banda prohibida fotónica de núcleo hueco.

Sin embargo, cada una de estas categorías de sensores basados en fibra anteriormente descritas tiene una pluralidad de desventajas. Para sensores no evanescentes, aunque hay frecuentemente un excelente solapamiento de material y luz, hay una pluralidad de dificultades técnicas para implementar un sensor práctico. Para geometrías en las que el campo óptico disponible para interacciones de luz-materia está localizado dentro de un núcleo de aire (tal como tubos capilares o MOFs de núcleo hueco), el requisito de una región de revestimiento para rodear este núcleo y proporcionar así confinamiento para el modo restringe las opciones de detectar el entorno local. Un inconveniente adicional de estos dispositivos es que es generalmente necesario cargar sensores del tipo en sus extremos.

Por el contrario, los nanocables proporcionan un acceso externo fácil al campo óptico. Sin embargo, la restricción práctica más significativa con estos dispositivos se refiere a dificultades en la manipulación de nanocables debido a sus dimensiones pequeñas y las cuestiones resultante con la integración, la fragilidad y la contaminación. Aunque el caso bien estudiado de fibras en forma de D ofrece una alternativa más práctica, los sensores de este tipo basados en campo evanescente pueden ofrecer sólo un solapamiento de luz-materia relativamente pequeño y, por tanto, baja eficiencia. Una desventaja secundaria y relacionada es que estas fibras no capturan eficientemente fotones fluorescentes de modo que éstos puedan propagarse como una señal fluorescente hasta una localización en la que puede analizarse la señal.

Un ejemplo de un sensor basado en fibra de tipo evanescente que intenta abordar la captura y propagación de fotones fluorescentes se ilustra en la figura 1, que es un sensor de MOF 100 que incluye una región de núcleo central 110 para la propagación de luz que tiene una longitud de onda de excitación 130 rodeada por tres canales o cámaras alargados 120, 121, 122 que se extienden longitudinalmente. En este ejemplo, el canal 121 se llena con un material fluorescente 140 dentro de una solución que, con la excitación por una porción de luz de longitud de onda de excitación 130 que surge del campo evanescente de luz que se propaga a lo largo de la región de núcleo central 110, provocará la fluorescencia 145 de luz de longitud de onda fluorescente 131 que se radia de manera sustancialmente uniforme en todas las direcciones. Una componente de esta fluorescencia 145 es capturada entonces por la región de núcleo central 110 y después se propaga a lo largo del sensor de MOF 100 para su detección por reflexión en un extremo proximal 150 o por transmisión en un extremo distal 160 del sensor de MOF 100.

Aunque un sensor de MOF de este tipo tiene muchas características convenientes tales como facilidad de llenado, mediciones próximas a tiempo real y despliegue, ya que éstos pueden conectarse fácilmente a sistemas basados en fibra convencionales, en la práctica el solapamiento de luz-materia relativamente bajo y la baja eficiencia de captura asociada de los fotones fluorescentes en la región de núcleo central 110 han significado que los sensores de MOF de esta configuración han sido capaces solamente de demostrar sensibilidades relativamente bajas.

El artículo publicado "An Optical Fibre Protein Sensor", OPTICAL INTERNET, 2007 y LA 32ª CONFERENCIA AUSTRALIANA DE 2007 SOBRE TECNOLOGÍA DE FIBRA ÓPTICA. JOINT INTERNATIONAL CONFERENCE ON, IEEE, PISCATAWAY, NJ, USA, páginas 1-3, Schartner et al. describen un ejemplo de este tipo de una disposición de sensor de MOF, en donde los efectos de reducir el tamaño del diámetro de núcleo y la diferencia de índice de refracción entre el núcleo y los canales circundantes o las regiones de interacción se investigan con miras a incrementar la fracción de potencia de radiación en estos canales.

En consecuencia, existe una necesidad de un sensor basado en fibra óptica que utilice fluorescencia y que sea capaz de proporcionar sensibilidad incrementada que sea fácilmente desplegable.

Sumario

En consecuencia, la presente invención proporciona un método de detección que incluye:

propagar luz de una longitud de onda de excitación desde una fuente de irradiación por un núcleo alargado de fibra óptica microestructurada, incluyendo la fibra óptica microestructurada una región de interacción que incluye un material fluorescente, extendiéndose la región de interacción longitudinalmente a lo largo del núcleo alargado;

reforzar una intensidad de la luz propagada en una región de interfaz en relación con una intensidad de la luz propagada dentro del núcleo alargado, estando la región de interfaz localizada entre el núcleo alargado y esta región de interacción para incrementar así la cantidad de luz fluorescente capturada que se propaga a lo largo del núcleo alargado, estando formada la región de interfaz por una discontinuidad en el campo electromagnético de la luz propagada, siendo la discontinuidad proporcional a la relación de las constantes dieléctricas del núcleo alargado y la región de interacción, en donde la intensidad de la luz propagada en la región de interfaz se refuerza seleccionando una diferencia en el índice de refracción entre el núcleo alargado y la región de interacción mayor que 0,3 y una

dimensión en sección transversal del núcleo alargado menor que la longitud de onda de excitación o del mismo orden que ésta; y

detectar la luz fluorescente capturada por reflexión en un extremo proximal o por transmisión en un extremo distal de la fibra óptica microestructurada.

5 En una realización, la diferencia en el índice de refracción entre el núcleo alargado y la región de interacción es mayor que 0,6.

En una realización, la diferencia en el índice de refracción entre el núcleo alargado y la región de interacción es mayor que 1,0.

10 En una realización, el núcleo alargado es un nanocable soportado por una estructura de soporte que define la región de interacción.

En una realización, la estructura de soporte sujeta el núcleo alargado a una camisa exterior de apoyo.

En una realización, la intensidad de la luz propagada en la región de interfaz es mayor que una intensidad de la luz propagada dentro del núcleo alargado.

15 En una realización, la intensidad de la luz propagada en la región de interfaz es mayor que la intensidad de un valor pico de la luz propagada dentro del núcleo alargado.

En una realización, la región de interacción es una región de confinamiento para contener el material fluorescente en forma líquida.

En una realización, la región de confinamiento puede llenarse desde un extremo de llenado de la fibra óptica microestructural.

20 En una realización, el sensor es irradiado con luz que tiene la longitud de onda de excitación en un extremo de entrada del sensor, estando el extremo de entrada opuesto al extremo de llenado, y en donde la luz fluorescente es capturada y propagada de nuevo hacia el extremo de entrada para su detección.

En una realización la región de interfaz está expuesta.

25 En una realización, la región de interfaz está expuesta en una pluralidad de localizaciones a lo largo del núcleo alargado.

En una realización, la región de interfaz incluye al menos una porción revestida con el material fluorescente.

En una realización, el material fluorescente es un anticuerpo fluorescentemente marcado para la detección de una biomolécula predeterminada.

Breve descripción de los dibujos

30 Realizaciones ilustrativas de la presente invención se discutirán con referencia a los dibujos que se acompañan, en los que:

La figura 1 es una vista en perspectiva lateral figurativa de una configuración de sensor de MOF sobre la base de espectroscopia de fluorescencia;

35 La figura 2 incluye una vista en sección transversal frontal ampliada y una imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) de un sensor de acuerdo con una primera realización ilustrativa de la presente invención;

La figura 3 es una vista figurativa de un detector de longitud de llenado para medir la cantidad de material fluorescente proporcionada al sensor mostrado en la figura 2;

La figura 4 es un gráfico que compara predicciones teóricas de la tasa de llenado del sensor mostrado en la figura 2 con la tasa medida determinada por el detector de longitud de llenado mostrado en la figura 3;

40 La figura 5 es una vista figurativa de un esquema de sensor para medir una señal fluorescente sobre la base del sensor ilustrado en la figura 2;

La figura 6 es un gráfico de la señal fluorescente detectada por el esquema de sensor ilustrado en la figura 5;

45 La figura 7 es un gráfico de la función de captura fluorescente (FCF) calculada en función de la longitud de fibra para la geometría de sensor mostrada en la figura 2 para un diámetro de núcleo supuesto de 0,8 μm , a una longitud de onda de 590 nm y suponiendo una concentración de 5×10^{-5} M de rodamina B disuelta en isopropanol (índice de refracción de 1,3774) para un rango de materiales de diferentes índices de refracción;

5 La figura 8 es un gráfico de la función de captura fluorescente (FCF) calculada en función del diámetro de núcleo para la geometría de sensor mostrada en la figura 2, a una longitud de onda de 590 nm y suponiendo una concentración de 5×10^{-5} M de rodamina B disuelta en isopropanol (índice de refracción de 1,3774) para un rango de materiales de índice de refracción variable, representando el gráfico inserto una porción ampliada para diámetros de núcleo mayores que $0,4 \mu\text{m}$;

La figura 9 es un gráfico del área efectiva calculada A_{ef} del modo fundamental en función del diámetro de núcleo para la geometría de sensor mostrada en la figura 2, a una longitud de onda de 590 nm y suponiendo una concentración de 5×10^{-5} M de rodamina B disuelta en isopropanol (índice de refracción de 1,3774) para un rango de materiales de índice de refracción variable;

10 La figura 10 es un gráfico de la integral de solapamiento normalizada (NOI) calculada en función del diámetro de núcleo para la geometría de sensor mostrada en la figura 2, a una longitud de onda de 590 nm y suponiendo una concentración de 5×10^{-5} M de rodamina B disuelta en isopropanol (índice de refracción de 1,3774) para un rango de materiales de índice de refracción variable;

15 La figura 11 es un gráfico de la función de captura fluorescente (FCF) calculada en función de la concentración molar de rodamina B disuelta en isopropanol (índice de refracción de 1,3774) para la geometría de sensor mostrada en la figura 2, para un rango de materiales de índice de refracción variable, a una longitud de onda de 590 nm, en donde las líneas de trazos corresponden a un diámetro de núcleo de $0,2 \mu\text{m}$ y las líneas continuas corresponden a un diámetro de núcleo de $0,8 \mu\text{m}$, representando el gráfico inserto una escala lineal sobre el mismo rango de concentración;

20 La figura 12 es un gráfico de distribución de intensidad calculada del modo fundamental para la geometría de sensor mostrada en la figura 2, formada de sílice y con un diámetro de núcleo de $0,2 \mu\text{m}$ a una longitud de onda de 590 nm;

La figura 13 es un gráfico de la distribución de intensidad calculada del modo fundamental para la geometría de sensor mostrada en la figura 2, formada de SF57 y con un diámetro de núcleo de $0,2 \mu\text{m}$ a una longitud de onda de 590 nm;

25 Las figuras 14A a 14F son una serie de perfiles en sección transversal de configuraciones de sensor de acuerdo con diversas realizaciones de la presente invención; y

Las figuras 15A y 15B son vistas en perspectiva de configuraciones de sensor de la variedad de núcleo expuesto de acuerdo con realizaciones adicionales de la presente invención.

30 En la siguiente descripción los caracteres de referencia iguales designan las mismas partes o partes correspondientes en todas las diversas vistas de los dibujos.

Descripción detallada

35 La siguiente descripción contiene información específica que pertenece a la implementación de la presente invención. Un experto en la materia reconocerá que la presente invención puede implementarse de una manera diferente de la específicamente discutida en la presente solicitud. Además, no se discuten algunos de los detalles específicos de la invención a fin de no oscurecer la invención. Los detalles específicos no descritos en la presente solicitud están dentro del conocimiento de un experto ordinario en la materia.

40 Los dibujos de la presente solicitud y su descripción detallada acompañante están dirigidos meramente a ejemplos de realización de la invención. Para mantener la brevedad, otras realizaciones de la invención que utilizan los principios de la invención no se describen específicamente en la presente solicitud y no se ilustran específicamente por los presentes dibujos.

45 Haciendo referencia ahora a la figura 2, se muestran una vista en sección transversal frontal ampliada y una imagen de SEM de un sensor 200 de acuerdo con una realización ilustrativa de la presente invención. En esta realización ilustrativa, el sensor 200 es una MOF e incluye una porción de núcleo alargada 210 localizada dentro de un revestimiento o región exterior 250 y soportada por una estructura de soporte que incluye tres puntales radialmente equiespaciados 240, 241, 242 que se extienden desde la región exterior 250 hasta la porción de núcleo 210.

50 Entre cada par de puntales radiales opuestos 240-241, 241-242, 242-240 y la región exterior 250 están definidos unos respectivos canales longitudinales 220, 221, 222 que se extienden a lo largo de la longitud del sensor y que en esta realización funcionan como una región de interacción. En esta realización ilustrativa, el diámetro d de la porción de núcleo 210 del sensor 200 es de $1,8 \mu\text{m}$ y ésta está formada de vidrio de tipo SF57 que es un silicato de plomo Schott comercialmente disponible que tiene un índice de refracción lineal relativamente alto de 1,84625.

Métodos relacionados con la fabricación del sensor 200 se describen en la publicación PCT No. WO2007/041792, titulada "FABRICACIÓN DE NANOCABLES", y la publicación PCT No. WO 2007/041791, titulada "MÉTODO Y DISPOSITIVO PARA FORMAR UNA FIBRA MICROESTRUCTURADA", presentadas ambas el 12 de octubre de 2006 por la solicitante de la presente solicitud.

Haciendo referencia ahora a la figura 3, cada uno de los canales longitudinales 220, 221, 222 se llena con un material fluorescente en forma líquida que, en esta realización ilustrativa, es rodamina B disuelta en isopropanol. Por tanto, los canales 220, 221, 222 forman una región de confinamiento para contener el material fluorescente en forma líquida. Los picos fluorescentes de absorción y concentración baja de rodamina B están en 540 nm y 570 nm, respectivamente. Se utiliza una acción capilar para llenar los canales 220, 221, 222 desde un recipiente de llenado 330 que contiene el material fluorescente. Como puede verificarse por el detector de longitud de llenado 300, esta acción capilar funciona para llenar rápidamente los canales 220, 221, 221.

El detector de longitud de llenado 300 incluye un láser CW 310, que funciona a 532 nm, acoplado al sensor 200 utilizando una lente esférica 1220 que tiene una $f = 2,75$ mm y una $NA = 0,65$, proporcionando una eficiencia de acoplamiento máxima de $19\% \pm 1\%$. La posición del material fluorescente en los canales 220, 221, 222 es entonces capaz de registrarse observando la emisión fluorescente de la interfaz de líquido en la dirección hacia atrás del haz láser.

La tasa de llenado esperada se calcula sobre la base de una ecuación de tasa de llenado para un tubo capilar circular (véase, por ejemplo, Washburn, E. W., Physical Review, 17, 273-283 (1921), incorporado aquí expresamente por referencia en su totalidad), en donde se han supuesto los siguientes valores para isopropanol.

Parámetro físico	Valor
Densidad	785 kgm^{-3}
Tensión superficial	$0,022 \text{ Nm}^{-1}$
Viscosidad	$2,27 \times 10^{-3} \text{ Nsm}^{-2}$
Radio efectivo (r_{ef})	$6,11 \times 10^{-6} \text{ m}$
Ángulo de contacto	0
Coefficiente de resbalamiento	0
Presión externa	0

Para determinar el radio efectivo r_{ef} del sensor 200 se supone que los canales 220, 221, 222 (como se ve mejor en la figura 2) son circulares con la misma área que la del sensor 200 determinada por el SEM.

Haciendo referencia ahora a la figura 4, se muestra un gráfico 400 de las mediciones experimentales 410 de la longitud llenada en función del tiempo y las predicciones de llenado teórico 420a (correspondiente a $r_{\text{ef}} = 4,72 \mu\text{m}$), 420b (correspondiente a $r_{\text{ef}} = 5,47 \mu\text{m}$) y 420c (correspondiente a $r_{\text{ef}} = 6,11 \mu\text{m}$). Aunque el resultado teórico 420c que corresponde al r_{ef} medido real sobreestima la longitud llenada, es obvio que hay un acuerdo total entre la predicción teórica y los resultados experimentales.

La pequeña discrepancia entre la predicción teórica y los resultados experimentalmente determinados se debe en gran parte a la suposición de que los canales 220, 221, 222 son circulares. Dado que la acción de las fuerzas capilares es debida en gran parte a efectos de superficie, la suposición de un radio uniforme de curvatura no tiene en cuenta las regiones de esquina de los canales 220, 221, 222. Esto da como resultado una sobreestimación de la tasa de llenado.

Haciendo referencia ahora a la figura 5, se muestra un esquema de sensor 500 que incorpora un sensor 200 que está acoplado a un láser CW 1210 que funciona a 532 nm utilizando una lente esférica 520 de $f = 2,75$ mm y $NA = 0,65$, lo que proporciona una eficiencia de acoplamiento máxima de $19\% \pm 1\%$. La pérdida medida del sensor 200 a 532 nm es de $5,5 \pm 0,5$ dB/m. Después de la salida del sensor 200 se emplea un filtro 530 de paso largo para excluir las componentes de frecuencia de excitación y acoplar la luz de salida a una fibra de modo único (SMF) 540 que se conecta a continuación a un analizador de espectro óptico (OSA) 550 para la medición del espectro de la emisión fluorescente.

En esta realización ilustrativa, los canales 220, 221, 222 del sensor 200 están revestidos con un líquido de adaptación de índices adecuado para eliminar cualquier emisión fluorescente acoplada a los modos de revestimiento, asegurando así que la fluorescencia medida del sensor 200 haya sido capturada por los modos del sensor guiados en núcleo de pérdida relativamente baja.

Haciendo referencia ahora a la figura 6, se muestra un gráfico 600 de las prestaciones del sensor 200 que ilustra claramente la fluorescencia esperada 620 y también la caída significativa de la fluorescencia medida a lo largo del tiempo. Por ejemplo, la señal fluorescente a 72 segundos se muestra en 630, la señal a 240 segundos se muestra en 640, la señal a 480 segundos se muestra en 650 y la señal a 960 segundos se muestra en 660. Como se apreciaría por los expertos en la materia, esta caída en la fluorescencia se debe a un fotoblanqueamiento, es decir,

a la destrucción fotoinducida del fluoróforo (véase, por ejemplo, Rost, F. W. D., *Fluorescent Microscopy*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, (1992)).

Como se ha demostrado aquí por la solicitante, la configuración del sensor 200 funciona para incrementar la intensidad de la luz que se propaga a lo largo de la porción de núcleo alargada 210 en una región de interfaz 230, 231, 232 localizada entre la porción de núcleo alargada 210 y la región de interacción, que, en esta realización ilustrativa, comprende los canales alargados 220, 221, 222 que incluyen el material fluorescente. Este refuerzo de la intensidad en esta región de interfaz tiene la ventaja significativa de incrementar la cantidad de luz fluorescente capturada en la porción de núcleo alargada 210 que resulta de la fluorescencia en la región de interacción, que, en esta realización, rodea la porción de núcleo alargada 210.

Como se describirá en detalle posteriormente en relación con un método desarrollado por la solicitante para simular la excitación de un material fluorescente para producir luz fluorescente y la recaptura y propagación posteriores de una proporción de luz fluorescente por una porción de núcleo alargada en un sensor, las regiones de interfaz de alta intensidad localizada se forman debido a la discontinuidad del campo eléctrico en la interfaz de dos medios dieléctricos, en este caso la rodamina B disuelta en isopropanol en la región de interacción (o en los canales alargados 220, 221, 222) y la porción de núcleo alargada 210, que se forma de SF57.

La magnitud de esta discontinuidad es proporcional a la relación de las constantes dieléctricas de los dos medios y el valor absoluto de la intensidad depende del diámetro del núcleo alargado 210 y la longitud de onda de la luz. Como resultado del solapamiento de estas regiones de alta intensidad localizada en el campo modal con el material fluorescente, las prestaciones del sensor 200 se mejoran sustancialmente cuando se comparan con otros sensores basados en MOF de núcleo macizo. Como se apreciaría por los expertos en la materia, el sensor 200 demuestra así tanto una excitación en fibra como una recaptura fluorescente dentro de una MOF de guiado de índice de núcleo macizo, llena de líquido, a través de sus modos guiados.

El uso de fibras de núcleo macizo en esta realización ilustrativa permite así el acceso a altos solapamientos de luz-materia sin necesitar un llenado selectivo de agujeros, ya que el sensor 200 puede llenarse de manera pasiva (como se ilustra en las figuras 3 y 4).

Aunque en esta realización ilustrativa se ha empleado un tinte líquido orgánico tal como rodamina B disuelta en isopropanol, puede utilizarse igualmente cualquier otro material fluorescente adecuado. Un ejemplo es el uso de puntos cuánticos que son grupos a escala nanométrica de átomos de semiconductor con amplio espectro de excitación y estrecha emisión de fluorescencia sintonizable en longitud de onda. Como se apreciaría por los expertos en la materia, los puntos cuánticos tienen una pluralidad de ventajas con respecto a muchos otros materiales fluorescentes, ya que tienen un brillo y una fotoestabilidad mucho más altos, lo que se traduce en un fotoblanqueo despreciable.

En otra realización ilustrativa que emplea el uso de puntos cuánticos, se empleó como material fluorescente un tinte de puntos cuánticos Qdot® 800 que está comercialmente disponible en Invitrogen Corporation. El Qdot® 800 está formado por un compuesto de puntos cuánticos CdTe-ZnS y en esta realización ilustrativa se emplea para marcar un material biológico que comprende un conjugado de IgG antirratón y F(ab')₂ de cabra en solución acuosa. El Qdot® 800 posee un amplio espectro de absorción que va del UV al infrarrojo cercano y, como se sugiere por su nombre, la longitud de onda de emisión máxima de este material es de 800 nm.

El material biológico marcado con puntos cuánticos combinados se utiliza entonces para llenar los canales 220, 221, 222 del sensor 200 por acción capilar y un esquema de sensor similar al mostrado en la figura 5 se utiliza con una fuente de irradiación de 532 nm, con la fluorescencia capturada resultante detectada por un OSA como se discute previamente (véase, por ejemplo, Ruan, Y., Schartner, E. P., Ebendorf-Heidepriem, H., Hoffman, P., Monro, T. M. "Detection of quantum-dot labeled proteins using soft glass microstructured optical fibers", *Optics Express*, 15, 17819-17826 (2007)).

La solicitante encontró aquí que las concentraciones de los materiales biológicos tan bajas como 1 nM eran detectables a través de la medición directa de fluorescencia capturada en el extremo del sensor 200 para una configuración no optimizada del sensor 200 formado de un vidrio de silicato de plomo comercial tal como SF57, F2 o LLF1 (disponible en la Schott Glass Company) y que tiene en estas realizaciones ilustrativas unos diámetros de núcleo de 1,3 µm y 1,9 µm, respectivamente, con longitudes de puntal correspondientes de 6 µm y 7 µm. Se esperan otras mejoras en las prestaciones de estos tipos de sensores biológicos reduciendo adicionalmente estos tamaños de núcleo e incrementando las longitudes de puntal del sensor 200.

Adicionalmente, el material fluorescente puede incluir materiales que están revestidos o funcionalizados directamente sobre las regiones de interfaz o cerca de éstas. En una realización ilustrativa, el material fluorescente es un anticuerpo fluorescentemente marcado para la detección de una biomolécula predeterminada. En esta realización, las regiones de interfaz 230, 231, 232 pueden revestirse con uno o más anticuerpos diferentes fluorescentemente marcados.

De acuerdo con esta realización, se empleó un sensor 200 formado de vidrio blando F2 y que tiene un diámetro de núcleo de 1,3 µm. Los canales 220, 221, 222 se sinalizaron primero bombeando 3-mercaptopropiltrimetoxisilano

[Sigma] hacia cada canal seguido por éster de N-γ-maleimidobutiriloxi-sucinimida (GMBS) [Merck], que forma una capa de reticulación sobre las superficies internas silanizadas de los canales 220, 221, 222. La capa de reticulación funciona para conectar la capa de silano al anticuerpo, que, en este ejemplo, consistía en 100 nM del conjugado de IgG antirratón y F(ab')₂ de cabra con Qdot® 800, que es bombeado posteriormente a través de los canales 220, 221, 222. Entre la respectiva sujeción de las capas de silano, reticulador y anticuerpo, los canales se lavaron con una solución tampón acuosa.

El sensor 200 se desplegó una vez más en un esquema de sensor similar al mostrado en la figura 5 y se le irradió utilizando una fuente de irradiación de 532 nm. Se detectó la fluorescencia (véase, por ejemplo, Monro, T. M., Ruan, Y., Ebendorf-Heidepriem, H., Foo, H., Hoffman, P., Moore, R. C., "Antibody immobilization within glass microstructured fibers: a route to sensitive and selective biosensors", 19ª Conferencia internacional sobre sensores de fibra óptica, Perth, Australia, 14-18 de abril de 2008, Proceedings of SPIE, 7004, (Post Deadline Paper) (2008), demostrando así que los anticuerpos habían sido inmovilizados sobre las superficies internas de los canales. En consecuencia, el sensor 200 que incorpora los anticuerpos inmovilizados en los canales 220, 221, 222 pueden inundarse entonces con material biológico que contiene las biomoléculas (es decir, el antígeno específico) que se está buscando detectar a través de su enlace con anticuerpos inmovilizados.

La presencia y concentración de estas biomoléculas puede determinarse entonces activando el sensor 200 por la propagación de luz de una longitud de onda de excitación adecuada por el núcleo 210. En otra realización ilustrativa puede permitirse que los fluidos biológicos fluyan continuamente a través de los canales 220, 221, 222, con el sensor 200 dejado permanentemente en el estado "conectado".

En los casos en los que el material fluorescente está directamente aplicado como revestimiento sobre la región de interfaz en forma de una capa delgada, se ha encontrado que es más probable que se capture cualquier fluorescencia resultante (véase, por ejemplo, Warren-Smith, S. C., Afshar, V. S., Monro, T. M., "Highly-efficient fluorescence sensing using microstructured optical fibers; side-access and thin-layer configurations", 19ª Conferencia internacional sobre sensores de fibra óptica, Perth, Australia, 14-18 de abril de 2008, Proceedings of SPIE, 7004, 99 (2008).

Sin embargo, la absorción de esta capa delgada necesita todavía ser mayor que cualquier pérdida de fibra correspondiente a fin de proporcionar un refuerzo de la señal de fluorescencia resultante. Estas configuraciones de material fluorescente de capa delgada pueden aumentar la eficiencia de captura de fluorescencia en aproximadamente 250% en comparación con una configuración de sensor equivalente en la que el material fluorescente llena completamente los canales, como se ha descrito previamente.

Para facilitar el desarrollo de otras geometrías de sensor, se describe un método de simular la excitación de un material fluorescente para producir luz y la recaptura y propagación posteriores de una proporción de luz fluorescente por una porción de núcleo alargada en un sensor de acuerdo con la presente invención. Este método tiene en cuenta la separación de longitudes de onda de excitación-fluorescencia significativas, tal como cabía esperar con puntos cuánticos, la presencia de características de escala de longitudes de onda en MOFs e índices de refracción de alto contraste.

El método utiliza soluciones vectoriales a ecuaciones de Maxwell e incluye las pérdidas de fibra en longitudes de excitación y de fluorescencia. Este formalismo puede aplicarse a secciones transversales de fibra arbitrarias. Evaluando las características modales de un rango de fibras en ambas longitudes de onda, pueden explorarse maneras de reforzar la sensibilidad de detección maximizando la fracción de captura fluorescente (FCF) dentro del modo o modos guiados de la fibra.

Haciendo referencia una vez más a la figura 1, que representa la geometría general para un sensor basado en MOF, el método de simulación supone que los modos de propagación de una MOF absorbente son los mismos que los no absorbentes, excepto en que sus potencias caen con un factor de atenuación de γ a medida que se propagan. La potencia electromagnética de excitación en el j-ésimo modo a la frecuencia de excitación ω_E se expresa entonces como

$$P_{Ej}(z) = |a_{Ej}|^2 N_{Ej} \exp(-\gamma_{Ej}z); \quad N_{Ej} = \frac{1}{2} \operatorname{Re} \left\{ \int_{A_{\omega}} (\mathbf{e}_{Ej} \times \mathbf{h}_{Ej}^*) \cdot \hat{\mathbf{z}} dA \right\} \quad (1)$$

$$\gamma_{Ej} = k \left(\frac{\epsilon_0}{\mu_0} \right)^{1/2} \frac{\int_{A_{\omega}} n_E n_E^i |\mathbf{e}_{Ej}|^2 dA}{N_{Ej}} \quad (2)$$

(véase, por ejemplo, Snyder, A. W y Love, J. D., Optical Waveguide Theory, Chapman and Hall, 2-6 Boundary Row, Londres SE1 8HN, UK, (1995)),

en donde a_{Ej} es el coeficiente de expansión para el modo j,

$e_{Ej}(x, y)$, $h_{Ej}(x,y)$, β_{Ej} y γ_{Ej} son el j-ésimo modo de distribuciones de campo eléctrico y magnético, la constante de propagación y el factor de caída de potencia debido a la absorción, respectivamente. Aquí, se supone que γ_j es representante de todos los mecanismos de absorción en la MOF, incluyendo la absorción debida a la ley de Beer-Lambert (véase, por ejemplo, Rost, F. W. D., *Fluorescent Microscopy*, Cambridge University Press, Cambridge, UK, (1992), mencionado anteriormente).

Para una MOF llena arbitraria, tanto $n_E(x,y)$ como $n_E^i(x,y)$ (partes real e imaginaria de los índices de refracción) son funciones de coordenadas transversales y, por tanto, la integral por piezas en la Ecuación (2) puede integrarse sobre el vidrio y los canales que definen las regiones de interacción. La Ecuación (1) indica que, aunque tenga lugar la absorción del modo de excitación en la región llena, a través de la ley de Beer-Lambert, el pico de intensidad se reduce también, manteniendo constantes la forma del modo y la fracción de potencia de agujero.

Tras la absorción de los fotones de excitación, el material fluorescente en los canales se comporta como una nueva fuente y emite fotones fluorescentes en todas las direcciones. De manera similar al campo de excitación, la emisión de esta nueva fuente fluorescente puede escribirse en general como la suma de modos de avance, retroceso y radiación de la MOF no absorbente, con la consideración de la caída de potencia debido a la pérdida en la frecuencia fluorescente. En consecuencia, se encuentra que la potencia fluorescente que se propaga a través del j-ésimo modo de avance de la MOF, incluyendo su pérdida, es

$$P_{Fj}(z) = \frac{\pi^2 \exp(-\gamma_{Fj}z)}{\omega_F \mu_0 n_F^H k N_{Fj}} \int_V |\mathbf{e}_{Fj}|^2 P_D(\mathbf{r}) \exp(\gamma_{Fj}z) dV. \quad (3)$$

(véase, por ejemplo Marcuse, D., *Journal of Lightwave Technology*, 6, 1273-1279 (1988)).

Aquí, $P_D(\mathbf{r})$ es la densidad de potencia de radiación de cualquier fuente dentro de la MOF, que, para el caso aquí considerado, se debe a la emisión fluorescente del material de relleno. La densidad de la emisión fluorescente en el punto \mathbf{r} depende de la absorción del campo de excitación desde el comienzo del área llena hasta el punto \mathbf{r} (como se ve de forma óptima en la figura 1). Utilizando las Ecuaciones (1) y (2) y suponiendo que la eficiencia de la absorción de excitación a la emisión fluorescente es ξ , se encuentra que $P_D(\mathbf{r})$ es

$$P_D(\mathbf{r}) = \xi \lim_{\Delta V \rightarrow 0} \frac{\text{potencia absorbida}}{\Delta V} = \frac{1}{2} \xi \alpha_B \eta_{Ej}^H |a_{Ej}|^2 \text{Re}[(\mathbf{e}_{Ej} \times \mathbf{h}_{Ej}^*) \cdot \hat{z}] \exp(-\gamma_{Ej}z). \quad (4)$$

Aquí $\eta_E^H = n_E^H (\epsilon_0 / \mu_0)^{1/2} 1 / (2N_{Ej}) \int_H |e_{Ej}|^2 dA$ es una generalización de la definición usual de fracción de potencia, es decir, $\int_H (e_x^2 + e_y^2) dA / \int_{A_{\infty}} (e_x^2 + e_y^2) dA$, $\alpha_B = \epsilon_A C$ es el coeficiente de absorción debido a la ley de Beer-Lambert, en donde ϵ es el coeficiente de extinción molar del material de relleno y C es la concentración molar, y el superíndice H se refiere a las regiones de los canales.

Sustituyendo la Ecuación (4) en la Ecuación (3) y tomando la integral sobre z , la fracción de captura fluorescente FCF en el j-ésimo modo guiado de la MOF puede expresarse como

$$FCF = P_{Fj}(z)/P_{Ej}(0) = AB \frac{\exp(-\gamma_{Fj}z)}{(\gamma_{Ej} - \gamma_{Fj})} \{1 - \exp[(\gamma_{Ej} - \gamma_{Fj})L]\}; \quad z > L \quad (5)$$

$$A = \frac{\xi \alpha_B \lambda^2}{2n_F^H}; \quad B_j = n_F^H \left(\frac{\epsilon_0}{\mu_0} \right)^{1/2} \frac{\eta_{Ej}^H \int_H |\mathbf{e}_{Ej}|^2 \text{Re}[(\mathbf{e}_{Ej} \times \mathbf{h}_{Ej}^*) \cdot \hat{z}] dA}{4N_{Fj} N_{Ej}}. \quad (6)$$

En esta ecuación A es un coeficiente constante, $P_{Ej}(0)$ es la potencia de campo de excitación de entrada al comienzo de la parte llena de la fibra, cuya longitud se muestra por L (véase la figura 1). En toda la descripción, solamente se considera la FCF en el modo guiado fundamental.

Haciendo referencia ahora a la figura 7, se muestra un gráfico 700 de los resultados de calcular la FCF en función de la longitud de fibra para la configuración geométrica del sensor 200 (como se ve mejor en la figura 2). El diámetro de núcleo d se define como el diámetro de un círculo 260 con un área igual a la del triángulo equilátero más grande que encaja completamente dentro de la región de núcleo de sustrato. Se define una estructura de MOF idealizada en la que la curvatura del núcleo es aproximada por los bordes de los tres círculos de trazos 270 conectados por las

bases de tres rectángulos que se aproximan a los montantes. Para resolver las ecuaciones de Maxwell para esta geometría, se utiliza un paquete COMSOL 3.2 de FEM comercial.

El gráfico 700 muestra claramente que hay una longitud de fibra óptica $L_{opt} = \ln(\gamma_F / \gamma_E) / (\gamma_F - \gamma_E)$ que lleva a la máxima FCF para cualquier geometría de fibra. La FCF se muestra en función de la longitud de fibra para diferentes vidrios de sustrato, como se indica en la tabla siguiente, y para un diámetro de núcleo de $d = 0,8 \mu\text{m}$.

Referencia	Material	Índice de refracción (n)
A	Sílice	1,45838
B	LLF1	1,54799
C	F2	1,61983
D	SF57	1,84625
E	Bi	2,08951

Como sería evidente para los expertos en la materia, la tabla anterior no es exhaustiva, ya que la presente invención puede aplicarse a un amplio rango de materiales de índice de refracción adecuado, incluyendo materiales polímeros y vidrios blandos, incluyendo, pero sin limitarse a ellos, silicatos, bismutatos, teluritos y calcogenuros de plomo.

Para $L < L_{opt}$ creciente, la longitud de fibra aumenta la absorción en la región rellena a través de la ley de Beer-Lambert e incrementa así la FCF. Sin embargo, más allá de esta longitud óptima, domina la atenuación de fibra y, por tanto, la potencia cae como $\exp(-\gamma_F L)$. Como se esperaría generalmente, el uso de vidrios de índice inferior da como resultado una FCF mayor, puesto que el contraste de índices de núcleo-revestimiento relativamente bajo conduce a un mayor solapamiento de luz-materia dentro de los canales (esto es también evidente en el comportamiento de A_{ef} en la figura 9).

Haciendo referencia ahora a la figura 8, se muestra un gráfico 800 de los resultados de calcular la FCF en función del diámetro de núcleo y el tipo de material. Para diámetros de núcleo pequeños ($d < 0,4 \mu\text{m}$), la FCF puede reforzarse significativamente moviéndose hacia vidrios (blandos) de índice alto. La figura 8 muestra la FCF máxima que se produce a la longitud de fibra L_{opt} en función del diámetro de núcleo. Por ejemplo, la FCF máxima para una fibra de óxido de bismuto, que se produce para un tamaño de núcleo de $d \approx 0,2 \mu\text{m}$, es del 18%, 9 veces mayor que el valor de FCF máximo para fibras de sílice (2%), que se produce para un tamaño de núcleo de $d \approx 0,4 \mu\text{m}$ y es 27 veces mayor que la FCF de sílice para $d \approx 0,2 \mu\text{m}$.

Para entender este efecto, es útil examinar el coeficiente B_j en la Ecuación (6) que depende de las distribuciones de campo de los modos guiados de la fibra y su solapamiento con los materiales dentro de los canales. Se supone que los perfiles de modo de los campos excitado y fluorescente son los mismos (es decir, $N_{Fj} = N_{Ej}$), lo que, aunque no es estrictamente cierto en particular para materiales de relleno tales como puntos cuánticos con gran separación de longitudes de onda absorbentes y fluorescentes, puede ayudar a proporcionar una percepción física. El coeficiente B_j puede reescribirse entonces como $B_j = NOI_j / A_{ef}$, donde:

$$NOI_j = n_F^H \left(\frac{\epsilon_0}{\mu_0} \right)^{1/2} \frac{\eta_{Ej}^H \int_H |\mathbf{e}_j|^2 \text{Re}[(\mathbf{e}_j \times \mathbf{h}_j^*) \cdot \hat{z}] dA}{\int_{A_\infty} |\text{Re}[(\mathbf{e}_j \times \mathbf{h}_j^*) \cdot \hat{z}]|^2 dA}; A_{ef} = \frac{(\int_{A_\infty} \text{Re}[(\mathbf{e}_j \times \mathbf{h}_j^*) \cdot \hat{z}] dA)^2}{\int_{A_\infty} |\text{Re}[(\mathbf{e}_j \times \mathbf{h}_j^*) \cdot \hat{z}]|^2 dA} \quad (7)$$

Aquí, NOI_j es una integral normalizada de solapamiento de campo-materia que se aproxima a 1 cuando el diámetro de núcleo llega a ser muy pequeño (véase la figura 10), reflejando el hecho en el límite de desvanecimiento del tamaño del núcleo de que toda la luz está localizada fuera del núcleo. A_{ef} , definido sobre la base de la componente z del vector de Poynting, es una forma generalizada de la definición usual de A_{ef} (véase, por ejemplo, Agrawal, P., Nonlinear Fiber Optics, Academic Press, (2007)).

Haciendo referencia ahora a las figuras 9 y 10, la inspección de los valores calculados para A_{ef} 900 y NOI 1000 a $d = 0,2 \mu\text{m}$ para sílice (es decir, A) y bismuto (es decir, E) revela que, aunque la NOI para sílice es 9 veces mayor que la del bismuto, indicando un solapamiento de campo-canal mucho mayor, el área efectiva A_{ef} del modo de propagación para el bismuto es 240 veces menor que la del sílice para este diámetro de núcleo, dando como resultado valores de intensidad más altos para bismuto y así una FCF mayor.

Haciendo referencia ahora a las figuras 12 y 13, se muestran los perfiles de intensidad calculada del modo fundamental para sílice (figura 12) 1200 y bismuto (figura 13) 1300. La comparación de estas figuras muestra claramente que aunque el modo se expande bien hacia el canal o la región de interacción 220 en el caso de la sílice, éste está bien confinado dentro del núcleo 210 para bismuto y forma una capa delgada de alta intensidad en una región de interfaz 230 localizada entre el núcleo 210 y la región de interacción 220.

Como se ha discutido anteriormente y se ha simulado de acuerdo con el método antes descrito, estas regiones localizadas de alta intensidad se forman debido a la discontinuidad del campo eléctrico en la interfaz de dos medios dieléctricos. La magnitud de la discontinuidad es proporcional a la relación de las constantes dieléctricas de los dos medios y, por tanto, los vidrios blandos con índices de refracción más altos dan como resultado intensidades más altas en la región de interfaz localizada entre la región de interacción 220 (por ejemplo, canal o agujero) y el núcleo alargado 210 (por ejemplo, núcleo de vidrio).

En consecuencia, este régimen de FCF reforzada, conseguido por el uso de dimensiones pequeñas de núcleo y vidrios de índice alto refuerza también la sensibilidad de FCF a variaciones de concentración. Utilizando la Ecuación (5), puede aproximarse la FCF para que tenga la forma $[1 - \exp(-\epsilon_{\lambda} C \eta_{Ej}^H)]$ en función de la concentración C, que

se simplifica a una forma lineal de $\epsilon_{\lambda} C \eta_{Ej}^H$ en el límite de la concentración pequeña.

Haciendo referencia ahora a la figura 11, se muestra un gráfico 1100 de resultados calculados del comportamiento de FCF en función de C para dos diámetros de núcleo $d = 0,8$ (líneas continuas) y $d = 0,2 \mu\text{m}$ (líneas de trazos) y un rango de diferentes vidrios. Sin embargo, se hace notar que el comportamiento de FCF en función de C es opuesto para regímenes de núcleos pequeños y grandes.

La figura 11 y sus insertos revelan que aunque para un diámetro de núcleo grande, por ejemplo $d = 0,8 \mu\text{m}$, la sílice tiene el valor de FCF asintótico y valores de pendiente mayor $\partial(\text{FCF})/\partial C$ de $\sim 0,5\%$ y $\sim 0,0058 \text{ } \%/ \mu\text{M}$, respectivamente, para un diámetro de núcleo pequeño, por ejemplo $d = 0,2 \mu\text{m}$, el bismuto tiene los valores correspondientes más grandes de FCF $\sim 14\%$ y $\partial(\text{FCF})/\partial C \sim 0,175 \text{ } \%/ \mu\text{M}$. Como resultado, tanto la FCF como su sensibilidad a pequeñas variaciones en la concentración se refuerzan en el régimen de vidrio de índice alto de núcleo pequeño. En consecuencia, este régimen es de un beneficio práctico particular para que los sensores observen la fluorescencia capturada a concentraciones de muestra extremadamente bajas, dado el refuerzo sustancial de captura fluorescente del orden de 29 veces utilizando un sensor con vidrios de sustrato de índice alto (por ejemplo, Bi) y diámetros de núcleo pequeños (por ejemplo, $d = 0,2 \mu\text{m}$), lo que da como resultado regiones localizadas de luz de alta intensidad.

Como sería evidente para los expertos en la materia, la configuración del sensor 200 es sólo un ejemplo de una configuración que puede emplearse de acuerdo con la presente invención. Algunas otras configuraciones que están dentro del alcance de la invención incluyen fibras que tienen múltiples núcleos o una o más regiones de núcleo expuestas que pueden aliviar los requisitos de "llenar" específicamente las regiones de interacción de un sensor. Otra alternativa incluye sensores que tienen agujeros de acceso localizados para permitir el llenado en puntos seleccionados a lo largo de la fibra. Algunas de estas configuraciones se describirán ahora.

Haciendo referencia ahora a las figuras 14A a 14F, se muestran vistas de perfil en sección transversal de una variedad de sensores 10 de acuerdo con una pluralidad de realizaciones ilustrativas de la presente invención. En estas diversas realizaciones ilustrativas, los núcleos pueden tener la forma de nanocables. Las figuras 14A y 14B representan sensores 10 que tienen un único núcleo 16 soportado por cuatro puntales de soporte radiales 14 que forman una estructura de soporte que se extiende desde una región exterior o de revestimiento 12 que forma a su vez una camisa exterior de apoyo. Esta configuración define cuatro canales longitudinales 18 o regiones de interacción que pueden contener material fluorescente. De acuerdo con la presente invención, el tamaño y/o el índice de refracción del núcleo 16 están adaptados para aumentar la intensidad de la luz que se propaga o es guiada por el núcleo 16 en una región de interfaz que en todas estas figuras se ha sombreado en gris. La figura 14B representa un sensor 10 que tiene puntales 14 de forma no regular.

Las figuras 14C y 14D representan sensores 10 que tienen un par de núcleos 16a, 16b que son soportados por unos puntales 14 que, en la figura 14C, adoptan una primera configuración en la que un puntal de soporte central se comparte entre los dos núcleos 16a, 16b y, en la figura 14D, una segunda configuración en la que cada uno de los núcleos 16a, 16b está individualmente soportado. Análogamente, las figuras 14E y 14F representan sensores 10 que tienen tres núcleos 16a, 16b, 16c y cuatro núcleos 16a, 16b, 16c, 16d, respectivamente. Las regiones de interfaz reforzadas se han sombreado una vez más en gris. Como sería evidente para los expertos en la materia, la presente invención puede adaptarse a un amplio rango de geometrías dependiendo de la aplicación.

Haciendo referencia ahora a las figuras 15A y 15B, se muestran vistas en perspectiva de unos sensores 30 según otras realizaciones ilustrativas de la presente invención. En la figura 15A, una estructura de soporte en forma de puntales 14 está dispuesta para proporcionar un canal de "aire" 18 y tres canales de líquido y un núcleo alargado 32. En esta configuración, una región de interfaz reforzada 21a se expondrá al entorno, mientras que tres de las

regiones de interfaz reforzadas 21b no se expondrán, sino que estarán todavía disponibles para recibir líquido tal como un material fluorescente en solución.

En otra realización alternativa, el sensor 30 puede sumergirse en líquido y, por tanto, en este caso los tres canales no expuestos 21b corresponderán a tres canales de "aire", siendo el líquido el entorno detectado en el canal expuesto 21a. Esto dará como resultado un índice de refracción elevado en la región de detección 21a que tiene el efecto de diseminar el modo hacia la región de detección y, para tamaños de núcleo suficientemente pequeños, esto suministrará mayor potencia óptica en esta región.

Esto permite entonces que se realicen sensores de esta configuración análogamente a una fibra completamente llena en la que cada uno de los canales se llena con el líquido a detectar (véase, por ejemplo, Warren-Smith, S. C., Afshar, V. S., Monro, T. M., "Theoretical study of liquid-immersed exposed-core microstructured optical fibers for sensing", *Optics Express*, 16, 12, 9034-9045 (2008)). La figura 15B ilustra una configuración alternativa del sensor 30 en la que hay una única región 21a de interfaz reforzada expuesta y una región 21b de interfaz confinada o sellada.

Como se ha discutido antes en nuestras solicitudes anteriores (Publicación PCT No. WO2007/041792, titulada "Fabricación de nanocables", y Publicación PCT No. WO2007/041791, titulada "Método y dispositivo para formar una fibra microestructurada"), los sensores 30 de la variedad de núcleo expuesto pueden formarse atacando químicamente una o más paredes de las configuraciones mostradas en las figuras 14A y 14B. En estas realizaciones ilustrativas, se ha expuesto una longitud continua del sensor 30, lo que proporcionará sensibilidad ambiental a lo largo de la longitud del sensor. Alternativamente, algunas porciones del sensor pueden exponerse selectivamente según se desee a fin de permitir el acceso localizado al núcleo 31 del sensor 30.

Como se ha descrito, cualquier configuración de sensor único puede tener múltiples sitios de detección que incluyan diferentes materiales fluorescentes que están diseñados para la detección de diferentes entidades. Como ejemplo, diferentes canales o regiones de interacción de un sensor pueden adaptarse para recibir diferentes materiales. Adicionalmente, un único canal o región de interacción puede tener múltiples materiales fluorescentes diferentes localizados en diferentes localizaciones configuradas para detectar múltiples entidades dentro de un fluido que puede descargarse a través del canal o, alternativamente, en el ejemplo de un núcleo expuesto, allí donde se expone el núcleo al material relevante.

En otra realización ilustrativa, los principios de la reflectometría óptica de dominio de tiempo (OTDR) pueden emplearse para proporcionar información espacial sobre la concentración de una entidad dentro de un material. En esta realización ilustrativa, un sensor incluye una pluralidad de sitios de detector hechos de material fluorescente sensible a la entidad relevante que puede aplicarse como revestimiento en localizaciones específicas en o cerca de las regiones de interfaz de alta intensidad de luz espaciadas a lo largo del núcleo alargado.

Como se apreciaría mejor por los expertos en la materia, cuando se envían impulsos de luz por la fibra, habrá usualmente una componente de reflexión de fondo debido a la retrorreflexión de luz dispersa que tiene lugar a lo largo de la fibra. Sin embargo, cuando uno o más sitios de detección fluorescen como resultado de detectar la entidad relevante, entonces resultará un impulso que puede medirse sobre y por encima de la componente de reflexión de fondo. La magnitud de este impulso de fluorescencia dependerá de la fracción de captura de fluorescencia hacia atrás, que diferirá de la fracción de captura de fluorescencia hacia delante discutida previamente. En un ejemplo de realización, el sensor 200 puede utilizarse como un sensor de inmersión en el que la emisión fluorescente acoplada al modo de propagación hacia atrás es detectada en un esquema similar al representado en la figura 3 (es decir, para un detector de longitud de llenado), excepto en que un OSA está acoplado adicionalmente al extremo de entrada del sensor 200 para la medición del espectro de la emisión de fluorescencia capturada que se propaga en el modo hacia atrás.

De esta manera, el sensor 200 puede "sumergirse" en la solución relevante que se está probando, lo que provocará que el líquido se aspire hacia los canales 220, 221, 222 en el extremo de llenado por acción capilar, como se ha expuesto previamente. Se ha encontrado que la fracción de captura de fluorescencia hacia atrás es típicamente de eficiencia más alta que la fracción de captura de fluorescencia hacia delante y, además, que no hay ninguna longitud óptima para la fibra que lleve a la fracción de captura máxima, sino que la función de captura de fluorescencia hacia atrás aumenta rápidamente con la longitud de la fibra y se aproxima entonces a un valor asintótico opuesto a una disminución (véase, por ejemplo, Afshar, V. S., Ruan, Y., Warren-Smith, S. C., Monro, T. M., "Enhanced fluorescence sensing using microstructured optical fibres: a comparison of forward and backward collection modes", *Optics Letters*, 33, 1473-1475 (2008), y Afshar, V. S., Ruan, Y., Warren-Smith, S. C., Ebendorf-Heidepriem, H., Monro, T. M., "Highly efficient fluorescence sensing using microstructured optical fibers; general model and experiment", 19ª Conferencia internacional sobre sensores de fibra óptica, Perth, Australia, 14-18 de abril de 2008, *Proceedings of SPIE*, 7004, 149 (2008)).

Como sería evidente para los expertos en la materia, el uso del modo de propagación hacia atrás de la emisión de fluorescencia capturada y su eficiencia incrementada asociada proporcionarán sensores de mayor sensibilidad que pueden desplegarse en una configuración de detección por inmersión y que son capaces de responder en tiempo real. Además, midiendo el intervalo de tiempo entre el envío de un impulso de luz y la fuerte señal de fluorescencia

reflejada, la localización a lo largo de la fibra en la que ocurrió la fluorescencia puede determinarse previendo una correspondencia de uno a uno entre los tiempos y las posiciones de detección a lo largo de la fibra.

5 En una realización ilustrativa adicional, un sensor de acuerdo con la presente invención puede incorporarse en una fibra de material adecuado que tiene un núcleo macizo (por ejemplo, de diámetro de aproximadamente 1 μm), que incorpora además un canal o agujero de aire central (por ejemplo, de diámetro de aproximadamente 100 nm), proporcionando así una región de interacción para la recepción de un material fluorescente. En esta realización, la región de interfaz localizada entre el núcleo y la región de interacción (en este caso, el agujero de aire) tendrá una intensidad de luz reforzada o más alta que sea capaz de reforzar la excitación del material fluorescente.

10 Todavía en otra realización ilustrativa, un sensor de acuerdo con la presente invención puede dirigirse hacia los modos de superficie de una fibra de banda prohibida fotónica de núcleo de aire en la que, en el modo de propagación de superficie, la intensidad de la luz está localizada en el límite o el borde del vidrio/material y la interfaz de núcleo de aire. En consecuencia, estas regiones pueden formar también una región de interfaz en la que la intensidad de la luz de guía dentro de la fibra puede intensificarse o reforzarse para reforzar la excitación del material fluorescente, que, en un ejemplo, puede funcionalizarse sobre esta superficie.

15 A partir de una consideración de las diversas realizaciones ilustrativas que se describen aquí, puede concluirse que la presente invención proporciona un sensor que puede implementarse en múltiples configuraciones tales como un sensor de puntos, un sensor de superficie o, de hecho, un sensor capaz de recibir líquidos o fluidos o una combinación de estas configuraciones. Además, el sensor puede desplegarse fácilmente y conectarse a equipos de fibra óptica estándar como se conoce en la técnica.

20 Adicionalmente, el reconocimiento de que algunas combinaciones particulares de diámetro de núcleo e índices de refracción son capaces de proporcionar una región de luz reforzada o de alta intensidad disponible para la excitación de un material fluorescente y la posterior captura eficiente de la luz fluorescente en un sensor basado en fibra, permite que se materialicen regiones de detección de significativamente sublongitud de onda, proporcionando así un alto grado de localización para la detección, así como una sensibilidad sustancialmente reforzada cuando se
25 compara con dispositivos de la técnica anterior. Como sería evidente para los expertos en la técnica, la presente invención puede aplicarse a cualquier configuración de guiondas general que incluya una región de núcleo para guiar luz y una región de interacción asociada que incluya un material fluorescente.

Aunque se han descrito realizaciones ilustrativas de la presente invención en la descripción detallada anterior, se
30 entenderá que la invención no está limitada a las realizaciones reveladas, sino que es capaz de numerosas reorganizaciones, modificaciones y sustituciones sin apartarse del alcance de la invención tal como éste se expone y se define por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un método de detección que incluye:

5 propagar luz de una longitud de onda de excitación desde una fuente de irradiación (310, 510) por un núcleo alargado (210) de una fibra óptica microestructurada (200), incluyendo la fibra óptica microestructurada (200) una región de interacción (220, 221, 222) que incluye un material fluorescente, extendiéndose la región de interacción (220, 221, 222) longitudinalmente a lo largo del núcleo alargado (210);

10 reforzar una intensidad de la luz propagada en una región de interfaz (230, 231, 232) con relación a una intensidad de la luz propagada dentro del núcleo alargado (210), estando localizada la región de interfaz (230, 231, 232) entre el núcleo alargado (210) y la región de interacción (220, 221, 222) para incrementar así la cantidad de luz fluorescente capturada que se propaga a lo largo del núcleo alargado (210), estando formada la región de interfaz (230, 231, 232) por una discontinuidad en el campo electromagnético de la luz propagada, siendo la discontinuidad proporcional a la relación de las constantes dieléctricas del núcleo alargado (210) y la región de interacción (220, 221, 222); y

15 detectar la luz fluorescente capturada por reflexión en un extremo proximal o por transmisión en un extremo distal de la fibra óptica microestructurada (200),

caracterizado por que la intensidad de la luz propagada en la región de interfaz (230, 231, 232) se refuerza seleccionando una diferencia del índice de refracción entre el núcleo alargado (210) y la región de interacción (220, 221, 222) mayor que 0,3 y una dimensión en sección transversal del núcleo alargado (210) menor o del mismo orden que la longitud de onda de excitación.
- 20 2. El método de detección según la reivindicación 1, en el que la intensidad de la luz propagada en la región de interfaz (230, 231, 232) es mayor que una intensidad pico de la luz propagada dentro del núcleo alargado (210).
3. El método de detección según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la región de interacción (220, 221, 222) es una región de confinamiento para contener el material fluorescente en forma líquida.
- 25 4. El método de detección según la reivindicación 3, en el que la región de confinamiento puede llenarse desde un extremo de llenado de la fibra óptica microestructurada (200).
5. El método de detección según la reivindicación 3 o 4, en el que el núcleo alargado (210) está formado por SF57 y la región de interacción (220, 221, 222) contiene rodamina B disuelta en isopropanol.
6. El método de detección según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la luz fluorescente capturada se propaga de nuevo hacia un extremo de entrada de la fibra óptica microestructurada (200) para su
- 30 detección.
7. El método de detección según la reivindicación 1 o 2, en el que se expone la región de interfaz (230, 231, 232).
8. El método de detección según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la región de interfaz (230, 231, 232) incluye al menos una porción revestida con el material fluorescente.
9. El método de detección según la reivindicación 8, en el que el material fluorescente es un anticuerpo fluorescentemente marcado para la detección de una biomolécula predeterminada.
- 35 10. El método de detección según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el núcleo alargado (210) es un nanocable soportado por una estructura de soporte (240, 241, 242) que define la región de interacción (220, 221, 222).
11. El método de detección según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la estructura de soporte (240, 241, 242) sujeta el núcleo alargado (210) a una funda exterior de apoyo (250).
- 40 12. El método de detección según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el sensor (200) incluye múltiples núcleos alargados, incluyendo 2 (16a, 16b), 3 (16a, 16b, 16c) o 4 (16a, 16b, 16c, 16d) núcleos alargados.
- 45 13. El método de detección según la reivindicación 1, en el que la intensidad de la luz propagada en la región de interfaz se refuerza seleccionando una diferencia en el índice de refracción entre el núcleo alargado (210) y la región de interacción (220, 221, 222) mayor que 0,6.

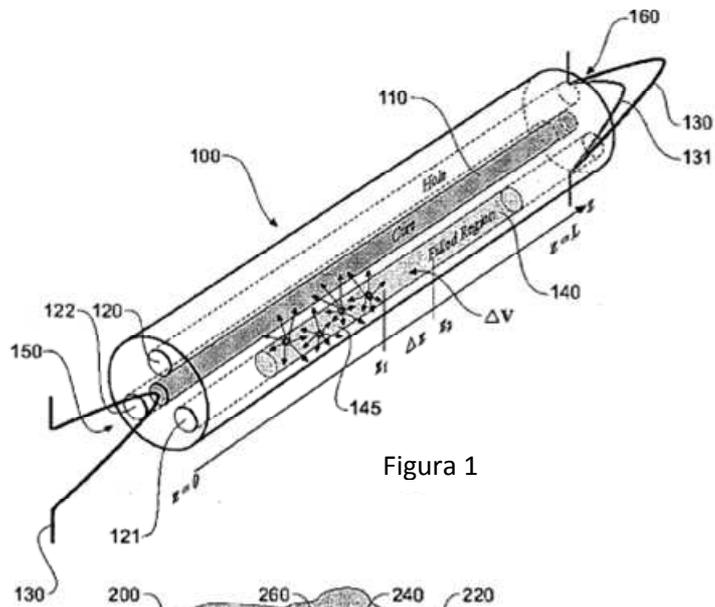


Figura 1

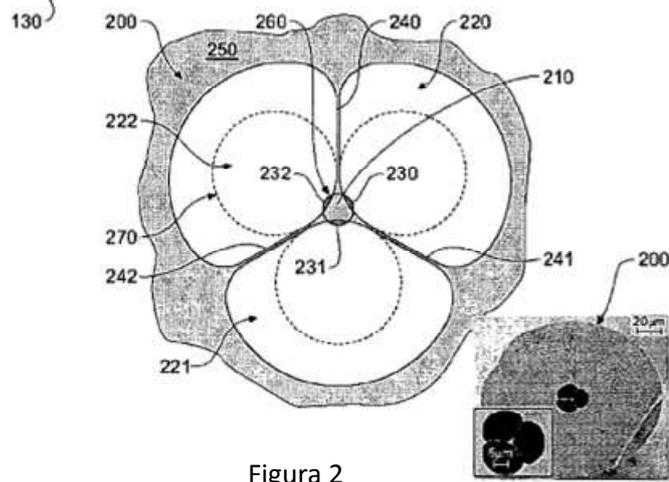


Figura 2

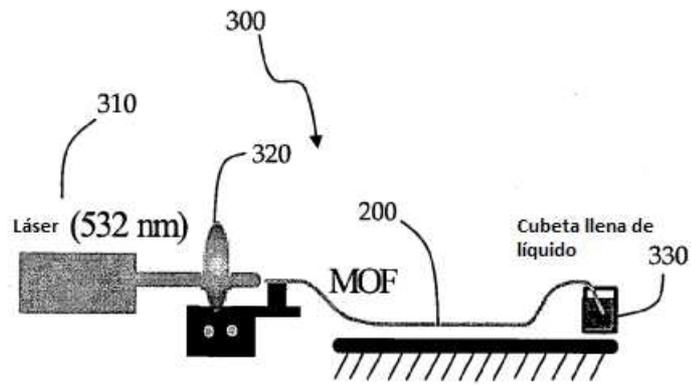


Figura 3

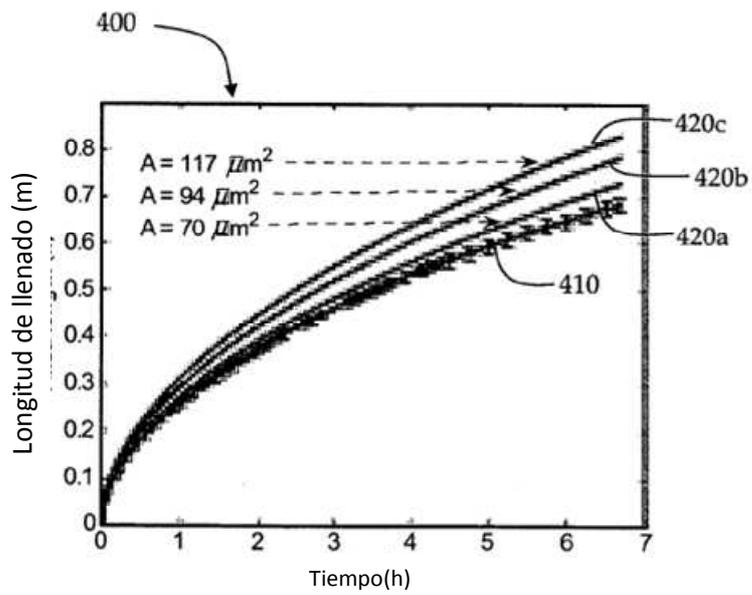


Figura 4

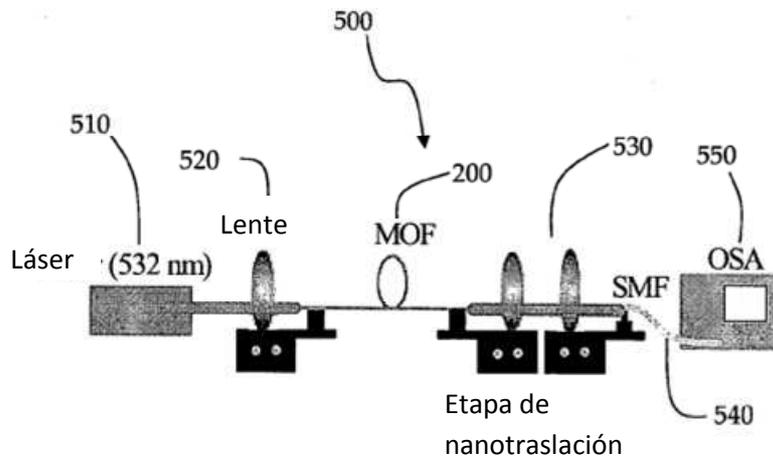


Figura 5

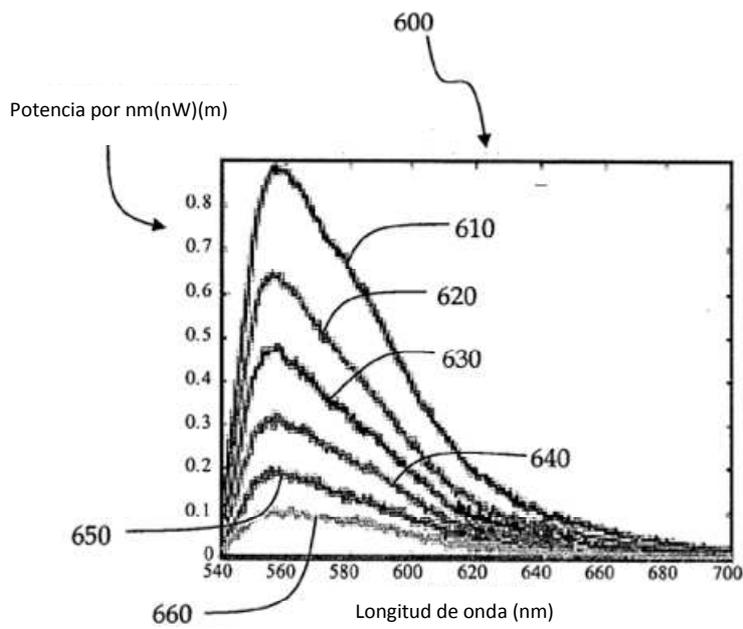


Figura 6

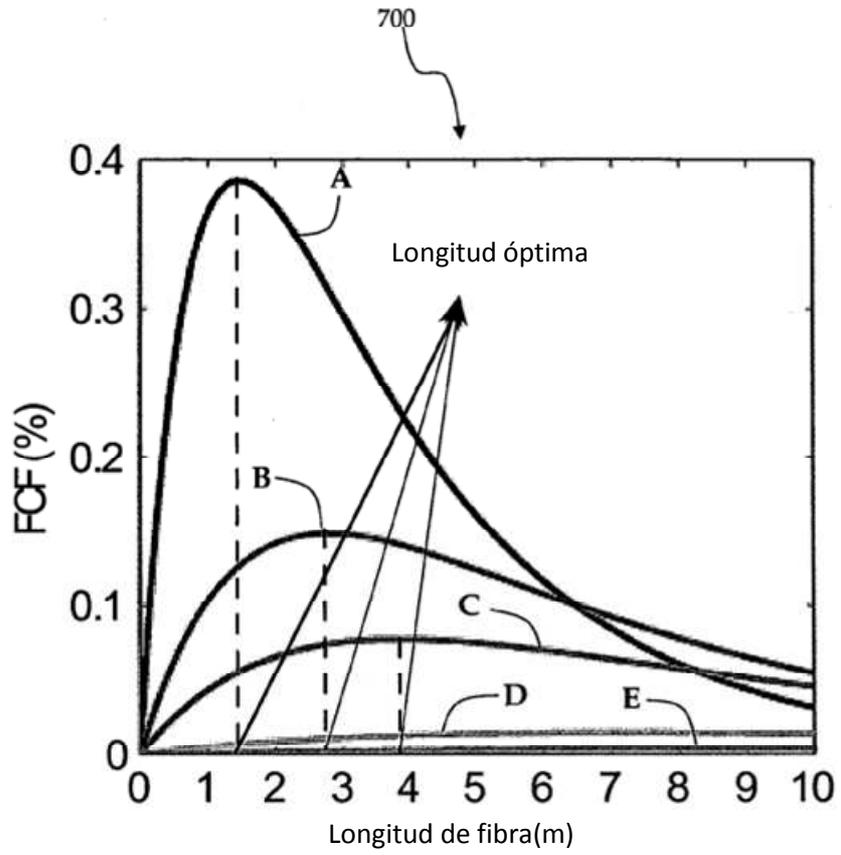


Figura 7

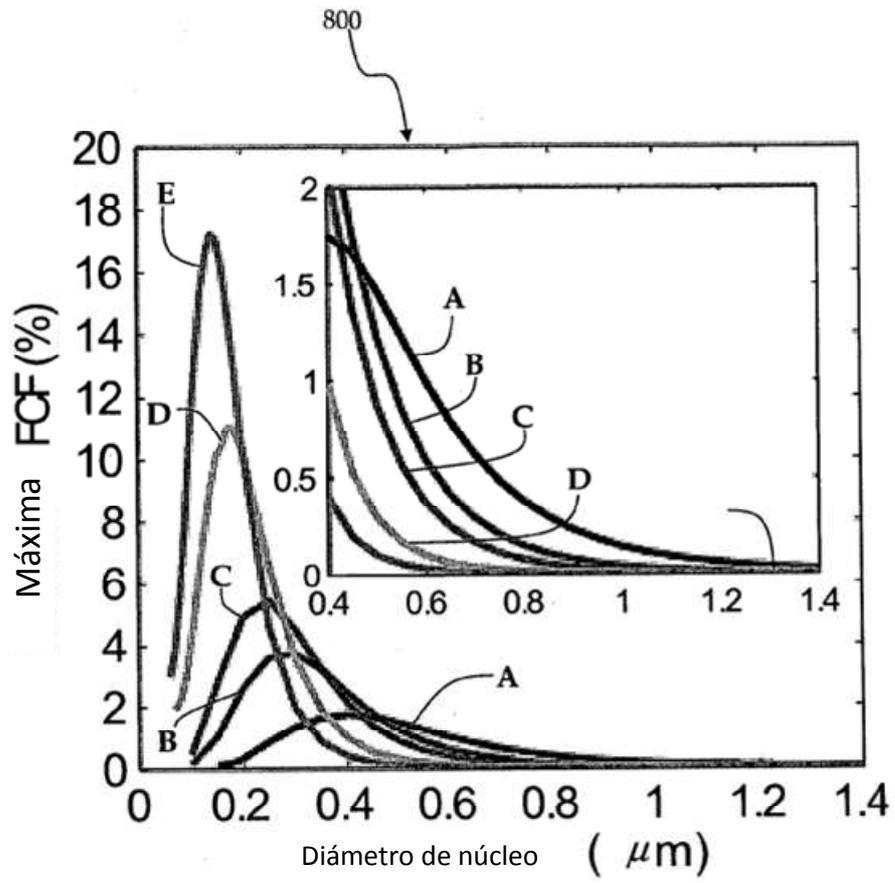


Figura 8

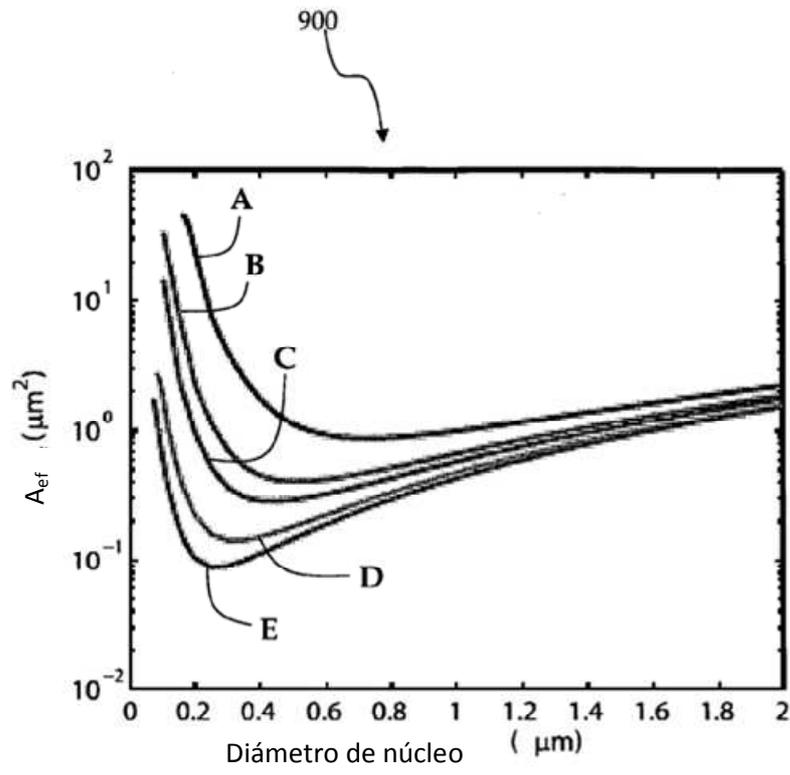


Figura 9

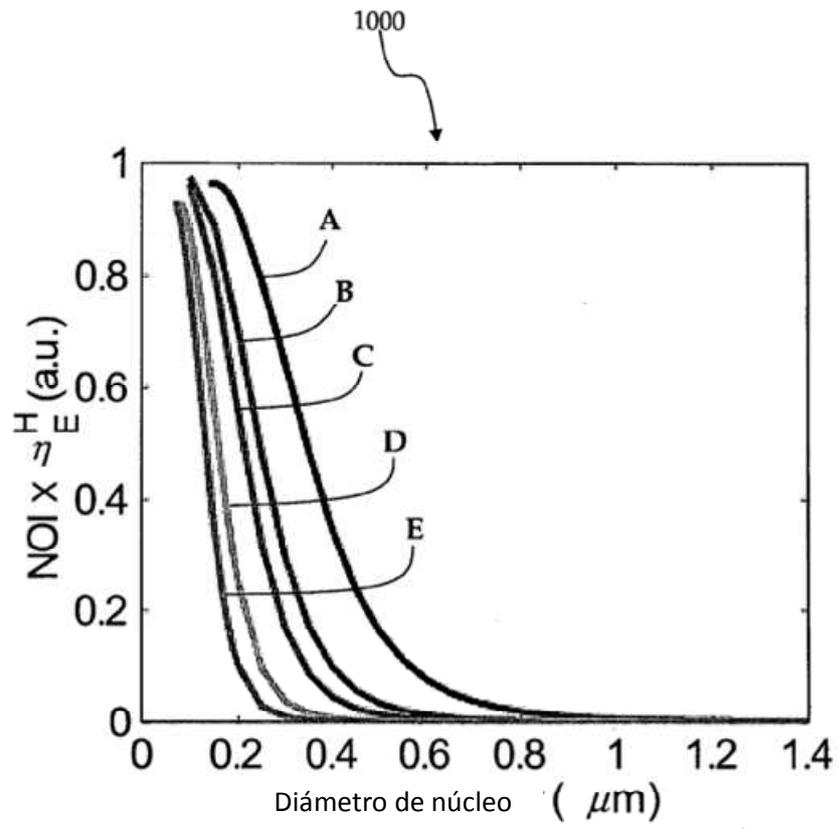


Figura 10

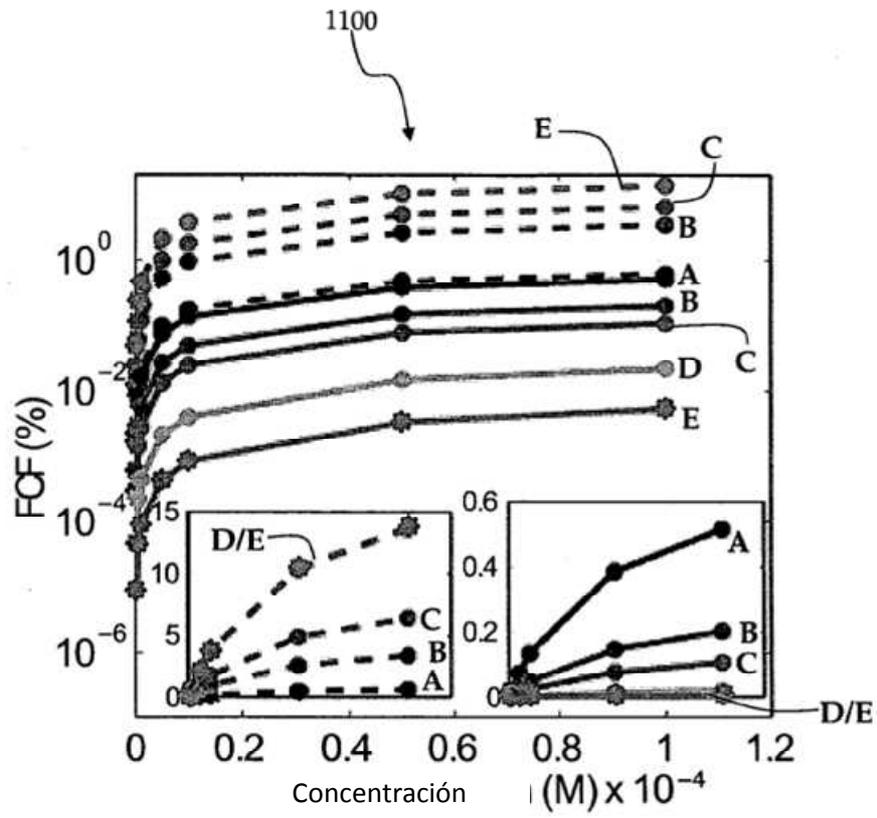


Figura 11

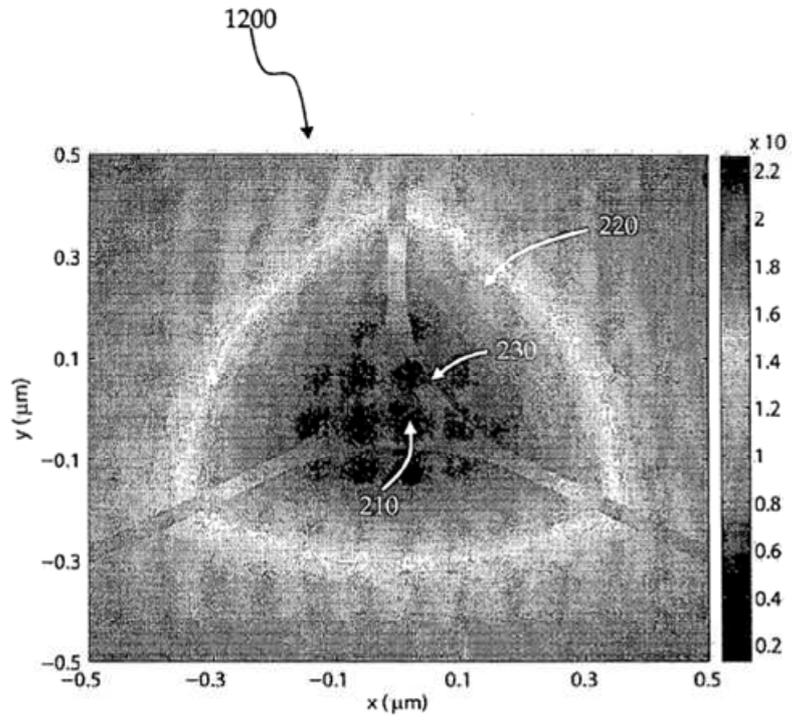


Figura 12

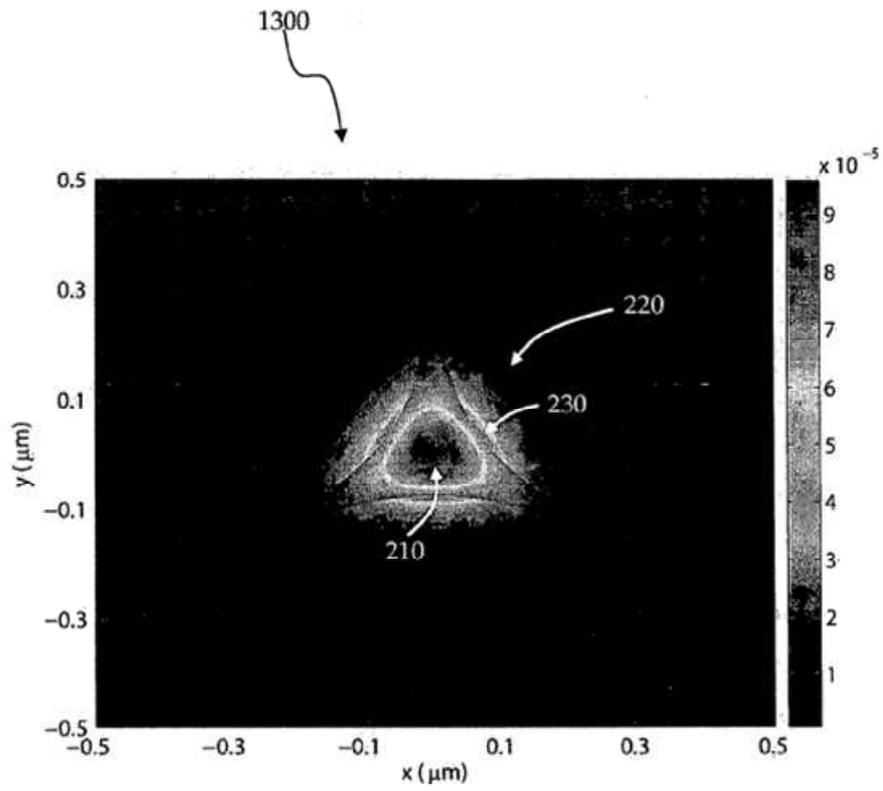


Figura 13

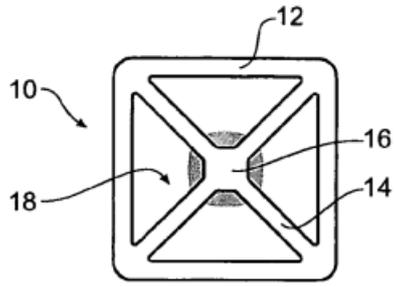


Fig 14A

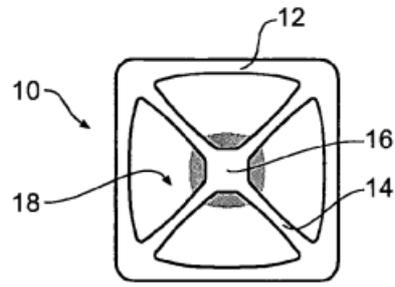


Fig 14B

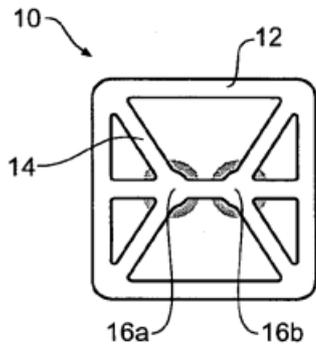


Fig 14C

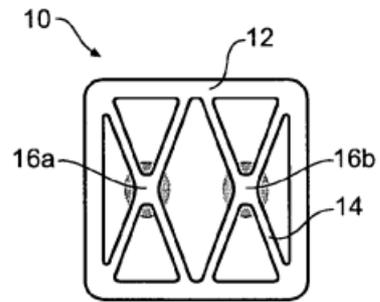


Fig 14D

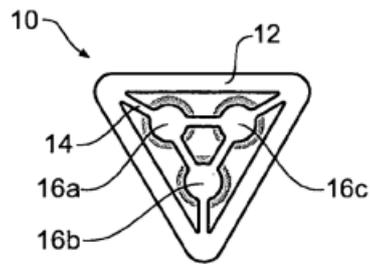


Fig 14E

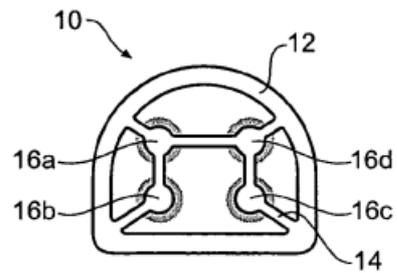


Fig 14F

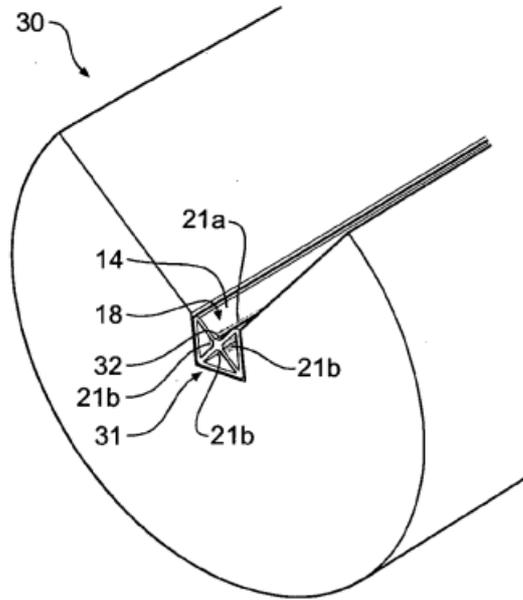


Fig 15A

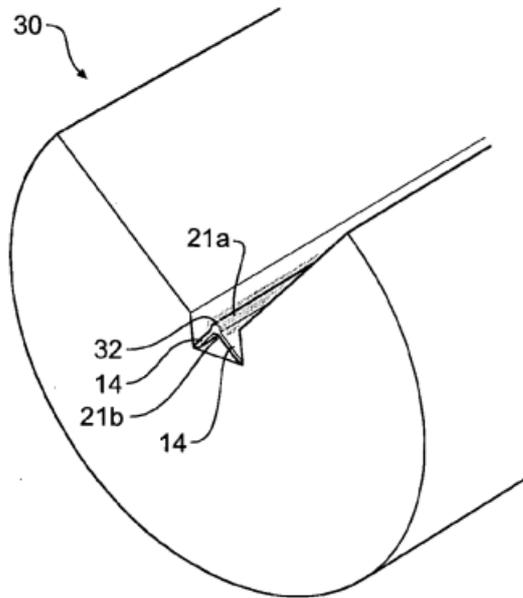


Fig 15B